**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Métodos de conservação pós-colheita de pedúnculos de caju

Juliana Tauffer de Paula

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2017**

Juliana Tauffer de Paula
Engenheira Agrônoma

Métodos de conservação pós-colheita de pedúnculos de caju

Orientador:
Prof. Dr. **RICARDO ALFREDO KLUGE**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Paula, Juliana Tauffer de

Métodos de conservação pós-colheita de pedúnculos de caju / Juliana Tauffer de Paula. - - Piracicaba, 2017.

115 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. *Anacardium occidentale* 2. Qualidade 3. Radiação gama 4. Quitosana 5. Atmosfera modificada I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meu avós, Rosa e Antonio, por tanto amor.

A minha filha, Cecília, que está a caminho, por ser a minha maior força na finalização desse trabalho, um recomeço e uma nova etapa!

AGRADECIMENTOS

Desafio tão grande quanto escrever essa tese, foi utilizar poucas páginas para agradecer! Nessa hora a emoção e as lembranças desses últimos 11 anos tomam conta de mim, desde a minha escolha pela Engenharia Agrônômica até a finalização do doutorado e meu coração se enche de pura gratidão!

Obrigada Senhor Deus, por permitir chegar até aqui com saúde, por sempre escutar minhas orações, guiar minhas escolhas e ter colocado tantas pessoas especiais nesse caminho! Maria, mãezinha que intercede a Deus por nós, obrigada por ter passado na frente todas as vezes que a ti eu recorri!

Prof. Ricardo Kluge, obrigada pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa, pelos ensinamentos, compreensões e amizade! Temos um grande e raro grupo, e ele é reflexo de sua conduta!

Obrigada a Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, ESALQ/USP, aos professores e funcionários, por esses quatro anos de muito crescimento! Sinto orgulho de ter feito parte da grande Gloriosa!

Ao PPG em Fitotecnia pela grande oportunidade de estar concluindo o doutorado num dos programas mais reconhecidos do Brasil nessa área, em especial a secretária Luciane Toledo, por toda atenção sempre que ao programa recorri.

Aos funcionários da biblioteca da ESALQ, atenciosos e sempre prontos para esclarecimentos.

A CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado e ao CNPq pelo financiamento dos experimentos dessa tese através do Projeto Universal.

Aos Professores e pesquisadores parceiros nesse trabalho: Prof. Eduardo Purgatto e ao seu orientado Éric, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pelo tempo a esse trabalho dedicado, pelo espaço cedido em seu laboratório para que fosse possível a realização da análise de compostos voláteis, a qual veio a enriquecer a tese.

Ao Prof. Angelo Jacomino e técnico Marcos Trevisan, por inúmeras vezes compartilhar equipamentos e espaço físico em seu laboratório. Ao Prof. Renar Bender e a pós-doc Sandra Nunes, da UFRGS, pela elaboração da solução de quitosana. A pesquisadora do ITAL, Claire Sarantópoulos, por sempre nos receber na instituição, disponibilizando tempo para tirar dúvidas e pelas análises dos filmes plásticos. A Prof. Giuseppina Pereira Lima, da UNESP Botucatu, aos esclarecimentos sobre a análise da atividade antioxidante.

Ao produtor do Sítio Cajueiro, seu Antônio, e o responsável pela produção de caju, seu Donizete e sua família, por sempre nos acolher bem na propriedade em todas as nossas colheitas.

Gratidão a minha família toda, da qual a saudade sempre me judiava! Aos meus pais pelo amor, por acreditarem na educação e apostarem meu futuro nela, me apoiando em cada passo dado e me incentivando a nunca parar! Pai Pedro, somos tão parecidos, obrigada por sempre estar presente. Mãe Elisabete, a maior proximidade nossa durante esse período foi muito importante!

Ao Pedro e a Anna, meus irmãos, pelo carinho e palavras que muitas vezes renovavam minhas forças! Pedro, você sabe de sua capacidade, que a vida nos proporcione muitas alegrias para dividirmos. Anna, minha outra metade, a força quando me faltava, obrigada por segurar “as pontas” na minha ausência. Ao meu pequeno e amado Pedrinho, meu sobrinho, por compreender minha falta, por fazer cada reencontro uma festa e me ensinar a levar a vida mais leve!

Aos meus avós, Rosa e Antonio, nenhum ‘muito obrigada’ é suficiente para tanto amor que recebo. Gratidão imensa por tudo que representam e fazem por mim e nossa família! Aos meus tios e tias, sempre atenciosos e prontos para ajudar! Por cada reencontro, por cada palavra, por cada “Deus te abençoe”! Aos meus primos e primas, pelo carinho, conversas e alegria de cada momento que pudemos estar juntos!

Rodolfo, meu companheiro de vida, esses quase sete anos juntos e principalmente esses quatro anos em Piracicaba foram muito mais fáceis e felizes com você por perto! Obrigada por dividir a vida comigo, assim vamos sonhando e crescendo juntos, pois acreditamos no amor e em nós! Hoje ainda mais completos com a nossa filha Cecília a caminho, fechando esse ciclo e nos dando força para recomeçar!

A família do Rodolfo, a qual é minha também, por nos proporcionar muitos momentos bons e alegres em cada ida ao PR. Obrigada pelo carinho!

Aos amigos, aqueles com quem compartilhamos tantas e tantas histórias, sorrisos e abraços... Começo com o grupo ‘PColheit’, porque nós não somos apenas um grupo de pesquisa e trabalho, nós somos amigos, aqueles que levamos para uma vida inteira! ‘Klugetes’ do meu coração: Jaqueline, Natalia, Cleucione, Luciane, Ana Paula, Cristiane, Magda e Bruna, e claro, os meninos também, Carlos, Allan e Diego, vocês são profissionais e pessoas excepcionais! Gratidão imensa por tudo que dividimos nesses anos, dos conhecimentos aos conselhos, das ajudas ao café da tarde, dos congressos aos churrascos, já sinto muitas saudades!

A Jaqueline Tezotto, a companheira do caju! Obrigada por dividir comigo esse doutorado inteiro, pelas inúmeras caronas e conversas. Tenho certeza que será uma amizade para uma vida inteira, ainda mais agora com nossos filhos a caminho.

Aos estagiários desse grupo, que foram tantos e espero lembrar de todos: Sérgio, Gisele (Pingona), Larissa (Trancada), Letícia (Jara), Débora (É-dinha), Ana (MMA), Sophia (pH7), Juliana (Grizalha), Mônica (Gibi), Carla (Cuk), Ana Paula (Alazão), Lorena (Choiu), Marcela (Dizastri), Érica (Marpou), Juliana C. (Frog), Julia (Scarlet), Carol (Stil), Bruna (Java), Bruna L. (Teen), Laleska (Nonô), Fernanda (Super), Ketlyn (Tapas) e Carolina. Obrigada por toda ajuda nos experimentos, da colheita ao horto, dos sábados, domingos, feriados, dias e as vezes noites de trabalho! Nada disso seria possível sem vocês!

Aos outros amigos de jornada da ESALQ: Diana, Thaís, Kélin, Nathália Ansante, Nathália Arruda, Paula Porrelli e Gizele, mesmo que a correria não permitisse que estivéssemos sempre nos vendo, cada encontro e palavras trocadas sempre foram especiais!

Aos amigos que Piracicaba me deu de presente fora da ESALQ: Adriana, Cal, Célia, Juraci, Ana, Hilton, Solange, Erivaldo e Angelina! Obrigada por todo carinho e diversão em cada encontro nosso, como foi bom tê-los presente nesses anos! Um viva a jogatina!

As minhas amigas de longa data, que estive fisicamente longe por esse tempo, mas que nunca deixamos de torcer uma pela outra: Ana Cláudia, Ândrea, Eveline, Marluce, Meline, Karoline, Gabriela, Jéssica, Flávia e Aline. Passe o tempo que passar, entre nós sempre encontraremos carinho e companheirismo!

E pensar que nada seria possível sem todos vocês: **MUITO OBRIGADA!**

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos.” (Isaac Newton)

“É preciso força pra sonhar e perceber que a estrada vai além do que se vê.” (Los Hermanos)

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	13
Referências	15
2. BAIXA DOSE DE RADIAÇÃO GAMA É EFICIENTE NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE PEDÚNCULOS DE CAJU	19
2.1. INTRODUÇÃO	20
2.2. MATERIAIS E MÉTODOS	21
2.3. RESULTADOS	25
2.4. DISCUSSÃO	32
Referências	35
Anexos	39
3. APLICAÇÃO PÓS-COLHEITA DE QUITOSANA PROLONGA A VIDA ÚTIL E CONSERVA A QUALIDADE DE PEDÚNCULOS DE CAJU	41
3.1. INTRODUÇÃO	42
3.2. MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.3. RESULTADOS	47
3.4. DISCUSSÃO	56
Referências	59
Anexos	63
4. ATMOSFERA MODIFICADA PASSIVA NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE PEDÚNCULOS DE CAJU ‘ANÃO-PRECOCE’	65
4.1. INTRODUÇÃO	66
4.2. MATERIAIS E MÉTODOS	67
4.3. RESULTADOS	71
4.4. DISCUSSÃO	79
Referências	82
Anexos	86
5. MÉTODOS COMBINADOS DE CONSERVAÇÃO NA VIDA ÚTIL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E NO PERFIL DE VOLÁTEIS DE PEDÚNCULOS DE CAJU	89
5.1. INTRODUÇÃO	90
5.2. MATERIAIS E MÉTODOS	91

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
Referências	112
Anexos	114

RESUMO

Métodos de conservação pós-colheita de pedúnculos de caju

O pedúnculo de caju é um pseudofruto carnoso, suculento, de ótimo aroma, apresenta altos teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos. Apesar da condição nutricional, a vida útil e a comercialização *in natura* do pedúnculo é limitada principalmente devido a sua alta perecibilidade e susceptibilidade ao ataque de microrganismos patogênicos. O objetivo do trabalho foi estudar métodos de conservação pós-colheita de pedúnculos de caju, entre eles: radiação gama, quitosana e atmosfera modificada passiva, de forma primeiramente individual para avaliar o efeito na conservação dos principais atributos físico-químicos, nutricionais e nos aspectos fisiológicos e depois em combinação para verificar efeitos sobre a vida útil, na atividade antioxidante e no perfil de compostos voláteis. No experimento de irradiação a dose de 2,0 kGy reduziu drasticamente a incidência de podridão mas ocasionou alta perdas de firmeza, ácido ascórbico, fenólicos e de pigmentos. A dose de 0,5 kGy proporciona a melhor qualidade dos pedúnculos, pois além de reduzir podridões, reduz perda de massa, mantém valores adequados de firmeza e, diferente da maior dose, não interfere na pigmentação da epiderme, além de manter altos os níveis de compostos fenólicos e reduzir a adstringência. Com relação ao uso de quitosana, as concentrações de 1 e 2% foram eficientes na conservação dos atributos de qualidade de pedúnculos de caju, sendo que a concentração de 2% foi mais eficiente na redução de podridões, além de reduzir a adstringência do pedúnculo. O uso da atmosfera modificada, por meio do filme de PEBD, que proporcionou atmosfera de 11% de O₂ e 8% de CO₂, é a mais eficiente na conservação dos atributos da qualidade visual e nutricional de pedúnculos de caju até o 20º dia após a colheita. Mudanças mais drásticas da atmosfera, como observadas em PP e BOPP não causaram anaerobiose, porém, a maior barreira aos gases e ao vapor de água, levou a perda de alguns atributos de qualidade. Os tratamentos de combinados de irradiação+quitosana e irradiação+atmosfera modificada foram eficientes na conservação dos pedúnculos de caju por estender a vida útil até o 25º dia após a colheita, reduzindo a incidência de podridão e perda de massa e mantendo adequada a firmeza da polpa, fato não alcançado com os tratamentos individuais. Além disso, a combinação irradiação + quitosana manteve também altos níveis de atividade antioxidante e perfil de voláteis característico de um pedúnculo agradável, sendo desta forma a combinação mais indicada. A irradiação e a quitosana quando utilizadas como tratamentos individuais também preservam a qualidade volátil, porém até o 20º dia após a colheita.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*; Qualidade; Radiação gama; Quitosana; Atmosfera modificada

ABSTRACT

Postharvest conservation methods cashew apples

Cashew apple is a fleshy, juicy pseudofruit of great aroma, presents high levels of ascorbic acid and phenolic compounds. Despite the nutritional condition, the shelf life and in natura commercialization of the peduncle is limited mainly due to its high perishability and susceptibility to the attack of pathogenic microorganisms. The objective of this research was to study post-harvest methods of cashew peduncles among them: gamma radiation, chitosan and passive modified atmosphere, in a first individual way to evaluate the effect on the conservation of the main physical-chemical, nutritional and physiological aspects and then in combination to check effects on shelf life, antioxidant activity and the volatile compound profile. In the irradiation experiment the dose of 2.0 kGy drastically reduced the incidence of rot but caused high losses of firmness, ascorbic acid, phenolics and pigments. The dose of 0.5 kGy provides the best quality of the peduncles, because in addition to reducing rot, reduces loss of mass, maintains adequate values of firmness and, unlike the higher dose, does not interfere in the pigmentation of the epidermis, besides maintaining high levels of phenolic compounds and reduce astringency. Regarding the use of chitosan, the concentrations of 1 and 2% were efficient in the conservation of the quality attributes of cashew peduncles, being that the concentration of 2% was more efficient in the reduction of rot, besides reducing the astringency of the peduncle. The use of the modified atmosphere through the LDPE film, which provided an atmosphere of 11% O₂ and 8% CO₂, is the most efficient in preserving the visual and nutritional quality attributes of cashew peduncles until the 20th day after harvest. More dramatic changes of the atmosphere, as observed in PP and BOPP did not cause anaerobiosis, however, the greater barrier to gases and water vapor, led to the loss of some quality attributes. The treatments of irradiated+chitosan and irradiated+modified atmosphere treatments were efficient in the conservation of the cashew peduncles by extending the shelf life until the 25th day after harvest, reducing the incidence of rot and loss of mass and maintaining the firmness of the pulp, a fact not reached with individual treatments. In addition, the combination of chitosan+irradiation also maintained high levels of antioxidant activity and volatile profile characteristic of a pleasant peduncle, thus being the most indicated combination. Irradiation and chitosan when used as individual treatments also preserve the volatile quality, but until the 20th day after harvest.

Keywords: *Anacardium occidentale*; Quality; Gamma radiation; Chitosan; Modified atmosphere

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas diversas no mundo, atrás apenas da China e da Índia, destacando-se na produção de frutas tropicais representada principalmente pelas culturas da laranja, banana, abacaxi, mamão e caju (Fao, 2013).

O cajueiro é originário da América Tropical, da região Amazônica brasileira, pertence à família Anacardiaceae, gênero *Anacardium* L., espécie *Anacardium occidentale* L. A fruta do cajueiro é formada por um pseudofruto, sendo esse o pedúnculo desenvolvido e suculento, e pela castanha, que é o fruto verdadeiro do tipo aquênio reniforme com pericarpo rígido e coloração verde-cinza (Lima, 1988; Vaughan e Geissler, 1997).

A importância econômica do cajueiro advém do crescimento da comercialização dos seus principais produtos: a castanha, o líquido da casca de caju (LCC) e o pedúnculo (Lubi e Thachil, 2000; Santos *et al.*, 2007). No panorama mundial da produção de pedúnculo de caju, em 2013 o Brasil ocupou a primeira posição no ranking, produzindo 1.805.000 t (90% do total produzido no mundo) em uma área de 625 mil ha, com rendimento médio de 2,88 t ha⁻¹. Outros países que em 2013 entraram na estatística da produção de caju foram o Mali, Madagascar e a Guiana (Fao, 2013). No Brasil, a cajucultura está difundida no Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, havendo também ocorrência de plantios comerciais em vários outros estados como Maranhão, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso e São Paulo (Damasceno Júnior e Bezerra, 2002). Nos estados do Nordeste, a produção é destinada quase que exclusivamente para a castanha e LCC e nos estados do sudeste e centro-oeste, a produção é destinada à comercialização de frutas *in natura*, ou seja, dos pedúnculos.

O pedúnculo do caju apresenta alto valor nutritivo, sendo rico em vitamina C, teor que varia de 140 a 300 mg 100 g⁻¹ de ácido ascórbico, este conteúdo é de quatro a cinco vezes maior que o teor vitamina C apresentado pela laranja (Menezes e Alves, 1995; Filgueiras *et al.*, 1999). Além da vitamina C, o caju contém vários outros compostos com potencial antioxidante, incluindo os carotenoides, antocianinas, taninos e ácidos fenólicos (Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009; Rufino *et al.*, 2010).

O pedúnculo é classificado como não-climatérico, exibindo baixa produção de etileno, porém alta atividade respiratória. Ao atingir o ponto ideal para a colheita e consumo, o pedúnculo de caju preserva condições de comercialização por apenas 48 horas, se mantido a temperatura ambiente. Nesse ponto, a sua qualidade pós-colheita relaciona-se ao intenso aroma, alto teor de açúcar na polpa, baixa ou nenhuma adstringência e coloração da casca bem definida (Menezes e Alves, 1995; Moura *et al.*, 2010). O curto período de vida útil do pedúnculo está

associado a alta taxa de respiração e a sua estrutura delicada que compromete a firmeza, a suscetibilidade ao aparecimento de doenças e a um rápido processo fermentativo (Filgueiras *et al.*, 1999; Moura *et al.*, 2010).

Nessas condições, o estudo de métodos de conservação pós-colheita são essenciais para aumentar a vida útil dos pedúnculos, proporcionando maior tempo de comercialização, com qualidade. Sabe-se, por exemplo, que o uso de refrigeração (Figueiredo *et al.*, 2007) e de tecnologias adicionais a ela, como radiação gama (Souza *et al.*, 2009) e atmosfera modificada (Morais *et al.*, 2002) contribuem para a conservação dos pedúnculos, mas não estão completamente elucidados, principalmente com relação aos aspectos fisiológicos (atividade respiratória e produção de etileno), composição fenólica e compostos voláteis. Além disso, nenhuma outra técnica foi testada, como por exemplo o uso de recobrimento comestíveis, assim também como métodos combinados de conservação.

A radiação pode ser definida como a emissão e propagação da energia através do espaço ou matéria e irradiação é o processo de aplicação da energia radiante a um alvo. A radiação com raios gama é um tipo de radiação ionizante transmitida por ondas de alta frequência magnética (Abdalla e Villela Neto, 2005). A utilização de baixas doses dessa tecnologia em frutas e hortaliças frescas tem se mostrado como um excelente método para prolongar a vida comercial, pois retarda os processos de amadurecimento e senescência, e reduz o índice de podridão causado por fungos patogênicos (Spalding e Reeder, 1986; Damayanti *et al.*, 1992; Thomas, 2001). Além disso, tem sido reconhecida como uma alternativa aos tratamentos com produtos químicos (Hong *et al.*, 2008).

Contudo, a radiação apresenta alguns entraves, como o alto custo e a aplicação da dosagem necessária para alcançar o objetivo, sendo necessário adequar a dose correta para cada produto, pois muitas vezes a dose letal de radiação para os microrganismos tem um efeito negativo sobre a cor e textura de frutas e hortaliças (Jeong *et al.*, 2016). O comitê de especialistas FAO/IAEA/WHO em estudos sobre a salubridade de alimentos irradiados, determinou que os alimentos submetidos a doses de irradiação de até 10 kGy são seguros e nutricionalmente adequados, desde que sejam produzidas de acordo com boas práticas de fabricação, e não requerem testes toxicológicos (Who, 1999).

A atmosfera modificada é outro tratamento utilizado, juntamente com a refrigeração. O objetivo principal dessa técnica é reduzir a concentração de oxigênio e elevar a concentração de dióxido de carbono, diminuindo assim a atividade respiratória e o ritmo de senescência dos produtos. A alteração da atmosfera acontece por meio de filmes plásticos (embalagens), que permitem também minimizar a perda de água e suprimir o desenvolvimento

de patógenos, aumentando o período de conservação dos produtos mantidos sob refrigeração (Zagory e Kader, 1988).

A modificação da atmosfera pode acontecer de duas formas: ativa ou passiva. A ativa é quando a modificação ocorre com injeções dos gases, já nas concentrações desejadas, dentro da embalagem. A forma passiva, mais amplamente utilizada, a concentração dos gases dentro da embalagem se dá pela respiração do produto e a permeabilidade do filme, até que entrem em equilíbrio (Chitarra e Chitarra, 2005). Dessa forma, é importante a escolha de um filme correto para cada produto, uma vez que quando níveis de O₂ e CO₂ não são adequados, pode ocorrer uma maturação irregular, aparecimento de sabores e odores indesejáveis, distúrbios fisiológicos, bem como aumento da decomposição causada por fungos patogênicos (Dominguez *et al.*, 2016).

O uso de recobrimento comestíveis também é uma forma de modificar a atmosfera ao redor dos frutos. Entre os produtos disponíveis para esse fim, a quitosana tem sido amplamente utilizada em frutos, ela é obtida a partir do processo de desacetilação da quitina que constitui o exoesqueleto de insetos e crustáceos (Younes e Rinaudo, 2015). Seus principais efeitos são no controle de doenças pós-colheita, devido a capacidade para formar recobrimentos protetores, na regulação das trocas gasosas e de umidade entre o fruto e o ambiente, reduzindo dessa forma a respiração e produção de etileno, manutenção da firmeza e da cor dos frutos (Elghaouth *et al.*, 1992; Pen e Jiang, 2003; Jongsri *et al.*, 2016). Assim como a radiação e o uso de filmes, a concentração ideal de quitosana também varia de produto para produto, e deve ser estudada.

Diante desses aspectos, esse trabalho tem como objetivo avaliar a aplicação de técnicas pós-colheita, associadas a refrigeração, sobre a vida útil e a conservação da qualidade de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’: seus efeitos sobre aspectos visuais, fisiológicos e nutricionais, estudando dessa forma, inicialmente os tratamentos individualizados de a radiação gama, o uso de atmosfera modificada por meio de filmes plásticos e aplicação de quitosana. E, por fim, estudar as combinações desses tratamentos, onde, além de todos os aspectos citados, a composição dos voláteis também será analisada.

Referências

ABDALLA, M. C. B.; VILLELA NETO, T. **Novas Janelas Para O Universo**. São Paulo: Fundação Editora da UNESP, 2005. 120 p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças - Fisiologia e Manuseio**. 2. Lavras: UFLA, 2005. 785.

DAMASCENO JÚNIOR, J. A.; BEZERRA, F. C. Quality of early dwarf cashew peduncles from plants cultivated under irrigation and different management and spacing systems. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 258-262, 2002.

DAMAYANTI, M.; SHARMA, G. J.; KUNDU, S. C. Gamma -radiation influences postharvest disease incidence of pineapple fruits. **Hortscience**, v. 27, n. 7, p. 807-808, Jul 1992.

DOMINGUEZ, I. et al. Influence of modified atmosphere and ethylene levels on quality attributes of fresh tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Food Chemistry**, v. 209, p. 211-219, Oct 2016.

ELGHAOUTH, A. et al. Chitosan coating to extend the storage life of tomatoes. **Hortscience**, v. 27, n. 9, p. 1016-1018, Sep 1992.

FAO. Food and Agriculture Organization. 2013. Acesso em: 26 outubro 2016.

FIGUEIREDO, R. W. D. et al. Quality of cashew pseudofruits treated with calcium at postharvest and stored under refrigeration. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 475-482, 04/2007 2007.

FILGUEIRAS, H. A. C. et al. Cashew apple for fresh consumption: Research on harvest and postharvest technology in Brazil. In: MICHALEZUK, L. (Ed.). **International Symposium on Effect of Preharvest and Postharvest Factors on Storage of Fruit**, 1999. p.155-160. (Acta Horticulturae).

HONG, Y. H. et al. Inactivation of *Enterobacter sakazakii*, *Bacillus cereus*, and *Salmonella typhimurium* in powdered weaning food by electron-beam irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 77, n. 9, p. 1097-1100, Sep 2008.

JEONG, R.-D. et al. Inhibitory effect of gamma irradiation and its application for control of postharvest green mold decay of Satsuma mandarins. **International Journal of Food Microbiology**, v. 234, p. 1-8, Oct 3 2016.

JONGSRI, P. et al. Effect of molecular weights of chitosan coating on postharvest quality and physicochemical characteristics of mango fruit. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 73, p. 28-36, Nov 2016.

LIMA, V. D. P. M. S. **A cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil**. BNB: Estudos Econômicos e Sociais, 1988.

LUBI, M. C.; THACHIL, E. T. Cashew nut shell liquid (CNSL) - a versatile monomer for polymer synthesis. **Designed Monomers and Polymers**, v. 3, n. 2, p. 123-153, 2000.

MENEZES, J. B.; ALVES, R. E. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita do pedúnculo do caju**. Fortaleza, CE: EMBRAPA-CNPAT., 1995. 20.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 989-995, Jun 2009.

MORAIS, A. D. S. et al. Storage of cashew apples from dwarf clones CCP-76, end-157, end-183 and end-189 under refrigeration and modified atmosphere. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 647-650, 2002.

- MOURA, C. F. H. et al. Increasing shelf life of early dwarf cashew tree peduncle through reduction of storage temperature. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 140-145, Jan-Feb 2010.
- PEN, L. T.; JIANG, Y. M. Effects of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut Chinese water chestnut. **Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie-Food Science and Technology**, v. 36, n. 3, p. 359-364, 2003.
- RUFINO, M. D. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, Aug 15 2010.
- SANTOS, R. P. et al. Production and characterization of the cashew (*Anacardium occidentale* L.) peduncle bagasse ashes. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 4, p. 1432-1437, Apr 2007.
- SOUZA, A. R. M. et al. Effect of gamma radiation and storage on cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) quality. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 33, n. 3, p. 848-854, May-Jun 2009.
- SPALDING, D. H.; REEDER, W. F. Postharvest decay control in mangoes with combinations of imazalil, hot water and gamma-radiation. **Phytopathology**, v. 76, n. 10, p. 1066-1066, Oct 1986.
- THOMAS, P. Control of post-harvest loss of grain, fruits and vegetables by radiation processing. **Irradiation for Food Safety and Quality**, p. 93-102, 2001.
- VAUGHAN, J.; GEISSLER, C. The new Oxford book of food plants. **Nordic Journal of Botany**, v. 18, n. 2, p. 222, 1997.
- WHO. High-dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. **World Health Organization**, p. 197, 1999.
- YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. **Marine Drugs**, v. 13, n. 3, p. 1133-1174, Mar 2015.
- ZAGORY, D.; KADER, A. A. Modified atmosphere packaging of fresh produce. **Food Technology**, v. 42, n. 9, p. 70, Sep 1988.

2. BAIXA DOSE DE RADIAÇÃO GAMA É EFICIENTE NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE PEDÚNCULOS DE CAJU

RESUMO

O pedúnculo de caju é um pseudofruto de alto valor nutritivo, carnoso, suculento e extremamente perecível. Apresenta alta susceptibilidade ao ataque de microrganismos patogênicos, a qual está associada à baixa resistência física e estrutura delicada dos pedúnculos. A irradiação visa estender sua vida útil retardando processos fisiológicos e bioquímicos, principalmente inativando patógenos que causam podridões pós-colheita. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da radiação gama na conservação de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’, clone CCP-76. As doses testadas foram: 0 (controle), 0,5, 1,0 e 2,0 kGy. Após a irradiação os pedúnculos foram armazenados a $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ UR durante 20 dias. O controle foi avaliado até 12º dia devido a incidências de podridões. A dose de 2,0 kGy reduziu drasticamente a incidência de podridão mas ocasionou alta perdas de firmeza, ácido ascórbico, fenólicos e de pigmentos. A dose de 0,5 kGy proporciona a melhor qualidade dos pedúnculos, pois além de reduzir podridões, reduz perda de massa, mantém valores adequados de firmeza e, diferente da maior dose, não interfere na pigmentação da epiderme, além de manter altos os níveis de compostos fenólicos e reduzir a adstringência.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*; Irradiação; Qualidade; Compostos fenólicos; Ácido ascórbico

ABSTRACT

Cashew apple is a pseudofruit high nutritional value, fleshy, juicy and extremely perishable. It has high susceptibility to attack by pathogens, which is associated with low physical endurance and delicate structure of peduncles. Irradiation aims to extend its service life by slowing physiological and biochemical processes, especially inactivating pathogens that cause post-harvest decay. Thus, the objective of this study is to evaluate the effects and determine the best dose of gamma radiation in the conservation of ‘anão-precoce’ cashew apple, CCP-76 clone. The doses tested were: 0 (control), 0.5, 1.0 and 2.0 kGy. The cashew apples were irradiated at the Institute of Energy and Nuclear Research (IPEN/USP) and after stored at $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ RH for 20 days. The control was assessed until 12 days due to decay incidence. The dose of 2.0 kGy drastically reduced rot more caused great loss of firmness, ascorbic acid, phenolic and pigments. Dose of 0.5 kGy provides the best quality of the peduncles, because in addition to reducing rot, reduces loss of mass, maintains adequate values of firmness and, unlike the higher dose, does not interfere in the pigmentation of the epidermis, besides maintaining high levels of phenolic compounds and reduce astringency.

Keywords: *Anacardium occidentale*; Irradiation; Quality; Phenolic compounds; Ascorbic acid

2.1. INTRODUÇÃO

O caju (*Anacardium occidentale* L.) é uma fruta originária da região Amazônica e do Planalto Central do Brasil e de grande importância econômica para o país, tanto pelo fato da industrialização da polpa (pedúnculo) e da castanha (fruto verdadeiro), como também pelo consumo na sua forma *in natura* (Vaughan e Geissler, 1997; Petinari e Tarsitano, 2002).

O pedúnculo do caju é um pseudofruto de ótimo aroma e apresenta alto valor nutritivo, sendo rico em compostos com potencial antioxidante, como vitamina C, carotenoides, antocianinas, polifenóis, principalmente taninos, e ácidos fenólicos (Menezes e Alves, 1995; Filgueiras *et al.*, 1999; Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009; Rufino *et al.*, 2010). Estruturalmente, o pedúnculo é carnoso, suculento e extremamente perecível, o que o torna susceptível ao aparecimento de doenças pós-colheita e consequentemente o estabelecimento de um rápido processo fermentativo, comprometendo a comercialização e a vida útil desse produto, que em temperatura ambiente não ultrapassa 48 horas (Filgueiras *et al.*, 1999; Figueiredo *et al.*, 2002; Moura *et al.*, 2010). Desta forma, torna-se fundamental o estudo de métodos de conservação que retardem o aparecimento de doenças, prolongando a vida útil dos pedúnculos com qualidade.

A radiação gama, associada aos procedimentos pós-colheita normalmente empregados, é uma tecnologia eficiente no controle de doenças pós-colheita, uma vez que inibe o crescimento de microrganismos patógenos e consequentemente atrasa a senescência dos frutos, além de ser uma alternativa ao uso de tratamentos químicos, não deixando resíduos nos alimentos após a aplicação (Resurreccion *et al.*, 1995; Geweely e Nawar, 2006; Hallman, 2011; Jeong *et al.*, 2015). Além disso, uma vantagem importante oferecida pela irradiação é que ela exige uma manipulação mínima do produto, permitindo assim a descontaminação sem danos mecânicos e os produtos podem ser tratados já embalados.

Entretanto, a radiação apresenta alguns entraves, como o alto custo e a aplicação da dosagem necessária para alcançar o objetivo, pois, a irradiação confere efeito mínimo sobre as características sensoriais e bioquímica dos alimentos quando utilizada na dose máxima estabelecida para cada produto. Doses acima do tolerável pela fruta pode provocar escurecimento, amaciamento, aparecimento de depressões superficiais, amadurecimento anormal e perda de pigmentos, aroma e sabor nos produtos (Damayanti *et al.*, 1992; Souza *et al.*, 2009; Jeong *et al.*, 2016).

O comitê de especialistas FAO/IAEA/WHO em estudos sobre a salubridade de alimentos irradiados, determinou que os alimentos submetidos a doses de irradiação de até 10

kGy são seguros e não requerem testes toxicológicos, sem qualquer problema nutricional e microbiológico aos humanos (Who, 1999). Em frutas frescas, baixas doses de radiação, de até 2,0 kGy, já apresentam ótimos resultados e nos últimos anos foram relatados em framboesas (Tezotto-Uliana *et al.*, 2013), maçã (Mostafavi *et al.*, 2013), mangas (Mahto e Das, 2013; Santos *et al.*, 2015) e mamão (Rashid *et al.*, 2015).

Em pedúnculos de caju Souza et al. (2009) concluíram que a qualidade dos pedúnculos foi influenciada pela irradiação, contribuindo no aspecto da palatabilidade do produto, tornando as frutas mais “macias”. Porém, a avaliação ocorreu até o nono dia de armazenamento, onde não se pôde observar o prolongamento da vida útil dos pedúnculos quando comparados aos não irradiados. Além disso, nada foi estudado com relação aos aspectos fisiológicos e composição fenólica do pedúnculo, assim também como nenhuma dose foi indicada, apenas que quanto maior a dose, maior foi a manutenção da qualidade.

Com isso, poucas informações ainda são disponíveis sobre radiação gama em pedúnculos de caju, e objetivou-se, com esse trabalho, avaliar a eficácia da radiação gama como tratamento pós-colheita em pedúnculos de caju armazenados a 5°C e 90% UR, seus efeitos sobre aspectos visuais, fisiológicos e nutricionais, e determinar a melhor dose de irradiação.

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1. Obtenção da matéria-prima

Pedúnculos de caju clone CCP-76 ‘anão-precoce’ foram colhidos das plantações do Sítio Cajueiro, localizado no município de Artur Nogueira, SP (latitude 22° 34’23” Sul, longitude 47° 10’21” Oeste e altitude de 588 m). Os pseudofrutos foram colhidos no estágio de maturação determinado em experimentos testes, quando se apresentavam desenvolvidos em relação ao tamanho e coloração da epiderme de 70-80% vermelho-alaranjada. Após a colheita, os pedúnculos foram selecionados no *packing house* do sítio, para a obtenção de um lote homogêneo quanto ao tamanho, coloração, ausência de danos mecânicos e patógenos visíveis. Então, foram embalados em bandeja de politereftalato de etileno (PET) recoberta por filmes de policloreto de vinila (PVC) de 12 µm e colocados em caixas de papelão, sem sobreposição.

2.2.2. Irradiação e armazenamento

Logo após a embalagem, os pedúnculos foram transportados até o Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares (IPEN/USP) na cidade de São Paulo, SP. O irradiador gama do Instituto é do tipo multipropósito compacto, munido de fonte ^{60}Co (modelo C-188, MDS Nordion Canadá), e classificado pela Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) na categoria IV, em que o controle de acesso é restrito e a fonte seladora é armazenada em uma piscina de estocagem, blindada com água deionizada. Os pedúnculos foram submetidos a aplicações das seguintes doses de radiação gama: 0 (controle); 0,5; 1,0 e 2,0 kGy.

Depois de irradiados, os pedúnculos foram transportados para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo - ESALQ/USP, em Piracicaba, SP. O filme de PVC foi mantido, porém foram feitos vinte micro furos com agulha para que não houve alteração da atmosfera, e sim, apenas o efeito da irradiação. Os pedúnculos foram então armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ UR.

2.2.3. Análises

2.2.3.1. Taxa Respiratória (TR) e produção de etileno (PE)

A TR e a PE foram realizadas no dia da colheita (dia 0) e depois seguindo intervalos de 4 dias. Os pedúnculos foram acondicionados em frascos herméticos e fechados periodicamente, 30 minutos para TR e 90 minutos para PE, à mesma temperatura e condições de umidade relativa do armazenamento refrigerado. Uma amostra de 0,5 mL do gás do interior dos frascos foi recolhida através de um septo de silicone presente nas tampas e injetadas em cromatógrafo a gás Thermo Finnigan, modelo Trace GCUltra, com dois detectores de ionização de chama (FID), dois injetores, duas colunas Porapack N e um metanador regulado para 350°C . Os resultados foram calculados considerando os valores cromatográficos, massa dos pedúnculos, volume do frasco e tempo que os frascos permaneceram fechados. A atividade respiratória foi expressa em $\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e a produção de etileno em $\mu\text{L de C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

2.2.3.2. *Qualidade físico-química e bioquímica*

As análises foram realizadas logo após a colheita (dia 0) e depois seguindo intervalos de 4 dias, sendo 3 + 1 (frutos foram mantidos durante 1 dia à temperatura de 15°C e 50-60% de UR, simulando condições de comercialização). A Incidência de podridão (IP) foi realizada por análise visual, sendo os pedúnculos classificados em 5 categorias: 0 = sem podridão; 1 = pouca (1 a 10%), 2 = média (10 a 20%), 3 = severa (20 a 30%) e 4 = muito severa (acima de 30%). Os resultados foram expressos em %. A perda de massa (PM), em %, foi determinada pela diferença entre a massa inicial da repetição e a massa verificada a cada dia de análise. O índice de cor da epiderme (IC) foi determinado pelos parâmetros L^* a^* b^* , por meio do colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta, Mahwah, New Jersey). As leituras foram realizadas em 8 pontos ao longo de todo o pedúnculo e o IC foi calculado por meio da fórmula: $IC = (100 \cdot a) / (L \cdot b)$, com valores variando de 0,0 a 2,0, sendo que quanto maior o valor, mais vermelho o pedúnculo. A firmeza da polpa (FP) foi realizada utilizando-se um penetrômetro digital de bancada (Turoni Italy, modelo 53205) com ponteira de 8 mm de diâmetro, efetuando-se duas leituras em lados opostos na região equatorial dos pedúnculos, após pequena remoção da epiderme e resultados expressos em Newtons (N). O teor de sólidos solúveis (SS) foi determinado colocando-se a polpa triturada em refratômetro digital portátil Atago, modelo Palete 101, com duas leituras por repetição e resultados expressos em °Brix.

O teor de ácido ascórbico (AA) foi determinado por titulometria, de acordo com metodologia descrita por Carvalho *et al.* (1990) onde 10 g da polpa foram diluídas em 50 mL de ácido oxálico 1% e filtradas com papel quantitativo. A titulação foi realizada com solução de 2,6-diclorofenol-indofenol (DCFI) e os resultados expressos em mg 100 g⁻¹. O teor de antocianinas da epiderme (ANT) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por (Lees e Francis, 1972), onde 5 g de epiderme foram homogeneizadas em 50 mL de solução com etanol 95% e HCl 1,5 N (85:15 v/v) e deixada em repouso por 12 horas a 4°C, tomou-se uma alíquota de 16 mL e ajustou-se o volume para 50 mL, esse extrato ficou em temperatura ambiente na ausência da luz por 40 minutos, com posterior leitura em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22) a 535 nm. Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹. Os carotenoides totais da epiderme (CAR) foram obtidos por metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001), com adaptações, onde 2,5 g de epiderme foram homogeneizadas em 20 mL de acetona seguido de filtração em papel quantitativo. Em funil de separação foram adicionados 22,5 mL de éter de petróleo e a solução de acetona filtrada, descartando-se a fase inferior. A solução dos pigmentos em éter de petróleo foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL,

completando-se o volume. As leituras no espectrofotômetro foram feitas em 450 e 449 nm, para β -caroteno e β -criptoxantina respectivamente, que representam aproximadamente 70% do total de CAR na epiderme de caju (Schweiggert *et al.*, 2016). Ao final o teor dos dois pigmentos foram somados e os resultados foram expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Os compostos fenólicos totais (CF) foram extraídos de acordo com a metodologia de Vinson *et al.* (2001) e descritos por Queiroz *et al.* (2011), onde 5 mL de metanol 50% acidificado com HCl 1,2 M foram adicionados a 1g de polpa, homogeneizados sob agitação e levados a banho-maria a 90°C por 3 horas. Em seguida, as amostras foram diluídas com 4 mL do mesmo metanol, centrifugadas por 8 minutos a 15.000 xg (Clinical Centrifuge, IEC) e o sobrenadante foi utilizado como extrato. Os CF foram determinados pelo método colorimétrico de Singleton *et al.* (1999), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu 10% e ácido gálico como padrão (0-500 mM), a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 750 nm e os resultados foram expressos em $\text{mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$. O teor de proantocianidinas (PRO) foi determinado pelo método Vanilina-HCl descrito por Nakamura *et al.* (2003), onde 1g de polpa triturada foi adicionada de 10 mL de metanol, homogeneizados sob agitação e levados para centrifugação por 15 minutos a 15.000 xg, obtendo-se o extrato. Em tubos de ensaios foram adicionados 1 mL de extrato, 2,5 mL de solução de vanilina 1% em metanol e 2,5 mL de HCl 9 N em metanol. A mistura foi incubada para reação durante 20 min a 30°C e logo em seguida realizada a leitura em espectrofotômetro a absorbância medida 500 nm. Como curva padrão foi utilizada a catequina (0 – 300 mM) e o resultado foi expresso em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.2.4. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x6 (quatro tratamentos e seis períodos de análise). Foram utilizadas quatro repetições, constituídas por constituídas por quatro pedúnculos de caju cada, para as análises de índice de podridão, perda de massa, sólidos solúveis, ácido ascórbico, firmeza e índice de cor, e três repetições em duplicata para as análises de compostos fenólicos, proantocianidinas, antocianinas e carotenoides. As análises de atividade respiratória e produção de etileno foram realizadas utilizando cinco repetições, com um fruto.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software estatístico Statistical Analysis System – SAS, versão 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, EUA). Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Box-Cox para verificar a normalidade e homogeneidade de variância entre os tratamentos. Quando necessário, os dados foram transformados. Em seguida, foi realizada a

análise de variância (ANOVA) pelo Teste F ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$), a fim de estudar os fatores, bem como a interação entre eles e, em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$). Também foi realizado o teste de correlação de Pearson entre as variáveis.

2.3. RESULTADOS

Não observamos interações entre as doses de irradiação e dias de armazenamento para o SS, AA, FP, pH e ANT. Para as demais variáveis e fatores, a significância foi observada pelo valor de F, sendo $P \leq 0,01$ e/ou $P \leq 0,05$.

Na matriz de correlação selecionamos os coeficientes iguais ou superiores que 0,70, considerados expressivos de acordo com Sounis (1985) (Tabela 1). Assim, verificamos, aos pares, que existem variáveis diretamente proporcionais (coeficientes positivos) e inversamente proporcionais (coeficientes negativos). Como exemplo, a variável PM correlacionou-se negativamente com as variáveis FIR e PRO, indicando que quando a PM apresentar altos valores, as variáveis em par com ela terão valores baixos e vice-versa. E que, por exemplo, a variável SS que correlacionou-se positivamente com a variável AA, quando SS apresentar valor alto, AA também o terá e vice-versa.

Tabela 1. Coeficientes de correlação para as variáveis analisadas em pedúnculos de caju ‘anão precoce’ irradiados com diferentes doses e armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e 90 $\pm$ 5% UR por 20 dias.

Variáveis	Coefficientes de correlação
PM x FP	-0,82
PM x PRO	-0,90
SS x AA	0,87
FP x PRO	0,87
IC x ANT	0,80
TR x PRO	0,84

PM: perda de massa, FP: firmeza, TR: taxa respiratória, PRO: proantocianidinas, SS: teor de sólidos solúveis, AA: teor de ácido ascórbico, IC: índice de cor, ANT: antocianinas.

Pedúnculos de caju irradiados puderam ser analisados até o 20º dia após a colheita. O tratamento controle foi descartado no 16º dia devido a IP, pois verificamos que o limite da IP para pedúnculos de caju é de 30% e de PM de 4%, momento em que se tornam impróprios para a comercialização, desta forma, os frutos foram analisados até o 12º dia de armazenamento para as outras variáveis (Figura 1A). Frutos irradiados não atingiram a porcentagem de podridão dos frutos controle nem mesmo no 20º dia, sendo a menor incidência observada na maior dose.

Não observamos diferenças significativas entre as doses de 0,5 e 1,0 kGy durante todo o armazenamento.

As podridões mais frequentes foram causadas por *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp., *Acremonium* sp., *Curvularia* sp.

Figura 1. Incidência de podridão (A) e perda de massa (B) de pedúnculos de caju ‘anão precoce’ clone CCP76 irradiados com diferentes doses e armazenados a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\pm 5\%$ UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão ($n=4$). Dados originais, transformação usada para Incidência de podridão: $x^{0,5}$ e perda de massa: $\log(x)$

Assim como no controle de podridões, a irradiação também foi eficiente na redução da PM fresca dos pedúnculos (Figura 1B). Observamos que, independente da dose utilizada, frutos irradiados apresentaram menor PM que o controle no 12º dia de armazenamento. A dose de 0,5 kGy foi a mais eficiente na redução de PM quando comparada às maiores doses de 1,0 e 2,0 kGy, nos 16º e 20º dias de armazenamento. Ao fim do armazenamento pedúnculos tratados

com 0,5 kGy atingiram 1,26% de PM e os tratados com 1,0 e 2,0 kGy apresentaram 1,54 e 1,79%, respectivamente.

Observamos que os pedúnculos irradiados tiveram um aumento em sua TR (pico) em algum momento do armazenamento, sendo no 4º dia para a dose de 2,0 kGy, atingindo $146 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, aumento que ultrapassou a TR do dia da colheita, e no 8º dia para as doses de 0,5 e 1,0 kGy. Isso não aconteceu para os frutos controle (0 kGy), os quais mantiveram os valores constante do 4º ao 12º dia do armazenamento (Figura 2A).

Figura 2. Taxa respiratória (A) e produção de etileno (B) de pedúnculos de caju ‘anão precoce’ CCP 76 irradiados com diferentes doses e armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão ($n=5$). Dados originais, transformação usada para Taxa respiratória: $x^{0.5}$ e Produção de etileno: $x^{-1.0}$

É importante ressaltar que esse pico ocorreu de maneira mais acentuada para a dose de 2,0 kGy. Após, todos os tratamentos com frutos irradiados sofreram uma acentuada queda, sendo essa redução maior na dose de 2,0 kGy, que a partir do dia 16, apresentou baixos valores.

Com relação a PE, no dia da colheita, os pedúnculos tratados com 0,5 kGy e o controle apresentaram PE menor, aproximadamente $0,45 \mu\text{L de C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, que os tratados com as maiores doses (Figura 2B). A PE se manteve constante no controle durante todo o armazenamento e, assim como na TR, o etileno apresentou um acentuado aumento em sua produção nos demais tratamentos, fato ocorrido no oitavo dia de armazenamento, sendo que quanto maior a dose de radiação gama aplicada, maior foi o pico de PE.

A partir do 12º dia de armazenamento a PE foi reduzida para todos os frutos irradiados, as doses de 0,5 e 1,0 kGy chegaram a valores iguais ao controle, em média $0,3 \mu\text{L de C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e se mantiveram constante até o fim do armazenamento. Os frutos que receberam a maior dose (2,0 kGy) já não produzia etileno a partir do 16º dia.

No decorrer do armazenamento, todos os tratamentos apresentaram redução da FP (Tabela 2). Pedúnculos irradiados com as doses 1,0 kGy e 2,0 kGy apresentaram os menores valores de FP, apresentando, em média, 3,87N e 2,93 N, respectivamente. A dose de 0,5 kGy foi aquela que resultou em menor perda na FP dos pseudofrutos, não apresentando diferença em relação ao controle.

Com relação ao SS, observamos um acréscimo até o 8º dia após a colheita, quando, em média, os tratamentos alcançaram teor de 10,84 °Brix, ocorrendo, a partir de então, redução desse teor até o fim do armazenamento, atingindo no dia 20 a média de 9,38 °Brix, sem diferença significativa ao teor de 9,64 °Brix encontrado no momento da colheita (Tabela 2). Ao verificarmos o teor de SS entre as doses de radiação, novamente constatamos que a dose de 2,0 kGy apresentou a maior redução, em média, o teor de SS foi de 9,4 °Brix.

Tabela 2. Firmeza de polpa, teor de sólidos solúveis e ácido ascórbico de pedúnculos de caju ‘anão precoce’ CCP76 irradiados com diferentes doses e armazenados a $5\pm1^{\circ}\text{C}$ e $90\pm5\%$ UR por 20 dias.

	Firmeza (N)	Teor de sólidos solúveis (°Brix)	Ácido Ascórbico (mg 100 g ⁻¹)
<i>Radiação gama (kGy)</i>			
0	6,32 A	10,59 A	150,61 A
0,5	5,15 B	10,38 A	141,73 AB
1	3,87 C	10,07 B	133,14 B
2	2,93 D	9,40 C	112,04 C
Pr > F	0,0000	0,0009	0,0012
<i>Dias após a colheita</i>			
0	6,84 A	9,64 CD	123,41 B
4	5,49 AB	10,39 AB	152,44 A
8	4,49 BC	10,84 A	148,75 A
12	3,58 CD	9,98 BC	138,90 A
16	2,84 DE	9,96 BC	122,23 B
20	2,31 E	9,38 D	101,09 C
Pr > F	0,0009	0,0000	0,0000
C.V. (%)	14,00	5,18	9,84

Médias seguidas de letras diferentes dentro da coluna apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey, $P < 0,05$ ($n = 4$). Dados originais, transformação usada para Firmeza: $x^{0,5}$

Os pedúnculos de caju irradiados com 2,0 kGy apresentaram os menores teores de AA desde o dia em que foram submetidos ao tratamento até o fim do armazenamento, tendo os valores diminuído de 123,41 mg 100g⁻¹ para, em média, 112,04 mg 100g⁻¹ (Tabela 2). Observamos que, no 4º dia de armazenamento, houve incremento no AA, teor mantido até o 12º dia e assim como no teor de SS, reduziram até o fim do armazenamento, quando apresentaram em média 101,09 mg 100g⁻¹. O controle e a dose de 0,5 kGy não diferiram entre si e apresentaram os maiores teores de AA, 150,61 mg 100g⁻¹ e 141,73 mg 100g⁻¹, respectivamente.

Com relação a coloração da epiderme dos pedúnculos, verificamos através do IC que frutos irradiados com a dose de 2,0 kGy apresentaram menor IC, tornando-se, ao longo do armazenamento cada vez mais esverdeados e translúcidos (valores de a^* próximos a zero ou negativos) (Figura 3A). A dose de 0,5 kGy gerou aumento considerável no índice de cor, especialmente ao 4º dia, estando os pedúnculos nitidamente mais vermelhos (maior a^*) que aqueles submetidos às demais doses. A partir do 8º dia, até o 20º dia, os pedúnculos submetidos às doses 0,5 kGy e 1,0 kGy mantiveram o IC relativamente constante e sem diferença significativas em relação ao controle.

Quando maduros, a casca de caju é composta por dois principais pigmentos: carotenoides e antocianinas. Com relação aos CAR (Figura 3B), verificamos que para todos os tratamentos o teor desses pigmentos aumentou até o 8º dia de armazenamento, mantendo-se constante para o controle até 12º dia, e constantes até fim do armazenamento para os pedúnculos irradiados com as doses de 0,5 e 1,0 kGy, tendo alcançado teores de 7,75 e 7,24 mg 100 g⁻¹, respectivamente. A dose de 2,0 kGy acarretou em perda de CAR após o 8º dia, chegando ao teor de 6,11 mg 100 g⁻¹ aos 20 dias de armazenamento.

Figura 3. Índice de cor (A) e carotenoides da casca (B) de pedúnculos de caju ‘anão precoce’ CCP76 irradiados com diferentes doses e armazenados a 5±1 °C e 90±5% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão (n=4)

O teor de ANT, em média, não foi alterado durante os dias de armazenamento. Entretanto, ao compararmos as doses, observamos que a dose de 2,0 kGy reduziu o teor de ANT em relação aos demais tratamentos, os quais não diferiram entre si (Tabela 3).

Tabela 3. Teor de antocianinas da casca de pedúnculos de caju ‘anão precoce’ irradiados com diferentes doses e armazenados a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\pm 5\%$ UR por 20 dias.

	Antocianinas ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$)
<i>Radiação gama (kGy)</i>	
0	6,12 A
0,5	6,77 A
1	5,90 A
2	4,24 B
Pr > F	0,0008
<i>Dias após a colheita</i>	
0	5,47 A
4	5,99 A
8	6,05 A
12	5,74 A
16	5,70 A
20	5,29 A
Pr > F	0,0000
C.V. (%)	20,20

Médias seguidas de letras diferentes dentro da coluna apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey, $P < 0,05$ ($n = 3$)

Os CF aumentaram para todos os tratamentos do dia 0 para o dia 4 e mantiveram-se constantes até o fim do armazenamento nas doses de 0, 0,5 e 1,0 kGy (Figura 4A). Observamos que no dia 4 e o dia 12 o controle apresentou menores valores de CF que os frutos irradiados, sendo que no dia 4 essa diferença foi maior. No fim do armazenamento a maior dose de radiação reduziu os CF, os teores foram de $25,03 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ para dia 16 e $24,32 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ para dia 20, valores significativamente menores aos verificados nas doses de 0,5 e 1,0 kGy.

Houve redução nos teores de PRO para todos os tratamentos ao longo do armazenamento (Figura 4B). No dia 4, encontramos diferenças entre o controle e as doses de 1,0 e 2,0 kGy, as quais apresentavam menores teores, em média $6,3 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. A partir desse dia, esse conteúdo se manteve constante até o fim do armazenamento para o tratamento controle. Observamos frutos irradiados com 2,0 kGy apresentou a maior redução de PRO ao fim do armazenamento e atingiu no 20º dia $2,85 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

Figura 4. Compostos Fenólicos (A) e proantocianidinas (B) de pedúnculos de caju ‘anão precoce’ irradiados com diferentes doses e armazenados a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\pm 5\%$ UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão ($n=3$). Dados originais, transformação usada para Compostos fenólicos: $x^{3.0}$

2.4. DISCUSSÃO

A radiação gama é um eficaz tratamento no controle de doenças pós-colheita e, nesse trabalho, as doses de radiação testadas foram eficientes nesse sentido, reduzindo o IP e tendo aumentado a vida útil de pedúnculos de caju por oito dias. A radiação ionizante apresenta energia suficiente para danificar moléculas e assim provocar mudanças em componentes moleculares dos microrganismos (Hagenmaier e Baker, 1998; Silva *et al.*, 2006). A energia suficiente para isso é alcançada em baixas doses, e são eficientes em pós-colheita de frutas, como estudado também em mangas (Santos *et al.*, 2015), framboesas (Tezotto-Uliana *et al.*, 2013), ameixa (Duvenhage *et al.*, 2012) e goiabas (Singh e Pal, 2009).

A PM foi baixa durante todo experimento, não ultrapassando 2%, provavelmente porque os pedúnculos estavam envoltos em filme de PVC, além da alta UR utilizada no armazenamento (90%). Porém, diferenças foram encontradas entre os tratamentos. Em alguns trabalhos foi demonstrado que o uso da radiação em doses adequadas pode diminuir a PM, como por exemplo o verificado em tomates tratados com 1,0 kGy (Adam *et al.*, 2014), em cerejas com 0,3 kGy (Akbulak *et al.*, 2008) e em goiabas brancas com 0,6 kGy (Oliveira *et al.*, 2006), assim como ocorreu no presente trabalho nos pedúnculos de caju tratados com 0,5 kGy. A maior PM dos pedúnculos irradiados a 1,0 e 2,0 kGy, com relação a dose de 0,5 kGy, pode ser atribuída às modificações que a radiação, em doses mais elevadas, causa na integridade celular, por vezes, aumentando a permeabilidade da membrana e assim afetando a transpiração (Maxie *et al.*, 1971; Rastogi *et al.*, 2006)

A radiação gama elevou a TR e a PE dos frutos no dia 4 ou no dia 8, dependendo da dose, contudo, observamos que a eliminação dos patógenos pela irradiação foi mais importante para aumentar a vida útil do caju do que, nesse caso, a redução inicial do metabolismo, porém a redução do metabolismo que ocorreu após o dia 8 também foi importante. O pedúnculo de caju apresenta alta TR e baixa PE (Biale e Young, 1981), sem apresentar nenhum pico nestas atividades, como observamos no controle.

O aumento da TR e da PE devido a irradiação não é bem conhecido. É possível que estas respostas estejam relacionadas ao estresse inicial causado pela irradiação, pois observamos que, quanto maior a dose aplicada, mais intensa foi a TR e a PE. Alguns trabalhos postulam que dependente da dose de radiação, ela pode diminuir a PE e a TR, uma vez que altera a atividade das enzimas ACC-sintase e ACC-oxidase, além de alterar a permeabilidade da membrana e a ligação da enzima (Chervin *et al.*, 1992; Gunes *et al.*, 2000; Egea *et al.*, 2007),

As modificações na integridade celular possivelmente também explica a perda de FP dos frutos nas doses de 1,0 e 2,0 kGy. Em alguns trabalhos foi constatado que componentes da parede, como celulose e hemicelulose, sofrem alterações em função da radiação e isso resulta em maiores perdas de firmeza nos frutos irradiados (Zhao *et al.*, 1996). Em maçãs, a radiação gama também reduziu a firmeza, uma vez que aumentou a atividade da enzima poligalacturonase (Kovács *et al.*, 1997). Em caju, a irradiação também diminuiu a FP em função do aumento das doses (Souza *et al.*, 2009). Porém, nesse trabalho a dose de 0,5 kGy não afetou a FP comparada ao controle. A radiação pode não afetar ou até mesmo aumentar a firmeza, isso depende da dose aplicada e do tempo de armazenamento de frutos irradiados (Mostafavi *et al.*, 2012).

Observou-se que tanto o SS quanto o AA aumentaram no início do armazenamento, entre o dia 4 e 8, para todos os tratamentos. Mesmo o pedúnculo sendo considerado um pseudofruto não climatérico, algumas mudanças como essas e alteração na cor são notadas. A elevação inicial no SS e AA possivelmente se deve ao fato do pedúnculo ter sido colhido em estágio de maturação intermediário, ponto determinado em experimentos testes, e então atingindo valores mais altos quando completamente maduros.

Segundo Chempakam (1983), o AA em caju atinge seus maiores valores em estádios mais avançados de maturação, devido à redução na atividade da ascorbato oxidase, a enzima envolvida na sua degradação. A redução do AA devido a irradiação, evidenciada principalmente na dose de 2,0 kGy, se deve a radiólise da água dentro da fruta, gerando mais radicais livres, os quais oxidam o ácido ascórbico. A radiação acelera a conversão do AA em ácido dehidroascórbico (DHA), que é a forma oxidada de vitamina C (Graham e Stevenson, 1997; Wong e Kitts, 2001).

Filgueiras et al. (1999) relatam que as mudanças de cor em pedúnculos de caju durante a maturação são causados por perda de clorofila e síntese de outros pigmentos, principalmente carotenoides e antocianinas. A síntese de pigmentos e consequentemente a alteração da cor da casca do pedúnculo é indicada pelo IC, o qual aumentou no quarto dia de armazenamento para todos os tratamentos e, assim como para o SS e AA, esse aumento pode ser explicado pelo estágio de maturação no qual o pedúnculo foi colhido, quando apresentava ainda partes verdes, com clorofila evidente, a qual foi degradada, seguido da síntese de CAR e ANT.

Observa-se que a dose de 2,0 kGy reduziu os teores de CAR e ANT após o dia 4 e consequentemente o IC. O fato de durante os dias de armazenamento a ANT aumentar nas doses de 0,5 e 1,0 kGy e diminuir para 2,0 kGy, fez com que, na média dos dias, esses valores não apresentassem diferenças. Sabe-se que o pH é um dos fatores que influenciam na estabilidade das antocianinas, porém essa variável não foi a responsável na perda da pigmentação de caju irradiados, uma vez que o pH não apresentou variações entre as doses, apresentando valor médio de 3,35 (dados não apresentados). Então, o principal motivo da maior dose de radiação ter diminuído teor de ANT seja, possivelmente, decorrente da instabilidade deste pigmento quando exposto à fontes de radiação ionizante (Sweeny e Iacobucci, 1983). Em framboesa, a radiação gama também diminuiu o teor de antocianinas dos frutos (Tezotto-Uliana *et al.*, 2013). Quanto aos CAR, foi evidenciado em alguns trabalhos que a irradiação pode aumentar o teor desse pigmento pelo fato de permitir a sua maior extração durante a análise, uma vez que a radiação gama faz com que as paredes celulares estejam mais permeáveis (Hussain *et al.*, 2011).

Porém, isso não foi observado na epiderme do pedúnculo de caju do presente trabalho, assim como em outras frutas, como mamão e manga, onde a radiação gama até a dose de 1,0 kGy não afetou o teor de CAR (Beyers e Thomas, 1979).

O aumento dos CF, mais evidenciado nos pedúnculos irradiados, se deve a duas possíveis explicações: a primeira está ligada a radiólise da água, que resulta na produção de radicais livres. Esses radicais podem quebrar ligações glicosídicas aumentando o teor de CF (Lee *et al.*, 2009). A segunda explicação é que a irradiação pode aumentar a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), envolvida na biossíntese de compostos fenólicos (Reyes e Cisneros-Zevallos, 2007). A dose de 2,0 kGy diminuiu os CF nos dois últimos dias de análises, possivelmente à redução mais drástica de PRO nesses dias pode ter afetado o CF totais.

Taninos condensados ou PRO são oligômeros fenólicos sintetizados através da via dos flavonoides e são responsáveis pela adstringência. A perda natural da adstringência ocorre naturalmente pela polimerização feita pelo acetaldeído, produzido espontaneamente durante o desenvolvimento e maturação das frutas, porém, dependendo do peso molecular dos taninos essa redução da adstringência é bem baixa (Edagi e Kluge, 2009). Observa-se que pedúnculos irradiados apresentam teores menores de PRO em relação ao controle. A diminuição dos teores de PRO encontrada pode ser explicada pela decomposição de certos compostos fenólicos à radiação gama. A radiação gama induz mudanças nas moléculas de taninos condensados e causam perda de grupos carbonila e a abertura de anéis formando um novo composto (Velasco *et al.*, 2014).

Em conclusão, a radiação gama é eficaz na conservação pós-colheita de pedúnculos de caju e aumenta sua vida útil por oito dias, principalmente devido à baixa incidência de podridões. Contudo, a dose de 0,5 kGy proporciona a melhor qualidade dos pedúnculos, pois além de reduzir podridões, reduz perda de massa, mantém valores adequados de firmeza e, diferente da maior dose, não interfere na pigmentação da epiderme, além de manter altos os níveis de compostos fenólicos e reduzir a adstringência.

Referências

- ADAM, M. Y.; ELBASHIR, H. A.; AHMED, A. H. R. Effect of Gamma Radiation on Tomato Quality during Storage and Processing. **Current Research Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 1, p. 20-25, 2014.
- AKBUDAK, B.; TEZCAN, H.; ERIS, A. Effect of low-dose gamma irradiation on the quality of sweet cherry during storage. **Italian Journal of Food Science**, v. 20, n. 3, p. 381-390, 2008.

BEYERS, M.; THOMAS, A. C. Gamma irradiation of subtropical fruits: Changes in certain nutrients present in mangoes, papayas and litchis during canning, freezing and gamma irradiation. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 27, p. 47-51, 1979.

BIALE, J. B.; YOUNG, R. E. Respiration and ripening in fruits: retrospective and prospect. **Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables**, London, p. 1-39, 1981.

CARVALHO, C. R. L. et al. **Análises Químicas: Manual Técnico: ITAL**: 121 p. 1990.

CHEMPAKAM, B. Distribution of ascorbic-acid and ascorbic-acid oxidase activity in the developing cashew apple (*Anacardium Occidentale* L). **Journal of Horticultural Science**, v. 58, n. 3, p. 447-448, 1983.

CHERVIN, C. et al. Reduction of wound-induced respiration and ethylene production in carrot root tissues by gamma irradiation. **Postharvest Biology Technology**, v. 2, n. 1, p. 7-17, 1992.

DAMAYANTI, M.; SHARMA, G. J.; KUNDU, S. C. Gamma -radiation influences postharvest disease incidence of pineapple fruits. **Hortscience**, v. 27, n. 7, p. 807-808, Jul 1992.

DUVENHAGE, A. J.; JOOSTE, M.; JOHNSON, S. A. Irradiation as a postharvest quarantine treatment for a new pluot cultivar. **Scientia Horticulturae**, v. 147, p. 64-70, Nov 2012.

EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Removal of astringency in persimmon fruits: a biochemical, physiological and technological view. **Ciencia Rural**, v. 39, n. 2, p. 585-594, Mar-Apr 2009.

EGEA, M. I. et al. The influence of electron-beam ionization on ethylene metabolism and quality parameters in apricot (*Prunus armeniaca* L., cv Bulida). **Lwt-Food Science and Technology**, v. 40, n. 6, p. 1027-1035, 2007.

FIGUEIREDO, R. W. et al. Physical-chemical changes in early dwarf cashew pseudofruits during development and maturation. **Food Chemistry**, v. 77, n. 3, p. 343-347, Jun 2002.

FILGUEIRAS, H. A. C. et al. Cashew apple for fresh consumption: Research on harvest and postharvest technology in Brazil. In: MICHALEZUK, L. (Ed.). **International Symposium on Effect of Preharvest and Postharvest Factors on Storage of Fruit**, 1999. p.155-160. (Acta Horticulturae). ISBN 90-6605-851-X.

GEWEELY, N. S. I.; NAWAR, L. S. Sensivity to gamma irradiation of post-harvest pathogens of pear. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 8, p. 710-716, 2006.

GRAHAM, W. D.; STEVENSON, M. H. Effect of irradiation on vitamin C content of strawberries and potatoes in combination with storage and with further cooking in potatoes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 75, n. 3, p. 371-377, Nov 1997.

GUNES, G.; WATKINS, C. B.; HOTCHKISS, J. H. Effects of irradiation on respiration and ethylene production of apple slices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 8, p. 1169-1175, Jun 2000.

HAGENMAIER, R. D.; BAKER, R. A. Microbial population of shredded carrot in modified atmosphere packaging as related to irradiation treatment. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 1, p. 162-164, Jan-Feb 1998.

HALLMAN, G. J. Phytosanitary Applications of Irradiation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 2, p. 143-151, Mar 2011.

- HUSSAIN, P. R. et al. Gamma irradiation of sun-dried apricots (*Prunus armeniaca* L.) for quality maintenance and quarantine purposes. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 80, n. 7, p. 817-827, Jul 2011.
- JEONG, R.-D. et al. Inhibitory effect of gamma irradiation and its application for control of postharvest green mold decay of Satsuma mandarins. **International Journal of Food Microbiology**, v. 234, p. 1-8, Oct 3 2016.
- JEONG, R. D. et al. Effects of Ionizing Radiation on Postharvest Fungal Pathogens. **Plant Pathology Journal**, v. 31, n. 2, p. 176-180, Jun 2015.
- KOVÁCS, E. et al. Effect of irradiation and storage on cell wall structure of golden delicious and empire apples. **Acta Alimentaria**, v. 26, n. 2, p. 171-190, 1997.
- LEE, J. W. et al. Effect of gamma irradiation on microbial analysis, antioxidant activity, sugar content and color of ready-to-use tamarind juice during storage. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 101-105, Jan 2009.
- LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, v. 7, p. 83-84, 1972.
- MAHTO, R.; DAS, M. Effect of gamma irradiation on the physico-chemical and visual properties of mango (*Mangifera indica* L.), cv. 'Dushehri' and 'Fazli' stored at 20 degrees C. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p. 447-455, Dec 2013.
- MAXIE, E. C. et al. Chemical, economic, physical and physiological limitations to irradiation of fruit. **International atomic energy agency**, Vienna, p. 39-100, 1971.
- MENEZES, J. B.; ALVES, R. E. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita do pedúnculo do caju**. Fortaleza, CE: EMBRAPA-CNPAT., 1995. 20.
- MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 989-995, Jun 2009.
- MOSTAFAVI, H. A. et al. Integrated effect of gamma radiation and biocontrol agent on quality parameters of apple fruit: An innovative commercial preservation method. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 91, p. 193-199, Oct 2013.
- _____. Gamma radiation effects on physico-chemical parameters of apple fruit during commercial post-harvest preservation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 81, n. 6, p. 666-671, Jun 2012.
- MOURA, C. F. H. et al. Increasing shelf life of early dwarf cashew tree peduncle through reduction of storage temperature. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 140-145, Jan-Feb 2010.
- NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 1, p. 45-54, Feb 2003.
- OLIVEIRA, A. C. G. et al. Conservação pós-colheita de goiaba branca Kumagai por irradiação gama: aspectos físicos, químicos e sensoriais. **B.CEPPA**, v. 24, n. 2, p. 375-396, jul/dez 2006.
- PETINARI, R. A.; TARSITANO, M. A. A. Cashew (*Anacardium occidentale* L.) commercialization in northwest of São Paulo state. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 697-699, 2002.

QUEIROZ, C. et al. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1459-1462, Jun 2011.

RASHID, M. H. A. et al. Low-dose gamma irradiation following hot water immersion of papaya (*Carica papaya* linn.) fruits provides additional control of postharvest fungal infection to extend shelf life. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 110, p. 77-81, May 2015.

RASTOGI, N. K. et al. Combined effect of gamma-irradiation and osmotic pretreatment on mass transfer during dehydration. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 4, p. 1059-1063, Dec 2006.

RESURRECCION, A. V. A. et al. Consumers attitudes towards irradiated food: results of a new study. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 2, p. 193-196, 1995.

REYES, L. F.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Electron-beam ionizing radiation stress effects on mango fruit (*Mangifera indica* L.) antioxidant constituents before and during postharvest storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 15, p. 6132-6139, Jul 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. A. **Guide to Carotenoids Analysis in Food**. International Life Sciences Institute Press, 2001 64.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, Aug 15 2010.

SANTOS, A. M. G. et al. Low doses of gamma radiation in the management of postharvest *Lasiodiplodia theobromae* in mangos. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 841-847, Jul-Sep 2015.

SCHWEIGGERT, R. M. et al. Carotenoids, carotenoid esters, and anthocyanins of yellow-, orange-, and red-peeled cashew apples (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, v. 200, p. 274-282, Jun 2016.

SILVA, M. et al. Inactivation of fungi from deteriorated paper materials by radiation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 57, n. 3, p. 163-167, Mar 2006.

SINGH, S. P.; PAL, R. K. Ionizing radiation treatment to improve postharvest life and maintain quality of fresh guava fruit. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 78, n. 2, p. 135-140, Feb 2009.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants, Pt A**, v. 299, p. 152-178, 1999 1999.

SOUNIS, E. **Bioestatística: princípios fundamentais, metodologia estatística, aplicação às ciências biológicas**. 3. Rio de Janeiro: Atheneu, 1985. 317.

SOUZA, A. R. M. et al. Effect of gamma radiation and storage on cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) quality. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 33, n. 3, p. 848-854, May-Jun 2009.

SWEENEY, J. G.; IACOBUCCI, G. A. Effect of substitution on the stability of 3-deoxyanthocyanidins in aqueous-solutions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 531-533, 1983.

TEZOTTO-ULIANA, J. V. et al. Gamma radiation: An efficient technology to conserve the quality of fresh raspberries. **Scientia Horticulturae**, v. 164, p. 348-352, Dec 2013.

VAUGHAN, J.; GEISLER, C. The new Oxford book of food plants. **Nordic Journal of Botany**, v. 18, n. 2, p. 222, 1997.

VELASCO, F. G. et al. Gamma radiation effects on molecular characteristic of vegetable tannins. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 299, n. 3, p. 1787-1792, Mar 2014.

VINSON, J. A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5315-5321, Nov 2001.

WHO. High-dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. **World Health Organization**, p. 197, 1999.

WONG, P. Y. Y.; KITTS, D. D. Factors influencing ultraviolet and electron beam irradiation-induced free radical damage of ascorbic acid. **Food Chemistry**, v. 74, n. 1, p. 75-84, Jul 2001.

ZHAO, M.; MOY, J.; PAULL, R. E. Effect of gamma-irradiation on ripening papaya pectin. **Postharvest biology and technology**, v. 8, n. 3, p. 209-222, 1996.

Anexos

Tabela 4. Valor de F (ANOVA) do efeito dos fatores doses de radiação gama e dias de armazenamento e da interação destes sobre as variáveis analisadas em pedúnculos de caju ‘anão precoce’ irradiados com diferentes doses e armazenados a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\pm 5\%$ UR por 20 dias

Variável	Doses	Dia	Doses x Dia	C.V. (%)
Índice de podridão	31,98**	30,35**	3,17**	24,81
Perda de massa	10,33**	195,7**	19,99*	9,13
Sólidos Solúveis	22,61**	15,31**	0,97 ^{ns}	5,18
Ácido ascórbico	33,74**	25,15**	0,71 ^{ns}	9,84
Firmeza	37,09**	26,05**	0,49 ^{ns}	14,00
Índice de cor	31,17**	16,78**	3,84**	12,71
Atividade respiratória	64,86**	309,54**	38,39**	7,80
Produção de etileno	29,41**	86,08**	13,79**	10,20
Compostos Fenólicos	23,12**	64,42**	3,24**	11,05
Taninos	33,5**	94,23**	2,12*	11,03
Carotenoides	2,26 ^{ns}	28,98**	5,09**	7,44
Antocianinas	15,34**	0,58 ^{ns}	1,65 ^{ns}	20,20

** : $P \leq 0.01$; * : $P \leq 0.05$; ns: não significativo; C.V. (%): coeficiente de variação

Figura 5. Pedúnculos de caju anão-precoces clone CCP-76 submetidos a radiação gama (0,0, 0,5, 1,0 e 2,0 kGy) e armazenados a 5°C e 90% UR, por 20 dias

3. APLICAÇÃO PÓS-COLHEITA DE QUITOSANA PROLONGA A VIDA ÚTIL E CONSERVA A QUALIDADE DE PEDÚNCULOS DE CAJU

RESUMO

O pedúnculo de caju é um pseudofruto carnoso, suculento, de ótimo aroma, apresenta altos teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos. Apesar da condição nutricional a comercialização *in natura* do pedúnculo é limitada principalmente devido a sua alta perecibilidade e susceptibilidade ao ataque de microrganismos patogênicos. A aplicação de recobrimentos comestíveis em frutos apresenta ótimos resultados na conservação dos principais atributos de qualidade, entre eles, a quitosana tornou-se um composto apreciado devido aos seus efeitos fungicidas. O objetivo deste trabalho é estudar o efeito da aplicação pós-colheita de diferentes concentrações de quitosana, na conservação dos principais atributos físico-químicos, nutricionais e nos aspectos fisiológicos de pedúnculos de caju. As concentrações testadas foram: 0 (controle), 0,5, 1,0 e 2,0%. Os pedúnculos foram armazenados a $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ UR, durante 16 dias. O controle e a quitosana a 0,5% foram avaliados até 12º dia devido a incidências de podridões e perda de massa. A aplicação pós-colheita de quitosana nas concentrações de 1 e 2% foram eficientes na conservação dos atributos de qualidade de pedúnculos de caju, sendo que a concentração de 2% foi mais eficiente na redução de podridões, além de reduzir a adstringência do pedúnculo.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*; Recobrimento comestível; Incidência de podridão; Perda de massa; Taxa respiratória

ABSTRACT

Cashew apple is a fleshy, juicy pseudofruit of great aroma, presents high levels of ascorbic acid and phenolic compounds. Despite the nutritional condition, the *in natura* commercialization of the peduncle is limited mainly due to its high perishability and susceptibility to the attack of pathogenic microorganisms. Application of edible coatings in fruits presents excellent results in the conservation of the main attributes of quality, among them; chitosan has become a compound appreciated due to its fungicidal effects. The objective of this work is to study the effect of the post-harvest application of different concentrations of chitosan on the conservation of the main physical-chemical, nutritional and physiological aspects of cashew apple. Concentrations tested were: 0 (control), 0.5, 1.0 and 2.0%. Peduncles were stored at $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ and $90 \pm 5\%$ RH for 16 days. Control and chitosan at 0.5% were evaluated until day 12 due to decay and loss of mass. Post-harvest application of chitosan at concentrations of 1 and 2% were efficient in preserving the quality attributes of cashew apple, with a concentration of 2% being more efficient in the reduction of rot and reducing the astringency of the peduncle.

Keywords: *Anacardium occidentale*; Edible coating; Decay; Weight loss; Respiratory rate

3.1. INTRODUÇÃO

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), pertencente à família Anacardiaceae, é originário da Amazônica e Planalto Central Brasileiro e cultivado em quase toda região tropical do mundo (Purseglove, 1974; Vaughan e Geissler, 1997). Botanicamente o caju é formado pela castanha, que é fruto verdadeiro do tipo aquênio reniforme, e pelo pedúnculo, um pseudofruto carnoso, suculento, de ótimo aroma, e que apresenta altos teores de ácido ascórbico, ácidos fenólicos, flavonóides e taninos (Menezes e Alves, 1995; Filgueiras *et al.*, 1999; Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009; Queiroz *et al.*, 2011). Além disso, apresenta quantidade significativa de minerais, como cobre, zinco, sódio, potássio, cálcio, ferro, fósforo e magnésio (Lowor e Agyente-Badu, 2009).

No Brasil, sua produção se concentra no Nordeste, onde o produto mais importante é a castanha, havendo, contudo, com a difusão do cajueiro tipo ‘anão precoce’, ocorrência de plantios comerciais em outros estados como Mato Grosso do Sul e São Paulo. Nesses, a produção é destinada para o pedúnculo na forma *in natura* (Damasceno Júnior e Bezerra, 2002; Petinari e Tarsitano, 2002). O tipo ‘anão precoce’ apresenta características que o diferenciam tipo comum, como o porte baixo, precocidade, período de produção mais longo e menor variabilidade de castanha e pedúnculo (Lima, 1988).

Apesar da condição nutricional e da difusão da sua produção, a comercialização *in natura* do pedúnculo não apresenta a mesma importância quanto a castanha, principalmente devido a sua alta perecibilidade e estrutura delicada, que facilita a entrada de patógenos e, assim, reduz sua vida útil. Em temperatura ambiente, a vida útil do pedúnculo não ultrapassa 48 horas (Filgueiras *et al.*, 1999; Moura *et al.*, 2010). Assim, técnicas adequadas de manejo pós-colheita, em conjunto com a refrigeração, devem ser estudadas. Tecnologias como a refrigeração (Moura *et al.*, 2010), uso de filme PVC (Moraes *et al.*, 2002), aplicação de cálcio (De Figueiredo *et al.*, 2007) e radiação gama (Souza *et al.*, 2009) vem sendo abordadas até o momento, porém ainda não existem relatos do uso de recobrimento comestíveis.

A aplicação de recobrimentos comestíveis em frutos frescos tem sido amplamente estudada, o interesse crescente pela sua utilização está não só nos seus benefícios qualitativos para a pós-colheita dos frutos como também por ser uma tecnologia de natureza biodegradável, segura ao meio ambiente (Elsabee e Abdou, 2013; Abugoch *et al.*, 2016). Esses revestimentos podem servir como barreira ao vapor de água, reduzindo a perda de massa e de firmeza, atuar no controle da atmosfera interna fruto, dando efeito próximo a atmosfera modificada, ser barreira a gases, reduzindo a taxa respiratória e a produção de etileno e no controle

micribiológico (Baldwin *et al.*, 1995; Valencia-Chamorro *et al.*, 2011; Dhall, 2013; Kerch, 2015).

Entre os diversos revestimento disponíveis, dentre eles a quitosana, um polissacarídeo catiônico, de alto peso molecular, não tóxico, obtido a partir da desacetilação alcalina de quitina, constituinte do exoesqueleto de insetos e crustáceos. A quitosana tornou-se um composto eficiente devido aos seus efeitos fungicidas (Elghaouth *et al.*, 1991; Wilson *et al.*, 1994; Devlieghere *et al.*, 2004), além do custo relativamente baixo e de sua utilização como aditivo alimentar aprovada pela Food and Drug Administration (USFDA) dos Estados Unidos (Knorr, 1986). Diversos trabalhos relatam seus benefícios, em destaque para frutos mais perecíveis como o pedúnculo de caju, entre eles morangos (Elghaouth *et al.*, 1991; Zhang e Quantick, 1998; Saavedra *et al.*, 2016) e framboesas (Tezotto-Uliana *et al.*, 2014). Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da aplicação pós-colheita de diferentes concentrações de quitosana, na conservação dos principais atributos físico-químicos, nutricionais e nos aspectos fisiológicos de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’.

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1. Matéria-prima

Pedúnculos de caju clone CCP-76 ‘anão-precoce’ foram colhidos manualmente pela manhã, das plantações do Sítio Cajueiro, localizado no município de Artur Nogueira, SP (latitude 22° 34’23” Sul, longitude 47°10’21” Oeste e altitude de 588 m). No momento da colheita os pseudofrutos apresentavam-se desenvolvidos em relação ao tamanho e coloração da epiderme de 70-80% vermelho-alaranjada, ponto determinado em experimentos anteriores. Após a colheita, os pedúnculos foram acondicionados em caixas de papelão, sem sobreposição e transportados até o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo - ESALQ/USP, em Piracicaba, SP. No laboratório, os pedúnculos passaram por seleção criteriosa para a obtenção de um lote homogêneo quanto ao tamanho, coloração, ausência de danos mecânicos e patógenos visíveis, em seguida foram sanitizados com hipoclorito de sódio, StartClor®, a 0,5% e colocados para secar sobre papel absorvente, a temperatura ambiente.

3.2.2. *Preparação da solução de quitosana*

O pó de quitosana utilizado foi um produto comercial obtido na empresa Polymar (Fortaleza-CE), com grau de acetilação em torno de 90% e massa molar média elevada. A solução de quitosana foi preparada pelo Laboratório de Pós-Colheita da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, obtida a partir da reação de desacetilação da quitina, por dissolução da amostra comercial (1,0 g de quitosana/100 mL de ácido cítrico 1%) e agitação contínua durante 24 horas. Após este período a solução foi filtrada, sob vácuo, através de membrana de porosidade 5 μm . Para a obtenção da amostra purificada na forma neutra foi utilizada a metodologia desenvolvida por Signini e Campana Filho (2001) As concentrações foram ajustadas com água deionizada e o pH final foi de 5,5.

3.2.3. *Aplicação de quitosana e armazenamento*

Pedúnculos de caju devidamente sanitizados foram separados aleatoriamente em quatro lotes para a aplicação das diferentes concentrações de quitosana: 0; 0,5; 1,0 e 2,0%. Com o auxílio de algodão, o recobrimento foi aplicado manualmente sobre os pedúnculos de forma cuidadosa para que toda a epiderme fosse coberta. Logo em seguida foram deixados secar por 30 minutos à temperatura ambiente e então armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ UR, por 12 ou 16 dias, dependendo do tratamento.

3.2.4. *Análises*

3.2.4.1. *Análise anatômica da epiderme do pedúnculo*

Foram retiradas porções da epiderme na região mediana dos pedúnculos de caju, antes dos tratamentos (dia 0), no primeiro dia de análise (dia 4) e no último dia de armazenamento (dia 12 ou 16, dependendo do tratamento). Estas porções foram colocadas em tubos eppendorf, em fixador Karnovsky e realizadas secções transversais com auxílio de lâmina inoxidável. Para verificar lipídios da cutícula, as secções foram colocadas sobre lâminas histológicas com Sudan IV e coberta com lamínula (Jensen, 1962). A reação positiva para lipídios confere coloração alaranjada. Para verificar a presença da quitosana na epiderme, foi realizado teste com Xylidine Ponceau (Vidal, 1970). As secções permaneceram 15 minutos em contato com Xylidine, após retirada a solução, 30 minutos em ácido acético 3% e realizadas

três lavagens com água destilada. As secções foram transferidas para lâminas histológicas, montadas com glicerina 50% e cobertas com lamínula. A reação positiva para quitosana (grupo amino) confere coloração vermelha. As imagens foram capturadas em microscópio trinocular Leica DM LB acoplado na câmara de vídeo Leica DC 300 F.

3.2.4.2. *Taxa Respiratória (TR) e produção de etileno (PE)*

A TR e a PE foram realizadas no dia da colheita e depois seguindo intervalos de 4 dias. Os pedúnculos foram acondicionados em frascos herméticos e fechados periodicamente, 30 minutos para TR e 90 minutos para PE, à mesma temperatura e condições de umidade relativa do armazenamento refrigerado. Uma amostra de 0,5 mL do gás do interior dos frascos foi recolhida através de um septo de silicone presente nas tampas e injetadas em cromatógrafo a gás Thermo Finnigan, modelo Trace GC Ultra, com dois detectores de ionização de chama (FID), dois injetores, duas colunas Porapak N e um metanador regulado para 350°C. Os resultados foram calculados considerando os valores cromatográficos, massa dos pedúnculos, volume do frasco e tempo que os frascos permaneceram fechados. A taxa respiratória foi expressa em $\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e a produção de etileno em $\mu\text{L de C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

3.2.4.3. *Qualidade físico-química e bioquímica*

As análises foram realizadas logo após a colheita (dia 0) e depois seguindo intervalos de 4 dias, sendo 3 + 1 (frutos foram mantidos durante 1 dia à temperatura de 15°C e 50-60% de UR, simulando condições de comercialização). A incidência de podridão (IP) foi realizada por análise visual, sendo os pedúnculos classificados em 5 categorias: 0 = sem podridão; 1 = pouca (1 a 10%), 2 = média (10 a 20%), 3 = severa (20 a 30%) e 4 = muito severa (acima de 30%). Os resultados foram expressos em %. A perda de massa (PM), em %, foi determinada pela diferença entre a massa inicial da repetição e a massa verificada a cada dia de análise. O índice de cor da epiderme (IC) foi determinado pelos parâmetros $L^* a^* b^*$, por meio do colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta, Mahwah, New Jersey). As leituras foram realizadas em 8 pontos ao longo de todo o pedúnculo e o IC foi calculado por meio da fórmula: $IC = (100 \cdot a) / (L \cdot b)$, com valores variando de 0,0 a 2,0, sendo que quanto maior o valor, mais vermelho o pedúnculo. A firmeza da polpa (FP) foi realizada utilizando-se um penetrômetro digital de bancada (Turon Italy, modelo 53205) com ponteira de 8 mm de diâmetro, efetuando-se duas leituras em lados opostos na região equatorial dos pedúnculos, após pequena remoção

da epiderme. Os resultados foram expressos em Newtons (N). O teor de sólidos solúveis (SS) foi determinado colocando-se a polpa triturada em refratômetro digital portátil Atago, modelo Palete 101, com duas leituras por repetição e resultados expressos em °Brix.

O teor de ácido ascórbico (AA) foi determinado por titulometria, de acordo com metodologia descrita por Carvalho *et al.* (1990) onde 10 g da polpa foram diluídas em 50 mL de ácido oxálico 1% e filtradas com papel quantitativo. A titulação foi realizada com solução de 2,6-diclorofenol-indofenol (DCFI) e os resultados expressos em mg 100 g⁻¹. O teor de antocianinas da epiderme (ANT) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por (Lees e Francis, 1972), onde 5 g de epiderme foram homogeneizadas em 50 mL de solução com etanol 95% e HCl 1,5 N (85:15 v/v) e deixada em repouso por 12 horas a 4°C, tomou-se uma alíquota de 16 mL e ajustou-se o volume para 50 mL, esse extrato ficou em temperatura ambiente na ausência da luz por 40 minutos, com posterior leitura em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22) a 535 nm. Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹. Os carotenoides totais da epiderme (CAR) foram obtidos por metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001), com adaptações, onde 2,5 g de epiderme foram homogeneizadas em 20 mL de acetona seguido de filtração em papel quantitativo. Em funil de separação foram adicionados 22,5 mL de éter de petróleo e a solução de acetona filtrada, descartando-se a fase inferior. A solução dos pigmentos em éter de petróleo foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume. As leituras no espectrofotômetro foram feitas em 450 e 449 nm, para β-caroteno e β-criptoxantina, respectivamente, que representam aproximadamente 70% do total de CAR na epiderme de caju (Schweiggert *et al.*, 2016). Ao final o teor dos dois pigmentos foram somados e os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹. Os compostos fenólicos totais (CF) foram extraídos de acordo com a metodologia de Vinson *et al.* (2001) e descritos por Queiroz *et al.* (2011), onde 5 mL de metanol 50% acidificado com HCl 1,2 M foram adicionados a 1 g de polpa, homogeneizados sob agitação e levados a banho-maria a 90°C por 3 horas. Em seguida, as amostras foram diluídas com 4 mL do mesmo metanol, centrifugadas por 8 minutos a 15.000 xg (Clinical Centrifuge, IEC) e o sobrenadante foi utilizado como extrato. Os CF foram determinados pelo método colorimétrico de Singleton *et al.* (1999), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu 10% e ácido gálico como padrão (0-500 mM), a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 750 nm e os resultados foram expressos em mg EAG 100 g⁻¹. O teor de proantocianidinas (PRO) foi determinado pelo método Vanilina-HCl descrito por Nakamura *et al.* (2003), onde 1 g de polpa triturada foi adicionada de 10 mL de metanol, homogeneizados sob agitação e levados para centrifugação por 15 minutos a 15.000 xg, obtendo-se o extrato. Em tubos de ensaios foram adicionados 1 mL de extrato, 2,5 mL de

solução de vanilina 1% em metanol e 2,5 mL de HCl 9 N em metanol. A mistura foi incubada para reação durante 20 min a 30°C e logo em seguida realizada a leitura em espectrofotômetro a absorvância medida 500 nm. Como curva padrão foi utilizada a catequina (0 – 300 mM) e o resultado foi expresso em mg 100 g⁻¹.

3.2.5. *Delineamento experimental e análise estatística*

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x5 (quatro tratamentos e cinco períodos de análise). Foram utilizadas quatro repetições, constituídas por constituídas por três pedúnculos de caju cada, para as análises de IP, PM, SS, AA, FP e IC, e três repetições em duplicata para as análises de CF, PRO, ANT e CAR. As análises de TR e PE foram realizadas utilizando cinco repetições, com um fruto.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software estatístico Statistical Analysis System – SAS, versão 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, EUA). Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Box-Cox para verificar a normalidade e homogeneidade de variância entre os tratamentos. Quando necessário, os dados foram transformados. Em seguida, foi realizada a análise de variância (ANOVA) pelo Teste F ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$), a fim de estudar os fatores, bem como a interação entre eles e, em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$). Também foi realizado o teste de correlação de Pearson entre as variáveis.

3.3. RESULTADOS

Por meio da análise anatômica da epiderme dos pedúnculos de caju, observamos nas secções transversais que pedúnculos do controle apresentaram reação positiva para lipídeos (Figura 1A) e negativa para grupo amino, referência de quitosana (Figura 1B), indicando que a presença apenas da cera natural do fruto. As Figuras 1C, 1E e 1G indicam a presença do recobrimento no dia 4 para as concentrações de 2, 1 e 0,5%, respectivamente, e as Figuras 1D, 1F e 1H comprovam que a quitosana permaneceu nos pedúnculos até o último dia do armazenamento para essas concentrações, sendo até o dia 12 para quitosana 0,5% e até o dia 16 para 1 e 2%.

Figura 1. Secções transversais da epiderme do pedúnculo de caju com tratamentos: **A:** Controle D0 – reação positiva para lipídeos. **B:** Controle D4 - reação negativa para quitosana. **C:** Quitosana 2% D4 - reação positiva para quitosana. **D:** Quitosana 2% D16- reação positiva para quitosana. **E:** Quitosana 1% D4- reação positiva para quitosana. **F:** Quitosana 1% D16- reação positiva para quitosana. **G:** Quitosana 0,5% D4- reação positiva para quitosana. **H:** Quitosana 0,5% D12- reação positiva para quitosana. Setas = indica reação das proteínas com Xylidine Ponceau. Ct = cutícula, D = Dias e Ep = Epiderme. Foto: Magda A. Tessmer

Durante o período de armazenamento houve aumento na IP e PM dos pedúnculos de caju, com mostra a Figura 2A e 2B. Observamos que a aplicação de quitosana foi eficiente no controle de podridões assim como na redução da PM e consideramos isso uns dos principais benefícios da sua utilização. Verificamos que o limite da IP para pedúnculos de caju é de 30% e de PM de 4 a 5%, momento em que se tornam impróprios para a comercialização.

Figura 2. Incidência de podridão (A) e Perda de massa (B) de pedúnculos de caju ‘anão-precoc’ clone CCP76 tratados com diferentes concentrações de quitosana e armazenados a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e 90% de UR, por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão ($n = 4$). Dados originais, transformação usada para Perda de massa: $x^{0.5}$

A concentração de 0,5% do recobrimento apresentou menor eficiência que as concentrações de 1 e 2%, tanto para IP quanto para a PM, sendo que a PM não diferiu do controle durante todo o período ($P > 0,05$). Ao fim do armazenamento, no 16º dia, o controle e o tratamento de 0,5% de quitosana foram descartados, pois alcançaram os limites estabelecidos,

atingindo 44,17% e 35,83% de IP e 8,66% e 7,53% de PM, respectivamente, sendo, então, analisados até o 12º dia após a colheita para os outros parâmetros.

As concentrações de 1 e 2% do recobrimento prolongaram a vida útil dos pedúnculos até o 16º dia, momento em que os tratamentos se encontravam com 20% e 9,17% dos frutos com podridões, e PM de 4,69% e 4,33%, respectivamente. Desta forma, comprovamos que a concentração de 2% de quitosana foi a mais eficiente no controle de podridões e não apresenta diferenças com a quitosana 1% para a PM. É importante ressaltar que os principais microorganismos patogênicos identificados nos pedúnculos de caju foram: *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp., *Acremonium* sp., *Curvularia* sp.

Com relação a TR e a PE, observamos também a efetividade do recobrimento de quitosana na redução do metabolismo dos frutos (Figura 3A e 3B).

A TR dos pedúnculos diminuiu drasticamente do dia da colheita para o primeiro dia de análise para todos os tratamentos e, então, se manteve constante até o fim do armazenamento. Verificamos que essa redução foi maior para os pedúnculos tratados com quitosana quando comparado ao controle, sendo que, para o tratamento de 1 e 2%, a redução foi de 85%, e para a concentração de 0,5% de 81%, enquanto que para o controle foi de 70%. Nos dias 4 e 8 não há diferenças entre as concentrações de 0,5, 1 e 2% e no 12º e 16º dia a concentração de 2% reduziu ainda a respiração dos frutos, diferenciando dos outros tratamentos ($P < 0,05$).

Figura 3. Taxa respiratória (A) e Produção de etileno (B) de pedúnculos de caju ‘anão-precoces’ clone CCP76 tratados com diferentes concentrações de quitosana e armazenados a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e 90% de UR, por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão ($n = 5$). Dados originais, transformação usada para Taxa respiratória: $x^{-1,0}$ e produção de etileno: $x^{-2,0}$

Observamos que a PE em pedúnculos de caju é baixa e que a aplicação de quitosana diminui ainda mais a produção desse hormônio. No dia da colheita a PE foi de $0,72 \mu\text{L}$ de $\text{C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, a qual teve queda no dia 4 para todos os tratamentos, de maneira mais acentuada para frutos tratados com 2% do recobrimento, os quais produziram $0,20 \mu\text{L}$ de $\text{C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, não diferindo das outras concentrações, mas diferindo do controle, que produziu $0,38 \mu\text{L}$ de $\text{C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ neste dia. Essa diferença foi mantida durante todo o armazenamento. Os tratamentos de 0,5 e 1% de quitosana diferiram do controle no dia 8, apresentando PE mais baixa, mas no dia 12 a concentração de 0,5% não diferiu. É importante ressaltar que a correlação entre a TR e PE foi altamente positiva ($r^2 = 0,94$).

Para as variáveis FP e AA não houve interação significativa entre concentração de quitosana $\times$ dia de armazenamento ($P > 0,05$), desta forma, os dados serão apresentados e

discutidos por meio da média (Tabela 1). A manutenção da firmeza é um atributo físico importante para a vida útil de pedúnculos de caju. A FP dos frutos tratados com quitosana (média de 6,14 N) foi significativamente maior que os do controle (média de 4,78 N). Com relação aos dias de armazenamento, a FP foi reduzida em aproximadamente 50% até o 12º dia, sendo que no último dia de análise houve um pequeno aumento, o que provavelmente se deve ao acréscimo da perda de massa, visto que essas variáveis tiveram alta correlação negativa ($r^2 = -0,94$).

O teor de AA dos pedúnculos de caju não foi alterado pelo uso da quitosana, quando comparados ao controle, obtendo teores variando de 143,71 a 154,07 mg 100 g⁻¹. Verificamos entre os dias de armazenamento, que houve aumento no teor de AA para todos os tratamentos do dia 0 até o 8º dia, quando atingiram, em média, 183,67 mg 100 g⁻¹. A partir desse dia até o fim do armazenamento, os teores reduziram e chegaram a 140,07 mg 100 g⁻¹, valor próximo ao encontrado no 4º dia de análise.

Tabela 1. Firmeza de polpa e teor de ácido ascórbico de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’ clone CCP76 tratados com diferentes concentrações de quitosana e armazenados a 5±1°C e 90% de UR, por 16 dias.

	Firmeza (N)	Ácido Ascórbico (mg 100 g ⁻¹)
<i>Quitosana (%)</i>		
0	4,78 c	151,00 ab
0,5	5,12 b	154,07 a
1,0	5,36 b	143,71 b
2,0	6,14 a	146,88 ab
Pr > F	0,0105	0,0460
<i>Dias após a colheita</i>		
0	7,91 a	118,92 d
4	5,91 b	143,77 bc
8	4,94 c	183,67 a
12	3,88 d	151,92 b
16	4,11 cd	140,07 c
Pr > F	0,0000	0,0000
C.V. (%)	14,66	1,27

Médias seguidas de letras diferentes dentro da coluna apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey, $P < 0,05$ ($n = 4$). Dados originais, transformação usada para Ácido ascórbico: $\log(x)$

Com relação ao SS, verificamos aumento do seu teor para todos os tratamentos durante o armazenamento (Figura 4A). No dia 4, o controle atingiu valor de 10,95 °Brix e se manteve estável até o 12º dia, último dia de seu armazenamento. Diferenças significativas entre

os tratamentos foram encontradas somente no 12º dia, onde pedúnculos submetidos ao recobrimento apresentavam teores significativamente superiores ($P<0,05$) ao controle, alcançando, em média, 11,83 °Brix. No 16º dia, os tratamentos de 1 e 2% de quitosana apresentaram uma pequena redução nesse valor, obtendo teores de 10,98 e 11,11 °Brix, respectivamente, porém sem diferenças significativas com o dia anterior.

Figura 4. Teor de sólidos solúveis (A) e Acidez titulável (B) de pedúnculos de caju 'anão-precoce' clone CCP76 tratados com diferentes concentrações de quitosana e armazenados a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e 90% de UR, por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão ($n = 4$)

A AT sofreu redução para todos os tratamentos durante o armazenamento. Observamos, porém, que a aplicação das maiores concentrações de quitosana (1 e 2%) manteve a AT mais elevada a partir do 8º dia (Figura 4B). Com relação ao teor inicial, no 12º dia, a redução foi em torno de 29% para as concentrações de 1 e 2% do recobrimento, atingindo valores de 0,45 e 0,46% de ácido málico, respectivamente, e de 48% para o tratamento de 0,5%

e o controle. No fim do experimento (16º dia), as maiores concentrações também atingiram a média de 48% de redução da AT, com valores médios de 0,35% de ácido málico.

Para avaliar a coloração da epiderme dos pedúnculos de caju levamos em consideração o IC e, para comprovar esse atributo físico, realizamos análises dos seus principais pigmentos: antocianinas e carotenoides.

Figura 5. Índice de cor (A) e Antocianinas da epiderme (B) de pedúnculos de caju 'anão-precoce' clone CCP76 tratados com diferentes concentrações de quitosana e armazenados a 5±1°C e 90% de UR, por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão (A: n = 4) (B: n = 3). IC = (100*a) / (L*b)

Observamos que os pedúnculos de caju de todos os tratamentos se tornaram mais avermelhados (maior valor de a^*) ao longo do armazenamento, indicado pela elevação do IC, aumento e maior teor de ANT em relação ao teor de CAR. Essas variáveis apresentam correlações altas e positivas, sendo $r^2 = 0,95$ para IC x ANT e $r^2 = 0,94$ para IC x CAR.

Para o IC, não houve diferenças significativas entre o controle e a quitosana de 0,5% durante todo o período de armazenamento, e até o 8º dia entre o controle e as outras duas concentrações. No 12º dia, frutos tratados com 1 e 2% de quitosana diferiram significativamente do controle e apresentaram menor IC, porém sem diferenças em relação aos frutos tratados com 0,5% de quitosana (Figura 5A). No 16º dia, os tratamentos de 1 e 2% do recobrimento chegaram ao valor de IC de 1,97, o mesmo alcançado pelo controle no 12º dia, e estavam com a epiderme mais vermelha.

Com relação a ANT da epiderme, observamos que da colheita para o primeiro dia de análise apenas o controle resultou em aumento significativo no teor desse pigmento, atingindo 7,65 mg 100 g⁻¹ (Figura 5B). Diferenças entre os tratamentos foram encontradas no dia 8 e 12, onde o controle chegou ao teor de ANT de 10,87 e 11,99 mg 100 g⁻¹, respectivamente, sendo estatisticamente superior aos demais. No 16º dia, os tratamentos com 1 e 2% de quitosana não apresentaram diferenças significativas entre eles e alcançam teores de 10,69 e 11,49 mg 100 g⁻¹, respectivamente.

Para as variáveis CAR, CF e PRO não houve interação significativa entre concentração de quitosana x dia de armazenamento ($P>0,05$) e, desta forma, os dados serão apresentados por meio da média (Tabela 2).

Verificamos que os CAR estão em igual quantidade que as ANT na epiderme dos pedúnculos de caju apenas no dia 0, quando colhidos, e contribuem para a coloração amarelo e alaranjado intenso. Porém, o teor de CAR não se eleva da mesma maneira que as ANT, por isso a coloração vermelha prevalece. A quantidade média de CAR no controle (6,98 mg 100 g⁻¹) foi estatisticamente superior aos demais tratamentos. Desta forma, o uso de quitosana reduz a produção desse pigmento. Com relação ao dias de armazenamento, o teor de CAR aumentou 40% do dia 0 ao 16º, sendo que do dia 4º ao 12º dia se manteve constante.

O teor de CF dos pedúnculos de caju tratados com quitosana foram, em média, significativamente superiores aos não tratados, atingindo valores de 32,62, 33,10 e 32,73 mg 100 g⁻¹, para as concentrações de 0,5, 1 e 2%, respectivamente. O controle apresentou, em média, 31,02 mg 100 g⁻¹. Durante os dias de armazenamento, o teor de CF aumentou do dia da colheita para o primeiro dia de análise e então se manteve constante até o 12º dia. No 16º dia, os CF tiveram uma pequena queda e atingiram valor médio de 31,85 mg 100 g⁻¹, sendo ainda estatisticamente superior ao dia da colheita.

Tabela 2. Carotenoides da epiderme, compostos fenólicos e proantocianidinas de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’ clone CCP76 tratados com diferentes concentrações de quitosana e armazenados a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e 90% de UR, por 16 dias.

	Carotenoides da epiderme (mg 100 g ⁻¹)	Compostos Fenólicos (mg EAG 100 g ⁻¹)	Proantocianidinas (mg 100 g ⁻¹)
<i>Quitosana (%)</i>			
0	6,98 a	31,02 b	6,69 a
0,5	5,95 b	32,62 a	6,70 a
1,0	6,20 b	33,10 a	5,88 b
2,0	6,18 b	32,73 a	6,06 b
Pr > F	0,0009	0,0000	0,0370
<i>Dias após a colheita</i>			
0	4,58 c	29,98 c	7,65 a
4	6,30 b	33,79 a	6,20 b
8	6,48 b	33,20 a	6,29 b
12	6,90 b	34,04 a	5,66 bc
16	7,59 a	31,85 b	5,01 c
Pr > F	0,0000	0,0000	0,0000
C.V. (%)	7,42	2,31	9,09

Médias seguidas de letras diferentes dentro da coluna apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey, $P < 0,05$ ($n = 3$).

Com relação ao teor de PRO, observamos que o teor desse tanino foi significativamente menor nas concentrações de 1 e 2% de quitosana comparado ao controle e ao tratamento de 0,5%, atingindo valores médios de 5,88 e 6,06 mg 100 g⁻¹, respectivamente. Houve redução de PRO para todos os tratamentos durante o período de armazenamento refrigerado, sendo que essa redução chegou a 35% no 16º dia.

3.4. DISCUSSÃO

O resultado benéfico da quitosana no controle de podridões pode ser devido estar a duas causas principais: uma está relacionada a sua propriedade em formar um revestimento, como comprovado por meio da análise anatômica, e outra a sua estrutura química; no entanto, o efeito do recobrimento depende de suas concentrações. A película formada pode agir como uma barreira ao fluxo de nutrientes entre o fruto e o patógeno, reduzindo a disponibilidade de nutrientes para os microorganismos, além de criar uma atmosfera modificada que inibe o crescimento dos mesmos (Ait Barka *et al.*, 2004). Quanto à estrutura química da quitosana, a inibição do crescimento de fungos e bactérias se dá através de forças eletroestáticas entre os grupos amino protonados (NH₂) presentes na quitosana e as cargas ou grupos fosforil presentes

na superfície celular dos microorganismos (Elsabee e Abdou, 2013; Pichyangkura e Chadchawan, 2015). Em nosso estudo, a aplicação da concentração de 2% de quitosana possivelmente deixou maior quantidade de resíduo na superfície dos pedúnculos, aumentando seu efeito e reduzindo a IP.

A propriedade de formação de revestimento da quitosana, construindo uma barreira seletiva em torno da epiderme dos frutos, implica também na obtenção de outros resultados favoráveis a vida útil dos pedúnculos, entre eles, a redução da PM. Este resultado pode ser atribuído à menor difusão de vapor de água através da cutícula, diminuindo assim a perda de umidade pelo fruto e consequentemente reduzindo sua PM (Hong *et al.*, 2012; Qiu, 2013). A PM também está associada à perda de água e carbono pela respiração, a qual também é controlada pela permeabilidade seletiva do recobrimento que atua na regulação da troca de gases como uma barreira para a entrada de O₂ (Hernandez-Munoz *et al.*, 2008; Elsabee e Abdou, 2013).

Observamos então, que estes resultados da PM estão coerentes a TR e a PE dos pedúnculos, que são reduzidas pelo uso da quitosana, com maior efeito nas doses de 1 e 2%. O controle da troca gasosa entre o fruto e o ambiente reduz também a ação das enzimas-chave da biossíntese de etileno, a ACC oxidase e a AAC sintase, que são intensamente afetadas pela presença de oxigênio (Noh, 2005). Desta forma, verificamos que o além da quitosana possuir ação direta sobre patógenos, pode atuar de maneira indireta pelo retardo do metabolismo vegetal, apresentando efeito positivo à sua capacidade de prolongar a vida útil dos frutos.

Com relação a FP, os resultados obtidos para esta variável estão de acordo com os obtidos na análise de PM e TR, uma vez que os frutos tratados com quitosana, principalmente a 1 e 2%, apresentaram menor perda de massa fresca e menor respiração. A manutenção da firmeza dos frutos tratados com quitosana pode ser devida à atividade antifúngica deste produto e pela formação de recobrimento, contribuindo dessa maneira para a redução do IP, e para o atraso dos processos senescência dos frutos, entre eles, a perda de FP (Ali *et al.*, 2011). Os efeitos positivos dos tratamentos de quitosana sobre a firmeza de frutos também foram observados em morango (Hernandez-Munoz *et al.*, 2008), uva (Al-Qurashi e Awad, 2015), kiwi (Kaya *et al.*, 2016) e maçã (Gardesh *et al.*, 2016).

O teor de AA dos pedúnculos não foi afetado pelo uso de quitosana. Era esperado que a atmosfera modificada causada pela quitosana pudesse afetar o conteúdo de AA, devido à limitação a passagem de O₂. Sabe-se que a degradação do AA ocorre pela atividade da enzima ascorbato oxidase, a qual, na presença de O₂, converte o AA em ácido dehidroascórbico (Saari *et al.*, 1995). Possivelmente, a barreira a esse gás não foi suficiente para reduzir a atividade da

ascorbato oxidase, mas foi suficiente para reduzir a TR e outras oxidações, sem permitir anaerobiose.

O incremento observado para o teor de AA do dia 0 ao dia 8 pode ser explicado pelo estágio de maturação intermediário em que o pedúnculo foi colhido. Figueiredo *et al.* (2002), ao trabalharem com sete estádios de maturação de pedúnculos de caju, mostraram que o teores mais alto de AA é alcançado nos últimos estádios da maturação, atingido pelo pedúnculo provavelmente no oitavo dia de armazenamento. Observamos que tanto o teor de AA quanto de SS aumentaram durante o armazenamento para todos os tratamentos. Mesmo o pedúnculo do caju sendo considerado um pseudofruto não climatérico, algumas mudanças como essas, somada à redução da AT e alteração na cor foram notadas e parecem estar independente de aumentos na PE e na TR. No entanto, os menores valores de SS para os frutos do controle no 12º dia pode ser devido ao maior consumo de açúcares via metabolismo respiratório (Figueiredo *et al.*, 2007).

A maior AT dos frutos tratados com concentrações mais elevadas de quitosana pode estar associada ao efeito deste recobrimento na redução do metabolismo dos pedúnculos, uma vez que os ácidos orgânicos na maioria dos frutos diminuem com o amadurecimento e senescência, devido ao consumo dos ácidos durante a respiração, como observado em nêspersas tratadas com quitosana (Song *et al.*, 2016). Zhang e Quantick (1998) mostraram em seu trabalho a relação entre a AT e resistência de frutos à patógenos, sendo que quanto maior porcentagem de ácido nos frutos tratados com quitosana menor foi o desenvolvimento fúngico. Fischer *et al.* (2009) fazem essa relação entre mangas e a antracnose, uma das principais doenças pós-colheita em pedúnculos de caju.

Sabe-se que a síntese de antocianina continua após a colheita e também em armazenamento a baixa temperatura (Kalt *et al.*, 1999), porém o uso do recobrimento retardou o desenvolvimento de cor dos pedúnculos, observado pelos menores teores desse pigmento e de carotenoides em relação ao controle e indicado pelo IC, uma vez que a aplicação de quitosana atrasa o processo de amadurecimento e a senescência, consequentemente resultando na redução da mudança de coloração dos frutos. Esse atraso na coloração dos frutos, pelo uso de quitosana, também foi relado em morango, um fruto não climatérico (Elghaouth *et al.*, 1991; Kerch *et al.*, 2011).

A quitosana também tem potencial para induzir enzimas relacionadas à defesa e conteúdos fenólicos em plantas (Bautista-Banos *et al.*, 2006). Verificamos nesse estudo maior teor de CF totais em pedúnculos de caju revestidos de quitosana. Resultado similar foi encontrado em tomates (Liu *et al.*, 2007). A principal justificativa para isso é que a quitosana

pode inibir a atividade da polifenoloxidase, uma enzima que está envolvida no processo de degradação do composto fenólico (Jiang e Li, 2001).

É importante ressaltar que o aumento de CF observado pela aplicação da quitosana diz respeito ao seu conteúdo total, uma vez que os diferentes compostos podem apresentar comportamentos distintos com relação ao seu teor. Em uvas, por exemplo, o tratamento com quitosana a 0,5 e 1% manteve maior concentração total de fenóis e catequina, mas menor teor de quercetina (Shiri *et al.*, 2013). Com o pedúnculo de caju, observamos que o teor de taninos (proantocianidinas) não se comporta da mesma forma que o conteúdo fenólico total e reduz com o uso de recobrimento a 1 e 2%. Provavelmente, a redução de taninos nessas concentrações se deve a maior barreira formada pela quitosana, limitando a passagem de O₂. Em condições de baixa concentração de O₂, o piruvato sofre descaboxilação e libera acetaldeído, que quando acumulado, leva a produção de etanol e maior polimerização das proantocianidinas, reduzindo a adstringência do fruto (Hribar *et al.*, 2000).

Em conclusão, a aplicação pós-colheita de quitosana nas concentrações de 1 e 2% é eficiente na conservação dos atributos de qualidade de pedúnculos de caju até o 16º dia após a colheita, sendo que a concentração de 2% foi mais eficiente na redução de podridões, além de reduzir a adstringência do pedúnculo, podendo dessa forma ser a mais indicada.

Referências

- ABUGOCH, L. et al. Shelf-life of fresh blueberries coated with quinoa protein/chitosan/sunflower oil edible film. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 2, p. 619-626, Jan 2016.
- AIT BARKA, E. et al. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. **Plant Cell Rep**, v. 22, n. 8, p. 608-14, Mar 2004.
- AL-QURASHI, A. D.; AWAD, M. A. Postharvest chitosan treatment affects quality, antioxidant capacity, antioxidant compounds and enzymes activities of 'El-Bayadi' table grapes after storage. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 392-398, Dec 2015.
- ALI, A. et al. Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. v. 124, n. 2, p. 620–626, Jan 2011.
- BALDWIN, E. A.; NISPEROSCARRIEDO, M. O.; BAKER, R. A. Edible coatings for lightly processed fruits and vegetables. **Hortscience**, v. 30, n. 1, p. 35-38, Feb 1995.
- BAUTISTA-BANOS, S. et al. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, v. 25, n. 2, p. 108-118, Feb 2006.
- CARVALHO, C. R. L. et al. **Análises Químicas: Manual Técnico: ITAL**: 121 p. 1990.

DAMASCENO JÚNIOR, J. A.; BEZERRA, F. C. Quality of early dwarf cashew peduncles from plants cultivated under irrigation and different management and spacing systems. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 258-262, 2002.

DE FIGUEIREDO, R. W. et al. Quality of cashew pseudofruits treated with calcium at postharvest and stored under refrigeration. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 475-482, Apr 2007.

DEVLIEGHERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, v. 21, n. 6, p. 703-714, Dec 2004.

DHALL, R. K. Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 435-450, Jan 2013.

ELGHAOUTH, A. et al. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 6, p. 16-18, Nov-Dec 1991.

ELSABEE, M. Z.; ABDOL, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications**, v. 33, n. 4, p. 1819-1841, May 2013.

FIGUEIREDO, R. W. et al. Quality of cashew pseudofruits treated with calcium at postharvest and stored under refrigeration. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 475-482, Apr 2007.

FIGUEIREDO, R. W. D. et al. Physical–chemical changes in early dwarf cashew pseudofruits during development and maturation. **Food Chemistry**, v. 77, n. 3, p. 343-347, 2002.

FILGUEIRAS, H. A. C. et al. Cashew apple for fresh consumption: Research on harvest and postharvest technology in Brazil. In: MICHALEZUK, L. (Ed.). **International Symposium on Effect of Preharvest and Postharvest Factors on Storage of Fruit**, 1999. p.155-160. (Acta Horticulturae).

FISCHER, I. H. et al. Postharvest diseases of mango varieties cultivated in Pindorama, State of São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 352-359, Jun 2009.

GARDESH, A. S. K. et al. Effect of nanochitosan based coating on climacteric behavior and postharvest shelf-life extension of apple cv. Golab Kohanz. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 70, p. 33-40, Jul 2016.

HERNANDEZ-MUNOZ, P. et al. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria x ananassa*) quality during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 110, n. 2, p. 428-435, Sep 2008.

HONG, K. Q. et al. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruit during cold storage. **Scientia Horticulturae**, v. 144, p. 172-178, Sep 2012.

HRIBAR, J. et al. Changes during storing and astringency removal of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). **Acta Alimentaria**, v. 29, n. 2, p. 123-136, Jun 2000.

JENSEN, W. A. **Botanical Histochemistry: Principles and practices**. San Francisco: Freeman, 1962.

JIANG, Y. M.; LI, Y. B. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. **Food Chemistry**, v. 73, n. 2, p. 139-143, May 2001.

KALT, W. et al. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 4638-4644, Nov 1999.

KAYA, M. et al. Chitosan coating of red kiwifruit (*Actinidia melanandra*) for extending of the shelf life. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 355-360, Apr 2016.

KERCH, G. Chitosan films and coatings prevent losses of fresh fruit nutritional quality: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 2, p. 159-166, Dec 2015.

KERCH, G. et al. Effect of chitosan and chitoooligosaccharide on vitamin C and polyphenols contents in cherries and strawberries during refrigerated storage. **European Food Research and Technology**, v. 233, n. 2, p. 351-358, Aug 2011.

KNORR, D. Nutritional quality, food processing, and biotechnology aspects of chitin and chitosan: a review. **Process biochemistry**, v. 21, p. 90-92, 1986.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, v. 7, p. 83-84, 1972.

LIMA, V. D. P. M. S. **A cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil**. BNB: Estudos Econômicos e Sociais, 1988.

LIU, J. et al. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 44, n. 3, p. 300-306, Jun 2007.

LOWOR, S. T.; AGYENTE-BADU, C. K. Mineral and proximate composition of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice from northern savannah, forest and coastal savannah regions in Ghana. **American Journal Food Technology**, v. 4, p. 154-161, 2009.

MENEZES, J. B.; ALVES, R. E. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita do pedúnculo do caju**. Fortaleza, CE: EMBRAPA-CNPAT., 1995. 20.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 989-995, Jun 2009.

MORAIS, A. D. S. et al. Storage of cashew apples from dwarf clones CCP-76, end-157, end-183 and end-189 under refrigeration and modified atmosphere. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 647-650, 2002.

MOURA, C. F. H. et al. Increasing shelf life of early dwarf cashew tree peduncle through reduction of storage temperature. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 140-145, Jan-Feb 2010.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 1, p. 45-54, Feb 2003.

NOH, J. K.-M. **Effect of Chitosan and Water Soluble Chitosan Coatings on Quality of Small Fruits**. 2005. (Master of Science). University of Tennessee.

PETINARI, R. A.; TARSITANO, M. A. A. Cashew (*Anacardium occidentale* L.) commercialization in northwest of São Paulo state. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 697-699, 2002.

PICHYANGKURA, R.; CHADCHAWAN, S. Biostimulant activity of chitosan in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 49-65, Nov 2015.

PURSEGLOVE, J. W. **Tropical Crops Dicotyledons**. London: Longman Group Ltd, 1974.

QIU, M., JIANG, H., REN, G., HUANG, J., WANG, X. Effect of chitosan coatings on postharvest green asparagus quality. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 2027–2032, 15 February 2013.

QUEIROZ, C. et al. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1459-1462, Jun 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. A. **Guide to Carotenoids Analysis in Food**. International Life Sciences Institute Press, 2001. 64.

SAARI, N. B. et al. Distribution of ascorbate oxidase activities in the fruits of family cucurbitaceae and some of their properties. **Journal of food biochemistry**, v. 19, n. 1, p. 321–327, 1995.

SAAVEDRA, G. M. et al. Effects of preharvest applications of methyl jasmonate and chitosan on postharvest decay, quality and chemical attributes of *Fragaria chiloensis* fruit. **Food Chemistry**, v. 190, p. 448-453, Jan 2016.

SCHWEIGGERT, R. M. et al. Carotenoids, carotenoid esters, and anthocyanins of yellow-, orange-, and red-peeled cashew apples (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, v. 200, p. 274-282, Jun 2016.

SHIRI, M. A. et al. Chitosan coating improves the shelf life and postharvest quality of table grape (*Vitis vinifera*) cultivar Shahroudi. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 37, n. 2, p. 148-156, 2013.

SIGNINI, R.; CAMPANA FILHO, S. P. Characteristics and properties of purified chitosan in the neutral, acetate and hydrochloride forms. **Polímeros**, v. 11, n. 2, p. 58-64, 06/2001.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants, Pt A**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SONG, H. W. et al. Effects of chitosan/nano-silica on postharvest quality and antioxidant capacity of loquat fruit during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 119, p. 41-48, Sep 2016.

SOUZA, A. R. M. et al. Effect of gamma radiation and storage on cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) quality. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 33, n. 3, p. 848-854, May-Jun 2009.

TEZOTTO-ULIANA, J. V. et al. Chitosan applications pre- or postharvest prolong raspberry shelf-life quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 91, p. 72-77, May 2014.

VALENCIA-CHAMORRO, S. A. et al. Antimicrobial Edible Films and Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 9, p. 872-900, Oct-Nov 2011.

VAUGHAN, J.; GEISSLER, C. The new Oxford book of food plants. **Nordic Journal of Botany**, v. 18, n. 2, p. 222, 1997.

VIDAL, B. C. Dichroism in collagen bundles stained with Xylidine-Ponceau 2R. **Annales d'Histochimie**, v. 15, n. 4, p. 289-96, Oct-Dec 1970.

VINSON, J. A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5315-5321, Nov 2001.

WILSON, C. L. et al. Potencial of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plant Disease**, v. 78, n. 9, p. 837-844, Sep 1994.

ZHANG, D. L.; QUANTICK, P. C. Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 73, n. 6, p. 763-767, Nov 1998.

Anexos

Tabela 3. Valor de F (ANOVA) do efeito dos fatores quitosana (tratamento) e dias de armazenamento e da interação destes sobre as variáveis analisadas em pedúnculos de caju ‘anão precoce’ recobertos com diferentes concentrações de quitosana e armazenados a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\pm 5\%$ UR por 20 dias

Variável	Tratamentos	Dia	Trat. x Dia	C.V. (%)
Índice de podridão	304,5**	468,06**	37,37**	15,52
Perda de massa	151,52**	698,74**	12,62**	5,09
Sólidos Solúveis	0,80 ^{ns}	38,51**	2,89*	3,68
Acidez titulável	1,61 ^{ns}	202,78**	4,57**	6,14
Ácido ascórbico	2,86*	94,86**	1,61 ^{ns}	1,27
Firmeza	7,00**	62,96**	1,50 ^{ns}	14,66
Índice de cor	8,65**	89,01**	2,25*	9,32
Taxa respiratória	82,85**	201,50**	7,54**	2,60
Produção de etileno	45,91**	125,61**	3,41**	11,16
Compostos Fenólicos	7,03**	59,12**	1,33 ^{ns}	2,31
Proantocianidinas	3,12*	25,90**	0,62 ^{ns}	9,09
Carotenoides	4,43**	60,96**	1,31 ^{ns}	7,42
Antocianinas	11,18**	112,96**	3,32**	10,74

** : $P \leq 0.01$; * : $P \leq 0.05$; ns: não significativo; C.V. (%): coeficiente de variação

Figura 6. Pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 submetidos a aplicação de quitosana (0,0, 0,5, 1,0 e 2,0%) e armazenados a 5°C e 90% UR, por 16 dias

4. ATMOSFERA MODIFICADA PASSIVA NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE PEDÚNCULOS DE CAJU ‘ANÃO-PRECOCE’

RESUMO

O pedúnculo de caju é um pseudofruto considerado não-climatérico, carnoso e suculento; apresenta teor significativo de ácido ascórbico, composto fenólicos e um alto potencial antioxidante. Porém, apresenta entraves na comercialização do pedúnculo fresco devido principalmente a sua alta perecibilidade e falta de técnicas adequadas de manejo pós-colheita. Entre as tecnologias de pós-colheita estudadas para pedúnculos de caju, a atmosfera modificada passiva (AMP) foi relatada como meio de conservação desse pseudofruto. Ela consiste, através do uso de filmes plásticos, em reduzir a concentração de oxigênio e elevar a concentração de dióxido de carbono, diminuindo assim a atividade respiratória, retardando a senescência e, aumentando a vida útil dos pedúnculos mantidos sob refrigeração. Esse trabalho teve como objetivo utilizar diferentes filmes plásticos microperfurados e encontrar aquele que permita a melhor concentração atmosférica de O₂ e CO₂ para a conservação dos principais atributos físico-químicos, nutricionais e fisiológicos de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’. Para isso foram utilizados cinco diferentes filmes plásticos: policloreto de vinila (PVC) de 14 µm, polietileno de baixa densidade (PEBD) de 25 µm, polipropileno (PP) de 25 µm, polipropileno de camada biorientada (BOPP) de 20 µm e poliamida polietileno (PA/PE) de 25 µm de espessura. Dentre os materiais testados, o de PEBD, que gerou concentração de 11% de O₂ e 8% de CO₂, foi o mais eficiente para a conservação da qualidade visual e nutricional de pedúnculos de caju até o 20º dia após a colheita.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*; Qualidade; Filmes plásticos; Microperfuração; Perda de massa

ABSTRACT

Cashew apple is a pseudofruit considered non-climacteric, fleshy, juicy, has a significant content of ascorbic acid, phenolic compound and a high antioxidant potential. However, it presents obstacles in the commercialization of the fresh peduncle due to its mainly its high perishability and lack of adequate post-harvest management techniques. Among post-harvest technologies studied for cashew peduncles, the passive modified atmosphere (MAP) was used as a means of preserving this pseudofruit and, through the use of plastic films, reduces the concentration of oxygen and raise the concentration of carbon, thereby decreasing respiratory activity, delaying senescence, and ultimately increasing the shelf life of products kept under refrigeration. This study aimed to use different microperforated plastic films and to find the one that allows the best atmospheric concentration of O₂ and CO₂ for the conservation of the main physical-chemical, nutritional and physiological attributes of peduncles of 'dwarf-precocious' cashew. Different plastic films: polyvinyl chloride (PVC) 14 µm, low density polyethylene (LDPE) 25 µm, polypropylene (PP) 25 µm, polypropylene of bioriented layer (BOPP) 20 µm and polyamide polyethylene (PA/PE) 25 µm. The PVC film was evaluated until day 12 due to decay, loss of mass and reduction of firmness. The use of MAP on average 11% of O₂ and 8% of CO₂, provided by LDPE film, is the most efficient in conserving the visual and nutritional quality attributes of cashew peduncles until the 20th day after harvest.

Keywords: *Anacardium occidentale*; Quality; Plastic films; Microperforation; Weight loss

4.1. INTRODUÇÃO

O caju (*Anacardium occidentale* L.), pertencente à família Anacardiaceae, é nativo da América tropical, da região Amazônica e Planalto Central Brasileiro, sendo cultivado economicamente em vários países da Ásia, África e América Central (Purseglove, 1974; Daramola, 2013). Além de ser o centro de origem, o Brasil é o maior produtor e consumidor de caju, tanto da castanha, que botanicamente é o fruto verdadeiro, quanto do pedúnculo (Ramos *et al.*, 1996; Fao, 2013). O pedúnculo de caju é um pseudofruto considerado não-climatérico. É carnoso e suculento; apresenta teor significativo de ácido ascórbico, ácidos fenólicos, flavonoides, taninos e alto potencial antioxidante (Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009; Queiroz *et al.*, 2011).

Apesar da interessante composição nutricional do pedúnculo, a produção da castanha tem sido economicamente mais importante, sendo que no nordeste brasileiro apenas 10% dos pedúnculos são comercializados na forma *in natura* (Gordon *et al.*, 2012). Plantações mais recentes em outras regiões do país, como no Mato Grosso do Sul e São Paulo, ainda que com dificuldade, são destinadas para o pedúnculo na forma *in natura* (Damasceno Júnior e Bezerra, 2002; Petinari e Tarsitano, 2002). Os principais entraves da comercialização do pedúnculo fresco estão ligados a sua aceitação, devido à elevada adstringência e, principalmente, à sua alta perecibilidade e falta de técnicas adequadas de manejo pós-colheita (Filgueiras *et al.*, 1999; Souza *et al.*, 2016).

Entre as tecnologias de pós-colheita estudadas para pedúnculos de caju, a atmosfera modificada passiva (AMP), utilizando filme de policloreto de vinila (PVC), foi relatada como método de conservação desse pseudofruto (Moraes *et al.*, 2002; Moura *et al.*, 2005). A finalidade dessa técnica é, com o uso de filmes plásticos (embalagens), reduzir a concentração de oxigênio e elevar a concentração de dióxido de carbono ao redor do produto armazenado, diminuindo assim a atividade respiratória, retardando a senescência e, finalmente, aumentando a sua vida útil (Zagory e Kader, 1988; Sandhya, 2010).

A modificação atmosférica interna do sistema de embalagem de forma passiva se dá pela interação de dois principais processos: respiração do produto e a transferência dos gases entre a atmosfera externa e interna, permitida pela permeabilidade do filme, até que entrem em equilíbrio, atingindo o estado estacionário, onde a taxa de transferência de massa de cada gás é igual à taxa de respiração (Chitarra e Chitarra, 2005; Castellanos, Cerisuelo, *et al.*, 2016). Com

isso, é importante a escolha do filme correto para cada produto, o qual permita concentrações de gases favoráveis, uma vez que quando os níveis de O₂ e CO₂ não são adequados pode ocorrer maturação irregular, aparecimento de sabores e odores indesejáveis, distúrbios fisiológicos, bem como aumento da incidência de fungos patogênicos deteriorantes (Mahajan *et al.*, 2007; Dominguez *et al.*, 2016). Em alguns casos, a permeabilidade do filme plástico encontrado não é suficientemente elevada para compensar a troca de gases com o produto e por isso são feitas perfurações nas paredes da embalagem para aumentar a transferência dos gases e permitir encontrar a concentração ideal de gases (Gonzalez *et al.*, 2008; Gonzalez-Buesa *et al.*, 2009).

Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo utilizar diferentes filmes plásticos microperfurados e encontrar aquele que permita a melhor concentração atmosférica de O₂ e CO₂ para a conservação dos principais atributos físico-químicos, nutricionais e fisiológicos de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1. Matéria-prima

Pedúnculos de caju clone CCP-76 ‘anão-precoce’ foram colhidos manualmente pela manhã, de um cultivo convencional no município de Artur Nogueira, SP (latitude 22° 34’23” Sul, longitude 47° 10’21” Oeste e altitude de 588 m). No momento da colheita os pseudofrutos apresentavam-se desenvolvidos em relação ao tamanho e coloração da epiderme de 70-80% vermelho-alaranjada, ponto determinado em experimentos anteriores. Após a colheita, os pedúnculos foram levados ao packing-house, selecionados e acondicionados em caixas de papelão, sem sobreposição, e transportados até o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo - ESALQ/USP, em Piracicaba, SP. No laboratório, os pedúnculos passaram por uma segunda seleção para a obtenção de um lote homogêneo quanto ao tamanho, coloração, ausência de danos mecânicos e patógenos visíveis, em seguida foram sanitizados com hipoclorito de sódio, StartClor® (0,5%) e colocados para secar sobre papel absorvente em temperatura ambiente.

4.2.2. Microperfuração e caracterização dos filmes plásticos, aplicação dos tratamentos e armazenamento

Para a formação da atmosfera modificada passiva (AMP) foram utilizados cinco diferentes filmes plásticos: policloreto de vinila (PVC) de 14 µm de espessura (considerado tratamento controle por ser utilizado comercialmente), polietileno de baixa densidade (PEBD) de 25 µm, polipropileno (PP) de 25 µm, polipropileno de camada biorientada (BOPP) de 20 µm e poliamida polietileno (PA/PE) de 25 µm. Os filmes de PEBD, PP, BOPP e PA/PE foram selados para formação de sacos plásticos (18x26 cm) e microperfurados com auxílio de uma agulha (perfurações de 0,3 mm de diâmetro) nas quatro extremidades, distanciando 5 cm das laterais. As propriedades dos filmes utilizados encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO₂) a 23°C e a seco e taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA) a 38°C e gradiente de pressão de vapor de 90% UR

	TPO ₂ (mL m ⁻² dia ⁻¹)	C.V. (%)	TPVA (g água m ⁻² dia ⁻¹)	C.V. (%)
PVP 14 µm	> 7.000	—	361	7,5
PEBD 25 µm	5.627	4,3	6,76	15
PP 25 µm	3.826	9,2	5,11	14
BOPP 20 µm	1.657	19,3	5,27	2
PA/PE 25 µm	> 5.000	—	55,7	6,3

C.V. = Coeficiente de variação

*1 mL equivale a 44,62 µmol e 1 dia são 86,4x103s.

Os pedúnculos de caju devidamente sanitizados foram separados aleatoriamente em cinco lotes, colocados em bandejas de polietileno tereftalato (PET) e em seguida embalados nos sacos plásticos dos referidos filmes, formando os tratamentos. O filme de PVC foi passado ao redor das bandejas e selado na parte inferior em chapa aquecedora. Cada bandeja continha três pedúnculos e era considerada uma repetição. Após uma hora da selagem realizou-se a leitura dos gases no interior da embalagem e todas foram armazenadas a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ UR, por 12 ou 20 dias, dependendo do tratamento.

4.2.3. Análises

4.2.3.1. Composição gasosa das embalagens

A concentração de O₂ e CO₂ foi determinada por um analisador de gases (Witt, modelo Mapy 4.0) que coletava amostra gasosa do interior das embalagens por meio de uma

agulha que perfurava um septo de silicone acoplado aos filmes. Os resultados foram expressos em % O₂ e % CO₂.

A concentração de etileno foi medida em cromatógrafo a gás Thermo Finnigan, modelo Trace GCUltra, com dois detectores de ionização de chama (FID), dois injetores, duas colunas Porapak N e um metanador regulado para 350°C. Uma amostra de 0,5 mL do gás do interior das embalagens foi recolhida através de um septo de silicone e injetadas no cromatógrafo. O resultado foi expresso em ppm.

4.2.3.2. *Qualidade físico-química e bioquímica*

As análises foram realizadas logo após a colheita (dia 0) e depois seguindo intervalos de 4 dias, sendo 3 + 1 (frutos foram mantidos durante 1 dia à temperatura de 15°C e 50-60% de UR, simulando condições de comercialização). A incidência de podridão (IP) foi realizada por análise visual, sendo os pedúnculos classificados em 5 categorias: 0 = sem podridão; 1 = pouca (1 a 10%), 2 = média (10 a 20%), 3 = severa (20 a 30%) e 4 = muito severa (acima de 30%). Os resultados foram expressos em %. A perda de massa (PM), em %, foi determinada pela diferença entre a massa inicial da repetição e a massa verificada a cada dia de análise. O índice de cor da epiderme (IC) foi determinado pelos parâmetros L, a* e b*, por meio do colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta, Mahwah, New Jersey). As leituras foram realizadas em 8 pontos ao longo de todo o pedúnculo e o IC foi calculado por meio da fórmula: $IC = (100 \times a) / (L \times b)$, com valores variando de 0,0 a 2,0, sendo que quanto maior o valor, mais vermelho é o pedúnculo. A firmeza da polpa (FP) foi realizada utilizando-se um penetrômetro digital de bancada (Turon Italy, modelo 53205) com ponteira de 8 mm de diâmetro, efetuando-se duas leituras em lados opostos na região equatorial dos pedúnculos, após pequena remoção da epiderme. Os resultados foram expressos em Newtons (N). O teor de sólidos solúveis (SS) foi determinado colocando-se a polpa triturada em refratômetro digital portátil Atago, modelo Palete 101, com duas leituras por repetição e resultados expressos em °Brix. Acidez titulável (AT): 10g da polpa triturada foram colocadas em 90mL de água destilada e o pH detectado por pHmetro (Tecnal, modelo TEC-03 MP). Foi efetuada titulação potenciométrica com NaOH 0,1N até pH 8,1 e resultado expresso em % de málico.

O teor de ácido ascórbico (AA) foi determinado por titulometria, de acordo com metodologia descrita por Carvalho *et al.* (1990) onde 10 g da polpa foram diluídas em 50 mL de ácido oxálico 1% e filtradas com papel quantitativo. A titulação foi realizada com solução de 2,6-diclorofenol-indofenol (DCFI) e os resultados expressos em mg 100 g⁻¹. O teor de

antocianinas da epiderme (ANT) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por (Lees e Francis, 1972), onde 5 g de epiderme foram homogeneizadas em 50 mL de solução com etanol 95% e HCl 1,5 N (85:15 v/v) e deixada em repouso por 12 horas a 4°C, tomou-se uma alíquota de 16 mL e ajustou-se o volume para 50 mL, esse extrato ficou em temperatura ambiente na ausência da luz por 40 minutos, com posterior leitura em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22) a 535 nm. Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹. Os carotenoides totais da epiderme (CAR) foram obtidos por metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001), com adaptações, onde 2,5 g de epiderme foram homogeneizadas em 20 mL de acetona seguido de filtração em papel quantitativo. Em funil de separação foram adicionados 22,5 mL de éter de petróleo e a solução de acetona filtrada, descartando-se a fase inferior. A solução dos pigmentos em éter de petróleo foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume. As leituras no espectrofotômetro foram feitas em 450 e 449 nm, para β -caroteno e β -criptoxantina respectivamente, que representam aproximadamente 70% do total de CAR na epiderme de caju (Schweiggert *et al.*, 2016). Ao final, o teor dos dois pigmentos foram somados e os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹. Os compostos fenólicos totais (CF) foram extraídos de acordo com a metodologia de Vinson *et al.* (2001) e descritos por Queiroz *et al.* (2011), onde 5 mL de metanol 50% acidificado com HCl 1,2 M foram adicionados a 1 g de polpa, homogeneizados sob agitação e levados a banho-maria a 90°C por 3 horas. Em seguida, as amostras foram diluídas com 4 mL do mesmo metanol, centrifugadas por 8 minutos a 15.000 xg (Clinical Centrifuge, IEC) e o sobrenadante foi utilizado como extrato. Os CF foram determinados pelo método colorimétrico de Singleton *et al.* (1999), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu 10% e ácido gálico como padrão (0-500 mM), a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 750 nm e os resultados foram expressos em mg EAG 100 g⁻¹. O teor de proantocianidinas (PRO) foi determinado pelo método Vanilina-HCl descrito por Nakamura *et al.* (2003), onde 1 g de polpa triturada foi adicionada de 10 mL de metanol, homogeneizados sob agitação e levados para centrifugação por 15 minutos a 15.000 xg, obtendo-se o extrato. Em tubos de ensaios foram adicionados 1 mL de extrato, 2,5 mL de solução de vanilina 1% em metanol e 2,5 mL de HCl 9 N em metanol. A mistura foi incubada para reação durante 20 min a 30°C e logo em seguida realizada a leitura em espectrofotômetro a absorbância medida 500 nm. Como curva padrão foi utilizada a catequina (0 – 300 mM) e o resultado foi expresso em mg 100 g⁻¹.

4.2.4. *Delineamento experimental e análise estatística*

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x6 (cinco tratamentos e seis períodos de análise). Foram utilizadas quatro repetições, constituídas por três pedúnculos de caju cada, para as análises de IP, PM, SS, AT, AA, FP e IC, e três repetições em duplicata para as análises de CF, PRO, ANT e CAR. As análises de concentrações dos gases (O_2 , CO_2 e etileno) foram realizadas utilizando cinco repetições, constituídas também por três frutos.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software estatístico Statistical Analysis System – SAS, versão 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, EUA). Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Box-Cox para verificar a normalidade e homogeneidade de variância entre os tratamentos. Quando necessário, os dados foram transformados. Em seguida, foi realizada a análise de variância (ANOVA) pelo Teste F ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$), a fim de estudar os fatores, bem como a interação entre eles e, em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$). Também foi realizado o teste de correlação de Pearson entre as variáveis.

4.3. **RESULTADOS**

A composição gasosa no interior das embalagens foi avaliada através da medição da concentração de três gases: O_2 , CO_2 e etileno (Figura 1). As primeiras medições no dia 0 (dia da colheita) ocorreram após uma hora da selagem dos sacos plásticos, antes da refrigeração. Neste dia, não observamos diferenças nas concentrações de CO_2 e etileno entre os filmes, apresentando média de 1,02% e 0,65 ppm, respectivamente. Para os valores de O_2 , o filme de PP resultou na menor concentração, 15,85%, diferindo do PVC, que apresentou a maior concentração, de 19,28% e sem diferenças com os demais.

Figura 1. Composição de O₂ (A), CO₂ (B) e etileno (C) do interior das embalagens de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’ clone CCP76 armazenados a 5±1°C e 90% de UR, por 12 ou 20 dias. PVC= policloreto de vinila de 14 µm, PEBD= polietileno de baixa densidade de 25 µm, PP= polipropileno de 25 µm e BOPP= polipropileno de camada biorientada de 20 µm e PA/PE= poliamida/polietileno de 25 µm. Barras verticais representam o erro padrão ($n = 5$). Dados originais, transformação usada para CO₂: $x^{0.5}$ e etileno: $\log(x)$

O filme de PVC manteve as concentrações iniciais de O_2 e CO_2 ao longo do armazenamento refrigerado, não havendo dessa forma modificação da atmosfera. Os filmes de PEBD, PP, BOPP e PA/PE reduziram O_2 e permitiram o acúmulo de CO_2 , alterando a concentração dos gases logo no quarto dia de armazenamento e, a partir de então, entraram em equilíbrio, mantendo a atmosfera estável até o fim do período. Observamos as maiores mudanças nos filmes de PP e BOPP, com a redução de O_2 chegando, em média, a 7,38% e 6,05% e acúmulo de CO_2 de 12,13% e 13,90%, respectivamente. Verificamos valores intermediários no filme de PEBD (10,9% de O_2 e 8,2% de CO_2) e menores mudanças no PA/PE (13,73% de O_2 e 3,1% de CO_2), sendo que para O_2 o PA/PE não diferiu do PVC (Figura 1A e 1B). Ressaltamos que a correlação entre a O_2 e CO_2 é alta e negativa ($r^2 = -0,98$).

Com relação ao etileno, observamos que os filmes de PVC, PEBD e PA/PE não alteraram os valores desse gás ao longo de todo armazenamento e não diferiram entre si na maioria dos dias. Os filmes de PP e BOPP acumularam etileno até o dia 8, atingindo 2,17 e 2,08 ppm, respectivamente, e então mativeram as concentrações constantes. Esse acúmulo fez com que PP e BOPP apresentassem valores estatisticamente superiores aos demais filmes durante quase todo o armazenamento (Figura 1C).

Verificamos que a IP, a PM e a FP são as variáveis limitantes para pedúnculos de caju. Determinamos limites de $> 30\%$ para IP, de $> 4\%$ para PM e FP de $< 3\text{ N}$, momento onde os frutos se tornam impróprios para a comercialização. Observamos correlações altas entre IP e PM ($r^2 = 0,82$); e IP e FP ($r^2 = -0,88$). Isso significa que a PM aumenta à medida que o IP se incrementa, e que essa elevação no IP leva à perda de FP.

Durante o período de armazenamento houve aumento na IP e PM dos pedúnculos de caju para todos os tratamentos, de forma mais evidente no filme de PVC, o qual alcançou os limites estabelecidos de IP e PM no 16º dia (IP = 31,11% e PM = 4,24%), e, desta forma, esse tratamento foi descartado e analisado até o 12º dia para os outros parâmetros (Figura 2).

Os filmes de PEBD, PP, BOPP e PA/PE prolongaram a vida útil dos pedúnculos até o 20º dia após a colheita. Neste dia observamos que o filme de PEBD diferiu dos demais apresentando a menor IP, de 7,78% (Figura 2A). Para a PM, os filmes PEBD, PP e BOPP não apresentaram diferenças durante todo o armazenamento, alcançando no dia 20, em média, apenas 0,6% de perda, que é um valor extremamente baixo para esse intervalo de vida útil. O filme de PA/PE atingiu esse valor de 0,6% no dia 8 após a colheita e chegou ao fim do armazenamento com perda de 4,15% (Figura 2B).

Figura 2. Incidência de podridão (A), Perda de massa (B) e Firmeza da polpa (C) de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’ clone CCP76 embalados com diferentes filmes plásticos e armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e 90% de UR, por 12 ou 20 dias. PVC= polícloroeto de vinila de 14 μm , PEBD= polietileno de baixa densidade de 25 μm , PP= polipropileno de 25 μm e BOPP= polipropileno de camada biorientada de 20 μm e PA/PE= poliamida/polietileno de 25 μm . Barras verticais representam o erro padrão ($n = 4$). Dados originais, transformação usada para Incidência de podridão: $\log(x)$ e Perda de massa: $x^{-2,0}$

A FP dos pedúnculos de caju no dia da colheita foi de 9,37 N sendo reduzida durante o armazenamento para todos os tratamentos. Não verificamos diferenças entre os filmes até o dia 8 após a colheita, quando, em média, os pedúnculos apresentavam FP de 5,9 N (redução de 37% da inicial), a qual foi mantida pelo filme de PEBD até o fim das análises. No 12º dia de armazenamento, último dia da vida útil dos pedúnculos embalados em PVC, a FP desse tratamento atingiu redução de 60% (3,7 N), não diferindo apenas do PA/PE. Neste dia os demais filmes obtiveram valores médios de 5,35 N. Ao fim do armazenamento, os filmes de PP, BOPP e PA/PE atingiram o limite estabelecido para essa variável, apresentando 2,9 N, com redução de 70% da FP inicial.

Para as variáveis SS, AT, AA e IC não houve interação significativa entre tratamentos (filmes plásticos) $\times$ dia de armazenamento ($P < 0,05$). Desta forma, os dados serão apresentados e discutidos por meio da média (Tabela 2). Com relação aos SS, encontramos valores variando de 8,81 a 9,41 °Brix entre os tratamentos e acreditamos que essa variação seja pequena para percepção no sabor, porém, estatisticamente esses valores apresentaram diferenças. Pedúnculos embalados em PVC atingiram o maior teor de SS, o qual não diferiu dos filmes de PEBD e PA/PE. Houve redução do teor de SS do dia da colheita até o dia 8, quando atingiram, em média 9,04 °Brix. Desse dia para o dia 12 esse valor aumentou para 9,72 °Brix e veio novamente a reduzir no dia 16 e 20, atingindo, ao fim do armazenamento, 8,87 °Brix.

A AT foi reduzida durante o armazenamento (Tabela 2). A AT no dia da colheita foi de 0,55% de ácido málico e atingiu redução de 42% ao fim das análises, alcançando valor de 0,32% de ácido málico. Assim como no teor de SS, verificamos que AT pouco variou entre os tratamentos, sendo que o PVC proporcionou, em média, a menor acidez (0,38% de ácido málico), não diferindo do filme de PEBD e o maior teor foi determinando nos filmes de PP e BOPP, 0,45 % de ácido málico.

O teor de AA dos pedúnculos de caju foi alterado com o uso dos diferentes filmes e durante o tempo de armazenamento. Observamos que os filmes que proporcionaram os maiores teores de AA foram o PVC, PEBD e PA/PE, os quais, em média, apresentaram teores de 107,63, 104,04 e 100,37 mg 100 g⁻¹ de ácido ascórbico, respectivamente, e não diferiram entre si. O teor inicial de ácido ascórbico (dia 0) foi de 104,03 mg 100 g⁻¹ e se manteve estável até o 12º dia de armazenamento, tendo sido reduzido para 82,70 mg 100 g⁻¹ no dia 16 e para 62,36 mg 100 g⁻¹ no dia 20, atingindo perda total de 40% do teor inicial (Tabela 2).

Tabela 2. Teor de sólidos solúveis, acidez titulável, ácido ascórbico e índice de cor de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’ clone CCP76 embalados com diferentes filmes plásticos e armazenados a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e 90% de UR, por 12 ou 20 dias.

	Teor de sólidos solúveis (°Brix)	Acidez titulável (% ácido málico)	Ácido ascórbico (mg 100 g ⁻¹)	Índice de cor
<i>Tratamentos</i>				
PVC	9,41 a	0,38 b	107,63 a	0,66 a
PEBD	9,38 a	0,39 b	104,04 a	0,65 a
PP	9,01 bc	0,45 a	88,95 b	0,51 b
BOPP	8,81 c	0,45 a	87,69 b	0,51 b
PA/PE	9,29 ab	0,40 b	100,37 a	0,61 ab
Pr > F	0,0000	0,0001	0,0000	0,0017
<i>Dias após a colheita</i>				
0	9,50 a	0,55 a	104,03 a	0,23 c
4	8,90 b	0,49 ab	107,84 a	0,73 a
8	9,04 b	0,44 b	112,01 a	0,81 a
12	9,72 a	0,33 c	103,44 a	0,72 a
16	8,81 b	0,34 c	82,70 b	0,52 b
20	8,87 b	0,32 c	62,36 c	0,45 b
Pr > F	0,0001	0,0000	0,0001	0,0000
C.V. (%)	4,04	1,30	17,21	2,90

Médias seguidas de letras diferentes dentro da coluna apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey, $P < 0,05$ ($n = 4$). PVC= policloreto de vinila de 14 μm , PEBD= polietileno de baixa densidade de 25 μm , PP= polipropileno de 25 μm e BOPP= polipropileno de camada biorientada de 20 μm e PA/PE= poliamida/polietileno de 25 μm . C.V.=Coeficiente de variação. Índice de cor= $(100x_a) / (Lxb)$. Dados originais; transformação usada para ácido ascórbico: $x^{2,0}$

O IC, utilizado para avaliar a coloração da epiderme dos pedúnculos de caju, variou de 0,23 a 0,81 entre os dias de armazenamento. O IC de 0,23, determinado no dia da colheita aumentou para 0,73 no dia 4 e manteve-se estável até o dia 12. A partir de então, reduziu novamente até o dia 20 para 0,45. Entre os tratamentos, observamos os maiores IC nos pedúnculos embalados em PVC, PEBD e PA/PE, de forma que as médias não apresentam diferenças (Tabela 2). É interessante ressaltar que valores maiores de IC indicam um fruto mais vermelho (maiores valores de a^*) e menores valores indicam um fruto em coloração amarelo-laranja (maiores valores de b^*), visto que os valores de L pouco variam. Com isso, além do IC e para comprovar esse atributo físico, realizamos análises dos principais pigmentos encontrados na epiderme do pedúnculo: antocianinas (ANT) e carotenoides (CAR).

Com relação ao teor ANT da epiderme, observamos que do dia da colheita (dia 0) para o dia 4 todos os tratamentos resultaram em aumento significativo no conteúdo desse pigmento e não apresentaram diferenças entre si, atingindo em média 6,16 mg 100 g⁻¹ (Figura 3A). Do dia 4 para o 12º dia de armazenamento a ANT se manteve estável para filmes de PVC,

PP e BOPP, e aumentou ainda mais para os filmes de PEBD e PA/PE que atingiram valores de 9,36 e 9,13 mg 100 g⁻¹, respectivamente, e não diferiram entre si. Após o dia 12, constatamos despigmentação da epiderme dos pedúnculos, de forma que todos os tratamentos reduziram o teor de ANT. Com isso, ANT e IC apresetaram alta correlação positiva ($r^2 = 0,81$).

Figura 3. Antocianinas (A) e Carotenoides (B) da epiderme de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’ clone CCP76 embalados com diferentes filmes plásticos e armazenados a 5±1°C e 90% de UR, por 12 ou 20 dias. PVC= policloreto de vinila de 14 µm, PEBD= polietileno de baixa densidade de 25 µm, PP= polipropileno de 25 µm e BOPP= polipropileno de camada biorientada de 20 µm e PA/PE= poliamida/polietileno de 25 µm. Barras verticais representam o erro padrão ($n = 3$)

O conteúdo inicial de CAR, de 4,13 mg 100 g⁻¹, aumentou de forma significativa até o dia 8 para todos os tratamentos e, após esse dia, os valores se mantiveram constantes até o fim do armazenamento para os filmes de PVC (dia 12), PP e BOPP (dia 20). Do 8º dia para o 12º dia, houve redução dos CAR para filmes de PEBD e PA/PE e, então, esses teores se mantiveram estáveis até o 20º dia, apresentando valores de 5,12 e 5,03 mg 100 g⁻¹,

respectivamente. Não verificamos diferenças significativas entre os tratamentos até o dia 12 após a colheita, sendo que no dia 16 e no dia 20 os filmes de PP e BOPP apresentaram maior teor desse pigmento, 6,23 e 6,20 mg 100 g⁻¹, respectivamente, e não apresentaram diferenças entre si (Figura 3B).

Quanto aos CF, verificamos incremento do conteúdo do dia 0 para o dia 4, de 26,56 mg 100 g⁻¹ para, em média, 32,14 mg 100 g⁻¹ para todos os tratamentos e, nesse dia, não houve diferenças significativas entre os filmes (Figura 4A).

Figura 4. Compostos Fenólicos (A) e Proantocianidinas (B) de pedúnculos de caju 'anão-precoce' clone CCP76 embalados com diferentes filmes plásticos e armazenados a 5±1°C e 90% de UR, por 12 ou 20 dias. PVC= policloreto de vinila de 14 µm, PEBD= polietileno de baixa densidade de 25 µm, PP= polipropileno de 25 µm e BOPP= polipropileno de camada biorientada de 20 µm e PA/PE= poliamida/polietileno de 25 µm. Barras verticais representam o erro padrão ($n = 3$). Dados originais, transformação usada para Proantocianidinas: $x^{0.5}$

A partir do dia 4, o teor de CF se estabilizou para os pedúnculos embalados em PEBD, PP e BOPP até o fim do armazenamento, apresentando teores de 34,19, 33,02 e 32,76

mg 100 g⁻¹, respectivamente. Para os filmes PVC e PA/PE uma pequena redução foi verificada ao fim da vida útil, de forma que o conteúdo de CF foi de 29,12 mg 100 g⁻¹ para PVC (dia 12) e de 29,74 mg 100 g⁻¹ para PA/PE (dia 20).

Com relação ao teor de PRO (Figura 4B), o conteúdo inicial foi de 6,86 mg 100 g⁻¹, tendo sido verificado redução para todos os durante o armazenamento, de forma mais acentuada para os filmes de PP e BOPP. No dia 12, último dia de vida útil dos pedúnculos embalados em PVC, o conteúdo de PRO desse tratamento foi de 3,87 mg 100 g⁻¹, diferindo apenas do PP e do BOPP. A partir desse dia, o teor de PRO se manteve constante para todos os filmes, exceto para PA/PE, que apresentou seu conteúdo estável entre os dias 16 e 20. Ao fim do armazenamento, a redução de PRO chegou a 53% para PEBD e PA/PE e de 73% para PP e BOPP. Importante ressaltar que FP e PRO apresentam alta correlação positiva ($r^2 = 0,80$).

4.4. DISCUSSÃO

A diferença na modificação da atmosfera proporcionada pelos filmes plásticos está em função de sua permeabilidade aos gases. A alta TPO₂ do PVC (> 7.000 mL m⁻² dia⁻¹) permitiu que as concentrações iniciais desse gás fossem mantidas ao longo do armazenamento. De fato, como observamos Tabela 1, quanto menor a TPO₂ maior foi a redução de O₂ no interior das embalagens. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), a maioria dos filmes termoplásticos apresenta permeabilidade ao CO₂ cerca de 3 vezes maior que ao O₂. Dessa forma, o acúmulo de CO₂ não ocorreu no PVC e foi proporcional aos demais filmes, justificando a alta correlação negativa entre O₂ e CO₂.

A maior concentração de etileno observada no interior das embalagens PP e BOPP pode ter ocorrido em função da barreira que os filmes fizeram também a esse gás. Dessa forma, não podemos afirmar que a produção de etileno pelos pedúnculos embalados nesses filmes foi maior durante todo o período, e sim que o etileno foi acumulado no interior da embalagem devido a sua característica de permeabilidade. Além disso, sabe-se que a oxidação do ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), na biossíntese do etileno, requer a presença de O₂, bem como uma baixa concentração de CO₂ (Saltveit, 1999). Dessa forma, mais esse fato, nos leva a acreditar que a concentração de etileno no interior das embalagens tem pouca relação com os níveis de O₂ e CO₂.

O uso de AMP, juntamente com redução da temperatura, tem sido relatada como benéfico para retardar a senescência, não apenas pela redução da atividade metabólica, mas também pela inibição do crescimento de microrganismos em muitos produtos frescos (Jacxsens

et al., 2002). A maior IP encontrada nos pedúnculos de caju embalados em PVC se deve, provavelmente, pela não modificação da atmosfera. Sabe-se que atmosferas com níveis baixos de O₂ e de médio a altos de CO₂ inibem o crescimento da maioria dos microorganismos aeróbios devido à conhecida atividade antimicrobiana do CO₂ (De Paiva *et al.*, 2017; Villalobos *et al.*, 2017). Almenar *et al.* (2007) relataram que a exposição a níveis de CO₂ entre 5 e 20% apresentaram efeitos fungistáticos em morangos.

Os filmes de PP e o BOPP, apesar de proporcionarem a modificação de atmosfera mais drástica, apresentaram aumento na IP ao fim do armazenamento. Nos dias 16 e 20 observamos acúmulo de água no interior dessas embalagens, o que provavelmente levou ao aumento de podridões. Por esse motivo, também acreditamos que esses filmes tenham proporcionado redução mais drástica da FP nos últimos dias, quando comparado ao PEDB, o que justifica a alta e negativa correlação entre IP e FP, pois a podridão acarretou no amolecimento dos frutos.

O uso de embalagens reduz a perda de água dos produtos frescos e consequentemente a PM, pois mantém alta a umidade na atmosfera interna dos sacos plásticos. Essa perda de água é dependente da TPVA (Tabela 1) característica de cada filme e da diferença de umidade entre as atmosferas interna e externas (Castellanos, Herrera, *et al.*, 2016). Dessa forma, o acúmulo de água no interior das embalagens está relacionado à TPVA, pois os filmes de PP e BOPP apresentaram as menores taxas e, possivelmente, o espaço livre da embalagem foi saturado e parte da água transpirada foi condensada, o que levou também a valores baixos de PM. A TPVA do filme de PEDB (6,76 g água m⁻² dia⁻¹) também permitiu que a PM fosse reduzida, porém sem levar ao acúmulo de água. Pedúnculos armazenados em PVC e PA/PE atingiram PM final acima de 4%, apresentando evidências de murchamento.

Os resultados que encontramos para o teor de SS foi um balanço entre o estágio de maturação intermediário em que o pseudofruto foi colhido e o consumo de açúcares via metabolismo respiratório (Figueiredo *et al.*, 2007). Provavelmente, os pedúnculos embalados em PP e BOPP apresentaram maior redução de metabolismo, proporcionada pela mudança mais drástica da atmosfera, e consequente menor SS.

Os filmes com a menor permeabilidade aos gases (PP e BOPP) e, consequentemente, aqueles onde ocorreu o maior acúmulo de CO₂, apresentaram, em média, os maiores teores de AT. Este resultado se deve, provavelmente, à dissolução de CO₂ na fina camada de água presente na superfície do fruto gerando ácido carbônico, o que ocasionou a acidificação do fruto (Almenar *et al.*, 2007). Segundo Moraes *et al.* (2002), a AT em pedúnculos de caju é em média 0,35% de ácido málico, encontramos valores aproximados em atmosferas

com menor acúmulo de CO₂ (PVC, PEBD e PA/PE). Assim como os SS, a redução da AT durante os dias de armazenamento pode ser explicada pelo estágio de maturação intermediário em que o pedúnculo foi colhido e, ao atingir a maturação e a senescência, os ácidos orgânicos foram consumidos.

O teor de AA foi alterado pelo uso de diferentes filmes e pelo tempo de armazenamento. Observamos a maior perda de AA nos filmes PP e BOPP, estando provavelmente relacionada aos altos níveis de CO₂ gerados, o que pode ter causado a acidificação do citoplasma. Isso alteraria a função mitocondrial e resultaria em dano oxidativo, ultimando em perda de vitamina C (referência). Além disso, altas concentrações de CO₂ podem ter estimulado a atividade da enzima ascorbato peroxidase, a qual age oxidando o AA, convertendo-o em ácido dehidroascórbico (Pinto *et al.*, 2001). O AA diminuiu durante o tempo de armazenamento, o que também foi relatado por Moura *et al.* (2010) ao trabalharem com o pedúnculo de caju clone CCP 76. Os autores também acreditam que que essa redução está relacionada com aumento da atividade da ascorbato oxidase.

Com relação ao teor de ANT, assim como observamos nos pedúnculo de caju, o aumento desse pigmento também foi relatado em romã (Selcuk e Erkan, 2016). Sabe-se que a síntese de ANT continua após a colheita e também em baixa temperatura, porém não da mesma forma para frutos armazenados em diferentes atmosferas. A síntese e/ou a degradação de antocianinas podem ser afetadas pelos níveis de O₂ e CO₂, fato relacionado com a atividade das enzimas da via de biossíntese desse pigmento (Miguel *et al.*, 2004). Em morangos, maiores níveis de CO₂ acarretou na degradação de antocianinas (Ke *et al.*, 1991).

Além disso, muitos compostos influenciam na maior estabilidade da molécula de antocianinas, entre eles os taninos. Esse aumento na estabilidade é atribuído à copigmentação, ou seja, por ligações de hidrogênio de modo que o tanino forma uma estrutura protetora envolvendo a antocianina (Bobbio e Bobbio, 2001). Verificamos maiores teores de PRO (taninos) em pedúnculos embalados em PEBD e PA/PE e, conseqüentemente, maior ANT, ao fim do armazenamento. Ao contrário, determinamos para esses filmes menores teores de CAR ao fim do período e maiores teores para PP e o BOPP, o que explica a relação com o resultado do IC: maior índice para pedúnculos mais avermelhados, ou seja, com maior teor de ANT em relação a CAR.

O aumento nos CF é provavelmente devido ao estresse associado à condição de armazenamento em AMP, principalmente nos pedúnculos armazenamos em maiores níveis de CO₂ (concentrações acima de 6%). Em concordância, Ke e Saltveit (1989) observaram que, sob altas atmosferas de CO₂, a atividade de fenilalanina amônia liase (PAL), uma enzima chave no

ponto de entrada da biossíntese fenólica, foi induzida. Esse fato também foi observado com uva (Cefola e Pace, 2016) e tomate (Dominguez *et al.*, 2016).

Com relação aos taninos (PRO), observamos que o seu conteúdo não se comportou da mesma forma que os CF e diminuiu com as maiores concentrações de CO₂. A produção de gás carbônico é proveniente da descaboxilação do piruvato em acetaldeído e etanol pela ação da piruvato descarboxilase, produtos então, utilizados na remoção da adstringência, polimerizando os taninos condensados e reduzindo a adstringência do fruto (Hribar *et al.*, 2000; Taiz e Zeiger, 2009). A redução de taninos também se deve ao tempo de armazenamento, que está relacionado com a senescência dos pedúnculos, a qual está relacionada com o aumento natural da produção de acetaldeído e de pectinas solúveis resultantes do amolecimento dos pedúnculos (Khanbabaee e Van Ree, 2001), justificando a alta correlação positiva entre FP e PRO.

Em conclusão, o uso da AMP, por meio do filme de PEBD, que proporcionou atmosfera de 11% de O₂ e 8% de CO₂, é a mais eficiente na conservação dos atributos da qualidade visual e nutricional de pedúnculos de caju até o 20º dia após a colheita. Mudanças mais drásticas da atmosfera, como observadas em PP e BOPP não causaram anaerobiose, porém, a maior barreira aos gases e ao vapor de água, levou a perda de alguns atributos de qualidade.

Referências

- ALMENAR, E. et al. Equilibrium modified atmosphere packaging of wild strawberries. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 10, p. 1931-1939, Aug 2007.
- BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química de processamento de alimentos**. 3. São Paulo: Varela, 2001.
- CARVALHO, C. R. L. et al. **Análises Químicas: Manual Técnico: ITAL**: 121 p. 1990.
- CASTELLANOS, D. A. et al. Modelling the evolution of O₂ and CO₂ concentrations in MAP of a fresh product: Application to tomato. **Journal of Food Engineering**, v. 168, p. 84-95, Jan 2016.
- CASTELLANOS, D. A.; HERRERA, D. R.; HERRERA, A. O. Modelling water vapour transport, transpiration and weight loss in a perforated modified atmosphere packaging for feijoa fruits. **Biosystems Engineering**, v. 151, p. 218-230, Nov 2016.
- CEFOLA, M.; PACE, B. High CO₂-modified atmosphere to preserve sensory and nutritional quality of organic table grape (cv. 'Italia') during storage and shelf-life. **European Journal of Horticultural Science**, v. 81, n. 4, p. 197-203, Aug 2016.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças - Fisiologia e Manuseio**. 2. Lavras: UFLA, 2005. 785.

DAMASCENO JÚNIOR, J. A.; BEZERRA, F. C. Quality of early dwarf cashew peduncles from plants cultivated under irrigation and different management and spacing systems. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 258-262, 2002.

DARAMOLA, B. Assessment of some aspects of phyto-nutrients of cashew apple juice of domestic origin in Nigeria. **African Journal of Food Science**, v. 7, n. 6, p. 107 - 112, 2013.

DE PAIVA, E. et al. Combined effect of antagonistic yeast and modified atmosphere to control *Penicillium expansum* infection in sweet cherries cv. Ambrunes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 241, p. 276-282, Jan 2017.

DOMINGUEZ, I. et al. Influence of modified atmosphere and ethylene levels on quality attributes of fresh tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Food Chemistry**, v. 209, p. 211-219, Oct 2016.

FAO. Food and Agriculture Organization. 2013. Acesso em: 26 outubro 2016.

FIGUEIREDO, R. W. et al. Quality of cashew pseudofruits treated with calcium at postharvest and stored under refrigeration. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 475-482, Apr 2007.

FILGUEIRAS, H. A. C. et al. Cashew apple for fresh consumption: Research on harvest and postharvest technology in Brazil. In: MICHALEZUK, L. (Ed.). **International Symposium on Effect of Preharvest and Postharvest Factors on Storage of Fruit**, 1999. p.155-160. (Acta Horticulturae).

GONZALEZ, J. et al. Determination of O₂ and CO₂ transmission rates through microperforated films for modified atmosphere packaging of fresh fruits and vegetables. **Journal of Food Engineering**, v. 86, n. 2, p. 194-201, May 2008.

GONZALEZ-BUESA, J. et al. A mathematical model for packaging with microperforated films of fresh-cut fruits and vegetables. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 1, p. 158-165, Nov 2009.

GORDON, A. et al. Changes in phenolic composition, ascorbic acid and antioxidant capacity in cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) during ripening. **Fruits**, v. 67, n. 4, p. 267-276, Jul-Aug 2012.

HRIBAR, J. et al. Changes during storing and astringency removal of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). **Acta Alimentaria**, v. 29, n. 2, p. 123-136, Jun 2000.

JACXSENS, L.; DEVLIEGHIERE, F.; DEBEVERE, J. Temperature dependence of shelf-life as affected by microbial proliferation and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh produce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 26, n. 1, p. 59-73, Aug 2002.

KE, D.; SALTVEIT, M. E. Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. **Physiologia Plantarum**, v. 76, n. 3, p. 412-418, Jul 1989.

KE, D. Y. et al. Effects of short-term exposure to low O₂ and high CO₂ atmospheres on quality attributes of strawberries. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 1, p. 50-54, Jan-Feb 1991.

KHANBABAEE, K.; VAN REE, T. Tannins: Classification and definition. **Natural Product Reports**, v. 18, n. 6, p. 641-649, 2001.

- LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, v. 7, p. 83-84, 1972.
- MAHAJAN, P. V. et al. Development of user-friendly software for design of modified atmosphere packaging for fresh and fresh-cut produce. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, n. 1, p. 84-92, Mar 2007.
- MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 851-857, Feb 2009.
- MIGUEL, G. A. et al. Anthocyanin concentration of "Assaria" pomegranate fruits during different cold storage conditions. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, n. 5, p. 338-342, Dec 2004.
- MORAIS, A. D. S. et al. Storage of cashew apples from dwarf clones CCP-76, end-157, end-183 and end-189 under refrigeration and modified atmosphere. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 647-650, 2002.
- MOURA, C. F. H. et al. Increasing shelf life of early dwarf cashew tree peduncle through reduction of storage temperature. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 140-145, Jan-Feb 2010.
- _____. Aparência e cor da película de pedúnculos de clones de cajueiro anão precoce para consumo in natura armazenados sob diferentes camadas de PVC. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 26, n. 3, p. 371-375, 2005.
- NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 1, p. 45-54, Feb 2003.
- PETINARI, R. A.; TARSITANO, M. A. A. Cashew (*Anacardium occidentale* L.) commercialization in northwest of São Paulo state. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 697-699, 2002.
- PINTO, E. et al. Role of fermentative and antioxidant metabolisms in the induction of core browning in controlled-atmosphere stored pears. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 3, p. 364-370, Feb 2001.
- PURSEGLOVE, J. W. **Tropical Crops Dicotyledons**. London: Longman Group Ltd, 1974.
- QUEIROZ, C. et al. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1459-1462, Jun 2011. ISSN 0963-9969.
- RAMOS, A. D. et al. **A cultura do caju**. Brasília: EMBRAPA - CNPAT: 96 p. 1996.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. A. **Guide to Carotenoids Analysis in Food**. International Life Sciences Institute Press, 2001. 64.
- SALTVEIT, M. E. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, n. 3, p. 279-292, Mar 1999.
- SANDHYA, B. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 381-392, Apr 2010.

SCHWEIGGERT, R. M. et al. Carotenoids, carotenoid esters, and anthocyanins of yellow-, orange-, and red-peeled cashew apples (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, v. 200, p. 274-282, Jun 2016.

SELCUK, N.; ERKAN, M. Impact of passive modified atmosphere packaging on physicochemical properties, bioactive compounds, and quality attributes of sweet pomegranates. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 40, n. 4, p. 475-488, 2016.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants, Pt A**, v. 299, p. 152-178, 1999 1999.

SOUZA, K. O. et al. Preharvest treatment of growth regulators influences postharvest quality and storage life of cashew apples. **Scientia Horticulturae**, v. 209, p. 53-60, Sep 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848.

VILLALOBOS, M. D. et al. Characterization of microbial population of breba and main crops (*Ficus carica*) during cold storage: Influence of passive modified atmospheres (MAP) and antimicrobial extract application. **Food Microbiology**, v. 63, p. 35-46, May 2017.

VINSON, J. A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5315-5321, Nov 2001.

ZAGORY, D.; KADER, A. A. Modified atmosphere packaging of fresh produce. **Food Technology**, v. 42, n. 9, p. 70, Sep 1988.

Anexos

Tabela 3. Valor de F (ANOVA) do efeito dos fatores atmosfera modificada (tratamento) e dias de armazenamento e da interação destes sobre as variáveis analisadas em pedúnculos de caju ‘anão precoce’ embalados com diferentes filmes e armazenados a $5\pm1^{\circ}\text{C}$ e $90\pm5\%$ UR por 20 dias.

Variável	Tratamentos	Dia	Trat. x Dia	C.V. (%)
Índice de podridão	101,19**	22,61**	1,82*	16,93
Perda de massa	645,02**	431,15**	32,93**	5,01
Sólidos Solúveis	13,86**	8,28**	0,69ns	4,04
Acidez titulável	106,29**	19,20**	1,46ns	1,30
Ácido ascórbico	46,53**	15,31**	1,13ns	17,21
Firmeza	115,02**	8,87**	2,18*	12,62
Índice de cor	39,05**	4,98**	0,45ns	2,90
% O ₂	70,87**	189,03**	4,55**	10,32
% CO ₂	179,62**	452,63**	18,94**	6,99
Produção de etileno	10,49**	42,21**	4,53**	20,16
Compostos Fenólicos	43,83**	21,34**	3,59**	4,40
Proantocianidinas	89,16**	32,50**	2,09*	8,49
Carotenoides	91,42**	12,88**	3,37**	5,26
Antocianinas	64,18**	11,52**	1,79*	10,92

** $: P \leq 0.01$; * $: P \leq 0.05$; ns: não significativo; C.V. (%): coeficiente de variação

Figura 5. Pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 embalados em diferentes filmes plásticos (PVC, PEBD, PP, BOPP e PA/PE) e armazenados a 5°C e 90% UR, por 20 dias

5. MÉTODOS COMBINADOS DE CONSERVAÇÃO NA VIDA ÚTIL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E NO PERFIL DE VOLÁTEIS DE PEDÚNCULOS DE CAJU

RESUMO

Pedúnculo de caju é um pseudofruto com um alto potencial antioxidante e apreciado por apresentar *flavor* (odor, paladar e textura) muito característico, exótico e extremamente agradável. Apesar da interessante composição nutricional e aromática, a comercialização e o consumo do pedúnculo fresco são limitados devido a sua aceitação e perecibilidade. Pesquisas recentes tem demonstrado resultados positivos da radiação gama, atmosfera modificada e uso de quitosana em pedúnculos de caju, porém não há relatos sobre a combinação desses tratamentos e seus efeitos sobre a atividade antioxidante e compostos voláteis. O objetivo desse estudo foi investigar a combinação dessas técnicas sobre a vida útil dos pedúnculos e a influência individual e da combinação desses tratamentos na atividade antioxidante e no perfil de compostos voláteis de pedúnculos de caju. Os tratamentos de combinados de irradiação + quitosana e irradiação + atmosfera modificada foram eficientes na conservação dos pedúnculos de caju por estender a vida útil até o 25º dia após a colheita, reduzindo a incidência de podridão e perda de massa e mantendo adequada a firmeza da polpa, fato não alcançado com os tratamentos individuais. Além disso, a combinação irradiação + quitosana manteve também altos níveis de atividade antioxidante e perfil de voláteis característico de um pedúnculo agradável, sendo desta forma a combinação mais indicada. A irradiação e a quitosana quando utilizadas como tratamentos individuais também preservam a qualidade volátil, porém até o 20º dia após a colheita.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*; Irradiação; Quitosana; Atmosfera modificada; Aroma

ABSTRACT

Cashew apple is a pseudofruit with a high antioxidant potential and appreciated for having very characteristic, exotic and extremely pleasant flavor (odor, palate and texture). Despite the interesting nutritional and aromatic composition, the commercialization and the consumption of the fresh peduncle are limited due to their acceptance and perishability. However, there are no reports on the combination of these treatments and their effects on antioxidant activity and volatile compounds. Objective of this study was to investigate the combination of these techniques on the life of the peduncles and the individual influence and the combination of these treatments on the antioxidant activity and the profile of volatile compounds of cashew peduncles. The treatments of irradiated + chitosan and irradiated + modified atmosphere treatments were efficient in the conservation of the cashew peduncles by extending the shelf life until the 25th day after harvest, reducing the incidence of rot and loss of mass and maintaining the firmness of the pulp, a fact not reached with individual treatments. In addition, the combination of chitosan + irradiation also maintained high levels of antioxidant activity and volatile profile characteristic of a pleasant peduncle, thus being the most indicated combination. Irradiation and chitosan when used as individual treatments also preserve the volatile quality, but until the 20th day after harvest.

Keywords: *Anacardium occidentale*; Irradiation; Chitosan; Modified atmosphere; Aroma

5.1. INTRODUÇÃO

O pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.) é um pseudofruto considerado não-climatérico; é carnoso e suculento; apresenta teor significativo de ácido ascórbico, ácidos fenólicos, taninos e um alto potencial antioxidante (Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009; Queiroz *et al.*, 2011). Além disso, é apreciado por apresentar *flavor* (odor, paladar e textura) muito característico, exótico e extremamente agradável (Maia *et al.*, 2000). Muitos compostos são identificados como responsáveis pelo aroma agradável de caju, entre eles os ésteres 3-metil-butanoato de etila, 2-butenato de etila, butanoato de etila, hexanoato de etila, hexanal e ácido 3-metil-butanóico (Maia *et al.*, 2000; Garruti *et al.*, 2003; Sampaio *et al.*, 2011). Porém, esse perfil de voláteis são referente a trabalhos com derivados de caju, principalmente o suco, carecendo dessa forma estudos dos voláteis em pedúnculos frescos.

Apesar da interessante na composição nutricional e aroma, a comercialização e o consumo do pedúnculo fresco são limitados à elevada adstringência e, principalmente, a sua alta perecibilidade e estrutura delicada que reduz sua vida útil (Filgueiras *et al.*, 1999; Souza *et al.*, 2016). Pesquisas recentes tem demonstrado resultados positivos da radiação gama, atmosfera modificada e uso de quitosana na fisiologia, vida útil e na conservação dos atributos da qualidade visual e nutricional de pedúnculos de caju. Entretanto, não há relatos sobre a combinação desses tratamentos e seus efeitos nesses parâmetros e sobre a atividade antioxidante e compostos voláteis. Segundo Santos *et al.* (2015), o manejo adequado pós-colheita em combinação com métodos de conservação, associados a refrigeração, deve ser empregado para prolongar a vida útil das frutas e hortaliças, estendendo assim o período de comercialização.

Com isso, esse trabalho teve como objetivo investigar a combinação dessas técnicas sobre a vida útil dos pedúnculos e a influência individual e da combinação desses tratamentos na atividade antioxidante e no perfil de compostos voláteis de pedúnculos de caju.

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1. *Matéria-prima*

Pedúnculos de caju clone CCP-76 ‘anão-precoce’ foram obtidos de um cultivo comercial no município de Artur Nogueira, SP (latitude 22° 34’23” Sul, longitude 47° 10’21” Oeste e altitude de 588 m), colhidos pela manhã de forma manual e seletiva, quando apresentavam-se desenvolvidos em relação ao tamanho e coloração da epiderme de 70-80% vermelho-alaranjada (ponto determinado em experimentos anteriores). Após a colheita, os pedúnculos foram acondicionados em caixas de papelão, sem sobreposição, e transportados até o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo - ESALQ/USP, em Piracicaba, SP. No laboratório, os pedúnculos passaram por uma seleção criteriosa para a obtenção de um lote homogêneo quanto ao tamanho, coloração, ausência de danos mecânicos e patógenos visíveis, em seguida foram sanitizados com hipoclorito de sódio, StartClor®, a 0,5% e colocados para secar sobre papel absorvente, a temperatura ambiente.

5.2.2. *Aplicação dos tratamentos e armazenamento*

Pedúnculos de caju devidamente sanitizados foram separados aleatoriamente em seis lotes para a aplicação dos seguintes tratamentos: CT: controle; IR: irradiação; QUI: quitosana; AMP: atmosfera modificada passiva; IR+QUI: irradiação + quitosana e IR+AMP: irradiação + atmosfera modificada passiva.

Inicialmente, no dia da colheita (dia 0), os pedúnculos dos tratamentos QUI e IR+QUI e foram submetidos a aplicação do recobrimento de quitosana, na concentração de 2,0%. Com o auxílio de algodão, o recobrimento foi aplicado manualmente sobre os pedúnculos de forma cuidadosa para que toda a epiderme fosse coberta e logo em seguida foram deixados secar por 30 minutos em temperatura ambiente. Também no dia 0, pedúnculos dos tratamentos AMP e IR+AMP foram embalados em filme de PEBD de 25 µm microperfurados com auxílio de uma agulha (perfurações de 0,3 mm de diâmetro) nas quatro extremidades, distanciando 5 cm das laterais. Todos os tratamentos foram então armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ UR até o dia seguinte, quando foram transportados em caixas térmicas com gelo e em ar condicionado até o Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares (IPEN/USP) na cidade de São Paulo, SP. Os tratamentos de IR, IR+QUI e IR+AMP foram então submetidos a radiação gama na dose

0,5 kGy. O irradiador gama do Instituto é do tipo multipropósito compacto, munido de fonte ^{60}Co (modelo C-188, MDS Nordion Canadá). Ao retornar ao Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita, foram novamente armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ UR, por 15, 20 ou 25 dias, dependendo do tratamento.

A concentração de quitosana, dose de radiação e escolha da embalagem foram feitas baseados em experimentos anteriores.

5.2.3. Análises

5.2.3.1. Qualidade físico-química e bioquímica

As análises foram realizadas logo após a colheita (dia 0) e depois seguindo intervalos de 5 dias, sendo 4 + 1 (frutos foram mantidos durante 1 dia à temperatura de 15°C e 50-60% de UR, simulando condições de comercialização). A Incidência de podridão (IP) foi realizada por análise visual, sendo os pedúnculos classificados em 5 categorias: 0 = sem podridão; 1 = pouca (1 a 10%), 2 = média (10 a 20%), 3 = severa (20 a 30%) e 4 = muito severa (acima de 30%). Os resultados foram expressos em %. A perda de massa (PM), em %, foi determinada pela diferença entre a massa inicial da repetição e a massa verificada a cada dia de análise. A firmeza da polpa (FP) foi realizada utilizando-se um penetrômetro digital de bancada (Turon Italy, modelo 53205) com ponteira de 8 mm de diâmetro, efetuando-se duas leituras em lados opostos na região equatorial dos pedúnculos, após pequena remoção da epiderme e resultados expressos em Newtons (N).

O teor de ácido ascórbico (AA) foi determinado por titulometria, de acordo com metodologia descrita por Carvalho *et al.* (1990), onde 10 g da polpa foram diluídas em 50 mL de ácido oxálico 1% e filtradas com papel quantitativo. A titulação foi realizada com solução de 2,6-diclorofenol-indofenol (DCFI) e os resultados expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Os compostos fenólicos totais (CF) foram extraídos de acordo com a metodologia de Vinson *et al.* (2001) e descritos por Queiroz *et al.* (2011), onde 5 mL de metanol 50% acidificado com HCl 1,2 M foram adicionados a 1g de polpa, homogeneizados sob agitação e levados a banho-maria a 90°C por 3 horas. Em seguida, as amostras foram diluídas com 4 mL do mesmo metanol, centrifugadas por 8 minutos a 15.000 xg (Clinical Centrifuge, IEC) e o sobrenadante foi utilizado como extrato. Os CF foram determinados pelo método colorimétrico de Singleton *et al.* (1999), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu 10% e ácido gálico como padrão (0-500 mM), a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22), a 750 nm e os

resultados foram expressos em mg EAG 100 g⁻¹. O teor de proantocianidinas (PRO) foi determinado pelo método Vanilina-HCl descrito por Nakamura *et al.* (2003), onde 1g de polpa triturada foi adicionada de 10 mL de metanol, homogeneizados sob agitação e levados para centrifugação por 15 minutos a 15.000 xg, obtendo-se o extrato. Em tubos de ensaios foram adicionados 1 mL de extrato, 2,5 mL de solução de vanilina 1% em metanol e 2,5 mL de HCl 9 N em metanol. A mistura foi incubada para reação durante 20 min a 30°C e logo em seguida realizada a leitura em espectrofotômetro a absorbância medida 500 nm. Como curva padrão foi utilizada a catequina (0 – 300 mM) e o resultado foi expresso em mg 100 g⁻¹.

A atividade antioxidante foi determinada pela captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), de acordo com (Brand-Williams *et al.*, 1995), e pelo método do FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential), de acordo com (Benzie e Strain, 1996). Para determinação do DPPH, adicionou-se 10 mL de etanol a 100 mg de polpa triturada, a qual foi submetida a 15 min de banho ultrassônico (Unique, USC-1400A) e 10 min de centrifugação a 7.000 rpm. Em cubetas adicionou-se 500 µL do extrato (sobrenadante), 3000 µL de etanol e 300 µL do reagente DPPH, agitou-se. As leituras de absorbância em espectrofotômetro foram efetuadas a 517 nm, após 45 min em ausência de luz. Como branco, utilizou-se 3500 µL de etanol e 300 µL do reagente DPPH e a atividade antioxidante foi expressa em % de DPPH reduzido: % de DPPH reduzido = [(Absorbância branco – Absorbância amostra)/(Absorbância branco)]*100. Para determinação do FRAP, adicionou-se 10 mL de metanol a 100 mg de polpa triturada, a qual foi submetida a 15 min de banho ultrassônico e 10 min de centrifugação a 7.000 rpm. Em cubetas adicionou-se 90 µL de água, 30 µL do extrato e 900 µL do reagente FRAP. As leituras de absorbância foram efetuadas a 594 nm, após 60 min em repouso. Para a calibragem, utilizou-se metanol como “branco” e para a construção da curva padrão, FeSO₄ 7.H₂O (0-2 mM), sendo os resultados expressos em µM FeSO₄ 100g⁻¹ de polpa.

5.2.3.2. Compostos voláteis

As análises de compostos voláteis foram realizadas pelo método de microextração (SPME, do inglês *Solid Phase Micro-Extraction*). As condições da SPME foram otimizadas de acordo com modificações previamente estudadas, avaliando o tempo de exposição da fibra, o tempo necessário para equilíbrio do *headspace* e a temperatura de aquecimento. As condições ótimas para isolamento dos voláteis foram selecionadas pelo maior número de picos e de área total dos cromatogramas. Amostras de 3 g de polpa triturada, provenientes da mistura de 12 pedúnculos, foram acrescidas de 7 mL de solução de NaCl a 30% (p/v) em *vials* de 20 mL, com

tampa de septo de silicone e congeladas a -20°C . O material foi descongelado a 40°C em banho-maria com agitação. O tempo de equilíbrio e adsorção foi de 30 e 60 min, respectivamente. A fibra SPME (DVB/CAR/PDMS 200 μm de espessura, Supelco®) foi injetada diretamente no cromatógrafo a gás Hewlett-Packard 6890 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, USA), acoplado a um detector seletivo de massas da mesma empresa, modelo 5973, e deixada por 3 min para dessorção dos compostos voláteis. A temperatura do injetor foi de 200°C . Os componentes foram separados usando uma coluna capilar Supelcowax (30 m x 0,25 μm) e a temperatura do forno foi programada para uma rampa de 50 a 150°C a $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e manutenção por 5 min. Os compostos voláteis foram identificados por comparação com a biblioteca NIST (NIST98, version 2.0, Gaithersburg, USA) considerando 70% de similaridade como corte, além de confirmar os resultados com o índice de Kovats. Essas análises foram feitas no dia 0 (dia da colheita) e fim de cada tratamento (dias 15, 20 ou 25), todas em triplicata.

5.2.4. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6x6 (seis tratamentos e seis períodos de análise). Foram utilizadas quatro repetições, constituídas por três pedúnculos de caju cada, para as análises de IP, PM, FP e AA e três repetições em duplicata para as análises de CF, PRO, DPPH e FRAP. A análise estatística foi realizada utilizando-se o software estatístico Statistical Analysis System – SAS, versão 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, EUA). Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Box-Cox para verificar a normalidade e homogeneidade de variância entre os tratamentos. Quando necessário, os dados foram transformados. Em seguida, foi realizada a análise de variância (ANOVA) pelo Teste F ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$), a fim de estudar os fatores, bem como a interação entre eles e, em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$). Também foi realizado o teste de correlação de Pearson entre as variáveis. Os dados dos compostos voláteis foram normalizados pela média e submetidos à análise multivariada por meio da análise de componentes principais (ACP, *biplot*) e agrupamento hierárquico (AAH) visualizado por *heatmap*, utilizando a distância euclidiana e algoritmo aglomerativo de Ward, feitas pelo software estatístico XLSTAT e SPSS 22.0, respectivamente.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Incidência de podridão, perda massa e firmeza

Observamos que a IP, a PM e a FP são as variáveis limitantes para a vida útil de pedúnculos de caju. Determinamos limites de > 30% para IP, de > 4% para PM e FP de < 3 N, momento em que, alcançado um desses parâmetros, os frutos se tornam impróprios para consumo e comercialização.

A IP e PM aumentaram durante o armazenamento para todos os tratamentos. No dia 5 após a colheita, verificamos que para tratamentos combinados (IR+QUI e IR+AMP) ainda não havia IP e que o CT atingiu 11%, não diferindo da QUI com 8,89%. No décimo dia de armazenamento, o CT diferiu dos demais tratamentos, alcançando 21,11% de IP e, com a evolução, atingiu 31% no 15º dia, limite estabelecido para essa variável (Figura 1A).

A IR, QUI e AMP prolongaram a vida útil dos pedúnculos até o dia 20 após a colheita. Neste dia determinamos IP de 17,78%, 24,44% e 18,89%, respectivamente. Verificamos que os tratamentos combinados foram os mais eficientes para aumentar a vida útil dos pedúnculos, alcançando no 25º dia de análises com IP de 11% e 15,56%, respectivamente e não diferiram entre si. Nossos resultados estão de acordo com Hussain *et al.* (2012) relataram que o tratamento combinado de revestimento comestível (1,0%) e irradiação (2,0 kGy) foi o meio mais eficaz para reduzir o aparecimento fúngico em morango do que os tratamentos individuais de revestimento e irradiação. Santos *et al.* (2015) verificaram os benefícios do tratamento combinados de AMP e irradiação (0,45 kGy) em mangas.

Para a PM, os tratamentos de IR, QUI, AMP e os combinados não apresentaram diferenças até o décimo dia após a colheita. No dia 15, o CT atingiu PM de 4,45%, seguido da IR com PM de 2,73%, valores estatisticamente superiores aos demais (Figura 1B).

Figura 1. Incidência de podridão (A), Perda de massa (B) e Firmeza da polpa (C) de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’ clone CCP76 submetidos a irradiação, quitosana, atmosfera modificada e a combinações desses tratamentos pós-colheita, e armazenados a 5°C e 90% UR por 15, 20 ou 25 dias. CT: controle; IR: irradiação; QUI: quitosana; AMP: atmosfera modificada passiva; IR+QUI: irradiação + quitosana e IR+AMP: irradiação + atmosfera modificada passiva. Barras verticais representam o erro padrão ($n = 4$). Dados originais, transformação usada para Incidência de podridão: $x^{0.5}$ e Perda de massa: $x^{-2.0}$

No 20º dia, a IR obteve o limite de 4% e os demais apresentaram, em média, 1,18% de PM, valor que se manteve constante para os tratamentos combinados até o dia 25, sendo considerado baixo para esse intervalo de vida útil. É importante ressaltar que isoladamente a IR não foi eficiente na redução da PM, de forma que os benefícios na combinação são devido ao uso do recobrimento ou do filme de PEBD, pois QUI, AMP, IR+QUI e IR+AMP não apresentam diferenças durante todo o armazenamento. O uso de revestimentos e embalagens reduz a perda de água dos produtos e consequentemente a PM, o primeiro pelo fato da menor difusão de vapor de água através da cutícula (Qiu, 2013) e o segundo por manter alta a umidade na atmosfera interna dos sacos plásticos (Castellanos *et al.*, 2016).

A FP dos pedúnculos de caju no dia da colheita foi de 9,08 N sendo reduzida durante o armazenamento para todos os tratamentos, de forma mais evidente no CT e IR, esses atingiram ao fim do período 2,94 N (dia 15) e 2,84 N (dia 20), respectivamente (Figura 1C). Observamos que nos demais tratamentos a FP foi mantida por mais tempo e em combinação apresentam menores reduções, chegando ao fim do armazenamento (dia 25) com FP de 4,83 N para IR+QUI e 4,40 N para IR+AMP. Novamente a menor redução da FP nos tratamentos combinados está associada a função da QUI e da AMP (Figura 1C). A redução da PM e a maior FP nos tratamentos combinados é devido também ao efeito dos combinados sobre a taxa de respiração e ao retardar o processo de senescência (Almenar *et al.*, 2006).

5.3.2. *Compostos bioativos e atividade antioxidante*

Os compostos bioativos avaliados nos pedúnculos foram AA, CF e PRO. O teor de AA aumentou, para todos os tratamentos, de 137,60 mg 100 g⁻¹ do dia 0 para, em média, 165 mg 100 g⁻¹ no dia 5, e então reduziu até o fim do armazenamento (Figura 2A). Devido ao estágio de maturação intermediário em que o fruto foi colhido, o acréscimo no teor de AA nos primeiros dias pode ser explicado, pois pedúnculos de caju alcançam valor mais alto de AA em estádios mais avançados de maturação (Figueiredo *et al.*, 2002). A menor redução (52%) aconteceu nos tratamentos QUI e IR+QUI, evidenciando o efeito do recobrimento de quitosana sobre essa variável.

De maneira geral, podemos inferir que a principal perda de AA é devido ao armazenamento em vez dos tratamentos aplicados, uma vez que a redução significativa para todos os tratamentos. Moura *et al.* (2010) acreditam que a redução pós-colheita do teor de AA dos pedúnculos está relacionada com aumento da atividade da ascorbato oxidase. Possivelmente, a limitação a passagem de O₂, permitida pelo uso da quitosana, reduziu a

atividade dessa enzima, a qual na presença de O₂, converte o AA em ácido dehidroascórbico (Saari et al., 1995).

Observamos que assim como o AA, os valores de CF aumentaram no início do armazenamento. No dia 5, esse aumento foi mais evidente nos pedúnculos que receberam a radiação gama, de forma isolada ou combinada, atingindo valores médios de 38,5 mg 100 g⁻¹, porém diferindo apenas do controle. A principal razão para isso, é que a irradiação induz a acumulação de compostos fenólicos como um mecanismo de defesa, promovendo maior biossíntese pelo aumentando a atividade da enzima fenilalanina-amônia (Taheri *et al.*, 2014).

Entre o dia 5 e o dia 10, os teores de CF foram mantidos estáveis na maioria dos tratamentos e reduziram logo em seguida (dia 15), de forma mais acentuada para o CT e a AMP, que alcançaram teor de 32,6 mg 100 g⁻¹, valor que reduziu ainda mais no dia 20 para o tratamento AMP, 29,37 mg 100 g⁻¹, teor estatisticamente inferior aos demais. Verificamos ao fim do armazenamento o maior teor de CF na combinação IR+QUI (Figura 2B).

Com relação ao teor de PRO, verificamos redução do conteúdo inicial, de 5,10 mg 100 g⁻¹, para todos os tratamentos ao longo do armazenamento, de forma mais acentuada para os tratamentos de QUI e AMP e quando os mesmos são usados nas combinações, indicando que, provavelmente, sejam os principais responsáveis por essa redução, pois a IR de forma isolada apresentou maior teor de PRO entre os dias 15 e 20. No dia 15, último dia de vida útil dos pedúnculos CT, o conteúdo de PRO desse tratamento foi de 2,76 mg 100 g⁻¹, não diferindo apenas da IR. Ao fim do armazenamento, a redução de PRO chegou a 70% para as combinações, e sem diferenças estatísticas entre elas (Figura 2C).

A redução de PRO se deve ao longo tempo de armazenamento, a qual está relacionada com o aumento natural da produção de acetaldeído, presentes em frutos em senescência (Khanbabaee e Van Ree, 2001), além disso a alteração da atmosfera promovida pelo uso da QUI e da ATM fez com que a redução de taninos fossem maior nesses tratamentos e em suas combinações, uma vez que em condições de baixa concentração de O₂, o piruvato sofre descaboxilase e libera acetaldeído. O acetaldeído é um composto volátil do grupo dos aldeídos que, quando acumulado, leva à produção de etanol e maior polimerização das proantocianidinas, reduzindo a adstringência do fruto (Hribar *et al.*, 2000).

Figura 2. Ácido ascórbico podridão (A), Compostos fenólicos (B) e Proantocianidinas (C) de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’ clone CCP76 submetidos a irradiação, quitosana, atmosfera modificada e a combinações desses tratamentos pós-colheita, e armazenados a 5°C e 90% UR por 15, 20 ou 25 dias. CT: controle; IR: irradiação; QUI: quitosana; AMP: atmosfera modificada passiva; IR+QUI: irradiação + quitosana e IR+AMP: irradiação + atmosfera modificada passiva. Barras verticais representam o erro padrão, para Ácido ascórbico $n = 4$, para Compostos fenólicos e proantocianidinas $n = 3$. Dados originais, transformação usada para Ácido ascórbico podridão: $\log(x)$; Compostos fenólicos: $x^{-1,0}$ e Proantocianidinas: $x^{-2,0}$

Existem vários métodos para avaliar a atividade antioxidante em um produto, baseadas em análises espectrofotométricas que detectam grupos específicos de compostos quimicamente semelhantes. Com isso, diferentes resultados podem ser encontrados para um mesmo tratamento, dependendo da metodologia empregada. Nesse trabalho, utilizamos os métodos DPPH e FRAP, que medem a capacidade dos antioxidantes para reduzir o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil e o ferro, respectivamente (Figura 3).

Figura 3. Atividade antioxidante por DPPH (A) e FRAP (B) de pedúnculos de caju ‘anão-precoce’ clone CCP76 submetidos a irradiação, quitosana, atmosfera modificada e a combinações desses tratamentos pós-colheita, e armazenados a 5°C e 90% UR por 15, 20 ou 25 dias. CT: controle; IR: irradiação; QUI: quitosana; AMP: atmosfera modificada passiva; IR+QUI: irradiação + quitosana e IR+AMP: irradiação + atmosfera modificada passiva. Barras verticais representam o erro padrão ($n = 3$)

Queiroz *et al.* (2011) utilizando também as metodologias de DPPH e FRAP, classificam o pedúnculo de caju como um fruto de alta capacidade antioxidante e Rufino *et al.* (2010) ao analisar 18 frutos brasileiros, afirmam que pedúnculos de caju apresenta média atividade antioxidante.

O DPPH reduziu durante todo o período de armazenamento para os tratamentos CT, QUI e AMP, os quais, ao fim das análises, apresentavam % de DPPH reduzido de 44,80, 50,74 e 47,97, respectivamente. A IR de forma isolada e nas combinações aumentaram a % de DPPH reduzido de 72,18 (dia 0) para, em média, 80% no dia 5. No dia 10 essa % reduziu para, em média, 67 e se manteve de forma estável durante o restante do período (Figura 3A).

Com relação a atividade antioxidante avaliada através do radical FRAP, verificamos comportamento semelhante ao DPPH, de forma que a maior atividade antioxidante, durante todo o período, está relacionada novamente os pedúnculos que receberam a radiação gama, de forma isolada ou nas combinações. O que foi diferente do DPPH, é que no dia 0, o valor inicial de FRAP de $135,38 \mu\text{M } 100 \text{ g}^{-1}$, aumentou para todos os tratamentos no dia 5. Nesse dia o tratamento de IR atingiu valor de $288,66 \mu\text{M } 100 \text{ g}^{-1}$, não diferindo das combinações. No dia 10, todos os tratamentos reduziram FRAP e se mantiveram constantes até o fim do armazenamento (Figura 3B). Os maiores de CF encontrados nos tratamentos com radiação gama justifica a maior atividade antioxidante medida pelos métodos.

Verificamos, através da correlação de Pearson (Tabela 1), que a atividade antioxidante e os compostos bioativos apresentam correlações significativas e positivas, indicando que o aumento dos compostos bioativos estão diretamente ligado ao aumento da atividade antioxidante e vice-versa. Observamos que o AA e os CF apresenta correlações significativas com os dois métodos avaliados, DPPH e FRAP, e possivelmente esse composto seja um dos principais responsáveis pela atividade antioxidante em pedúnculo de caju. Isso também foi observado por Queiroz *et al.* (2011), ao trabalharem com a influencia de diferentes temperaturas na atividade antioxidante de pedúnculos de caju.

Tabela 1. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre compostos bioativos e a capacidade antioxidante de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 submetidos a irradiação, quitosana, atmosfera modificada e a combinações desses tratamentos pós-colheita, e armazenados a 5°C e 90% UR por 15, 20 ou 25 dias.

	AA	CF	PRO	DPPH	FRAP
DPPH	0,56*	0,74*	0,5*	—	0,69**
FRAP	0,64**	0,7**	0,32 ^{ns}	0,69**	—

ns: não significativo

*: significativo a 5%

**: significarivo a 1%

5.3.3. Compostos voláteis

A análise de voláteis por SPME foi feita no dia 0 (caracterização dos pedúnculos), e nos dias 15 (fim da vida útil do CT), 20 (fim da vida útil da IR, QUI e AMP) e 25 (fim da vida útil de IR+QUI e IR+AMP), sendo possível dessa forma determinar o perfil de emissão de voláteis durante o armazenamento e a influência dos tratamentos aplicados. Na totalidade, foram identificados 97 diferentes compostos, os quais estão identificados com as descrições odorífica na Tabela 2. Desses 97 compostos, 45 são ésteres, 17 álcoois, 13 aldeídos, 7 cetonas, 6 ácidos carboxílicos, 4 terpenos, 3 hidrocarbonetos e 2 fenóis. Observamos que a classe dos ésteres, por representarem 46% do total de compostos identificados, são os responsáveis pelo aroma em pedúnculos de caju. Os ésteres também já foram classificados por outros autores como a principal classe de voláteis responsável pelo aroma e sabor frutal e característico do caju, devido apresentaram maior impacto odorífero no cromatograma (Bicalho *et al.*, 2000; Garruti *et al.*, 2003).

Tabela 2. Compostos voláteis detectados por SPME em pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 submetidos a irradiação, quitosana, atmosfera modificada e a combinações desses tratamentos pós-colheita, e armazenados a 5°C e 90% UR por 15, 20 ou 25 dias.

Class	Composto	Índice de retenção		Descrição odorífica
		Calculado ¹	Teórico ²	
Éster				
3	Acetato de metila	<1000	782	Etéreo, frutado, doce ³
4	Acetato de etila	<1000	850	Etéreo, frutado, doce, verde ³
8	Propanoato de etila	<1000	977	Frutado, doce, caju ⁵
9	2-metil-propanoato de etila	1229	1229	Frutado, doce, caju ⁵
11	Butanoato de metila	948	953	Doce, frutado, caramelo, fruta madura ⁴
12	2-metil-butanoato de metila	1141	-	<i>NI</i>
13	Acetato de 2-metil-1-propila	1221	1228	Doce, banana, fruta madura, tropicais, succulento ³
14	3-metil-butanoato de metila	1022	1025	Caju, doce, plástico ⁴
15	Butanoato de etila	1021	1021	Doce, caju fresco, frutado ^{3,4,5}
16	2-metil-2-propenoato de etila	<1000	-	Acrilato ³
17	2-metil-butanoato de etila	1034	1034	Doce, caju fresco, frutado ^{3,4,5}
18	3-metil-butanoato de etila	1047	1047	Caju, doce, plástico, fruta madura ^{3,4,5}
21	Trans-2-butenato de metila	1740	1740	Verde, frutado ³
23	Acetato 3-metil-1-butanol	1096	1096	<i>NI</i>
25	3-metil-pentanoato de metila	1128	1130	Doce, caju, frutado ⁴
27	Pentanoato de etila	1108	1113	Floral, folha verde ^{3,4}
29	3-metil-butanoato de propila	1128	1144	<i>NI</i>
30	Trans-2-butenato de etila	1145	1151	Doce, frutado, fruta madura, caju ^{3,4}
31	3-metil-pentanoato de etila	1153	1164	Caju ⁴
34	4-metil-pentanoato de etila	1180	1181	<i>NI</i>

35	Hexanoato de metila	1188	1188	Caju, doce, eucalipto ⁴
36	2-metilbut-2-enoato de metila	1172	1175	<i>NI</i>
39	Hexanoato de etila	1199	1199	Frutado, doce, menta, caju ⁴
40	2-metilbut-2-enoato de etila	1229	1229	<i>NI</i>
41	3-metilbutanoato de 2-metilpropila	1214	1223	Doce, frutado ³
43	Trans-2-pentenoato de etila	1221	-	<i>NI</i>
44	Cis-3-hexenoato de metila	1250	1252	Floral frutado ³
49	3-metil-butanoato de 3-metilbutila	1255	1277	Frutado ³
50	Cis-4-hexenoato de etila	1257	-	Frutado, caju ³
51	Acetato de cis-3-hexenol	1270	1275	Verde ³
52	2-metilbut-2-enoato de propila	1128	-	<i>NI</i>
54	Heptanoato de etila	1339	1341	Frutado, abacaxi ³
57	2-Hexenoato de etila	1292	1328	Frutado, verde, doce ³
58	2-metil-2-butenato de 2-metilpropila	1376	1364	Floral, frescor ³
67	Octanoato de etila	1393	1392	Frutado, doce ³
72	Cis-4-octenoato de etila	1435	1440	Suco fresco ³
73	Pentanoato de cis-3-hexenila	1490	1494	Verde, fruta fresca, maçã, pêra, uva, banana, kiwi ³
76	3-hidroxibutanoato de etila	1481	1483	Frutado, uva verde, maçã ³
78	2-Hidroxi-4-metilpentanoato de etila	1069	1078	<i>NI</i>
79	2-Octenoato de etila	1516	1520	Frutado, tropical ³
86	Benzoato de etila	1622	1620	Frutado, doce ³
88	3-hidroxi-hexanoato de etila	1473	1472	Frutado, uva verde ³
90	Fenilacetato de metila	1744	1748	Doce, frutado, floral, mel ³
91	2-fenilacetato de etila	1746	1754	Frutado, mel ³

97	3-fenil-2-propenoato de etila	2098	2095	Bálsamo, ardido ³
Álcool				
5	2-metil-butanol	905	907	Vinho, cebola, frutado, alcoólico ³
6	3-metil-butanol	1237	1240	caju maduro ⁵
7	Etanol	937	936	Alcoólico forte, etéreo ³
38	3-metil-1-butanol	1176	1176	Oleoso, defumado, frutado, banana, caju ^{3,4}
45	1-pentanol	1260	-	<i>NI</i>
48	Acetoina	1282	1285	Doce, amanteigado, leitoso, gorduroso ³
53	4-metil-1-pentanol	1300	1301	<i>NI</i>
55	Cis-2-Pentenol	1309	1310	Fruto verde, etéreo, plástico ³
59	1-Hexanol	1297	1261	Verde, pungente, etéreo, frutado, alcoólica, doce ³
60	Cis-3-Hexenol	1306	1308	Verde, grama, frescor, melão ³
63	Cis-3-Hexen-1-ol	1374	1375	Grama, doce, frutado ⁵
65	Trans-2-hexenol	1358	1360	Verde, frutado com herbal ³
70	1-Octen-3-ol	1409	1407	Terroso, verde, oleoso, fúngico ³
71	1-Heptanol	1459	1458	Caju, frutado, grama ⁵
74	2-etil-1-hexanol	1451	1450	Cítrico, fresco, floral, doce ³
81	1-octanol	1520	1522	Floral, frutado, grama ⁵
85	Mentol	1630	1631	Mentolado ³
Aldeído				
1	Acetaldeído	<1000	655	Frutado, etéreo, picante ³
19	Hexanal	1065	1065	Folha verde ^{3,4}
28	3-Hexenal	1131	1132	Folha verde, caule, tomate, melão, maçã ³
33	Heptanal	1200	1200	Fresco, aldeído, verde, herbário, vinho ³

37	Trans-2-Hexenal	1189	1189	Frutado, noz, doce, floral ^{3,4}
47	Octanal	1248	1248	Cítrico, ceroso ³
61	Nonanal	1345	1348	Cítrico, floral, efervescente ³
64	4-Etil-2-hexinal	1368	-	<i>NI</i>
66	Trans-2-Octenal	1437	1437	Doce, verde, citrico, gordura ³
69	Trans-2,4-Heptadienal	1479	1480	Gorduroso, verde, oleoso, aldeídico, vegetal ³
75	Benzaldeído	1477	1477	Frutado, caju, plástico, verde ^{3,4}
77	Trans-2-Nonenal	1497	1497	Verde, pepino ³
83	Cis-2-Decenal	1630	1630	Gorduroso ³
<hr/> Cetona <hr/>				
2	Acetona	788	823	Acetona, etéreo, maçã, pera ³
10	3-Pentanona	<1000	996	Etéreo ³
26	2,3-Hexanodiona	1135	1136	Caramelo, amanteigado ³
56	6-metil-5-hepten-2-ona	1287	1296	Cítrico, verde ³
62	3-acetoxi-2-butanona	1236	-	<i>NI</i>
84	Acetofenona	1690	1695	Queijo, ácido, cera, doce ⁵
93	δ -Octalactona	1988	>1900	Verde ⁴
<hr/> Ácido carboxílico <hr/>				
68	Ácido acético	1447	1447	Ácido, fruta fermentada ⁴
82	Ácido 2-metil-propanóico	1202	1203	Acidificado, azedo, queijo, leiteira, amanteigado, rançoso ³
87	Ácido 2-metil-butanóico	1652	1655	Caju seco ⁴
92	Ácido hexanóico	1836	1836	Caju, doce, grama ⁵
94	Ácido 2-etil-hexanóico	1967	1967	<i>NI</i>
96	Ácido octanóico	2068	2068	Gordura, ranço, cera ³

Terpeno				
20	β -felandreno	1075	1161	Menta ³
32	D-Limoneno	1167	1167	Cítrico, frescor, doce ³
80	Linalool	1511	1511	Frutado, floral ³
89	β -bisaboleno	1689	1686	Balsâmico, amadeirado ³
Hidrocarboneto				
22	Etilbenzeno	1115	1116	<i>NI</i>
24	M-xileno	1112	-	plástico ³
46	1,2,4-trimetil-benzeno	1266	1269	plástico ³
Fenol				
42	Estireno	1221	1250	Floral, doce ³
95	Fenol	1369	-	<i>NI</i>

¹Índices de retenção de Kovats dos respectivos compostos voláteis, calculados em relação a n-alcanos (C₈ a C₂₀) considerando coluna carbowax (30x0,25x0,25).

²Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

³Fonte: <http://www.thegoodscentscompant.com>.

⁴Fonte: (Garruti *et al.*, 2003).

⁵Fonte: (Sampaio *et al.*, 2011).

Class: código do composto.

NI: não identificado.

O agrupamento hierárquico (*heatmap*), visualizado na Figura 4, determinou a intensidade em que os 97 compostos identificados se apresentaram entre os dias de armazenamento e os tratamentos, de maneira que a intensidade da cor rosa ao vermelho indicam altos níveis e a intensidade do azul claro ao escuro indicam baixos níveis de compostos voláteis. Os cortes nos agrupamentos (*cluster*) permitiu a formação de 3 grupos, nos quais, observamos que a maior influência na separação dos grupos e consequentemente na presença e a intensidade dos voláteis, foram os tratamentos utilizados, e dentro dos tratamentos os dias, considerando início do armazenamento, meio e/ou fim da vida útil, dependendo do tratamento.

Desta forma, os compostos 30 ao 96, da ordem de aparecimento no *heatmap*, ocorreram em maior intensidade no primeiro grupo, formado pelo CT (D15), IR+AMP (D15 e 25) e por AMP (D20), sendo que no CT (D15) os compostos do 54 ao 7 foram mais intensos. Neste grupo encontramos compostos referentes a senescência e fermentação de frutos, como por exemplo o acetaldeído (1) e etanol (7), caracterizando fim de vida útil. Com isso, verificamos que o tratamento AMP no dia 20 e a combinação de IR+AMP a partir do 15 não são eficientes na conservação aromática dos pedúnculos. De acordo com Ke *et al.* (1994), baixas concentrações de O₂ e altas em CO₂, proporcionadas pela modificação da atmosfera, são responsáveis pela acumulação de álcoois, o que leva à produção de etanol e a redução de outros ésteres, isso também aconteceu com framboesas em AMP (Giuggioli *et al.*, 2017).

O segundo grupo foi formado apenas pelo CT (D0), representado pelos compostos 77 ao 85 e indica o perfil de voláteis no momento em que o fruto foi colhido, desta forma, muitos compostos como o 33, 81, 71, 74, 73, 65, 6 e 35 descrevem odores de caju, frutos frescos e verde frutado. Os compostos 18 ao 37 ocorreram em maior intensidade no terceiro grupo, formado pelos tratamentos IR (D15 e 20), QUI (D15 e 20), IR+QUI (D15 e 25) e AMP (D15). Verificamos nesse grupo compostos de aromas descritos como agradáveis, característicos de caju maduro, como o 18, 42, 38, 49, 75, 3, 32, 31, 25, 14, 44, 90, 11 e 37. Neste grupo é importante ressaltar que os tratamentos IR, QUI e suas combinações não caracterizam um fruto senescente mesmo depois de um longo período de armazenamento, provavelmente, isso se deve porque a modificação da atmosfera proporcionada pela quitosana não é tão drástica quanto da AMP.

Figura 4. Análise de agrupamento hierárquico, visualizada por *heatmap*, dos compostos voláteis detectados por SPME em pedúnculos de caju anão-precoc clone CCP-76 submetidos a irradiação, quitosana, atmosfera modificada e a combinações desses tratamentos pós-colheita, armazenados a 5°C e 90% UR por 15, 20 ou 25 dias. T1: CT; T2: IR; T3: QUI; T4: AMP, T5: IR+QUI e T6: IR+AMP. D0, D15, D20 e D25 dias 0 (caracterização), 15, 20 e 25 dias após a colheita. Class= código do composto, especificado na Tabela 1, ordem no *heatmap*: 30, 57, 40, 67, 17, 39, 29, 8, 23, 68, 88, 48, 43, 76, 79, 46, 4, 15, 54, 27, 78, 86, 64, 97, 50, 72, 13, 53, 20, 61, 58, 70, 34, 80, 91, 9, 16, 83, 55, 87, 24, 1, 7, 21, 62, 92, 96, 18, 42, 38, 49, 47, 75, 36, 69, 3, 12, 32, 31, 66, 25, 14, 44, 90, 84, 11, 37, 77. 33, 56, 81, 22, 71, 60, 26, 10, 82, 95, 74, 94, 73, 93, 19, 63, 28, 59, 65, 2, 6, 35, 51, 41, 89, 5, 45, 52 e 85. As cores vermelha e azul indicam altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente

Para avaliação e confirmação dos resultados apresentados no agrupamento hierárquico (*heatmap*) foi empregada a Análise de Componentes Principais (ACP), de forma que tratando cada substância identificada como uma variável e utilizando o conjunto de dados formado pelas áreas obtidas pelos cromatogramas e normalizadas pela média de cada triplicata analisada, foram obtidos os componentes principais. Dois componentes foram selecionados (PC1 e PC2), por explicarem juntos a maior variabilidade existente entre as amostras, aproximadamente 49%. A interpretação da análise deve ser feita visualizando-se uma sobreposição dos dois gráficos apresentados na Figura 5, de modo que os compostos localizem-se próximos às amostras as quais eles caracterizam. Desta forma a ACP caracterizou 3 grupos, sendo que, o segundo grupo anteriormente formado pelo *heatmap* permaneceu o mesmo e os tratamentos AMP (D15) e IR+QUI (D25) passaram do terceiro para o primeiro grupo por serem na ACP caracterizados pelos mesmos compostos, entre eles 30, 39, 68, 42, 18, 34, 8, 17 e 3, todos característicos de aroma de caju maduro, porém com o aparecimento do ácido acético (68), característico de fermentação e senescência.

É importante ressaltar que o perfil de voláteis dos pedúnculos no dia da colheita não foi semelhante aos outros dias, principalmente na divisão da ACP, porém no *heatmap*, verificamos através da intensidade da cor, que os compostos 73 ao 89, também encontrados na caracterização, estão presentes nos tratamentos IR, QUI e IR+QUI (D15), indicando que esses tratamentos no dia 15 poderiam ser alocados, através de outro corte no *cluster*, juntamente com o CT (D0) indicando que até esse dia, esses tratamentos mantêm aroma de pedúnculos frescos. Isso é coerente com o perfil de voláteis desses tratamentos no dia 20 e 25, pois ainda são caracterizados por aromas agradáveis de caju, no agrupamento hierárquico.

Os ésteres de maior importância nesse trabalho são propanoato de etila, 2-metilpropanoato de etila, butanoato de metila, 3-metil-butanoato de metila, 2-metil-butanoato de etila, 3-metil-butanoato de etila e 3-metil-pentanoato de metila, estando de acordo com os perfis de voláteis encontrado em suco de caju (Maia *et al.*, 2000; Garruti *et al.*, 2003; Sampaio *et al.*, 2011).

Figura 5. Análise de Componentes Principais (ACP) *biplot* de caju anão-precoc clone CCP-76 submetidos a irradiação, quitosana, atmosfera modificada e a combinações desses tratamentos pós-colheita, e armazenados a 5°C e 90% UR por 15, 20 ou 25 dias. T1: CT; T2: IR; T3: QUI; T4: AMP, T5: IR+QUI e T6: IR+AMP. D0, D15, D20 e D25 dias 0 (caracterização), 15, 20 e 25 dias após a colheita. Números: código do composto, especificado na Tabela 1.

Em conclusão, os tratamentos de combinação IR+QUI e IR+AMP são eficientes na conservação dos pedúnculos de caju por estender a vida útil até o 25º dia após a colheita, reduzindo a IP e PM e mantendo adequada a FP, fato interessante não alcançado com os tratamentos individuais. Além disso, a combinação IR+QUI manteve também altos níveis de atividade antioxidante e perfil de voláteis característico de um pedúnculo agradável, sendo desta forma a combinação mais indicada. Importante ressaltar que a IR e QUI utilizadas como tratamentos individuais também preservam a qualidade volátil, porém até o 20º dia após a colheita.

Referências

- ALMENAR, E. et al. Controlled atmosphere storage of wild strawberry fruit (*Fragaria vesca* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 1, p. 86-91, Jan 2006.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, Jul 15 1996.
- BICALHO, B. et al. Application of high-temperature gas chromatography-mass spectrometry to the investigation of glycosidically bound components related to cashew apple (*Anacardium occidentale* L. Var. *nanum*) volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1167-1174, Apr 2000.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- CARVALHO, C. R. L. et al. **Análises Químicas: Manual Técnico**: ITAL: 121 p. 1990.
- CASTELLANOS, D. A.; HERRERA, D. R.; HERRERA, A. O. Modelling water vapour transport, transpiration and weight loss in a perforated modified atmosphere packaging for feijoa fruits. **Biosystems Engineering**, v. 151, p. 218-230, Nov 2016.
- FIGUEIREDO, R. W. D. et al. Physical-chemical changes in early dwarf cashew pseudofruits during development and maturation. **Food Chemistry**, v. 77, n. 3, p. 343-347, 2002.
- FILGUEIRAS, H. A. C. et al. Cashew apple for fresh consumption: Research on harvest and postharvest technology in Brazil. In: MICHALEZUK, L. (Ed.). **International Symposium on Effect of Preharvest and Postharvest Factors on Storage of Fruit**, 1999. p.155-160. (Acta Horticulturae).
- GARRUTI, D. S. et al. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale* L) juice by the Osme gas chromatography/olfactometry technique. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 14, p. 1455-1462, Nov 2003.
- GIUGGIOLI, N. R.; GIRGENTI, V.; PEANO, C. Qualitative Performance and Consumer Acceptability of Starch Films for the Blueberry Modified Atmosphere Packaging Storage. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 67, n. 2, p. 129-136, Jun 2017.

HRIBAR, J. et al. Changes during storing and astringency removal of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). **Acta Alimentaria**, v. 29, n. 2, p. 123-136, Jun 2000.

HUSSAIN, P. R.; DAR, M. A.; WANI, A. M. Effect of edible coating and gamma irradiation on inhibition of mould growth and quality retention of strawberry during refrigerated storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 11, p. 2318-2324, Nov 2012. ISSN 0950-5423. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000310469700011 >.

KE, D. Y.; ZHOU, L. L.; KADER, A. A. Mode of oxygen and carbon-dioxide action on strawberry ester biosynthesis. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 119, n. 5, p. 971-975, Sep 1994.

KHANBABAEE, K.; VAN REE, T. Tannins: Classification and definition. **Natural Product Reports**, v. 18, n. 6, p. 641-649, 2001.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. D. G. B. Volatile Constituents of the Leaves, Fruits and Flowers of Cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, n. 3, p. 227-232, 2000/06/01 2000. ISSN 0889-1575. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157500908949> >.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 851-857, Feb 2009.

MOURA, C. F. H. et al. Increasing shelf life of early dwarf cashew tree peduncle through reduction of storage temperature. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 140-145, Jan-Feb 2010.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 1, p. 45-54, Feb 2003.

QIU, M., JIANG, H., REN, G., HUANG, J., WANG, X. Effect of chitosan coatings on postharvest green asparagus quality. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 2027-2032, 15 February 2013 2013.

QUEIROZ, C. et al. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1459-1462, Jun 2011.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, Aug 15 2010.

SAARI, N. B. et al. Distribution of ascorbate oxidase activities in the fruits of family cucurbitaceae and some of their properties. **Journal of food biochemistry**, v. 19, n. 1, p. 321-327, 1995.

SAMPAIO, K. L. et al. Aroma volatiles recovered in the water phase of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice during concentration. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 10, p. 1801-1809, Aug 2011.

SANTOS, A. M. G. et al. Low doses of gamma radiation in the management of postharvest *Lasiodiplodia theobromae* in mangos. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 841-847, Jul-Sep 2015.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants, Pt A**, v. 299, p. 152-178, 1999 1999.

SOUZA, K. O. et al. Preharvest treatment of growth regulators influences postharvest quality and storage life of cashew apples. **Scientia Horticulturae**, v. 209, p. 53-60, Sep 2016.

TAHERI, S. et al. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Enhancement with Acute Gamma Irradiation in *Curcuma alismatifolia* (Zingiberaceae) Leaves. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 7, p. 13077-13090, Jul 2014.

VINSON, J. A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5315-5321, Nov 2001.

Anexos

Tabela 3. Valor de F (ANOVA) do efeito dos fatores atmosfera modificada (tratamento) e dias de armazenamento e da interação destes sobre as variáveis analisadas em pedúnculos de caju ‘anão precoce’ embalados com diferentes filmes e armazenados a $5\pm1^{\circ}\text{C}$ e $90\pm5\%$ UR por 20 dias.

Variável	Tratamentos	Dia	Trat. x Dia	C.V. (%)
Índice de podridão	104,6**	18,05**	26,26**	14,12
Perda de massa	312,52**	60,87**	11,00**	3,65
Firmeza	14,52**	8,88**	3,61*	5,25
Ácido ascórbico	7,07**	42,92**	5,50**	17,88
Compostos Fenólicos	47,73**	9,12**	10,31**	15,80
Proantocianidinas	12,02*	22,91**	9,65**	10,01
DPPH	53,23**	12,89**	4,21*	12,32
FRAP	43,78**	21,22**	3,37*	9,25

** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$; C.V. (%): coeficiente de variação

Figura 5. Pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 submetidos a combinação de diferentes tratamentos (Controle, irradiação 0,5 kGy, quitosana 2,0%, atmosfera modificada (PEBD), irradiação+quitosana e irradiação+atmosfera modificada) e armazenados a 5°C e 90% UR, por 25 dias