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

**Tratamentos térmicos, cloreto de cálcio e atmosfera modificada em pêssegos
‘IAC Douradão’: aspectos fisiológicos, bioquímicos e de qualidade**

Fabiana Fumi Sasaki

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de concentração:
Fisiologia e Bioquímica de Plantas

**Piracicaba
2009**

Fabiana Fumi Sasaki
Engenheiro Agrônomo

**Tratamentos térmicos, cloreto de cálcio e atmosfera modificada em pêssegos ‘IAC
Douradão’: aspectos fisiológicos, bioquímicos e de qualidade**

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

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de concentração:
Fisiologia e Bioquímica de Plantas

**Piracicaba
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Sasaki, Fabiana Fumi

Tratamentos térmicos, cloreto de cálcio e atmosfera modificada em pêssegos 'IAC Douradão': aspectos fisiológicos, bioquímicos e de qualidade / Fabiana Fumi Sasaki . - - Piracicaba, 2009.
177 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Armazenagem em atmosfera modificada 2. Bioquímica de alimentos 3. Fisiologia pós-colheita 4. Pêssego (Tratamento térmico) 5. Qualidade dos alimentos 6. Refrigeração
I. Título

CDD 634.25
S252t

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais,

Kazunoshim Sasaki

Marta Sumico Awaiihara Sasaki

Pelo amor, dedicação, incentivo, pelos ensinamentos e exemplos de vida.

Ao meu irmão,

Flávio Kazuhiro Sasaki

Aos meus avós,

Takeshiro Sasaki

Midori Sasaki (*in memoriam*)

Shohei Awaiihara (*in memoriam*)

Missao Awaiihara (*in memoriam*)

Pelo imenso carinho, amizade e incentivo.

Ao meu namorado,

Thales Sandoval Cerqueira

Pelo amor, carinho, apoio e dedicação.

Pelos conselhos e incentivo.

Pela compreensão e companheirismo nos momentos difíceis.

Pela colaboração durante a realização deste trabalho.

DEDICO E OFEREÇO.

“O futuro tem muitos nomes.

Para os fracos é o inalcançável.

Para os temerosos, o desconhecido.

Para os valentes é a oportunidade.”

Victor Hugo

AGRADECIMENTOS

À Deus, por proteger meu caminho e possibilitar a realização de mais uma etapa de minha vida, com a realização deste trabalho.

À Comissão do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, pela oportunidade da realização deste curso.

À Fundação de Amparo a Pesquisa de Estado de São Paulo-FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Capes, pela concessão da bolsa de estudos para finalização do doutorado.

Ao Prof. Dr. Ricardo Alfredo Kluge, pela orientação, dedicação, apoio, amizade, compreensão e principalmente pela confiança depositada em mim.

Ao Prof. Dr. Angelo Pedro Jacomino, pelos ensinamentos, consideração, amizade e principalmente por disponibilizar a infra-estrutura e equipamentos de seu laboratório.

Ao Prof. Dr. César Valmor Rombaldi, da Universidade Federal de Pelotas, pelos ensinamentos sobre as enzimas da parede celular, atenção e principalmente por ter realizado as análises de quantificação das enzimas PG, PME, Exp. e β -Gal.

À todos os professores do Departamento de Ciências Biológicas pelo convívio agradável.

Ao Pós-Doutorando Luciano Lucchetta, da Universidade Federal de Pelotas, pela atenção e por ter ensinado a análise de Western-Blot.

Às técnicas do Laboratório de Tecidos Vegetais, Lurdes e Lúcia, pela atenção e realização das análises do conteúdo de cálcio.

À ex-técnica do Laboratório de Fisiologia Pós-Colheita, Maria das Graças Ongarelli, pelo auxílio nas montagens dos experimentos e nas análises, além da amizade, incentivo e carinho.

Ao técnico do Laboratório de Pós-Colheita de Frutas Hortalças Marcos Trevisan, pelo auxílio das mais diversas formas, amizade e atenção.

Ao Sr. Marco Kobayashi produtor de pêssegos “IAC Douradão” pelo fornecimento dos frutos para realização do experimento

Aos meus amigos do Laboratório Daniela Cristina Clemente Vitti, Andressa Picoli, Mariana Ferraz Monteiro e principalmente Juan Saavedra del Aguila, Fernando Kazuhiro Edagi, Felipe de Angelis Monteiro Terra, Ivan Sestari e Maria Luiza Lye Jomori pela amizade, consideração e imenso auxílio tanto na montagem dos experimentos quanto nas análises.

Aos estagiários e ex-estagiários do Laboratório de Fisiologia Pós-colheita Patrícia (D-cá), Silce (mãdiña), Diego (Til), Beatriz (Pá -frent), Fernanda (Inka), Daniele (Dismamada), Suzana (K-ravela), Juliano (Patineti), Liliane (Super-pop), Lígia (Féxon), Adriano (Inkantado), Rafael (Lagarto), Nicolas (Nas-coxa), Marcos (Requébra), Mayla (mõleta), pela amizade e auxílio na montagem e análises dos experimentos.

À minha amiga Carol, que me ajudou desde que entrei no mestrado, sempre se mostrou muito atenciosa e sempre teve uma palavra amiga.

À Maria Solizète, secretária do PPG em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, pelos inúmeros auxílios prestados.

À Linda e Raquel (Kell), pela inestimável amizade, mesmo não tendo mais muito contato, sempre torceram por mim.

Ao Dr. Luiz Cerqueira e D. Márcia Cerqueira pelo grande carinho e incentivo.

À D. Clara e Sr. Antônio (*in memorian*), pelo imenso carinho.

À Flávia, Raphael, Daniel, Carola, Raul e Renata pelo carinho e consideração.

A todos os meus tios, tias, primos e primas pelo grande carinho.

À Silvia Maria Zinsly bibliotecária da Divisão de Biblioteca e Documentação da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela atenção dedicada durante a revisão desta tese.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 DESENVOLVIMENTO.....	19
2.1 Revisão Bibliográfica.....	19
2.1.1 Generalidades sobre a cultura do pêssego.....	19
2.1.2 Amadurecimento.....	20
2.1.3 Respiração.....	21
2.1.4 Etileno.....	22
2.1.5 Estrutura e modificação da parede celular.....	24
2.1.6 Refrigeração e injúrias pelo frio.....	28
2.1.7 Tratamentos associados à refrigeração.....	30
2.2 Experimento 1 – Condicionamento térmico no armazenamento refrigerado de pêssego ‘IAC Douradão’	34
2.2.1 Material de métodos.....	34
2.2.2 Resultados e discussão.....	41
2.2.3 Conclusões.....	63
2.3 Experimento 2 – Aquecimento intermitente no armazenamento refrigerado de pêssego ‘IAC Douradão’	64
2.3.1 Material de métodos.....	64
2.3.2 Resultados e discussão.....	65
2.3.3 Conclusões.....	85
2.4 Experimento 3 – Choque a frio antes do armazenamento refrigerado de pêssegos ‘IAC Douradão’	86
2.4.1 Material de métodos.....	86
2.4.2 Resultados e discussão.....	87
2.4.3 Conclusões.....	105
2.5 Experimento 4 – Cloreto de cálcio no armazenamento refrigerado de pêssegos ‘IAC Douradão’	106

2.5.1 Material de métodos.....	106
2.5.2 Resultados e discussão.....	107
2.5.3 Conclusões.....	127
2.6 Experimento 5 – Atmosfera de modificada no armazenamento refrigerado de Pêssegos ‘IAC Douradão’	128
2.6.1 Material de métodos.....	128
2.6.2 Resultados e discussão.....	129
2.6.3 Conclusões.....	148
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	149
REFERÊNCIAS.....	151
ANEXO.....	169

RESUMO

Tratamentos térmicos, cloreto de cálcio e atmosfera modificada em pêssegos 'IAC Douradão': aspectos fisiológicos, bioquímicos e de qualidade

O presente trabalho teve como objetivos avaliar o potencial de conservação refrigerado de pêssego 'IAC Douradão' e determinar os efeitos dos tratamentos térmicos, da aplicação de cloreto de cálcio e da modificação de atmosfera, sobre a fisiologia, a bioquímica e a qualidade dos frutos, visando aumentar o período de armazenamento deste cultivar. Para isso, foram realizados cinco experimentos. No primeiro foram avaliados tempos e temperaturas de condicionamento térmico, com os frutos sendo expostos a 50°C/1h, 50°C/2hs e 20°C/48hs, antes de serem armazenados a 1°C. No segundo experimento foram avaliados diferentes ciclos de aquecimento intermitente durante o armazenamento refrigerado (5 dias a 25°C por 24hs, 5 dias a 15°C por 48hs, 10 dias a 25°C por 24hs e 10 dias a 15°C por 48hs). No terceiro experimento foram avaliados tempos e temperaturas de choque a frio, com os frutos sendo expostos à temperaturas de - 2°C e - 4°C durante 1, 2 ou 3 horas. O quarto experimento consistiu na aplicação de CaCl₂ em concentrações variando de zero a 1,50%. No quinto experimento foram avaliadas embalagens com diferentes tipos de filmes, sendo elas PEAD, PP 0,06, PP 0,10, PEBD 0,06 e PEBD 0,10. O pêssego 'IAC Douradão' pode ser armazenado por 20 dias com perdas reduzidas na qualidade dos frutos e sintomas leves de injúrias pelo frio. Com uso do condicionamento térmico a 20°C/48hs ou aquecimento intermitente em todos os ciclos testados, os frutos não apresentaram sintomas de lanosidade até o final do armazenamento, mas somente o aquecimento intermitente teve influência sobre o escurecimento interno da polpa. Por outro lado, o choque a frio antecipou e intensificou o aparecimento das injúrias pelo frio. Por isso, esta técnica não é indicada para conservação de pêssegos 'IAC Douradão'. As concentrações de 0,75% a 1,25% de CaCl₂ controlaram o aparecimento de podridões e reduziram a incidência de injúrias pelo frio. O uso de embalagens reduziu a perda de massa, sendo a embalagem PEBD 0,10 a mais eficiente também para a redução das injúrias pelo frio e na manutenção dos demais atributos de qualidade. A embalagem PP 0,10, embora tenha sido eficiente no controle das injúrias pelo frio, provocou a fermentação dos frutos. Observou-se, ainda, em todos os experimentos, que os tratamentos que proporcionaram maior produção de etileno durante o armazenamento refrigerado e após a retirada dos frutos para a temperatura ambiente provocaram redução nos sintomas de lanosidade.

Palavras-chave: *Punus persica* (L.) Batsch; Refrigeração; Lanosidade; Escurecimento interno; Enzimas de parede; Conservação

ABSTRACT

Heat treatments, calcium chloride and modified atmosphere in 'IAC Douradão' peach: physiological, biochemical and qualitative aspects

This study was carried out with the objective of evaluate the cold storage potential of 'IAC Douradão' peach and to determine effects of the heat treatment, calcium chloride application and modified atmosphere on the physiology, biochemistry and quality of this fruit, to increase the shelf-life of this cultivar. For this, five experiments were carried out. In the first, different times and temperatures of heat treatment were applied. Fruit were exposed to 50°C/1h, 50°C/2hs and 20°C/48hs before of the stored at 1°C. In the second experiment, different cycles of intermittent warming during cold storage were evaluated. Fruit were heated to each 5 days at 25°C for 24h; 5 days at 15°C for 48 h; 10 days at 25°C for 24h; and 10 days to 15°C for 48h. In the third experiment, times and temperatures of the cold shock were studied. Fruit were exposed at - 2°C or - 4°C during 1, 2 or 3 hours. In the fourth experiment, CaCl₂ application in concentrations ranging from zero to 1.50% were studied. In the fifth experiment, different types of packaging films were evaluated (HDPE, PP 0.06, PP 0.10, and LDPE 0.06 and 0.10). The 'IAC Douradão' peach can be stored for 20 days without quality losses and light chilling injury symptoms. Heat treatment at 20°C/48hs or intermittent warming in all cycles reduced wooliness until the end of storage, but only the intermittent warming affect the internal browning. For other hand, the cold shock accelerated and intensified the chilling injuries symptoms. Therefore, this technique is not indicated for storage of 'IAC Douradão' peach. Concentrations of 0.75% to 1.25% of CaCl₂ controlled the onset of decay and reduced the incidence of chilling injuries. The use of packaging reduced weight loss, and the packaging LDPE 0.10 was most efficient in reducing chilling injuries and maintaining the other attributes of quality. The PP 0.10 packaging, despite having been effective to reduce chilling injuries, it caused fermentation of the fruit. In all experiments was observed that the treatments that provided higher production of ethylene during cold storage and after exposure of fruit to room temperature caused reduction in symptoms of wooliness.

Keywords: *Punus persica* (L.) Batsch; Cold stored; Wollinness; Internal browning; Cell wall enzymes; Conservation

1 INTRODUÇÃO

O pêssego (*Prunus persica* L. Batsch) é um fruto bastante apreciado no mundo, pelo seu sabor, aparência e valor econômico. Atualmente, esta cultura ocupa o 8º lugar na produção mundial de frutas, com 15,4 milhões de toneladas produzidas, que abrange uma área de 1,4 milhões de hectares em pomares produtivos. China, Itália, Estados Unidos e Espanha são os principais países produtores, com participação superior a 65% da produção mundial. Na América do Sul destaca-se o Chile, com 2% na produção mundial, seguido da Argentina e Brasil, respectivamente, contribuindo com 1,8 e 1,4% (FAO, 2005). No Brasil, a produção concentra-se na região Sul e Sudeste com e 69,2% 30,8% da nossa produção de pêssegos, respectivamente. O Estado de São Paulo contribui com uma produção de 47,4 mil toneladas, em uma área cultivada de 2,02 mil hectares (IBGE, 2008), que é quase toda direcionada para o consumo *in natura*.

No Estado de São Paulo, diversas cultivares de pêssego vem sendo criadas ou introduzidas, atendendo às condições climáticas da região (BARBOSA et al., 1997). É o caso da cultivar ‘IAC Douradão’ que atualmente é uma das principais cultivares plantadas no Estado de São Paulo. Ela é preferida por parte dos produtores, atacadistas e consumidores por apresentar sabor mais doce, elevado índice de qualidade (relação sólidos solúveis/acidez titulável), grande área da superfície com coloração vermelha e tamanho maior, proporcionando melhores preços de venda (SANTANA, 2009). Entretanto, é uma cultivar a qual se dispõe de poucos resultados referentes à capacidade de armazenamento sob refrigeração e utilização de técnicas complementares de conservação.

O pêssego é uma fruta de curto período de armazenamento, devido, principalmente, a elevada desidratação, perda de firmeza da polpa, e à incidência de fungos de armazenamento. Além disso, quando armazenados por longos períodos a baixas temperaturas é comum a aparecimento de injúrias pelo frio (“chilling injury”), cujos principais sintomas são o escurecimento da polpa e cavidade da semente (“internal brownig”) e a lanosidade (“woolliness”) (ZHOU; BEN-AIRE; LURIE, 2000; KLUGE et al., 1998b).

A redução das perdas pós-colheita é importante tanto do ponto de vista econômico quanto científico. Assim, é preferível um esforço na melhoria das técnicas de conservação pós-colheita do que perseguir um incremento na produção, pois com isso se consegue maiores benefícios dos recursos disponíveis. Por outro lado, a maioria dos tratamentos químicos aplicados com o propósito de reduzir as perdas pós-colheita são potencialmente prejudiciais ao homem e ao meio

ambiente, o seu uso está sendo progressivamente limitado ou proibido. Assim sendo, existe um crescente interesse por tratamentos físicos alternativos ou com produtos atóxicos.

A refrigeração tem sido a principal técnica utilizada para preservar a qualidade dos produtos hortifrutícolas recém colhidos. Entretanto, em alguns casos, somente a baixa temperatura pode ser insuficiente para retardar as mudanças na qualidade do produto colhido. Além disso, a refrigeração quando aplicada por períodos prolongados pode conduzir ao aparecimento de injúrias causadas pelo frio, cujos sintomas normalmente surgem durante a fase de comercialização, após a retirada do produto da condição refrigerada.

Na tentativa de manter os benefícios da refrigeração, evitar as injúrias pelo frio e diminuir a incidência de podridões pós-colheita, técnicas complementares vêm sendo testadas. Dentre essas técnicas temos os tratamentos térmicos que pode ser aplicados na forma de: condicionamento em temperatura alta ou moderada antes da refrigeração, aquecimento intermitente durante a refrigeração e choque a frio antes do armazenamento. Outras técnicas complementares que vem sendo estudadas são os tratamentos com cloreto de cálcio (CaCl_2) antes do armazenamento e a modificação de atmosfera. Em nível comercial, esses métodos têm sido pouco aplicados, devido ao baixo conhecimento dos procedimentos de aplicação e do potencial de aumento de conservação, em relação ao armazenamento convencional somente com a refrigeração.

Diante destes aspectos, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial de conservação pós-colheita de pêssego 'IAC Douradão' e determinar os efeitos dos tratamentos térmicos, da aplicação de cloreto de cálcio e da modificação de atmosfera, sobre a qualidade e o potencial de armazenamento desta cultivar. Ainda, objetivou verificar o efeito destes tratamentos sobre algumas respostas fisiológicas e bioquímicas dos frutos.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.1 Generalidades sobre a cultura do pêssego

O pessegueiro é nativo da China, onde se encontra a maior diversidade dessa espécie. Entretanto, o nome é originário de Pérsia (atual Irã), que foi erroneamente tomada como seu país de origem (RASEIRA; CENTELHAS-QUEZADA, 2003).

O pêssego (*Prunus persica* (L.) Batsch), pertencente à família Rosaceae, subfamília Prunoidea, gênero *Prunus* e subgênero *Amygdalus*, sendo que a espécie *vulgaris* abrange as cultivares de pessegueiro exploradas economicamente. Faz parte do diversificado grupo denominado frutos de caroço, que se caracteriza por apresentar endocarpo lignificado, rodeado de polpa ou mesocarpo e epicarpo (casca) delgado. No gênero *Prunus*, os frutos apresentam uma característica em comum que é a presença de sutura no plano longitudinal, mais ou menos pronunciada de acordo com a cultivar (BRADY, 1993; DAREZZO, 1998; ZANETE; BIASE, 2004).

São muito apreciados por suas qualidades gustativas e estéticas, sendo consumidos frescos (*in natura*) ou após processamento, principalmente como conservas ou geléias. Quando comparado a outros frutos quanto ao aspecto nutricional, o pêssego apresenta valores relativamente elevados de K, Mg, vitamina A e B₂ (VITTI, 2004).

O pêssego é uma das espécies frutíferas de clima temperado que mais tem sido trabalhadas e adaptadas a condições de clima temperado quente ou subtropical. Esta espécie tem hoje produção comercial, principalmente entre 30° e 45° latitude N e S. Entre as espécies de frutos de caroço, é a de maior expressão econômica mundial (RASEIRA; CENTELHAS-QUEZADA, 2003).

A produção brasileira de pêssegos está totalmente concentrada nas regiões Sul e Sudeste do país, com aproximadamente 23.800 hectares em fase de produção. O estado do Rio Grande do Sul se destaca como maior produtor nacional, detendo 65% da área plantada, onde 47% da produção é destinada ao consumo *in natura*. O estado de São Paulo com apenas 8,7% da área plantada detém aproximadamente 20%, das 235.720 toneladas de pêssego produzido no país. É o segundo maior produtor de pêssego do país, onde a totalidade de sua produção é destinada ao consumo *in natura* (AGRIANUAL, 2007).

O ‘IAC Douradão’ (IAC 6782-83) é uma cultivar “recente” obtido pelo programa de melhoramento genético do Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e lançado ano de 1998. É uma cultivar de maturação precoce, selecionada na geração F1 do pêsego ‘Dourado-1’ em polinização aberta e geração F2 do cruzamento entre ‘Tutu’ x ‘Maravilha’ (BARBOSA, 2005).

É uma planta que apresenta vigor médio e crescimento compacto. A colheita de seus frutos inicia-se em meados de outubro e estende-se até o final de novembro, porém, sob temperaturas mais elevadas a maturação torna-se ainda mais precoce, com seus frutos colhidos no início de outubro. O ‘IAC Douradão’ vem sendo cultivado em várias regiões paulistas, abrangendo as latitudes entre 22°30’ e 24°30’, que apresentam desde 0 até 200 horas anuais de frio inferiores a 7°C. Os frutos tem como características: formato globoso-oblongos, com diâmetro transversal aproximado de 6cm, de coloração externa até 90% vermelho-estriada sobre fundo amarelo-claro e massa média de 160g. Apresentam ainda, polpa amarela espessa, firme, medianamente succulenta e sem aderência ao caroço (BARBOSA, 2005).

O pêsego é uma fruta de curto período de armazenamento, não suportando mais do que três semanas sob baixa temperatura (0 - 1°C). Esta baixa capacidade de armazenamento deve-se ao fato de que as frutas sofrem elevada desidratação e perda acentuada de firmeza de polpa, mesmo sob refrigeração. Além disso, é uma fruta bastante susceptível ao ataque de fungos durante o armazenamento (KLUGE et al., 1997). A *Monilinia fruticola* (Wint) Honey, por exemplo, é um fungo que causa a deterioração de frutas, conhecida como “podridão-parda”. Pode infectar as frutas de caroço (pêsego, ameixa e nectarina) no pomar, porém, a infecção pode permanecer quiescente (latente) até a época de colheita. Infecções posteriores podem resultar a partir de frutas injuriadas (feridas mecanicamente) durante colheita e o manuseio subsequente (SOUZA et al., 2001).

2.1.2 Amadurecimento

O amadurecimento de frutos é um processo complexo e geneticamente controlado, que culmina com uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e estruturais, como a cor, o aroma, a textura e o “flavour” dos frutos (LELIÈVRE et al., 1997; ALEXANDER; GRIERSON, 2002). Inicialmente foi entendido como um processo exclusivamente catalítico, com perda de controle e da organização celular, mas algumas décadas depois, estudos demonstraram que o

amadurecimento e os processos de senescência estão sob estreito controle genético (GRIERSON, 1987; GIOVANNONI, 2001).

Os frutos podem ser classificados, em função dos diferentes mecanismos envolvidos com seu amadurecimento, em climatéricos e não-climatéricos. Nos frutos climatéricos, como maçãs, bananas, pêssegos, nectarinas, ameixas e tomates, observa-se um pico na taxa respiratória, que antecede ou sucede a um drástico incremento na síntese de etileno (YANG; HOFFMAN, 1984; KENDE, 1993; LELIÈVRE et al., 1997). Nos frutos não-climatéricos, como uvas, morangos e os citros em geral, não ocorre um aumento acentuado na respiração, sendo que a produção de etileno se mantém baixa.

O etileno, apesar de não ser o único hormônio a atuar no processo, é considerado o principal hormônio do amadurecimento. A interação entre os fitohormônios promotores e inibidores é o fator controlador do amadurecimento. Segundo Vendrell e Palomer (1997), o etileno e o ácido abscísico podem ser considerados promotores, enquanto que as giberelinas e as citocininas são possíveis inibidores do amadurecimento.

2.1.3 Respiração

A respiração é o principal processo fisiológico que continua ocorrendo após a colheita. A respiração consiste na decomposição oxidativa de substâncias complexas presente nas células, como amido, açúcares e ácidos orgânicos, em moléculas simples (CO_2 e H_2O), com produção de energia. Este processo é a indicação do metabolismo do produto indicando sua intensidade (KAYS, 1991).

O tipo e a intensidade de atividade fisiológica pós-colheita, as quais dependem das funções naturais de cada parte da planta, determinam, em grande extensão, a longevidade do produto, durante o armazenamento na etapa pós-colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os pêssegos, como frutos climatéricos, exibem um pico na taxa respiratória, que antecede ou sucede um pronunciado aumento na síntese de etileno (YANG; HOFFMAN, 1984; LELIÈVRE et al., 1997).

O papel central do climatério respiratório ainda não é conhecido. Acreditava-se que o aumento nos níveis de ATP nas células, em função desse processo, seria uma necessidade para suprir a demanda energética dos vários eventos que ocorrem durante o amadurecimento (TUCKER, 1993). No entanto, a energia produzida pelo incremento respiratório é muito superior

à demanda energética estimada para a maioria dos frutos. Além disso, os frutos não-climatéricos são capazes de amadurecer sem apresentar um aumento significativo na atividade respiratória (TUCKER, 1993).

O processo respiratório é fundamental no amadurecimento dos frutos, pois várias reações acopladas a esse processo são responsáveis pela síntese de inúmeros compostos, tais como pigmentos, compostos fenólicos e hormônios vegetais (VITTI, 2004).

A atividade respiratória é afetada por diversos fatores, portanto, é de grande relevância o conhecimento dos fatores externos e inerentes aos frutos, que podem modificar a sua respiração. Com relação aos fatores do próprio fruto, tem-se seu estágio de desenvolvimento e a composição química dos tecidos que exercem grande influência; e dentre os fatores externos estão a temperatura, composição atmosférica e danos causados durante manuseio e armazenagem (PANTASTICO, 1975). Como os fatores inerentes ao fruto são mais difíceis de serem controlados, pode-se interferir nos fatores externos, possibilitando o desenvolvimento de técnicas de manuseio e armazenamento, que favoreçam a manutenção da qualidade dos produtos durante a comercialização (SANTANA, 2009).

2.1.4 Etileno

O etileno, composto volátil de dois carbonos (C_2H_4), é produzido endogenamente, talvez, por todas as plantas. Em concentrações tão baixas quanto $0,1\mu L L^{-1}$, o etileno pode induzir uma série de respostas fisiológicas, incluído amadurecimento, senescência e desordens fisiológicas (WATADA, 1986).

O envolvimento do etileno no processo de amadurecimento tem sido comprovado pelo estudo de plantas transformadas, nas quais a inibição da síntese de etileno reduz ou inibe o amadurecimento (PICTON et al., 1993; AYUB et al., 1996; SILVA et al., 2004). Além disso, plantas com mutações, que comprometem a síntese normal de etileno, apresentam padrões anormais de amadurecimento (STEPANOVA; ECKER, 2000). Apesar do efeito evidente do etileno na regulação da maturação de frutos climatéricos, acredita-se que mecanismos reguladores moleculares dependentes e independentes de etileno coexistam nesse frutos (LELIÈVRE et al, 1997; ALEXANDER; GRIERSON, 2002), o que torna esse processo, como um todo, ainda mais complexo.

Os diferentes padrões de biossíntese de etileno, que ocorrem nos frutos não-climatéricos e climatéricos, podem ser descritos pelos sistemas I e II, respectivamente. No sistema I, a produção basal de etileno é baixa, está presente nos frutos não-climatéricos, em frutos climatéricos que estão na fase pré-climatérica e em tecidos vegetativos, geralmente, é inibida pela aplicação de etileno exógeno (autoinibição). O sistema II é representado pelo aumento pronunciado na síntese autocatalítica de etileno, concomitante com o amadurecimento dos frutos climatéricos (MCMURCHIE, MCGLASSON; EAKS, 1972; OETIKER; YANG, 1995; ALEXANDER; GRIERSON, 2002). A relação entre o climatérico respiratório e o aumento pronunciado na síntese de etileno, durante o amadurecimento, ainda não foi devidamente elucidado (LELIÈVRE et al., 1997).

O etileno é produzido por uma rota que utiliza a S-adenosil-L-metionina (SAM) como precursor. No início dessa via metabólica, o aminoácido metionina é convertido à SAM, pela ação da SAM sintetase (EC 2.5.1.6), numa reação que consome energia na forma de ATP. A conversão de SAM ao aminoácido cíclico ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) é catalisada pela enzima ACC sintase (S-adenosil-L-metionina metiltioadenosinaliase) (EC 4.4.1.14). Na etapa subsequente, o ACC é convertido a etileno, pela ação da ACC oxidase (EC 1.4.3). Além do etileno, a oxidação do ACC pela ACC oxidase gera CO₂, cianeto (HCN) e água (YANG; HOFFMAN, 1984).

A ação do etileno é dependente da sua ligação a um receptor. Estudos em *Arabidopsis* têm mostrado que este receptor possivelmente seja um complexo enzimático designado ETR1 (FLUR; MATOO, 1996). A ligação do etileno aos receptores inicia uma cascata de transdução de sinal, que culmina na regulação transcricional de determinados genes no núcleo (GUO; ECKER, 2004). Recentemente, descobriu-se que a percepção e a sinalização do etileno ocorrem no retículo endoplasmático (CHEN et al., 2002), desencadeando uma série de respostas fisiológicas e bioquímicas.

A maioria das alterações fisiológicas pós-colheita de frutos climatéricos é influenciada, direta ou indiretamente, pelo etileno. Em vários trabalhos tem sido demonstrado que a redução da produção e/ou da ação do etileno pode prolongar o período de conservação dos frutos (LELIÈVRE, et al., 1997). Para a maioria dos frutos o efeito é positivo (SISLER; SEREK, 1997; FAN; BLANKENSHIP; MATTHEIS, 1999; ZHOU et al., 2001). Entretanto, em alguns casos, onde testou-se a redução da ação do etileno com a aplicação do 1-metilciclopropeno (1-MCP),

um potente inibidor da ação do etileno, (SISLER; SEREK, 1997) , os resultados indicaram efeitos negativos (DONG et al., 2001; ZHOU et al., 2001). Em frutos sensíveis à ocorrência de lanosidade a redução da produção e/ou da ação do etileno tem efeito negativo, intensificando a formação da lanosidade (DONG et al., 2001).

2.1.5 Estrutura e Modificações da parede celular

As paredes celulares não são uniformes, sua composição, forma e tamanho dependem da função da célula dentro da planta (MCDOUGALL et al., 1996). Elas são estruturas complexas constituídas de multicomponentes formando um emaranhado de polissacarídeos unidos por ligações intermoleculares (SILVA et al., 1997). Mais detalhadamente, as paredes celulares consistem de microfibrilas de celulose, rígidas e inextensíveis, unidas por redes coesivas de glicanos, pectinas e glicoproteínas estruturais. As microfibrilas de celulose são envoltas e inter cruzadas entre si pelas hemiceluloses da matriz, em particular os xiloglucanos. A estrutura fundamental (ou primária) de glucanos dos xiloglucanos é capaz de ligar-se fortemente à celulose por meio de pontes de hidrogênio. Os espaços remanescentes entre a rede formada pela celulose e a matriz de glucanos (lamela média) são preenchidos por pectinas hidratadas que, também, formam uma rede, mantida por ligações éster entre as moléculas de pectina e por interligações mediadas por Ca^{2+} entre homogalacturonanos desmetilesterificados. A estrutura, como um todo, é unida por ligações covalentes entre algumas moléculas de xiloglucano e pectinas (CUTTER, 1987; BRUMMELL; HARPSTER, 2001).

As pectinas são os principais componentes da lamela média e um dos principais polímeros da parede celular (DA-SILVA; FRANCO; GOMES, 1997). Frutos carnosos possuem paredes celulares ricas em pectinas, que podem constituir mais de 50% da composição das paredes, embora possam existir variações consideráveis entre as espécies. As pectinas são heteropolissacarídeos ácidos com diferentes formas estruturais, sujeitas à ação de proteínas de biossíntese e de enzimas modificadoras da parede celular. As pectinas são ricas em ácido galacturônico, que participa da formação da estrutura fundamental dos três principais polissacarídeos pécticos: ácido poligalacturônico (homogalacturonano), ramnogalacturonano-I e ramnogalacturonano-II (BRUMMELL; HARPSTER, 2001). Por conterem resíduos de ácido galacturônico carregados negativamente, esses polímeros são altamente hidratáveis e ácidos podendo ligar-se ionicamente a cátions bivalentes. Quando Ca^{++} é adicionado a solução em uma

solução de pectinas da baixa metoxilação, estas formam ligações cruzadas entre si, por meio de íon formando gel semi-rígido (MACMILAN; SHEIMAM, 1974).

O amolecimento dos frutos durante seu amadurecimento envolve uma série de modificações coordenadas dos polissacarídeos que compõem a parede celular primária e a lamela média, resultando no enfraquecimento da estrutura das células (BRUMMELL, 2006). Com exceção de algumas células especializadas e do tecido vascular, a maioria das células da polpa dos frutos, na maioria das espécies, são células não lignificadas e com a parede celular primária fina, que quando observada no microscópio eletrônico, no início do amadurecimento, mostra a dissolução da lamela média (HALLETT; MACRAE; WEGRZYN, 1992; BRUMMELL, 2006).

Em decorrência das modificações das pectinas durante o amadurecimento, a estrutura das paredes celulares torna-se progressivamente mais hidratada (JARVIS, 1984). Dessa forma, a textura do fruto é afetada pela facilidade com que as células rompem ou se separam umas das outras (O'DONOGHUE et al., 1994).

As pectinas, as hemiceluloses e, possivelmente, as microfibrilas de celulose sofrem modificações estruturais durante o amadurecimento. Durante este processo, algumas alterações nas paredes celulares são comuns a várias espécies, como a despolimerização dos glicanos da matriz; outras alterações variam consideravelmente entre as espécies, como a despolimerização de pectinas ligadas ionicamente e o conteúdo de galactose e arabinose. Além disso, a intensidade da solubilização das pectinas é diferente entre as espécies, sendo alta em algumas frutas como ameixa, pêssego e tomate, e pouco expressiva em maçãs e melancias. As pectinas são gradativamente despolimerizadas e solubilizadas durante o amadurecimento; porém, nem todos os poliuronídeos tornam-se solúveis, mesmo que sejam despolimerizados, muitos permanecem associados por meio de ligações iônicas a outras moléculas de pectinas insolúveis. A porosidade da parede celular aumenta, à medida que as pectinas são despolimerizadas, e as cadeias laterais de galactose e arabinose dos ramnogalacturonanos I são removidas, o que vai permitindo o acesso das enzimas hidrolases da parede celular aos seus substratos (BRUMMELL; HARPSTER, 2001; BRUMMELL et al., 2004).

O início do processo de redução da firmeza da polpa de pêssegos é marcado pelo aumento no conteúdo de pectinas fracamente ligadas por ligações iônicas (extraídas por quelante), mas sem a ocorrência de intensa despolimerização. No período seguinte, de redução drástica de firmeza, ocorre uma elevada despolimerização e solubilização dessas pectinas. Esse processo é

acompanhado por uma redução gradual no nível de metilesterificação das pectinas. Além dos processos de degradação da parede celular serem acompanhados pela modificação da atividade de várias enzimas hidrolíticas, também, ocorre síntese de proteínas estruturais, que possivelmente ajudam na manutenção da integridade das paredes celulares durante o processo de amolecimento (BRUMMELL et al., 2004).

Poligalacturonase

A poligalacturonase (PG) ou poli 1→4- α -D-galacturonídeo glicanohidrolase é a enzima que catalisa a quebra das ligações α -(1→4), e encontram-se duas formas presentes: exo-PG e endo-PG. A exo-PG (EC 3.2.1.67) remove unidades simples de ácido galacturônico somente das terminações não-redutoras dos homogalacturonanos, enquanto a endo-PG (EC 3.2.1.15) despolimeriza ao acaso esse polímero. Os homogalacturonanos estão presentes na parede celular numa forma altamente metilesterificada e, para tornarem-se substratos da PG, precisam ser desmetilesterificados (BRUMMELL; HARPSTER, 2001). Durante o amadurecimento, pêssegos que perdem rapidamente a firmeza da polpa (variedade de polpa fundente) apresentam, além da atividade da exo-PG, um aumento pronunciado na atividade da endo-PG. Em pêssegos que não ocorre redução acentuada da firmeza (variedades de caroço preso à polpa), geralmente é mais expressiva a atividade da exo-PG. As PGs são expressas a partir de grandes famílias multigênicas, porém, durante o amadurecimento, apenas poucos genes são expressos nos frutos e, o etileno está envolvido com a regulação desse processo em vários frutos (PRESSEY; AVANTS, 1978).

Pectinametilesterase

Durante o crescimento celular, os homogalacturonanos são secretados nas paredes celulares com um elevado grau de metilesterificação e, progressivamente, são desmetilesterificados. Concomitantemente, ocorre aumento da atividade da pectina metilesterase (PME; EC 3.1.1.11), enzima que hidrolisa os grupos metiléster da posição C-6 dos homogalacturonanos, formando pectinas com menor grau de metilação e metanol (SANTANA, 2009)

Como a PG é mais eficiente na degradação de pectinas desmetilesterificadas, a ação da PME determina, em parte, quais pectinas são suscetíveis ao ataque da PG. A atividade da PME é detectada durante todas as fases do desenvolvimento dos frutos, sendo que picos de atividade são observados quando os frutos são ainda pequenos e imaturos e logo no início do processo de

amadurecimento. No entanto, esses picos são alcançados após um declínio considerável na acumulação de mRNAs para PME (BRUMMELL; HARPSTER, 2001). O etileno, aparentemente, não regula a expressão da PME. No entanto, a expressão de *LeRab11a*, que codifica uma proteína putativamente relacionada ao tráfego de hidrolases para as paredes celulares, possivelmente é regulada pelo etileno. A firmeza da polpa de frutos de plantas antisense para esse gene não decresceu durante o amadurecimento, sendo acompanhado por níveis reduzidos das enzimas PME e PG. Dessa forma, o etileno pode afetar indiretamente a atividade da PME por estimular maior ou menor tráfego dessa enzima do complexo de Golgi às paredes celulares (LU et al., 2001).

Expansinas

Expansinas são proteínas que promovem o afrouxamento da parede celular, mas com aparente ausência de atividade hidrolítica, elas promovem o rompimento das ligações não-covalentes presentes na interface celulose-hemicelulose (COSGROVE, 2000).

O nome expansina foi proposto por estas enzimas terem a função de prover o relaxamento da parede celular durante o aumento de turgor direcionado na expansão das células (ROSE, 2003). Por outro lado, Rose; Lee e Bennett (1997) identificaram um gene da expansina, o *LeExp1*, que foi especificamente e abundantemente expresso no início do amadurecimento in tomates, melões e morangos. Contudo expansão celular não ocorre durante o amadurecimento de tomates, além disso, ocorre declínio na turgescência neste período, sugerindo que a expansina pode também contribuir na degradação da parede celular (ROSE, 2003). Expansinas relacionadas com amadurecimento foram identificadas em diversos frutos como morangos (HARRISON; MCQUEEN-MASON; MANNING, 2001), pêssegos (HAYAMA; MORIGUCHI; KASHIMURA, 2003) e peras (HIWASA et al., 2003).

Brummell et al. (1999) sugeriram que a pode também influenciar na acessibilidade das pectinas à seus substratos em estádios avançados de amadurecimento. A expressão das expansinas relacionadas ao amadurecimento de frutos é regulada pelo etileno (ROSE et al., 1997).

β -Galactosidase

A maior parte da galactose, presente nas paredes celulares, está nas cadeias laterais do RG-I (CARPITA; GIBEAUT, 1993). A enzimas β -Galactosidase (EC 3.2.1.23) atua como uma exo-hidrolase, removendo resíduos de β -D-galactosil das cadeias laterais não reduzidas das

moléculas de RG-I, sendo responsáveis por uma das principais alterações que ocorrem nas paredes celulares: a perda de resíduos galactosil (GROSS; SAMS, 1984). Estas enzimas estão envolvidas em múltiplas rotas bioquímicas e podem atuar sobre um amplo espectro de compostos de galactose incluído galactolípideos e glicoproteínas (ROSE, 2003).

2.1.6 Refrigeração e Injúrias pelo Frio

O armazenamento em baixas temperaturas tem sido considerado como o método mais eficiente para manter as qualidades da maioria dos produtos hortifrutícolas, devido aos seus efeitos na redução da respiração, transpiração, produção de etileno, amadurecimento, senescência e desenvolvimento de podridões (HARDENBURG; WATADA; WANG, 1986). Em frutas climatéricas, como o pêssgo, a redução da temperatura retarda o pico climatérico e a velocidade do amadurecimento (KADER, 1992). Entretanto, em alguns casos, somente a baixa temperatura pode ser insuficiente para retardar as mudanças na qualidade da fruta. Além disso, a baixa temperatura por períodos prolongados pode conduzir ao aparecimento de injúrias fisiológicas (KLUGE et al., 1997).

O aparecimento de injúrias causadas pelas baixas temperaturas de armazenamento ("chilling injury") também constitui fator que limita o armazenamento de pêssgos. Os sintomas de injúrias pelo frio, segundo Lill; O'Donaghue e King (1989), surgem após duas ou três semanas de armazenamento em temperatura inferior a 10°C, sendo caracterizados por alterações na textura da polpa ou lanosidade ("wollinness") e pelo escurecimento da polpa e da cavidade da semente ("internal browning"). Além disso, a perda de sabor, a descoloração, particularmente em torno do caroço e a perda da habilidade de amadurecer, também constituem sintomas de injúrias pelo frio (LUZA et al., 1992; WANG, 1993).

As respostas primárias de frutos injuriados pelas baixas temperaturas têm sido consideradas como de natureza física, incluindo fenômenos de alteração na porção lipídica das membranas e disfunções das proteínas ligadas às mesmas. Essas alterações conduzem às diversas conseqüências indesejáveis no metabolismo, que incluem extravasamento de solutos, elevação na respiração, acúmulo de toxinas, desbalanço metabólico, perda de compartimentação, perda da integridade da membrana, desenvolvimento de sintomas, incremento na produção de etileno, desorganização ultra-estrutural, parada do fluxo protoplasmático, redução no suprimento e uso de

energia, decréscimo na atividade oxidativa mitocondrial, aumento na energia de ativação das enzimas ligadas à membrana, entre outras (SHEWFELT, 1993; WANG, 1993).

Em pêssegos e nectarinas, longos períodos de armazenamento refrigerado levam ao aparecimento da lanosidade, resultando em perda de suculência. Esta textura indesejável na fruta fresca tem sido associada com um desbalanço no metabolismo de degradação da parede celular (KLUGE et al., 2001). A ocorrência de lanosidade possui uma base genética, sendo seu desenvolvimento dependente da combinação entre a temperatura e o tempo de armazenamento (BEN-ARIE; LAVEE, 1971; MITCHELL, 1987; CRISOSTO; MITCHELL; JU 1999). As pesquisas sobre as causas bioquímicas da lanosidade têm focado, primeiramente, nas diferenças relativas das substâncias pécticas que são observadas em extratos de parede celular de frutos lanosos ou não. Os frutos lanosos contêm uma grande proporção de material péctico insolúvel com maior peso molecular e menor grau de esterificação do que frutos não lanosos. A pectina, nesta forma, retém a água livre do tecido e produz a textura seca característica. O armazenamento refrigerado para pêssegos resulta na redução da atividade da PG, enzima chave envolvida na despolimerização e na solubilização da pectina, enquanto a atividade da PME continua estável nesse período. Desta forma, a contínua desesterificação das pectinas promovida pela PME, sem uma despolimerização sincronizada destas pectinas, devido à redução na atividade da PG, conduz ao acúmulo de compostos pécticos de baixo grau de metoxilação e alto peso molecular, que se mantêm insolúveis e causam lanosidade pela formação de um gel com água livre no apoplasto (BEN-ARIE; SONEGO, 1980; LUZA et al., 1992; ZHOU et al., 2000; HAYAMA, et al., 2003; BRUMMELL et al., 2004).

O escurecimento da polpa também é uma injúria comum em pêssegos sensíveis à injúrias pelo frio. Trata-se de um distúrbio fisiológico proveniente de mudanças na integridade e na permeabilidade das membranas celulares, as quais modificam o metabolismo celular e reduzem a atividade normal das enzimas ligadas às membranas, sobretudo as oxidativas. A alteração na coloração da polpa se deve a danos causados às células por produtos intermediários tóxicos, acumulados durante a frigoconservação, e à oxidação dos compostos fenólicos, causada principalmente devido ao aumento na atividade da enzima polifenoloxidase (KLUGE et al., 2002).

A quantidade de compostos fenólicos presentes nos frutos e a atividade das polifenoloxidases são determinantes do potencial de escurecimento dos frutos de determinada

cultivar (KADER; CHORDAS, 1984). As cultivares diferem em relação à susceptibilidade de desenvolver escurecimento da polpa. Além disso, o ponto de colheita (FERNANDEZ-TRUJILLO; CANO; ARTES, 1998) e as condições de armazenamento utilizadas (RETAMALES et al., 1992; CERETTA et al., 2000; BRACKMANN et al., 2005) afetam significativamente a incidência e a severidade desse distúrbio fisiológico.

2.1.7 Tratamentos associados à refrigeração

No caso do pêssego somente o uso de refrigeração não é suficiente para um prolongamento da conservação após a colheita, devido às injúrias pelo frio sofridas por este fruto. Assim sendo, é necessária a utilização de tratamentos associados à refrigeração como os tratamentos térmicos (condicionamento térmico, aquecimento intermitente e choque a frio), uso de atmosfera modificada e aplicação de cloreto de cálcio, com objetivo de aumentar a resistência dos frutos às injúrias pelo frio.

O condicionamento térmico consiste em expor os frutos a temperaturas moderadas ou elevadas, por curtos períodos de tempo, antes de refrigerá-los. O uso desta técnica resulta, basicamente, nas seguintes implicações: retardamento no amadurecimento de frutos climatéricos, devido à redução na síntese de etileno e na atividade de enzimas que degradam a parede celular, diminuição dos danos causados pelas baixas temperaturas e redução de podridões (KLEIN; LURIE, 1991; KLUGE et al., 1997). O condicionamento em temperatura moderada (15-25°C) reduziu as injúrias pelo frio em mamão (PAULL; CHEN, 2000), manga (THOMAS; JOSHI, 1988), pimentão (RISSE; CHUN; MILLER, 1987) e limão (HOUCK; JENNER; BIANCHI, 1990). O condicionamento em altas temperaturas (30 a 60°C) por curtos períodos mostrou ser eficiente para diminuir as injúrias pelo frio em melancia (PICHA, 1986), mamão (CHAN JR, 1988), maçã (LURIE; KLEIN, 1990), tomate (LURIE; KLEIN, 1991), pêssego (MURRAY et al., 2007; OBERLAND; NEIPP, 2005), pepino (MCCOLLUM; MCDONALD, 1993), citros (KLUGE, et al., 2006; MARTÍNEZ-TÉLLEZ; LAFUENTE, 1997) e abacate (WOOLF, 1997).

O aquecimento intermitente consiste na interrupção da baixa temperatura de armazenamento, por um ou mais períodos de alta temperatura. Esse tratamento deve ser realizado antes dos danos tornarem-se irreversíveis, o que varia de acordo com o produto (LURIE; CRISOSTO, 2005; KLUGE et al., 1997). Foi verificada eficiência no controle de injúrias pelo frio com a aplicação do aquecimento intermitente em limão (COHEN, 1988), tomate (KLUGE;

RODRIGUES; MINAMI, 1998), pêssego (VITTI et al., 2007; KLUGE et al., 1996), ameixa (KLUGE et al., 1997), berinjela, quiabo e pimentão (KLUGE et al., 1998a), citros (KLUGE et al., 2007).

Quanto ao aquecimento intermitente, os efeitos fisiológicos e bioquímicos não tem sido determinados. Wang (1994) cita os seguintes prováveis efeitos: a) a indução de alta atividade metabólica, durante o aquecimento, a qual permite ao tecido metabolizar o excesso de intermediários ou materiais tóxicos acumulados durante a exposição às baixas temperaturas; e b) a restauração de possíveis danos ocorridos nas membranas, organelas, ou rotas metabólicas, e restabelecimento de alguma substância que foi esgotada ou impedida de ser sintetizada durante o período de exposição à baixa temperatura. Segundo Lurie e Crisosto (2005), os mRNAs das ACC oxidase e ACC sintase foram induzidos em frutos submetido ao aquecimento intermitente e conseqüentemente a produção de etileno a 0°C foi maior neste frutos em relação aos frutos controle. O aquecimento intermitente também aumentou a atividade da PG (ARTÉS; CANO; FERNADÉZ-TRUJILLO, 1996), promovendo amadurecimento normal dos frutos após a retirada do armazenamento refrigerado.

Quando as frutas e as hortaliças são submetidas a um choque à frio, ocorrem várias alterações fisiológicas e bioquímicas, tais como a contração das membranas celulares e modificações em seus conteúdos (Wang, 1982). Quando eficientemente aplicado, pode reduzir a incidência de doenças pela inibição do crescimento de microorganismos, restringir as atividades enzimática e respiratória, restringir a perda de água por transpiração, retardar a perda de frescor e qualidade e reduzir a produção de etileno (CHITARRA; CHITARRA, 1990). Inaba e Crandall (1986) observaram que o resfriamento a -2°C por 2 horas foi efetivo na conservação de tomates armazenados a 20°C. Barret Reina; Chitarra e Chitarra (1993) enfatizam que, em tomates, a aplicação de choque a frio (-2°C por 2 horas), prévia ao armazenamento, não afetou as características intrínsecas de qualidade dos frutos, particularmente a acidez e o teor de sólidos solúveis. O rápido resfriamento com água gelada, com posterior armazenamento a 20°C retardou o amadurecimento de damascos japoneses, ampliando a sua vida de prateleira (INABA; CRANDALL 1986).

Tratamentos pós-colheita, de frutos, com cálcio para o controle de distúrbios que se desenvolvem durante o armazenamento tem tido resultados eficientes (HARDENBURG; ANDERSON, 1981; POOVAIAH; MOULTON 1982; MEHERIUK; LAU; HALL, 1984;

MANGANARIS, 2006). A adição de cálcio reduz a severidade das desordens fisiológicas, das alterações intracelulares e extracelulares, processos quais estão intimamente associados com a senescência e a qualidade dos frutos (JOHNSON, 1979; HARDENBURG; ANDERSON, 1981; POOVAIAH, 1986). O cálcio é um elemento que desempenha diferentes funções nos tecidos vegetais, notadamente na proteção das membranas e paredes celulares (BUSH, 1993) e na elicitação de respostas às condições de estresses bióticos e abióticos (BOWELL et al., 1991). É importante na manutenção da qualidade de frutas e hortaliças intactas, por reduzir a atividade respiratória e a produção de etileno (DILLEY, 1990), aumentando a retenção da firmeza (MARSAN, 1976), reduzindo a incidência de desordens fisiológicas e de doenças (SHEAR, 1975; CONWAY; SAMS, 1984). O cálcio liga-se a grupos aniônicos de todas as membranas e parede celular, formando pontes entre os componentes estruturais, mantendo dessa forma a integridade, e permeabilidade e compartimentação celulares (POOVAIAH, 1986). Teoricamente, a manutenção da integridade da membrana plasmática é fundamental para prolongar a vida de prateleira da fruta, o cálcio reage com o grupo carboxílico das proteínas da membrana, com o qual previnem o vazamento de solutos do citossol para o espaço extracelular (HANSON, 1984; PICCHIONI et al., 1995). Conway et al. (1992) citam que as pontes de cálcio são resistentes não apenas às enzimas hidrolíticas dos tecidos vegetais que causam o seu amaciamento, como também às enzimas produzidas por fungos e bactérias patogênicas, induzindo a resistência dos tecidos aos mesmos.

Wade (1981) verificou que houve uma redução significativa na severidade das injúrias pelo frio em pêssegos cv. 'J. H. Hale', quando estas foram tratadas com cálcio em pós-colheita. Souza et al. (2001) estudando pêssegos da cv. 'Biuti', observaram que houve um aumento da resistência dos tecidos reduzindo em 34,3% a área lesada e em 19,3% a índice de infecção pela *Monilinia fruticola*, quando os frutos foram tratados em pós-colheita com 1% de cálcio, além que verificarem que houve um aumento na incorporação de cálcio na parede celular dos tecidos injuriados. Zambrano e Manzano (1995) relatam que mangas tratadas com cálcio em pós-colheita tiveram seu período de armazenamento estendido por uma semana.

A atmosfera modificada vem sendo utilizada em várias frutas com o objetivo de manter os atributos de qualidade, minimizar a perda de água, suprimir o desenvolvimento de patógenos e aumentar o período de conservação dos produtos mantidos sob refrigeração (CHITARRA; CHITARRA, 1990). Para a obtenção de atmosfera modificada pode-se recorrer a diversos

métodos, tais como: manter o produto em embalagens de plástico, como filmes de PVC e sacos de polietileno (TAVARES; CHITARRA; CHITARRA, 1991; GORRIS; PEPPELENBOS, 1992), utilizar ceras ou similares (KLUGE et al., 1998b), ou fazer um controle atmosférico do recinto de armazenamento (KADER, 1986). Todos estes métodos reduzem a concentração de O_2 disponível ao produto e aumentam a de CO_2 , diminuindo a sua taxa respiratória e o ritmo de sua senescência (ZAGORY; KADER, 1988). A magnitude com que os níveis de O_2 são diminuídos e os de CO_2 aumentados dependem do método de obtenção da atmosfera modificada. Quando se utilizam embalagens plásticas, as concentrações de O_2 e CO_2 modificadas dentro da embalagem dependem das características do material utilizado e do consumo de O_2 e liberação de CO_2 por parte do produto embalado. A embalagem plástica adequada é aquela que propicia uma concentração de O_2 suficientemente baixa para retardar a respiração, porém mais alta que a concentração crítica que inicia a respiração anaeróbica. Além disso, uma boa embalagem deve impedir o acúmulo excessivo de CO_2 que pode provocar danos no produto embalado (GORRIS; PEPPELENBOS, 1992).

A manutenção de alta umidade relativa ao redor da fruta é outra característica desejável na utilização de embalagens plásticas, pois nesta situação o déficit de pressão de vapor é menor, o que diminui a transpiração e, conseqüentemente, a perda de água por parte da fruta (GEESON, 1989; GORRIS; PEPPELENBOS, 1992). Por outro lado, o excesso de umidade relativa pode gerar condições para a proliferação de fungos de armazenamento. Kluge et al. (1999) verificaram que o polietileno de baixa densidade manteve mais alta a firmeza de polpa das frutas durante o armazenamento de pêssegos 'Flordaprince'.

Assim, os tratamentos térmicos, de atmosfera modificada e aplicação de cálcio, podem incrementar a tolerância do produto às baixas temperaturas e diminuir a incidência de podridões, e assim, possibilitar o armazenamento dos frutos por um maior período de tempo. Entretanto, não só o conhecimento dos efeitos dos tratamentos é importante, mas também a viabilidade prática e econômica da técnica que, uma vez estabelecida, podem tornar o tratamento aplicável em nível comercial.

2.2 EXPERIMENTO - 1

CONDICIONAMENTO TÉRMICO NO ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DE PÊSSEGO ‘IAC DOURADÃO’

2.2.1 Material e Métodos

Os pêssegos ‘IAC Douradão’ foram colhidos no estágio de maturação fisiológica (quebra da coloração verde de fundo) em pomar comercial localizado no município de Itupeva, SP. A colheita foi realizada no início da manhã e os frutos foram imediatamente transportados ao laboratório de Fisiologia Pós-colheita, do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, em Piracicaba, SP, onde sofreram seleção retirando-se os frutos com danos mecânicos e podridões, em seguida os frutos foram separados em lotes homogêneos para serem submetidos aos tratamentos.

O condicionamento térmico foi realizado colocando-se os frutos em câmaras tipo B.O.D. (Foto 1) com 75% UR. Os seguintes tratamentos foram efetuados:

T1 – Frutos sem tratamento e armazenados a 1°C (controle);

T2 – Frutos expostos a 50°C durante uma hora;

T3 – Frutos expostos a 50°C durante duas horas;

T4 - Frutos expostos a 20°C durante 48 horas.

Após os tratamentos os frutos foram armazenados em câmara fria a $1\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e 85-90% UR, durante 30 dias.

As análises foram realizadas nos seguintes períodos: dia 0, para caracterização do lote; aos 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias a temperatura ambiente (25°C), para simulação do tempo de comercialização (10+3); aos 20 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias a temperatura ambiente (20+3); e aos 30 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de a temperatura ambiente (30+3).

As análises bioquímicas também foram realizadas logo após a retirada dos frutos do armazenamento refrigerado aos: 10, 20 e 30 dias; e após a o período de 3 dias de comercialização simulada, aos: 10+3, 20+3 e 30+3 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com quatro tratamentos compostos por quatro repetições de três frutos, para as análises de qualidade e cinco repetições de um fruto para as análises fisiológicas (taxa respiratória e produção de etileno). Para as análises

enzimáticas foram utilizadas três repetições de três frutos por tratamento, sendo feitas triplicatas de cada repetição.

As seguintes determinações foram realizadas:

- a) Perda de massa: determinada pela diferença, em porcentagem, entre a massa inicial da repetição, através da equação: $(\text{peso inicial} - \text{peso final} / \text{peso inicial}) \times 100$;
- b) Firmeza de polpa: determinada utilizando-se um penetrômetro digital, marca Sammar 85261.0472 TR, com ponteira plana de 8mm de diâmetro. Foram efetuadas duas leituras por fruto, em lados opostos da região equatorial dos mesmos, após a remoção de uma pequena parte da casca. Os resultados foram expressos em Newtons.
- c) Teor de sólidos solúveis: determinado colocando-se uma gota do suco extraído da polpa em refratômetro digital, marca Atago PR-101, com correção automática de temperatura para 20°C. Os resultados foram expressos em °Brix;
- d) Acidez titulável: para a determinação da acidez titulável, 10g da amostra triturada foram colocadas em 90mL de água destilada. Foi efetuada titulação potenciométrica com NaOH 0,1N até pH 8,10. Os resultados foram expressos em % ácido cítrico.
- e) Teor de ácido ascórbico: determinado por titulação, através da redução do indicador 2,6-diclorofenol indolfenol-sódio (DCFI) pelo ácido ascórbico. Foram pesadas 10g da amostra e colocada em erlenmeyer contendo 50ml de solução de ácido oxálico (1%). Em seguida as amostras foram filtradas em papel de filtro contendo celite. A titulação foi efetuada com DCFI (0,02%) até atingir a coloração rosada persistente por 15 segundo. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g de polpa, através da equação: $\text{mg ácido ascórbico } 100^{\text{g}^{-1}} \text{ polpa} = [(\text{volume DCFI (mL) gasto} \times f \times 100) / \text{massa da amostra}] / 10$, onde f é o fator de correção para padronização do DCFI e é obtido através da equação $f = \text{massa de ácido ascórbico} / 10 \times \text{volume de DCFI}$.
- f) Coloração da casca: analisada com auxílio de um colorímetro, marca Minolta Chroma Meter CR-300, com iluminante D65, realizando-se as leituras de L (luminosidade), a^* , b^* , sendo estes dados transformados em C^* (cromaticidade), através de fórmula $(C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}})$ e h° (ângulo de cor) pela fórmula $h^\circ = \text{tg}^{-1} \times b^*/a^*$. Foram realizadas duas leituras por fruto, na região equatorial do fruto, avaliando-se a cor de fundo, segundo metodologia adaptada de McGuire (1992).

- g) Injúrias pelo frio (lanosidade): foi adotada metodologia utilizada por Ju; Duan; Ju (2000), baseada na aparência e quantidade de suco extraído a partir da trituração do fruto em centrífuga doméstica. Os frutos foram divididos em cinco categorias: 1 = fruto firme, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 2 = fruto firme, com aparência de seco e pouca extração de suco; 3 = fruto mole, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 4 = fruto mole, com aparência de seco e pouca extração de suco; 5 = fruto mole, com aparência de úmido e com muita extração de suco. Os resultados foram expressos em porcentagem de frutos em cada categoria.
- h) Incidência de podridão: Avaliada pela contagem dos frutos que apresentaram lesões com diâmetro superior a 0,5cm, características de ataque por fungos e bactérias. Os resultados foram expressos em porcentagem de frutos com podridões.
- i) Injúrias pelo frio (escurecimento interno): foi utilizada a metodologia adaptada de Ben-Arie e Sonego (1980). Pelo cálculo do índice de escurecimento (IE) através de uma grade de observação, sendo: sem escurecimento (0% da superfície do fruto), pouco escurecido (< 25% da superfície do fruto), escurecimento moderado (25 - 50%) e escurecimento severo (> 50% do fruto). O índice é calculado como: $IE = [(0 \times \% \text{ de frutos sem escurecimento}) + (1 \times \% \text{ de frutos pouco escurecidos}) + (2 \times \% \text{ de frutos com escurecimento moderado}) + (4 \times \% \text{ frutos com escurecimento severo})]/4$. Quanto maior o valor do IE mais intenso foi o escurecimento interno.
- j) Análises enzimáticas: foram determinadas as atividades das enzimas pectinametilesterase (PME), polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POD) e fenilalanina amônia-liase (PAL). Foram realizadas também a quantificação das enzimas *endo*-poligalacturonaze (PG), PME, pectina liase (PL), expansina (Exp) e β -galactosidase (β -gal).
- j.1) Pectinametilesterase – PME (EC 3.1.1.11): A atividade da PME foi determinada pela técnica empregada por Ratner; Goren e Monseline. (1969), onde a extração foi realizada triturando-se 5g de amostra de polpa congelada com 20mL de NaCl (0,2N) à 4°C (extrato enzimático). A quantificação foi feita acrescentando-se 5mL do extrato enzimático em 30mL de solução de pectina cítrica (1% – diluída em NaCl 0,2N) com pH corrigido para 7,0 com NaOH (0,1N). O pH foi corrigido para 7,0 (rapidamente) novamente, após a adição do extrato procedendo a titulação com NaOH (0,01N) mantendo-se o pH em 7,0 durante 10 minutos. A unidade de

atividade da PME foi considerada como a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação da pectina, correspondente a 1 η mol de NaOH por minuto nas condições do ensaio.

j.2) *Endo*-Poligalacturonase – endo-PG (EC 3.2.1.15); Pectinametilesterase - PME (EC 3.1.1.11); Pectina liase – PL (EC 4.2.2.10); Expansina – Exp e β -Galactosidase – β -Gal (EC 3.2.1.23): A metodologia utilizada para quantificação destas enzimas foi através da técnica de Western-blot, com o uso de anticorpos policlonais. Estas análises foram realizadas na École Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse – ENSAT, na França. As análises foram realizadas somente nos tratamentos considerados mais relevantes de cada experimento. Neste tipo de análise pode-se verificar a expressão gênica da enzima. A extração foi realizada macerando-se 0,5g de polpa em N2 líquido, adicionando-se em seguida 1mL de solução contendo 40mM de fosfato de sódio (pH 7,0), 3mM de EDTA e 1mM de DTT. Amostra será deixada por 5 minutos em temperatura ambiente e centrifugada por 10 minutos a 11.8000rpm, sendo o sobrenadante descartado. Após isso, foram adicionados 250 μ L de solução contendo 62,5mM de TRIS (pH 6,8), 2% de SDS 10% de glicerol e 1mM de DTT, sendo aquecido a 100°C por 10 minutos e novamente centrifugado por 10 minutos a 11.800rpm o sobrenadante foi utilizado como extrato enzimático. Para aplicação do extrato no gel de acrilamida, 100 μ L do extrato enzimático foi adicionado de 10 μ L de tampão SDS PAGE 2x, e 20 μ L desta mistura foi colocado no gel de acrilamida. A separação eletroforética foi realizada durante 90 minutos em cuba de eletroforese em gel descontínuo de acrilamida com concentrações de 8% e 12%. Após separação eletroforética, foi feita eletrotransferência das proteínas para membrana de nitrocelulose, em presença de tampão Tris-HCl contendo 20% de metanol. Essa operação foi realizada a 100V, durante 1,5h, na temperatura de 4°C. Para monitorar o processo procedeu-se a coloração da membrana com Ponceau S. Em seguida, as membranas foram colocadas em solução de leite em pó 5% para bloqueamento e mantidas por 2 horas nessa solução. Após este período, as membranas foram lavadas 3 vezes com tampão TBS e incubadas sob agitação (30rpm) durante 1 hora, em solução contendo 10mL de tampão TBS e 50 μ L de anticorpo (anti-PG ou anti-PME). Foram realizadas mais 3 lavagens das membranas com tampão TBS e em seguida, as membranas foram colocadas em solução contendo 10mL de tampão TBS e 5 μ L de anti-mouse conjugado à peroxidase e deixadas sob agitação por 1 hora. As membranas foram lavadas 3 vezes novamente com tampão TBS e foi feita revelação com Kit

de revelação ECL Western-blot. Com essa técnica comprovou-se a especificidade dos anticorpos para a PG e para PME num extrato de proteínas totais de pêssegos, o que permitiu dar continuidade aos estudos pela técnica de ELISA, resultando na quantificação relativa de proteínas correspondentes a enzimas envolvidas com o metabolismo parietal. Foi atribuída valor 100 a uma amostra que continha 10pg da proteína recombinante de endo-PG e PME. Isto significa que se o valor for 100, naquela amostra há 10pg da proteína em estudo. Um ensaio de recuperação foi executado e obteve-se a média de 93%, ou seja, compararam-se extratos testemunhas com extratos adicionados de concentrações conhecidas de proteínas recombinantes.

j.3) Polifenoloxidase – PPO (EC 1.10.3.1): para extração da enzima foi utilizada metodologia descrita por Zheng; Tian e Meng (2007) onde 5g de polpa congelada foram maceradas com 0,3g de PVPP e 30mL de tampão fosfato de sódio (100mM, pH 7,8). A quantificação foi realizada através da metodologia adaptada de Wang et al. (2004) utilizando-se 0,5mL do extrato enzimático acrescido de 2,5mL de tampão com substrato (100mM tampão fosfato de sódio, pH 6,4 e 50mM Catechol). Após a adição do tampão com substrato no extrato enzimático foi monitorado a mudança da absorbância a 398nm em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22), durante 10 segundos. A atividade específica foi expressa pela $\Delta_{398} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

j.4) Peroxidase – POD (EC 1.11.1.7): a extração foi realizada da mesma forma que para enzima PPO, utilizando-se a metodologia descrita por Zheng; Tian e Meng (2007). A quantificação foi realizada utilizando a metodologia descrita por Jiang et al. (2002) onde 0,5mL do extrato enzimático foi incubado em 2mL de tampão com substrato (100mM tampão fosfato de sódio, pH 6,4 e 8mM guaiacol) por 5 minutos a 30°C e o aumento da absorbância a 460nm foi mensurado por 120segundos depois da adição de 1mL de H₂O₂ (24mM). A atividade específica foi expressa pela $\Delta_{460} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

m.5) Fenilalanina amônia-liase – PAL (EC 4.3.1.25): para determinação da atividade da PAL foi utilizada a metodologia adaptada de Peixoto et al. (1999). Amostras 0,1g de polpa congelada foram maceradas em N₂, sendo adicionados 10mL de tampão borato de sódio 0,1M de pH 8,8 contendo PVP (5% m/v). Logo em seguida as amostras foram centrifugadas a 12000rpm por 20 minutos a 4°C. Após a centrifugação, os extratos foram filtrados em lã de vidro. Para quantificação, foi retirada uma alíquota 1mL do extrato filtrado acrescido de 1mL de tampão

borato de sódio 0,2M e 1mL de fenilalanina. As amostras foram incubadas por 60 minutos em banho-maria a 36°C, após este período acrescentou-se 0,1mL de HCl 6N, para cessar a reação enzimática. A determinação foi realizada em espectrofotômetro com leituras a 290nm. Os cálculos para obtenção dos resultados foram realizados utilizando-se a seguinte fórmula: $Z = (L/60) \times (V/v \times d \times \epsilon_{290})$, onde: Z= unidade de atividade da PAL, L = leitura realizada no espectrofotômetro a 290nm, V = volume total, v = volume da amostra, d = distância óptica percorrida (cubeta = 1cm) e ϵ_{290} = coeficiente de extinção molar ($10^4 \text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$). A atividade específica foi expressa em $\text{mmoles min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

- j.6) Teores de proteínas totais: os teores de proteínas totais foram quantificados através da adaptação da metodologia descrita por Bradford (1976), utilizando solução de BSA (Serum Albumine Bovina) para curva padrão. Uma alíquota de 0,1mL dos respectivos extratos enzimáticos foram acrescidos de 1mL da solução de Bradford, sendo as leituras realizadas em 595nm. Esta determinação foi realizada para os cálculos das atividades específicas das enzimas.
- k) Extravasamento de eletrólitos: foi determinado utilizando-se a metodologia adaptado de Fumanski e Buescher (1979). Amostras de 2g de discos de polpa foram incubados sob agitação durante 3hs em 50mL de solução de manitol 0,4M. Após este período foram realizadas leituras em condutivímetro, marca Ação Científica, modelo MCA-150 (constante de célula $k = 1,0$) (Li). Em seguida as amostras foram fervidas em banho-maria durante 10 segundos, sendo novamente realizadas medidas em condutivímetro (Lf). Para os cálculos utilizou-se a seguinte fórmula: $E = (Lf-Li)/Lf \times 100$. Os resultados foram expressos em % de extravasamento de eletrólitos.
- l) Teores de pectinas totais e solúveis: os conteúdos de pectinas totais e solúveis foram s segundo a metodologia descrita por McCready e McComb (1952), a determinação foi realizada através da metodologia descrita por Bitter e Muir (1962).
- n.1) Extração da pectina total: 5g de amostra de polpa congelada foi homogeneizada com 25mL de álcool etílico 95% e deixada em repouso durante 30 minutos à 5°C, após este período a amostra será filtrada em papel de filtro descartando-se o filtrado, o papel de filtro com o resíduo será lavado duas vezes com 10mL de álcool etílico 75%, o resíduo foi transferido para erlenmeyer onde foi adicionado 50mL de solução Versene (EDTA tetrassódico 0,5%) e o pH ajustado para 11,5 com NaOH 1N. A amostra ficará novamente e

repouso por 30 minutos à 5°C, após o repouso foi novamente ajustado o pH para 5,0 – 5,5 com ácido acético glacial (P.A.), em seguida foi adicionado 100mg de pectinase e deixado em agitação por 1 hora, após este período a amostra foi transferida para um balão de 100mL e o volume foi completado com solução Versene, a amostra foi filtrada novamente e filtrado (extrato) foi utilizado para quantificação.

n.2) Extração das pectinas solúveis: 5g de amostra de polpa congelada foi homogeneizada com 20mL de álcool etílico 95% e deixada sob agitação por 1 hora, após este período a amostra foi filtrada em papel de filtro, sendo descartado o filtrado, o papel de filtro com o resíduo foi lavado duas vezes com 20mL de álcool etílico 75%, o resíduo (amostra) foi transferido para erlenmeyer e foi adicionado 20mL de água destilada. A amostra foi deixada novamente sob agitação por uma 1 hora, após isso a amostra foi filtrada e o filtrado (extrato) foi utilizado para quantificação.

A quantificação foi realizada da mesma forma tanto para as pectinas totais quanto para as pectinas solúveis, onde em tubos de ensaio foram pipetados 1mL da amostra (extrato) e 3,6mL de solução de H₂SO₄ contendo 0,0125M de borato de sódio, os tubos foram aquecidos em banho-maria a 100°C por 5 minutos e resfriados imediatamente em banho de gelo, foi acrescentado 0,06mL de 3-phenylphenol (90%). Os tubos foram agitados em vortex, deixados em repouso por 15 minutos e foram feitas leituras em espectrofotômetro o comprimento de onda de 520nm. As leituras foram comparadas com uma curva-padrão de ácido galacturônico contendo oito pontos. Os resultados foram expressos em mg de ácido galacturônico 100g⁻¹ de amostra.

n.3) Solubilização de pectinas: A porcentagem de solubilização das pectinas foi obtida através de seguinte equação: % solubilização = (teor de pectinas solúveis/teor de pectinas totais) x 100.

m) Taxa respiratória: para a determinação da taxa respiratória, os frutos foram colocados em jarros de vidro com capacidade de 600mL, permanecendo hermeticamente fechados por períodos de 1 hora. Em cada tampa dos jarros foi colocado um septo de silicone através do qual foi retirada a amostra de gás. Com uma seringa de 1ml foi coletada uma amostra de cada jarro e injetada em cromatógrafo a gás, marca Thermofinigan, modelo Thermoquest GC Trace 2000 com detector de ionização de chama (FID), tendo hidrogênio como gás de arraste a um fluxo de 25mL minuto⁻¹. As temperaturas foram 80°C na coluna, 100°C no injetor,

250°C no detector e 350°C no metanador. Os resultados expressos em ppm de CO₂ foram transformados para % de CO₂ e utilizados para ao cálculo da taxa respiratória, sendo levado em conta o volume livre do frasco, o tempo que o mesmo permaneceu fechado e a massa dos frutos. Os resultados foram expressos em mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

- n) Produção de etileno: os procedimentos foram semelhantes à determinação da taxa respiratória, no que se refere a coleta da amostra de gás, sendo que os frascos ficaram fechados por 2 horas. As amostras, também, foram injetadas em cromatógrafo a gás, marca Thermofinigan, modelo Thermoquest GC Trace 2000 e detector de ionização de chama (FID), tendo hidrogênio como gás de arraste a um fluxo de 25mL minuto⁻¹, as temperaturas da coluna, injetor e detector foram de 80°C, 100°C e 100°C respectivamente. Os resultados foram expressos em µL C₂H₄.kg⁻¹.h⁻¹.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa ($p \leq 0,05$), em que as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois erros padrões foram consideradas significativas (SHAMAILA et al., 1992).

2.2.2 Resultados e Discussão

Houve incremento na perda de massa ao longo do período de armazenamento refrigerado (Figura 1), para todos os tratamentos. Este fato deve-se à desidratação que ocorre nos frutos durante o período pós-colheita, motivado pelos processos de transpiração e respiração (SIGRIST, 1992; RONQUE, 1998).

De acordo com Finger e Vieira (1997), perdas superiores a 10% são críticas para a maioria dos vegetais, o que origina sintomas de murchamento. Nesse sentido, o tratamento 20°C/48hs proporcionou maiores perdas de massa, atingindo mais de 10% de perda de massa após 10 dias ainda de armazenamento. Nos demais tratamentos térmicos, perdas de 10% foram alcançadas após 20 dias de armazenamento (Figura 1). Os tratamentos que sofreram condicionamento térmico apresentaram frutos com perdas de massa significativamente maiores ($p \leq 0,05$) em relação ao controle, durante o armazenamento refrigerado devido, provavelmente, ao próprio tratamento, pois durante o tratamento térmico os frutos permaneceram em B.O.D com temperaturas de 20 ou 50°C e umidade relativa em torno de 75%, por outro lado os frutos do

controle foram imediatamente colocados na câmara fria com 85-90% UR. Segundo Hardenburg; Watada e Wang (1986) a 20°C e 70% UR o déficit de pressão de vapor de 5,26mm Hg, enquanto que a 0°C e 90% UR o déficit de pressão de vapor é de somente 0,46mm Hg e quanto maior o déficit de pressão de vapor maior será a perda de água por transpiração.

Embora tenha tido elevada perda de massa os frutos do tratamento 20°C/48hs ainda estavam aptos para serem consumidos após 30+3 dias de armazenamento.

Zhou et al. (2002) também observaram maiores perdas de massa (11%) em relação ao controle (9%) em pêssegos ‘Baihua’ tratados termicamente com ar quente a 37°C por 24hs após 18dias de armazenamento a 4°C.

O comportamento da perda de massa permaneceu semelhante após a retirada dos frutos do armazenamento refrigerado e manutenção a temperatura ambiente durante 3 dias, atingindo valores de 22,90%, 22%, 18,80% e 16,50% para os tratamentos 20°C/48hs, 50°C/2hs, 50°C/1h e controle, respectivamente. (Figura 1B).

Figura 1 - Perda de massa de pêssegos ‘IAC Douradão’ submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: (A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e (B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

A firmeza apresentou diminuição significativa ($p \leq 0,05$) durante o armazenamento, principalmente entre o início do armazenamento e o 10º dia de refrigeração + 3 dias de comercialização simulada, para todos os tratamentos (Figura 2). Houve diferença significativa entre os tratamentos somente no dia 10+3 onde o tratamento 50°C/2hs apresentou valor de firmeza de 8,6N, sendo seguido pelos tratamentos controle e 50°C/1h (6,25N) e 20°C/48hs

(4,5N). O tratamento com condicionamento a 20°C/48hs apresentou valores significativamente inferiores ($p \leq 0,05$) aos demais tratamentos (Figura 2). Murray et al. (2007) observaram comportamento semelhante em pêssegos ‘Flavorcrest’ tratados termicamente, os quais apresentaram diferença na firmeza em relação ao controle no início do armazenamento refrigerado, sendo esta diferença suprimida na quarta semana.

A redução acentuada de firmeza do dia 0 para os demais dias de análise, provavelmente seja devido ao amadurecimento que ocorre ao longo dos 3 dias de comercialização simulada a 25°C. A firmeza está diretamente associada não só com a composição e estrutura das paredes celulares, como também, com a manutenção de sua integridade (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O declínio da firmeza durante o amadurecimento dos frutos é resultado do desarranjo da parede celular que provêem estrutura e rigidez e é responsável pela adesão intercelular (BRUMMELL, 2006). As enzimas hidrolíticas, como pectinametilesterase, poligalacturonase, celulase e outras atacam os carboidratos estruturais da parede celular e são, em grande parte, responsáveis pela perda de firmeza dos tecidos vegetais (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A atividade destas enzimas aumenta proporcionalmente ao aumento da temperatura de exposição das frutas (DILLEY, 1970), explicando a elevada perda de firmeza.

No tratamento 20°C/48hs, a exposição dos frutos à temperatura moderada por um período maior, além de proporcionar uma maior atividade das enzimas de degradação a parede celular, promoveu um aumento da perda de água pela transpiração (Figura 1), deixando os frutos menos túrgidos e, conseqüentemente, reduzindo a firmeza dos mesmos. Segundo Vitti et al. (2007) este é um resultado esperado, uma vez que a exposição a temperaturas mais altas, anteriormente ou durante o armazenamento, acelera o metabolismo dos frutos e afeta todos os aspectos relacionados ao amadurecimento, como as alterações na firmeza.

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os observados por Vitti et al. (2007) em pêssegos ‘Dourado 2’, e Fernández-Trulillo e Artés (1997), em pêssegos ‘Paraguay’, onde logo após a colheita os frutos apresentavam firmeza acima de 50N e após o período de conservação refrigerado e comercialização simulada dos mesmos apresentavam valores em torno de 4 a 6N.

Figura 2 - Firmeza da polpa de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Houve pequena elevação no teor de sólidos solúveis ao redor de 2°Brix ao longo do experimento, não havendo diferença significativa entre os tratamentos (Figura 3). O teor de sólidos solúveis usualmente aumenta com o amadurecimento através de processos de biossíntese ou degradação de polissacarídeos, até um ponto em que o fruto passa a utilizar essa reserva de açúcares para manter sua atividade metabólica (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os resultados estão de acordo com os encontrados por Budde et al.(2006) em pêssegos 'Dixiland' nos quais os valores variaram de 12,1% a 13,8%. Zhou et al. (2002) também não encontraram diferenças significativas para o teor de sólidos solúveis para pêssegos que sofreram condicionamento térmico em relação aos frutos controle.

Figura 3 - Teor de sólidos solúveis de pêssegos ‘IAC Douradão’ submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Houve uma redução na acidez titulável ao longo do período de armazenamento, independentemente do tratamento, passando de 0,32% de ácido cítrico para aproximadamente 0,13% de ácido cítrico (Figura 4). Os tratamentos não tiveram influência sobre a acidez titulável dos frutos até o final do armazenamento. A queda na acidez pode ter sido em razão do consumo de ácidos na respiração celular, pois eles também são substratos respiratórios (KLUGE et al., 2002) ou pela conversão deste em açúcares (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Resultados semelhantes foram obtidos por Vitti et al. (2007) em pêssegos ‘Dourado-2’ submetidos ao condicionamento térmico, Lima et al. (1999) em pêssegos ‘Premier’ e Obenland e Neipp (2005) em pêssegos ‘Elegant Lady’, ‘Diammond Princess’, ‘Klondike’ e ‘Ryan Sun’.

Figura 4 - Acidez titulável (% ácido cítrico) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Os teores de ácido ascórbico não diferiram significativamente entre os tratamentos em todos os dias de análise (Figura 5), mas houve uma redução nos teores de aproximadamente 50% quando comparados dia 0 ao último dia a análise (30+3). Este fato era esperado, pois segundo Vitti (2004) existe uma relação inversa entre senescência e conteúdo de ácido ascórbico. O ácido ascórbico é um antioxidante natural que vai sendo consumido à medida que a senescência se desenvolve como forma de reparar danos oxidativos nas células. Este decréscimo depende, em parte, da duração e da temperatura de armazenamento (THÉ, 2001). Além disso, outros fatores como: calor, oxidação, dessecação, armazenamento, aplicação de frio e alcalinidade do meio, auxiliam na degradação da vitamina C (FRANCO, 1998).

A vitamina C é definida como um termo genérico para todos os compostos que apresentam a atividade biológica semelhante ao L-ácido ascórbico (AA). O AA é a principal forma biologicamente ativa da vitamina C, mas o ácido L-dehidroascórbico (DHA), um produto da oxidação do AA, também exibe atividade biológica (LEE; KADER, 2000). Como o AA é a principal forma de biologicamente ativa da vitamina C sua medida é considerada uma medida indireta do conteúdo de vitamina C.

Figura 5 - Teor de ácido ascórbico de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

O condicionamento térmico também não apresentou influência sobre a variável cor da casca (Figuras 6, 7 e 8).

Os frutos apresentaram um acréscimo na intensidade de cor ao longo de período de armazenamento, para todos os tratamentos. O tratamento 50°C/2hs apresentou valores significativamente menores ($p \leq 0,05$) de chroma em comparação aos demais tratamentos, somente no dia 10+3 (Figura 6).

Pode-se observar decréscimo nos valores do ângulo de cor, para todos os tratamentos, após 10 dias de armazenamento (Figura 7). Isto mostra que a coloração de fundo da casca variou de verde para amarelo, indicando que a comercialização simulada de 3 dias proporcionou amadurecimento dos frutos.

Obenland e Neipp (2005) também observaram redução no valor do ângulo de cor nas quatro variedades de pêssegos estudadas. Estes autores acreditam serem necessários diferenças no ângulo de cor acima de 2,5 para a mudança de cor em pêssegos ser detectado visualmente.

A luminosidade permaneceu praticamente constante ao longo do período de armazenamento independentemente do tratamento. (Figura 8).

Figura 6 - Intensidade de cor (Chroma) de pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Figura 7 - Ângulo de cor (Hue) de pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Figura 8 - Luminosidade de pêssegos ‘IAC Douradão’ submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Em relação à lanosidade, o tratamento 20°C/48hs apresentou a maior porcentagem de frutos na categoria 5 em todos os dias de análises indicando que este tratamento foi eficiente no controle da lanosidade, ao contrário dos tratamentos 50°C/1h e 50°C/2hs que provaram antecipação no aparecimentos dos sintomas de lanosidade nos pêssegos em relação ao controle, apresentando, respectivamente, 12,50% e 18,75% dos frutos com sintomas leves de lanosidade (categoria 4), já na primeira avaliação realizada após 10 dias de armazenamento (Tabela1).

Os frutos do tratamento controle apresentaram sintomas de lanosidade somente a partir do 20° dia de armazenamento refrigerado + 3 dias de comercialização simulada. Isto indica que a variedade ‘IAC Douradão’ pode ser armazenada a 1°C durante 20 dias, sem manifestação de sintomas severos de lanosidade.

A lanosidade é resultado do desbalanço na atividade de enzimas pectinolíticas, quando ocorre aumento da atividade da enzima pectinametilesterase (PME), causando acúmulo de substâncias pécticas com baixo grau de esterificação, e redução ou inibição da atividade da enzima poligalacturonase (PG), não permitindo que essas substâncias sejam degradadas e solubilizadas (BEN ARIE; SONEGO, 1980; ZHOU et al.; 2000). Segundo Kluge et al. (2002) a PME tem sua atividade ótima ao redor de 40°C, enquanto que a PG é inibida em altas temperaturas.

Obenland e Carroll (2000) também observaram antecipação no aparecimento da lanosidade em pêssegos e nectarinas submetidos ao condicionamento térmico em relação aos frutos não tratados.

Tabela 1 - Lanosidade de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico¹

Tratamentos	Categorias [*]				
	1	2	3	4	5
-----Dia 10+3 ^{**} -----					
Controle	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
50°C/1h	0,00	0,00	0,00	12,50	87,50
50°C/2hs	0,00	0,00	0,00	18,75	81,25
20°C/48hs	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
-----Dia 20+3 ^{**} -----					
Controle	0,00	16,67	0,00	25,00	58,33
50°C/1h	0,00	33,34	0,00	58,33	8,33
50°C/2hs	8,34	16,67	8,33	58,33	8,33
20°C/48hs	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
-----Dia 30+3 ^{**} -----					
Controle	0,00	8,33	75,00	16,67	0,00
50°C/1h	8,33	50,00	25,00	16,67	0,00
50°C/2hs	0,00	25,00	33,34	33,33	8,33
20°C/48hs	0,00	0,00	0,00	16,67	83,33

¹Dados expressos em % de frutos com lanosidade em cada categoria.

^{*}Categorias: 1 = fruto firme, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 2 = fruto firme, com aparência de seco e alguma extração de suco; 3 = fruto mole, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 4 = fruto mole, com aparência de seco e alguma extração de suco; 5 = fruto mole, com aparência de úmido e muita extração de suco.

^{**}Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3); 20 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (20+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Os frutos do tratamento controle apresentaram quantidades elevadas das enzimas endo-PG, PME, PL e β -Gal somente no primeiro dia de análise (10+3), neste dia os frutos ainda não apresentavam sintomas de lanosidade. Porém, no último dia de análise (30+3), quando todos os

frutos apresentavam-se lanosos (Tabela 1), somente a quantidade da enzima PME permaneceu constante, tendo as demais enzimas sua quantidade reduzida (Tabela 2).

O tratamento 20°C/48hs, cuja maioria dos frutos permaneceu sem manifestar sintomas de lanosidade (Tabela 1), apresentou o aumento na quantidade das enzimas *endo*-PG, PME, PL e β -Gal após 10 dias de armazenamento refrigerado, em relação ao dia 0 (caracterização). No último dia de análise (30+3) os teores das enzimas *endo*-PG e PME foram semelhantes aos do dia da caracterização, porém as demais enzimas estavam em quantidades inferiores. Já o tratamento 50°C/2hs o qual provocou aceleração no aparecimento dos sintomas de lanosidade mostrou aumento da quantidade das enzimas PL e β -Gal no dia 10+3 e aumento das enzimas *endo*-PG e PME no dia 30+3 (Tabela 2). Frutos sem lanosidade tem a habilidade de sintetizar e ativar inúmeras enzimas durante o armazenamento refrigerado e após maturação, mas esta capacidade é perdida em frutos com lanosidade (BRUMMELL et al., 2004). Os mesmo autores afirmam também que não são somente as enzimas PG e PME que estão envolvidas no aparecimento da lanosidade, eles observaram redução na atividade de enzimas como *endo*-1,4- β -glucanase, *endo*-1,4- β -manase, β -galactosidade e α -arabinosidade.

Durante o armazenamento refrigerado houve um aumento da atividade da enzima PME no 20° dia, após este período a atividades decresceu em todos os tratamentos. O tratamento 50°C/2hs apresentou menor atividade de PME até o 20° dia de armazenamento refrigerado (Figura 9A).

Após os 3 dias de comercialização simulada houve um pico da atividade de PME no 10+3 dias, para todos os tratamentos. O tratamento 20°C/48hs apresentou atividade de PME significativamente maior durante todo período de armazenamento (Figura 9).

Resultados semelhantes foram obtidos por Vitti et al. (2007) em pêssegos ‘Dourado 2’ submetidos ao condicionamento térmico.

Foi observada relação entre a quantidade de PME (Tabela 2) e a atividade (Figura 9) da mesma enzima para os tratamentos controle e 20°C/48hs, os quais apresentaram aumento na quantidade e atividade no dia 10+3 e redução de ambas no dia 30+3, sendo mais acentuada no tratamento controle.

Alguns autores observaram que em comparação aos frutos sem lanosidade, pêssegos lanosos mostraram aumento na atividade de PME (BEN-ARIE; SONEGO, 1980; ARTÉS; CANO; FERNANDÉZ-TRUJILLO, 1996), enquanto outros verificaram manutenção da sua atividade (OBENLAND; CARROLL, 2000; ZHOU et al., 2000). Entretanto, a maioria deles

observou a redução da atividade da enzima endo-PG (BUESCHER; FURMANSKI, 1978; BEN ARIE; SONEGO, 1980; ARTÉS; CANO; FERNANDÉZ-TRUJILLO, 1996; OBENLAND; CARROLL, 2000; ZHOU et al., 2000). A baixa quantidade ou atividade da enzima endo-PG combinada com a contínua desesterificação resultante da atividade da enzima PME faz acumular pectinas com alto peso molecular e baixo grau de esterificação que se ligam íons de cálcio formando pectatos que retiram a água livre dos formando gel péctico (BEN-ARIE; SONEGO, 1980; ZHOU et al., 2000; OBENLAND; CRISOSTO; ROSE, 2003) o que provoca a perda da suculência da polpa dos frutos. Este aumento da PME e redução da endo-PG também foi observado no frutos do tratamento controle os quais apresentaram lanosidade. Por outro lado, os frutos do tratamento 20°C/48hs, o qual manteve valores elevados de endo-PE e PME não estavam com lanosidade.

Embora o tratamento 50°C/2hs tenha mantido níveis mais elevados de endo-PG e PME inclusive em relação ao controle este tratamento causou aceleração nos sintomas de lanosidade. Segundo Oberland e Carroll (2000) a duração do condicionamento térmico não necessariamente altera a atividade da PG e isto poderia ser um indicativo que o condicionamento com altas temperaturas pode agir para aumentar a lanosidade de maneira mais complexa do que somente a inibição de uma enzima.

Tabela 2 - Conteúdo das enzimas *endo*-poligalacturonase (endo-PG), pectinametilesterase (PME), pectina liase (PL), expasina (Exp.) e β -galactosidase (β -Gal) em pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico

Tratamentos	Enzimas*					
	Endo-PG	PME	PL	Exp	β -Gal	IR*
Caracterização	40	25	40	30	32.5	89
-----Dia 10+3**-----						
Controle	45	40	55	15	35	91
50°C/2hs	35	45	60	20	102.5	88.5
20°C/48hs	90	62.5	65	32.5	60	90.5
-----Dia 30+3**-----						
Controle	5	45	17.5	0	5	94.5
50°C/2hs	85	45	35	7.5	37.5	93.5
20°C/48hs	45	35	25	7.5	20	92.5

*Foi atribuída valor 100 a amostra com a proteína recombinante correspondente a uma alíquota contendo 10pg. Significando que o valor 100, na amostra depositada tem 10pg da proteína em estudo. IR = índice de recuperação das enzimas.

**Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Figura 9 - Atividade da enzima PME em pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

As podridões apareceram a partir do 20º dia de armazenamento refrigerado + 3 dias de comercialização simulada (20+3), somente no tratamento 50°C/2hs. No dia 30+3 o tratamento 50°C/2hs apresentava 50% dos frutos com podridão, sendo seguido dos tratamentos 20°C/48hs e controle com 12,5% e 6,3% dos frutos com podridões, respectivamente. O tratamento 50°C/1hs não apresentou frutos com podridões ao longo de todo o período de armazenamento (Figura 10).

Os resultados mostraram que os tratamentos que apresentaram maiores porcentagens de podridões (50°C/2hs e 40°C/48hs) foram aqueles que tiveram menores atividades de nas enzimas PPO (Figura 10) e POD (Figura 11) no dia 30. Isso sugere que estes tratamentos não são eficientes no controle das podridões pós-colheita. Porém, o tratamento 50°C/1h, que controlou o aparecimento de podridões, mostrou maior atividade das enzimas PPO e POD no dia 30. As enzimas PAL, POD e PPO são consideradas enzimas envolvidas com mecanismos de resistência e controle de doenças (LIU et al., 2005). PAL é a enzima e na ativação do metabolismo fenilpropanóide e um aumento na sua atividade está associada com a biossíntese metabólitos ativos como as fitoalexinas, fenóis, ligninas e ácido salicílico as quais participam do metabolismo de defesa das plantas (MILOSEVIC; SLUSARENKO, 1996). A POD participa nos processos de construção e manutenção das paredes celulares oxidando fenóis, auxiliando na suberização e lignificação das células atacadas durante a reação contra os agentes patogênicos (CHITTOOR; LEACH; WHITE, 1999). A PPO está envolvida na oxidação dos polifenóis em quinonas

(compostos antimicrobianos) e lignificação das células vegetais durante a invasão microbiana (MOHAMMADI; KAZEMI, 2002).

Figura 10 - Incidência de podridões (%) em pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente (n = 4)

Durante o período de armazenamento refrigerado as enzimas PPO e POD tiveram atividade reduzida e constante até o 20º dia. Após este período houve aumento na atividade de ambas as enzimas em todos os tratamentos (Figura 11A e 12A).

Os frutos tratamentos controle e 50°C/1h tiveram maior atividade da enzima PPO aos 10+3 e 30+3 dias de armazenamento. Por outro lado, os tratamentos 50°C/2hs e 20°C/48hs apresentaram um aumento gradual na atividade da PPO ao longo do período de armazenamento. (Figura 11B).

A atividade da enzima POD teve elevação, para todos os tratamentos, somente no 30+3 dias (Figura 12B). Segundo Wang, Tian e Xu (2005) o aumento da atividade da POD é uma tentativa das células de manterem a integridade das membranas, as quais sofreram peroxidação lipídica devido as estresse causado pelo frio.

A enzima PAL teve sua atividade elevada após o 10+3 dias de armazenamento, independentemente do tratamento. Após 20dias de armazenamento refrigerado e 3 dias a temperatura ambiente, os frutos dos tratamentos 50°C/1h e 50°C/2hs apresentaram atividade mais elevada em relação aos tratamentos controle e 20°C/48hs (Figura13).

Figura 11 - Atividade da enzima PPO em pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Figura 12 - Atividade da enzima POD em pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Figura 13 - Atividade da enzima PAL em pêssegos ‘IAC Douradão’ submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Os frutos apresentaram escurecimento interno da polpa a partir do dia 20+3, independentemente dos tratamentos. O tratamento 50°C/2hs proporcionou aumento no índice de escurecimento chegando a 28 após 30 dias de armazenamento refrigerado e 3 em temperatura ambiente (Tabela 3). Além da lanosidade, o escurecimento interno da polpa é outro tipo de injúria pelo frio observado em pêssegos. Usualmente o escurecimento dos tecidos é resultado da oxidação e polimerização dos compostos fenólicos (LIN et al., 1988; JIANG et al., 2004) e também envolve a atividade da PAL, PPO e POD (UNDERHILL, CRITCHLEY, 1995; INNOCENTI et al., 2009).

Após 20 dias de armazenamento refrigerado e 3 dias à temperatura ambiente, pode ser observada uma relação entre o índice de escurecimento (Tabela 3) e a atividade da enzima PAL (Figura 11B), mostrando que o tratamento que apresentou maiores índices de escurecimento, teve a atividade da PAL inferior aos demais tratamentos. Jin et al. (2009) também sugerem que o aumento da atividade da enzima PAL e o aumento dos compostos fenólicos podem estar associados com tolerância ao “chilling” em pêssegos. A PAL é a enzima chave do metabolismo fenilpropanóico que produz a maioria dos compostos fenólicos. O escurecimento ocorre pela deterioração e senescência dos tecidos que resultam em mudanças na permeabilidade dos

membranas, permitindo a interação entre os compostos fenólicos e a PPO, os quais geralmente estão separados em compartimentos distintos (KADER; CHORDAS, 1984).

Jin et al. (2009) observaram que o condicionamento térmico com 38°C/12hs reduziu o escurecimento de polpa de pêssegos ‘Baifeng’ em relação ao condicionamento com 20°C/48hs. Estes resultados contrastam com os observados neste experimento onde o condicionamento térmico com maiores temperaturas (50°C/2hs) promoveu maior índice de escurecimento de polpa.

Tabela 3 - Índice de escurecimento interno de pêssegos ‘IAC Douradão’ submetidos ao condicionamento térmico

Tratamentos	Dias*		
	10+3	20+3	30+3
Controle	0,00	4,17	10,94
50°C/1h	0,00	4,17	20,31
50°C/2hs	0,00	10,42	28,13
20°C/48hs	0,00	4,17	15,63

*Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3); 20 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (20+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Com exceção do tratamento 50°C/2hs, os demais tratamentos tiveram um pico de extravasamento de eletrólitos após 10m dias de armazenamento refrigerado e 3 dias em temperatura ambiente. Neste dia os tratamentos 50°C/1h e 50°C/2hs apresentaram menor extravasamento de eletrólitos (Figura 14). Segundo Paull (1990) o condicionamento térmico promove a formação de “proteínas de choque de calor” (HSP) que protegem a membrana celular.

Furmanski e Buescher (1979) verificaram que os sintomas de lanosidade em pêssegos das cultivares ‘Dixired’, ‘Loring’ e ‘Radhaven’ apareceram na 3ª semana de armazenamento refrigerado e 4 dias a 21°C, após um pico de extravasamento de eletrólitos uma semana antes. Porém, os autores afirmam que o extravasamento de eletrólitos não está diretamente relacionado com este tipo de injúria e sim a condutividade dos tecidos. Isto pode explicar o fato de apesar dos frutos do tratamento 50°C/2hs apresentarem menor extravasamento de eletrólitos, estes apresentaram maiores porcentagens de frutos com lanosidades.

Figura 14 - Extravasamento de eletrólitos (%) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Independentemente dos tratamentos, houve aumento nas pectinas totais, solúveis e na solubilização das substâncias pécicas após 10 dias de armazenamento e 3 dias em temperatura ambiente, quando comparado aos valores do dia da caracterização (Figuras 15 e 16). Isto, provavelmente, ocorreu devido à exposição dos frutos a 25°C o que promoveu o rápido amadurecimento dos frutos.

O tratamento com 24°C/48hs (frutos sem lanosidade) apresentou elevação do conteúdo de pectinas totais até o dia 20+3, após este período houve decréscimo dos valores. Os demais tratamentos (frutos com lanosidade) apresentaram acréscimo nos conteúdos de pectinas totais durante o período de armazenamento (Figura 15A). Ben-Arie e Lavee (1971) também relatou considerável redução nas pectinas totais em pêssegos que amadureceram normalmente e aumento no conteúdo de pectinas totais em frutos que tiveram amadurecimento anormal.

Com relação às pectinas solúveis os tratamentos 50°C/1h, 50°C/2hs e controle apresentaram redução nos valores após o dia 10+3. Por outro lado, o tratamento 20°C/48hs apresentou aumento gradual nos valores para o mesmo período (Figura 15B).

Após o dia 10+3 a porcentagem de solubilização das substâncias pécicas teve declínio gradual nos tratamentos cujos frutos apresentaram lanosidade (50°C/1h, 50°C/2hs e controle). Por outro lado, a solubilização das pectinas nos frutos do tratamento 24°C/48hs aumentou durante o período de armazenamento (Figura 16). Pode-se observar também que existe uma

proporção inversa entre o conteúdo de pectinas totais e a solubilização das pectinas (Figuras 15A e 16).

Resultados similares foram encontrados por Ben-Arie e Lavee (1971), em pêssegos sadios (sem lanosidade) e com lanosidade. De acordo com os autores, o conteúdo de pectinas totais decresceu nos frutos sadios devido à degradação das pectinas solúveis e a contínua degradação das protopectinas (insolúveis). Já nos frutos com lanosidade houve aumento no conteúdo de pectinas totais devido ao aumento na quantidade das frações insolúvel á água das pectinas (protopectinas e pectatos), mesmo havendo degradação das pectinas solúveis. Eles sugerem que o conteúdo de moléculas de pectinas com cadeia longa foi consideravelmente maior nos frutos com lanosidade em relação aos frutos sadios.

Figura 15 - Teores de pectinas totais (A) e pectinas solúveis (B) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Figura 16 - Solubilização de substâncias pécicas de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

A taxa respiratória permaneceu relativamente baixa durante o armazenamento refrigerado (dias 5, 10, 20 e 30), elevando-se após um dia de retirada dos frutos para o período de comercialização simulada (dias 10+1, 20+1 e 30+1). Porém, a taxa respiratória decresceu após 2 dias de armazenamento em temperatura ambiente. Os frutos dos tratamentos 50°C/1hs e 20°C/48hs mantiveram respiração significativamente inferior os frutos do controle (Figura 17).

A taxa respiratória durante o amadurecimento de frutos é inicialmente aumentado pela exposição a altas temperaturas (KLEIN; LURIE, 1990; MITCHAM; MCDONALD, 1993). Após o condicionamento térmico, a taxa respiratória declina chegando a valores próximos ou abaixo dos frutos sem tratamento (PALL; CHEN, 2000). O aquecimento dos frutos resulta em danos no mecanismo respiratório, mas dependendo do tempo e temperatura o grau dos danos não suficientes para afetar a qualidade pós-colheita dos frutos, devido parcialmente a diminuição da taxa respiratória dos frutos submetidos ao condicionamento térmico (KLEIN; LURIE, 1991).

Resultados parcialmente semelhantes foram encontrado por Vitti et al. (2007) em pêssegos 'Dourado-2' tratados termicamente, onde frutos tratados com 50°C/2hs e 20°C/48hs apresentaram taxa respiratória semelhante ao controle durante o período de armazenamento refrigerado e após a exposição dos frutos à temperatura ambiente.

Segundo Zhou et al. (2001) não existe uma relação clara entre a respiração e o desenvolvimento da lanosidade, eles observaram que a respiração diminuiu em nectarinas com lanosidade, porém eles afirmam que a respiração tanto pode se elevar quanto decrescer com o desenvolvimento das injúrias pelo frio. No presente experimento tratamentos que mostraram maior porcentagem de frutos com lanosidade tiveram a respiração mais elevada.

Figura 17 - Taxa respiratória de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 5)

Não foi detectado produção de etileno enquanto os frutos estavam sob armazenamento refrigerado (dias 5, 10, 20 e 30). Após a retirada dos frutos para o período de comercialização simulada a produção de etileno aumentou significativamente principalmente nos frutos do tratamento 20°C/48hs. Após 10 dias de armazenamento refrigerado e 2 dias em temperatura ambiente os frutos dos tratamentos controle e 20°C/48hs apresentavam produção de etileno significativamente maiores (50,33 e 54,23 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente), sendo seguidos dos frutos do tratamento 50°C/1h (39,00 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e 50°C/2hs (25,85 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), respectivamente. Nos demais dias de análise somente os frutos do tratamento 20°C/48hs apresentavam aumento na produção de etileno significativamente maior em relação frutos os demais tratamentos (Figura 18).

A síntese de etileno é inibida de forma reversível por altas temperaturas (FIELD, 1984). Em tecidos de maçã e tomate temperaturas superiores a 35°C provocam acumulação no conteúdo endógeno de ACC (TU et al., 1980; ATTA ALY, 1992) e reduzida produção de etileno em ambos

os frutos (BIGGS et al., 1988; KLEIN, 1989). A conversão de ACC para etileno é, aparentemente, susceptível ao aquecimento acima de 30°C. O acúmulo de ACC não ocorre nos frutos submetidos a altas temperaturas ou em longa duração. A ACC sintase é, portanto, considerada menos sensível ao estresse pelo calor do que ACC oxidase em tomate e maçã (KLEIN, 1989; ATTA ALY, 1992).

Existe uma relação entre a produção de etileno e o controle da lanosidade, pois nos tratamentos controle e 20°C/48hs os quais não apresentavam frutos com lanosidade no dia 10+3 foram os que tiveram maior produção de etileno, sendo seguido do tratamento 50°C/1h que teve 12,50% dos frutos na categoria 4 e por último o tratamento 50°C/2hs que teve 17,85% dos frutos na categoria 4. Durante todo experimento os frutos do tratamento 20°C/48hs manifestaram poucos sintomas de lanosidade e estes frutos foram os que produziram mais etileno.

A diminuição na produção de etileno em frutos lanosos não é devida a necrose, pois os tecidos são ainda funcionais em outros aspectos (DAWSON et al. 1992). Contudo, a falta de produção de etileno, em frutos que apresentam sintomas graves de lanosidade, pode estar associada ao metabolismo anormal da parede celular ajudando explicar os sintomas (ZHOU et al., 2001). Poligalacturonase é uma enzima induzida pelo etileno (LINCOLN et al. 1987, SITRIT; BENNETT, 1998). Por tanto, a baixa atividade de PG encontrada em frutos lanosos pode ser uma consequência dos baixos níveis de etileno (ZHOU et al., 2001). Tem sido demonstrado que o frio inibe irreversivelmente a capacidade de tecidos de pêssego aumentar a atividade da PG após a saída do armazenamento refrigerado (BEN-ARIE; SONEGO 1980) e a exposição dos frutos ao etileno durante o período de armazenamento atrasaram esta inibição (SONEGO et al. 1999). O condicionamento térmico de 20°C durante 2 dias pode permitir substancial atividade da PG durante o armazenamento de nectarinas, devido ao aumento do nível de etileno produzido (ZHOU et al., 2001).

Figura 18 - Produção de etileno de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao condicionamento térmico. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 5)

2.2.3 Conclusões

A cultivar IAC Douradão pode ser armazenada sob refrigeração a 1°C durante aproximadamente 20 dias sem grandes perdas de qualidade. Para períodos de armazenamento refrigerado acima de 20 dias recomenda-se lançar mão de tecnologias auxiliares como no caso o condicionamento térmico, para evitar problemas associados ao frio. Neste sentido o tratamento 20°C/48hs foi eficiente no controle da lanosidade durante 30 dias, porém este tratamento provou maior redução da firmeza da polpa e maiores perdas de massas. Por outro lado, os tratamentos 50°C/1h e 50°C/2hs provocaram aceleração no aparecimento de sintomas da lanosidade.

Provavelmente esta eficiência do controle da lanosidade no tratamento 20°C/48hs deve-se a manutenção do equilíbrio entre a atividade das enzimas PG e PME e pela elevada produção de etileno, considerando que a atividade da enzima PG é estimulada por este fitohormônio.

Neste experimento não pôde ser observado uma relação clara entre extravasamento de eletrólitos, atividade das enzimas PAL, POD, PPO e o escurecimento interno dos frutos. Além disso, o condicionamento térmico nos tempos e temperaturas testadas não foi eficiente no controle do escurecimento interno da polpa.

O condicionamento térmico não teve efeito sobre a maioria das variáveis físico-químicas como sólidos solúveis, acidez titulável, teor de ácido ascórbico e coloração da casca.

2.3 AQUECIMENTO INTERMITENTE NO ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DE PÊSSEGO ‘IAC DOURADÃO’

2.3.1 Material e Métodos

Os pêssegos ‘IAC Douradão’ foram colhidos no estágio de maturação fisiológica (quebra da coloração verde de fundo) em pomar comercial localizado no município de Itupeva, SP. A colheita foi realizada no início da manhã e os frutos foram imediatamente transportados ao laboratório de Fisiologia Pós-colheita, do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, em Piracicaba, SP, onde sofreram uma seleção sendo retirados os frutos com danos mecânicos e podridões.

Os seguintes tratamentos foram aplicados:

T1 – Frutos sem tratamento e armazenados a 1°C (controle e padrão de armazenamento);

T2 – Frutos armazenados a 1°C, com aquecimento a cada 5 dias a 25°C durante 24hs;

T3 – Frutos armazenados a 1°C, com aquecimento a cada 5 dias a 15°C durante 24hs;

T4 - Frutos armazenados a 1°C, com aquecimento a cada 10 dias a 25°C durante 48hs;

T5 - Frutos armazenados a 1°C, com aquecimento a cada 10 dias a 15°C durante 48hs;

Os frutos foram armazenados em câmara fria a $1\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e 85-90% UR, durante 30 dias.

O aquecimento intermitente foi realizado retirando-se os frutos da câmara fria e deixando os mesmos em câmaras tipo B.O.D. com 75 a 80% UR, nas temperaturas e períodos descritos anteriormente.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos e quatro repetições de três frutos, para as análises tecnológicas. Para as análises enzimáticas foram utilizadas três repetições de três frutos por tratamento, sendo feitas triplicatas de cada repetição.

As análises foram realizadas nos seguintes períodos: dia 0, para caracterização do lote; aos 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias a temperatura ambiente (25°C), para simulação do tempo de comercialização (10+3); aos 20 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias a temperatura ambiente (20+3); e aos 30 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de a temperatura ambiente (30+3).

As análises bioquímicas também foram realizadas logo após a retirada dos frutos do armazenamento refrigerado aos: 10, 20 e 30 dias; e após a o período de 3 dias de comercialização simulada, aos: 10+3, 20+3 e 30+3 dias.

As variáveis analisadas foram: perda de massa fresca, cor da casca, sólidos solúveis, acidez titulável, teor de ácido ascórbico, firmeza da polpa, incidência de podridões, incidência de injúrias, teores de pectinas totais e solúveis, atividade enzimática (PME, PPO, POD e PAL), conteúdo das enzimas endo-PG, PME, PL, Exp. e β -Gal, extravazamento de eletrólitos, taxa respiratória e produção de etileno.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa ($p \leq 0,05$), em que as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois erros padrões foram consideradas significativas (SHAMAILA et al., 1992).

2.3.2 Resultados e discussão

Houve um aumento na perda de massa ao longo de todo período de armazenamento, independentemente do tratamento. Após o 20º dia de armazenamento o tratamento com aquecimento a cada 10 dias a 15°C durante 48hs apresentou maiores perdas de massa em relação aos demais tratamentos (Figura 1). A perda de massa é provocada principalmente pela transpiração e é tanto maior quanto maior a temperatura e o período de exposição dos frutos a ela.

Este comportamento foi semelhante ao observado por Akbudak e Eris (2004) em pêssegos ‘Flavorcrest’ e ‘Red Top’ que apresentaram aumento na perda de massa durante o armazenamento e na comercialização simulada. Fernández-Trujillo e Artés (1997) observaram que durante o armazenamento refrigerado os frutos controle apresentava menores perdas de massa (1%) dos que os frutos que sofreram aquecimento intermitente (2,9%) após quatro semanas, mas quando estes frutos foram retirados do frio e exposto à temperatura ambiente durante 3 dias, houve aumento na perda de massa para ambos tratamentos, porém as diferenças foram insignificantes entre os frutos controle e aqueles que sofreram aquecimento intermitente.

Figura 1 - Perda de massa de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: (A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e (B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Houve redução acentuada da firmeza, em todos os tratamentos, do dia 0 para o 10º dia de armazenamento refrigerado + 3 dias de comercialização simulada (Figura 2). Porém, quando se exclui os valores de firmeza do dia 0, observa-se que os frutos submetidos ao aquecimento intermitente na temperatura de 15°C e os frutos do controle apresentaram firmeza superior aos frutos dos tratamento com aquecimento a 25°C aos 20 dias de armazenamento refrigerado e 3 dias em temperatura ambiente (Figura 2). Este tipo de resposta está relacionado com a atividade das enzimas que degradam a parede celular como a PME e a PG, contribuindo para perda de firmeza de polpa das frutas. A atividade destas enzimas aumenta proporcionalmente ao aumento da temperatura (DILLEY, 1970).

Os resultados encontrados no presente experimento são semelhantes aos resultados encontrados por Kluge et al. (1996) em pêssegos 'BR 6'. Os autores observaram redução da firmeza de polpa proporcional ao aumento do tempo de exposição dos frutos à temperatura ambiente. Os frutos que permaneceram continuamente a 0°C mantiveram sua firmeza significativamente maior que os demais frutos.

Figura 2 - Firmeza da polpa de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Houve aumento do teor de sólidos solúveis do dia 0 para o 10º dia de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente, para todos os tratamentos, sendo que, após este período os valores permaneceram constantes durante o armazenamento (Figura 3). Não houve diferença significativa entre os tratamentos indicando que os tratamentos não influenciaram nos teores de sólidos solúveis.

O aquecimento intermitente em pêssegos 'Hujin' (ZHOU et al., 2002), 'Elegant Lady' (PEANO; GIACALONE; BOUNOUS, 2001) e 'BR 6' (KLUGE et al., 1996) também não provocou alterações significativas no teor de sólidos solúveis.

Figura 3 - Teor de sólidos solúveis de pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

De maneira geral, houve decréscimo da acidez, sendo mais acentuado nos tratamentos com aquecimento a cada 5 dias a 15°C e a cada 10 dias a 15°C (Figura 4). Para a maioria dos frutos, a redução na acidez é um evento normal durante o amadurecimento e a velocidade com que ocorre é diretamente proporcional à temperatura. Os ácidos orgânicos são largamente utilizados como substratos no processo respiratório (CHITARRA; CHITARRA, 2005; KLUGE et al., 1997).

Os resultados estão de acordo com os observados por Hadlich e Araújo (1993), que verificaram reduções mais intensas na acidez titulável de pêsegos 'Diamante' e 'Eldorado', em decorrência do aquecimento intermitente.

Figura 4 - Acidez titulável (% ácido cítrico) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Os teores de ácido ascórbico tiveram pequena diminuição ao longo do período de armazenamento, independentemente dos tratamentos (Figura 5).

Segundo Lee e Kader (2000) as perdas de vitamina C são aumentadas pela prolongado armazenamento tempo de armazenamento, altas temperaturas, baixa umidade relativa do ar, danos físicos e injúrias pelo frio. Embora, os frutos do controle tenham apresentado sintomas de lanosidade no dia 20+0 não houve diferença significativa entre este tratamento e os demais. Isto provavelmente ocorreu porque a exposição dos frutos à temperaturas elevadas (moderadas) para o aquecimento intermitente deve ter favorecido a degradação do ácido ascórbico.

Estes resultados concordam com os encontrados por Vitti (2004) que também observou redução nos teores de ácido ascórbico em pêssegos 'Dourado-2' em todos os tratamentos submetidos ao aquecimento intermitente, inclusive o controle, sem diferenças entre os tratamentos.

Figura 5 - Teor de ácido ascórbico de pêssegos ‘IAC Douradão’ submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n= 4)

Com relação a cor da casca, os tratamentos apresentaram redução nos valores do ângulo de cor (Hue) ao longo do período de armazenamento, sendo mais intenso no tratamento com aquecimento a cada 5 dias à 25°C (Figura 7). Os valores de Chroma tiveram aumento durante ao armazenamento, independentemente do tratamento, sendo mais evidente nos tratamentos com aquecimento a cada 10 dias a 15°C e 5 dias a 25°C (Figura 6). Esta redução dos valores de Hue e aumento dos valores de Chroma indicam que a cor de fundo da casca dos frutos passou de coloração verde para amarelo, indicando que ocorreu amadurecimento dos frutos.

Não houve diferença entre os tratamentos para o parâmetro de cor luminosidade (Figura 8).

Figura 6 - Intensidade de cor (Chroma) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n= 4)

Figura 7 - Ângulo de cor (Hue) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n= 4)

Figura 8 - Luminosidade de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n= 4)

Com relação à luminosidade todos os tratamentos com aquecimento intermitente apresentaram 100% dos frutos na categoria 5 até o último dia de análise, significando ausência desta injúria pelo frio, enquanto que os frutos do controle apresentaram 83% dos frutos na categoria 3 no último dia de análise (Tabela1). Estes resultados indicam que o aquecimento intermitente, nos intervalos de tempo e nas temperaturas utilizadas, foram eficientes no controle da luminosidade. A ação fisiológica do aquecimento intermitente consiste na ativação de enzimas de amadurecimento, como a PG, que atua mais efetivamente na faixa de 20-25°C. A capacidade das células em sintetizar esta enzima é perdida quando o fruto é armazenado à baixas temperaturas, voltando ao normal com a aplicação de aquecimento durante o armazenamento refrigerado (VITTI, 2004).

Resultados semelhantes foram observados em outras cultivares como 'Dourado-2' (VITTI et al. 2007), 'Mibaekto' (Choi e Lee, 2001) e 'Okuba' (LI-PING; TAO, 1998).

Tabela 1 - Lanosidade de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente¹

Tratamentos	Categorias*				
	1	2	3	4	5
-----Dia 10+3**-----					
Controle	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Aquec. à 25°C a cada 5 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Aquec. à 15°C a cada 5 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Aquec. à 25°C a cada 10 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Aquec. à 15°C a cada 10 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
-----Dia 20+3**-----					
Controle	0,00	0,00	33,33	50,00	16,67
Aquec. à 25°C a cada 5 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Aquec. à 15°C a cada 5 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Aquec. à 25°C a cada 10 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Aquec. à 15°C a cada 10 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
-----Dia 30+3**-----					
Controle	0,00	16,67	83,33	0,00	0,00
Aquec. à 25°C a cada 5 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Aquec. à 15°C a cada 5 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Aquec. à 25°C a cada 10 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Aquec. à 15°C a cada 10 dias	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00

¹Dados expressos em % de frutos com lanosidade em cada categoria.

*Categorias: 1 = fruto firme, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 2 = fruto firme, com aparência de seco e alguma extração de suco; 3 = fruto mole, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 4 = fruto mole, com aparência de seco e alguma extração de suco; 5 = fruto mole, com aparência de úmido e muita extração de suco.

**Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3); 20 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (20+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Aos 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente, quando os frutos ainda estavam sadios, tanto os frutos do controle quanto os frutos do tratamento 5 dias/25°C apresentaram conteúdos elevados das enzimas *endo*-PG, PME, PL, Exp. e β -Gal, sendo mais acentuado no tratamento 5 dias/25°C (Tabela 2). Valores mais elevados de atividade da enzima PME também foram observados neste dia (Figura 9B), mostrando que existe relação entre os teores desta enzima e sua atividade.

Aos 30 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente, quando os frutos do controle apresentavam lanosidade, observou-se redução nos teores das enzimas *endo*-PG, PL, Exp. e β -Gal neste tratamento e somente o conteúdo de PME manteve-se semelhante ao do 10º dia de armazenamento refrigerado +3 dias à temperatura ambiente. Por outro lado, os frutos do tratamento 5 dias/25°C mesmo tendo apresentado redução nos valores das enzimas *endo*-PG, PME, PL e Exp. em relação ao 10º dia de armazenamento refrigerado +3 dias à temperatura ambiente, os valores ainda permaneceram elevados e houve manutenção da relação entre a enzima *endo*-PG e PME (Tabela 2).

O desenvolvimento da lanosidade tem sido atribuído à solubilização anormal das pectinas da parede celular (LURIE et al., 1994; ZHOU et al., 1999) devido ao desbalanço entre as atividades das enzimas PG e PME, causado devido à exposições prolongadas dos frutos a baixas temperaturas (VON MOLLENDORF ; DE VILLIERS, 1988, ARTÉS; CANO; FERNANDÉZ-TRUJILLO, 1996, ZHOU et al., 1999).

A enzima PME apresentou pico na sua atividade após 20 dias de armazenamento refrigerado (Figura 9A). Observa-se também, que no último dia de análise (30+3) os tratamentos que foram submetidos ao aquecimento intermitente apresentavam atividade da enzima PME superior aos frutos do controle, que neste dia apresentavam 100% dos frutos com sintomas de lanosidade (Figura 9B).

Vitti et al. (2007) também verificaram aumento da atividade de PME em pêssegos ‘Dourado 2’ submetidos ao aquecimento intermitente em relação ao tratamento controle. Os autores afirmam que a redução da lanosidade nos tratamentos com aquecimento intermitente seja provavelmente, devido à manutenção do balanço na atividade das enzimas PME e PG. Por isso, embora a atividade da PME dos tratamentos com aquecimento intermitente tenha sido elevada neste experimento, provavelmente, a atividade da enzima PG também tenha se mantido mais elevada nestes tratamentos em relação ao controle, explicando a ausência de sintomas de

lanosidade nos frutos submetidos ao aquecimento intermitente. O exemplo disto é o tratamento 5 dias/25°C que manteve o balanço entre o conteúdo das enzimas *endo*-PG e PME.

Tabela 2 - Conteúdo das enzimas *endo*-poligalacturonase (*endo*-PG), pectinametilesterase (PME),pectina liase (PL), expasina (Exp.) e β -galactosidase (β -Gal) em pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente

Tratamentos	Enzimas*					
	Endo-PG	PME	PL	Exp	β -Gal	IR*
Caracterização	40	25	40	30	32.5	89
-----Dia 10+3**-----						
Controle	45	40	55	15	35	91
Aquec. à 25°C a cada 5 dias	120	80	42.5	27.5	37.5	90.5
-----Dia 30+3**-----						
Controle	5	45	17.5	0	5	94.5
Aquec. à 25°C a cada 5 dias	45	30	12.5	15	50	92

*Foi atribuída valor 100 a amostra com a proteína recombinante correspondente a uma alíquota contendo 10pg. Significando que o valor 100, na amostra depositada tem 10pg da proteína em estudo. IR = índice de recuperação das enzimas.

**Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Figura 9 - Atividade da enzima PME em pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

A incidência de podridões, de forma geral, foi proporcional à temperatura de aquecimento e ao número de vezes em que os frutos foram expostos ao aquecimento intermitente (Figura 9). Assim, frutos que ficaram expostos a 25°C tiveram maior incidência de podridões que os frutos expostos a 15°C, enquanto que frutos que sofrem aquecimento intermitente a cada 5 dias (4 vezes) tiveram incidência de podridões maiores que frutos que sofreram aquecimento a cada 10 dias (2vezes).

Figura 10 - Incidência de podridões (%) em pêssegos 'IAC Douradão' submetidos aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. (n= 4)

Os frutos do controle apresentaram atividade de PPO mais elevada a partir do 20º dia de armazenamento a 1°C (Figura 11A), e a partir do dia 10+3 quando estes frutos foram expostos a temperatura ambiente para simulação do período de comercialização. Os frutos dos tratamentos com aquecimento intermitente apresentaram atividade mais baixa após estes serem expostos à temperatura ambiente (Figura 11B).

A atividade da enzima POD permaneceu baixa até o 20º dia de armazenamento refrigerado, independentemente do tratamento. Após este período houve aumento significativo na atividade desta enzima (Figura 12). Segundo Chitarra e Chitarra (2005), uma das várias funções da POD está relacionada aos processos senescência dos frutos. Por este motivo, provavelmente, o aumento na atividade da POD após 20 dias de armazenamento refrigerado pode indicar que os frutos começaram a entrar em senescência.

A enzima PAL apresentou pico de atividade no 10º dia para os frutos armazenados a 1°C (Figura 13A). Quando os frutos foram expostos a temperatura ambiente a atividade da PAL foi reduzida, tendo sido observado pico na atividade no aos 20 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente (Figura 13B).

Figura 11 - Atividade da enzima PPO em pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Figura 12 - Atividade da enzima POD em pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Figura 13 - Atividade da enzima PAL em pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Os sintomas de escurecimento interno a polpa foram observados a partir do dia 20º dia de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente, em todos os tratamentos. Porém, os frutos do controle apresentaram índices de escurecimento mais elevados em torno de 50%, no dia 30+3 (Tabela 3). Isso indica que, os tratamentos com aquecimento intermitente apresentaram eficiência relativa no controle do escurecimento. O tratamento controle também apresentou atividades mais elevadas de PPO e PAL quando os frutos foram expostos a temperatura ambiente.

O escurecimento de polpa é proveniente de mudanças na integridade e permeabilidade das membranas celulares, as quais modificam o metabolismo normal dos frutos e reduzem a atividade normal das enzimas ligadas às membranas, sobretudo das oxidases. A alteração na coloração da polpa se deve aos danos causados às células por produtos intermediários tóxicos acumulados durante a frigoconservação e à oxidação dos compostos fenólicos causada, principalmente, pela atividade da enzima PPO (WANG, 1991; KLUGE et al., 2002), a qual entra em contato com seu substrato devido a descompartimentação celular.

Resultados semelhantes foram obtidos por Kluge et al. (1996) em pêssegos 'BR-6' submetidos ao aquecimento intermitente durante o período de frigoconservação.

Tabela 3 - Índice de escurecimento interno de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente

Tratamentos	Dias *		
	10+3	20+3	30+3
Controle	0,00	4,17	10,94
Aquec. à 25°C a cada 5 dias	0,00	2,08	4,69
Aquec. à 15°C a cada 5 dias	0,00	6,25	6,25
Aquec. à 25°C a cada 10 dias	0,00	2,08	3,13
Aquec. à 15°C a cada 10 dias	0,00	4,17	4,69

*Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3); 20 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (20+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Os frutos do tratamento controle apresentaram pico de extravasamento de eletrólitos aos 10 dias de armazenamento refrigerado +3 dias à temperatura ambiente, os frutos do tratamento 5 dias/15°C apresentaram pico de extravasamento eletrólitos aos 20 dias de armazenamento refrigerado +3 dias à temperatura ambiente (Figura 14). Provavelmente, estes picos no extravasamento do eletrólitos foram responsáveis pelo maior índice de escurecimento observado na tabela 3, para estes tratamentos. Por outro lado, os frutos do tratamento 10 dias/25°C apresentaram menor valor de extravasamento de eletrólitos eletrólitos aos 10 dias de armazenamento refrigerado +3 dias à temperatura ambiente (Figura 14) o que pode ser a causa dos menores índices de escurecimento observados na tabela 2.

Figura 14 - Extravasamento de eletrólitos (%) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n= 4)

As pectinas totais apresentaram aumento nos valores ao longo do período de armazenamento, sendo mais acentuado no tratamento controle (Figura 15A).

Os frutos dos tratamentos controle e aquecimento a cada 10 dias (independente da temperatura) apresentaram redução nos teores de pectinas solúveis. Já os frutos dos tratamentos com aquecimento intermitente a cada 5 dias apresentaram aumento nos valores de pectinas solúveis ao longo do período de armazenamento (Figura 15B).

Ben-Arie e Lavee (1971) também observaram que os teores de pectinas totais em frutos sem lanosidade apresentaram declínio gradual durante o armazenamento de pêssegos 'Elberta'. Por outro lado, em frutos lanosos os autores verificaram aumento nos teores de pectinas totais começando da segunda semana de armazenamento. Eles também observaram que o conteúdo de pectinas totais decresceu nos frutos sem lanosidade devido a degradação das pectinas totais e pectinas solúveis e estas à ácidos galactorônicos. Já nos frutos lanosos houve aumento do conteúdo da fração insolúvel a água das pectinas (protopectinas e pectatos) e também redução do conteúdo de pectinas solúveis.

A redução nos teores de pectinas solúveis e aumento nos teores de pectinas totais observada no presente trabalho tiveram como consequência menores valores de solubilização de substâncias pécticas, principalmente no tratamento controle (Figura 16) o qual apresentou maiores porcentagens de frutos com lanosidade.

Figura 15 - Teores de pectinas totais (A) e pectinas solúveis (B) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n= 4)

Figura 16 - Solubilização de substâncias pécticas de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n= 4)

Durante o período de armazenamento refrigerado (5, 10, 20 e 30 dias) os frutos apresentaram taxa respiratória reduzida. Após a retirada dos frutos do armazenamento refrigerado para temperatura ambiente, houve aumento e elevação na taxa respiratória em todos os tratamentos. Os tratamentos com aquecimento a cada 10 dias tiveram taxas respiratórias significativamente ($p \leq 0,05$) menores em todos os dias de análises (Figura 17).

Figura 17 - Taxa respiratória de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n = 5$)

A produção de etileno foi muito reduzida durante o período de armazenamento refrigerado em todos os tratamentos. Após a exposição dos frutos a temperatura ambiente houve aumento em todos os dias de análise. No dia 30+2 os frutos do tratamento 5 dias/25°C tiveram produção de etileno significativamente ($p \leq 0,05$) mais elevado ($181,45 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), sendo seguido pelos tratamentos 10 dias/25°C ($135,21 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), 5 dias/15°C ($87,18 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), 10 dias/15°C ($51,91 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) e controle ($35,9445 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), respectivamente (Figura 18).

O aquecimento intermitente induz o mRNA da ACC oxidase e ACC sintase, como consequência disso, a produção de etileno deste frutos, quando colocados a 0°C, é maior que os frutos do controle (ZHOU et al., 2001). Desde modo o aquecimento intermitente aumenta

também a atividade da PG (ARTÉS; CANO, FERNANDÉZ-TRUJILLO, 1996), pois enzimas hidrolíticas da parede celular, particularmente PG, é induzida pelo etileno (THEOLOGIS et al., 1993; BONGHI et al., 1998; SITRIT; BENNETT, 1998).

Figura 18 - Produção de etileno de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao aquecimento intermitente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 5)

O efeito do aquecimento intermitente tem sido a remoção de substâncias tóxicas, principalmente dos compostos fenólicos, que se acumulam nas baixas temperaturas e causam os danos fisiológicos. O aumento da temperatura aparentemente aumenta a atividade metabólica, responsável pela remoção do excesso de intermediários e repõe as deficiências que foram desenvolvidas durante o "chilling". O aquecimento intermitente serviria para reparar os danos causados nas membranas celulares e restaurar o metabolismo normal das frutas (SHEWFELT; PRUSSIA, 1993). Porém, a temperatura de aquecimento intermitente de 15°C utilizada neste experimento pode não ter sido suficiente para que os frutos aumentassem a atividade metabólica para completa remoção do excesso de intermediários. Conseqüentemente, os frutos dos tratamentos 5 dias/15°C e 10 dias/15°C apresentam maiores índices de escurecimento em relação aos tratamentos 5 dias/25°C e 10 dias/25°C.

2.3.3 Conclusões

O aquecimento intermitente independentemente do tempo e da temperatura utilizada foi eficiente no controle da lanosidade. Isso ocorreu devido, provavelmente, a manutenção de elevadas taxas de produção de etileno e conseqüentemente manutenção do balanço entre as atividades das enzimas que degradam a porção péctica da parede celular, principalmente a PG e a PME.

O aquecimento intermitente também foi efetivo na redução dos sintomas de escurecimento interno, pois no dia 30+3 os frutos tratados termicamente apresentaram índices de escurecimento em torno de 50% inferiores, sendo os tratamentos 5 dias/25°C e 10 dias/25°C os mais eficientes na redução dos sintomas de escurecimento interno da polpa. Isto aconteceu devido, provavelmente, à redução das atividades das enzimas PPO e PAL nos frutos submetidos ao aquecimento intermitente. Porém a redução na atividade destas enzimas provocou aumento da incidência de podridões, pois elas são enzimas de indução à resistência contra patógenos.

As análises físico-químicas mostraram que o aquecimento intermitente não afetou os atributos de qualidade dos frutos.

2.4 EXPERIMENTO - 3

CHOQUE A FRIO ANTES DO ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DE PÊSSEGOS 'IAC DOURADÃO'

2.4.1 Material e Métodos

Pêssegos 'IAC Douradão' foram colhidos no estágio de maturação fisiológica (quebra da coloração verde de fundo) em pomar comercial localizado no município de Itupeva, SP. A colheita foi realizada no início da manhã e os frutos foram imediatamente transportados ao laboratório de Fisiologia Pós-colheita, do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, Piracicaba, SP, onde sofreram uma seleção sendo retirados os frutos com danos mecânicos e podridões.

Os tratamentos com choque a frio foram colocando-se os frutos em câmaras tipo B.O.D nos seguintes tratamentos:

T1 – Frutos sem tratamento e armazenados a 1°C (controle e padrão de armazenamento);

T2 – Frutos imersos a -4°C, durante 1h (-4°C/1h);

T3 – Frutos imersos a -4°C, durante 2hs (-4°C/2hs);

T4 - Frutos imersos a -4°C, durante 3hs (-4°C/3hs);

T5 - Frutos imersos a -2°C, durante 1h (-2°C/1h);

T6 - Frutos imersos a -2°C, durante 2hs (-2°C/2hs);

T7 - Frutos imersos a -2°C, durante 3hs (-2°C/3hs).

Após os tratamentos os frutos foram armazenados em câmara fria a $1\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e 85-90% UR, durante 30 dias.

As análises foram realizadas nos seguintes períodos: dia 0, para caracterização do lote; aos 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias a temperatura ambiente (25°C), para simulação do tempo de comercialização (10+3); aos 20 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias a temperatura ambiente (20+3); e aos 30 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de a temperatura ambiente (30+3).

As análises bioquímicas também foram realizadas logo após a retirada dos frutos do armazenamento refrigerado aos: 10, 20 e 30 dias; e após a o período de 3 dias de comercialização simulada, aos: 10+3, 20+3 e 30+3 dias.

As variáveis analisadas foram: perda de massa fresca, cor da casca, sólidos solúveis, acidez titulável, teor de ácido ascórbico, firmeza da polpa, incidência de podridões, incidência de

injúrias, teores de pectinas totais e solúveis, atividade enzimática (PME, PPO, POD e PAL), conteúdo das enzimas endo-PG, PME, PL, Exp. e β -Gal, extravazamento de eletrólitos, taxa respiratória e produção de etileno.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos e quatro repetições de três frutos, para as análises tecnológicas. Para as análises enzimáticas foram utilizadas três repetições de três frutos por tratamento, sendo feitas triplicatas de cada repetição.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa ($p \leq 0,05$), em que as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois erros padrões foram consideradas significativas (SHAMAILA et al., 1992).

2.4.2 Resultados e Discussão

Todos os tratamentos apresentaram tendência crescente de perda de massa ao longo do período de armazenamento atingindo valores próximos de 14% de perda (Figura 1).

Chitarra; Chitarra (1990) relatam que o choque a frio pode inibir a perda de água dos frutos. Porém os resultados entrados no presente trabalho não mostraram isso em pêssegos ‘Douradão’. Silva; Vieites; Cereda (1999) observaram perda de massa mais acentuada em maracujás-amarelos tratados com choque a frio.

Figura 1 - Perda de massa de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao tratamento com choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: (A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e (B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Ocorreu redução significativa nos valores de firmeza do dia 0 para o 10º dia de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura, independentemente dos tratamentos (Figura 2). Após este período os valores permaneceram constantes até o final do armazenamento, não havendo diferença significativa entre os tratamentos (Figura 2). A redução acentuada observada entre o dia 0 e o dia 10+3 provavelmente seja devido ao amadurecimento dos frutos pela exposição dos mesmos ao período de 3 dias à temperatura ambiente.

Durante o amadurecimento, a estrutura das paredes celulares torna-se gradativamente mais hidratada, em decorrência das modificações na coesão das pectinas (JARVIS, 1984). Dessa forma, a textura do fruto é afetada principalmente pela facilidade com que as células rompem ou se separam umas das outras. As pectinas, as hemiceluloses e possivelmente as regiões amorfas das microfibrilas de celulose sofrem modificações estruturais durante o amadurecimento (O'DONOGHUE et al., 1994).

Lelièvre et al (1995) afirmam que, se por um lado o armazenamento refrigerado preserva a firmeza dos frutos, por outro, atua como acelerador do processo de degradação celular quando os frutos são transferidos para temperaturas mais elevadas, causando entre outras alterações a redução da firmeza.

Silva; Vieites; Cereda (1999) observaram comportamento semelhante em maracujás- amarelos submetidos ao choque a frio.

Figura 2 - Firmeza da polpa de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao tratamento de choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Houve incremento de aproximadamente 2,0°Brix nos teores de sólidos solúveis do dia 0 para o dia 10+3, independentemente do tratamento (Figura 3). Este aumento nos teores de sólidos solúveis totais pode ter ocorrido devido a permanência dos frutos em temperatura ambiente (25°C) por 3 dias após cada período de armazenamento refrigerado. Isto pode ter causado um amadurecimento dos frutos.

Barret Reina; Chitarra; Chitarra (1993) observaram comportamento semelhante em tomates 'Gigante Kadá'. Os autores ressaltam que em tomates a aplicação de choque a frio, prévia ao armazenamento, não afetou as características intrínsecas de qualidade dos frutos, principalmente com relação aos sólidos solúveis e acidez.

Figura 3 - Teor de sólidos solúveis de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao tratamento de choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Houve redução significativa nos teores de acidez titulável para todos os tratamentos ao longo do período de armazenamento (Figura 4).

Esse decréscimo pode ser explicado provavelmente pela utilização destes compostos como substratos respiratórios ou pela conversão em açúcares (BRODY, 1996), pois foi observado um aumento nos teores de sólidos solúveis (Figura 3). Silva; Vieites; Cereda (1999) obtiveram também redução nos teores de acidez em maracujás-amarelos submetidos ao choque a frio.

Figura 4 - Acidez titulável (% ácido cítrico) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao tratamento de choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Os teores de ácido ascórbico apresentaram uma redução gradual do período de armazenamento, porém não apresentaram diferenças entre os tratamentos (Figura 5). O teor de ácido ascórbico tende a diminuir com a maturação e com o armazenamento, devido à atuação direta da enzima ácido ascórbico oxidase (ascorbinase), ou pela ação de enzimas oxidantes como a peroxidase (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Figura 5 - Teor de ácido ascórbico de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao tratamento de choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Os valores de intensidade de cor (Chroma) e luminosidade ficaram constantes ao longo de todo o período de armazenamento, não havendo diferença significativa entre os tratamentos (Figura 6 e 8). Os valores do ângulo de cor (Hue) decresceram ao longo do armazenamento, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos (Figura 7). Estes resultados indicam que o tratamento com choque a frio não na cor casca dos frutos e a redução nos valores de Hue indicam que os frutos amadureceram após o período de comercialização simulada, passado de verde para amarelo.

Os resultados observados no presente trabalho contrariam os encontrados por Inaba; Crandall (1986) em tomates 'Sunny' tratados com choque a frio. Os autores observaram que nos frutos tratados com choque a frio houve um atraso no desenvolvimento da cor da casca.

Figura 6 - Intensidade de cor (Chroma) de pêesegos 'IAC Douradão' submetidos ao tratamento de choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Figura 7 - Ângulo de cor (Hue) de pêesegos 'IAC Douradão' submetidos ao tratamento de choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Figura 8 - Luminosidade de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao tratamento de choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Os tratamentos com choque a frio nas temperaturas testadas provocaram aceleração no aparecimento da lanosidade. Pode-se observar que no primeiro dia de análise (10+3) os frutos dos tratamentos -2°C/1h, -4°C/1h, -4°C/2hs e -4°C/3hs já apresentavam porcentagens de frutos com lanosidade, enquanto que os frutos do controle estavam 100% na categoria 5 indicando ausência desta injúria pelo frio (Tabela 1).

A lanosidade é o resultado do desbalanço na atividade de enzimas pectinolíticas, quando ocorre o aumento da atividade da PME, causando acúmulo de substâncias pécticas com baixo grau de esterificação e redução ou inibição da atividade da PG, não permitindo que essas substâncias sejam totalmente degradadas e solubilizadas (Ben-Arie; Sonego, 1980). Provavelmente, os tratamentos com choque a frio provocaram alteração no balanço da atividade da PG e PME, causando a antecipação no aparecimento dos sintomas de lanosidade. Isto pode ser observado na tabela 2, onde foi observado que aos dia 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente, os frutos do tratamento -4°C/3hs apresentaram redução nos valores das enzimas *endo*-PG, PME, PL e β -Gal, em relação ao tratamento controle. Pode-se se notar também um desbalaço entre os valores das enzimas *endo*-PG e PME.

Tabela 1 - Lanosidade de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio¹

Tratamentos	Categorias*				
	1	2	3	4	5
-----Dia 10+3**-----					
Controle	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
-2°C/1h	0,00	0,00	8,33	16,67	75,00
-2°C/2hs	0,00	0,00	0,00	8,33	91,67
-2°C/3hs	0,00	0,00	0,00	16,67	83,33
-4°C/1h	0,00	0,00	8,33	33,33	58,33
-4°C/2hs	0,00	0,00	8,33	33,33	58,33
-4°C/3hs	0,00	0,00	16,67	41,67	41,67
-----Dia 20+3**-----					
Controle	0,00	0,00	8,33	25,00	66,67
-2°C/1h	0,00	8,33	33,33	33,33	25,00
-2°C/2hs	0,00	0,00	8,33	25,00	66,67
-2°C/3hs	0,00	0,00	25,00	41,67	33,33
-4°C/1h	25,00	0,00	33,33	16,67	25,00
-4°C/2hs	16,67	8,33	8,33	33,33	33,33
-4°C/3hs	0,00	0,00	41,67	41,67	16,67
-----Dia 30+3**-----					
Controle	0,00	8,33	58,33	25,00	8,33
-2°C/1h	0,00	41,67	50,00	8,33	0,00
-2°C/2hs	0,00	25,00	33,33	25,00	16,67
-2°C/3hs	0,00	8,33	58,33	33,33	0,00
-4°C/1h	25,00	25,00	33,33	16,67	0,00
-4°C/2hs	16,67	16,67	33,33	33,33	0,00
-4°C/3hs	0,00	16,67	66,67	16,67	0,00

¹Dados expressos em % de frutos com lanosidade em cada categoria.

*Categorias: 1 = fruto firme, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 2 = fruto firme, com aparência de seco e alguma extração de suco, 3 = fruto mole, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 4 = fruto mole, com aparência de seco e alguma extração de suco; 5 = fruto mole, com aparência de úmido e muita extração de suco.

**Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3); 20 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (20+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Tabela 2 - Conteúdo das enzimas *endo*-poligalacturonase (*endo*-PG), pectinametilesterase (PME), pectina liase (PL), expansina (Exp.) e β -galactosidase (β -Gal) em pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio

Tratamentos	Enzimas*					
	Endo-PG	PME	PL	Exp	β -Gal	IR*
Caracterização	40	25	40	30	32.5	89
-----Dia 10+3**-----						
Controle	45	40	55	15	35	91
-4°C/3hs	20	2.5	20	15	12.5	99
-----Dia 30+3**-----						
Controle	5	45	17.5	0	5	94.5
-4°C/3hs	10	7.5	5	5	5	99.5

*Foi atribuída valor 100 a amostra com a proteína recombinante correspondente a uma alíquota contendo 10pg. Significando que o valor 100, na amostra depositada tem 10pg da proteína em estudo. IR = índice de recuperação das enzimas.

**Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Durante o armazenamento refrigerado os tratamentos -2°C/2hs e -4°C/1h apresentaram pico na atividade da enzima PME no 20° dia. Os tratamentos -2°C/1h e -4°C/3hs mantiveram atividade de PME mais elevada em relação ao controle até o 20° dia (Figura 9A).

Após 3 dias a temperatura ambiente, os frutos dos tratamentos controle, -4°C/1h e -4°C/3hs apresentaram picos de atividade da PME no dia 10+3. Já os frutos dos tratamentos -2°C/2hs e -2°C/3hs tiveram pico de atividade no dia 20+3. Os frutos do tratamento -2°C/1h apresentaram atividade de PME mais elevada em todos os dias de análise.

Embora haja variação na atividade da enzima PME, esta não pode ser diretamente relacionada com a intensidade do aparecimento dos sintomas de lanosidade. Além de envolver alterações na atividade das PGs e PMEs, o desenvolvimento da lanosidade é acompanhado por um declínio na expressão gênica e no acúmulo de expansinas (OBENLAND; CRISOSTO; ROSE, 2003). Além disso, várias enzimas também, envolvidas no processo de degradação das paredes celulares, apresentam baixa atividade em frutos lanosos, como as *endo*-1,4- β -glucanases, as *endo*-1,4- β -mananases, as β -galactosidases e as α -arabinosidades (BRUMMELL et al., 2004). No entanto, a participação dessas enzimas no processo de desenvolvimento da lanosidade ainda não foi completamente elucidada.

Figura 9 - Atividade da enzima PME em pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

O tratamento com choque a frio provocou aceleração no desenvolvimento de podridões sendo mais evidente nos tratamentos -2°C/1h, -2°C/3hs e -4°C/2hs os quais apresentavam 16,67%, 8,34% e 8,34% de frutos com podridões já no dia 10+3 (Figura 10).

Segundo Chitarra; Chitarra (1990) o tratamento de choque a frio quando eficientemente aplicado, pode reduzir a incidência de doenças pela inibição do crescimento de microorganismos, restringir a atividade enzimática e respiratória, restringir a perda de água por transpiração, retardar a perda de frescor e qualidade e reduzir a produção de etileno. No entanto, no presente trabalho, verificou-se antecipação significativa do aparecimento de podridões e sintomas de injúrias pelo frio nos frutos tratados com choque a frio.

Figura 10 - Incidência de podridões (%) de pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao tratamento de choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente (n = 4)

Houve aumento na atividade da enzima PPO tanto durante o armazenamento refrigerado (Figura 11A) quanto após os 3 dias de comercialização simulada, para todos os tratamentos (Figura 11B). Comportamento semelhante pode ser observado na atividade da enzima POD durante o armazenamento refrigerado (Figura 12A). Quando os frutos foram retirados do frio e deixados 3 dias a temperatura ambiente para comercialização simulada, os frutos dos tratamentos -2°C/3hs, -4°C/1h e -4°C/2hs apresentaram pico na atividade de POD no dia 20+3.

Durante o armazenamento refrigerado a atividade da enzima PAL manteve-se constante até o 20° dia para todos os tratamentos. No 30° dia houve aumento significativo na atividade da PAL, sendo mais evidente nos tratamentos -2°C/1h, -2°C/2hs e -2°C/3hs (Figura 13A).

Em plantas superiores, POD está associada, dentre outras funções, com resistência às doenças formando ligações entre os compostos fenólicos (DEVI; PRASSAD, 1996). Além do escurecimento da polpa as enzimas PAL, POD e PPO são consideradas enzimas-chave da resistência e controle de doenças (MAYER; HAREL, 1991; WANG et al., 2004; LIU et al., 2005). A PAL é a enzima-chave na ativação do metabolismo fenilpropanóide e um aumento na sua atividade está associada com a biossíntese metabólitos ativos como as fitoalexinas, fenóis, ligninas e ácido salicílico que estão envolvidos no metabolismo de defesa das plantas (MILOSEVIC; SLUSARENKO, 1996). Por este motivo, provavelmente, os tratamentos -2°C/1h, -2°C/2hs, -2°C/3hs e -4°C/2hs que apresentaram menores atividades de PAL no dia 10+3 (Figura 13B), foram os tratamentos que manifestaram sintomas de podridões. A POD participa nos

processos de construção e manutenção das paredes celulares oxidando fenóis, auxiliando na suberização e lignificação das células atacadas durante a reação contra os agentes patogênicos (CHITTOOR; LEACH; WHITE, 1999). A PPO está envolvida na oxidação dos polifenóis em quinonas (compostos antimicrobianos) e lignificação das células vegetais durante a invasão microbiana (MOHAMMADI; KAZEMI, 2002).

Figura 11 - Atividade da enzima PPO em pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Figura 12 - Atividade da enzima POD em pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Figura 13 - Atividade da enzima PAL em pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Os sintomas de escurecimento interno da polpa foram observados no segundo dia de análise (20+3). Neste dia, os frutos tratados com choque a frio apresentaram maiores índices de escurecimento em relação ao controle (Tabela 3), indicando que este tipo de tratamento não é efetivo para o controle do escurecimento interno.

A quantidade de compostos fenólicos presentes nos frutos e a atividade das polifenoloxidas são determinantes do potencial de escurecimento dos frutos de determinada cultivar (KADER; CHORDAS, 1984). Essa relação ocorre porque, ao contrário da lanosidade, o escurecimento interno é causado, possivelmente, pela alteração na permeabilidade das membranas plasmáticas, permitindo o contato das polifenol oxidasas com seus substratos (LURIE; CRISOSTO, 2005). Isto pode ser parcialmente explicado pelos dados de extravasamento de eletrólitos (Figura 14) onde o aumento gradual na porcentagem de extravasamento fornece indicativos de perdas de integridade de membranas. Porém, no presente experimento não se pode fazer uma correlação direta entre o extravasamento de eletrólitos e a intensidade do índice de escurecimento.

Tabela 3 - Índice de escurecimento interno de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao tratamento com choque a frio

Tratamentos	Dias*		
	10+3	20+3	30+3
Controle	0,00	2,08	17,19
-2°C/1h	0,00	16,67	34,38
-2°C/2hs	0,00	8,33	14,06
-2°C/3hs	0,00	8,33	18,75
-4°C/1h	0,00	16,67	17,19
-4°C/2hs	0,00	12,50	18,75
-4°C/3hs	0,00	12,50	31,25

*Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3); 20 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (20+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Figura 14 - Extravasamento de eletrólitos (%) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Os teores de pectinas totais apresentaram tendência de aumento na maioria dos tratamentos, com exceção do tratamento controle e $-2^{\circ}\text{C}/3\text{hs}$ que mantiveram valores praticamente constantes (Figura 15A).

As pectinas solúveis apresentaram elevação nos teores no dia 20+3, voltando a reduzir no dia 30+3 nos frutos que sofreram choque a frio. O tratamento controle apresentou redução gradual nos valores ao longo de todo período de armazenamento (Figura 15B).

A solubilização de substâncias pécicas mostrou tendência de queda ao longo de todo período de armazenamento, sendo significativamente maior ($p \leq 0,05$) nos frutos submetidos ao choque a frio (Figura 16).

Figura 15 - Teores de pectinas totais (A) e pectinas solúveis (B) de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n = 4$)

Figura 16 - Solubilização de substâncias pécticas em pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

A taxa respiratória permaneceu reduzida durante o período de armazenamento refrigerado (5,10,20 e 30 dias), apresentando aumento após a retirada dos frutos para a temperatura ambiente. Não houve influência do choque a frio na taxa respiratória dos frutos, com exceção do verificado no dia 30+1 e 30+2, onde os frutos submetidos ao choque a frio a -2°C mais de 1 hora e -4°C apresentaram taxa respiratória significativamente inferior ($p \leq 0,05$) ao controle (Figura 17).

Figura 17 - Taxa respiratória de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 5)

Os frutos dos tratamentos -2°C/1h, -4°C/1h e -4°C/2hs apresentaram produção de etileno mais elevado em relação ao controle aos 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente, enquanto que os frutos dos demais tratamentos apresentaram produção de etileno mais reduzido. Porém, aos 30 dias de armazenamento refrigerado + 2 dias à temperatura ambiente, os frutos do tratamento controle tiveram produção de etileno significativamente mais elevado em relação aos demais tratamentos (Figura 18).

O aumento na produção de etileno nos primeiros dias de análise pode ser devido ao estresse provocado pelo choque a frio.

Embora a produção de etileno tenha sido elevada nos primeiros dias e análise nos frutos dos tratamentos -2°C/1h, -4°C/1h e -4°C/2hs, não houve controle da lanosidade nestes frutos. É possível que o choque a frio tenha afetado o metabolismo normal da parede celular.

Figura 18 - Produção de etileno de pêsegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 5)

2.4.3 Conclusões

O tratamento com choque a frio teve influência negativa sobre as injúrias pelo frio (lanosidade e escurecimento da polpa), intensificando e acelerando o aparecimento dessas desordens. Isso pode estar associado à redução nos teores das enzimas de parede no caso da lanosidade, e ao aumento da permeabilidade das membranas no caso do escurecimento da polpa. Além disso, também houve antecipação no aparecimento de podridões nos frutos submetido ao choque a frio.

Com relação às variáveis físico-químicas não houve influência sobre do choque a frio sobre as mesmas.

Devido a influência negativa sobre as injúrias pelo frio o choque a frio não pode ser recomendado para aumento do período de conservação e manutenção da qualidade de pêsegos 'IAC Douradão'.

2.5 EXPERIMENTO - 4

CLORETO DE CÁLCIO NO ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DE PÊSSEGOS 'IAC DOURADÃO'

2.5.1 Materiais e Métodos

Pêssegos 'IAC Douradão' foram colhidos no estágio de maturação fisiológica (quebra da coloração verde de fundo) em pomar comercial localizado no município de Itupeva, SP. A colheita foi realizada no início da manhã e os frutos foram imediatamente transportados ao laboratório de Fisiologia Pós-colheita, do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, Piracicaba, SP, onde sofreram uma seleção sendo retirados os frutos com danos mecânicos e podridões.

O tratamento com cloreto de cálcio (CaCl_2) foi realizado através de imersão dos frutos em caixas plásticas de 60 litros contendo 20 litros de solução nas concentrações de: 0%; 0,25%; 0,50%; 0,75%; 1,00%; 1,25% e 1,50% de CaCl_2 . Para melhor aderência do CaCl_2 nos frutos foi adicionado às soluções 1,5mL de Twin-20. Os frutos ficaram imersos durante 10 minutos e em seguida foram deixados à temperatura ambiente em caixas plásticas furadas para a remoção do excesso de água por um período de 2 horas.

Após os tratamentos os frutos foram armazenados em câmara fria a $1\pm 0,5^\circ\text{C}$ e 85-90% UR, durante 30 dias.

As análises foram realizadas nos seguintes períodos: dia 0, para caracterização do lote; aos 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias a temperatura ambiente (25°C), para simulação do tempo de comercialização (10+3); aos 20 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias a temperatura ambiente (20+3); e aos 30 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de temperatura ambiente (30+3).

As análises bioquímicas também foram realizadas logo após a retirada dos frutos do armazenamento refrigerado aos: 10, 20 e 30 dias; e após a o período de 3 dias de comercialização simulada, aos: 10+3, 20+3 e 30+3 dias.

As variáveis analisadas foram: perda de massa fresca, cor da casca, sólidos solúveis, acidez titulável, teor de ácido ascórbico, firmeza da polpa, incidência de podridões, incidência de injúrias, teores de pectinas totais e solúveis, atividade enzimática (PME, PPO, POD e PAL),

conteúdo das enzimas endo-PG, PME, PL, Exp. e β -Gal, extravazamento de eletrólitos, taxa respiratória, produção de etileno e teor de cálcio na casca.

Para retirada das mostras de casca para quantificação de cálcio na casca, os frutos foram lavados em água corrente para retirada do cálcio da superfície da casca e as amostras foram congeladas em N₂ líquido. A determinação de cálcio foi realizada no Laboratório de Nutrição de Plantas, do Departamento de Solos da ESALQ/USP. A metodologia para extração do cálcio foi adaptada de SARRUGE; HAAG (1974). As amostras foram inicialmente colocadas em mufla durante 24 horas e após este período foi realizada uma digestão nitro-perclórica e as determinações realizadas através de espectrofotometria de absorção atômica pelo método adaptado de MANGANARIS et al. (2006), sendo as leituras realizadas a 422,7nm.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com sete tratamentos e quatro repetições de três frutos, para as análises tecnológicas. Para as análises enzimáticas foram utilizadas três repetições de três frutos por tratamento, sendo feitas triplicatas de cada repetição.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa ($p \leq 0,05$), em que as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois erros padrões foram consideradas significativas (SHAMAILA et al., 1992).

2.5.2 Resultados e Discussão

Todos os tratamentos tiveram aumento na perda de massa ao longo do período de armazenamento. O controle apresentou maiores perdas de massa atingindo 13,15%. No último dia de análise os tratamentos diferiram do controle, exceto o tratamento 0,25% CaCl₂ (Figura 1).

Chitarra e Chitarra (2005) citam que perdas de massa da ordem de 3 a 6% são suficientes para causar um marcante declínio na qualidade, mas alguns produtos são ainda comercializáveis com 10% de perda de umidade. Segundo Yang e Hoffmann (1984) a perda de massa ocorre em razão do tempo de armazenamento e da transpiração. Essa perda tem efeitos marcantes sobre a fisiologia dos tecidos vegetais e, em alguns casos, antecipa a maturação e a senescência dos frutos.

A perda de massa se relaciona à perda de água, resultando não somente em perdas quantitativas, mas também na aparência (amaciamento e enrugamento), nas qualidades texturais (amaciamento, perda de frescos e suculência) e na qualidade nutricional (KADER, 1992).

Figura 1 - Perda de massa de pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: (A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e (B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n = 4$)

Houve decréscimo acentuado dos valores de firmeza do dia 0 para o 10º dia de armazenamento + 3 dias de comercialização (Figura 2). Este decréscimo é devido, provavelmente, ao amadurecimento ocorrido após a retirada dos frutos do armazenamento refrigerado.

Quando se observa os dados dos dias de análise sem os dados da caracterização, os frutos com tratados com CaCl_2 apresentaram maior firmeza com relação dos frutos do controle no dia 30+3 (Figura 2B). Estes resultados foram semelhantes aos observados por Manganaris et al. (2006) em pêssegos 'Andross'. De acordo com Saftner et al. (1998) os sais de cálcio podem reduzir ou acelerar os processos de senescência dependendo da concentração de cálcio aplicada.

A textura e firmeza da polpa de um fruto são fatores importantes de qualidade no momento do consumo, como também para quantificar sua capacidade de manipulação e conservação. A firmeza está em função da turgidez, integridade, tamanho e forma das células e dos tecidos de suporte, assim como de sua composição. A turgidez depende de substâncias osmoticamente ativas dentro do vacúolo, da permeabilidade do protoplasma e da elasticidade da parede celular. A presença de cálcio é considerada essencial na preservação da integridade das membranas e parede celular (FERNANDEZ, 2000).

A maior parte do cálcio que entra nos tecidos vegetais acumula-se nas paredes celulares. Ele se liga aos grupos carboxílicos dos resíduos de ácido galacturônico pertencentes a cadeias adjacentes de pectinas formando pectatos de cálcio, ou aos grupos hidroxílicos de diversos polissacarídeos, por ligações eletrostáticas ou coordenadas, formando uma rede na parede celular e aumentando a sua força de contenção celular. O complexo formado atua como um cimento intercelular, proporcionando firmeza aos tecidos vegetais (Chitarra; Chitarra, 2005). Estudos sobre o amadurecimento de frutos têm indicado que a taxa de senescência depende do nível de cálcio nos tecidos. Segundo Alonso; Rodriguez e Canet (1995) a presença de cálcio além de conferir insolubilidade ao material péctico, com a formação de pectatos de cálcio, inibe a degradação pela enzima poligalacturonase. Isto provavelmente poderia explicar as menores perdas de firmeza ocorridas nos frutos tratados com CaCl_2 em relação aos frutos controle, no último dia de análise (Figura 2B).

Figura 2 - Firmeza de pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

O teor de sólidos solúveis permaneceu praticamente constante ao longo de todo período de armazenamento, independentemente do tratamento (Figura 3). Isso mostra que o tratamento com CaCl_2 não tem influência sobre esta variável. Crisosto et al. (1997) também verificaram que o teor de sólidos solúveis não é influenciado pela aplicação de cloreto de cálcio.

Figura 3 - Teor de sólidos solúveis em pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

A acidez titulável teve um decréscimo para todos os tratamentos ao longo do período de armazenamento, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos (Figura 4). O decréscimo da acidez pode ser explicado pela utilização destes compostos como substratos respiratórios (GAMA et al., 1991), ou por sua conversão em açúcares, já que com o amadurecimento dos frutos, ocorre maior atividade metabólica e estes ácidos orgânicos constituem uma excelente reserva energética para os frutos, através de sua oxidação no ciclo de Krebs (BRODY, 1996).

Contrariando os resultados obtidos neste trabalho, Holland (1993) observou que frutos tratados com CaCl_2 mantiveram a acidez mais elevada. Ochei; Basiouny e Woods (1993) evidenciaram que frutos tratados com cálcio apresentaram menores reduções da acidez. Porém Manganaris et al. (2006) afirmaram que os tratamentos com diversos tipos de sais de cálcio não influenciaram na acidez titulável de pêssegos 'Andross'.

Figura 4 – Acidez titulável (% ácido cítrico) de pêssegos ‘IAC Douradão’ tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

O teor de ácido ascórbico diminuiu em todos os tratamentos ao longo do período de armazenamento. Até o 20º dia de armazenamento + 3 dias à temperatura ambiente os frutos dos tratamentos 0,75% CaCl_2 , 1,25% CaCl_2 e 1,50% CaCl_2 apresentaram teores de ácido ascórbico superiores aos dos frutos tratamento controle, permanecendo em torno de $0,93\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ (Figura 5).

Yuen (1994) afirma que dentre os principais efeitos desejáveis do cálcio na vida de prateleira dos frutos, quando em quantidades adequadas são: o controle de distúrbios fisiológicos, redução da taxa respiratória, atraso do amadurecimento e extensão da vida pós-colheita, aumento da firmeza e manutenção teor de vitamina C.

O tratamento com CaCl_2 aumentou os teores de ácido ascórbico em maçãs e tomates inteiros (BANGERTH, 1976) e kiwis minimamente processados (CARVALHO; LIMA, 2002). No presente experimento não houve aumento dos teores de ácido ascórbico, mas a manutenção dos valores até o dia 20+3 para os tratamentos 0,75% CaCl_2 , 1,25% CaCl_2 e 1,50% CaCl_2 .

Figura 5 - Teor de ácido ascórbico em pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

Houve aumento nos valores da intensidade de cor (Chroma) em todos os tratamentos (Figura 6). Para o ângulo de cor (Hue) pode ser observado decréscimo dos valores, mostrando que os frutos apresentaram cor de fundo da casca mais amarelada. Os tratamentos que apresentaram maiores reduções nos valores de Hue foram 0,25% CaCl_2 , 0,50% CaCl_2 e 1,00% CaCl_2 (Figura 7). Para o parâmetro luminosidade não houve alteração nos valores ao longo do período de armazenamento, independentemente do tratamento (Figura 8).

Com exceção dos valores de Hue, estes resultados estão de acordo com os observados por Raese e Drake (1995), onde os autores observaram que não houve diferença significativa nos valores de sólidos solúveis, acidez titulável e coloração da casca de peras 'Anjou' tratados com CaCl_2 , em relação ao controle.

Figura 6 - Intensidade de cor (Chroma) em pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

Figura 7 - Ângulo de cor (Hue) em pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

Figura 8 - Luminosidade em pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

Em relação à lanosidade, foi verificado que os tratamentos controle, 0,25%; 1,00% e 1,50% CaCl_2 apresentaram maiores porcentagem de frutos nas categorias de 2 a 4. Já os tratamentos 0,50%; 0,75% e 1,25% CaCl_2 apresentaram a maioria dos frutos (83,33% e 91,67%) sem lanosidade (categoria 5) até o 20º dia de armazenamento + 3 dias de à temperatura ambiente (Tabela 1). Indicando que o CaCl_2 , na faixa de 0,50% a 1,25%, provavelmente reduz a incidência de lanosidade. Acredita-se que o cálcio modula a estrutura e as propriedades da rede de pectinas. Quando altos níveis deste íon se acumulam, no apoplasto ocorre uma forte inibição da liberação das pectinas da parede celular e também suprime a atividade da PG (ROSE, 2003). Por este motivo, provavelmente, a concentração de 1,50% de CaCl_2 tenha apresentados mais sintomas de lanosidade.

O desenvolvimento da lanosidade tem sido associado a uma redução na atividade das PGs, durante a exposição a baixas temperaturas, enquanto a atividade da PME continua relativamente estável nesse período (ZHOU; BEN-ARIE; LURIE, 2000). Dessa forma, a contínua desmetilesterificação, causada pela atividade da PMEs, sem uma despolimerização sincronizada das pectinas, devido à redução da atividade das PGs, leva ao acúmulo de pectinas insolúveis de alto peso molecular e baixo grau de metilesterificação (BEN-ARIE; SONEGO, 1980). Pectinas com um grau de metilesterificação menor que 50% tendem a ligar Ca^{2+} (ZHOU; BEN-ARIE; LURIE, 2000), formando complexos de pectato de cálcio de alto peso molecular

(BEN-ARIE; LAVEE, 1971), capazes de ligar a água livre e formar gel (VON MOLLENDORFF et al., 1989; OBENLAND; CRISOSTO; ROSE, 2003).

Os resultados encontrados são semelhantes aos observados por Wade (1981) em pêssegos ‘J. H. Hale’ tratados com CaCl_2 por imersão e por infiltração.

Tabela 1 - Lanosidade de pêssegos ‘IAC Douradão’ tratados com CaCl_2 ¹

Tratamentos	Categorias*				
	1	2	3	4	5
-----Dia 10+3**-----					
Controle	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
0,25% CaCl_2	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
0,50% CaCl_2	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
0,75% CaCl_2	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
1,00% CaCl_2	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
1,25% CaCl_2	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
1,50% CaCl_2	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
-----Dia 20+3**-----					
Controle	0,00	16,67	0,00	16,67	66,67
0,25% CaCl_2	0,00	0,00	16,67	25,00	58,33
0,50% CaCl_2	0,00	0,00	0,00	16,67	83,33
0,75% CaCl_2	0,00	0,00	0,00	16,67	83,33
1,00% CaCl_2	0,00	0,00	8,33	25,00	66,67
1,25% CaCl_2	0,00	0,00	0,00	8,33	91,67
1,50% CaCl_2	0,00	8,33	8,33	33,33	50,00
-----Dia 30+3**-----					
Controle	8,33	33,33	8,33	41,67	8,33
0,25% CaCl_2	0,00	33,33	0,00	8,33	58,33
0,50% CaCl_2	0,00	50,00	0,00	0,00	50,00
0,75% CaCl_2	0,00	16,67	0,00	0,00	83,33
1,00% CaCl_2	8,33	16,67	0,00	8,33	66,67
1,25% CaCl_2	0,00	16,67	0,00	0,00	83,33
1,50% CaCl_2	0,00	33,33	8,33	8,33	50,00

¹Dados expressos em % de frutos com lanosidade em cada categoria.

*Categorias: 1 = fruto firme, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 2 = fruto firme, com aparência de seco e alguma extração de suco; 3 = fruto mole, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 4 = fruto mole, com aparência de seco e alguma extração de suco; 5 = fruto mole, com aparência de úmido e muita extração de suco.

**Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3); 20 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (20+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

A concentração de 1,50% de CaCl_2 teve efeito inibitório sobre os teores das enzimas endo-PG, PME e PL, sendo observados valores de 10, 5 e 22,5, respectivamente, no dia 10+3. Esta inibição foi mais acentuada no dia 30+3 quando o valor de endo-PG chegou a zero (Tabela 2). Esta inibição e desbalação entre as enzimas de parede provavelmente foi a causa dos frutos deste tratamento apresentarem maiores porcentagens de lanosidade e sintomas mais severos.

Tabela 2 - Conteúdo das enzimas *endo*-poligalacturonase (endo-PG), pectinametilesterase (PME), pectina liase (PL), expansina (Exp.) e β -galactosidase (β -Gal) em pêssegos 'IAC Dourado' tratados com CaCl_2

Tratamentos	Enzimas					
	Endo-PG	PME	PL	Exp	β -Gal	IR
Caracterização	40	25	40	30	32.5	89
-----Dia 10+3**-----						
Controle	45	40	55	15	35	91
1,50% CaCl_2	10	5	22.5	22.5	22.5	87.5
-----Dia 30+3**-----						
Controle	5	45	17.5	0	5	94.5
1,50%	0	5	7.5	10	12.5	95

* Foi atribuída valor 100 a amostra com a proteína recombinante correspondente a uma alíquota contendo 10pg. Significando que o valor 100, na amostra depositada tem 10pg da proteína em estudo. IR = índice de recuperação das enzimas.

** Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Durante o armazenamento refrigerado os frutos do tratamento 0,50% CaCl_2 apresentaram atividade de PME menor se comparado a dos frutos controle. Os tratamentos 1,25% e 1,50% CaCl_2 apresentaram maior atividade de PME no 10º dia de armazenamento refrigerado, sendo que, após este período, a atividade de PME destes tratamentos decresceu, sendo significativamente inferior ao controle (Figura 9A).

Quando os frutos foram retirados do frio e permaneceram 3 dias a temperatura ambiente, a atividade da enzima PME dos frutos tratados com CaCl_2 aumentou no dia 20+3, sendo mais evidente nos tratamentos 1,50%; 1,25% e 1,00% de CaCl_2 , respectivamente, em relação ao controle (Figura 9B).

A ação da enzima PME requer certa concentração de íons metálicos que, em conjunto com o potencial eletrostático da parede celular, parecem regular sua atividade. A concentração ideal de cálcio para diferentes pectinases de origem vegetal encontra-se entre 5 e 25 mM, tendo efeito inibidor em concentrações superiores (Chitarra; Chitarra, 2005), o que pode ser observado no tratamento 1,50% de CaCl_2 (Tabela 2).

Figura 9 - Atividade da enzima PME em pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Houve baixa incidência de podridões até o 20º dia de armazenamento + 3 dias à temperatura ambiente, quando apenas os tratamentos 0,25% e 0,50% de CaCl_2 apresentaram 8% e 16% de podridões, respectivamente. Já no dia 30+3 os tratamentos controle, 0,25% e 0,50% CaCl_2 apresentavam 18%, 12% e 18% de podridões, respectivamente (figura 9). Isso pode ser indicio de que o CaCl_2 teve eficácia no controle das podridões pós-colheita em concentrações superiores a 0,50% de CaCl_2 .

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), as pontes de cálcio presentes na parede celular são resistentes às enzimas poligalacturonase e celulasas produzidas pelos fungos e que causam o amaciamento dos tecidos, bem como às enzimas produzidas por outros microrganismos patogênicos.

Na interação patógeno-planta, a elevação nos níveis de cálcio dos tecidos vegetais aumenta a resistência do tecido à maceração, provavelmente pela localização do cálcio nas

paredes celulares (MACGUIRE; KELMAN, 1986). Segundo Conway e Sams (1983), o mecanismo pelo qual o cálcio retarda a ação de fungos pode ser similar ao efeito do cálcio no mecanismo que retarda o amadurecimento ou a senescência dos frutos.

Souza et al. (2001) observaram que a aplicação de CaCl_2 reduziu em 19,3% o índice de infecção por *Monilinia fruticola* em pêssegos 'Biuti' inoculados com este fungo.

Figura 10 - Incidência de podridões (%) em pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Os frutos do tratamento controle apresentaram maiores atividades da enzima PPO tanto durante o armazenamento refrigerado (Figura 11A), quanto após a retirada dos frutos da refrigeração para o período de comercialização simulada (Figura 11B). Os frutos do tratamento 0,50% CaCl_2 apresentaram maior atividade da PPO somente quando estes foram retirados do frio e deixados 3 dias à temperatura ambiente (Figura 11B). As maiores atividades da enzima PPO nestes dois tratamentos estão diretamente ligadas com o aparecimento dos sintomas de escurecimento interno dos frutos (Tabela 2).

Do ponto de vista bioquímico, a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase tem sido relacionada com o desenvolvimento de escurecimento interno dos pêssegos armazenados a baixas temperaturas por várias semanas (BRADY, 1993). O início destas reações foi descrito por Wang (1982), que associou uma modificação físico-química das membranas a uma subsequente descompartimentação, colocando em contato a enzima com o substrato.

Figura 11 - Atividade da enzima PPO em pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl₂, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Os frutos do tratamento 0,75% CaCl₂ mantiveram a atividade da enzima POD mais elevada durante todo o armazenamento refrigerado. Os demais tratamentos, com exceção do tratamento 1,50% CaCl₂, apresentaram elevação na atividade da POD somente no 30º dia de armazenamento refrigerado (Figura 12A).

Após o período de 3 dias de comercialização simulada a 25°C, observou-se o aumento da atividade da POD somente no último dia de análise (30+3), sendo mais acentuado no tratamento 1,00% CaCl₂, seguido dos tratamentos 1,25% CaCl₂ e controle (Figura 12B).

Os efeitos da atividade da peroxidase são difíceis de identificar, evidenciando-se somente durante o armazenamento prolongado de frutas e hortaliças, podendo ser confundidos com os efeitos da atividade da polifenoloxidase. Não obstante, acredita-se que a POD interfere nas mudanças de cor, aroma, textura e atributos nutricionais. Pode desempenhar um importante papel no amadurecimento de frutos, catalisando reações oxidativas, aumentando, portanto, sua atividade, juntamente com o aumento de peróxido de hidrogênio (ROBINSON, 1991). Ingham et al. (1998) reportaram que a importância da peroxidase no amadurecimento de frutos é pouco compreendida.

□ Controle ▨ 0,25% CaCl_2 ▤ 0,50% CaCl_2 ▧ 0,75% CaCl_2 ▩ 1,00% CaCl_2 ▦ 1,25% CaCl_2 ▨ 1,50% CaCl_2
 Figura 12 - Atividade da enzima POD em pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Durante o armazenamento refrigerado os frutos tratados com CaCl_2 apresentaram atividade de PAL menores em relação aos frutos do controle, com exceção dos frutos do tratamento 0,75% CaCl_2 que apresentaram atividade semelhante ao controle (Figura 13A).

Quando os frutos foram retirados da refrigeração para o período de comercialização simulada de 3 dias, os frutos tratamentos controle, 0,25% e 0,50% CaCl_2 tiveram um pico de atividade de PAL no dia 20+3 (Figura 13B).

Souza et al. (1999) também observaram redução na atividade da enzima PAL pela aplicação do CaCl_2 pêssegos 'Biuti' inoculados com *Monilinia fruticola*. Gonçalves; Carvalho e Gonçalves (2000) observaram mesmo comportamento em abacaxis 'Smooth Cayenne' tratados com CaCl_2 , onde os valores da atividade da enzima PAL foram significativamente menores em relação aos frutos sem tratamento. A PAL catalisa a desaminação da L-fenilalanina para ácido transcinâmico e tem papel chave no metabolismo fenilpropanóide (GONÇALVES; CARVALHO; GONÇALVES, 2000). Jones (1984) citou que a atividade da PAL é afetada por numerosos fatores, incluindo luz, temperatura, reguladores de crescimento, inibidores da síntese de RNA, proteínas, infecções ferimentos e nutrição mineral.

Figura 13 - Atividade da enzima PAL em pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl₂, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Somente os frutos dos tratamentos controle e 0,50% CaCl₂ apresentaram índice de escurecimento interno no dia 20+3. No dia 30+3 os frutos dos tratamentos 0,50%; 1,25% e 1,50% CaCl₂ apresentaram escurecimento, porém os valores eram inferiores ao controle (Tabela 3). Isto mostra que o tratamento com CaCl₂ tem relativa eficiência sobre o escurecimento interno.

A coloração marrom do tecido, que ocorre na maioria dos distúrbios fisiológicos correlacionados com deficiência de cálcio, pode ser originária do aumento de fluxo de precursores de fenólicos do vacúolo para o citossol onde sofrem oxidação por PPOs (FAUST; SHEAR, 1972).

Manganaris et al. (2006) também observaram redução da incidência de escurecimento interno em pêssegos 'Andross' tratados com diferentes tipos de sais de cálcio. Segundo Hewajulie et al. (2003), os sintomas de escurecimento interno são diretamente associados com conteúdo de cálcio na polpa dos frutos. A redução do escurecimento interno observado nos tratamentos com CaCl₂ pode ter ocorrido devido à manutenção da integridade celular e redução no acúmulo de substratos fenólicos nos tecidos da polpa (Gonçalves; Carvalho; Gonçalves, 2000)

Tabela 3 - Índice de escurecimento interno de pêssegos 'IAC Douradão' tratados com CaCl_2

Tratamentos	Dias*		
	10+3	20+3	30+3
Controle	0,00	4,17	10,94
0,25% CaCl_2	0,00	0,00	0,00
0,50% CaCl_2	0,00	2,08	6,25
0,75% CaCl_2	0,00	0,00	0,00
1,00% CaCl_2	0,00	0,00	0,00
1,25% CaCl_2	0,00	0,00	3,13
1,50% CaCl_2	0,00	0,00	3,13

*Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3); 20 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (20+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Com relação ao extravasamento de eletrólitos, houve um pico de extravasamento no dia 10+3. Os tratamentos com as concentrações de 1,00%; 1,25% e 1,50% CaCl_2 tiveram menores porcentagens de extravasamento de eletrólitos nos dias 20+3 e 30+3 (Figura 14). Isto mostra que os tratamentos com concentrações acima de 0,75% CaCl_2 mantiveram a integridade das membranas plasmáticas.

A superfície externa das membranas celulares apresenta quantidades consideráveis de cálcio; este elemento, ligado à fase fosfolipídica ou proteínas, confere maior estabilidade às membranas (BOTELHO, 1996). De acordo com Poovaiah (1986), a deficiência de cálcio promove alterações na arquitetura das membranas, com mudanças em sua fluidez e permeabilidade.

Segundo Poovaiah (1985), concentrações de 1 a 5mM de cálcio extracelular são necessárias para manter normal a funcionalidade das membranas e proteção da célula contra reações adversas de pH, íons tóxicos e desequilíbrio nutricional. Sem essa proteção, a membrana falha na discriminação entre íons; a bomba de prótons perde a função e a senescência é acelerada.

Figura 14 - Extravasamento de eletrólitos (%) de pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

Os frutos tratados com CaCl_2 em concentrações acima de 0,25% apresentaram tendência de decréscimo nos teores de pectinas totais. Os frutos dos tratamentos controle e 0,25% de CaCl_2 apresentaram aumento nos teores de pectinas totais (Figura 15A).

Com relação às pectinas solúveis frutos dos tratamentos com concentrações de CaCl_2 de 0,75% ou acima apresentaram redução nos teores a partir do dia 10+3. Por outro lado, concentrações abaixo de 0,75% apresentaram aumento nos teores de pectinas solúveis (Figura 15B).

Resultados semelhantes foram encontrados por Manganaris et al. (2006) em pêssegos 'Andross' com aplicação de cloreto de cálcio.

No dia 20+3 de armazenamento, a solubilização das substâncias pécnicas foi maior nos tratamentos com concentrações acima de 0,50% de CaCl_2 . Para os demais dias de análise não houve diferença entre os tratamentos (Figura 16).

Não foi observado relação direta entre o conteúdo de pectinas totais e solúveis, porcentagem de solubilização de pectinas e o aparecimento da lanosidade dos frutos.

□ Controle ▨ 0,25% CaCl₂ ▩ 0,50% CaCl₂ ▤ 0,75% CaCl₂ ▥ 1,00% CaCl₂ ▦ 1,25% CaCl₂ ▧ 1,50% CaCl₂

Figura 15 - Teores de pectinas totais (A) e pectinas solúveis (B) de pêssegos 'IAC Douradão' atados com diferentes concentrações de CaCl₂, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Figura 16 - Solubilização de substâncias pécicas de pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl₂, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Os frutos tratados com CaCl_2 mantiveram taxas respiratórias inferiores até o dia 30+2. Ficando esta redução da taxa respiratória mais evidente nos dias 20+1 e 20+2 (Figura 17).

Faust e Shear (1972) também observaram relação negativa entre o conteúdo de cálcio no tecido de alguns frutos e sua respiração, determinando que a presença deste elemento nas membranas reduz a sua permeabilidade. Diminuindo assim a taxa respiratória.

Conhece-se que uma concentração elevada de cálcio no citossol seria incompatível com o funcionamento normal da célula, por interferir na funções do magnésio e por diminuir a atividade dos íons fosfato, com efeito inibitório sobre as enzimas da glicólise e do metabolismo intermediário, como consequência disto, a aplicação exógena de cálcio resulta em frutos com menor taxa respiratória (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Figura 17 - Taxa respiratória de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio. Barras verticais representam o erro padrão da média

Durante o armazenamento refrigerado todos os tratamentos, inclusive o controle apresentaram produção de etileno muito reduzido. No dia 10+2 os frutos tratados com concentrações superiores a 0,25% de CaCl_2 apresentaram produção de etileno inferiores aos do controle. Após este dia não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 18).

Figura 18 - Produção de etileno de pêssegos 'IAC Douradão' submetidos ao choque a frio. Barras verticais representam o erro padrão da média

Houve incremento nos teores de cálcio na casca do dia 0 para os demais dias de análise, mostrando que houve absorção pela casca do cálcio aplicado. Os tratamentos 1,25% CaCl_2 e 1,50% CaCl_2 , proporcionaram maiores absorções de cálcio (Figura 19). Porém, absorções muito elevada de cálcio podem prejudicar o metabolismo normal da parede celular, como foi observado no tratamento 1,50% CaCl_2 , o qual apresentou menores teores de *endo*-PG, PME e PL em relação ao controle, tendo como consequência aumento na porcentagem de frutos com lanosidade.

Figura 19 - Teores de cálcio na casca de pêssegos 'IAC Douradão' tratados com diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média ($n = 4$)

2.5.3 Conclusões

As concentrações utilizadas no experimento não causaram modificações significativas nas variáveis físico-químicas, com exceção da perda de massa, no qual os frutos tratados com CaCl_2 tiveram menores perdas de massa. A aplicação do CaCl_2 também promoveu pouca alteração na taxa respiratória e produção de etileno dos pêssegos. Por outro lado, teores de cloreto de cálcio entre 0,50% e 1,25% foram eficientes no controle da lanosidade e escurecimento interno da polpa, sendo as concentrações de 0,75% e 1,00% de CaCl_2 as mais eficientes. Isto se deve a redução da atividade da PPO causada pela aplicação de CaCl_2 .

O tratamento também foi eficiente no controle de podridões, nas concentrações acima de 0,50% CaCl_2 . Essa eficiência pode ter sido causada pelo aumento de resistência na parede celular devido a incorporação de cálcio ou também pode ser devido ao aumento da atividade da enzimas PAL.

2.6 EXPERIMENTO - 5

ATMOSFERA MODIFICADA NO ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DE PÊSSEGOS ‘IAC DOURADÃO’

2.6.1 Materiais e Métodos

Pêssegos ‘IAC Douradão’ foram colhidos no estágio de maturação fisiológica (quebra da coloração verde de fundo) em pomar comercial localizado no município de Itupeva, SP. A colheita foi realizada no início da manhã e os frutos foram imediatamente transportados ao laboratório de Fisiologia Pós-colheita, do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, Piracicaba, SP, onde sofreram uma seleção sendo retirados os frutos com danos mecânicos e podridões.

Para obtenção da modificação de atmosfera os frutos foram acondicionados em diferentes tipos de filmes para embalagem. Os filmes avaliados foram: sacos de polietileno de alta densidade (PEAD), saco de polietileno de baixa densidade (PEBD) com 0,06 e 0,1mm de espessura, e sacos polipropileno com espessura de 0,06 e 0,1 mm. A modificação de atmosfera foi feita de forma passiva. Cada embalagem foi constituída de 3 frutos com peso de 410 ± 10 g. Frutos acondicionados em caixas de papelão abertas foram utilizados como tratamento controle.

Os frutos foram armazenados em câmara fria a $1,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e 85-90% UR, durante 30 dias.

As análises foram realizadas nos seguintes períodos: dia 0, para caracterização do lote; aos 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias a temperatura ambiente (25°C), para simulação do tempo de comercialização (10+3); aos 20 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias a temperatura ambiente (20+3); e aos 30 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias de a temperatura ambiente (30+3). Após a saída dos frutos da refrigeração, estes foram retirados das embalagens e colocados em bandejas de polipropileno expandido durante o período de comercialização simulada a 25°C .

As análises bioquímicas também foram realizadas logo após a retirada dos frutos do armazenamento refrigerado aos: 10, 20 e 30 dias; e após a o período de 3 dias de comercialização simulada, aos: 10+3, 20+3 e 30+3 dias.

As variáveis analisadas foram: perda de massa fresca, firmeza da polpa, sólidos solúveis, acidez titulável, teor de ácido ascórbico, cor da casca, incidência de injúrias, incidência de podridões, atividade enzimática (PME, PPO, POD e PAL), teores de pectinas totais e solúveis, extravasamento de eletrólitos e concentração de O_2 e CO_2 no interior das embalagens.

As análises de concentração de O₂ e CO₂ foram realizadas nos dias 0, 3, 6, 9, 18, 24 e 30 de armazenamento refrigerado. Para o monitoramento da composição gasosa foi fixado um septo de silicone em cada embalagem, através do qual foram coletadas amostras de gás do interior das mesmas utilizando-se um analisador de gases marca Illinois Instruments, modelo 6600 Oxygen/Carbon Dioxide Headspace Analyzer. As leituras foram expressas em %O₂ e %CO₂. Optou-se por fazer leituras em tempos mais espaçados após o 9º dia de armazenamento refrigerado para não afetar a quantidade de gases presentes nas embalagens, pois o aparelho mede as concentrações de gases succionando ar de dentro das embalagens. Além disso, as atmosferas de equilíbrio foram alcançadas já no 3º dia de armazenamento refrigerado.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com seis tratamentos com quatro repetições de uma embalagem constituída de três frutos por tratamento, para as análises tecnológicas. Para as análises enzimáticas foram utilizadas três repetições de uma embalagem com três frutos por tratamento, sendo feitas triplicatas de cada repetição.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa ($p \leq 0,05$), em que as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois erros padrões foram consideradas significativas.

2.6.2 Resultados e Discussão

Nos frutos do tratamento controle a perda de massa significativamente maior ($p \leq 0,05$) do que os frutos dos demais tratamentos em todos os dias de análise. Os frutos acondicionados em embalagens, independentemente do tipo de filme, não apresentaram diferença significativa entre si em nenhum dia de análise mantendo valores em torno de 5% de perda de massa (Figura 1). Estes valores estão abaixo dos considerados críticos por Chitarra e Chitarra (2005). Isso demonstra que o acondicionamento dos frutos em embalagens é importante para redução das perdas de massa.

Segundo Tavares; Chitarra e Chitarra (1991), a utilização de embalagem de filmes plásticos durante o armazenamento refrigerado promove maior umidade relativa ao redor das frutas, reduzindo o déficit de pressão de vapor e, conseqüentemente, a transpiração. Como conseqüência, as frutas permanecem com maior turgidez e sem sintoma de murchamento. A redução da perda de massa em pêssegos com a utilização de embalagens plásticas também foi

observada por Kluge et al. (1999) na cultivar ‘Flordaprince’, Nunes et al. (2004) na cultivar ‘Aurora-2’ e por Santos et al. (2008) na cultivar ‘Douradão’.

Figura 1 - Perda de massa de pêssegos ‘IAC Douradão’ embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: (A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e (B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

A firmeza da polpa decresceu do dia 0 (caracterização) para o dia 10+3 em todos os tratamentos, sendo que, após este período, os valores mantiveram-se constantes (Figura 2). Esta redução da firmeza é explicada pelo processo de amadurecimento que verifica-se no pêssego, onde ocorre a degradação das pectinas e parede celular em decorrência da atividade enzimática (KNEE; BARTLEY, 1981). Provavelmente, a exposição dos frutos à temperatura ambiente após os 10 dias de armazenamento refrigerado tenha causado o amadurecimento dos frutos e conseqüente redução da firmeza.

Os resultados obtidos estão de acordo com Santos et al. (2008), que observaram em pêssegos ‘Douradão’ valores de 41,68N no momento da colheita e valores próximos de 4,90N após 14 dias de armazenamento refrigerado mais 3 dias em condições ambiente.

As embalagens influenciaram a perda de firmeza dos pêssegos, considerando que elas mantiveram a firmeza dos frutos mais elevada ao longo do período de armazenamento. Os frutos das embalagens PEBD 0,06, PEBD 0,10 e PP 0,10 apresentaram maiores valores de firmeza (9,3N), sendo seguido das embalagens PP 0,06 (7,65N), PEAD (6,90N) e controle (5,15N)

(Figura 2).

A manutenção da firmeza em valores mais altos causados pelos filmes PP e PEBD pode ser explicada pela menor permeabilidade à gases que ocorre em certos tipos de filmes (GORRIS; PEPPELENBOS, 1992). Essa menor permeabilidade à gases faz com que haja modificação nas concentrações normais de O_2 e CO_2 , o que altera o metabolismo das frutas. O aumento nos níveis de CO_2 e/ou redução nos níveis de O_2 reduzem a atividade enzimática (MAHAJAN; GOSWAMI, 2001) e síntese e a atividade do etileno, afetando o ritmo de amadurecimento de frutas climatéricas (KADER, 1986). Provavelmente, as embalagens com filmes PP e PEBD tenham modificado a atmosfera suficientemente para retardar o amadurecimento, demonstrado pela manutenção da firmeza em valores acima dos demais tratamentos.

Resultados semelhantes foram obtidos em pêssegos ‘Aurora 2’ (NUNES et al., 2004) e ‘Flordaprince’ (KLUGE et al., 1999) embalados em filme de PEBD.

Figura 2 - Firmeza de pêssegos ‘IAC Douradão’ embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Os frutos dos da embalagem PEAD e do controle apresentam aumento gradual nos teores de sólidos solúveis. Nas demais embalagens os frutos mantiveram valores praticamente constantes ao longo do período de armazenamento (Figura 3).

O incremento no teor de sólidos solúveis é um processo normal no amadurecimento de pêssegos, sendo decorrente dos processos de biossíntese ou degradação de polissacarídeos (KNEE; BARTLEY, 1981). Por este motivo, os frutos dos tratamentos sem (controle) ou com pouca modificação de atmosfera (PEAD) apresentaram maiores teores de sólidos solúveis, pois provavelmente os frutos estavam mais maduros que os frutos dos demais tratamentos. Já os frutos embalados com os filmes de PP e PEBD, independente da espessura, apresentaram menores valores de sólidos solúveis em relação ao controle, pois estes filmes apresentam menor permeabilidade aos gases e promovem uma atmosfera com maiores níveis de CO_2 e/ou menores níveis de O_2 . De acordo com Mahajan e Goswani (2001), essas alterações reduzem a atividade respiratória dos frutos e, conseqüentemente, o uso de carboidratos como substrato respiratório. Provavelmente, devido ao metabolismo mais lento, os frutos embalados com PP e PEBD apresentavam-se menos maduros.

Resultados similares foram encontrados por Santos et al. (2008) em pêssegos ‘Douradão’, onde os frutos embalados com PEBD mantiveram valores semelhantes aos da colheita, ao longo do período de armazenamento.

Figura 3 - Teor de sólidos solúveis de pêssegos ‘IAC Douradão’ embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Houve decréscimo gradual na acidez ao longo do armazenamento, independentemente do tratamento, sem influência das embalagens (Figura 4). O decréscimo na acidez é devido ao metabolismo respiratório que continua ocorrendo após a colheita, fazendo com que vários substratos, dentre eles os ácidos orgânicos, sejam utilizados no ciclo de Krebs como forma de geração de energia para manutenção dos processos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Figura 4 - Acidez titulável (% ácido cítrico) de pêssegos 'IAC Douradão' embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Houve redução no conteúdo de ácido ascórbico durante o armazenamento em todos os tratamentos, sem efeito das embalagens utilizadas. Os valores sofreram decréscimo de aproximadamente 50% do momento da colheita até o dia 30+3 (Figura 5). O teor de vitamina C tende a diminuir com a maturação e com o armazenamento, devido à atuação direta da enzima ácido ascórbico oxidase (ascorbinase), ou pela ação de enzimas oxidantes como a peroxidase (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Figura 5 - Teores de ácido ascórbico de pêssegos 'IAC Douradão' embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Em geral houve decréscimo nos valores de ângulo de cor (Hue). No dia 30+3 os tratamentos controle e PEAD apresentaram valores de hue significativamente menores nos demais tratamentos, mostrando que a coloração da casca passou de verde-claro para amarelo-claro (Figura 7). Os demais componentes da cor (Chroma e luminosidade) não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos ao longo do período de armazenamento (Figuras 6 e 8). Segundo Girardi et al. (2000), a alteração na coloração das frutas é uma das principais mudanças que ocorrem no amadurecimento. Essa alteração acontece devido à degradação de clorofila (diminuição dos valores de Hue) e síntese de outros pigmentos, como antocianinas e carotenóides.

Santos et al. (2008) observaram que pêssegos 'Douradão' sem embalagem apresentaram valores de luminosidade menores que os frutos embalados e PEBD, contrariando os resultados observados neste experimento.

Figura 6 - Intensidade de cor (Chroma) da casaca de pêssegos 'IAC Douradão' embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Figura 7 - Ângulo de cor (Hue) da casaca de pêssegos 'IAC Douradão' embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Figura 8 - Luminosidade da casca de pêssegos 'IAC Douradão' embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

As embalagens PP 0,06, PP 0,10 e PEBD 0,10 proporcionaram maiores reduções nas concentrações de O₂ e acúmulo de CO₂ (Figura 9).

Foi observado que somente os tratamentos com porcentagem de O₂ abaixo de 1% apresentaram certa eficiência no controle da lanosidade e do escurecimento da polpa. Porém, o filme PP 0,10 o qual foi mais eficiente no controle destas desordens, causou fermentação dos frutos, provavelmente pela concentração de CO₂ estar acima de 5%.

Figura 9 - Concentração de gases no interior das embalagens (%) de pessegos 'IAC Dourado' embalados com diferentes tipos de filmes e armazenados durante 30 dias a 1°C (n = 10)

Os sintomas de lanosidade foram observados a partir do dia 20+3 nos tratamentos controle, PEAD e PEBD 0,06, sendo que o tratamento PEAD apresentou maiores porcentagens de frutos com lanosidade em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Estes tratamentos foram os que tiveram menor modificação na atmosfera (Figura 9). Os tratamentos PP 0,06 e PEBD 0,10 apresentaram sintomas de lanosidade somente no último dia de análise (dia 30+3), sendo o tratamento PEBD 0,10 aquele que apresentou frutos com menos sintomas de lanosidade (Tabela 1).

Kluge et al. (1999) também observaram maiores porcentagens de frutos com lanosidade no tratamento com filme de PEAD em relação ao tratamento com PEDB. Porém os autores observaram que pêssegos da cultivar 'Flordaprince' sem embalagem não apresentaram lanosidade, contrariando os resultados obtidos no presente experimento. Por outro lado, Zoffoli; Balbontin e Rodriguez (2002) observaram redução na porcentagem de frutos com lanosidade em pêssegos 'September Sun' e 'Rosario Red' mantidos sob atmosfera modificada.

Embora o tratamento PP 0,10 tenha se mostrado eficiente no controle da lanosidade, os frutos de tratamento apresentaram odor e sabor alcoólicos já no dia 20+3, tornando-se impróprios para o consumo.

Tabela 1 - Lanosidade de pêssegos 'IAC Douradão' embalados em diferentes tipos de filmes plásticos¹

Tratamentos	Categorias [*]				
	1	2	3	4	5
-----Dia 10+3 ^{**} -----					
Controle	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
PEAD	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
PP 0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
PP 0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
PEBD 0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
PEBD 0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
-----Dia 20+3 ^{**} -----					
Controle	0,00	33,33	0,00	0,00	66,67
PEAD	0,00	16,67	0,00	33,33	50,00
PP 0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
PP 0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
PEBD 0,06	0,00	8,33	0,00	8,33	83,33
PEBD 0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
-----Dia 30+3 ^{**} -----					
Controle	0,00	8,33	41,67	41,67	8,33
PEAD	0,00	16,67	33,33	16,67	33,33
PP 0,06	0,00	0,00	8,33	25,00	66,67
PP 0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
PEBD 0,06	0,00	8,33	0,00	16,67	75,00
PEBD 0,10	0,00	0,00	0,00	8,33	91,67

¹Dados expressos em % de frutos com lanosidade em cada categoria.

^{*}Categorias: 1 = fruto firme, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 2 = fruto firme, com aparência de seco e alguma extração de suco; 3 = fruto mole, com aparência de seco e nenhuma extração de suco; 4 = fruto mole, com aparência de seco e alguma extração de suco; 5 = fruto mole, com aparência de úmido e muita extração de suco.

^{**}Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3); 20 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (20+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

Houve queda na atividade da enzima PME do dia da caracterização (dia 0) para o 10º dia de armazenamento refrigerado, provavelmente devido a redução da temperatura que proporciona redução do metabolismo dos frutos. Após este período a atividade da PME manteve-se constante em torno de $75 \text{ nmol g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ para todos os tratamentos (Figura 10A). Zhou; Ben-Arie e Lurie (2000) também observaram que houve manutenção da atividade da enzima PME em pêssegos ‘Hermosa’ submetidos ou não à atmosfera controlada e sob refrigeração. Estes autores demonstraram que a atividade de PME é estável em baixas temperaturas.

Quando os frutos foram retirados do armazenamento refrigerado e expostos a temperatura ambiente, houve tendência de acréscimo na atividade da enzima PME em todos os tratamentos, sendo mais evidente nos frutos embalados com filme PEBD 0,10 (Figura 10B). Os frutos deste tratamento também apresentaram menores sintomas de lanosidade (Tabela 1).

Em estudos bioquímicos sobre a lanosidade têm sido identificado fatores que podem ser importantes no desenvolvimento dos sintomas, porém há considerável discrepância entre os estudos a questão da ação da enzima PME é uma delas (BRUMMELL et al., 2004). Comparado com frutos sadios, frutos lanosos têm sido associados com redução na atividade (BUESCHER; FURMANSKI, 1978), ou com o aumento da atividade (BEN-ARIE; SONEGO, 1980) ou sem alteração na atividade da enzima PME (ZHOU et al., 2000).

Figura 10 - Atividade da enzima PME de pêssegos ‘IAC Douradão’ embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

A incidência de podridões foi afetada negativamente com uso de embalagens. Todos os tratamentos com embalagem apresentaram sintomas de podridões já no dia 10+3, sendo os tratamentos PP 0,06 e PEBD 0,06 aqueles que com maiores porcentagens de frutos sintomas de podridão, acima de 15%. Por outro lado, os frutos do tratamento controle apresentaram sintomas somente no dia 20+3 permanecendo entre os tratamentos com menores porcentagens de sintomas de podridões (Figura 11). Embalagens com AM ajudam a manter valores elevados de umidade relativa no seu interior, o que pode ser vantajoso pela diminuição da perda de peso, mas pode provocar a condensação de vapor de água na superfície interna das embalagens e facilitar o desenvolvimento microbiano (CHITARRA; CHITARRA, 1990). Foi o que ocorreu no presente trabalho em função da transpiração dos frutos durante o armazenamento. Resultados semelhantes foram observados por Santos et al. (2008) em pêssegos ‘Douradão’, onde os frutos embalados em PEBD apresentaram maiores porcentagens de podridões em relação aos frutos controle e tratados com quitosana.

Figura 11 - Incidência de podridões (%) de pêssegos ‘IAC Douradão’ embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Os tratamentos controle e PEAD tiveram aumento gradual na atividade da enzima PPO ao longo do período de armazenamento refrigerado. Os demais tratamentos apresentaram elevação da atividade da PPO somente no 30º dia de armazenamento refrigerado (Figura 12A).

Quando os frutos foram expostos à temperatura ambiente foi observado pico de atividade da enzima PPO no dia 20+3 para os tratamentos controle, PEAD e PP0,06. Os demais tratamentos mantiveram a atividade constante ao longo do período de armazenamento, sendo a menor atividade observada para o tratamento PEBD 0,10 (Figura 12B).

O principal efeito da PPO em alimentos é o escurecimento enzimático. Em alguns casos, esse fenômeno é totalmente indesejável por alterar o aspecto dos vegetais, causando rejeição por parte do consumidor (ALENCAR; KOBLITZ, 2008).

Figura 12 - Atividade da enzima PPO de pêssegos 'IAC Douradão' embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Durante o período de armazenamento refrigerado a POD manteve sua atividade constante em todos os tratamentos (Figura 13A). Porém, quando os frutos foram retirados do frio a mantidos por 3 dias à temperatura ambiente, houve pico de atividade no dia 20+3, sendo mais intenso para os tratamentos controle, PEAD e PP 0,06 (Figura 13B).

Peroxidases encontram-se em paredes celulares, vacúolos e citoplasma e sua função biológica, embora não totalmente esclarecida, está relacionada à síntese de fitohormônios (ácido indolil-acético), à maturação e a senescência de frutos, à síntese de lignina e sua degradação por fungos e, ainda à processos de lesão (mecânica e fisiológica) e de defesa contra infecções virais.

Além disso, essa enzima pode participar da alteração de cor e da destruição do valor nutritivo dos vegetais (ALENCAR; KOBLITZ, 2008).

Reyes e Luh (1960) demonstraram que existe relação entre a atividade da PPO e da POD nas reações de escurecimento em pêssegos com caroço livre. No presente trabalho, não foi observado relação entre atividade da enzima POD e escurecimento interno da polpa e controle de podridões.

Figura 13 - Atividade da enzima POD de pêssegos 'IAC Douradão' embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

Os tratamentos PEAD, PP 0,06, PP 0,10 e PEBD 0,06 apresentaram pico de atividade da enzima PAL no 10º dia de armazenamento refrigerado. Os tratamentos controle e PEBD 0,10 mantiveram atividade da PAL constantes ao longo de todo período de armazenamento refrigerado. No 30º dia de armazenamento refrigerado o tratamento PP 0,10 apresentou maior atividade da enzima PAL em relação aos demais tratamentos (Figura 14A). Após o período de comercialização simulada de 3 dias, houve pico da atividade da enzima PAL, após o 20º dia, para a maioria dos tratamentos, com exceção do PP 0,06, esse pico foi mais acentuado no tratamento PEBD 0,10 (Figura 14B).

A PAL é a primeira e principal enzima da rota do ácido chiquímico que dará origem aos compostos fenólicos secundários derivados da fenilalanina (TAIZ; ZEIGER, 2004). Trabalhos

prévios indicam que numerosas enzimas estão envolvidas nas respostas de defesa das tecidos vegetais à injúria mecânica e/ou ao ataque de patógenos dentre elas a PAL (SOUZA et al., 1999).

No presente trabalho não foi observado relação direta entre a atividade da enzima PAL e o controle de podridões e o escurecimento interno da polpa.

Figura 14 - Atividade da enzima PAL de pêssegos 'IAC Douradão' embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados: A) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado e B) a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3)

As embalagens PEAD, PP 0,06 e PEBD 0,06 anteciparam o aparecimento dos sintomas de escurecimento interno da polpa em relação aos demais tratamentos, inclusive em relação ao controle. Estes tratamentos apresentaram índices de 6,25, 8,33 e 1,56, já no dia 20+3. Por outro lado, o tratamento PP 0,10 foi eficiente em evitar o escurecimento interno da polpa (Tabela 2). Porém como citado anteriormente este tratamento causou fermentação dos frutos.

Malgarim et al. (2005) observaram 100% de frutos com sintomas de escurecimento interno em ameixas 'Reubennel' embaladas em polietileno com 12,5µm de espessura, enquanto que os frutos controle de embalados em polietileno com 15µm de espessura apresentaram escurecimento de 16,66% e 39,25%, respectivamente.

Tabela 2 - Índice de escurecimento interno de pêssegos 'IAC Douradão' embalados em diferentes tipos de filmes plásticos¹

Tratamentos	Dias*		
	10+3	20+3	30+3
Controle	0,00	0,00	14,58
PEAD	0,00	6,25	6,67
PP 0,06	0,00	8,33	8,33
PP 0,10	0,00	0,00	0,00
PEBD 0,06	0,00	1,56	14,58
PEBD 0,10	0,00	0,00	6,25

*Dias de análise: 10 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (10+3); 20 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (20+3) e 30 dias a 1°C e 3 dias de comercialização (30+3).

O extravasamento de eletrólitos teve aumento gradual na maioria dos tratamentos com exceção tratamento PP 0,10 que manteve os valores constantes após do dia 10+3 (Figura 15). O aumento do extravasamento observado do dia 0 para o dia 10+3 em todos os tratamentos (Figura 15) deve-se, provavelmente, ao amadurecimento dos frutos quando expostos à temperatura ambiente. Segundo Sacher (1973), o amadurecimento e a senescência alteram a integridade das membranas celulares.

A atividade da PPO (Figura 12) e a porcentagem extravasamento de eletrólitos (Figura 15) mostraram relação positiva com o escurecimento interno da polpa (Tabela 2) para os tratamentos com uso de embalagens. Pode-se observar que no dia 20+3 os tratamentos PEAD, PP 0,06 e PEBD 0,06, os quais apresentaram frutos com sintomas de escurecimento interno, também apresentaram maiores porcentagens de extravasamento de eletrólitos e maior atividade da PPO.

Como o tratamento manteve baixa porcentagem de extravasamento de eletrólitos, significando manutenção da integridade das membranas, mesmo com pico de atividade da PPO, não houve a formação dos compostos de cor escura devido impossibilidade contato da enzima PPO com seus substratos fenólicos.

O escurecimento interno é causado, possivelmente, pela alteração na permeabilidade das membranas plasmáticas, permitindo o contato das polifenol oxidases com seus substratos, que em frutos sadios estão em compartimentos separados (LURIE; CRISOSTO, 2005).

Margarim et al. (2005) não observaram relação entre atividade da enzima PPO e o

escurecimento interno de polpa em ameixas ‘Reubennel’, contrariando os resultados obtidos no presente trabalho.

Figura 15 - Extravasamento de eletrólitos (%) de pêssegos ‘IAC Douradão’ embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

Houve tendência de aumento no conteúdo de pectinas totais ao longo do armazenamento para maioria dos tratamentos, com exceção do tratamento PP 0,06 que apresentou valores praticamente constantes ao longo do tempo (Figura 16A). Os tratamentos com uso de embalagem apresentaram valores praticamente constantes nos teores de pectinas solúveis. Por outro lado, o tratamento controle mostrou redução nos teores de pectinas solúveis ao longo do período de armazenamento (Figura 16B).

Estes resultados estão parcialmente de acordo com os encontrados por Nunes et al. (2004) que observaram também aumento nos teores de pectinas totais em pêssegos ‘Aurora 2’. Porém, estes autores constataram aumento nos teores de pectinas solúveis ao longo do tempo nos frutos do controle, comportamento inverso do observado neste experimento.

Figura 16 - Teores de pectinas totais (A) e pectinas solúveis (B) de pêssegos 'IAC Douradão' embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 4)

Houve decréscimo na solubilização das pectinas do dia 20+3 para o dia 30+3 (Figura 17). A porcentagem de solubilização das pectinas teve decréscimo maior nos tratamentos que apresentaram maiores porcentagens de frutos com sintomas de lanosidade, mostrando relação direta entre solubilização das pectinas e a lanosidade.

Figura 17 - Solubilização de pectinas de pêssegos 'IAC Douradão' embalados com diferentes tipos de filmes, armazenados durante 30 dias a 1°C e avaliados a cada 10 dias de armazenamento refrigerado + 3 dias à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro padrão da média (n = 4)

2.6.3 Conclusões

Todas as embalagens foram eficientes na redução da perda de massa, porém as embalagens PEAD, PP 0,06 e PEBD 0,06 anteciparam o aparecimento de escurecimento interno.

O filme PEBD 0,10 teve certa eficiência no controle da lanosidade e do escurecimento interno dos frutos. Este tratamento ainda reduziu a perda de firmeza dos frutos.

O filme PP 0,10 apesar de apresentar maior eficiência no controle da lanosidade e escurecimento interno, causou odor sabor alcoólicos nos frutos, devido provavelmente a fermentação dos frutos.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O pêssego é um fruto muito apreciado por suas qualidades organolépticas e estéticas. Porém, possui uma vida pós-colheita muito limitada devido à rápida desidratação, perda de firmeza e podridões. Uma das tecnologias mais utilizadas na conservação pós-colheita de frutas e hortaliças é a refrigeração, mas quando o pêssego é armazenado em baixa temperatura por um longo período, este fruto pode manifestar injúrias pelo frio na forma de lanosidade e escurecimento interno da polpa.

A cultivar ‘IAC Douradão’ embora seja uma cultivar “recente”, já está sendo muito produzida no Estado de São Paulo. Entretanto, até o momento existem poucos trabalhos referentes à capacidade de armazenamento sob refrigeração e utilização de técnicas complementares de conservação para esta cultivar.

Diante destes fatos o presente trabalho mostrou que a cultivar ‘IAC Douradão’ pode ser armazenada sob baixa temperatura (1°C) por 10 dias sem perda de qualidade e a manifestação de injúrias pelo frio e por 20 dias com manifestações leves dos sintomas de injúrias pelo frio (lanosidade e escurecimento interno da polpa). Com o uso do condicionamento térmico na temperatura de 20°C por um período de 48hs antes do armazenamento a baixa temperatura, os frutos puderam ser armazenados por 30 dias sem manifestação de sintomas de lanosidade após frutos serem retirados do frio. O aquecimento intermitente também se mostrou eficiente no controle da lanosidade sem prejuízo à qualidade os frutos. A aplicação de cloreto de cálcio nas concentrações de 0,75% a 1,25% foram eficientes no controle das podridões e reduziram a incidência das injúrias pelo frio. O uso de embalagens foi eficiente na redução da perda de massa, um dos problemas que reduz o período pós-colheita de pêssegos. Neste sentido, a embalagem com filme PEBD com 0,10mm de espessura foi eficiente na redução da perda de massa e firmeza, além de ter certa eficiência na redução dos sintomas pelo frio, sem causar fermentação aparente nos frutos. Analisando os resultados obtidos sugere-se que em trabalhos futuros possam ser realizados experimentos com combinação das tecnologias utilizadas visando verificar a existência de efeito sinérgico entre o condicionamento térmico ou aquecimento intermitente, aplicação de cloreto de cálcio e uso de embalagens.

REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL- ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA. São Paulo: Instituto FNP, 2007. 310p.
- AKBUDAK, B.; ERIS, A. Physical and chemical changes in peaches and nectarines during the modified atmosphere storage. **Food Control**, Oxiford, v.15, p. 307-313, 2004.
- ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.53, p.2039-2055, 2002.
- ALONSO, J.; RODRIGUEZ, T.; CANET, W. Effect of calcium pretreatments on the texture of frozen cherries. Role of pectinesterase in the changes in the pectic materials. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 43, n. 4, p. 1001-1016, 1995.
- ALENCAR, S.M.; KOBLITZ, M.G.B. Oxidoreductases. In: KOBLITZ, M.G.B. (Ed). **Bioquímica de Alimentos: teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 125-152.
- ARTÉS, F., CANO, A.; FERNANDÉZ-TRUJILLO, J.P. Pectolytic activity during intermitent warning storage of peaches. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, p. 311-321, 1996.
- ATTA ALY, M.A. Effects of high temperature on ethylene biosynthesis by tomato fruits. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 22, p. 19-24, 1992.
- AYUB, R.; GUIS, M.; BEN-AMOR, M.; GILLOT, L.; ROUSTAN, J-P.; LATCHÉ, A.; BOUZAYEN, M.; PECH, J-C. Expression of ACC oxidase antisense gene inhibits ripening of cantaloupe melon fruits. **Nature Biotechnology**, London, v.14, p.862-866, 1996.
- BANGERTH, F. Relationship between calcium content and the content of ascorbic acid in apple, pear and tomato fruits. **Quality Plant**, Florida, v. 26, p. 341-348, 1976.
- BARBOSA, W. **Pêssego ‘IAC Douradão’**. Disponível em: <[http://www.iac.sp.gov.br/Cultivares/Folders/Pessegueo/Douradao\(IAC6782-83\).htm](http://www.iac.sp.gov.br/Cultivares/Folders/Pessegueo/Douradao(IAC6782-83).htm)>. Acesso em: 11 maio 2005.
- BARBOSA, W.; OJIMA, M.; CAMPO-DALL’ORTO, F.A.; RIGITANO, O.; MARTINS, F.P.; SANTOS, R.R.; CASTRO, J.L. **Melhoramento dos pessegueiro para regiões de clima subtropical**: realizações do Instituto Agrônomo no período de 1950 a 1990. Campinas: IAC, 1997. 22p. (Documentos, 52).
- BARRET REINA, L.C.; CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Choque a frio e atmosfera modificada no aumento da vida pós-colheita de tomates. I. avaliação da qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.13, n.2, p.168-183, 1993.
- BEN-ARIE, R.; LAVEE, S. Pectic changes occurring in ‘Elberta’ peaches suffering from woolly breakdown. **Phytochemistry**, Oxford, v.10, p.531-538, 1971.

BEN-ARIE, R.; SONEGO, L. Pectolytic enzyme activity involve woolly breakdown of stored peaches. **Phytochemistry**, Oxford, v.19, p.2553-2555, 1980.

BIGGS, M.S.; WOODSON, W.R.; HANDA, A.K. Biochemical basis of high temperature inhibition of ethylene biosynthesis in ripening tomato fruit. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 72, p. 572-578, 1988.

BITTER, T.; MUIR, H.M. A modified uronic acid carbazole reaction. **Analytical Chemistry**, Chapel Hill, v. 34, p. 330-334, 1962.

BRADY, C.J. Stone fruit. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman E Hall, 1993. cap.13, p.379-404.

BRODY, A.L. **Envasado de alimentos em atmosferas controladas, modificadas y a vacio**. Zaragoza: Acribia, 1996. p. 220

BRON, I.U.; JACOMINO, A.P.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Alterações anatômicas e físico-químicas associadas ao armazenamento refrigerado de pêssegos ‘Aurora-1’ e ‘Dourado-2’. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1349-1358, 2002.

BOLWELL, G.P.; COULSON, V.; RODGERS, M.W.; MURPHY, D.L.; JONES, D. Modulation of the elicitation response in cultured french bean cells and its implication for the mechanism of signal transduction. **Phytochemistry**, Oxford, v.30, n.2, p.397-405, Feb. 1991.

BONGHI, C.; FERRARESE, L.; RUPETI, B.; TONUTTI, P.; RAMINA, A. Endo- β -1,4glucanase are involved in peach fruit growth and ripening, and regulated by ethylene. **Physiologia Plantarum**, cidade, v. 102, p. 346-352, 1998.

BOTELHO, R.V. **Efeito do tratamento pós-colheita com cálcio na ocorrência de antracnose (*Colletotrichum glosporioides* Penz) e no amadurecimento de goiabas (*Psidium guajava* L.) ‘Branca Kumagai’**. 1996. 122p. Dissertação (Mestrado na área de fitotecnia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 1996.

BRACKMANN, A; BRACKMANN, A.; GIEHL, R.F.H.; SESTARI, I.; MELLO, A.M.; GUARIENTI, A.J.W. Utilização da atmosfera controlada para o armazenamento de pêssegos ‘Eldorado’ colhidos em dois estádios de maturação. *Revista Brasileira de Armazenamento*, Viçosa, v.30, n.2, p. 209-214, 2005.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantifies of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, cidade, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRUMMELL, D.A. Cell wall disassembly in ripening fruit. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 33, n.1, p. 103-119, 2006.

BRUMMELL, D.A.; HARPSTER, M.H.; CIVELLO, P.M.; PALYS, J.M.; BENNET, A.B.; DUNSMUIS, P. Modification of expansin protein abundance in tomato fruit alters softening and cell wall polymer metabolism during ripening, **Plant Cell**, Rockville, v. 11, p. 2203-2216, 1999.

BRUMMELL, D.A.; HARPSTER, M.H. Cell wall metabolism during in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. **Plant Molecular Biology**, Amsterdam, n.47, p.311- 340, 2001.

BRUMMELL, D.A.; VALERIANO, D.C.; LURIE, S.; CRISOSTO, C.H.; LAVAVITCH, J.M. Cell wall metabolism during the development of chilling injury in cold-stored peach fruit: association of mealiness with arrested disassembly of cell wall pectins. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.55, p.2041-2052, 2004.

BUDDE, C.O.; POLENTA, G.; LUCANGELI, C.D.; MURRAY, R.E. Air and immersion heat treatment affect ethylene production and organoleptic quality of 'Dixiland' peaches. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, p. 32-37, 2006.

BUESCHER, R.W.; FURMANSKI, R.J. Role of pectinesterase and polygalacturonase in the formation of woolliness in peaches. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, n.2, p. 264-266, 1978.

BUSH, D.S. Regulation of cytosolic calcium in plants, **Plant Physiology**, Rockville, v.103, n.1, p.7-13, Jan. 1993.

CARPITA, N.C.; GIBEAUT, D.M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **Plant Journal**, Oxford, v.3, p.1-30, 1993.

CARVALHO, A.V.; LIMA, L.C. de O. Qualidade de kiwis minimamente processados e submetidos a tratamento com ácido ascórbico, ácido cítrico e cloreto de cálcio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n. 5, p. 679-685, maio, 2002.

CERETTA, M.; ANTUNES, P.L.; BRACKMANN, A.; NAKASU, B. H. Conservação em atmosfera controlada de pêssego cultivar Eldorado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.1, p.73-79, 2000.

CHAN Jr., H.T. Alleviation of chilling injury in papayas, **HortScience**, Alexandria, v.23, n.5, p.868-870, 1988.

CHEN, Y.F.; RANDLETT, M.D.; FINDELL, J.L.; SCHALLER, G.E. Localization of the ethylene receptor ETR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis*. **Journal Biological Chemistry**, Maryland, v.277, p.19861-19866, 2002.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**. Lavras: ESAL; FAEFE, 1990. 320p.

- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manejo**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005. 783p.
- CHITTOOR, J.M.; LEACH, J.E.; WHITE, F.F. Induction of peroxidase during defense against pathogens. In: DATTA, S.K.; MUTHUKRISHNAN, S. (Ed.). **Phatogenesis**: Related proteins in plants. Boca Raton: CRC Press, 1999. 291p.
- CHOI, J.H.; LEE, S.K. Effect of pre-ripening on woollines of peaches. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 553, p. 281-283, 2001.
- COHEN, E. Commercial use of long-term storage of lemon with intermittent warming, **HortScience**, Alexandria, v.23, n.2, p. 400, 1988.
- CONWAY, W.S.; SAMS, C.E. Calcium infiltration of ‘Golden delicious’ apples and its effect on decay. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, n.7, p. 1668-1071, Jul. 1983.
- CONWAY, W.S.; SAMS, C.E. Possible mechanisms by which post-harvest calcium treatment reduces decay in apples, **Phytopathology**, St. Paul, v.74, n.1, p.208-210, Jan. 1984.
- CONWAY, W.S.; SAMS, C.E.; MCGUIRE, R.G.; KELMAN, A. Calcium treatment of apples and potatoes to reduce postharvest decay, **Plant Disease**, St. Paul, v.76, n.3, p.329-334, 1992.
- COSGROVE, D.J. Loosening of plant cell walls by expansions, **Nature**, London, v.407, p.321–326, 2000
- CRISOSTO, C.H.; JOHNSON, R.S.; DEJONG, T.; DAY, K.R. Orchard factors affecting postharvest stone fruit quality. **HortScience**, Alexandria, v.32, n.5, p.820-823, 1997.
- CRISOSTO, C.H.; MITCHELL, F.G.; JU, Z. Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine, and plum cultivars grown in California. **HortScience**, Alexandria, v.34, p.1116-1118, 1999.
- CUTTER, E.G. **Anatomia vegetal**. Parte 2: Órgãos, experimentos e interpretação. São Paulo: Roca, 1987. 336 p.
- DA-SILVA, R.; FRANCO, C.L. GOMES, E. Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção, e aplicação no processamento de alimentos: revisão. **Boletim do SBCTA**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 249-260, 1997.
- DAREZZO, H.M. Conservação **pós-colheita de pêssegos ‘Aurora-1’ e ‘Biuti’ acondicionados em diferentes embalagens e armazenados sob condições de ambiente e refrigeração**. 1998. 129p. Dissertação (Mestrado na área de Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 1998.
- DAWSON, D.M.; MELTON, L.D.; WATKINS, C.B. Cell wall changes in nectarines: solubilization and depolymerization of pectic and neutral polymers during ripening and in mealy fruit. **Plant Physiology**, Rockville, v. 100, p. 1203-1210, 1992.

DEVI, S.R.; PRASAD, M.N.V. Ferulic acid mediated changes in oxidase enzymes of maize seedlings-implication of growth. **Biologia Plantarum**, cidade, v. 38, p. 387-395, 1996.

DILEY, D.R. Enzymes. In: HULME, A.C. **The Biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1970. p. 159-178

DILLEY, D.R. Increasing the calcium contents of apple fruits to improve storability and attenuate physiological disorders. **Annual Report of Michigan State Horticultural Society**, Michigan, v.120, n.1, p.195-207, 1990.

DONG, L.; ZHOU, H.; SONEGO, L.; LERS, A.; LURIE, S. Ethylene involvement in the cold storage disorder of 'Flavortop' nectarine. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.23, p.105-115, 2001.

FAN, X.; BLANKENSHIP, S.M.; MATTHEIS, J.P. 1-Methylcyclopropene inhibits apple ripening. **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 124, p. 690-695, 1999.

FAO-FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Statistical Databases**. Disponível em: <http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.asp>. Acessado em: 12 nov 2008.

FAUST, M.; SHEAR, C.B. The effect of calcium on respiration of apples. **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 97, n. 4, p. 437-439, 1972.

FERNANDEZ, M.A.F. **Influência da atmosfera modificada e armazenamento no escurecimento interno de pêssegos cv. 'Marli'**. Lavras, 2000. 118p. Dissertação (Mestrado na área de) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J.P.; ARTÉS, F. Keeping quality of cold stored peaches using intermittent warming. **Food Research International**, St. Louis, v. 30, n. 6, p. 441-450, 1997.

FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J.P.; CANO, A.; ARTÉS, F. Physiological changes in peaches related to chilling injury and ripening. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.13, p.109-119, 1998.

FIELD, R.J. The effect of temperature no ethylene production by plant tissue. In: ROBERTS, J.A.; TUCKER, G.A. (Ed.). **Ethylene and plant development**. London: Butterworths, 1984. p. 47-69.

FINGER, F.L.; VIEIRA, G. **Controle da perda pós-colheita de água em produtos minimamente processados**. Viçosa: UFV, 1997. 29p.

FLUHR, R.; MATOO, A.K. Ethylene-biosynthesis and perception, **Critical Reviews in Plant Sciences**, London, v. 15, n. 5/6, p. 479-523, 1996.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**, 9.ed., s.l., s. ed., 1998. 307p.

FURMANSKI, R.J.; BUESCHER, R.W. Influence of chilling on eletrolyte leakage and internal conductivity of peach fruits. **HortScience**, Alexandria, v. 14, n. 2, p. 167-168, 1979.

GAMA, F.S.N.; MANICA I.; KIST, H.G.K.; ACCORSI, M.R. Aditivos e embalagens de polietileno na conservação do maracujá-amarelo em condições de refrigeração. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 305-310, 1991.

GEESON, J.D. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.258, p.143-150, 1989.

GIOVANNONI, J. Molecular biology of fruit maturation and ripening. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Somerville, v. 52, p. 725-749, 2001.

GIRARDI, C.L.; ROMBALDI, C.V.; PARUSSOLO, A.; DANIELI, R. **Manejo pós-colheita de pêssegos cultivar Chiripá**. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2000. 36p. (Circular Técnica, 28).

GONÇALVES, N.B.; CARVALHO, V.D.; GONÇALVES, J.R.A. Efeito do cloreto de cálcio e do tratamento hidrotérmico na atividade enzimática e no teor de fenólicos do abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v 35, n. 10, p. 2075-2081, 2000.

GORRIS, L.G.M.; PEPPELENBOS, H.W. Modified atmosphere and vacuum packaging to extend the shelf life of respiring food products. **HortTechnology**, Alexandria, v.2, n.3, p.303-309, 1992.

GRIERSON, D. Senescence in fruits. **HortScience**, Alexandria, v. 22, n. 5, p. 859-862, 1987.

GROSS, K.C.; SAMS, C.E. Changes in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. **Phytochemistry**, Oxford, v.23, p.2457-2461, 1984.

GUO, H.; ECKER, J.R. The ethylene signaling pathway: new insights. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.7, p.40-49, 2004.

HADLICH, E.; ARAÚJO, P.J. Frigoconservação contínua e intermitente de pêssegos (*Prunus persica* (L.) Batsch) cultivares Diamante e Eldorado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 15, n.1, p. 177-183, 1993.

HALLETT, I.C.; MacRAE, E.A.; WEGRZYN, T.F. Changes in kiwifruit cell wall ultrastruture and cell packaging during postharvest ripening. **International Journal of Plant Science**, v. 153, p. 49-60, 1992.

HANSON, J.B. The functions of calcium in plant nutrition. In: TINKER, P.B.; LAUCHLI, A. (Ed.) **Advances in Plant Nutrition**, New York: Praeger Publishers, p.149-208, 1984.

HARDENBURG, R.E.; ANDERSON, R.E. Keeping qualities of 'Stayman' and 'Delicious' apples treated with calcium chloride, sacld inhibitors, and other chemicals. **Journal of American Society Horticulture**, Alexandria, v.106, p.776-779, 1981.

HARDENBURG, R.E.; WATADA, A.E.; WANG, C.Y. **The commercial storage of fruits, vegetables, and florist, and nursery stoks**. Washington: USDA, 1986. 130p. (USDA Agriculture Handbook, 66).

HARRISON, E.P.; MCQUEEN-MASON, S.J.; MANNING, K. Expression of six expansin genes in relation to extension activity in developing strawberry fruit. **Journal Experimental Botany**, Lancaster, v. 52, p.1437-1446, 2001.

HAYAMA, H.; ITO, A.; MORIGUCHI, T.; KASHIMURA, Y. Identification of a new expansin gene closely associated with peach fruit softening. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdan, v.29, n.1, p.1-10, 2003.

HEWAJULIGE, I.G.N.; WILSON-WIJERATNAM, R.S.; WIJESUNDERA, R.L.C.; ABEYSEKERE, M. Fruit calcium concentration and chilling injury during low temperature sotage of pineapple. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 83, p. 1451-1454, 2003.

HIWASA, K.; ROSE, J.K.C.; NAKANO, R.; INABA, A.; KUBO, Y. Differential expression of seven expansin genes during growth and ripening in pear fruit. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, p. 117, 564-572, 2003.

HOLLAND, N. **Conservação pós-colheita de pêssegos (cv. BIUTI): interação entre cálcio e temperatura**. Lavras, 1993. 116p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1993.

HOUCK, L.G.; JENNER, J.F.; BIANCHI, J. Holding lemon fruit at 5°C or 15°C before cold treatments reduces chilling injury. **HortScience**, Alexandria, v.25, p. 1174, 1990.

IBGE-INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal**. Banco de dados Agregados do IBGE, Sistema IBGE de Recuperação Automática-SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.asp>>. Acessado em: 12 nov 2008.

INABA, M.; CRANDALL, P.G. Cold-sock treatment of mature green tomatoes to delay color development and increase shelf-life during room temperature storage. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Davies, v. 99, p. 143-145, 1986.

INGHAM, L.M.; PARKER, M.L.; WALDRON, K.W. Peroxidase: Changes in soluble and bound forms during maturation and ripening of apples. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 102, n. 1, p. 93-100, Jan. 1998.

INNOCENTI, E.D.; PARDOSSI, A.; TOGNONI, F.; GUIDI, L. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarone' and 'rocket salad' when stored as fresh cut products. **Food Chemistry**, Oxford, v. 104, p. 209-215, 2009.

JARVIS, M.C. Structure and properties of pectin gels in plant cell walls. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v.7, p.153-164, 1984.

JIN, P.; ZHENG, Y.; TANG, S.; RUI, H.; WANG, C.Y. A combination of hot air and methyl jasmonate vapor treatment alleviates chilling injury of peach fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 52, n. 1, p. 24-29, 2009.

JIANG, A.L.; TIAN, S.P.; XU, Y. Effects of controlled atmospheres with high O₂ or high CO₂ concentrations on postharvest physiology and storability of 'Napoleon' sweet cherry. **Acta Botanica Sinica**, Beijin, v. 44, p. 925-930, 2002.

JONES, D.H. Phenylalanine ammonia lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry**, Oxford, v. 23, p. 1349-1359, 1984.

JOHNSON, D.S. New techniques in the postharvest treatments of apple fruits with calcium salts. **Communication of Soil Science Plant Analysis**, Athens, v.10, p.373-382, 1979.

JU, Z.; DUAN, Y.; JU, Z. Leatheriness and mealiness of peaches in relation to fruit maturity and storage temperature. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Wellesbourne, v.75, n.1, p.86-91, 2000.

KADER, A.A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v.40, n.5, p.99-104, 1986.

KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. Davis: California. Division of Agriculture and Natural Resources- University of California, 1992. 296p.

KADER, A.A.; CHORDAS, A. Evaluating the browning potential of peaches. **California Agriculture**, California, v.38, n.1, p.14-15, 1984.

KENDE, H. Ethylene biosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, Palo Alto, v.44, p.238-307, 1993.

KAYS, J.S. **Postharvest physiology of perishable plants products**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 532p.

KLEIN, J.D. Ethylene biosynthesis in heat treated apples. In: CLIJSTERS, H.; PROFT, M.; MARCELLE, R.; VAN POUICHE, M. (Eds). **Biochemical and Physiological aspects of ethylene production in lower and higher plants**. Kluwer: Dordrecht, 1989. p. 184-190.

KLEIN, J.D.; LURIE, S. Prestorage heat treatment as a means of improving poststorage quality of apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 2, p. 265-269, 1990.

KLEIN, J.D.; LURIE, S. Postharvest heat treatment and fruit quality. **Postharvest New and Information**, Cambridge, v. 2, n.1, p. 15-19, 1991.

KLUGE, R.A.; RODRIGUES, D.S.; MINAMI, K. Aquecimento intermitente de tomates: efeito sobre injúrias pelo frio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.16, n.1, p. 4-6, 1998.

KLUGE, R.A NACHTIGAL, J.C.; FACHINELLO, J.C.; BILHALVA, A.B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. Pelotas: Ed. UFPel, 1997. 163p.

KLUGE, R.A.; SCARPARE FILHO, J.A.; JACOMINO, A.P.; MARQUES, C. Embalagens plásticas para pêssegos 'Flordaprince' refrigerados. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 843-850, 1999.

KLUGE, R.A.; NACHTIGAL, J.C; FACHINELLO, J.C.; BILHALVA, A.B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. 2. ed., s.l.: Rural, 2002. 214p.

KLUGE, R.A.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; BILHALVA, A.B.; FACHINELLO, J.C. Aquecimento intermitente em pêssegos 'BR-6'frigoconservados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n. 8, p. 543-547, ago. 1996.

KLUGE, R.A.; MODOLO, V.A.; JACOMINO, A.P.; SCARPARE FILHO, J.A.; TESSARIOLI NETO, J.; MINAMI, K. Comportamento de três hortaliças de fruto submetidas ao aquecimento intermitente durante a frigoconservação. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.55, n.3, p.473-479, 1998a.

KLUGE, R.A.; NACHTIGAL, J.C.; HOFFMANN, A.; BILHALVA, A.B.; FACHINELLO, J.C. Efeito de ésteres de sacarose sobre pêssegos 'BR-6'refrigerados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n. 2, p. 109-114, fev. 1998b.

KLUGE, R.A.; JOMORI, M.L.L.; EDAGI, F.K.; JACOMINO, A.P.; AGUILA, J.S.D. Danos de frio e qualidade de frutos cítricos tratados termicamente e armazenados sob refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 233-238, 2007.

KLUGE, R.A.; AZEVEDO, R.A.; JOMORI, M.L.L.; EDAGI, F.K.; JACOMINO, A.P.; GAZILA, S.A.; AGUILA, J.S.D. Efeitos de tratamentos térmicos aplicados sobre frutas cítricas armazenadas sob refrigeração. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1388-1396, 2006.

KNEE, M.; BARTLEY, I.M. Composition and metabolism of cell wall polysaccharides in ripening fruits. In: FRIED, J.; RHODES, M.J.C. (Ed.) **Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables**. New York: Academic Press, 1981. p. 131-146.

LEE, S.K.; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, p. 207-220, 2000.

LELIEVRE, J.M.; LATCHE, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M.; PECH, J.C. Ethylene and fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.101, n. 4, p.727-739, Dec.1997.

LELIÈVRE, J.M.; TICHIT, L.; FILLION, L.; LARRIGAUDIÈRE, C.; VENDRELL, M.; PECH, J.C. Cold-induced accumulation of 1-aminocyclopropane 1-carboxylate oxidase protein in 'Granny Smith' apple. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 5, n. 12, p. 11-17, 1995.

LILL, R.E.; O'DONAGHUE, E.M.; KING, G.A. Postharvest physiology of peaches and nectarines. **Horticultural Reviews**, Leuven, v.11, p. 413-452, 1989.

LIMA, L.C.; GIANNONI, J.A.; CHITARRA, M.I.F.; VILAS BOAS, E.V. de B. Conservação pós-colheita de pêssegos 'Premier' sob armazenamento refrigerado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 303-308, Abr./Jun., 1999.

LIN, Z.F.; LI, S.S.; ZHANG, D.L.; LIU, S.X.; LI, Y.B.; LIN, G.Z.; CHEN, M.D. The changes of oxidation and peroxidation in postharvest litchi fruit. **Acta Botânica Sinica**, Beijin, v. 30, p. 383-387, 1988.

LINCOLN, J.E.; CORDES, S.; READ, E.; FISCHER, R.L. Regulation of gene expression by ethylene during (*Lycopersicon esculentum*) (tomato) fruit development. **Proceeding of National Academy of Science of USA**, Washington, v. 84, p. 2793-2797, 1987.

LI-PING, L.; TAO, H. Storage of 'Okuba' peaches after heat shock treatment. **Acta Horticulturæ**, Leuven, n. 464, p. 315-320, 1998.

LIU, H.; JIANG, W.; BI, Y.; LUO, Y. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 35, p. 263-269, 2005.

LURIE, S.; CRISOSTO, C.H. Chilling injury in peach and nectarine. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.37, p.195-208, 2005.

LURIE, S.; KLEIN, J.D. Heat treatment of ripening apples: differential effects on physiology and biochemistry. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 78, n.2, p.181-186, 1990.

LURIE, S.; KLEIN, J.D. Acquisition of low-temperature tolerance in tomatoes by exposure to high-temperature stress. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.116, n.6, p. 1007-1012, 1991.

LURIE, S.; LEVIN, A.; GREVE, L.C.; LABAVITCH, J.M. Pectic polymer changes in nectarine during normal and abnormal ripening. **Phytochemistry**, Oxford, v. 36, p. 11-17, 1994.

LU, C.; ZAINAL, Z.; TUCKER, G.A.; LYCETT, G.W. Developmental abnormalities and reduced fruit softening in tomato plants expressing an antisense *Rab11* GTPase gene. **The Plant Cell**, Rockville, v.13, p.1819-1833, 2001.

- LUZA, J.G.; van GORSEL, R.; POLITO, V.S.; KADER, A.A. Chilling injury in peaches: a cytochemical and ultrastructural cell wall study. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.117, n.1, p.114-118, 1992.
- MAHAJAN, P.V. GOSWANI, T.K. Enzyme kinetics based modeling of respiration rate of apple. **Journal of Agricultural Engineering Research**, Bath, v. 79, n. 4, p. 399-406, 2001.
- MALGARIM, M.B.; CANTILLANO, R.F.F; TREPTOW, R.O.; SOUZA, E.L.; COUTINHO, E.F. Modificação da atmosfera na qualidade pós-colheita de ameixas cv. Reubennel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 373-378, 2005.
- MANGANARIS, G.A.; VASILAKAKIS, M.; DIAMANTIDIS, G.; MIGNANI, I. The effect of postharvest calcium, quality attributes, incidence of fresh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. **Food Chemistry**, Oxford, v. 100, n. 4, p. 1385-1392, 2006.
- MARSAN, J.L. Calcium concentration and firmness of stored 'McIntosh' apples increase by calcium chlorine solution tickner. **HortScience**, Alexandria, v.11, n.5, p.504-505, Nov. 1976.
- MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M.A.; LAFUENTE, M.T. Effect oh high temperature conditioning on ethylene, phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo of chilled 'Fortune' mandarin fruit. **Journal of Plant Physiology**, New York, v.150, p.674-678, 1997.
- MAYER, A.M.; HAREL, E. Phenoloxidasas ond their significance in fruit and vegetables. In: FOX, P.F. (Ed). **Food Enzymology**, London: Elsevier Science Publishers, 1991. v. 1, p. 373-398.
- McCOLLUM, T.G.; McDONALD, R.E. Tolerance of cucumber to immersion in heated water and subsequent effects on chilling tolerance. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.343, p.233-235, 1993.
- McCREADY, R.M.; McCOOMB, E.A. Extraction and determinationof total pectic materials in fruits. **Analytical Chemistry**, Chapel Hill, v. 24, n. 12, p. 1586-1588, 1952.
- McDOUGALL, G.J.; MORRISON, I.M.; STEWART. D.; HILLMAN, J.R. Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. **Journal of Science of Food Agriculture**, v. 70, p. 133-150, 1996.
- McGUIRRE, R.G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.
- McGUIRRE, R.G.; KELMAN, A. Calcium in potato tuber cell walls in relation to tissue maceration by *Ervinia carotovora* pv. *Atroseptica*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 76, n. 4, p. 401-406, Apr. 1986.
- McMILAN, J.D.; SHEIMAN. M.I. Pectic enzymes. **Advances Chemical Series**, v. 136, p. 101-130, 1974.

McMURCHIE, E.J.; McGLASSON, W.B.; EAKS, I.L. Treatment of fruit with propylene gives information about the biogenesis of ethylene. **Nature**, London, v.237, p.235-236, 1972.

MEHERIUK, M.; LAU, O.L.; HALL, J.W. Effects of some postharvest and storage treatments on the incidence of flesh browning in controlled-atmosphere-stored 'Delicious' apples. **Journal of American Society Horticulture**, Alexandria, v.109, p.290-292, 1984.

MILOSEVIC, N.; SLUSARENKO, A.J. Active oxygen metabolism and lignifications in the hypersensitive responses in bean. **Physiology Modeling in Plant Pathology**, London, v. 49, p. 143-157, 1996.

MITCHAM, E.J.; McDONALD, R.E. Respiration rate, internal atmosphere, and ethanol and acetaldehyde accumulation in heat treatment mango fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 3, n. 1, p. 77-86, 1993.

MITCHELL, F.G. Influence of cooling and temperature maintenance on the quality of California grown stone fruit. **International Journal of Refrigeration**, Malden, v.10, p.77-81, 1987.

MOHAMMADI, M.; KAZEI, H. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. **Plant Science**, Malden, v. 162, p. 491-492, 2002.

MURRAY, R.; LUCANGELI, C.; POLENTA, G.; BUDDE, C. Combined pre-storage heat treatment and controlled atmosphere storage reduced internal breakdown of 'Flavorcrest' peach. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 44, n.2, p. 116-121, 2007.

NANOS, G.D.; MITCHELL, F.G. High-temperature conditioning to delay internal breakdown development in peaches and nectarines. **HortScience**, Alexandria, v.26, n.7, p.882-885, 1991.

NUNES, E.E.; VILAS BOAS, B.M.; CARVALHO, G.L.; SIQUEIRA, H.H.; LIMA, L.C.O. Vida útil de pêssegos 'Aurora 2' armazenados sob atmosfera modificada e refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 438-440, 2004.

OBENLAND, D.; NEIPP, P. Peach and nectarine quality following treatment with high-temperature forced air combined with controlled atmosphere. **HortScience**, Jaboticabal, v. 40, n.5, p. 1425-1430, 2005.

OBENLAND, D.M.; CARROL, T.R. Mealiness and pectinolytic activity in peaches and nectarines in response to heat treatment and cold storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 125, n. 6, p. 723-728, 2000.

OBENLAND, D.M.; CRISOSTO, C.H.; ROSE, J.K.C. Expansin protein levels decline with the development of mealiness in peaches. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.29, n.1, p.11-18, 2003.

OCHEI, C.O., BASIOUNY, F.M., WOODS, F.M., Calcium-mediated postharvest changes in storage ability and fruit quality of peaches. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Delan, v.106, p.266-269, 1993.

O'DONOGHUE, E.M.; Huber, D. J.; Timpa, J. D.; Erdos, G. W.; Brecht, J. K.. Influence of avocado (*Persea americana*) Cx-cellulase on the structural features of avocado cellulose. **Planta**, Malden, v. 194, p.573-584, 1994.

OETIKER, J.H.; YANG, S.F. The role of ethylene in fruit ripening. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.398, p.167-178, 1995.

PANTASTICO, E.R.B. **Postharvest Physiology, Handling and Utilization of Tropical and Subtropical Fruits and Vegetables**. Westport, Connecticut: The AVI Publishing Company, INC1975. p.560.

PAULL, R.E. Postharvest heat treatments and fruit ripening. **Postharvest News and Information**, Cambridge, v. 1, n. 5, p. 355-363, 1990.

PAULL, R.E.; CHEN, N.J. Heat treatments and fruit ripening. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 21-37, 2000.

PEANO, C.; GIACALONE, G.; BOUNOUS, G. Changes in fruit quality of peaches and nectarine from transport to shelf. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 533, p. 739-740, 2001.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminium effects on lipid peroxidation and the actives of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 11, p. 137-143. 1999.

PICCHIONI, G.A.; WATADA, A.E.; CONWAY, W.S.; WHITAKER, B.D.; SAMS, C.E. Phospholipid, galactolipid, and steryl lipid composition of apple fruit cortical tissue following postharvest CaCl₂ infiltration. **Phytochemistry**, Oxford, v.39, p.763-769, 1995.

PICHA, D.H. Postharvest fruit conditioning reduces chilling injury in watermelons. **HortScience**, Alexandria, v.21, n.6, p. 1407-1409, 1986.

PICTON, S.; BARTON, S.L.; BOUZAYEN, M.; HAMILTON, A.J.; GRIERSON, D. Altered fruit ripening and leaf senescence in tomatoes expressing an antisense ethylene-forming enzyme transgene. **Plant Journal**, Malden, v.3, n. 3, p.469-481,M. 1993.

POOVAIAH. B.W. Role calcium and camoldulin in plant growth and development. **HortScience**, Alexandria, v. 20, n. 3, p. 347-351, 1985.

POOVAIAH, B.W. Role calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v.40, p.86-89, 1986.

POOVAIAH, B.W.; MOULTON, G.A. Vaccum pressure infiltration process for fresh produce. **U. S. Patent**, New York, n.4, 331-691, 1982.

PRESSEY, R.; AVANTS, J.K. Differences in polygalacturonase composition of clingstone and freestone peaches. **Journal Food Science**, Chicago, v.43, p.1415-1423, 1978.

RAESE, J.T.; DRAKE, S.R. Calcium sprays and timing affect fruit calcium concentrations, yield, fruit weight and cork spot of 'Anjou' pears. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n. 5, p. 1037-1039, 1995.

RASEIRA, M.C.B.; CENTELLAS-QUEZADA, A. **Pêssego: produção**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 162p.

RATNER, A.; GOREN, R.; MONSELINE, S.P. Activity of pectinesterase and cellulase in the abscission zone of citrus leaf explants. **Plant Physiology**, Rockville, v.44, p.1717-1723, 1969.

RETAMALES, J.; COOPER, T.; STREIF, J.; KANIA, J.C. Preventing cold storage disorders in nectarines. **Journal of Horticultural Science**, Leuven, v.67, n.5, p.619-626, 1992.

REYES, P.; LUH, B. S. Characteristics of browning enzymes in Fay Elberta freestone peaches. **Food Technology**, Chicago, v.14, p. 570-575, 1960.

RISSE, L.A.; CHUN, D.; MILLER, W.R. Chilling injury and decay of film-wrapped and conditioned bell peppers during cold storage. **Tropical Science**, London, v.27, p. 85-90, 1987.

ROBINSON, D.S. Peroxidases and Catalases in Foods. In: ROBINSON, D.S.R.; ESKIN, N.A.M. (Ed.). **Oxidative enzymes in foods**. London: Elsevier, 1991. p. 1-47.

RONQUE, E. **Cultura do morangueiro: revisão e prática**. Curitiba: Emater, 1998.206p.

ROSE, J.K.C. **The Plant Cell Wall**. Garsington: Blackwell Publishing, 2003. 381p.

ROSE, J.K.C.; LEE, H.H.; BENNETT, A.B. Expression of a divergent expansin gene is fruitspecific and ripening-regulated. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.94, p.5955-5960, 1997.

SACHER, J.A. Senescence and Postharvest Physiology. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 24, p. 197-224, Jun. 1973.

SAFTNER, R.A.; CONWAY, W.S.; SAMS, C.E. Effects of postharvest calcium and fruit coating treatment on postharvest life, quality maintenance and fruit-surface injury in 'Golden Delicious' apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 123, p. 294-298, 1998.

SANTANA, L.R.R. **Qualidade pós-colheita de pêssego 'Douradão' sob atmosfera controlada e modificada**, 2009. 176p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade de Campinas, 2009.

SANTOS, C.A.A.; CASTRO, J. V.; PICOLI, A.A.; ROLIM, G.S. Uso de quitosana e embalagem plástica na conservação pós-colheita de pêssegos 'Douradão'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 88-93, 2008.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises Químicas em Plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 55p.

SHAMAILA, M. et al. Sensory evaluation of strawberry fruit stored under modified atmosphere packaging (MAP) by quantitative descriptive analysis. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, p.1168-1172, 1992.

SHEAR, C.B. Calcium-related disorders of fruit and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v.10, n.3, p.361-365, 1975.

SHEWFELT, R.L.; PRUSSIA, S.E. **Postharvest handling: a systems approach**. New York: Academic Press, 1993. 358p.

SIGRIST, J.M.M. Transpiração. In: BLEINROTH, E.W. **Tecnologia de pós-colheita de frutas tropicais**. 2.ed. Campinas: ITAL, 1992. p. 27-32.

SILVA, A.P.; VIEITES, R.L.; CEREDA, E. Conservação de maracujá-doce pelo uso de cera e choque a frio. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 797-802, Out./Dez., 1999.

SILVA, J.A.; COSTA, T.S. da; LUCCHETTA, L.; MARINI, L.J.; ZANUZO, M.R.; NORA, L.; NORA, F.R.; ROMBALDI, C.V. Characterization of ripening behavior in transgenic melons expressing an antisense 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase gene from apple. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.32, p.263-268, 2004.

SISLER, E.C.; SEREK, M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: recent developments. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.100, p.577-582, 1997.

SITRIT, Y.; BENNETT, A.B. Regulation of tomato fruit polygalacturonase mRNA accumulation by ethylene: a reexamination. **Plant Physiology**, Rockville, v.116, p.1145-1150, 1998.

SONEGO, L.; LERS, A.; KHALCHITSKI, A.; ZUTKNI, Y.; ZHOU, H.W.; LURIE, S.; BEN-ARIE, R. Ethylene delays onset of wooly breakdown in stored peaches. In: KANELIS, A.; CHANG, C.; KLEE, H.; BENNETT, A.; PEACH, J.; GRIERSON, D. (Ed.) **Biology and biotechnology of the plant hormone ethylene II**. The Netherlands: Kluwer Academic Publ. Dordrecht, 1999. p. 405-411.

SOUZA, A.L.B. de; CHITARRA, M.F.I.; CHITARRA, A.B.; MACHADO, J.C. Resistência pós-colheita do pêssego (*Prunus pérsica* cv. Biuti) a *Monilinia frutícola*: indução de respostas bioquímicas pela aplicação do CaCl₂ no local da injúria. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.4, p.616-624, Out./Dez., 1999.

SOUZA, A.L.B. de; CHITARRA, M.F.I.; CHITARRA, A.B.; MACHADO, J.C. Efeito de cálcio na cura de ferimento e na resistência de pêssego ao ataque de *Monilinia fruticola* (Wint.) Honey. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.3, p.616-624, Mai/Jun, 2001.

STEPANOVA, A.N.; ECKER, J.R. Ethylene signaling: from mutants to molecules. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.3, p.353-360, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, traduzido por Paulo Luiz Oliveira (Ed.), 3.ed. s.l.: ARTMED, 2004. p. 162-314.

TAVARES, L.B.B.; CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Using modified atmosphere in the storage of two peaches cvs (*Prunus persica* (L.) Batsch): 1. Potential of conservation and quality. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.34, n.3/4, p.401-413, 1991.

THÉ, P.M.P. **Efeitos da associação de tratamento hidrotérmico, cloreto de cálcio e atmosfera modificada sobre o escurecimento interno e qualidade do abacaxi ‘Smooth Cayenne’**, 2001. 128p. Tese (Doutorado na área de) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2001.

THEOLOGIS, A.; OELLER, P.W.; WONG, L.M.; ROTTMAN, W.H.; GANTZ, D.M.; Use of tomato mutant constructed with reverse genetics to study fruit ripening, a complex development process. **Developmental Genetics**, New York, v. 92, p. 227-234, 1993.

THOMAS, P.; JOSHI, M.R. Reduction of chilling injury in ripe ‘Alphonso’ mango fruit in cold storage by temperature conditioning. **International Journal of Food Science and Technology**, Wagga Wagga, v.23, p.447-455, 1988.

TU, Y.B.; ADAMS, D.O.; YANG, S.F. Inhibition of ethylene production by 2,4-dinitrophenol and high temperature. **Plant Physiology**, Rockville, v. 66, n. 2, p. 286-290, 1980.

TUCKER, G.A. Introduction. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman e Hall, 1993, cap.1, p.3-43.

UNDERHILL, S.J.R.; CRITCHLEY, C. Cellular localization of polyphenol oxidase and peroxidase activity in *Litchi chinensis* Sonn. Pericarp. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 22, p. 627-632, 1995.

VENDRELL, M.; PALOMER, X. Hormonal control of fruit ripening in climateric fruits. **Acta Horticulturæ**, The Hague, v. 463, p. 325-334, 1997.

VITTI, D.C.C. **Controle de injúrias pelo frio em pêssegos ‘Dourado-2’, submetidos ao tratamento térmico**, 2004, 75p. Dissertação (Mestrado na área de Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

VITTI, D.C.C.; KLUGE, R.A.; JACOMINO, A.P.; LIMA, G.P.P. Tratamento térmico para controle da lanosidade em pêssegos 'Douradão-2' refrigerados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 12, p. 1705-1713, 2007.

VON MOLLENDORFF, L.J.; DE VILLIERS, O.T. Role of pectolytic enzymes in the development of woolliness in peaches. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 63, p. 53-58, 1988.

VON MOLLENDORFF, L.J.; DE VILLIERS, O.T.; JACOBS, G. Effect of time of examination and ripening temperature on the degree of woolliness in nectarines. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.64, n.4, p.443-447, 1989.

WADE, N.L. Effects of storage atmosphere, temperature and calcium on low-temperature injury of peach fruit. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam v. 15, p. 145-154, 1981.

WANG, C.Y. Physiological and biochemical responses of plants to chilling stress. **HortScience**, Alexandria, v. 17, n. 2, p. 173-186, Apr., 1982.

WANG, C.Y. Reduction of chilling injury in fruits and vegetables. **Postharvest News and Information**, Cambridge, v. 2, n. 3, p. 165-168, 1991.

WANG, C.Y. Approaches to reduce chilling injury of fruits and vegetables. **Horticultural Reviews**, Leuven, v.15, p.63-95, 1993.

WANG, Y.S.; TIAN, S.P.; XU, P.; QIN, G.Z.; YAO, H.J. Changes in the actives of pro- and antioxidant enzymes in peach fruit inoculated with *Cryptococcus laurentii* or *Penicillium expansum* at 0 or 20°C. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 34, p. 21-28, 2004.

WANG, Y.S.; TIAN, S.P.; XU, Y. Effects of high oxygen concentration on pro-oxidant enzymes in peach fruits during postharvest periods. **Food Chemistry**, Oxford, v. 91, p. 99-104, 2005.

WATADA, A.E. Effects of ethylene on the quality of fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v.44, n.5, p. 82-85, 1986.

WOOLF, A.B. Reduction of chilling injury in stored 'Hass' avocado fruit by 38°C water treatments. **HortScience**, Alexandria, v.32, n.7, p.1247-1251, 1997.

YANG, S.F.; HOFFMAN, N.E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, London, v.35, p.155-189, 1984.

YUEN, C.M.C. Calcium and fruit storage potential. In: CHAMP, B.R.; HIGHLEY JOHNSON, G.I. (Ed.). **Proceedings of an international conference**, Florida, n. 50, p. 218-227, Jul., 1994.

ZAMBRANO, J.; MANZANO, J. Influence du calcium sur la maturation et la conservation des mangues après leur récolte. **Fruits**, v.50, n.2, p.145-152, 1995.

ZAGORY, D.; KADER, A.A. Modified atmosphere packaging of fresh produce. **Food Technology**, v.42, n.9, p.70-77, 1988.

ZANETE, F.; BIASE, L.A. Introdução às fruteiras de caroço. In: MONTEIRO, L.B. et al. (Ed.). **Fruteiras de caroço: uma visão ecológica**. Curitiba: UFPR, p.1-4, 2004.

ZHENG, X.; TIAN, S.; MENG, X.; LI, B. Physiological and biochemical responses in peach fruit to oxalic acid treatment during storage at room temperature. **Food Chemistry**, Oxford, v. 104, p. 156-162, 2007.

ZOFFOLI, J.P.; BALBONTIN, S.; RODRIGUEZ, J. Effect of modified atmosphere packaging and maturity on susceptibility to mealiness and flesh browning of peach cultivars. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 592, p. 573-579, 2002.

ZHOU, H.; BEN-AIRE, R.; LURIE, S. Pectin esterase, polygalacturonase and gel formation in peach pectin fractions. **Phytochemistry**, Oxford, n.55, p.191-195, 2000.

ZHOU, H.; SONEGO, L.; BEN-ARIE, R.; LURIE, S. Analysis of cell wall components in juice of 'Flavortop' nectarines during normal ripening and wolliness development. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 124, p. 424-429, 1999.

ZHOU, H.; DONG, L.; BEN-AIRE, R.; LURIE, S. The role of ethylene in the prevention of chilling injury in nectarines. **Journal of Plant Physiology**, Jane, v.158, n. 1, p.55-61, 2001.

ZHOU, T.; SHIYING, X.; SUN, D.; WANG, Z. Effects of heat treatment on postharvest quality of peaches. **Journal of Food Engineering**, Oxford, n. 54, p. 17-23, 2002.

ZHOU, H.; SONEGO, L.; BEN-ARIE, R.; LERS, A.; LURIE, S. Cell wall enzymes and cell wall changes in 'Flavortop' nectarines: mRNA abundance, enzyme activity, and changes in pectic and neutral polymers during ripening and woolly fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 125, p. 630-637, 2000.

Anexos

Foto 1 - Condicionamento térmico realizada em B.O.D.

Foto 2 - Caracterização do lote do experimento com condicionamento térmico

Foto 3 – Pêssegos ‘IAC Douradão’ após tratamentos com condicionamento térmico, armazenado a 1°C durante 30 dias + 3 dias de comercialização simulada a 25°C

Foto 4 - Caracterização do lote do experimento de aquecimento intermitente

Controle

5 dias / 25°C

5 dias / 15°C

10 dias / 48hs 25°C

10 dias / 48hs 15°C

Foto 5 – Pêssegos ‘IAC Douradão’ submetidos ao aquecimento intermitente, armazenados a 1°C durante 30 dias e expostos ao período de comercialização simulada de 3 dias a 25°C

Foto 6 - Aplicação do choque a frio

Foto 7 - Caracterização do lote do experimento de choque a frio

Controle

-2°C/1h

-2°C/2hs

-2°C/3hs

-4°C/1h

-4°C/2hs

-4°C/3hs

Foto 8 – Pêssegos ‘IAC Douradão’ submetidos choque a frio e armazenados a 1°C durante 30 dias e expostos ao período de comercialização simulada de 3 dias a 25°

Foto 9 - Caracterização do lote do experimento com cloreto de cálcio

Foto 10 – Pêssegos ‘IAC Douradão’ tratados com diferentes concentrações de cloreto de cálcio, armazenados a 1°C durante 30 dias e expostos ao período de comercialização simulada de 3 dias a 25°C

Foto 11 - Caracterização do lote do experimento com atmosfera modificada

Foto 12 – Pêssegos ‘IAC Douradão’ tratados com diferentes concentrações de cloreto de cálcio, armazenados a 1°C durante 30 dias e expostos ao período de comercialização simulada de 3 dias a 25°C

Foto 13 – Aspecto lanosidade de pêssegos ‘IAC Douradão’ armazenados a 1°C durante 30 dias e expostos ao período de comercialização simulada de 3 dias a 25°C

Foto 14 – “Wester-blot” realizado através de proteínas totais de polpa pêssegos ‘IAC Douradão’ tratados com anticorpos anti-PME, anti-Expansina e anti-PG

Foto 15 – Aspecto da polpa de pêsegos ‘IAC Douradão’ com escurecimento interno

Foto 16 – Aspecto da polpa de pêsegos ‘IAC Douradão’ logo após a colheita

Foto 17 – Armazenamento de pêssegos ‘IAC Douradão’