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

**Fisiologia, bioquímica e conservação de bananas e goiabas sob altas
concentrações de O₂ combinadas com CO₂ e N₂O**

Thales Sandoval Cerqueira

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

**Piracicaba
2012**

Thales Sandoval Cerqueira
Engenheiro Agrônomo

**Fisiologia, bioquímica e conservação de bananas e goiabas sob altas
concentrações de O₂ combinadas com CO₂ e N₂O**

Orientador:
Prof. Dr. **ANGELO PEDRO JACOMINO**

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

**Piracicaba
2012**

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

Cerqueira, Thales Sandoval

Fisiologia, bioquímica e conservação de bananas e goiabas sob altas concentrações de O₂ combinadas com CO₂ e N₂O Thales Sandoval Cerqueira.- - Piracicaba, 2012.
127 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Armazenagem em atmosfera controlada 2. Bioquímica de alimentos 3. Etileno
4. Fisiologia pós-colheita 5. Frutas - Conservação 6. Óxido nítrico 7. Oxigênio I. Título

CDD 634.04
C416f

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

Aos meus pais,

Luiz Antonio de Castro Cerqueira

Márcia Maria Sandoval Cerqueira

Pela confiança, apoio e exemplo de vida, que tornaram possível a realização desta importante etapa de minha vida.

Aos meus Avós

Sr. Antonio Sandoval (*in memorian*)

Sra. Clara Sandoval

Sr. Orci e Sra. Leia Cerqueira (*in memorian*)

e familiares

Daniel Sandoval Cerqueira e Carola

Raul Sandoval Cerqueira e Renata

Flávia Sandoval Cerqueira e Rafael, pelo apoio e amizade.

À minha esposa Fabiana Fumi Sasaki

Pelos conselhos, apoio e dedicação.

Pela compreensão nos momentos difíceis.

Pela valorosa colaboração durante a realização deste trabalho.

e família

Sr. Kazunoshim Sasaki

Sra. Marta Sumico Awaiharu Sasaki

Flávio Kazuhiro Sasaki, pelo apoio e carinho.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por proteger e possibilitar a realização deste trabalho.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, pelas instalações.

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 do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudo (doutorado).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo no curso de doutorado.

Ao Prof. Dr. Angelo Pedro Jacomino, pela orientação, dedicação e compreensão, fundamentais na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo Alfredo Kluge, pela orientação e por disponibilizar a infra-estrutura e equipamentos de seu laboratório.

Aos professores do Departamento de Ciências Biológicas, especialmente aos professores Paulo Roberto de Camargo e Castro e Lázaro Eustáquio Pereira Perez pelos ensinamentos durante o exame de qualificação.

Ao professor Ben-Hur Mattiuz pelos valiosos comentários durante o exame de qualificação.

Ao pesquisador Dr. Adonai Gimenez Calbo da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), do Centro Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento de Instrumentação Agropecuária, pela contribuição fundamental na montagem do fluxcentro e pelos ensinamentos.

À família Kumagai especialmente a Senhora Regina, pelo fornecimento das goiabas ‘Kumagai’, para a realização dos experimentos.

Ao produtor de goiabas ‘Kumagai’ Sr. Massamitsu Matsui e família, pelo fornecimento de goiabas para a realização dos experimentos.

Ao produtor de bananas ‘Nanicão’ Sr. Francisco Valdemar Paschoal e família pelo fornecimento de bananas para a realização dos experimentos.

A Ana Raquel Soares, orientada pela profa. Lilian Amorin e Ivan Herman Fischer pelo auxílio com as análises fitopatológicas e valiosa troca de idéias.

Aos amigos do Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças, Meire, Patricia, Ana Elisa, Vanessa, Luiz, Renan, Marília, Gabriel, Carolina, Alexandra pelo convívio agradável, pelo auxílio nos experimentos.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita: Jaqueline, Juan, Silce, Mariana, Natália, Ivan, Maria Luiza, Fernando, Gabriela, Felipe.

Ao Lucas dos Anjos e Salete Aparecida Gaziola do Laboratório de Genética e Bioquímica de Plantas, pela ajuda com as metodologias para as determinações enzimáticas.

Aos amigos de graduação na ESALQ, sempre apoiando e incentivando.

Ao técnico de laboratório Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças Marcos Trevisan pelo auxílio e amizade.

À Maria Solizete Granziol Silva, secretária do PPG em Fisiologia e Bioquímica de Plantas pelo apoio e ajuda em questões burocráticas.

Às bibliotecárias da Divisão de Biblioteca e Documentação da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela atenção dedicada a revisão desta tese.

Aos funcionários do Depto de ciências biológicas, pela colaboração.

Aos funcionários do Depto de Produção Vegetal, pela colaboração.

Às pessoas que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho

Muito Obrigado.

"A ignorância afirma ou nega rotundamente, a Ciência duvida."

Voltaire

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 Cultura da banana.....	19
2.2 Cultura da goiaba.....	20
2.3 Amadurecimento.....	21
2.4 Colheita e pós-colheita.....	22
2.5 Respiração.....	24
2.6 Etileno.....	24
2.7 Oxigênio.....	26
2.8 Espécies reativas e sistema antioxidativo.....	28
2.9 Óxido Nitroso (N ₂ O).....	30
3 Experimento 1: Altas concentrações de O ₂	31
3.1 Material e métodos.....	31
3.2 Resultados e discussão.....	37
3.2.1 Banana.....	37
3.2.2 Goiaba.....	45
4 Experimento 2: Alto O ₂ associado ao CO ₂	54
4.1 Material e métodos.....	54
4.2 Resultados e discussão.....	55
4.2.1 Banana.....	55
4.2.2 Goiaba.....	64
5 Experimento 3: Alto O ₂ associado ao N ₂ O.....	71
5.1 Material e métodos.....	71
5.2 Resultados e discussão.....	72
5.2.1 Banana.....	72
5.2.2 Goiaba.....	81
6 Experimento 4: Avaliação bioquímica dos tratamentos.....	88
6.1 Material e métodos.....	88
6.2 Resultados e discussão.....	92

6.2.1 Banana.....	92
6.2.2 Goiaba.....	99
7 Considerações Finais.....	105
REFERÊNCIAS.....	107
ANEXOS.....	123

RESUMO

Fisiologia, bioquímica e conservação de bananas e goiabas sob altas concentrações de O₂ combinadas com CO₂ e N₂O

Atmosferas com altas concentrações de O₂, bem como atmosferas enriquecidas com N₂O têm sido sugeridas como alternativas para as atmosferas com baixo O₂ e alto CO₂. O armazenamento de frutos em atmosferas com alto CO₂ por um longo período pode ocasionar desordens fisiológicas. Além disso, existe pouca informação na literatura sobre os efeitos de altas concentrações de O₂ no metabolismo oxidativo em frutos. O N₂O é um gás de ocorrência natural, não tóxico descrito como um potente antagonista à produção e à ação do etileno. Este trabalho teve como objetivo estudar a influência da atmosfera controlada com altas concentrações de O₂ associadas ou não a CO₂ e N₂O sobre a fisiologia, o metabolismo oxidativo e o comportamento pós-colheita de bananas e goiabas. Bananas 'Nanicão' e goiabas 'Kumagai' foram submetidas aos tratamentos com atmosfera controlada em sistema de fluxo contínuo. Os frutos foram dispostos em câmaras sob o fluxo de 200 mL min⁻¹. Todos os tratamentos foram mantidos em câmara com temperatura controlada de 22°C. A umidade em torno dos frutos foi mantida em 95%UR. Os frutos foram avaliados quanto à qualidade, produção de CO₂, etileno e atividade enzimática. O alto O₂ acelerou o início da senescência em ambos os frutos. Porém, foram observadas diferenças entre a banana e a goiaba, sendo que na banana o pico climatérico e o processo de amadurecimento foram antecipados. Na goiaba, o efeito marcante foi a perda da cor verde da casca. Provavelmente, as respostas observadas estão diretamente relacionadas à influência do oxigênio no metabolismo do etileno e as capacidades antioxidantes da banana e goiaba. Quando o alto O₂ foi associado ao CO₂ e ao N₂O também foi verificada antecipação do início da senescência, porém foram verificadas diferenças entre os tratamentos com CO₂ e aqueles com N₂O. O alto O₂ associado ao CO₂ evitou a ocorrência de processos fermentativos mesmo nas concentrações mais elevadas de CO₂. Com relação ao N₂O, a associação deste gás ao alto O₂ não reteve o amadurecimento. Por outro lado, sua associação ao baixo O₂ permitiu aumento na vida pós-colheita de ambos os frutos, sem a ocorrência de processos fermentativos. Em relação ao metabolismo oxidativo a banana com alto O₂ desencadeou acúmulo de oxigênio reativo com conseqüente alteração na atividade das enzimas oxidativas, diferindo da goiaba na qual os teores de oxigênio reativo se mantiveram baixos durante todo armazenamento. Isso ocorre, provavelmente devido às diferenças na capacidade antioxidante entre estas frutas a qual é consideravelmente maior na goiaba.

Palavras-chave: Alto oxigênio; Óxido nitroso; Enzimas antioxidativas; Etileno;

ABSTRACT

Physiology, biochemistry and conservation of bananas and guavas at high concentrations of O₂ combined with CO₂ and N₂O

Atmospheres with high O₂ levels and N₂O enriched atmospheres have been suggested as an alternative to the atmospheres of low O₂ and high CO₂. Fruit storage under atmospheres with high CO₂ for a long period may develop physiological disorders. In addition, there is not enough information about the effects of high O₂ concentrations on fruits oxidative metabolism. N₂O is a gas present on nature, non-toxic described as a powerful antagonist to production and action of ethylene. This work aimed to study the influence of controlled atmosphere with high O₂ concentrations, associated or not to CO₂ and N₂O on the physiology, oxidative metabolism and post-harvest behavior of bananas and guavas. Bananas 'Nanicão' and guava 'Kumagai' were treated under continuous flow system. The fruits were placed into chambers under flow of 200 mL min⁻¹. All treatments were maintained in a chamber with controlled temperature of 22°C. The humidity around the fruits was kept at 95% UR. It was quality evaluated CO₂ and ethylene production and enzyme activity. The high O₂ accelerated the onset of senescence in both fruits. However, differences were observed between the banana and guava, banana anticipated the occurrence of the climacteric peak by changing all the variables related to maturity. The main effect observed over guavas was the loss of peel green color. Probably, the observed responses are related to oxygen effect on ethylene and antioxidant capacity of banana and guava. When the O₂ was associated with high CO₂ and N₂O was also observed an anticipation of the beginning of senescence, but differences were observed between CO₂ and N₂O treatments. The high O₂ associated with CO₂ prevented the occurrence of fermentative processes even at the highest concentrations of CO₂. The N₂O associations with high O₂ do not increase postharvest life too. On the other hand, the N₂O associations with low O₂ allow delay ripening process. In relation to oxidative metabolism at high O₂ banana triggered accumulation of reactive oxygen and consequent change in the activity of enzymes involved, differing from guava in which the levels remained low throughout storage. This is probably due to differences in the antioxidant activity of these fruits and which is considerably higher in guava.

Keywords: High oxygen; Nitrous oxide; Antioxidant enzymes; Ethylene

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1-MCP	1- Metilciclopropeno
ABTS	Radical 2,2' – azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
AC	Atmosfera controlada
ACC	Ácido aminociclopropano carboxílico
ACO	Ácido aminociclopropano carboxílico oxidase
APP	Aminoantipirina
APX	Enzima Ascorbato Peroxidase (E.C. 1.11.1.11)
AVG	Aminoetoxivinil glicina
BSA	Albumina de soro bovino
C ₂ H ₄	Etileno
CAT	Enzima Catalase (E.C. 1.11.1.6)
CO ₂	Gás carbônico
Cu	Cobre
CUPRAC	Capacidade antioxidante do íon cobre reduzido
DCFI	2,6-diclorofenol indofenol-sódio
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
DTNB	5,5' Ditiobis (2-Ácido Nitrobenzóico)
DTT	DL-Dithiotereitol
EDTA	Ácido Etileno Diamino Tetracético
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ETR1	Etilen-resistan 1
FADH ₂	Flavina adenina dinucleotídeo reduzido
Fe	Ferro
FRAP	Capacidade antioxidante do ferro reduzido
GDH	L-galactose desidrogenase
GLDH	L-galactono-1,4-lactona desidrogenase
GR	Enzima Glutationa redutase (E.C. 1.6.4.2)
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade (oxidação)

LOX	Enzima Lipoxigenase (E.C. 1.13.11.12)
Mn	Manganês
N ₂	Nitrogênio
N ₂ O	Óxido Nitroso
NADPH	Nicotinamida adenosina dinucleotídeo fosfato reduzida
NaOH	Hidróxido de sódio
NBT	Azul de p-nitro tetrazólio
O ₂	Oxigênio
ORAC	Capacidade de absorbância do radical oxigênio
PG	Enzima Poligalacturonase (E.C. 3.2.1.15)
pH	Potencial hidrogeniônico
PME	Enzima Pectinametilesterase (E.C. 3.1.1.11)
POD	Enzima Peroxidase (E.C. 1.11.1.7)
PPO	Enzima Polifenol oxidase (E.C. 1.14.18.1)
PVC	Policloreto de vinila
PVPP	Polivinil polipirrolidona
SAM	S-adenosil metionina
SOD	Enzima Superóxido dismutase (E.C. 1.15.1.1)
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TRAP	Potencial antioxidante total radical peroxila
Zn	Zinco

1 INTRODUÇÃO

O armazenamento sob atmosfera controlada visa principalmente diminuir a produção de etileno, a respiração, o amolecimento, as mudanças de cor e a manutenção das características organolépticas dos produtos. Entretanto, o armazenamento em atmosferas com alto CO_2 por longo período pode levar ao acúmulo de acetaldeído e etanol causando o desenvolvimento de odores desagradáveis, além de prejudicar o amadurecimento normal mesmo depois do vegetal ser removido do tratamento, além de desenvolver desordens fisiológicas (KE et al., 1991).

Atmosferas com elevado O_2 têm sido sugeridas como alternativa para as atmosferas com baixo O_2 e alto CO_2 . Em produtos minimamente processados, o alto O_2 mantém a qualidade e a segurança microbiológica (DAY, 1996). Alta concentração de O_2 combinado ou não ao alto CO_2 também é eficiente em prevenir o escurecimento enzimático e inibir o crescimento de bactérias e fungos em produtos processados (VAN DER STEEN et al., 2003). Morangos inteiros sob alto O_2 foram significativamente mais firmes e apresentaram menor incidência de podridões quando comparados aos tratamentos com baixo O_2 (ALLENDE et al., 2007).

Aumentar o nível de O_2 em torno da fruta, acima dos níveis atmosféricos, pode resultar em altos níveis de espécies reativas de oxigênio, as quais podem danificar os tecidos. Mas existe pouca informação do modo como o alto O_2 influencia o metabolismo dos frutos em pós-colheita bem como sua atuação sobre as enzimas antioxidantes no amadurecimento dos frutos.

O óxido nitroso (N_2O) é um composto de cadeia linear com algumas propriedades semelhantes ao CO_2 como, por exemplo, a solubilidade na célula, além disso, não é tóxico ao ser humano. O N_2O atua sobre a síntese e a ação do etileno de forma reversível (FATH et al., 1990).

Os benefícios do N_2O sobre produtos hortícolas têm sido estudados para cebola, frutos climatéricos como banana, abacate, caqui e tomate, como também para os não climatéricos como morango e tangerina. Contudo maiores estudos são necessários nestas e em outras frutas as quais também podem responder ao N_2O (PALOMER et al., 2005).

Embora a banana seja uma das principais frutas produzidas no Brasil esta não lidera as exportações de frutas para os países desenvolvidos, uma vez que o

mercado consumidor destes países é bastante exigente. O produto nacional, de modo geral, é desqualificado para os mercados europeu e norte-americano, pois não atende às exigências dos mesmos, principalmente em relação à qualidade pós-colheita.

A cultura da goiabeira é importante no contexto da fruticultura brasileira e encontra-se em crescente expansão. A maior parcela dos frutos produzidos é destinada à industrialização, entretanto, o mais significativo crescimento tem sido observado no mercado de frutas *in natura* (DURIGAN, 1997).

Este trabalho teve como objetivo estudar a influência da atmosfera controlada com altas concentrações de O_2 e sua associação ao CO_2 e ao N_2O sobre a fisiologia, o metabolismo oxidativo e o comportamento pós-colheita de bananas e goiabas.

2 REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura da banana

A banana (*Musa* spp.) é uma das frutas mais consumidas no mundo, sendo cultivada na maioria dos países tropicais (ALVES, 1999). O Brasil é o segundo produtor mundial com sete milhões de toneladas, sendo superado apenas pela Índia (IBGE, 2011).

Pertencente ao grupo genômico AAA, subgrupo Cavendish, o cultivar Nanicão é uma mutação do cultivar Nanica que ocorreu no Estado de São Paulo. Planta de porte médio, com mais ou menos 3 metros de altura, tem um pseudocaule vigoroso, de fundo esverdeado, com manchas marrom-escuras e pigmentação intensa. A extremidade final da ráquis apresenta uma leve curvatura em forma de S, e a sua parte masculina está coberta por brácteas persistentes. Produz cachos grandes com peso entre 23 a 45 kg, com 8 a 15 pencas, tem 12 a 31 frutos por penca, de 120 a 250 frutos por cacho, e o peso do fruto varia de 95 a 260 gramas (MANICA, 1998; ALVEZ, 1997).

É um fruto climatérico que apresenta alta atividade respiratória e alta produção de etileno após a colheita, o que o torna altamente perecível. Parte das transformações que ocorrem durante o amadurecimento resultam na diminuição da qualidade e da vida útil destes frutos após a colheita, durante o seu transporte e estocagem. Neste caso, um importante aspecto é a mudança da firmeza da polpa e o decréscimo da resistência a microrganismos que estão associados à deterioração do tecido (WHITE, 2002).

A pós-colheita da banana, conforme Thompson e Burden (1995) apresenta problemas como: a) susceptibilidade da fruta madura aos danos físicos durante o transporte e comercialização, devido aos constantes manuseios do cacho antes do despencamento, e das frutas nas embalagens; b) deterioração de bananas maduras devido ao ataque de fungos patogênicos, os quais se desenvolvem de infecções que podem ser estabelecidas antes ou após a colheita e c) desuniformidade no amadurecimento das frutas após a colheita, sob condições naturais.

As práticas de pós-colheita realizadas, muitas vezes, não são suficientes para garantir uma boa qualidade da fruta quando esta é comercializada em mercados mais distantes. Por tanto, o desenvolvimento e a adaptação de tecnologias como

atmosfera controlada e retardadores de amadurecimento permitirão aos produtores e empresários alcançarem melhores condições de competitividade nos mercados nacional e internacional (BOTREL et al., 2002).

2.2 Cultura da goiaba

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma planta da família das Myrtaceae, originária da América Tropical, cultivada no Brasil desde o Rio Grande do Sul até o Maranhão, destacando-se os Estados de São Paulo e Pernambuco.

A variedade de polpa branca mais cultivada é a Kumagai. Esta variedade foi obtida de uma seleção realizada na região de Campinas-SP, como resultado do cruzamento da goiabeira Australiana com a goiabeira IAC-4. Pode ser considerada uma planta de porte e vigor médios, com ramos longos, esparramados e de grande produtividade. Esta cultivar produz frutos grandes, com 180 a 300 gramas, oblongos, com casca lisa, de consistência firme e resistente. Os frutos quando maduros adquirem coloração verde-amarelada, apresentando polpa branca, de boa espessura, consistente, saborosa, levemente ácida, com a cavidade cheia e com poucas sementes (MANICA et al., 2000).

Os dados sobre fisiologia pós-colheita de goiabas são limitados e contraditórios. A maioria dos cultivares parece apresentar um padrão de respiração do tipo climatérico. Oliveira (1996) observou comportamento do tipo climatérico para goiaba branca “Kumagai”. Para Botelho (1996), esta seria uma característica varietal, podendo ocorrer cultivares climatéricas e não climatéricas. Chitarra e Chitarra (2005) consideram a goiaba como não climatérico. Azzolini et al. (2005) estudando o amadurecimento de goiabas ‘Pedro Sato’ verificou que estas não apresentam comportamento climatérico típico. Apesar da escassez de dados e da existência até mesmo de informações contraditórias a respeito da fisiologia pós-colheita da goiaba, algumas tecnologias disponíveis, quando devidamente adaptadas e utilizadas, poderão reduzir as perdas que de modo geral são muito altas neste produto.

A goiaba é uma excelente fonte de ácido ascórbico, apresentando teores de 80 a 372 mg 100 g⁻¹ (SEYMOUR; TAYLOR; TUCKER, 1993) e este teor é influenciado pela condição climática, temperatura, umidade do solo, condição de cultivo e variedade (CHITARRA, 1996).

2.3 Amadurecimento

O amadurecimento de frutas é acompanhado por uma série de processos físicos e bioquímicos que resultam em síntese e degradação de pigmentos, conversão de amido em açúcar, perda de firmeza, produção de voláteis (ANDREWS; LI, 1994). Inicialmente foi entendido como um processo exclusivamente catalítico, com perda do controle e da organização celular. Algumas décadas depois, estudos demonstram que o amadurecimento e os processos de senescência estão sob estreito controle genético (GRIERSON, 1987; GIOVANNONI, 2001).

No amadurecimento ocorrem reações de síntese e de degradação, sendo a energia liberada utilizada para várias atividades fisiológicas e para a manutenção da integridade celular. A energia é suprida por alguns processos degradativos, particularmente a hidrólise do amido. Uma grande demanda de energia ocorre no sistema para a continuação do processo, incluindo síntese protéica, síntese de etileno e compostos aromáticos, entre outros. As interações de mecanismos pelos quais essas mudanças são coordenadas ainda não são bem conhecidas. Uma das dificuldades é a distinção entre os fatores causadores e seus efeitos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

O etileno, apesar de não ser o único hormônio a atuar no processo, é considerado o principal 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 giberelinas e citocininas são possíveis inibidores do amadurecimento. Em frutos climatéricos o etileno é necessário para coordenar e completar o amadurecimento (GIOVANNONI, 2001).

O amadurecimento corresponde à fase final da maturação, na qual os frutos são transformados em produtos atrativos e aptos para consumo, sendo um processo normal e irreversível (RYALL; LIPTON, 1979). No caso da banana as mudanças relacionadas ao processo do amadurecimento ocorrem de forma marcante sendo que decorrido o pico climatérico ela adquire cor, odor e sabor característico da fruta madura.

Para a goiaba, a determinação da firmeza é uma forma prática de se avaliar o estágio de maturação do fruto. Dhingra; Gupta e Chundawat (1983) consideraram “verdes” as goiabas com firmeza de 85 Newtons (N) e “verde-amarelas” aquelas com firmeza entre 51 N e 66 N.

Segundo Mercado-Silva; Bautista e Garcia-Velasco (1998), a cor da casca é o melhor índice para indicar o estágio de maturação de goiabas. No entanto, deve-se ter cuidado com frutos que recebem maior incidência de raios solares, pois apresentam coloração mais intensa que os demais, dando uma falsa indicação do estágio de maturação (BLEINROTH et al., 1992). A coloração desta fruta é devida aos pigmentos, clorofila, caroteno, xantofila e licopeno (ADSULE; KADAM, 1995). Para Cavalini et al. (2006) as formas mais adequadas de avaliar a maturação de goiaba 'Kumagai' foram a cor da casca e a firmeza da polpa.

Na maioria dos frutos nota-se, ao longo do amadurecimento, aumento na doçura e diminuição na acidez, o que torna o teor de sólidos solúveis uma forma de medir indireta e objetivamente a doçura de um fruto. Em goiabas, a frutose compreende 59,93% açúcar, na variedade branca (MOWLAH; ITOO, 1982).

2.4 Colheita e pós-colheita

Para a colheita, é necessário determinar o estágio de maturação em que a fruta se encontra, pois a colheita realizada em momento inadequado influencia o comportamento das frutas em pós-colheita. Em bananas a colheita é realizada quando atingem a maturidade fisiológica, com a maturação comercial ocorrendo posteriormente.

A determinação do ponto de colheita, na prática, é influenciada pela experiência do produtor, identificando o melhor momento para a colheita dos cachos (COSTA, 1998).

Cuidados adequados na pré-colheita, na colheita e na casa de embalagem são fundamentais para o sucesso do transporte de bananas. Do total de bananas colhidas, somente 40 a 50% chegam efetivamente às mãos do consumidor. A banana é um fruto altamente perecível, extremamente sensível a danos e ao etileno. A banana, como praticamente todos os frutos tropicais, é sensível ao "chilling", dano fisiológico que se manifesta em resposta ao binômio tempo e temperatura. Exposições a temperaturas inferiores a 12°C por determinado tempo, causa escurecimento da casca, perda de sabor e aroma e fracasso no amadurecimento.

Para que a banana chegue com qualidade ao mercado de destino é fundamental que se mantenham condições adequadas de embalagem e refrigeração durante o transporte (MATSUURA; FOLEGATTI, 2001). Frutas do subgrupo Cavendish são as preferidas no mercado externo.

O início do amadurecimento de frutos climatéricos, como a banana, é marcado por um rápido aumento da taxa respiratória, desencadeado pelo aumento na síntese de etileno. Durante esse processo, várias modificações ocorrem nos frutos tais como: amaciamento da polpa, conversão de amido em açúcares simples, destruição da clorofila, perda de adstringência e desenvolvimento de sabor e aroma (THOMPSON; BURDEN, 1995).

Sgarbieri e Figueiredo (1971) estudando transformações bioquímicas da banana 'Nanica' amadurecidas sob diferentes condições, concluíram que as mudanças mais sensíveis foram em relação aos teores de sólidos solúveis, que aumentam rapidamente à medida que a fruta amadurece, reduzindo os teores de amido.

A banana colhida próximo ao seu completo desenvolvimento fisiológico amadurece de forma desuniforme. Para homogeneizar o lote e proporcionar um amadurecimento mais rápido dos frutos, utiliza-se o processo de climatização.

A climatização é um processo de amadurecimento de bananas em condições de temperatura e umidade controladas, utilizando-se gases ativadores da maturação. A maturação controlada consiste em colocar os frutos em câmaras herméticas, provocando o amadurecimento por meio da aplicação de gases ativadores de maturação. Entre os principais gases estão o etileno e o acetileno.

A aplicação do etileno acelera a taxa respiratória, causando a conversão de amido em açúcares solúveis e na casca a degradação da clorofila. O efeito do gás é constatado na fase pré-climatérica.

O etileno puro pode ser aplicado na câmara na proporção de 0,1%. Entretanto, considerando que o etileno é explosivo, é preferível usar misturas de nitrogênio e etileno. Para o Etil ou Azetil (95% N_2 + 5% C_2H_4) aplica-se 20 L.m³. O tempo de permanência varia de 24 a 48 horas, dependendo do cultivar, do estágio de maturação e do tempo entre a climatização e a comercialização do produto (MATSUURA; FOLEGATTI, 2001).

O estágio de maturação no momento da colheita determina a qualidade final da goiaba. Quando colhidos imaturos, além destes não apresentarem as características organolépticas desejáveis plenamente desenvolvidas, são muito susceptíveis às desordens fisiológicas. Por outro lado, quando colhidos muito maduros, entram rapidamente em senescência (BLEINROTH et al., 1985). Não existe uma padronização e um consenso do estágio de maturação ideal para a

colheita de goiabas. Estas normalmente são colhidas quando a polpa ainda está firme e a coloração da casca começa a mudar de verde-escuro para verde-claro ou começando amarelecer (MANICA et al., 2000).

2.5 Respiração

Na fase pós-colheita, a fotossíntese torna-se limitada e os órgãos de armazenamento, se maduros, utilizam suas reservas metabólicas para a manutenção das reações de síntese (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A respiração é um dos principais fatores determinantes do potencial de longevidade das frutas na fase pós-colheita e está intimamente ligada à temperatura e à concentração gasosa ao redor das mesmas (KADER, 1986; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os substratos da respiração em frutos são principalmente os açúcares, ácidos orgânicos e lipídios acumulados durante o desenvolvimento (TUCKER, 1993). Durante a respiração estas substâncias são oxidadas em moléculas mais simples (CO_2 e O_2), com produção de energia e esqueleto carbônico que podem ser utilizados em reações de síntese. A energia liberada está sob duas formas: calor e ATP (WILLS et al., 1998).

As várias reações acopladas à respiração são responsáveis pela síntese de inúmeros compostos tais como: pigmentos, compostos fenólicos e fitohormônios (PURVIS, 1997). A atividade respiratória provoca modificações profundas nos constituintes químicos, principalmente em condições não controladas, levando à rápida senescência do fruto, interferindo assim, na qualidade do mesmo (WILLS et al., 1981).

A atividade respiratória é influenciada por diversos fatores, com relação aos fatores internos, tem-se principalmente o estágio de desenvolvimento e a composição química dos tecidos. Tratando-se dos fatores externos ao fruto tem-se a temperatura, a composição atmosférica e danos causados durante o manuseio (PANTÁSTICO, 1975).

2.6 Etileno

O etileno é um fitohormônio atuante em diversas fases, como crescimento, desenvolvimento, amadurecimento e senescência. É conhecido como o hormônio do amadurecimento, principalmente em frutas climatéricas. A maioria das alterações

fisiológicas pós-colheita de frutos climatéricos é influenciada, direta ou indiretamente, pelo etileno. Para Lelièvre et al. (1997), o etileno pode promover diferentes respostas em função do estágio de desenvolvimento, das condições ambientais e da espécie ou mesmo da variedade.

Este fitohormônio, encontrado nos espaços intercelulares, é formado a partir do aminoácido metionina via SAM (S-adenosil L-metionina). O SAM é convertido à ACC (ácido 1-aminoacilciclopropano 1-carboxílico), sendo catalisado pela enzima ACC sintase. O ACC é então oxidado a etileno através da ação da enzima ACC oxidase, (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O etileno é biologicamente ativo em pequenas quantidades e seus efeitos são utilizados na agricultura (ABELES; MORGAN; SALTVEIT, 1992).

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 (*Ethylene-resistan 1*) (FLUHR; MATTOO, 1996). O etileno liga-se ao receptor ETR1, ou em suas múltiplas isoformas, que é uma proteína integral da membrana do retículo endoplasmático, formando um complexo ativado que desencadeia um processo de reação em cascata, e leva à modificação da expressão gênica, com conseqüentes respostas fisiológicas e bioquímicas.

Em alguns casos, o etileno estimula a síntese de antocianinas e carotenóides (RUGINI et al., 1982; STEWART; WHEATON, 1972), os quais são pigmentos vegetais que conferem cor azul, roxa, vermelha, laranja, e cores amarelas, alguns dos quais são fortes anti-oxidantes (WATADA, 1986). Da mesma forma, o etileno pode estimular a destruição da clorofila (SALTVEIT, 1999; WATADA, 1986).

O aumento da biossíntese de etileno durante o climatério é considerado o fator responsável pelo início do amadurecimento em frutos climatéricos (ABELES; MORGAN; SALTVEIT, 1992; BIALE, 1960; GRIERSON, 1987; MCGLASSON, 1985; OETIKER; YANG, 1995).

McMurchie; McGlasson e Eaks (1972) distinguiram dois sistemas de produção de etileno (sistema I e sistema II), os quais estão associados com a fase pré-climatérica e climatérica. O sistema I é responsável pelos baixos níveis de produção de etileno presente no pré-climatérico e na produção de etileno dos tecidos vegetativos e frutos não climatéricos (ABELES; MORGAN; SALTVEIT, 1992; KNEE, 1985; OETIKER; YANG, 1995).

A fase climatérica é decorrente do sistema II da biossíntese de etileno, no qual ocorre a produção autocatalítica. Segundo Vendrell e Palomer (1997), o aumento da produção autocatalítica de etileno se deve ao aumento da atividade da ACC sintase.

Para Abdi et al. (1998), a classificação dos frutos em climatéricos e não climatéricos é uma grande simplificação do processo de amadurecimento.

2.7 Oxigênio

A conservação de frutas e hortaliças em condições de atmosfera modificada e controlada compreende o armazenamento realizado sob composição gasosa diferente daquela presente na atmosfera do ar normal (LANA; FINGER, 2000). Atmosfera controlada significa manter os gases sob a concentração adequada durante o período de armazenamento.

Oxigênio em alta concentração, acima de 70%, tem sido indicado como uma alternativa à atmosfera modificada e controlada convencional. Na conservação de frutas e vegetais o alto O_2 tem efeito inibitório sobre o crescimento de bactérias, leveduras e fungos e previne a fermentação (ALLENDE et al., 2002).

Segundo Kader e Ben-Yehoshua (2000) a exposição a altas concentrações de O_2 , pode estimular, não ter efeito ou reduzir as atividades respiratórias e a produção de etileno, dependendo do produto, maturação, estágio de amadurecimento, concentração de O_2 , tempo de estocagem, temperatura e concentrações de etileno e CO_2 existente na atmosfera.

Mudanças no metabolismo oxidativo ocorrem geralmente em plantas, em resposta à mudanças nas condições ambientais (LICHTENTHALER, 1996). Por exemplo, baixa temperatura (PRASAD et al., 1994) e altas concentrações de O_2 em torno da fruta podem resultar no acúmulo de H_2O_2 . Este composto é reativo e causa peroxidação lipídica e desnaturação protéica (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Para prevenir tais danos, as plantas são equipadas com muitos sistemas antioxidantes, enzimáticos ou não, de defesa. Entre os não enzimáticos, os quais são geralmente pequenas moléculas, encontram-se os ascorbatos, que destroem os peróxidos. O sistema enzimático envolve uma larga gama de enzimas antioxidantes como: SOD (superóxido desmutase); CAT (catalase); APX (ascorbato peroxidase); GR (glutathione redutase).

Atmosfera controlada tem sido indicada como um bom método para aliviar o “chilling” em pêssegos. Sabe-se que aumentar o O₂ em torno da fruta pode resultar em altos níveis de espécies reativas de oxigênio, as quais podem danificar os tecidos. Mas ainda não está esclarecido como o alto oxigênio pode melhorar ou agravar o “chilling” e existe pouca informação sobre os efeitos do alto O₂ em atmosfera controlada e nas enzimas pro e antioxidantes, tais como LOX, SOD, CAT e POD e malondialdeído, peroxidação lipídica.

Wang; Tian e Xu (2005) verificaram que em pêssegos cv. Okubao o “chilling” irreversível aconteceu após 45 dias de estocagem a 0°C + 3 dias a 20°C. Durante o desenvolvimento do “chilling” irreversível nos pêssegos do controle as atividades das enzimas SOD, CAT e POD bem como a integridade da membrana diminuíram significativamente. A peroxidação aumentou gradualmente, enquanto que a atividade da LOX aumentou rapidamente. Ao contrário, os pêssegos armazenados em atmosfera controlada mantiveram por um tempo maior a atividade das enzimas SOD, CAT e POD, mantiveram a integridade da membrana e retardaram a atividade da LOX após o armazenamento refrigerado. Desta forma a diminuição da SOD, CAT, e POD combinada com aumento da LOX pode ter contribuído para o “chilling”. Assim a efetividade da atmosfera controlada em atrasar a ocorrência do “chilling” pode ser resultado do atraso na redução das atividades das enzimas antioxidantes durante os primeiros 30 dias.

Nos últimos anos, o tratamento com alto O₂ foi considerado como efetivo em inibir descoloração enzimática, prevenir reações da fermentação anaeróbica e limitar o crescimento de microorganismos aeróbios e anaeróbios (DAY, 1996).

O longan (*Dimocarpus longan* Lour.) tem como problema principal o escurecimento da casca e o apodrecimento. Tian et al. (2002) verificaram que o tratamento com 70% de O₂ foi o mais efetivo para reduzir a produção de etanol, manter o pH da casca baixo, inibir a atividade da PPO, prevenindo o escurecimento da casca. Além disso, o tratamento associado com 15% de CO₂ foi o mais efetivo em reduzir podridões e aumentar a vida pós-colheita.

Segundo Deng; Wu e Li (2005), alto O₂ retardou a perda de firmeza das uvas. Estes resultados foram similares ao encontrados para “sweet cherries”, cenouras minimamente processadas, morangos e fatias de maçã. Neste estudo, a diminuição da firmeza em todas as condições de estocagem foi acompanhada por drástica diminuição das hemiceluloses, moderada da celulose e das pectinas totais. Uvas

armazenadas em alto O_2 retiveram a firmeza, coincidindo com uma alta retenção dos polissacarídeos da parede celular, especialmente as hemiceluloses. O aumento da pectina solúvel é normalmente descrita devido à ação da poligalacturonase (PG) associada à pectinametilesterase (PME) e várias glicosidases. O baixo nível de pectina solúvel em alto O_2 correlacionou com o atraso no amolecimento e na atividade das enzimas PG, PME, β -Galactosidase.

Estes resultados sugerem que o alto O_2 pode inibir a atividade de enzimas reduzindo a degradação e a despolimerização das substâncias pécticas. Exposição ao alto O_2 pode reduzir a atividade respiratória e a produção de etileno. Ao mesmo tempo, alto nível de CO_2 atua como competitivo ao etileno. Assim, a diminuição da produção de etileno deve reduzir a atividade da ACC oxidase, devido ao fato do O_2 juntamente com o CO_2 serem co-substratos da enzima. Isto sugere que a inibição de alto O_2 para a atividade da PG é dependente da supressão da biossíntese do etileno (DENG et al., 2005).

2.8 Espécies reativas e sistema antioxidativo

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são subprodutos do metabolismo celular produzidos principalmente por organelas com intensa atividade metabólica como mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (DAT et al., 2000).

Os principais locais de geração de superóxidos são a cadeia transportadora de elétrons e como subproduto da atividade da lipoxigenase (HODGES, 2003).

A natureza reativa das EROs as torna potencialmente danosas às organelas celulares que podem ocasionar distúrbios metabólicos e até mesmo a morte celular (VAN BREUSEGUEM et al., 2001).

Para evitar o acúmulo de radicais livres e reparar o dano oxidativo, os vegetais desenvolveram um complexo sistema de remoção de EROs (NOCTOR; FOYER, 1998). Esse sistema protetor pode ser dividido em tres classes: lipossolúveis (tocoferol e o β – caroteno); hidrossolúveis (ascorbato e glutathione) e enzimático (SOD, CAT, APX, GR). E outras substâncias que participam na remoção das EROs como fenóis, poliaminas, entre outras (ROBARDS et al., 1999).

Pertencentes a classe dos lipossolúveis os tocoferóis possuem uma cauda hidrofóbica localizada na membrana associada com cadeia acil com ácidos graxos que fazem uma interface entre a membrana e o citossol. Pelo fato dos tocoferóis

estarem localizados nas membranas da célula e organelas permite a inibição dos danos oxidativos ocasionados por EROs.

Carotenóides são reconhecidos principalmente por suas funções no processo fotossintético, mas também são potentes antioxidantes sendo que mesmo em pequenas concentrações conferem boa proteção aos lipídeos das membranas (LARSON, 1988).

Na classe dos hidrossolúveis a glutathione existe em duas formas nos tecidos vegetais reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) (RENNENBERG, 1982). A GSH reage com as EROs para prevenir a oxidação e desestabilização de enzimas. Uma vez oxidada a glutathione pode ser regenerada pela enzima glutathione redutase, enzima chave no ciclo ascorbato-glutathione.

Ascorbato é fundamental na prevenção dos danos oxidativos sendo convertido a dehidroascorbato. O ciclo ascorbato-glutathione ocorre nos cloroplastos para proteger contra EROs geradas pela fotossíntese, mas também ocorre na mitocôndria e no citoplasma (MULLINEAUX et al., 1996).

No caso do sistema antioxidante enzimático, as SODs são um grupo de metaloenzimas (Fe, Mn ou Cu/Zn) que protegem a célula dos radicais superóxidos catalizando a dismutação em oxigênio e peróxido de hidrogênio.

A catalase é uma proteína tetramérica porfirídica que faz a dismutação do peróxido de hidrogênio para água e oxigênio. O peróxido de hidrogênio produzido pela SOD é eliminado pela CAT e pela POD. As catalases não necessitam de equivalente redutor para sua atividade e são responsáveis pela remoção de excesso de H_2O_2 gerado durante a situação de estresse.

As PODs vegetais são glicoproteínas caracterizadas pela presença de cadeias de oligossacarídeos ligadas a proteína (HU; VAN HUYSTEE, 1989). A peroxidase faz parte de um grupo de enzimas conhecidas como oxiredutases promovendo inúmeras reações.

As PODs são importantes enzimas das plantas e estão envolvidas em diversas reações, ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa de patógenos, regulação da elongação de células entre outras (GASPAR et al., 1982; KAO, 2003).

As peroxidases dependentes do ascorbato (APX) possuem grande afinidade pelo H_2O_2 sendo responsáveis pela remoção de espécies reativas em locais inacessíveis à catalase (SCANDALIOS, 1994).

2.9 Óxido nitroso (N_2O)

O N_2O existe naturalmente na atmosfera sendo produzido principalmente por bactérias desnitrificantes do solo e possui propriedades biofísicas tais como: estabilidade relativa, alta solubilidade e estrutura linear, similares ao CO_2 o qual é conhecido por inibir desenvolvimento de fungos (EL-GOORANI; SOMMER, 1981). Também tem sido demonstrado como inibidor da síntese e da ação do etileno em plantas (LESHEM; WILLS, 1998).

O N_2O não é tóxico, é utilizado por médicos como anestésico e é permitido como aditivo para alimentos. Seus efeitos ainda são pouco conhecidos em frutas.

Sabe-se que o N_2O se liga a lipídios e proteínas como a citocromo C oxidase, inibindo sua atividade na mitocôndria em sementes, folhas e suspensões celulares, causando diminuição no consumo de oxigênio, sendo este efeito parcial e reversível (SOWA; TOWILL, 1991). A solubilidade do N_2O na célula é alta aproximadamente 77%, contudo sua absorção é completamente reversível (GOUBLE; FATH; SOUDAIN, 1995).

De acordo com Sowa e Towill (1991), N_2O causa uma reversível, dose-dependente, inibição parcial da utilização do oxigênio pela mitocôndria isolada em culturas de suspensão celulares de grama *Distichlis spicata*. Sowa et al. (1987) publicou que a respiração de partículas de sementes de feijão foi estimulada por baixos níveis de N_2O , enquanto que altas concentrações foram inibidoras.

O N_2O afeta o etileno tanto no sistema 1 quanto no sistema 2. Para o sistema 1 ocorre a formação de um complexo N_2O -Etileno. Para o sistema 2 ocorre inibição das enzimas de produção auto-catalítica (ACC sintase e oxidase) (PALOMER et al., 2005).

3 Experimento 1: Altas concentrações de O₂

Foram conduzidos experimentos com aplicações de misturas gasosas contendo nitrogênio e altas concentrações de O₂, em banana e goiaba, visando avaliar o efeito isolado do alto O₂ sobre estas espécies de frutos. Como padrão para comparação além dos frutos do tratamento controle foi aplicado o tratamento com 10% de oxigênio.

3.1 Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ-USP, em Piracicaba-SP.

Fluxocentro

Para a execução da pesquisa de armazenamento em atmosfera controlada utilizou-se um equipamento denominado fluxocentro ou “flowboard”. Este sistema permite que gases puros contidos em cilindros sob alta pressão sejam misturados e injetados no interior de recipientes contendo produtos hortícolas, sob fluxo e composição pré-determinados. Baseado no fluxocentro desenvolvido por Calbo (1989) para sistemas abertos realizou-se a montagem de um sistema de fluxo contínuo, com maior economia de gases. Sua montagem tem como partes principais: válvulas usadas em botijões de gás de cozinha (válvulas diferenciais) adaptadas para permitir o ajuste da pressão, recipiente para umidificação dos gases e capilares de tubos de cobre para controlar os fluxos e produzir as misturas desejadas (CERQUEIRA et al., 2009a).

As adaptações realizadas possibilitam a aplicação de gases sem perdas desnecessárias. As válvulas diferenciais substituem o barostato de coluna de água, eliminando a perda de gases. O barostato tem a função de manter o sistema com pressão constante de 60 cm de coluna d’água (CALBO, 1989; CLAYPOOL; KEEFER, 1942). Este modelo de regulador de pressão por borbulhamento de gás é preciso, porém requer a liberação de parte do gás para atmosfera e elevando consumo dos gases.

O fluxo laminar do gás que eflui de cada capilar é proporcional à diferença entre a pressão na entrada do capilar e a pressão na saída do capilar. Como a pressão na saída do capilar é praticamente igual à pressão ambiente, então, a diferença de pressão é igual à pressão de saída das válvulas diferenciais (60 cm de

coluna de água). Este ajuste de pressão de gás é obtido aplicando-se esta diferença de pressão na referência da válvula diferencial de cada gás. Esta pressão de referência é obtida por um sistema de molas adaptado às válvulas. Com este sistema obtém-se de cada um dos misturadores de gases composições de atmosfera controlada ajustadas para uso em diferentes aplicações tecnológicas.

Em cada linha de passagem dos gases acoplou-se umidificadores, construídos com garrafas plásticas, contendo água destilada. Envolveu-se a mangueira por onde ocorre a entrada de gás no interior da garrafa com uma toalha porosa felpuda e hidrofílica que se manteve umedecida embebendo-se por capilaridade na água contida na base da garrafa.

As mangueiras, no interior da garrafa não entram em contato direto com a água no interior da garrafa, a conexão entre a ponta da mangueira e a água ocorre pela membrana porosa, metade suspensa e outra metade em contato permanentemente com a água.

Depois de umidificados, os gases são conduzidos até o painel do fluxocentro, em linhas individuais chegando à válvula diferencial onde o excesso de pressão é retido. Da saída da válvula diferencial o gás é conduzido para a bifurcação universal conectada ao manômetro e ao distribuidor de gás.

Antes de chegar às caixas contendo os frutos, o gás passa por um capilar de cobre onde é estabelecido o fluxo. Os capilares foram previamente preparados mediante a deformação dos tubos, causando uma restrição até obter o fluxo desejado. Injetou-se a mistura gasosa em câmaras herméticas, onde os produtos foram armazenados (ZAGORY; KADER, 1988).

Material vegetal

As bananas utilizadas foram da variedade Nanicão, grupo Cavendish, provenientes de um cultivo comercial do município de Piracicaba-SP. Foram utilizados lotes uniformes de frutos de tamanho médio, sem defeitos, colhidos no ponto de colheita comercial, com a casca ainda verde, quando a fruta se apresenta sem quinas agudas aparentes (CEAGESP, 2005). As bananas foram separadas das pencas, utilizando-se os “dedos” individuais, com massa média em torno de 125 g cada. As bananas utilizadas não foram submetidas a aplicação de etileno, ou seja, ao processo de climatização.

As goiabas utilizadas foram da variedade Kumagai, provenientes de produtores comerciais do município de Campinas-SP. Foram utilizados lotes

uniformes de goiabas de tamanho médio, sem defeitos, colhidas no estágio 2 de maturação (CAVALINI et al., 2006), quando a cor da casca começa mudar de verde-escuro para verde-claro, com ângulo hue de 117° e massa média em torno de 300 g.

Experimento

Os frutos das duas espécies foram submetidos aos tratamentos de atmosfera controlada, em temperatura ambiente ($22\pm 2^\circ\text{C}$). A atmosfera controlada em fluxo contínuo foi obtida por sistema de fluxocentro baseado em Calbo (1989) com adaptações conforme descrito anteriormente. Foi utilizado fluxo final constante de 200 mL min^{-1} , em todos os tratamentos.

Para compor as misturas gasosas, utilizaram-se gases provenientes de cilindros (White Martins Ltda.) contendo separadamente O_2 e N_2 com 99,99% de pureza. Para o controle utilizou-se fluxo de ar fornecido por compressor odontológico marca Schulz modelo MSV 6/30 L.

Após recepção e seleção dos frutos as caixas foram fechadas iniciando-se a aplicação dos gases de forma que a atmosfera com as concentrações desejadas foi obtida após 60 a 120 minutos. Foram dispostos 12 frutos por caixa de PVC de 15 L com tampa de acrílico.

Todas as caixas foram mantidas em câmara com temperatura controlada de $22\pm 2^\circ\text{C}$. O controle de umidade foi realizado diretamente na linha do gás, como descrito anteriormente. A umidade no interior das câmaras contendo os frutos permaneceu próxima a $95\pm 2\%$ UR. A perda de massa fresca foi monitorada, pela pesagem dos frutos e ao final do armazenamento foram observados valores inferiores a 0,5%, não significativos para nenhum dos frutos estudados.

Realizou-se o monitoramento da composição gasosa diariamente, coletando-se amostras de gás do interior das câmaras, pela abertura de saída, com analisador de gases marca PBI-Dansensor, modelo Check Mate, o qual retira aproximadamente 2 mL de gás por amostragem.

Os tratamentos de O_2 em bananas e goiabas foram:

- a) Controle (Fluxo de ar)
- b) 60% O_2 + 40% N_2
- c) 80% O_2 + 20% N_2
- d) 100% O_2 + 0% N_2
- e) 10% O_2 + 90% N_2

Comparativamente aos tratamentos com alto O_2 , além do tratamento controle também foi aplicado o O_2 na concentração de 10% (padrão) como forma de avaliar as frutas sob tratamento com baixo O_2 .

Determinações realizadas:

Coloração da casca: determinada com colorímetro Minolta, modelo CR-300, com a seguinte configuração: sistema de cor $L^* C^* h^\circ$, iluminante D65 e observador padrão 2° . Para a banana foram realizadas 4 leituras por fruto em lados opostos em pontos eqüidistantes do centro. No caso da goiaba foram realizadas 2 leituras por fruto, em lados opostos, na região equatorial. Os resultados foram expressos em ângulo de cor (h°), de acordo com McGuirre (1992);

Avaliação visual da cor da casca: Os frutos foram comparados visualmente com escala baseada na coloração da casca (Figura 1). Para a banana utilizou-se uma escala de classificação comercial de bananas (CEAGESP, 2005). A escala possui 8 estádios de coloração, sendo: 1 - totalmente verde; 2 - verde com traços de amarelo; 3 - mais verde do que amarelo; 3,5 - metade verde metade amarelo; 4 - mais amarelo do que verde; 5 - amarelo com pouco verde e pescoço verde; 6 - totalmente amarela; 7 - totalmente amarelo com manchas marrons. Para a goiaba foi utilizada uma escala de 5 estádios de coloração, sendo: 1 - transição do verde escuro para o verde claro; 2 - aparecimento de regiões amarelas; 3 - metade verde metade amarelo; 4 - predomínio da cor amarela sobre a cor verde; 5 - totalmente amarelo intenso (Figura 1).

Figura 1 - Escala de notas: A - goiaba 'Kumagai' e B - banana 'Nanicão' (CEAGESP, 2005), para comparação da coloração da casca das frutas durante o armazenamento

Teores de sólidos solúveis (SS): Foi realizada a completa trituração da polpa para ambos os frutos, no caso da goiaba foi utilizado uma centrífuga processadora doméstica de alimentos. Para a banana utilizou-se um mini processador Black & Decker (HC21) com lâminas de aço, em seguida determinou-se o teor de sólidos solúveis por leitura direta em refratômetro marca Atago, modelo Pallette -101 e os resultados expressos em °Brix;

Acidez titulável (AT): determinada de acordo com metodologia descrita por Carvalho et al. (1990), onde 10 g de amostra triturada foram colocadas em 90 mL de água destilada, sendo efetuada titulação potenciométrica com NaOH 0,1 N até pH 8,10. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido málico para banana e porcentagem de ácido cítrico para goiaba;

Firmeza da polpa: determinada com penetrômetro digital, ponteira de 8 mm marca Sammar 85261.0472 TR, tomando-se duas leituras por fruta em lados opostos de sua região equatorial, após a retirada da casca e os resultados expressos em Newton.

Teor de ácido ascórbico: determinado por titulometria, de acordo com metodologia descrita por Carvalho et al. (1990), através da redução do indicador 2,6-diclorofenol indofenol-sódio (DCFI) pelo ácido ascórbico. Foram pesadas 10 g de amostra e colocada em erlenmeyer contendo 50 mL de solução de ácido oxálico (1%). A titulação foi efetuada com DCFI (0,02%) até atingir a coloração rosada persistente por 15 segundos. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g de polpa;

Incidência de podridão: Foi avaliada visualmente contando-se o número de frutos com presença de podridão, contendo lesões com diâmetro superior a 0,5 cm.

Para goiaba também foram conduzidas análises em parceria com o departamento de fitopatologia ESALQ/USP.

Produção de CO₂ e etileno Os frutos foram colocados em frascos de vidro de 8 L com tampas contendo duas perfurações, uma para a entrada da composição gasosa e outra para a saída dos gases (sistema aberto). Foram utilizados aproximadamente 0,55 kg de banana e 1,0 kg de goiaba em cada frasco. Foram coletadas amostras 1,0 mL de gás (seringa Gastight, Hamilton de 2,5 mL) na entrada e na saída do frasco, as quais foram injetadas em cromatógrafo a gás (Thermoquest GC Trace 2000) com coluna, metanador e detector de ionização de chama (FID). No caso do etileno as amostras foram injetadas em uma via sem metanador. A produção de CO₂ e etileno foram calculados pela fórmula descrita por Kays (1991):

$$\text{CO}_2 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1} = ((\text{ppm CO}_2 \text{ saída} - \text{ppm CO}_2 \text{ entrada}) \times ((\text{fluxo (mL min}^{-1}) \times 60) \times 10^{-6}) / \text{massa (kg)})$$

$$\text{C}_2\text{H}_4 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1} = ((\text{ppm C}_2\text{H}_4 \text{ saída} - \text{ppm C}_2\text{H}_4 \text{ entrada}) \times ((\text{fluxo (mL min}^{-1}) \times 60) \times 10^{-6}) / \text{massa (kg)})$$

Delineamento experimental

As avaliações visuais de cor da casca e incidência de podridões foram realizados a cada 5 dias para banana e a cada 4 dias para goiaba, com os frutos dentro da câmara de armazenamento.

As avaliações de ângulo de cor da casca (hue), teor de sólidos solúveis, firmeza da polpa, acidez titulável e ácido ascórbico foram realizadas no primeiro dia,

para a caracterização dos frutos, e no último dia de armazenamento. As bananas foram tratadas por 15 dias e as goiabas por 8 dias.

As determinações das produções de CO_2 e C_2H_4 foram realizadas diariamente.

O delineamento foi I.C. Cada tratamento foi constituído de 4 repetições de 3 frutos para as análises físicas e químicas. Para as determinações das produções de CO_2 e C_2H_4 utilizou-se 3 frascos, sendo cada frasco 1 repetição.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (teste F) e em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Em caso de interação significativa foi realizado o desdobramento dos fatores dentro dos tratamentos (programa estatístico SAS Institute).

3.2 Resultados e discussão

3.2.1 Banana

Os resultados das avaliações visuais da cor da casca revelaram a influência das concentrações de O_2 na mudança da cor verde para amarelo (Figura 2). Nas bananas dos tratamentos 60, 80 e 100% O_2 (alto O_2) o amarelecimento da casca se iniciou mais rapidamente. No 10º dia de armazenamento estas obtiveram notas entre 3,5 e 4 enquanto que as bananas do controle receberam nota 1,7. No 15º dia tanto as bananas dos tratamentos controle quanto as dos tratamentos com alto O_2 apresentavam-se amarelas e obtiveram notas entre 6 e 7. Por outro lado, aquelas do tratamento com o 10% O_2 receberam nota 2 no 10º dia e nota 3,5 no 15º dia de armazenamento (Figura 2).

Os resultados para esta variável mostraram que ao elevar os níveis de oxigênio acima dos valores encontrados no ar atmosférico (20,9%) ocorreu uma rápida perda da cor verde da casca das bananas 'Nanicão'. Quando o nível de oxigênio foi reduzido a 10% ocorreu um retardo na perda da cor verde. Esse retardo também foi observado por outros autores (SANTOS et al., 2006; WILLS et al., 1982).

A elevação na concentração de O_2 na atmosfera de armazenagem das frutas pode ocasionar uma aceleração no metabolismo respiratório, como também, promover a produção de EROs, potenciais causadoras de danos às células,

causando uma antecipação do amadurecimento e dos processos de senescência (YANG; ZHENG; CAO, 2009).

Figura 2 - Cor da casca de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C. Sendo 1 - casca verde e 7 - casca totalmente amarela com pintas marrons

A cor da casca, expressa em ângulo de cor (h°), constitui-se numa medida objetiva da mudança de cor de verde para amarelo, onde 180° representa cor totalmente verde e 90° cor totalmente amarela.

As bananas chegaram ao laboratório com ângulo de cor de 117° (casca verde) e ao final dos tratamentos, aos 15 dias, aquelas tratadas com 10% O₂ apresentaram valores de 101° diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos com alto O₂ e controle que apresentaram valores entre 86° e 90°, respectivamente (casca amarela) (Figura 3).

A mudança de coloração nos vegetais colhidos é uma das transformações mais intensas no que se refere ao amadurecimento. A clorofila contida nos tilacóides da casca do fruto se degrada rapidamente durante o amadurecimento. As mudanças de coloração são resultantes principalmente da degradação da clorofila, mas também é resultado da síntese e interação com pigmentos como carotenóides e antocianinas (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

No caso da banana a coloração amarela é plenamente revelada após a ocorrência do pico climatérico. A ACC oxidase da polpa é o fator chave para iniciar a

produção de etileno autocatalítico. O aumento acentuado da produção de etileno no início do amadurecimento dos frutos climatéricos é considerado como controlador da iniciação das mudanças na cor e outros atributos do fruto (LUCENA et al., 2004).

Zheng et al. (2008) verificaram que o ângulo de cor (hue) em mirtilos (*Vaccinium corymbosum*) aumentou de forma significativa durante o armazenamento entre 60 a 100% de O₂ em relação ao controle. Diferindo do observado para cerejas (*Myrica rubra*) e morangos (*Fragaria ananassa*).

Figura 3 - Ângulo de cor de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Dia zero = 117°

As bananas submetidas ao alto O₂ apresentaram ao final do armazenamento valores de sólidos solúveis entre 21° a 23 °Brix, não diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) entre si. As bananas do controle embora tenham apresentado diferença estatística ($p \leq 0,05$) dos demais tratamentos com alto O₂, na prática, esta diferença não foi relevante, pois foi inferior a 1 °Brix (Figura 4).

Por outro lado, as bananas do tratamento com 10% O₂ apresentaram valores de 7 °Brix, diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) dos demais tratamentos no 15º dia de armazenamento. As bananas deste tratamento, provavelmente, encontravam-se no início da conversão do amido para açúcares solúveis, período pré-climatério, no qual os hormônios podem inibir as enzimas de degradação do amido, sugerindo um atraso na ocorrência do pico climatérico.

A banana, fruto desenvolvido por partenocarpia, faz parte da classe climatérica e tem como principal fonte de carbono o amido, que durante o climatério é reduzido de teores que variam de 12 a 20%, a menos de 1% quando a fruta está madura (MOTA, 1997). Concomitante à hidrólise do amido, o teor de sacarose

aumenta até 12 vezes podendo chegar a 16%, com concentrações finais variando de acordo com o cultivar (CORDENUNSI; LAJOLO, 1995; MOTA, 1997).

Segundo Pesis et al. (2001), a conversão de amido em açúcares solúveis é uma das principais transformações químicas que ocorrem no amadurecimento da banana. O acúmulo de açúcares durante o amadurecimento a torna doce e apreciável.

A conversão de amido em açúcares, com consequente acúmulo de sólidos solúveis totais, consiste num importante evento durante o amadurecimento de bananas, responsável por modificações desejáveis, no seu sabor e textura (VILAS-BOAS et al., 2001).

Os sólidos solúveis representam os compostos solúveis em água presentes nos frutos, como açúcares, vitaminas, ácidos, aminoácidos e algumas pectinas. É dependente do estágio de maturação no qual o fruto é colhido e geralmente aumenta durante o amadurecimento pela biossíntese ou degradação de polissacarídeos complexos (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

Rossetto; Lajolo e Cordenunsi (2004) verificaram que alterações no metabolismo dos carboidratos estão relacionadas às enzimas que degradam o amido e que em banana, alterações na produção de etileno e CO_2 não estão diretamente relacionadas ao metabolismo dos carboidratos.

Figura 4 - Teor de sólidos solúveis de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O_2 a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 4 °Brix

Os teores de acidez titulável aumentaram para todos os tratamentos quando comparados à caracterização. Segundo Bleinroth (1985) e Botrel et al. (2002) a

banana no estágio verde caracteriza-se por apresentar baixa acidez que aumenta no decorrer do amadurecimento.

As bananas do controle e dos tratamentos com 80% e 100% O₂ possuíam maior acidez titulável no 15º dia, entre 0,42 a 0,47 g 100g de polpa⁻¹, diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos com 60% e 10% O₂ que apresentaram valor de 0,34 g 100g de polpa⁻¹ (Figura 5).

Os ácidos orgânicos são utilizados como substratos para os processos respiratórios, principalmente no ciclo dos ácidos tricarboxílicos (BRODY, 1996). O tratamento com 10% O₂ provavelmente restringiu o amadurecimento o que deve ter proporcionado um menor incremento, mantendo os baixos teores observados.

Figura 5 - Acidez titulável de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Dia zero = 0,24 g 100g de polpa⁻¹

O teor de ácido ascórbico aumentou em todos os tratamentos durante o armazenamento. Embora não tenha sido observada diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos, aquele com 10% O₂ apresentou o maior teor de ácido ascórbico no 15º (Figura 6).

O ácido ascórbico é um potente antioxidante com a capacidade de eliminar diferentes espécies de oxigênio reativo, atuando também como co-fator e possibilitando a atividade de várias enzimas (ARRIGONI; DE TULLIO, 2002). Com a oxidação, o ácido L-ascórbico é convertido ao ácido L-dehidroascórbico e finalmente a ácido 2,3-diketogulônico (HERNANDEZ; LOBO; GONZÁLEZ, 2006).

A metodologia de determinação do ácido ascórbico utilizada permite avaliar apenas sua forma reduzida. Além disso, quando comparada com outros frutos, a banana 'Nanicão' possui baixo teor de ácido ascórbico possibilitando que qualquer

perda ocorrida seja significativa. Desta forma, os tratamentos com alto O_2 e o controle apresentaram tendência a valores mais baixos que o tratamento com 10% O_2 .

Figura 6 - Teor de ácido ascórbico de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O_2 a $22\pm 2^\circ C$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = $1,17 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$

A firmeza da polpa diminuiu em todos os tratamentos ao longo do armazenamento. Os tratamentos com alto O_2 apresentaram os menores valores de firmeza da polpa. O tratamento com 10% O_2 apresentou a maior retenção da firmeza da polpa até o 15º dia (15 N), diferindo significativamente dos demais ($p\leq 0,05$) (Figura 7).

O período pós-climatério proporciona uma diminuição da firmeza da polpa intimamente relacionada com a perda de integridade da parede celular e principalmente com a degradação do amido e a perda do turgor celular (TUCKER, 1993). A maior firmeza observada no tratamento com 10% O_2 deve estar relacionada a um atraso no pico climatérico.

Figura 7 - Firmeza da polpa de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Dia zero = 49 N

Realizou-se a determinação da produção de CO₂ e etileno dos tratamentos 80% O₂ e controle (Figura 8). Verificou-se que o alto O₂ antecipou o pico climatérico quando comparado as bananas do controle. A máxima produção de etileno ocorreu no 10º dia para as bananas tratadas com 80% O₂ e no 11º para aquelas do controle. As máximas produções de CO₂ ocorreram 2 a 3 dias após o climatério do etileno, em ambos os tratamentos. Esse resultado ratifica o observado em outras variáveis discutidas anteriormente, mostrando que os tratamentos com alto O₂ anteciparam o pico climatérico e consequentemente o amadurecimento das bananas.

Figura 8 - Produção de CO₂ e C₂H₄ de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C

Durante o armazenamento das bananas foi observado o escurecimento e necrose na região onde se realizou o corte para separar o “dedo” da penca. A partir dessa necrose, ocorrida no final do armazenamento, alguns fungos patogênicos se desenvolveram podendo-se citar a podridão da coroa (*Fusarium roseum*) e a antracnose (*Colletotrichum musae*), além de patógenos oportunistas. Foram observados sintomas em todos os tratamentos quando as bananas se encontravam em estágio avançado de amadurecimento.

O estabelecimento dos patógenos pode ocorrer de diferentes formas, infecção quiescente, fermentos ou em pré-colheita. Essas formas de infecção são apresentadas por vários fungos patogênicos associados a frutos de banana, como *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Thielaviopsis*, *Phomopsis*, *Phytophthora*, *Rhizopus*, *Botrytis*, *Deightonella*, *Fusarium*, *Phyllosticta*, *Mycosphaerella*, *Nigrospora*, *Trichothecium* e *Verticillium* (JOHNSON; SANGCHOTE, 1994; MORAES; ZAMBOLIM; LIMA, 2006).

A incidência de podridões ocorreu após o 10º dia de armazenamento em todos os tratamentos (Tabela 1). O número de frutos com podridões aumentou à medida que as bananas foram amadurecendo.

Em cerejas, morangos e mirtilos, Zheng; Yang e Chen (2008) obtiveram significativo controle das podridões aplicando tratamento 100% O₂.

Tabela 1 - Incidência de podridões em bananas ‘Nanicão’ armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada a 22±2°C¹

Tratamentos	Tempo (Dias)			
	0	5	10	15
Controle	0	0	7	47
60% O ₂	0	0	10	60
80% O ₂	0	0	10	70
100% O ₂	0	0	10	70
10% O ₂	0	0	0	30

¹ Resultados expressos em porcentagem de frutos afetados.

Pelos dados obtidos neste experimento verifica-se que o alto O₂ acelerou o amadurecimento das bananas reduzindo a vida pós-colheita, quando comparado as bananas do tratamento controle e ao tratamento com 10% O₂. O oxigênio participa de diversos processos no metabolismo vegetal os quais influenciam em menor ou

maior grau o processo de amadurecimento e senescência. Aparentemente os tratamentos com alto O_2 reduziram o tempo para os tecidos celulares da banana perceberem o etileno.

O tratamento com 10% O_2 reteve moderadamente o amadurecimento. É provável que um efeito mais intenso fosse observado em concentrações menores de O_2 valores entre 5 e 3%. Além de alterar a atividade de enzimas do processo respiratório, o oxigênio pode limitar a respiração devido à falta de aceptor de elétrons na cadeia transportadora de elétrons (TAIZ; ZEIGER, 2004).

3.2.2 Goiaba

A avaliação visual da cor da casca permitiu observar que sob o alto O_2 as goiabas evoluíram rapidamente da cor verde para amarelo. No 4º dia de armazenamento as goiabas destes tratamentos obtiveram notas entre 2,5 e 3 (verde amarelada) enquanto que as goiabas do tratamento controle receberam a nota 1,9 e as goiabas submetidas a 10% O_2 nota 1 (Figura 9).

No 8º dia, as goiabas dos tratamentos com alto O_2 receberam notas entre 4,2 e 5, indicando que estavam completamente amarelas. Enquanto que os tratamentos controle e 10% O_2 receberam notas 3,8 e 3, respectivamente.

Cavalini (2008), estudando goiabas 'Kumagai' verificou que sob tratamento com etileno a casca tornou-se amarela no terceiro dia de armazenamento, no entanto, as tratadas com AVG apresentaram a casca amarela após o 15º dia e as tratadas com 1-MCP mantiveram a cor verde da casca até o final do armazenamento. O teor de clorofila diminuiu nos tratamentos em que a casca se tornou amarela, porém o teor de carotenóides se manteve praticamente constante.

Isto indica que nos resultados obtidos com o presente trabalho, o rápido amarelecimento das goiabas devido a aplicação de alto O_2 , em relação aos tratamentos com 10% O_2 e controle, deveu-se principalmente a uma maior degradação da clorofila.

Figura 9 - Cor da casca de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C. Sendo 1 - casca verde e 5 - casca totalmente amarela

Os valores observados para o ângulo de cor hue (h°) das goiabas do tratamento controle e do tratamento com 10% O₂ foram 105° e 107°, respectivamente.

Os tratamentos com alto O₂ apresentaram a casca com ângulo hue entre 96° e 99° diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) dos demais tratamentos no 8º dia de armazenamento. Esse resultado é semelhante ao obtido por Singh e Pal (2008) onde verificaram que o aumento na concentração de O₂ acelerou o desverdecimento de goiabas (Figura 10).

A casca da goiaba é a principal barreira entre a atmosfera e o meio interno. Pigmentos como a clorofila, caroteno, xantofila e licopeno compõe a coloração da casca da goiaba. A degradação da clorofila ocorre em função das mudanças do pH, do aumento dos processos oxidativos e da ação de enzimas como as clorofilases (WILLS et al., 1998).

Segundo Moro et al. (2003) a estrutura da casca da goiaba (epicarpo) conta com a presença de cutícula espessa, cera epicuticular, três camadas subepidérmicas de células compactas e grande quantidade de esclereídeos, bem como a presença esporádica e dispersa de estômatos. Esta estrutura imbricada pode ter favorecido a degradação da coloração da casca, devido à interferência na permeação dos gases entre o meio externo e a polpa.

Figura 10 - Ângulo de cor de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Dia zero = 115° hue

O teor de sólidos solúveis na goiaba variou pouco durante o armazenamento. Os valores observados situaram-se entre 8,3 °Brix na caracterização e 7,6 °Brix para o tratamento com 10% O₂ no 8º dia. Não foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos. Esses resultados são semelhantes aos observados por Cavalini (2008) que não verificou alterações no teor de sólidos solúveis de goiabas 'Kumagai' (Figura 11).

Singh e Pal (2008) também relataram que o teor de sólidos solúveis se manteve constante durante o armazenamento de goiabas em atmosfera controlada. Por outro lado, Bashir e Abu-Goukh (2003) avaliando goiabas de outras variedades com polpa branca verificaram que os teores foram crescentes durante o armazenamento.

Após a colheita o teor de sólidos solúveis em goiaba não sofre alterações significativas (JACOMINO et al., 2001; XISTO, 2002), tal fato pode ser explicado pelo baixo teor de amido em goiabas. As formas de armazenamento de açúcares em goiaba são frutose, glicose e sacarose (MANICA et. al, 2000).

Figura 11 - Teor de sólidos solúveis de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Dia zero = 8 °Brix

As goiabas apresentaram pouca variação na acidez titulável entre o início do armazenamento e os valores encontrados para os tratamentos no 8º dia. O tratamento 10% O₂ apresentou pequena redução e os demais tratamentos apresentaram valores semelhantes entre o início e o final do armazenamento (Figura 12).

Em goiabas a acidez é devida, principalmente, à presença de ácido cítrico, variando entre 0,24 a 1,79 mg de ácido cítrico 100g⁻¹ de polpa e também outros ácidos como málico e, em menores quantidades, ácidos galacturônico e fumárico (GEHARDT et al., 1997).

Singh e Pal (2008) verificaram que goiabas sob atmosfera controlada com 5% O₂ e 5% CO₂ apresentaram maior valor de acidez titulável do que goiabas sem tratamento.

Esperava-se que a acidez titulável apresentasse redução nos tratamentos com alto O₂ devido a um possível aumento no consumo de ácidos pelo ciclo dos ácidos tricarboxílicos e devido às reações oxidativas. Isto não foi observado, provavelmente, pode ter ocorrido uma compensação pelo próprio metabolismo da fruta conservando os níveis iniciais de acidez titulável. Diversos autores verificaram que para goiabas 'Kumagai' colhidas no estágio 2, os teores de acidez foram crescentes (BASSETO, 2005; AZZOLINI, 2004; MERCADO-SILVA; BAUTISTA; GARCIA-VELASCO, 1998).

Figura 12 - Acidez titulável de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Dia zero = 0,67 g 100 g⁻¹

O teor de ácido ascórbico aumentou durante o armazenamento independente do tratamento, não sendo verificadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) no 8º dia (Figura 13).

El-Buluk; Babiker e El-Tinay (1997) estudando diversos cultivares de goiaba, observaram que o teor de ácido ascórbico aumentou lentamente durante os estádios iniciais e significativamente durante o amadurecimento.

Para muitas frutas, o teor de ácido ascórbico sofre redução após a colheita devido à sua oxidação e envolvimento em processos metabólicos que ocorrem durante o amadurecimento (LEE; KADER, 2000). No caso da goiaba 'Kumagai', diversos autores verificaram aumento nos teores desse composto com o amadurecimento (JACOMINO et al. 2000; CAVALINI et al. 2006). A biossíntese do ácido ascórbico ainda não é bem compreendida, Wheeler; Jones e Smirnoff (1998) propuseram uma rota biossintética para a formação de ácido ascórbico em plantas. Ele demonstrou que a D-manose e a L-galactose são precursores da síntese de ascorbato sendo interconvertidos pela GDP-D-manose-3,5-epimerase. A L-galactose pela ação da enzima L-galactose desidrogenase (GDH) é convertida a L-galactono-1-4-lactona, sendo que o L-galactono-1,4-lactona é substrato para a enzima L-galactono-1,4-lactona desidrogenase (GLDH) que cataliza a transformação de L-galactono-1-4-lactona em ácido ascórbico. Desta forma a L-galactose pode ser sintetizada a partir da D-manose. A manose é um polissacarídeo presente na parede

celular. A rota biossintética proposta por Wheeler; Jones e Smirnoff (1998), sugere que a medida que ocorre degradação da parede celular, a manose vai sendo disponibilizada como substrato para a produção de ácido ascórbico.

Desta forma, é possível que a síntese de ácido ascórbico tenha sido superior à inativação das moléculas por oxidação. No caso do tratamento com 10% O₂ é pouco provável que essa concentração de oxigênio tenha causado influência nesta variável. Para concentrações inferiores a 10% O₂ é provável que os teores se conservassem próximos a caracterização devido à maior retenção no amadurecimento.

Figura 13 - Teor de ácido ascórbico de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Dia zero = 96,58 mg 100 g⁻¹

A firmeza da polpa diminuiu com o armazenamento em todos os tratamentos (Figura 14). Não foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos no 8º dia.

A firmeza é principalmente determinada pela força de coesão entre pectinas. No processo de amadurecimento, as enzimas pectinolíticas, transformam a pectina insolúvel em solúvel, isto acaba promovendo o amolecimento dos tecidos (LELIÈVRE et al., 1997).

O incremento na solubilização das pectinas e o rompimento das microfibrilas de xyloglucano-celulose regulada pelo aumento nas atividades de exopoligalacturonase (PG), pectina metilesterase, β (1-4)-glucanase e β -galactosidase estão associadas com a rápida perda da firmeza em goiabas (ALI; CHIM; LAZAN,

2004). A perda de firmeza está intimamente relacionada ao amadurecimento e consequentemente com as respostas metabólicas desencadeadas pelo etileno (TAIRA; ONO; MATSUMOTO, 1997).

Singh e Pal (2008) estudando goiabas sob atmosfera controlada verificaram que estas conservadas em 10% O₂ apresentaram maior perda de firmeza do que as armazenadas sob concentrações mais baixas de O₂.

Figura 14 - Firmeza da polpa de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada sob concentrações de O₂ a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Dia zero = 69 N

Avaliou-se a produção de etileno e de CO₂ dos tratamentos 80% O₂ e controle. Ao longo do armazenamento as produções de CO₂ e etileno variaram pouco, observou-se apenas um pequeno aumento no final do armazenamento, para ambos os tratamentos (Figura 15).

Cavalini (2008) estudando goiabas 'Kumagai' tratadas com etileno e com retardador de amadurecimento AVG, verificou que ambos apresentaram produção de CO₂ semelhante às goiabas do tratamento controle.

Goiabas 'Kumagai' parecem sofrer pouca alteração no metabolismo respiratório durante o amadurecimento.

Figura 15 - Produção de CO₂ e C₂H₄ de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada sob alta concentração de O₂ a 22±2°C

As goiabas apresentaram poucas podridões no decorrer do experimento independente do tratamento. Contrariando o esperado, não foram verificados efeitos positivos do alto O₂ sobre a redução de doenças na goiaba 'Kumagai' (Tabela 2).

Soares¹ verificou que o alto O₂ não foi efetivo para controlar o desenvolvimento de colônias de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii* cultivados *in vitro* (informação pessoal). Não se verificou efeito fungicida ou fungistático do alto O₂ sobre os fungos patogênicos na goiaba.

Tabela 2 - Incidência de podridões em goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada a 22±2°C¹

Tratamentos	Tempo (Dias)		
	0	4	8
Controle	0	0	37,5
60% O ₂	0	0	18,5
80% O ₂	0	0	37,5
100% O ₂	0	0	33,3
10% O ₂	0	0	25

¹Resultados expressos em porcentagem de frutos afetados.

Os tratamentos com alto O₂ reduziram o tempo de conservação da banana e da goiaba afetando, no caso da goiaba, principalmente a cor da casca. Em contra

partida o baixo O_2 possibilitou aumento no tempo de conservação da banana e também retardou levemente o amadurecimento da goiaba.

No caso de frutos climatéricos possuidores de sistema I e II de produção de etileno ativos, o alto O_2 favorece tanto a produção, como a ação do etileno acelerando os processos de amadurecimento (JIANG; JOYCE, 2003).

A formação de ACC e sua conversão a etileno são dois passos importantes que limitam a biossíntese do etileno (YANG; HOFFMAN, 1984). Nos frutos climatéricos, a ACC oxidase é ativada pelo etileno produzido após o pré-climatérico, fazendo a conversão de ACC em etileno. O etileno produzido induz aumento da atividade da ACC sintase o que leva a maior produção de ACC, produzindo o etileno de modo auto-catalítico.

Além disso, a resposta metabólica à aplicação de etileno em pós-colheita depende de vários fatores como sensibilidade do tecido e estágio de maturação, como também se o fruto é climatérico ou não (BIALE; YOUNG, 1981).

Jiang e Joyce (2003) propuseram que atmosferas com alto O_2 estimulam a síntese de novos receptores de etileno pela célula.

Em frutos que mantêm um nível basal de produção de etileno possuindo somente o sistema I de produção de etileno ativo, o alto oxigênio proporciona melhoria de aparência, redução de algumas patologias e aumento no tempo de vida de prateleira, como é o caso do morango, uva e diversos tipos de cerejas (ZHENG; YANG; CHEN, 2008; 2005; TIAN et al., 2002; WSZELAKI; MITCHAM, 2000). Além disso, na maioria dos casos, nesses frutos não se observa aumento prolongado ou acentuado na produção de etileno e CO_2 , sob alto O_2 .

Em morangos, por exemplo, com o início do aumento da produção de etileno o ACC se torna limitante. Esta redução na concentração de ACC pode ocorrer não só pelo consumo deste composto induzido pela atividade da ACC oxidase, mas também pela redução nas quantidades sintetizadas (ATTA-ALY; BRECHT; HUBER, 2000).

Desta forma, é provável que a resposta fisiológica ao alto O_2 observada para banana e goiaba esteja principalmente associada a uma alteração no metabolismo do etileno o que justificaria, em parte, as diferentes respostas observadas para as duas frutas como também as diferenças que o alto O_2 proporciona para os frutos climatéricos e não climatéricos.

Pelo efeito descrito do alto O_2 em frutos climatéricos e não climatéricos, a goiaba da variedade Kumagai sugere um comportamento intermediário, em termos de resposta ao etileno. Pois ao ser submetido ao alto O_2 , não respondeu da mesma forma que a banana.

4 Experimento 2: Alto O_2 associado ao CO_2

4.1 Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortalças, do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ-USP, em Piracicaba-SP. Foram utilizadas bananas da variedade Nanicão e goiabas da variedade Kumagai, como descrito anteriormente (pág. 33).

Os frutos das duas espécies foram submetidos aos tratamentos de atmosfera controlada, em temperatura ambiente ($22\pm 2^\circ C$). Os tratamentos foram constituídos por concentrações de O_2 e CO_2 aplicados em misturas, em sistema de fluxo contínuo.

Os frutos permaneceram sob atmosfera controlada durante 15 dias para a banana e 8 dias para a goiaba. Transcorrido esse tempo os frutos foram armazenados em ar, a mesma temperatura, durante 5 dias para a banana e 4 dias para a goiaba.

Os tratamentos foram constituídos pelas seguintes combinações:

- a) Controle (Fluxo de ar)
- b) 10% CO_2 + 70% O_2 + 20% N_2
- b) 20% CO_2 + 70% O_2 + 10% N_2
- c) 30% CO_2 + 70% O_2
- d) 5% CO_2 + 10% O_2 + 85% N_2
- b) 10% CO_2 + 10% O_2 + 80% N_2
- c) 20% CO_2 + 10% O_2 + 70% N_2
- d) 30% CO_2 + 10% O_2 + 60% N_2

Comparativamente aos tratamentos com alto O_2 associados ao CO_2 , além do tratamento controle foram aplicadas as mesmas concentrações de CO_2 associadas com 10% O_2 . Também foi aplicado um tratamento com 5% CO_2 + 10% O_2 como

forma de avaliar os frutos num tratamento próximo ao recomendado pela literatura (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

As variáveis analisadas foram: monitoramento da composição gasosa nas câmaras de armazenamento, avaliação visual da cor da casca, ângulo de cor da casca (hue), teor de sólidos solúveis, acidez titulável, firmeza da polpa, teor de ácido ascórbico, incidência de podridões e produção de etileno.

Delineamento experimental

As avaliações de cor da casca, incidência de podridões foram realizados a cada 5 dias para banana e a cada 4 dias para goiaba.

As avaliações de ângulo de cor da casca, teor de sólidos solúveis, firmeza da polpa, acidez titulável, ácido ascórbico foram realizadas no primeiro dia para a caracterização dos frutos, no último dia de armazenamento sob atmosfera controlada, e no final do armazenamento em ar.

A determinação da produção de etileno foi realizada diariamente.

O delineamento foi I.C. Cada tratamento foi constituído de 4 repetições de 3 frutos para as análises físicas e químicas. Para a determinação da produção de C_2H_4 utilizou-se 3 frascos, sendo cada frasco 1 repetição.

Análise estatística

Realizada como descrita anteriormente (pág. 37).

4.2 Resultados e discussão

4.2.1 Banana

Pelos resultados das avaliações visuais da cor da casca, as bananas tratadas com concentrações de $CO_2 + 70\% O_2$ apresentaram evolução da cor da casca de forma semelhante aos frutos do controle. As bananas destes tratamentos apresentavam cor da casca mais amarela, que aquelas dos tratamentos com concentrações de $CO_2 + 10\% O_2$, no 15º dia (Figura 1).

Dentre os tratamentos combinados a 70% O_2 , aquele combinado com 30% CO_2 induziu cor da casca mais amarela que os demais. Dentre os tratamentos combinados a 10% O_2 , aquele combinado a 5% CO_2 induziu cor da casca mais verde que os demais, no 15º dia.

Após 15 dias sob atmosfera controlada, mais 5 dias em condição ambiente, os tratamentos com $\text{CO}_2 + 10\% \text{O}_2$ evoluíram a cor da casca tornando-se mais amarelos.

Verificou-se no experimento com a aplicação de alto O_2 que este acelerou a perda da cor verde da casca em comparação a concentração de 10% de O_2 . É possível que o efeito proporcionado pelo O_2 a 70% tenha preponderado sobre os efeitos inibitórios do CO_2 no metabolismo da banana.

No caso dos tratamentos com 10% de O_2 provavelmente o CO_2 interferiu tanto na biossíntese do etileno quanto na ação, competindo pelo sítio receptor, reduzindo os efeitos desencadeados pelo etileno e contribuindo para a retenção da perda da cor verde. Além disso, nestes tratamentos o CO_2 também deve ter atuado conjuntamente aos 10% de O_2 proporcionando maior retenção da perda da cor verde do que seria obtido com os gases isoladamente.

Os resultados observados para os tratamentos com 30% $\text{CO}_2 + 70\% \text{O}_2$ e 5% de $\text{CO}_2 + 10\% \text{O}_2$ podem estar relacionados ao balanço das concentrações dos gases sobre o metabolismo das bananas. No caso do tratamento 30% de $\text{CO}_2 + 70\% \text{O}_2$ provavelmente a proporção entre o CO_2 e o O_2 atuou desfavoravelmente, desencadeando estresse e acelerando a perda da cor verde, ao contrário do observado para o tratamento 5% $\text{CO}_2 + 10\% \text{O}_2$.

Figura 1 - Cor da casca de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ\text{C}$

A avaliação da cor da casca com o colorímetro confirmou os resultados obtidos na avaliação visual. Os tratamentos com $\text{CO}_2 + 10\% \text{O}_2$ permaneceram com o valor de hue mais elevado (verdes), diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos com $\text{CO}_2 + 70\% \text{O}_2$ e controle que apresentaram valor de hue mais baixo. O tratamento com $30\% \text{CO}_2 + 70\% \text{O}_2$ diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) dos demais tratamentos apresentando a casca mais amarela (Figura 2).

Após 15 dias sob atmosfera controlada mais 5 dias em condição ambiente os tratamentos continuaram a evolução da cor da casca apresentando ângulo hue com valores abaixo de 90° .

Entre os pigmentos influenciados pela modificação de atmosfera a clorofila é o mais associado com a manutenção da qualidade. A perda de clorofila também pode ser desejável, principalmente nos frutos climatéricos nos quais a revelação de outras cores os torna mais apreciáveis, mas passa a ser problema de qualidade quando é relacionado à senescência. A degradação da clorofila pode ser inibida pelo baixo O_2 e elevado CO_2 , em princípio pelos efeitos destas moléculas sobre a sensibilidade ao etileno (BEAUDRY, 1999).

Figura 2 - Ângulo de cor de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 116°

Com relação ao teor de sólidos solúveis os menores valores foram observados para os tratamentos 5% e 10% $\text{CO}_2 + 10\% \text{O}_2$ que diferiram

significativamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos controle e 30% CO₂ + 70% O₂ que apresentaram os maiores valores no 15º dia (Figura 3).

Após os 15 dias sob atmosfera controlada mais 5 dias em condição ambiente os tratamentos apresentaram pequenas diferenças entre si, sendo que os tratamentos 5% e 10% CO₂ + 10% O₂ apresentaram os maiores valores.

Aparentemente os tratamentos 5% e 10% CO₂ + 10% O₂ retomaram sua evolução no acúmulo de açúcares diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) do tratamento com 30% CO₂ + 10% O₂, que apresentou o valor mais baixo. Neste tratamento foi verificada a ocorrência de processos fermentativos, o que pode ter acelerado o consumo de açúcares na respiração devido ao estresse ocasionado aos tecidos.

Figura 3 - Teor de sólidos solúveis de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Dia zero = 3,4 °Brix

Os teores de acidez titulável aumentaram para todos os tratamentos quando comparados à caracterização (Figura 4).

Foram observadas pequenas diferenças para a acidez titulável no 15º dia, sendo o maior valor de 0,65 mg 100g⁻¹ de polpa para o tratamento 10% CO₂ + 10% O₂ diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) dos demais.

Ao final de 5 dias em condição ambiente, os valores de acidez titulável sofreram uma leve redução, sendo que os tratamentos 5% e 10% CO₂ + 10% O₂

apresentaram valor de $0,40 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de polpa diferindo dos tratamentos 20% e 30% CO_2 que apresentaram valor $0,33 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de polpa.

Essa redução observada nos valores da acidez titulável no 20º dia pode estar relacionada ao início da senescência das bananas.

Figura 4 - Acidez titulável de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^\circ\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = $0,27 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de polpa.

Não foram verificadas diferenças significativas ($p\leq 0,05$) para teor de ácido ascórbico entre os tratamentos no 15º dia de armazenamento sob atmosfera controlada (Figura 5). Ao final de 5 dias sob condição ambiente o tratamento com 10% CO_2 + 10% O_2 apresentou o maior valor de ácido ascórbico e o 30% CO_2 + 10% O_2 o menor valor.

A banana apresenta baixos teores de ácido ascórbico e as diferenças verificadas, embora estatisticamente significativas, foram pequenas.

Figura 5 - Teor de ácido ascórbico de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = $1,2 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de polpa

A firmeza da polpa diminuiu em relação ao início do armazenamento. No 15º dia os tratamentos estavam com a firmeza abaixo de 20 N, enquanto na caracterização este valor era de 50 N (Figura 6). Neste dia, os maiores valores de firmeza da polpa observados foram para os tratamentos 5% e 10% $\text{CO}_2 + 10 \text{ O}_2$.

Após 15 dias sob atmosfera controlada e mais 5 dias sob condição ambiente todos os tratamentos estavam com firmeza da polpa abaixo de 5 N, porém os tratamentos com 5% e 10% $\text{CO}_2 + 10 \text{ O}_2$ apresentaram os maiores valores de firmeza da polpa.

Como observado neste experimento, a firmeza da polpa é um parâmetro que apresenta boa correlação com o estado de amadurecimento da banana devido à quebra do amido transformando-os em açúcares solúveis (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Figura 6 - Firmeza da polpa de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 50 N

Realizou-se a determinação da produção de etileno dos tratamentos com a maior concentração de CO_2 (30%) combinada às duas concentrações de O_2 (10% e 70%) (Figura 7).

As atmosferas com CO_2 não suprimiram a produção de etileno após o início do pico climatérico. Os valores máximos obtidos para a produção de etileno pelas bananas tratadas e não tratadas foram próximos, mas ocorreram em momentos diferentes. Este efeito também foi observado para várias frutas climatéricas como maçã (GORNÝ; KADER, 1997) abacate (LANGE; KADER, 1997) entre outras.

Segundo Gorný e Kader (1997), atmosferas com elevado CO_2 e baixo O_2 reduzem a expressão e suprimem a atividade da ACC sintase. Esta condição atmosférica também reduz a atividade da ACC oxidase, mas somente no sistema I. Uma vez que o pico climatérico é iniciado a redução de atividade da ACC oxidase não é suficiente para impedir a produção autocatalítica do etileno.

No período que antecede o pico climatérico a atividade da ACC oxidase é baixa e também a produção de etileno. Uma vez que a atividade da ACC oxidase aumenta, inicia-se a produção autocatalítica de etileno e a atmosfera com alto CO_2 e baixo O_2 não é capaz de suprimir. Isso também pode ser verificado com a aplicação de etileno exógeno, a qual antecipa o pico climatérico.

Nestes tratamentos, observou-se que os picos sofreram antecipação em relação ao controle, da mesma forma como observado no experimento com alto O_2 isolado em banana.

No caso do tratamento 30% CO_2 + 10% O_2 foram observados processos fermentativos com produção de acetaldeído e etanol, indicando que as células devem ter sofrido estresse metabólico o que provavelmente desencadeou a resposta no metabolismo do etileno.

Figura 7 - Produção de C_2H_4 de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada $22 \pm 2^\circ C$

Foi observado escurecimento e necrose na região onde se realizou o corte para separar o dedo da penca, durante o armazenamento das bananas. A partir dessa necrose alguns fungos patogênicos se desenvolveram como a podridão da coroa (*Fusarium roseum*) e a antracnose (*Colletotrichum musae*) além de patógenos oportunistas. Os sintomas mais evidentes foram observados somente quando as bananas se encontravam completamente amadurecidas (Tabela 1).

Desta forma a maior incidência ocorreu a partir do 15º dia de armazenamento nos tratamentos com CO_2 associado ao alto O_2 . Não foi observado o aparecimento de podridões nos tratamentos com CO_2 associado a 10% O_2 .

Prusky et al. (1991) publicaram que a exposição de abacates a elevados níveis de CO_2 antes da armazenagem tornou os frutos mais resistentes ao *Colletotrichum gloeosporioides*. Porém, no caso deste experimento os resultados não foram conclusivos.

Tabela 1 - Incidência de podridões em bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ¹

Tratamentos	Tempo (Dias)			
	0	5	10	15
Controle	0	0	10	47
10% CO ₂ + 70% O ₂ + 20% N ₂	0	0	0	40
20% CO ₂ + 70% O ₂ + 10% N ₂	0	0	0	40
30% CO ₂ + 70% O ₂	0	0	0	50
5% CO ₂ + 10% O ₂ + 85% N ₂	0	0	0	0
10% CO ₂ + 10% O ₂ + 80% N ₂	0	0	0	0
20% CO ₂ + 10% O ₂ + 70% N ₂	0	0	0	0
30% CO ₂ + 10% O ₂ + 60% N ₂	0	0	0	0

¹ Resultados expressos em porcentagem de frutos afetados.

Avaliando-se os efeitos dos tratamentos com CO₂ combinados a 70% O₂ sobre as bananas observa-se que estes não retardaram o avanço do amadurecimento, sendo observado principalmente pela cor da casca ao comparar-se com o controle ou com os tratamentos com 10% O₂, nos quais o efeito dos gases proporcionou a retenção da cor da casca.

A respiração é afetada de forma marcante pela elevação na concentração de CO₂. Quando em níveis elevados, o CO₂ pode ocasionar respostas semelhantes à anaerobiose. Níveis de 5% a 10% CO₂ diminuem a atividade respiratória e retardam o início do climatério, mas níveis elevados causam danos aos tecidos, por inibir a succinato desidrogenase, causando acúmulo de succinato, que é tóxico aos tecidos vegetais (CHITARRA, CHITARRA 2005).

Os tratamentos com 5% e 10% CO₂ + 10% O₂ apresentaram melhores resultados, em se tratando de conservação, do que os tratamentos com 20% e 30% de CO₂ + 10% O₂. Foi verificado que o tratamento com 30% de CO₂ + 10% O₂ desencadeou acúmulo de acetaldeído e etanol.

O tratamento com 30% CO₂ + 70% O₂ apresentou resultados inferiores aos tratamentos 10% e 20% CO₂ + 70% O₂ em termos de conservação. É provável que além dos efeitos negativos proporcionados pelo alto O₂ acelerando o amadurecimento, o CO₂ tenha causado danos aos tecidos.

4.2.2 Goiaba

Pela avaliação visual da cor da casca verificou-se que as goiabas dos tratamentos com $\text{CO}_2 + 70\% \text{O}_2$ apresentaram a casca mais amarela que os tratamentos com $\text{CO}_2 + 10\% \text{O}_2$ durante o armazenamento (Figura 8). No 8º dia de armazenamento os tratamentos com $\text{CO}_2 + 70\% \text{O}_2$ receberam as notas entre 4 e 5 (máximo) enquanto que os tratamentos com $\text{CO}_2 + 10\% \text{O}_2$ receberam notas entre 2 e 3 e as goiabas do controle receberam nota 4. Após a permanência por 4 dias em condição ambiente as goiabas receberam notas entre 4,5 e 5.

O CO_2 afeta a biossíntese do etileno, através da regulação das enzimas ACC sintase e oxidase e atuando com inibidor competitivo do etileno. O CO_2 também atua sobre a respiração, por reduzir a atividade de enzimas como a succinato desidrogenase e a citocromoxidase.

Os mecanismos precisos da ação de níveis elevados de CO_2 nos tecidos ainda não estão bem estabelecidos, podendo estimular ou retardar o processo respiratório (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Figura 8 - Cor da casca de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ\text{C}$

Na avaliação do ângulo de cor os tratamentos com $\text{CO}_2 + 70\% \text{O}_2$ apresentaram a casca com hue entre 100° e 105° , sendo inferiores aos tratamentos com $\text{CO}_2 + 10\% \text{O}_2$, no 8º dia (Figura 9).

O tratamento com $5\% \text{CO}_2 + 10\% \text{O}_2$ apresentou o maior ângulo de cor da casca 112° significando casca mais verde.

Após 4 dias em condição ambiente as goiabas apresentaram ângulo de cor hue abaixo de 100° , casca amarela.

Segundo Beaudry (1999) a inibição da perda da coloração verde em frutas mantidas em baixo O_2 e elevado CO_2 pode ser devido aos efeitos da atmosfera controlada sobre a sensibilidade ao etileno.

Da mesma forma como foi observado no experimento com a aplicação de alto oxigênio isoladamente a casca apresentou maior perda de cor verde nos tratamentos com 70% O_2 .

Figura 9 - Ângulo de cor de goiabas 'Kumagai' armazenadas 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ C$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 115°

As atmosferas aplicadas às goiabas não causaram efeitos significativos sobre o teor de sólidos solúveis que apresentou pouca variação entre os tratamentos. O menor valor foi de 6,9 °Brix para o tratamento 30% CO_2 + 70% O_2 e o maior foi de 8,0 °Brix para o controle, no 8º dia de armazenamento sob atmosfera controlada (Figura 10).

Após permanecerem durante quatro dias em ambiente o teor de sólidos solúveis sofreu um pequeno incremento. Esse resultado é semelhante ao obtido por Jacomino (1999) e Azzolini (2004).

Singh e Pal (2008) verificaram que goiabas armazenadas sob atmosferas contendo de 2,5 a 10% CO_2 não sofreram alterações no conteúdo de sólidos solúveis no período em que foram mantidas nas atmosferas. E verificaram aumento dos teores em relação a caracterização assim como Mercado-Silva et al. (1998).

O teor de sólidos solúveis em goiabas 'Kumagai' sob atmosfera controlada contendo O_2 e CO_2 não sofre alterações significativas (JACOMINO et al., 2001; XISTO, 2002). Dependendo do tempo de armazenamento verifica-se pequenas alterações no comportamento desta variável.

O teor de sólidos solúveis em frutas está intimamente relacionado à sua biossíntese através de polissacarídeos, sejam eles de reserva ou da parede celular. Está relacionado também a degradação pela respiração celular (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Na goiaba 'Kumagai' os teores de amido são baixos, próximos de 1 a 3% (ALI; LAZAN, 1997), pois suas reservas estão na forma de açúcares mais simples como sacarose e frutose. A respiração, embora intensa, ocorre de forma constante na maior parte do tempo, se elevando somente ao final do armazenamento. Estes fatores contribuem para a estabilidade observada por diversos autores para o teor de sólidos solúveis em goiabas.

Figura 10 - Teor de sólidos solúveis de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ C$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 8,2 °Brix

O teor de acidez titulável sofreu influência dos tratamentos ($p \leq 0,05$), sendo que o menor valor foi observado no tratamento controle (0,66 g de ácido cítrico 100 g de polpa⁻¹). Não foram verificadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos com CO_2 nas duas pressões parciais de O_2 , no 8º dia de armazenamento. Verificou-se apenas aumento dos teores ao longo do armazenamento (Figura 11).

Mattiuz (2002) trabalhando com goiabas, também observou teores crescentes de acidez titulável ao longo do armazenamento.

Figura 11 - Acidez titulável de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 0,69 g de ácido cítrico 100 g de polpa⁻¹

Com relação ao teor de ácido ascórbico das goiabas o menor valor foi verificado para o tratamento 30% CO₂ + 70% O₂ (84 mg de ácido ascórbico 100 g⁻¹ de polpa) diferindo ($p\leq 0,05$) dos demais tratamentos no 8º dia de armazenamento. Após 4 dias em condição ambiente não foram verificadas diferenças significativas ($p\leq 0,05$) entre os tratamentos (Figura 12).

O ácido ascórbico é um potente agente antioxidante, ao reduzir formas danosas de moléculas reativas (radicais livres) sofre conversão para formas sem atividade biológica, as quais não são detectadas pela metodologia utilizada, o que resultou nos teores mais baixos encontrados neste trabalho.

Lee e Kader (2000) verificaram que a perda de ácido ascórbico foi menor quando os níveis de O₂ foram reduzidos, porém o CO₂ não favoreceu sua retenção, embora o armazenamento sob atmosfera controlada propicie a manutenção dos teores de ácido ascórbico em frutas. Agar; Streif e Bangerth (1997) também verificaram que alto CO₂ (10-30%) causou a diminuição no teor de ácido ascórbico em alguns tipos de cereja. Yamashita e Benassi (2000) verificaram que embalagens menos permeáveis ao O₂, como a PD900, proporcionaram maior retenção de ácido

ascórbico quando comparado ao PD961, mais permeável. Ou seja, teores menores de oxigênio conservaram melhor o teor desta vitamina em goiabas.

Oliveira e Cereda (1999) verificaram aumento no teor de ácido ascórbico em goiabas 'Kumagai' submetidas à aplicação de coberturas até o 8º dia. EL-Buluk; Babiker e El-Tinay (1997) estudando diversos cultivares de goiaba, observaram que o teor de ácido ascórbico aumentou lentamente durante os estádios iniciais e significativamente durante o amadurecimento, independente do cultivar.

Figura 12 - Teor de ácido ascórbico de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Dia zero = $116,7 \text{ g de ácido ascórbico } 100 \text{ g de polpa}^{-1}$

A firmeza da polpa diminuiu para todos os tratamentos quando comparados à caracterização. Não foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) para os valores de firmeza entre os tratamentos, no 8º dia (Figura 13).

Após 4 dias em condição ambiente as goiabas apresentaram os valores mais baixos de firmeza.

Este resultado está relacionado provavelmente ao fato do aumento na produção de etileno somente ocorrer nos estádios mais avançados do amadurecimento da goiaba (AZZOLINI et al., 2005).

Figura 13 - Firmeza da polpa de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 70 N

Realizou-se a determinação da produção de etileno dos tratamentos com a maior concentração de CO_2 (30%) combinada às duas concentrações de O_2 (10% e 70%) (Figura 14).

A produção de etileno dos sobre atmosfera controlada sofreu pouca variação durante o armazenamento. As goiabas do controle apresentaram aumento a partir do quarto dia de armazenamento.

Figura 14 - Produção de C_2H_4 de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada $22\pm 2^{\circ}\text{C}$

As goiabas apresentaram baixa incidência de podridões durante o armazenamento sob atmosfera controlada. Foram observados sintomas em alguns tratamentos, porém somente quando as goiabas se encontravam em avançado estágio de amadurecimento (Tabela 2).

Soares¹ verificou efeito fungistático dos tratamentos com CO₂ sobre os patógenos cultivados *in vitro*, principalmente sobre isolados de *Colletotrichum acutatum*, sendo que quanto maior a concentração de CO₂ e menor a de O₂ maior retenção no crescimento miscelial foi observada (informação pessoal).

Tabela 2 - Incidência de podridões em goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada a 22±2°C¹

Tratamentos	Tempo (Dias)		
	0	4	8
----- Controle -----	0	0	33
10% CO ₂ + 70% O ₂ + 20% N ₂	0	0	0
20% CO ₂ + 70% O ₂ + 10% N ₂	0	0	0
30% CO ₂ + 70% O ₂	0	0	0
5% CO ₂ + 10% O ₂ + 85% N ₂	0	0	0
10% CO ₂ + 10% O ₂ + 80% N ₂	0	0	0
20% CO ₂ + 10% O ₂ + 70% N ₂	0	0	50
30% CO ₂ + 10% O ₂ + 60% N ₂	0	0	50

¹Resultados expressos em porcentagem de frutos afetados.

A maior pressão parcial de CO₂ (30%) afetou negativamente a conservação pós-colheita da goiaba tanto em combinação com 70% O₂ como em combinação com 10% O₂. Quando combinado a 10% O₂ ocorreram processos fermentativos, quando combinado a 70% O₂ a perda da coloração verde da casca foi acelerada.

Níveis superiores ao limite de tolerância de CO₂, para uma combinação de tempo-temperatura, podem provocar danos como amadurecimento irregular, aumento da biossíntese de etileno, aceleração da deterioração e agravamento de outras desordens fisiológicas.

¹SOARES, A.R. Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz'. depto. de Fitopatologia.

5 Experimento 3: Alto O₂ associado ao N₂O

5.1 Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças, do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ-USP, em Piracicaba-SP. Foram utilizadas bananas da variedade Nanicão e goiabas da variedade Kumagai, como descrito anteriormente (pág. 33).

Os frutos das duas espécies foram submetidos aos tratamentos de atmosfera controlada, em temperatura ambiente ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$). Os tratamentos foram constituídos por concentrações de O₂ e N₂O aplicados em misturas, em sistema de fluxo contínuo. Para o controle utilizou-se fluxo de ar.

Os frutos permaneceram sob as atmosferas durante 15 dias para a banana e 8 dias para a goiaba, transcorrido esse tempo os frutos foram retirados das atmosferas permanecendo armazenados mais 5 dias para a banana e 4 dias para a goiaba, ambos mantidas a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Os tratamentos foram constituídos pelas seguintes combinações:

- a) controle (Fluxo de ar)
- b) 20% N₂O + 40% O₂ + 40% N₂
- c) 40% N₂O + 40% O₂ + 20% N₂
- d) 60% N₂O + 40% O₂
- e) 20% N₂O + 10% O₂ + 70% N₂
- f) 40% N₂O + 10% O₂ + 50% N₂
- g) 60% N₂O + 10% O₂ + 30% N₂

As variáveis analisadas foram: monitoramento da composição gasosa nas câmaras de armazenamento, avaliação visual da cor da casca, ângulo de cor da casca, teores de sólidos solúveis, acidez titulável, firmeza da polpa, teor de ácido ascórbico, incidência de podridões e produção de etileno.

Delineamento

As avaliações de cor da casca, incidência de podridões foram realizados a cada 5 dias para banana e a cada 4 dias para goiaba.

As avaliações de ângulo de cor da casca, teor de sólidos solúveis, firmeza da polpa, acidez titulável, ácido ascórbico foram realizadas primeiro dia para a

caracterização dos frutos, no último dia de armazenamento sob atmosfera controlada e no final do armazenamento em ar.

A determinação da produção de etileno foi realizada diariamente.

O delineamento foi I.C. Cada tratamento foi constituído de 4 repetições de 3 frutos para as análises físicas e químicas. Para a determinação da produção de CO_2 e C_2H_4 utilizou-se 3 frascos, sendo cada frasco 1 repetição.

Análise estatística

Realizada como descrita anteriormente (pág. 37).

5.2 Resultados e discussão

5.2.1 Banana

As avaliações visuais de cor da casca mostraram que os tratamentos com 10% O_2 mantiveram a cor da casca verde durante todo armazenamento sob atmosfera controlada, independente da concentração de N_2O aplicada. Por outro lado, as bananas dos tratamentos com 40% O_2 aceleraram a mudança da cor verde para amarela quando comparadas às bananas do tratamento controle (Figura 1).

Após a transferência para a condição ambiente as bananas tratadas com 10% O_2 retomaram o amarelecimento recebendo no último dia de armazenamento receberam notas entre 3 e 3,5. Resultados semelhantes foram obtidos por Palomer et al. (2005) que verificaram que N_2O combinado ao baixo O_2 ampliou a conservação pós-colheita de bananas. Pinheiro; Vilas Boas e Mesquita (2005) trabalhando com 1-MCP em banana maçã obtiveram resultados semelhantes.

Figura 1 - Cor da casca de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$

As bananas dos tratamentos com 40% O₂ apresentaram valores do ângulo de cor da casca entre 81° e 83° . As bananas do controle apresentaram ângulo hue de 90° no 15º dia. Por outro lado, as bananas dos tratamentos com N₂O + 10% de O₂ apresentaram o ângulo de cor hue de 116° , valor próximo ao obtido na caracterização dos frutos (Figura 2).

Em experimentos conduzidos com tomates o N₂O inibiu a síntese de etileno no período do pré-climatérico e reduziu a produção de etileno quando o amadurecimento iniciou. Mas quando tratados durante o pico climatérico, o N₂O inibiu o processo de autocatálise do etileno. Esses resultados demonstram que o N₂O afeta tanto a produção como a ação do etileno (GOUBLE; FATH; SOUDAIN, 1995; FATH; SOUDAIN; BORDES, 1990).

Tecidos celulares no período pré-climatérico têm a ACC sintase como limitante, contudo o sistema ACC oxidase já existe, apesar de ter uma baixa atividade (SITRIT; RIOV; BLUMENFELD, 1986). O modo de ação do N₂O é semelhante ao CO₂ no início do amadurecimento, provavelmente inibe a síntese e a atividade da ACC sintase atrasando o acúmulo de ACC e a sua conversão a etileno (GOUBLE ; FATH; SOUDAIN, 1995).

No climatérico, a inibição causada pelo N₂O pode ser devida à supressão na síntese da ACC oxidase (CHEVERRY et al., 1988).

Em abacates tratados com 80% N_2O + 20% O_2 não foram verificados os mesmos efeitos inibitórios observados para o tomate. É possível que o abacate produza altos níveis de ACC (HOFFMAN; YANG, 1980) e tenha alta atividade de ACC sintase e ACC oxidase (SITRIT; RIOV; BLUMENFELD, 1986).

Bemish; Rhee e Miller (1996) demonstraram que o N_2O atrasa o amadurecimento por dois mecanismos principais. Formação de um complexo N_2O – etileno no sistema I; Inibição da síntese e atividade ACC oxidase e ACC sintase no sistema II.

Segundo Sowa e Towill (1991) o N_2O se liga a lipídeos e proteínas como a citocromo c oxidase reduzindo a atividade. Esta enzima está relacionada a cadeia transportadora de elétrons no processo respiratório, independente da biossíntese do etileno.

Figura 2 - Ângulo de cor de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ C$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 115°

Os teores de sólidos solúveis verificados para os tratamentos com N_2O + 10% O_2 , no 15º dia, foram próximos aos observados na caracterização. Os tratamentos com 40% de O_2 e o controle ultrapassaram 20º Brix, indicando um teor de amido reduzido compatível com bananas no período pós-climatério (DOMINGUEZ; VENDRELL, 1993; HEWAGE; WAINWRIGHT; LUO, 1995). Não foram verificadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos com N_2O para a mesma concentração de oxigênio (Figura 3).

Após 5 dias em condição ambiente o teor de sólidos solúveis nos tratamentos com 10% O₂ aumentou para valores entre 9° e 10 °Brix.

Figura 3 - Evolução do teor de sólidos solúveis de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Dia zero = 3,4 °Brix

Os maiores valores de acidez titulável foram observados nos tratamentos controle e 40% O₂ no 15º dia. Os tratamentos com 10% O₂ apresentaram valores próximos à caracterização e diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos com 40% O₂ (Figura 4).

Para banana a acidez aumenta conforme ela amadurece (LUCENA et al. 2004).

Figura 4 - Acidez titulável de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 0,27 g de ácido cítrico 100 g de polpa⁻¹

O teor de ácido ascórbico aumentou para todos os tratamentos no decorrer do armazenamento (Figura 5). Não foram observadas diferenças significativas ($p\leq 0,05$) entre os tratamentos durante o armazenamento. Aparentemente os tratamentos não interferiram no comportamento desta variável.

Figura 5 - Teor de ácido ascórbico de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Dia zero = 1,92 g de ácido ascórbico 100 g de polpa⁻¹

Os tratamentos com 10% de O₂ apresentaram no 15º dia, firmeza da polpa semelhante à verificada na caracterização, diferindo significativamente ($p\leq 0,05$) dos

tratamentos com 40% de O₂ e do controle, os quais não evitaram a perda de firmeza (Figura 6).

Prabha e Bhagyalakshmy (1998) avaliando a firmeza de banana, verificaram que no pós-climatério, o teor de amido da polpa é próximo de zero, o conteúdo total de hemicelulose muda consideravelmente de 2,4% para 0,9%, o teor de pectina passa de 1,1% para 0,8%, a quantidade de celulose não sofre alterações, além disso, a firmeza é baixa.

As principais enzimas envolvidas na perda de firmeza da banana durante o amadurecimento são pectinases, poligalacturonases (PG), amilases, xylanases, laminarinases (PRABHA; BHAGYALAKSHMY, 1997).

Sabe-se que o etileno regula a expressão de genes que codificam as enzimas responsáveis pela modificação da parede celular (WAKABAYASHI, 2000). Karakurt e Huber (2003) afirmam que a aplicação de etileno em frutos climatéricos desencadeia o acúmulo de hidrolases. Segundo Lohani et al. (2004) e Sitrit e Bennett (1998) em banana, a pectinametilesterase (PME), a poligalacturonase, a celulase e a pectatoliase são dependentes do etileno. Na degradação do amido, o etileno está relacionado ao aumento da atividade das amilases, especificamente da beta-amilase (PURGATO et al., 2001).

Segundo Pinheiro; Vilas Boas e Mesquita (2005) o amaciamento das bananas durante o amadurecimento está associado à conversão de amido em açúcares, ao aumento na solubilização péctica e na atividade das enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase.

Kojima; Sakurai e Kuraishi (1994) também apresentam como causa principal do processo de amaciamento da polpa de banana, a degradação coordenada de polissacarídeos pécticos, hemicelulósicos e de amido.

Todos esses trabalhos demonstraram que a perda de firmeza da polpa da banana é afetada em maior ou menor grau pelo etileno. O N₂O + 10% O₂ suprimiu tanto a produção como a ação do etileno durante todo o armazenamento, mantendo a firmeza da polpa das bananas (Figura 7).

Figura 6 - Firmeza da polpa de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 50 N

Realizou-se a determinação da produção de CO_2 dos tratamentos com 40% N_2O em combinação com as duas concentrações de O_2 (10% e 40%) (Figura 7).

Nestes tratamentos observou-se que o $\text{N}_2\text{O} + 10\% \text{O}_2$ suprimiu o pico de etileno retardando sua ocorrência até o 15º dia. Não foram verificadas diferenças para os frutos do controle e do tratamento com $\text{N}_2\text{O} + 40\% \text{O}_2$.

A cadeia de transporte de elétrons catalisa o fluxo de elétrons do NADH para o O_2 , receptor final de elétrons do processo respiratório. O NADH e o FADH_2 têm de ser constantemente re-oxidados para não interromper o processo respiratório.

A cadeia de transporte de elétrons ocorre através de uma série de complexos protéicos nas membranas das cristas mitocondriais. Dentre estes complexos pode-se citar: Complexo I (NADH desidrogenase); complexo II (succinato desidrogenase); complexo III (complexo de citocromos bc_1); complexo IV (citocromo c oxidase).

O complexo IV é a oxidase terminal e realiza a redução com quatro elétrons do O_2 e duas moléculas de H_2O (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O N_2O atua no complexo citocromo C oxidase da cadeia transportadora de elétrons sendo que o alto O_2 deve possibilitar que o NADH e FAD sejam oxidados continuando o processo e minimizando os efeitos do N_2O nesse processo.

No caso do CO_2 , este afeta o ciclo dos ácidos tricarboxílicos (ciclo de Krebs), que parece ser regulado pela baixa concentração de O_2 e elevada de CO_2 , com

efeitos pronunciados em enzimas específicas do ciclo. Elevadas concentrações de CO_2 inibem a conversão de succinato em malato e também de malato em piruvato, além de atuar sobre enzimas da glicólise como a fosfofrutoquinase e a piruvatoquinase.

Esta inibição da via glicolítica e do ciclo de Krebs, faz com que o vegetal direcione o metabolismo para a produção de acetaldeído e etanol.

É provável que os diferentes modos de atuação do N_2O e do CO_2 sobre o metabolismo, fazem com que o N_2O apresente menor propensão a desencadear processos fermentativos, diferentemente do CO_2 . O CO_2 atua sobre enzimas da glicólise e do ciclo dos ácidos tricarboxílicos e o N_2O atua na cadeia transporte de elétrons.

Figura 7 - Produção de CO_2 de bananas 'Nanicão' armazenadas em atmosfera controlada por 15 dias a $22 \pm 2^\circ\text{C}$

Durante o armazenamento observou-se escurecimento e ocorrência de necrose na região onde se realizou o corte para separar o "dedo" da penca das bananas. A partir dessa necrose alguns fungos patogênicos se desenvolveram como a podridão da coroa (*Fusarium roseum*) e a antracnose (*Colletotrichum musae*) além de patógenos oportunistas. Foram observados sintomas evidentes somente quando as bananas se encontravam completamente amadurecidas, a maior incidência ocorreu próximo ao 15º dia de armazenamento (Tabela 1).

Tabela 1 - Incidência de podridões em banana 'Nanicão' armazenadas em atmosfera controlada a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ¹

Tratamentos	Tempo (Dias)			
	0	5	10	15
Controle	0	0	10	47
20% N ₂ O + 40% O ₂ + 40% N ₂	0	0	0	37,5
40% N ₂ O + 40% O ₂ + 20% N ₂	0	0	0	62,5
60% N ₂ O + 40% O ₂	0	0	0	50
20% N ₂ O + 10% O ₂ + 70% N ₂	0	0	20	30
40% N ₂ O + 10% O ₂ + 50% N ₂	0	0	40	40
60% N ₂ O + 10% O ₂ + 30% N ₂	0	0	40	40

¹ Resultados expressos em porcentagem de frutos afetados.

Em todas as variáveis analisadas foram observadas maiores diferenças entre as concentrações de O₂ (40 e 10%) do que entre as concentrações de N₂O.

O oxigênio atua em diversos processos metabólicos da célula como a respiração, ou mesmo na biossíntese e ação do etileno, assim como outras reações de oxidação. Neste contexto mesmo ocorrendo uma supressão do metabolismo devido aos efeitos proporcionados pelo N₂O, a combinação com 40% de O₂ provavelmente possibilitou à célula vegetal realizar as reações metabólicas, continuando o processo de amadurecimento.

ACC oxidase da polpa é o fator chave para iniciar a produção auto-catalítica de etileno na polpa (LUCENA et al., 2004). A baixa produção de etileno em maçã armazenada em atmosfera controlada não é devida a falta de ACC na célula, mas devido à inibição da síntese de ACC oxidase (ZIMMER et al., 1999).

Banana maçã submetida a aplicação de 50 nL.L⁻¹ de 1-MCP retardou o amadurecimento apenas até as primeiras alterações da cor da casca (Pinheiro et al. 2005), ou seja, no período pré-climaterico, não interferindo no pós-climaterico. No entanto, doses maiores de 1-MCP alteraram todo amadurecimento.

Golding et al. (1998) verificaram que bananas tratadas com 1-MCP prolongaram a vida pós-colheita no período pré-climaterico mas não evitou a ocorrência do pico climaterico. Eles sugerem que o 1-MCP assim como outros inibidores de etileno, se liguem irreversivelmente ao receptor, mas causem um aumento na expressão da ACC sintase.

Rothan e Nicholas (1994) demonstraram que o estímulo e a supressão à produção de etileno pelo CO_2 dependem dos níveis de ACC em Kiwi.

Com base nas afirmações destes trabalhos, pode-se dizer que a exposição contínua ao N_2O possibilitou o bloqueio dos processos responsáveis pela produção auto-catalítica do etileno, contribuindo para retardar as reações que possibilitam o amadurecimento. E que 40% O_2 atuou estimulando a ACC oxidase e a percepção do etileno suprimindo os efeitos proporcionados pelo N_2O .

5.2.2 Goiaba

Pela avaliação visual da cor da casca verificou-se que os tratamentos com 10% O_2 retardaram a evolução da cor da casca das goiabas durante o período sob atmosfera controlada conservando a casca mais verde. Os tratamentos com 40% O_2 sofreram rápida evolução da cor da casca. No 8º dia de armazenamento as goiabas dos tratamentos com 40% de O_2 receberam nota 5, sendo que as goiabas com 10% de O_2 nota 2 e tratamento controle nota 4 (Figura 8).

Ao serem expostas à atmosfera ambiente as goiabas dos tratamentos com 10% O_2 retomaram a capacidade de perda da cor verde da casca evoluindo para notas entre 3 e 3,5.

Os resultados obtidos pela avaliação visual da cor da casca sugerem que o N_2O pode reter a perda da cor verde da casca, porém é influenciado pela concentração de O_2 presente no tratamento.

Figura 8 - Notas de aparência de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$

No primeiro dia de armazenamento as goiabas apresentavam valor de hue de 115° . Após 8 dias, as goiabas submetidas aos tratamentos com $\text{N}_2\text{O} + 10\% \text{O}_2$ apresentavam a casca verde com valor hue entre 112° e 114° , diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) do controle que apresentou hue de 107° . No caso das goiabas do tratamento com $\text{N}_2\text{O} + 40\% \text{O}_2$ o hue foi de 96° indicando a cor da casca totalmente amarela. Após 4 dias sob condição ambiente as goiabas do tratamentos com $10\% \text{O}_2$ apresentaram hue entre 105° a 108° (Figura 9).

O 1-MCP é um regulador vegetal que atua como um bloqueador da ação do etileno impedindo sua ligação ao receptor e afetando tanto o etileno endógeno como o exógeno. O AVG (aminoetoxivinilglicina) impede a conversão de SAM em ACC diminuindo a atividade da ACC sintase. Quando aplicados em goiabas 'Kumagai', o AVG proporcionou pouca retenção da cor verde sendo semelhante ao tratamento controle (CAVALINI, 2008). O 1-MCP foi eficiente em retardar a perda da cor verde, atuando até o nono dia de armazenamento, quando a goiaba re-iniciou a perda da cor verde (CAVALINI, 2008; CERQUEIRA, 2009b).

Essas substâncias antagonistas ao etileno com modos de ação distintos proporcionaram respostas deferentes sobre a cor da casca, como também foi observado para o óxido nítrico.

Figura 9 - Ângulo de cor de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 115°

Não foram verificadas diferenças significativas ($p\leq 0,05$) entre os tratamentos para os teores de sólidos solúveis (Figura 10). Esse resultado também foi observado em outros experimentos (Jacomino, 2000). A goiaba 'Kumagai' não apresenta incrementos de sólidos solúveis significativos durante o armazenamento.

Figura 10 - Teor de sólidos solúveis de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero $8,2^{\circ}\text{Brix}$

Quanto ao teor de acidez titulável, não foram verificadas diferenças significativas ($p\leq 0,05$) entre os tratamentos durante o armazenamento. Esse

resultado está de acordo com diversos autores que trabalharam com goiaba cultivar Kumagai (CAVALINI, 2008; JACOMINO, 2000) (Figura 11).

Os tratamentos com N_2O assim como o O_2 não influenciaram de forma significativa essa variável.

Figura 11 - Acidez titulável de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^\circ C$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 0,69 g de ácido cítrico 100 g de polpa⁻¹

O teor de ácido ascórbico aumentou para todos os tratamentos em relação à caracterização. Goiabas 'Kumagai' apresentam aumento do teor de ácido ascórbico durante o armazenamento (JACOMINO, 2000; CAVALINI, 2006). As goiabas dos tratamentos com N_2O + 40% O_2 apresentaram os maiores teores de ácido ascórbico, o que provavelmente foi proporcionado pelo estágio de amadurecimento mais avançado. As goiabas dos tratamentos de N_2O + 10% O_2 apresentaram os menores valores (Figura 12). Em goiabas 'Kumagai' tratadas com 1-MCP também ocorreu incremento nos teores de ácido ascórbico ao longo do armazenamento (CERQUEIRA et al., 2009b).

Como o teor de ácido ascórbico usualmente aumenta em goiabas 'Kumagai' pode-se inferir que os teores observados para os tratamentos estão mais relacionados ao estágio de maturação da goiaba do que ao tratamento em si. É pouco provável que o N_2O tenha efeito direto sobre a biossíntese de ácido ascórbico na goiaba. Uma vez que o ácido ascórbico possui duas formas de biossíntese

descritas, através da glicose 6P, produzida a partir da glicólise do processo respiratório, ou mesmo da manose da parede celular (SMIRNOFF, 1996).

Figura 12 - Evolução do teor de ácido ascórbico de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^\circ\text{C}$. Dia zero = 116,8 g de ácido ascórbico 100 g de polpa⁻¹

Os tratamentos com $\text{N}_2\text{O} + 10\% \text{O}_2$ apresentaram os maiores valores de firmeza da polpa sendo superiores a 40N enquanto que os frutos dos tratamentos com $\text{N}_2\text{O} + 40\% \text{O}_2$ apresentaram valores abaixo de 20N, no 8º dia. As goiabas do controle apresentaram firmeza de 28N no 8º dia (Figura 13).

A diminuição da firmeza da polpa em goiabas é resultado de mudanças resultantes da ação de enzimas associadas à parede celular, tais como PME, PG, β -galactosidase, celulase, entre outras, que atuam sobre as pectinas e outros carboidratos (BARRET; GONZALEZ, 1994).

A atividade da PME prepara o substrato para a ação da PG, que também resulta no aparecimento de blocos contínuos de resíduos de galacturonatos ionizados (ROY; JAUNEAU; VIAN, 1994).

Segundo King e O'Donoghue (1995) o aumento na atividade de PG, no início do amadurecimento, é típico de frutos climatéricos, como a goiaba 'Kumagai', causando redução na força do material cimentante da parede celular e, conseqüentemente, amaciamento do tecido.

O $\text{N}_2\text{O} + 10\% \text{O}_2$ provavelmente reduziu as respostas relacionadas ao etileno e, conseqüentemente, a síntese dessas enzimas que degradam a parede celular retardando a perda de firmeza da polpa da goiaba.

Figura 13 - Firmeza da polpa de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$). Dia zero = 70 N

Determinou-se a produção de CO_2 dos tratamentos com 40% N_2O combinados as duas concentrações de O_2 (10% e 40%) (Figura 14).

Nestes tratamentos observou-se que o N_2O combinado a 10% O_2 reduziu a produção de CO_2 da goiaba durante todo armazenamento. O $\text{N}_2\text{O} + 40\% \text{O}_2$ também proporcionou alguma redução, porém a produção de CO_2 foi intermediária entre os tratamentos controle e $\text{N}_2\text{O} + 10\% \text{O}_2$.

Figura 14 - Produção de CO_2 de goiabas 'Kumagai' armazenadas em atmosfera controlada por 8 dias a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$

Foram observadas podridões em alguns tratamentos, porém somente quando as goiabas se encontravam completamente amadurecidas (Tabela 2).

Soares¹ os resultados obtidos sobre isolados *in vitro*, a aplicação de N₂O apresentou efeito fungistático sobre os patógenos, sendo que quanto maior a concentração de N₂O e menor a de O₂, maior retenção no crescimento miscelial foi observada (informação pessoal).

Tabela 2 - Incidência de podridões em goiabas 'Kumagai' armazenadas em atmosfera controlada por 8 dias a 22±2°C[†]

Tratamentos	Tempo (Dias)		
	0	4	8
Controle	0	0	33
20% N ₂ O + 40% O ₂ + 40% N ₂	0	0	10
40% N ₂ O + 40% O ₂ + 20% N ₂	0	0	0
60% N ₂ O + 40% O ₂	0	0	0
20% N ₂ O + 10% O ₂ + 70% N ₂	0	0	10
40% N ₂ O + 10% O ₂ + 50% N ₂	0	0	0
60% N ₂ O + 10% O ₂ + 30% N ₂	0	0	10

[†] Resultados expressos em porcentagem de frutos afetados.

O N₂O se liga a lipídios e proteínas como a citocromo C oxidase, inibindo sua atividade na mitocôndria em sementes, folhas e suspensões celulares, causando diminuição no consumo de oxigênio, sendo este efeito parcial e reversível (SOWA; TOWILL, 1991).

O N₂O afeta o etileno tanto no sistema 1 quanto no sistema 2. Para o sistema 1 ocorre a formação de um complexo N₂O-Etileno. Este complexo impede a ação do etileno. Para o sistema 2 ocorre inibição das enzimas de produção auto-catalítica (ACC sintase e oxidase) (PALOMER et al., 2005).

Desta forma, a utilização do N₂O retardou o amadurecimento das goiabas em comparação àquelas do controle. Comparando o N₂O com diferentes pressões parciais de O₂ em goiabas verifica-se que quando este foi combinado a 40% O₂, não proporcionou efeitos inibidores do amadurecimento.

O amadurecimento de goiabas é caracterizado pela perda da cor verde, diminuição do brilho, perda de firmeza, aparecimento de podridões e murchamento.

6 Experimento 4: Avaliação bioquímica dos tratamentos com atmosfera controlada

6.1 Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças, do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ-USP, em Piracicaba-SP. Foram utilizadas bananas da variedade Nanicão e goiabas da variedade Kumagai, como descrito na anteriormente (pág. 33).

Os frutos das duas espécies foram submetidos aos vários tratamentos de atmosfera controlada, em temperatura ambiente ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$). Os tratamentos foram escolhidos dos experimentos anteriores constituídos por concentrações de O_2 , CO_2 e N_2O aplicados em misturas, em sistema de fluxo contínuo. Para o controle utilizou-se fluxo de ar.

Os tratamentos utilizados em bananas e goiabas para avaliação de acetaldeído e etanol foram:

- a) Controle (Fluxo de ar)
- b) 5% CO_2 + 10% O_2 + 85% N_2
- c) 30% CO_2 + 70% O_2
- d) 30% CO_2 + 10% O_2 + 60% N_2
- e) 60% N_2O + 10% O_2 + 30% N_2
- f) 60% N_2O + 40% O_2
- g) 100% O_2 + 0% N_2
- h) 10% O_2 + 90% N_2

Foram escolhidos tratamentos representativos dos experimentos anteriores para avaliar seus efeitos sobre o metabolismo oxidativo e a geração de espécies reativas de oxigênio em bananas e goiabas.

Os tratamentos utilizados para as determinações bioquímicas em bananas e goiabas foram:

- a) Controle (Fluxo de ar)
- b) 5% CO₂ + 10% O₂ + 85% N₂
- c) 30% CO₂ + 70% O₂
- d) 100% O₂ + 0% N₂
- e) 60% N₂O + 10% O₂ + 30% N₂
- f) 60% N₂O + 40% O₂

Metodologia das análises:

Acetaldeído e etanol: utilizou-se metodologia adaptada de Davis e Chace Júnior (1969). Foram preparadas amostras padrões de etanol e acetaldeído e injetadas em cromatógrafo a gás equipado com coluna Porapak N de 1,8m e detector de ionização de chama (FID), para estabelecimento da curva padrão. As configurações do cromatógrafo foram: forno a 140°C durante 8 minutos; após esse tempo, aumento de 20°C a cada minuto até atingir 180°C, ficando nesta temperatura por 2 minutos para limpeza da coluna; injetor: 150°C; detector: 180°C; pressão: 190 KPa (constante) e fluxo de N₂ de 70 mL min⁻¹. Amostras de 1g de polpa de banana e goiaba foram colocadas em frascos de 40 mL, os quais foram mantidos em banho-maria a 50°C por 30 minutos. Decorrido este tempo, amostras de 1mL de gás foram coletadas do interior dos frascos com seringa Gastight marca Hamilton de 2,5ml e injetados no cromatógrafo. Os teores de acetaldeído e de etanol das amostras foram calculados correlacionando as respectivas áreas cromatográficas com aquelas obtidas nas curvas padrões. Os resultados foram expressos em µg g⁻¹.

Determinação da atividade das enzimas do metabolismo oxidativo: Utilizou-se material vegetal da casca dos frutos, de onde foi coletado somente tecido sadio. As amostras foram coletadas logo após a retirada dos frutos do tratamento e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido.

As análises das enzimas foram realizadas por atividade em espectrofotometria, de acordo com a descrição que se segue:

Extração protéica: As amostras foram coletadas nos períodos de avaliação, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -30°C até o momento da avaliação. Foram pesados aproximadamente 1 g de polpa e trituradas em nitrogênio líquido com auxílio de moinho, em seguida foi colocada a solução contendo tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), EDTA 1mM, DL-Dithiotereitol (DTT) 3 mM e 4% de PVPP. Após centrifugação a $12000 \times g$ por 30 minutos a 4°C o sobrenadante foi coletado.

No caso da peroxidase (POD), foram pesadas amostras de aproximadamente 300 mg para a banana e 1 g para a goiaba, maceradas em N_2 líquido em almofariz contendo 5 ml de tampão fosfato de potássio 0,2 M, de pH 6,7 e então centrifugadas a $12000 \times g$ a 4°C , durante 10 minutos, obtendo-se o extrato bruto. Foi utilizado o sobrenadante como extrato enzimático.

Atividade da catalase – CAT (EC 1.11.1.6): A atividade foi determinada pela decomposição do peróxido de hidrogênio, durante 1 minuto em espectrofotômetro a 240 nm, de acordo com metodologia adaptada de Azevedo; Alas e Smith (1998). A reação consistiu da adição de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH7,5), 7,5 μL de peróxido de hidrogênio (30%) e 45 μL de extrato.

Atividade da superóxido dismutase – SOD (EC 1.15.1.1): A atividade foi determinada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT). Foram adicionados 50 μL do extrato enzimático a 3,0 mL do meio de incubação composto por: tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, metionina 50 mM, EDTA 10 mM, NBT 1 mM e riboflavina 0,1 mM. Os tubos foram iluminados com lâmpada fluorescente de 15W por 5 minutos. Para o controle, foi utilizado o mesmo meio de reação sem adição de extrato, sendo um iluminado e outro mantido no escuro. As leituras foram realizadas a 560 nm metodologia adaptada de Giannopolitis e Reis (1977).

Atividade da Ascorbato peroxidase – APX (EC 1.11.1.11): a atividade foi determinada pelo acompanhamento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, por 2 minutos. Uma alíquota de 150 μL do extrato enzimático foi adicionada a 1950 μL de tampão fosfato de potássio 80 mM pH 7,0 mais 300 μL de ascorbato 0,8mM, 300 μL de EDTA 1mM, 300 μL de peróxido de hidrogênio 1,45mM, 150 μL de extrato.

Metodologia adaptada de Nakano e Asada (1981). O fator de extinção utilizado foi $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Atividade da Peroxidase – POD (EC 1.11.1.7): utilizou-se metodologia adaptada de Lima (1994). Foram elaboradas duas soluções: Solução A e Solução B. A Solução A foi constituída da diluição de 2,2 ml de H_2O_2 35% em 10 ml de H_2O destilada. Tomaram-se 0,5ml desta solução e completou-se para 50 ml com tampão fosfato. A Solução B foi preparada diluindo-se 83,3 mg de APP (aminoantipirina) em 10 ml de H_2O destilada e 163 mg de fenol em 70 ml de H_2O destilada. Juntaram-se as duas diluições e completou-se para 100 ml de H_2O destilada. Uma alíquota de 1 ml de extrato foi adicionado a 0,5 ml de Solução A e 0,5 ml de Solução B. O branco constituiu-se de 0,5 ml de Solução A, 0,5 ml de Solução B e 1,0 ml de tampão. Após banho-maria a 30°C por 5 minutos a reação foi interrompida com 2,0 ml de álcool etílico absoluto, procedeu-se a leitura a 505 nm.

Radicais superóxido – O_2^- : o teor foi determinado em espectrofotômetro a 490 nm pela oxidação da epinefrina a adrenocromo (MINIBAYEVA; BECKETT, 2001). A reação consistiu da adição de 50 μL de extrato a 3,0 mL de água pH 7,0 e 1 mM de epinefrina. Após agitação moderada por 20 minutos no escuro interrompeu-se a reação com a adição de 50 μL de HCl 0,05 N, realizando-se em seguida a leitura. O fator de extinção utilizado foi $4,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Determinação de proteínas totais – realizada através do Método de Bradford (1976), utilizando-se o BSA como padrão. As atividades específicas foram calculadas a partir da quantidade de proteína total.

Delineamento

Para as determinações de acetaldeído e etanol foram realizadas coletas nos seguintes períodos de armazenamento: Para as bananas: início do experimento, 10º e 15º dias sob atmosfera controlada e após 5 dias no ambiente. Para as goiabas: início do experimento, 8º dia sob AC e após 4 dias no ambiente.

O delineamento foi inteiramente casualizado constituído de 3 repetições de 1 frasco por tratamento para as análises de acetaldeído e etanol.

Para as determinações enzimáticas foram realizadas coletas nos seguintes períodos de armazenamento: Para as bananas: início do experimento, 6º, 12º, 18º dias sob AC e após 6 dias no ambiente. Para as goiabas: início do experimento, 4º, 8º, dias sob AC e após 4 dias no ambiente.

Para estas determinações utilizaram-se 3 repetições por tratamento realizando-se as leituras em triplicata de cada amostra.

Análise estatística

Realizada como descrita anteriormente (pág. 37).

6.2 Resultados e discussão

6.2.1 Banana

O tratamento com 30% CO₂ + 10% O₂ apresentou os maiores teores de acetaldeído e etanol. Provavelmente apresentou respiração anaeróbica produzindo compostos resultantes do metabolismo fermentativo (Figura 1).

Outros tratamentos apresentaram alguma produção de acetaldeído e etanol, porém em níveis próximos aos observados para o controle não sendo verificado odor ou sabor característico de processos fermentativos nos frutos destes tratamentos.

Figura 1 - Produção de acetaldeído e etanol de bananas 'Nanicão' armazenadas por 15 dias em atmosfera controlada e mais 5 dias sem aplicação dos tratamentos a 22±2°C

Além das respostas que o oxigênio ocasiona sobre a respiração e o metabolismo do etileno, outros processos metabólicos celulares são afetados. Evidências diretas de injúrias são demonstradas pelo acúmulo de produtos da

peroxidação lipídica ou perda na integridade das membranas (HODGES et al., 1999). Outros indicadores de injúrias oxidativas são determinações de produtos da oxidação tais como pigmentos marrons ou amarelados, manchas na superfície ou escaldadura superficial (VELTMAN et al. 1999). Os primeiros sinais do estresse oxidativo podem ser verificados através de alterações nas atividades de enzimas oxidativas ou compostos antioxidantes (HODGES; FORNEY, 2000).

Na banana, o teor de oxigênio reativo aumentou ao longo do armazenamento para todos os tratamentos quando comparados à caracterização. No 12º dia de armazenamento, as bananas submetidas ao tratamento com 60% N₂O + 10% O₂ apresentaram a menor geração de superóxidos o que possivelmente está associado não só ao baixo O₂ como à retenção do amadurecimento proporcionado por este tratamento (Figura 2). Sestari (2010) encontrou resultados semelhantes trabalhando com bananas tratadas com 1-MCP, onde o bloqueio da ação do etileno pelo 1-MCP inibiu o acúmulo de superóxidos, apresentando concentrações inferiores ao controle, ao longo do armazenamento.

As espécies reativas de oxigênio são consideradas como subprodutos do metabolismo celular, especialmente em organelas cuja atividade metabólica oxidante é elevada, como no caso de mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (DAT et al., 2000). À medida que o equilíbrio metabólico é perdido ou alterado, diferentes rotas podem ser afetadas e acumular intermediários tóxicos, ou ainda, serem desacopladas e, neste caso, os elétrons de alta energia que fluíam por um dado caminho podem vir a ser transferidos diretamente ao oxigênio molecular, intensificando a geração de EROs (MITTLER, 2002).

A queda no acúmulo de superóxidos observada a partir do 18º dia, mesmo nos tratamentos com alto O₂, pode estar relacionada ao estágio de senescência verificado, principalmente, nas frutas destes tratamentos.

Os tratamentos com 5% CO₂ + 10% O₂ e controle apresentaram comportamentos parecidos, com os teores aumentando gradualmente até o final do armazenamento (Figura 2). A geração de radicais livres é um processo comum e acontece constantemente nas células aeróbias (MITTLER, 2002). As espécies reativas tornam-se potencialmente danosas quando o equilíbrio entre a geração e a remoção é perdido (NOCTOR; FOYER, 1998).

O aumento nas EROs é um fator indicativo da ocorrência de um desequilíbrio celular contribuindo para antecipar o amadurecimento e a senescência das bananas.

Os efeitos do estresse oxidativo em pós-colheita podem se manifestar através da antecipação da senescência, alterações nos constituintes do sistema antioxidante ou mesmo pelo aparecimento de desordens fisiológicas (LESHEM; KUIPER, 1996).

Baixos níveis de estresse oxidativo se manifestam por mudanças na permeabilidade das membranas, mudanças nos constituintes do sistema antioxidante em nível de tecido celular ou por aumentos temporários nos constituintes dos sistemas antioxidantes enzimáticos ou não enzimáticos. No caso do estresse pós-colheita exceder a capacidade antioxidante do vegetal, pode ocorrer um declínio no sistema antioxidante, resultando em danos causados por espécies reativas de oxigênio com o conseqüente aparecimento de desordens fisiológicas. Podem-se citar dois fatores principais para o aparecimento de desordens pelo estresse oxidativo, sendo um a capacidade do produto em resistir ao estresse e o outro o nível e duração do estresse ao qual o produto está submetido (SHEWFELT; PURVIS, 1995).

Figura 2 - Oxigênio reativo da casca de bananas 'Nanicão' armazenadas por 18 em atmosfera controlada e mais 6 dias sem aplicação dos tratamentos a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3)

Foi verificado aumento de atividade da POD no decorrer do armazenamento. Verificou-se que os tratamentos associados ao alto oxigênio bem como o controle apresentaram maiores atividades. Os maiores valores foram observados no 18º dia, porém no 6º e no 12º dias as atividades dos tratamentos foram próximas aos valores da caracterização (Figura 3).

Segundo Da Silva et al. (1990) a atividade da POD aumenta com o amadurecimento e apresenta alta resposta a um aumento do etileno. A POD é uma enzima do grupo da oxidoredutases e participa catalisando diversas reações na célula, como a degradação da clorofila. Utiliza o H_2O_2 como substrato e muitas vezes o oxigênio com acceptor de elétrons (FREITAS et al., 2008).

Figura 3 - Atividade de POD da casca de bananas 'Nanicão' armazenadas por 18 em atmosfera controlada e mais 6 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Para a enzima SOD verificou-se maior atividade para os tratamentos que retardaram o amadurecimento como o 5% CO_2 + 10% O_2 e 60% N_2O + 10% O_2 do dia zero até o 6º dia. Verificou-se que de modo geral as atividades sofreram uma redução do 6º dia para o 12º dia e apresentaram novo incremento no 18º dia, sendo o maior incremento observado para o tratamento com 100% de O_2 e para os tratamentos associados ao alto O_2 (Figura 4).

SODs são um grupo de metaloenzimas que protegem as células de radicais superóxido, catalisando a reação de desmutação para O_2 e H_2O_2 (SCANDALIUS, 1993).

Em tomates, a atividade das SODs é maior no fruto imaturo e tende a níveis mínimos de atividade no decorrer do amadurecimento, aumentando novamente com o fruto completamente amadurecido (RABINOWITCH; SKLAN; BUDOWSKI, 1982). Segundo Baker (1976) em bananas, não se verifica mudanças de atividade da SOD na passagem do pré-climatério para o pós-climatério.

Figura 4 - Atividade de SOD da casca de bananas 'Nanicão' armazenadas por 18 em atmosfera controlada e mais 6 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Para a atividade da CAT verificou-se pequenas variações entre os tratamentos com maior incremento ocorrendo ao final do armazenamento. No 18º dia todos os tratamentos apresentaram atividades próximas às verificadas para o controle, com exceção do tratamento 60% N₂O + 10% O₂ que permaneceu com atividade mais baixa (Figura 5).

CAT catalisa a dismutação de H₂O₂ a água e oxigênio. O papel central no mecanismo antioxidante em plantas é desempenhado pela SOD, sendo o produto de sua reação metabolizado pela CAT ou outras peroxidases como APX (BEYER; FRIDIVICH, 1987).

Figura 5 - Atividade de CAT da casca de bananas 'Nanicão' armazenadas por 18 em atmosfera controlada e mais 6 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

A atividade da APX apresentou aumento para os tratamentos com alto O_2 e o controle entre o 6º e o 12º dia de armazenamento. Os tratamentos que retardaram o amadurecimento apresentaram maiores atividades somente no último dia do armazenamento sob atmosfera. O tratamento 60% N_2O + 10% O_2 que mais retardou o amadurecimento, foi também o que apresentou a menor atividade durante todo período. A queda na atividade observada a partir do 18º dia pode estar relacionada a senescência (Figura 6).

A APX desempenha importante papel na remoção de espécies reativas através da redução do NADP e oxidação do ascorbato. Desta forma, o aumento na atividade desta enzima deve estar diretamente relacionado a maiores transferências de elétrons, provavelmente ocasionados pelo aumento no teor de superóxidos e outras espécies reativas.

Figura 6 - Atividade de APX da casca de bananas 'Nanicão' armazenadas por 18 em atmosfera controlada e mais 6 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Os tratamentos com alto oxigênio contribuíram para acelerar o amadurecimento das bananas quando comparado aos demais tratamentos, não sendo possível a avaliação destes tratamentos ao final do período sob atmosfera.

Baseando-se na atividade do complexo enzimático bem como nos teores de oxigênio reativo, observou-se que os tratamentos com alto oxigênio favoreceram uma elevação na quantidade de superóxidos. Embora, o complexo enzimático aparentemente tenha atuado no sentido de reduzir as espécies reativas, é possível que essa elevação na quantidade de superóxidos, juntamente com outros fatores, tenha contribuído para acelerar o amadurecimento, quando comparados ao tratamento controle.

As atividades das enzimas antioxidantes das células são determinadas por características da própria célula, sua especialização metabólica e por fatores ambientais aos quais as células estão expostas, tal como nível de oxigenação e presença de metabólitos. Enzimas antioxidantes exibem interações sinérgicas para protegerem umas as outras de um ataque específico de radicais livres (BLUM; FRIDOVICH, 1985).

Segundo Qusti; Abo-Khatwa e Lahwa (2010) a capacidade antioxidante da banana é classificada como moderada pelo teste de DPPH e baixa pela avaliação

dos fenólicos totais. É provável que as células da banana estejam mais expostas a ação de EROs do que frutas com maior capacidade antioxidante.

6.2.2 Goiaba

As goiabas apresentaram uma produção baixa de acetaldeído para todos os tratamentos. Os tratamentos controle, 30% CO₂ + 10% O₂ e 10% O₂ apresentaram os maiores valores (Figura 7).

Com relação ao teor de etanol, o tratamento com 30% CO₂ + 10% O₂ apresentou elevação do teor no 12º dia. Indicando a ocorrência de processos fermentativos, comprometendo odor e sabor dos frutos deste tratamento.

Outros tratamentos também apresentaram alguma produção de acetaldeído e etanol, porém não foi verificado odor ou sabor característico de processos fermentativos nos frutos destes tratamentos.

Figura 7 - Produção de acetaldeído e etanol de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a 22±2°C

O teor de superóxidos foi decrescente para todos os tratamentos no decorrer do amadurecimento (Figura 8). No caso do estresse pós-colheita exceder a capacidade antioxidante do vegetal, pode ocorrer um declínio no sistema antioxidante, resultando em danos causados por espécies reativas de oxigênio com o conseqüente aparecimento de desordens fisiológicas. Podem-se citar dois fatores principais para o aparecimento de desordens pelo estresse oxidativo, sendo um a capacidade do produto em resistir ao estresse e o outro o nível e duração do estresse ao qual o produto está submetido (LESHEM; KUIPER, 1996).

Figura 8 - Oxigênio reativo da casca de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

No caso da goiaba, verificou-se pouca alteração na atividade da POD no decorrer do armazenamento. A atividade da POD aumenta com o amadurecimento e apresenta alta resposta a um aumento do etileno. É provável que a atividade verificada para esta enzima esteja relacionada as quantidades de EROs produzidas pelo metabolismo (Figura 9).

Segundo Da Silva; Lourenço e Neves (1990) a atividade da POD aumenta com o amadurecimento e apresenta alta resposta a um aumento do etileno. A POD é uma enzima do grupo da oxidoreductases e participa catalisando diversas reações na célula, como a degradação da clorofila. Esta enzima utiliza o H_2O_2 como substrato e muitas vezes o oxigênio com aceptor de elétrons (FREITAS, 2008). O nível de atividade da POD pode ter contribuído com a degradação de clorofila observada na casca da goiaba.

Figura 9 - Atividade de POD da casca de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

De modo geral, a atividade da SOD foi menor no dia 4, elevando-se no dia 8 e sofrendo uma pequena queda quando os frutos foram retirados das atmosferas. Esta variação também foi verificada por outros autores em outras frutas como tangerinas, mangas e cerejas (Figura 10) (YANG; LEE; PARK, 2008).

Assim com observado para a POD é provável que a atividade verificada para esta enzima esteja relacionada às quantidades de EROs produzidas pelo metabolismo.

Figura 10 - Atividade de SOD da casca de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Para a atividade da CAT, observa-se que a maioria dos tratamentos permaneceu constante até o 4º dia de armazenamento, exceção ao 30% CO₂ + 70% O₂ que apresentou a menor atividade. No 8º dia, os tratamentos apresentaram tendência de redução na atividade. Porém, ao serem retirados das atmosferas, verificou-se uma tendência de incremento na atividade dos tratamentos restantes (Figura 11).

As enzimas antioxidantes operam em conjunto, desta forma é provável que as diferenças observadas para os tratamentos sejam devidas às interações entre as EROs e o complexo enzimático.

Figura 11 - Atividade de CAT da casca de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a 22±2°C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3)

A atividade da APX do tratamento 60% N₂O + 10% O₂ e do controle apresentou as maiores variações, iniciando com uma elevação no 4º dia, seguida de uma queda no 8º dia e novo aumento no 12º dia. Os tratamentos 5% CO₂ + 10% O₂, 30% CO₂ + 70% O₂, 100% O₂, 60% N₂O + 40% O₂ apresentaram atividade crescente durante o armazenamento (Figura 12).

A enzima APX é altamente correlacionada com a resposta dos vegetais aos estresses abióticos, utilizando o ascorbato como doador de elétrons para a redução do H₂O₂ (SHIGEOKA et al., 2002). O ciclo ascorbato-glutationa representa um mecanismo de detoxificação contra o H₂O₂.

O ciclo ascorbato – glutationa representa uma importante via de remoção do H_2O_2 em locais da célula onde este radical é produzido e a CAT normalmente não está presente (DEL RIO et al., 2002). Esse ciclo é composto pelos antioxidantes não enzimáticos ascorbato e glutationa os quais são oxidados e reduzidos em uma série de reações catalisadas por várias enzimas, sendo uma delas a APX (NOCTOR; FOYER, 1998).

Figura 12 - Atividade de APX da casca de goiabas 'Kumagai' armazenadas por 8 dias em atmosfera controlada e mais 4 dias sem aplicação dos tratamentos a $22 \pm 2^\circ C$. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3)

O efeito protetor dos antioxidantes em frutas e vegetais são relatados em três grandes grupos: vitaminas, fenólicos e carotenóides. Ácido ascórbico e fenólicos são conhecidos como antioxidantes hidrofílicos, enquanto que carotenóides são antioxidantes lipofílicos (HALLIWELL, 1996).

Metodologias para determinar a capacidade antioxidante dos vegetais podem ser baseadas na captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), poder de redução do metal (FRAP, CUPRAC), captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), captura do radical orgânico (ABTS, DPPH), quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídeos (TBARS, LDL) (FRANKEL; MEYER, 2000; ARUOMA, 2003). Dentre estes métodos, ABTS, FRAP, DPPH e ORAC são os mais utilizados atualmente (PÉREZ-JIMÉNES; SAURA-CALIXTO, 2006).

O método DPPH é baseado na captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

Segundo Thaipong et al. (2006) a goiaba possui uma excepcionalmente alta atividade antioxidante quando comparada a outras frutas. Pela atividade antioxidante determinada em metanol, goiabas de polpa branca possuem um dos valores mais altos entre as frutas, medidos em ácido ascórbico ou fenólicos totais. Frutas como banana, melão, pêra, morango apresentam atividade antioxidante de $1\mu\text{M TE g}^{-1}$ a aproximadamente $15\mu\text{M TE g}^{-1}$. Para goiaba o valor situa-se ao redor de $30\mu\text{M TE g}^{-1}$ determinados por vários métodos entre eles DPPH e ORAC.

Comparando a banana com a goiaba, Fu et al. (2011) verificaram que a capacidade antioxidante determinada pelo conteúdo fenólico da banana é de aproximadamente $57,13\text{ mg GAE }100\text{ g}^{-1}$, enquanto que para a goiaba é $194,11\text{ mg GAE }100\text{ g}^{-1}$.

Os tratamentos com alto oxigênio aplicados sobre as goiabas, da mesma forma como ocorreu para banana, reduziram a vida útil pós-colheita, não sendo possível avaliá-los após a transferência para o ar atmosférico.

Baseado na avaliação dos teores de oxigênio reativo, no caso da goiaba os tratamentos com alto oxigênio provocaram um estresse oxidativo de pouca intensidade. A observação da atividade do complexo enzimático sugere que este atuou no sentido de minimizar os danos provocados pelo estresse oxidativo, sendo que o alto oxigênio aplicado alterou de forma mais significativa a cor da casca.

Estes resultados sugerem que mais importante do que a geração espécies reativas causada pelo alto oxigênio, este afetou o metabolismo do etileno antecipando o pico climatérico e aumentando a respiração, porém para a banana, o alto oxigênio desencadeou certo nível de desorganização do metabolismo antioxidativo provavelmente causando danos às estruturas celulares. No caso da goiaba, os protetores enzimáticos e não enzimáticos atuaram minimizando os danos causados pelo alto oxigênio.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O alto O_2 acelerou o início da senescência dos frutos. Porém, foram observadas diferenças entre a banana e a goiaba, sendo que na banana antecipou a ocorrência do pico climatérico alterando todas as variáveis relacionadas. Na goiaba o efeito marcante observado foi a perda da cor verde da casca.

Quando o alto O_2 foi associado ao CO_2 e ao N_2O também foi verificada uma antecipação do início da senescência, porém os tratamentos com CO_2 e N_2O não se comportaram da mesma forma. O alto O_2 com CO_2 não reteve o amadurecimento, mas evitou a ocorrência de processos fermentativos mesmo nas concentrações mais elevadas de CO_2 .

Com relação ao N_2O , a associação ao alto O_2 não reteve o amadurecimento, ao contrário da associação ao baixo O_2 , que permitiu um aumento da vida pós-colheita de ambas as frutas, sem a ocorrência de processos fermentativos.

Na banana, o alto O_2 desencadeou acúmulo de oxigênio reativo com conseqüente alteração na atividade das enzimas envolvidas, diferindo da goiaba na qual os teores de oxigênio reativo se mantiveram baixos. Isso provavelmente devido às diferenças na capacidade antioxidante destas frutas que é maior na goiaba.

Desta forma, a atmosfera controlada com alto O_2 não contribuiu como tratamento pós-colheita para prolongar a vida útil da banana e a goiaba. Frutos dependentes do etileno para as reações do amadurecimento, assim como os climatéricos, sofrem efeitos negativos com a elevação do O_2 acima dos níveis verificados no ar.

Bananas 'Nanicão' e goiabas 'Kumagai' podem ser armazenadas sob N_2O + 10% O_2 .

REFERÊNCIAS

- ABDI, N.; McGLASSON, W.B.; HOLFORD, P.; WILLIAMS, M.; MIZRAHI, Y. Responses of climateric and suppressed-climateric plums to treatment with propylene and 1 - methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 14, n. 1, p. 29-39, Sept. 1998.
- ABELES, F.B.; MORGAN, P.W.; SALTVEIT, M.E. **Ethylene in plant biology**. San-Diego: Academic Press, 1992. 414p.
- ADSULE, R.N.; KADAM, S.S. Guava. In: SALUNKHE, D. K.; KADAM, S.S. (Ed.) **Handbook of fruit science and technology, production composition, storage and processing**. New York: Marcel Dekker, 1995. chap. 9, p. 419-433.
- AGAR, I.T.; STREIF, J.; BANGERTH, F. Effect of high CO₂ and controlled atmosphere (CA) on the ascorbic and dehydroascorbic acid content of some berry fruits. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 11, n. 1, p. 47-55, May. 1997.
- ALI, Z.M.; LAZAN, H. Guava. In: MITRA, S.K. (Ed.) **Postharvest of physiology and storage of tropical and subtropical fruits**. Wallingford: CAB International, 1997. cap. 6, p. 145-165.
- ALI, Z.M.; CHIM, L.H.; LAZAN, H. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. **Plant Science**, Amsterdam, v. 167, n. 2, p. 317-327, Aug. 2004.
- ALLENDE, A.; JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J.; ART´ES, F.; Effect of super atmospheric oxygen packaging on sensorial quality, spoilage, and *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas caviae* growth in fresh processed mixed salads. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 65, n. 10, p. 1565–1573, May. 2002.
- ALLENDE, A.; MARÍN, A.; BUENDÍA, B.; TOMÁS-BARBERÁN, F.; GIL, M.I. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O₃, superatmospheric O₂ and high CO₂) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 201–211, Dec. 2007.
- ALVES, E.J. **A cultura da banana: Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2. ed. Brasília: Embrapa – SPI/Cruz das Almas: Embrapa CNPMF, 1999. 585p.
- ANDREWS, P.K.; LI, S. Partial purification and characterization of β -D-galactosidase from sweet cherry, a nonclimateric fruit. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 42, n. 10, p. 2177-2182, Oct.1994.
- ARRIGONI, O.; DE TULLIO, M.C. Ascorbic acid: Much more than just an antioxidant. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1569, n. 1/3, p. 1–9, jan. 2002.

ARUOMA, O.I. Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, v.9-20, n. 1, London, p.523-524, Aug. 2003.

ATTA-ALY, M.A.; BRECHT, J.K.; HUBER, D.J. Ripening of tomato fruit locule gel tissue in response to ethylene. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 19, n. 1, p. 239–244, Mar. 2000.

AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, Ireland, v.104, n.2, p.280-292, Oct. 1998.

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A.P.; BRON, I.U. Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 139-145, fev. 2004.

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P.; BRON, I. U.; KLUGE, R. A.; SCHAVINATO, M. Ripening of Pedro Sato guava: study on its climateric or non-climateric nature. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Pelotas, v. 17, n. 3, p. 299-306, sept. 2005.

BAKER, J.E. Superoxide dismutase in ripening fruits. **Plant Physiology**, Maryland, v. 58, n. 5, p. 644-647, Nov. 1976.

BARRET, D.M.; GONZALEZ, C. Activity of softening enzymes during cherry maturation. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 3, p. 574-577, May 1994.

BASHIR, H.A.; ABU-GOUKH, A.A. Compositional changes during guava fruit ripening. **Food Chemistry**, Oxford, v. 80, n. 4, p. 557–563, May 2003.

BASSETO, E.; JACOMINO, A.P.; PINHEIRO, A.L.; KLUGE, R.A. Delay of ripening of 'Pedro Sato' guava with 1- methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 35, n. 3, p. 303-308, Mar. 2005.

BEAUDRY, R.M. Effect of O₂ and CO₂ partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 293 - 303, mar. 1999.

BEMISH, R.J.; RHEE, W.M.; MILLER, R.E. The structure and intramolecular dynamics of the nitrous oxide-ethylene complex: Experiment and ab initio theory. **Journal of Chemical Physics**, North Carolina, v. 104, n. 12, p. 4411-4418, Dec. 1996.

BEYER, W.F.; FRIDIVICH, I. Catalasis with and without heme. In: SIMIC, M. G., TAYLOR, K. A., WARD, J. F., VON SONNTAG, C. (Ed.). **Oxygen radicals in Biology and Medicine**, New York: Plenum Press, 1987. chap. 49, p. 651-661.

BIALE, J.B. The postharvest biochemistry of tropical and subtropical fruits. **Advances in Food Research**, New York, v. 10, n. 1, p. 293-354, 1960.

BIALE, J.B.; YOUNG, R.E. Respiration and ripening in fruits- retrospect and prospect. In: FRIENDS, J.; RHODES, M.J.C. (Ed.) **Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables**. London: Academic Press, 1981, chap. 1, p. 1-39.

BLEINROTH, E.W. Matéria prima. In: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Banana**: cultura, matéria prima, processamento e aspectos econômicos. Brasília: Embrapa, 1985, p. 133-196. (Série Fruta do Brasil).

BLEINROTH, E.W. **Tecnologia de pós-colheita de frutas tropicais**. Campinas: ITAL, 1992. 203p.

BLUM, J.; FRIDOVICH, I. Inactivation of glutathione peroxidase by superoxide radical. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, North Carolina, v. 240, n.2, p. 500-508, Aug.1985.

BOTELHO, R.V. **Efeito do tratamento pós- colheita com cálcio na ocorrência de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) e no amadurecimento de goiabas (*Psidium guajava* L.)**. 1996. 122p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Julho de Mesquita filho”, Botucatu,1996.

BOTREL, N.; FREIRE, M.J.; VASCONCELOS, R.M.; BARBOSA, H.T.G. Inibição do amadurecimento de banana ‘Prata-Anã’ com a aplicação do 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 53-56, abr. 2002.

BRADFORD, M.N. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analical Biochemistry**, San Diego, v. 72, p. 248–254, 1976.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, London, v.28, n. 1, p.25-30. Feb. 1995.

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

CALBO, A.G. Adaptação de um fluxcentro para estudos de trocas gasosas e um método de aferição de capilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.24, n.6, p.733-739, 1989.

CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R.M.M. **Análises químicas de alimentos**. Campinas: ITAL, 1990. 121p. (Manual Técnico).

CAVALINI, F.C.; JACOMINO, A.P.; LOCHOSKI, M.A.; KLUGE, R.A.; ORTEGA, E.M.M. Maturity indexes for ‘Kumagai’ and ‘Paluma’ guavas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 176-179, ago. 2006.

CAVALINI, F.C. **Fisiologia do amadurecimento, senescência e comportamento respiratório de goiabas 'Kumagai' e 'Pedro Sato'**. 2008. 91p. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

CERQUEIRA, T.S.; CUNHA Jr. L.C.; CALBO, A.G.; JACOMINO, A.P. Flowboard for postharvest gas mixtures applications to fruits and vegetables without waste of gas. In: INTERNATIONAL CONTROLLED AND MODIFIED ATMOSPHERE RESEARCH CONFERENCE, 10., 2009, Antalya. **Abstracts**... Leuven: ISHS, 2009. p.56 – 56a.

CERQUEIRA, T.S.; JACOMINO, A.P.; SASAKI, F.F.; AMORIN, L. Controle do amadurecimento de goiabas 'Kumagai' tratadas com 1-Metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.3, p. 687 – 692, Set. 2009b.

CHEVERRY, J.L.; SY, M.O.; POULIQUEEN, J.; MARCELLIN, P. Regulation by CO₂ of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid conversion to ethylene in climacteric fruits. **Physiologia Plantarum**, Haboquen, v. 72, n. 3, p. 535-540, Mar. 1988.

CHITARRA, M.I.F. Características das frutas de exportação. In: GONGATTI NETO, A.; GARCIA, A.E.; ARDITO, E.F.G.; GARCIA, E.E.C.; BLEINROTH, E.W.; MATALLO, M.; CHITARRA, M.M.I.F.; BORDIN, M. R. **Goiaba para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA, 1996. cap.1, p. 9-11 (Série Publicações Técnicas FRUPEX, 20).

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio** 2 ed. Lavras: FAEPE, 2005. 783p.

CLAYPOOL, L.L.; KEEFER, R.M. A colorimetric method for CO₂ determination in respiration studies. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Gainesville, v.40 p.177-186, 1942.

CORDENUNSI, B.R.; LAJOLO, F.M. Starch breakdown during banana ripening: sucrose synthase and sucrose phosphate-synthase. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Davis, v.43, n.2, p.347-351, Feb.1995.

COSTA, J.N.M. **Proteção de cachos de bananeira (*Musa* sp. AAA) em diferentes épocas e períodos, após a emergência da inflorescência**. 1998. 72p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

DA SILVA, E.; LOURENÇO, E.; NEVES, V. Soluble and bound peroxidases from papaya fruit. **Phytochemistry**, Great Britain, v. 29, n. 4, p. 1051-1056, Jan. 1990.

DAT, J.F.; LOPEZ, D.H.; FOYER, C.H.; SCOTT, I.M. Effects of salicylic acid on oxidative stress and thermotolerance in tobacco. **Journal of Plant Physiology**, Amsterdam, v. 156, n. 5/6, p. 659 – 665, May 2000.

DAY, B.P.F. High oxygen MAP for fresh prepared produce. **Postharvest News and Information**, Oxford, v. 7, n. 3, p.31-34, 1996.

DEL-RIO, L.A.; CORPAS, J.F.; SANDALIO, L.M.; PALMA, J.M.; GÓMEZ, M.; BARROSO, J.M. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 372, p. 1255-1272, Jan. 2002.

DENG, Y.; WU, Y.; LI, Y. Changes in firmness, cell wall composition and cell wall hydrolases of grapes stored in high oxygen atmospheres. **Food Research International**, Guelph, v. 38, n. 7, p. 769–776, Aug. 2005.

DHINGRA, M.K.; GUPTA, O.P.; CHUNDAWAT, B.S. Studies on pectin yield and quality of some guava cultivars in relation to cropping season and fruit maturity. **Journal of Food Science and Technology**, Chicago, v. 20, n. 1/2, p. 10-13, 1983.

DOMINGUEZ, M.; VENDRELL, M. Ethylene biosynthesis in banana fruit: Evolution of EFE activity and ACC levels in peel and pulp during ripening. **Journal of Horticultural Sciences**, Banglore, v.68, n.1, p.63-70,1993.

DURIGAN, J.F. Colheita, conservação e embalagens. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA GOIABEIRA. 1995, Jaboticabal, **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1997. p.149-158.

EL-BULUK, R.E.; BABIKER, E.F.E.; EL-TINAY, A.H. Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. **Food Chemistry**, Oxford, v. 59, n. 3, p. 395-399, 1997.

EL-GOORANI, M.A.; SOMMER, N.F. Effects of modified atmospheres on postharvest pathogens of fruits and vegetables. In: JENICK, J. (Ed.) **Horticulture Review**. Westport: The AVI Publishing, 1981. p. 412-461.

FATH, D.; SOUDAIN, P.; BORDES, M. Procédé de traitement de conservation de produits alimentaires végétaux frais. **European Patent Office Netherlands**, The Hague, n°. 90402748.9. 1990.

FLUHR, R.; MATTOO, A.K. Ethylene-Biosynthesis and Perception. **Critical reviews in Plant Sciences**, London, v. 15, n 5/6, p. 479-523, 1996.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problem of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v.80, p.1925-1941, Oct. 2000.

FREITAS, A.A.; FRANCELIN, M.F.; HIRATA, G.F.; CLEMENTE, E.; SCHMIDT, F. L. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p. 172-177, jan.-mar. 2008.

FU, L.; XU, B.; XU, X.; GAN, R.; ZHANG, Y.; XIA, E.; LI, H. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, Oxford, v. 129, n. 2, p. 345-350, nov. 2011.

GASPAR, T.H.; PENEL, C.L.; THORPE, T.; GREPPIN, H. **Peroxidases**: a survey of their biochemical and physiological roles in higher plants. Genève: Université de Genève, 1982. 324p.

GEHARDT, L.B.A.; MANICA, I.; KIST, H.; SIELER, R.L. Características físico-químicas dos frutos de quatro cultivares e três clones de goiabeira em Porto Lucena, RS. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 185-192, fev. 1997.

GIANNOPOLITIS, C.N.; REIS, S.K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Maryland, v. 59, n. 2, p. 309-314, Feb. 1977.

GIOVANNONI, J. Molecular biology of fruit maturation and ripening. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**, Somerville, v. 52, n. 1, p. 725-749, 2001.

GOLDING, J.B.; SHEARER, D.; WYLLIE, S.G.; McGLASSON, W.B. Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening processes in mature banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 14, n. 1, p. 87-98, Sept. 1998.

GORNY, J.R.; KADER, A.A. Low oxygen and elevated carbon dioxide atmospheres inhibit ethylene biosynthesis in preclimacteric and climacteric apple fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.122, n. 4, p.542-546, July 1997.

GOUBLE, B.; FATH, D.; SOUDAIN, P. Nitrous oxide inhibition of ethylene production in ripening and senescing climacteric fruits. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.5, n. 4, p. 311-321, Apr. 1995.

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

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Clarendon Press, 1989. 245p.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, Gainesville, v.16, p.33-50, july 1996.

HERNÁNDEZ, M.; LOBO, M.G.; GONZÁLEZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. **Food Chemistry**, Oxford, v.96, n. 4, p. 654-664, June 2006.

HEWAGE, K.S.; WAINWRIGHT, H.; LUO, Y. Effect of ethanol and acetaldehyde on banana ripening. **Journal of Horticultural Science**. London, v.70, n.1, p.51-55, 1995.

HODGES, D.M. **Postharvest oxidative stress in horticultural crops**. New York: Food Product Press, 2003. 266p.

HODGES, D.M.; DELONG, J.M.; FORNEY, C.F.; PRANGE, R.K. Improving the thiobarbituric acid-reactive assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta**, Heidelberg, v. 207, n. 4, p.604-611, 1999.

HODGES, D.M.; FORNEY, C.F. The effects of ethylene, depressed oxygen and elevated carbon dioxide on antioxidant profiles of senescing spinach leaves. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 344, p. 645-655, Mar. 2000.

HOFFMAN, N.E.; YANG, S.F. Changes of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid content in ripening fruits in relation to their ethylene production rates. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 105, p. 492-495, 1980.

HU, C.; VAN HUYSTEE, R.B. Role of carbohydrate moieties in peanut peroxidases. **Biochemical Journal**, Great Britain, v. 263, p.129-135, 1989.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sistema IBGE Disponível em:** <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 23 mar. 2011.

JACOMINO, A.P. **Conservação de goiabas 'Kumagai' em diferentes temperaturas e materiais de embalagem**. 1999. 90p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1999.

JACOMINO, A.P.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; SIGRIST, J.M.M.; KLUGE, R.A.; MINAMI, K. Armazenamento de goiabas 'Kumagai' sob diferentes temperaturas de refrigeração. **Braslian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 3, p. 165-169, nov. 2000.

JACOMINO, A.P.; SIGRIST, J.M.M.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; MINAMI, K.; KLUGE, R.A. Embalagens para conservação refrigerada de goiabas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n. 1, p. 50-54, abr. 2001.

JACOMINO, A.P.; CAVALINI, F.C.; TREVISAN, M.J.; ROSA, A.S.; SCARPARI, L.G. S. Influência do estágio de maturação na qualidade pós-colheita de goiabas 'Kumagai' e 'Paluma'. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18., 2004, Florianópolis. **Anais...** Jaboticabal: SBF, 2004. p.20.

JIANG, Y.; JOYCE, D.C. Softening response of 1-methylcyclopropene-treated banana fruit to high oxygen atmospheres. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v.41, n. 3, p. 225-229, 2003.

JOHNSON, G.I.; SANGCHOTE, S. Control post-harvest disease of tropical fruits: challenges for the 21st century. In: _____. **Postharvest handling of tropical fruits**, Australia: Proceedings Sidney, 1994. p.140-161.

KADER, A.A. Biochemical and physiological basics 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.; BEN-YEHOSHUA, S. Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, p. 1-13, 2000.

KAO, C.H. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 39, p. 83-89, 2003.

KARAKURT, Y.; HUBER, D.J. Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 28, p. 219-229, 2003.

KAYS, S.J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: AVI Book, 1991. 532p.

KE, D.; RODRIGUEZ-SINOBAS, L.; KADER A.A. Physiology and prediction of fruit tolerance to low-oxygen atmospheres. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 116, n. 2, p. 253-260, Mar. 1991.

KING, G.A.; O'DONOGHUE, E.M. Unravelling senescence: New opportunities for delaying the inevitable in harvested fruit and vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, New York, v.6, p.385-389, Dec. 1995.

KNEE, M. Evaluating the practical significance of ethylene in fruit storage. In: ROBERTS, J.A.; TUCKER, G.A. **Ethylene and Plant Development**. London: Butterworths, 1985. p. 297-315.

KOJIMA, K.; SAKURAI, N.; KURAISHI, S. Fruit softening in banana: correlation among stress-relaxation parameters, cell wall components and starch during ripening. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 90, n. 4, p. 772-778, 1994.

LANA, M.M.; FINGER, F.L. **Atmosfera modificada e controlada**: aplicação na conservação de produtos hortícolas. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000. 34p.

LANGE, D.L.; KADER, A.A. Effects of elevated carbon dioxide on key mitochondrial respiratory enzymes in 'Hass' avocado fruit and fruit disks. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 122, n. 2, p. 238-244, Mar. 1997.

LARSON, R.A. The antioxidants in higher plants. **Phytochemistry**, Oxford, v. 27, p. 969-978, 1988.

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.

LELIÉVRE, J.M.; LATCHÉ, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M.; PECH, J.C. Ethylene and fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 101, p. 727-739, 1997.

LESHEM, Y.Y.; KUIPER, P.J.C. Is there a GAS (general adaptation syndrome) response to various types of environmental stress? **Biologia Plantarum**, Netherlands, v. 38, n. 1, p. 1-18, Apr.1996.

LESHEM, Y.Y.; WILLS, R.B.H. Harnessing senescence delaying gases nitric oxide and nitrous oxide: a novel approach to postharvest control of fresh horticultural produce. **Biology Plants**, Netherlands, v. 41, n. 1, p. 1-10, 1998.

LIMA, G.P.P. **Efeito do cálcio sobre o teor de poliaminas e atividade da peroxidase e redutase do nitrato em calos de arroz (*Oriza sativa* L. cv. IAA 4440)**. 1994. 135p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 1994.

LITCHTENTALER, H. An introduction to the stress concept in plants. **Journal of Plant Physiology**, New York, v. 148, p. 4–14, 1996.

LOHANI, S.; TRIVEDI, P.K.; NATH, P. Changes in activities of cell wall hydrolases during ethylene-induced ripening in banana: effect of 1-MCP, ABA and IAA. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 31, p. 119-126, 2004.

LUCENA, E.M.P.; JR. SILVA, A.; SILVA, A.M.C.; CAMPELO, I.K.M.; SOUSA, J.S.; COSTA, T.L.; MARQUES, L.F.; PAIXÃO, F.J.R. Uso de etileno exógeno na maturação da banana variedade Prata-Anã. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 6, n.1, p 55-60, 2004.

MANICA, I. **Bananas**: do plantio ao amadurecimento. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1998. 99p.

MANICA, I.; ICUMA, I.M.; JUNQUEIRA, N.T.V.; SALVADOR, J.O.; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. **Fruticultura tropical**: goiaba. Porto Alegre: Cinco continentes, 2000. 373p.

MATSUURA, F.C.A.U.; FOLEGATTI, M.I. da S. (Ed.) **Banana**: pós-colheita, Brasília, DF: EMBRAPA-SCT; EMBRAPA-CNPMP, 2001. 71p. (Frutas do Brasil, 16).

MATTIUZ, B. **Efeitos de injúrias mecânicas e do processamento mínimo na fisiologia pós-colheita de goiabas (*Psidium guajava* L.)**. 2002. 120p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2002.

McGLASSON, W.B. Ethylene and fruit ripening. **HortScience**, Alexandria, v. 20, n. 1, p. 51-54, 1985.

McGUIRRE, R.G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

McMURCHIE, E.J.; McGLASSON, W.B.; EAKS, I.L. Treatment of fruits with propylene gives information about the biogenesis of ethylene. **Nature**, London, v. 237, n. 5352, p. 235-236, 1972.

MERCADO-SILVA, E.; BAUTISTA, P.B.; GARCIA-VELASCO, M.A. Fruit development, harvest index ripening changes of guavas produced in central Mexico. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 13, n. 2, p. 143-150, 1998.

MINIBAYEVA, F.; BECKETT, R.P. High rates of extracellular superoxide production in bryophytes and lichens, and an oxidative burst in response to rehydration following desiccation. **New Phytologist**, London, v. 152, p. 333-341, 2001.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, London, v.7, p. 405-410, 2002.

MORAES, W.S.; ZAMBOLIM, L.; LIMA, J.D. Incidência de fungos em pós-colheita de banana 'Prata anã' (*Musa AAB*)* **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 67-70, 2006.

MÔRO, F.V.; NATALE, W.; DAMIÃO FILHO, C.F.; PRADO, R.M. Morfologia de frutos de goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 32-34, 2003.

MOTA, R.V. **Metabolismo amido-sacarose e determinação de açúcares solúveis em alguns cultivares de banana (*Musa spp*)**. 1997. 75p. Tese (Mestre em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

MOWLAH, G.; ITOO, S. Guava (*Psidium guajava* L.) sugar components and related enzymes at stages of fruit- development a ripening. **Journal of Japanese Society of Food Science and Technology**, Kyoto, v.29, n.8, p. 472-476, 1982.

MULLINEAUX, P.; ENARD, C.; HELLENS, R.; CREISSEN, G. Characterization of a glutathione reductase gene and its genetic locus from pea (*Psidium sativum* L.). **Planta**, New York, v. 200, n. 2, p. 186-194, 1996.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v.22, p. 867-880, 1981.

NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen species under control. **Annual Review Plant Physiology and Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p.249-279, 1998.

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

OLIVEIRA, M.A. **Utilização de película de mandioca como alternativa à cera comercial na conservação pós-colheita de frutos de goiaba (*Psidium guajava* L.)**. 1996. 73p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

OLIVEIRA, M.A.; CEREDA, M.P. Efeito da película de mandioca na conservação de goiabas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 2, n. 1/2, p. 97-102, 1999.

PALOMER, X.; ROIG-VILLANOVA, I.; GRIMA-CALVO, D.; VENDRELL, M. Effects of nitrous oxide (N₂O) treatment on the postharvest ripening of banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 36, n. 2, p. 167–175, 2005.

PANTÁSTICO, E.B. **Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables**. Westport: AVI, 1975. 560p.

PBMH. Normas de Classificação de Banana. São Paulo: Centro de Qualidade em Horticultura, CEAGESP, 2005. (Documentos SECQH, 29).

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, Amsterdam, v.39, n. 7, p.791-800, Aug. 2006.

PESIS, E.; COPEL, A.; BEN-ARIE, R.; FEYGENBERG, O.; AHARONI, Y. Low-oxygen treatment for inhibition of decay and ripening in organic bananas. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ahsford, v. 75, n. 5, p. 648-652, Sept. 2001.

PINHEIRO, A.C.M.; VILAS BOAS, E.V.B.; MESQUITA, C.T. Ação do 1-Metilciclopropeno (1-MCP) na vida de prateleira da banana 'maçã'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 25-28, abr. 2005.

PRABHA, T.N.; BHAGYALAKSHMY, N. Carbohydrate metabolism in ripening banana fruit. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 48, n. 6, p. 915-919, 1998.

PRASAD, T.K.; ANDERSON, M.D.; STEWART, C.R. Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in mayze seedlings. **Plant Physiology**, New York, v. 105, p. 619-627, 1994.

PRUSKY, D.; PLUMBLEY, R.A.; KOBILER, I.; ZAUBERMAN, G.; FUCHS, Y. The effect of elevated CO₂ levels on the symptom expression of *Colletotrichum gloeosporioides* on avocado fruits. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 42, p. 900-904, 1991.

PURGATTO, E.; LAJOLO, F.M.NASCIMENTO, J.R.O., CORDENUNSI, B.R. Inhibition of β -amylase activity, starch degradation and sucrose formation by indole-3-acetic acid during banana ripening. **Planta**, Berlin/Heidelberg, v.212, n.5/6, p.823-828, Apr. 2001.

PURVIS, A.C. The role of adaptative enzymes in carbohydrate oxidation by stressed and senescing plant tissues. **Hortscience**, Alexandria, v. 32, n. 7, p 195-198, 1997.

QUSTI, S.Y.; ABO-KHATWA, A.N.; LAHWA, M.A.B. Screening of antioxidant activity and phenolic content of selected food items cited in the holly Quran. **e-Journal of Biological Sciences**, Peshawar, v.2, n.1, p. 1-12, Jan-March. 2010.

- RABINOWITCH, H.D.; SKLAN, D.; BUDOWSKI, P. Photo-oxidative damage in the ripening tomato fruit: Protective role of superoxide dismutase. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 54, n. 3, p. 369-374, Mar. 1982.
- RENNENBERG, H. Glutathione metabolism and possible biological roles in higher plants. **Phytochemistry**, Amsterdam, v.21, p. 2778-2781, 1982.
- ROBARDS, K.; PRENZLER, P.D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, Oxford, v. 66, p. 401-436, 1999.
- ROSSETTO, M.R.M.; LAJOLO, F.M.; CORDENUNSI, B.R. Influência do ácido giberélico na degradação do amido durante o amadurecimento da banana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n.1, p. 76-81, 2004.
- ROTHAN C.; NICHOLAS J. High CO₂ levels reduce ethylene production in kiwifruit. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 92, p. 1-8, 1994.
- ROY, S.; JAUNEAU, A; VIAN, B. Analytical detection of calcium ions and immunocytochemical visualization of homogalacturonic sequences in the ripe cherry tomato. **Plant Physiology Biochemistry**, Paris, v.32, n.5, p.633-640, 1994.
- RUGINI, E.; BONGI, G.; FONTANAZZA, G. Effects of ethephon on olive ripening. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 107, p. 835-838, 1982.
- RYALL, A.L.; LIPTON, W.J. **Handling, transportation and storage of fruits and vegetables**. Vegetables and melons. 2nd ed. Connecticut: AVI Publishing, 1979. 587p.
- SALTVEIT, M.E. Effect of ethylene on quality of fresh fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 15, p. 279-292, 1999.
- SANTOS, C.M.S.; VILAS BOAS, E.V.de B.; BOTREL, N.; PINHEIRO, A.C.M. Influência da atmosfera controlada sobre a vida pós-colheita e qualidade de banana 'Prata Anã'. **Ciência e Agrotécnologia**, Lavras, v. 30, n.2, p.317-322, mar/abr., 2006.
- SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, New York, v. 101, p. 7-12, 1993.
- SCANDALIOS, J.G. Regulation and properties of plant catalases. In: FOYER, C.H.; MULIUNEUX, P.M. (Ed.). **Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants**. Orlando: CRC Press, 1994, p. 275-313.
- SESTARI, I. **Indução de tolerância de frutos às injúrias de frio**: aspectos fisiológicos e bioquímicos. 2010. 142p. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993. 454p.

SGABIERI, V.C.; FIGUEIREDO, I.B. Transformações bioquímicas da banana durante o amadurecimento. **Revista Brasileira de Tecnologia**. Campinas, v. 2, n. 2, p. 85-94, 1971.

SHEWFELT, R.L.; PURVIS, A.C. Toward a comprehensive model for lipid peroxidation in plant tissue disorders. **HortScience**, Maryland, v. 30, n. 2, p. 213-218, Apr. 1995.

SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 372, p. 1305-1319, may 2002.

SINGH, S.P.; PAL, R.K. Controlled atmosphere storage of guava (*Psidium guajava* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.47, p. 296-306, 2008.

SITRIT, Y.; RIOV, J.; BLUMENFELD, A. Regulation of ethylene biosynthesis in avocado fruits during ripening. **Plant Physiology**, New York, v. 81, p. 130-135, 1986.

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

SMIRNOFF, N. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 78, p. 661-669, 1996.

SOWA S.; DONG A.; ROOS E.E.; CAUGHEY W.S. The anesthetic nitrous oxide affects dioxygen utilization by bovine heart and bean seed mitochondrial particles. **Biochemistry Biophysics Research Communications**, Amsterdam, v. 144, p. 643-648, 1987.

SOWA, S.; TOWILL, S.L. Effects of nitrous oxide on mitochondrial and cell respiration and growth in *Distichlis spicata* suspension culture. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v. 27, p. 197-201, Jun. 1991.

STEWART, I.; WHEATON, T.A. Carotenóids in citrus: their accumulation induced by ethylene. **Journal of Agriculture Food and Chemistry**, Davis, v.20, p. 448-449, 1972.

TAIRA, S.; ONO, M.; MATSUMOTO, N. Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannins. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.12, n. 3, p.265-271, Dec. 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3rd .ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D.H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, Amsterdam, v. 19, p. 669-675, 2006.

THOMPSON, A.K.; BURDEN, O.J. Harvesting and fruit care. In: GOWEN, S. (Ed.). **Bananas and plantains**. London: Chapman & Hall, p. 403-433, 1995.

TIAN, S.; XU, Y.; JIANG, A.; GONG, Q. Physiological and quality responses of longan fruit to high O₂ or CO₂ atmospheres in storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.24, p. 335-340, 2002.

TUCKER, G.A. Introduction. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, cap. 1, p. 2-51, 1993.

VAN BREUSEGEM, F.; VRANOVÁ, E. ; DAT, J.F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, Kidlington, v.161, p.405-414, 2001.

VAN DER STEEN, C.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J. High oxygen concentration in combination with elevated carbon dioxide to affect growth of fresh-cut produce microorganisms. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 599, p. 141–147. 2003.

VELTMAN, R.H.; SANDERS, M.G.; PERSIJN, S.T.; PEPPELENBOS, H.W.; OOSTERHAVEN, J. Decreased ascorbic acid levels and brown core development in pears (*Pirus communis* cv. Conference). **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 107, p. 39-45, 1999.

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

VILAS BOAS, E.V.B.; ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C.; MENEZES, J.B. Características da Fruta. **Banana Pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA, 2001. p. 15-19. (Série Frutas do Brasil, 16).

WAKABAYASHI, K. Changes in cell wall polysaccharides during fruit ripening. **Journal of Plant Research**, New York, v. 113, n. 3, p. 231-237, July 2000.

WANG, Y.; TIAN, S.; XU, Y. Effects of high oxygen concentration on pro- and anti-oxidant enzymes in peach fruits during postharvest periods. **Food Chemistry**, Oxford, v. 91, n. 1, p. 99–104, June 2005.

WATADA, A.E. Effects of ethylene on the quality of fruit and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v. 40, p. 82-85, 1986.

WHEELER, G.L.; JONES, M.A.; SMIRNOFF, N. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. **Nature**, London, v. 393, p. 365-369, 1998.

WHITE, P.J. Recent advances in fruit development and ripening: an overview. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.53, n. 377, p. 1995-2000, Oct. 2002.

WILLS, R.; LEE, T. H.; GRAHAM, W. B.; HALL, E. G. **Postharvest an introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables**. Kensington: New South Wales University Press, 1981. 161p.

WILLS, R.B.H.; PITAKSERIKUL, S.; SCOTT, K.J. Effects of pre-storage in low oxygen or high carbon dioxide concentrations on delaying the ripening of bananas. **Australian Journal Agriculture Research**, Collingwood, v. 33, p.1029-1036, 1982.

WILLS, R.; McGLASSON, B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. **Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales**. Trad. de J. B. Gonzáles. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1998. 240p.

WSZELAKI, A.L.; MITCHAM, E.J. Effects of superatmospheric oxygen on strawberry fruit quality and decay. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, p. 125-133, 2000.

XISTO, A.L.R.P. **Conservação pós-colheita de goiaba 'Pedro Sato' com aplicação de cloreto de cálcio em condições ambiente**. 2002. 47p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola de Agronomia de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M.T. Influência da embalagem de atmosfera modificada e do tratamento com cálcio na cinética de degradação de ácido ascórbico e perda de massa em goiabas (*Psidium guajava* L.), **Ciência de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, n. 1, p.27-31, jan./abr, 2000.

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

YANG, E.S.; LEE, J.H.; PARK, J.W. Ethanol induces peroxynitrite-mediated toxicity through inactivation of NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase and superoxide dismutase. **Biochimie**, Amsterdam, v. 90, n. 9, p. 1316-1324, set. 2008.

YANG, Z.; ZHENG, Y.; CAO, S. Effect of high oxygen atmosphere storage on quality, antioxidant enzymes, and DPPH-Radical scavenging activity of Chinese Bayberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v.57, n. 1, p. 176-181, jan. 2009.

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

ZHANG P.Y.; WHISTLER R.L.; BEMILLER J.N.; HAMAKER B.R. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility - a review. **Carbohydrate Polymer**, Amsterdam, v.59, n.4, p.443-458, Mar. 2005.

ZHENG, Y.; YANG, Z.; CHEN, X. Effect of high oxygen atmospheres on fruit decay and quality in Chinese bayberries, strawberries and blueberries. **Food Control**, Amsterdam, v. 19, p. 470-474, 2008.

ZIMMER, P.D.; BIERHALS, J.D.; SILVA, J.A.; ROMBALDI, C.V. Inibição da síntese da ACC (ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano) oxidase em maçãs frigoconservadas em atmosfera controlada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 3, p. 1-21, Sept./Dec. 1999.

ANEXOS

Figura 1 - Bananas 'Nanicão' sob atmosfera controlada armazenadas a 22°C, no dia 0 (caracterização) e após 18 dias

Figura 2 - Goiabas 'Kumagai' sob atmosfera controlada armazenadas a 22°C, no dia 0 (caracterização) e após 8 dias

Figura 3 - Pannel frontal do Fluxocentro contendo 5 linhas de gás com 40 saídas cada linha