

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

Estudos da fisiologia pós-colheita do cambuci sob atmosfera controlada

**Thais Pádua de Freitas**

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

Piracicaba  
2022

Thais Pádua de Freitas  
Engenheira agrônoma

**Estudos da fisiologia pós-colheita do cambuci sob atmosfera controlada**

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

Piracicaba  
2022

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

Freitas, Thais Pádua de

Estudos da fisiologia pós-colheita do cambuci sob atmosfera controlada. - - Piracicaba, 2022.

105 p.

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

1. *Campomanesia phaea* 2. Fuxcentro 3. Fisiologia 4. Aroma I.  
Título

## DEDICATÓRIA

Dedico a minha mãe Izabel Ferreira Pádua, ao meu falecido pai José Antônio de Freitas e ao meu irmão Thiago Pádua de Freitas aos quais devo tudo o que sou, pelo exemplo de força e dedicação e, principalmente pelo apoio incondicional.

## AGRADECIMENTOS

Desejo agradecer a todos aqueles que contribuíram para que esta tese se realizasse. Agradeço a possibilidade de fazer parte da comunidade científica em um momento tão tenebroso para se fazer ciência no Brasil.

Ao meu orientado Prof.º Dr.º Angelo Pedro Jacomino pela oportunidade de realizar o doutorado pela orientação, confiança, liberdade e compreensão.

Ao Prof.º Dr.º Eduardo Purgatto pela disposição em ajudar e ensinar, por me receber na USP de São Paulo e abrir as portas do Centro de Pesquisas em Alimentos (Food Research Center - FoRC).

A Prof.ª Dr.ª Poliana Cristina Spricigo pela amizade, generosidade e inúmeros ensinamentos acadêmicos e para vida, sem a sua ajuda este trabalho teria sido muito mais difícil. A Isabela Barroso Taver pela amizade, companheirismo, ajuda em todos os experimentos e pelas cervejas e risadas.

Ao Sr. Paulo Nakanishi e sua família pela recepção sempre atenciosa em todos as coletas de cambuci e ao técnico Carlinhos pelo auxílio nas incontáveis viagens a campo.

Ao técnico do laboratório Marcos Trevisan e a todos os estagiários que passaram pelo laboratório Pós-colheita de Produtos Hortícolas da ESALQ-USP pelo apoio nesses anos de pesquisa.

A todos os meus amigos, especialmente a Patrícia Leite e a Renan Naves, com os quais sempre pude dividir os inúmeros momentos desse período e que sempre me ajudaram durante todo o caminho.

Ao Renan Possari, por todo o auxílio e encorajamento que tornou o processo de finalização desse trabalho mais prazeroso.

Ao processo terapêutico (terapia + medicação + atividade física) fundamentais para controlar as crises de ansiedade.

A Universidade de São Paulo pela oportunidade de estudo e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.

A CAPES pela bolsa de estudos de doutorado e a FAPESP pelo financiamento do projeto temático (2014/12606-3) do qual este trabalho faz parte.

## EPÍGRAFE

*Estudar é um dever revolucionário!*

*Paulo Freire*

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>8</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>11</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
2.1. CAMBUCI ( <i>CAMPOMANESIA PHAEA</i> ) .....	15
2.2. TÉCNICAS PÓS-COLHEITA PARA ESTENDER A VIDA ÚTIL DO CAMBUCI .....	17
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>21</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>25</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>26</b>
<b>3. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>28</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>35</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>36</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>37</b>
<b>6. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>7. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>40</b>
<b>8. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>46</b>
8.1. ESTUDO DE CONCENTRAÇÕES DE OXIGÊNIO EM TEMPERATURA AMBIENTE.....	46
8.2. ESTUDO DE CONCENTRAÇÕES DE DIÓXIDO DE CARBONO EM TEMPERATURA AMBIENTE .....	52
8.3. ESTUDO DE CONCENTRAÇÕES DE OXIGÊNIO SOB REFRIGERAÇÃO .....	58
8.4. ESTUDO DE CONCENTRAÇÕES DE DIÓXIDO DE CARBONO SOB REFRIGERAÇÃO .....	65
8.5. INFLUÊNCIA DE DIFERENTES ATMOSFERAS DE ARMAZENAMENTO NO AROMA DO CAMBUCI .....	72
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>96</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>97</b>

## RESUMO

### Estudos da fisiologia pós-colheita do cambuci sob atmosfera controlada

O cambuci é apreciado pelo sabor e aroma incomparável, tem sido bastante investigado quanto a sua composição bioquímica, devido ao potencial anti-inflamatório. No entanto, deteriora-se rapidamente após a colheita e muito pouco é conhecido sobre a sua fisiologia. Atmosfera controlada e a refrigeração podem ser utilizadas como uma ferramenta para investigar a fisiologia pós-colheita do cambuci. Objetivo deste trabalho foi estudar a fisiologia pós-colheita do cambuci sob atmosfera controlada. Para o desenvolvimento do estudo de forma simples, prática e sem prejuízos a precisão um equipamento que produz a mistura de gases denominado, fluxcentro foi construído. Cambucis foram armazenados em 21, 10, 5, 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 kPa de CO<sub>2</sub> por 27h e a 0,03, 1, 4, 7, 10 kPa de CO<sub>2</sub> e 21 kPa de O<sub>2</sub> por 48h sob fluxo de 500 mL min<sup>-1</sup> a 20 °C. Em ambos os experimentos a taxa respiratória foi reduzida em até 90% sem modificações expressivas nos sólidos solúveis, acidez, firmeza, açúcares, ácidos orgânicos e vitamina C, mas com danos severos a aparência dos frutos (distúrbios fisiológicos), acúmulo de acetaldeído e etanol e degradação de taninos. O aroma do cambuci em baixo O<sub>2</sub> (1 kPa) foi completamente modificado, devido a intensa perda de compostos voláteis. Em atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> a produção de ésteres foi prejudicada. Posteriormente, os cambucis foram armazenados em diferentes composições de oxigênio (21, 15, 10, 5, 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> e 0,03, 1, 4, 7, 10 kPa de CO<sub>2</sub>) e dióxido de carbono (21 kPa de O<sub>2</sub> 0,03, 1, 4, 7, 10 kPa de CO<sub>2</sub> e 21 kPa de O<sub>2</sub>) em 5 °C por 15 dias. A redução da temperatura possibilitou um ganho médio 13,5 dias de vida útil com poucas modificações no teor de sólidos solúveis, acidez, firmeza, açúcares e ácidos orgânicos. Distúrbios na casca foram observados com maior intensidade após 2 dias a 20 °C sob atmosfera normal (21 kPa de O<sub>2</sub> e 0,03 kPa de CO<sub>2</sub>) em ambos os experimentos e em todos os tratamentos. Baixo O<sub>2</sub> (1 kPa) e elevado CO<sub>2</sub> (>7 kPa), provocou uma menor degradação da cor e preservou a vitamina C, mas incrementou a produção de acetaldeído e etanol e, conseqüente diminuição de taninos. Em baixo O<sub>2</sub> o aroma tornou-se mais amadeirado e herbal e em atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> mais doce e frutado.

**Palavras-chave:** *Campomanesia phaea*, Fluxcentro, Fisiologia, Aroma



## ABSTRACT

### **Cambuci postharvest physiology studies in a controlled atmosphere**

Cambuci is enjoyed for its incomparable flavor and aroma, it has been extensively investigated for its chemical and biochemical composition, due to its anti-inflammatory potential. However, it deteriorates quickly after harvest and too little is known regarding its physiology. Controlled atmosphere and refrigeration can be used as a tool to research the postharvest physiology of cambuci. The main objective of this work was to study the postharvest physiology of cambuci under controlled atmosphere. For the development of the study in a simple, practical and accurate way an equipment that produces a mixture of gases named fluxcenter was built. Cambucis were kept at 21, 10, 5, 1 kPa O<sub>2</sub> and 0.03 kPa CO<sub>2</sub> for 27h and at 0,03, 1, 4, 7, 10 kPa CO<sub>2</sub> and 21 kPa O<sub>2</sub> for 48h under flow of 500 mL min<sup>-1</sup> at 20 °C. In both experiments the respiration rate was reduced up to 90% without expressive modifications in soluble solids, acidity, firmness, sugars, organic acids and vitamin C, but with severe damage to fruit appearance (physiological disturbances), accumulation of acetAldeído and ethanol and tannin degradation. The aroma of cambuci in low O<sub>2</sub> (1 kPa) was completely modified, due to intense pedo of volatile compounds. In CO<sub>2</sub> enriched atmospheres éster production was impaired. Subsequently, cambucis were stored in different oxygen (21, 15, 10, 5, 1 kPa O<sub>2</sub> and 0.03 CO<sub>2</sub> and 0,03, 1, 4, 7, 10 kPa CO<sub>2</sub>) and carbon dioxide (21 kPa O<sub>2</sub>, 0,03, 1, 4, 7, 10 kPa CO<sub>2</sub> and 21 kPa O<sub>2</sub>) compositions at 5 °C for 15 days. The temperature reduction allowed an average gain of 13.5 days of shelf life with little change in soluble solids content, acidity, firmness, sugars, and organic acids. Peel disturbances were observed with greater intensity after 2 days at 20 °C under normal atmosphere (21 kPa O<sub>2</sub> and 0.03 kPa CO<sub>2</sub>) in both experiments and in all treatments. Low O<sub>2</sub> (1 kPa) and high CO<sub>2</sub> (>7 kPa), caused less color degradation and preserved vitamin C, but increased acetAldeído and ethanol production and, consequently, decreased tannins. In low O<sub>2</sub> the aroma became more amadeirado and herbal and in CO<sub>2</sub> enriched atmospheres more doce and frutado.

**Keywords:** *Campomanesia phaea*, Fluxcenter, Physiology, Aroma

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Esquema do fluxcentro para controle e medição de fluxo. (a) cilindros, reguladores de pressão de dois estágios, torneira manométrica, distribuição (parte traseira do fluxcentro) e saída dos gases. (b) registros (abre e fecha) e controle do fluxo com válvulas agulha, conexões utilizadas como misturadores, umidificador e distribuição para as câmaras de armazenamento (frente do fluxcentro). ..... 28
- Figura 2. Fluxcentro em placa de poliacetal onde foram fixados: (a) tubulação de cobre (b) torneira manométrica, (c) linhas de distribuição dos gases, (d) registros (abre e fecha), (e) válvulas agulha, (f) conexões (misturadores), (g) umidificador e (h) mangueiras para a distribuição para as câmaras de armazenamento. .... 31
- Figura 3. Atmosfera controlada em fluxo contínuo de 500ml.min<sup>-1</sup> durante 15 dias estabelecida com o fluxcentro adaptado: variação das misturas gasosas de O<sub>2</sub> em (a) e de CO<sub>2</sub> em (b). Os valores correspondem a média de 4 repetições e as barras verticais representam o desvio padrão da média. .... 33
- Figura 2. Acetaldeído, etanol da polpa e taninos da casca de cambucis armazenados em 21, 10, 5, 1 kpa O<sub>2</sub> e 0,03 kpa de CO<sub>2</sub> armazenado a 20 ± 1 °c por 27h, 90 ± 5% ur. Letras minúsculas indicam diferenças entre tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4; anova e teste tukey). Gráficos representam a média e desvio padrão da média. .... 48
- Figura 3. Açúcares – frutose (a), glicose (b), sacarose (c), vitamina c (d) e ácidos orgânicos(e) – ácido cítrico (cit), ácido málico (maa), ácido quínico (qa) e ácido succínico (suc) na polpa de cambuci armazenados em 21, 10, 5, 1 kpa O<sub>2</sub> e 0,03 kpa de CO<sub>2</sub> armazenado a 20 ± 1 °c por 27h, 90 ± 5% ur. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, anova e teste tukey). \*ns: não significativo. Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média. .... 50
- Figura 5. Acetaldeído(a), etanol (b) e taninos (c) de cambucis armazenados em 0,03, 1, 4, 7 kpa CO<sub>2</sub> e 21 kpa O<sub>2</sub> a 20 ± 1 °c por 48h, 90 ± 5% ur. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, anova e teste tukey). Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média. .... 54
- Figura 6. Açúcares – frutose (a), glicose (b), sacarose (c), vitamina c (d) e ácidos orgânicos (e) – ácido cítrico (cit), ácido málico (maa), ácido quínico (qa) e ácido succínico (suc) na polpa de cambuci armazenados em 0,03, 1, 4, 7 kpa CO<sub>2</sub> e 21 kpa de O<sub>2</sub> a 20 ± 1 °c por 48h, 90 ± 5% ur. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, anova e teste tukey). \*ns: não significativo. Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média. .... 56
- Figura 8. Acetaldeído(a), etanol (b) e taninos (c) de cambucis armazenados em 21, 15, 10, 5 e 1 kpa O<sub>2</sub> e 0,03 kpa CO<sub>2</sub> durante 15 dias à 5 ± 1 °c e 90 ± 5% ur. Início refere-se ao dia da colheita e após 15 d refere-se ao último dia de armazenamento a 5 °c. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, anova e teste tukey). Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média. .... 61
- Figura 9. Açúcares – frutose (a), glicose (b), sacarose (c), vitamina c (d) e ácidos orgânicos(e) – ácido cítrico (cit), ácido málico (maa), ácido quínico (qa) e ácido succínico (suc) na polpa de cambuci armazenados em 21, 15, 10, 5 e 1 kpa O<sub>2</sub> e 0,03 kpa CO<sub>2</sub> armazenado a 5 ± 1 °c durante 15 dias, 90 ± 5% ur. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, anova e teste tukey). \*ns: não significativo. Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média. .... 63
- Figura 10. Atmosfera controlada com 0,03, 1, 4, 7 e 10 kpa CO<sub>2</sub> e 21 kpa O<sub>2</sub> em fluxo contínuo de 500 ml min<sup>-1</sup> durante 15 dias a 5 ± 1 °c, 90 ± 5% ur. Onde, *in* refere-se a entrada e *out* a saída de fluxo das câmaras de armazenamento. Valores correspondem a média e barras verticais representam desvio padrão da média (n= 4). .... 65
- Figura 11. Acetaldeído(a), etanol (b) e taninos (c) de cambucis armazenados em 0,03, 1, 4, 7 e 10 kpa CO<sub>2</sub> e 21 kpa durante 15 dias à 5 ± 1 °c e 90 ± 5% ur. Início refere-se ao dia da colheita e após 15 d refere-se ao último dia de armazenamento a 5 °c. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, anova e teste tukey). Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média. .... 68
- Figura 12. Açúcares – frutose (a), glicose (b), sacarose (c), vitamina c (d) e ácidos orgânicos(e) – ácido cítrico (cit), ácido málico (maa), ácido quínico (qa) e ácido succínico (suc) na polpa de cambuci armazenados em 0,03, 1, 4, 7 e 10 kpa CO<sub>2</sub> e 21 kpa durante 15 dias à 5 ± 1 °c e 90 ± 5% ur. Início refere-se ao dia da colheita e após 15 d refere-se ao último dia de armazenamento a 5 °c, 90 ± 5% ur. Letras minúsculas indicam diferenças

entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, anova e teste tukey). \*ns: não significativo. Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média..... 70

Figura 13. Análise de componentes principais representado por (a) *self-organizing map* (som) e (b) *biplot* – perfil volátil da casca e polpa de cambucis armazenados em atmosfera controlada de fluxo contínuo sob baixo O<sub>2</sub> e elevado CO<sub>2</sub> nas temperaturas de 20 ° e 5 ° c..... 75

Figura 14. Análise discriminante dos mínimos quadrados parciais (pls-da), *loadings plot*, *hierarchical clustering (heatmap)* e *vip scores* de cambucis (*campomanesia phaea*) armazenados sob atmosfera controlada com 1, 5, 10 kpa de O<sub>2</sub>, colheita e controle - ambos à 21 kpa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 20 °c por 27 h. Onde: a, b, c e d representam os resultados da polpa, e, f, g e h referem-se a casca. No *heatmap* e *vip scores* cada cor corresponde a um valor de concentração dos voláteis. .... 78

Figura 15. Análise discriminante dos mínimos quadrados parciais (pls-da), *loadings plot*, *hierarchical clustering (heatmap)* e *vip scores* de cambucis (*campomanesia phaea*) armazenados sob atmosfera controlada com 1, 4, 7 kpa de CO<sub>2</sub>, colheita e controle - ambos à 21 kpa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 20 °c por 48 h. Onde: a, b, c e d representam os resultados da polpa, e, f, g e h referem-se a casca. No *heatmap* e no *vip scores* cada cor corresponde a um valor de concentração dos voláteis..... 82

Figura 16. Análise discriminante dos mínimos quadrados parciais (pls-da), *loadings plot*, *hierarchical clustering (heatmap)* e *vip scores* de cambucis (*campomanesia phaea*) armazenados sob atmosfera controlada com 1, 5, 10, 15 kpa de O<sub>2</sub>, colheita e controle - ambos à 21 kpa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 5°C por 15 dias. Onde: a, b, c e d representam os resultados da polpa e d, e, f e g referem-se a casca. No *heatmap* e *vip scores* cada cor corresponde a um valor de concentração dos voláteis. .... 86

Figura 17. Análise discriminante dos mínimos quadrados parciais (pls-da) *loadings plot* e *hierarchical clustering (heatmap)* e *vip scores* de cambucis (*campomanesia phaea*) armazenados em ac nos tratamentos 1, 4, 7, 10 kpa de CO<sub>2</sub>, colheita e controle - ambos à 21 kpa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 5°C por 15 dias. Onde: a, b, c e d representam os resultados da polpa e e, f, g e h referem-se aos resultados da casca. No *heatmap*, e no *vip scores* a cor corresponde a concentração dos voláteis..... 91

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mudança nos atributos de qualidade em cambucis armazenados sob 21, 10, 5 e 1kPa de O <sub>2</sub> e 0,03 de CO <sub>2</sub> durante 27 h a 20 ± 1 °C e 90 ± 5 % UR.....	47
Tabela 2. Mudança nos atributos de qualidade em cambucis armazenados sob sob 0,03, 1, 4 e 7 kPa de CO <sub>2</sub> e 21 kPa de O <sub>2</sub> durante 48 h a 20 ± 1 °C e 90 ± 5 % UR. ....	53
Tabela 3. Mudança nos atributos de qualidade - sólidos solúveis (° brix), % acidez, firmeza (N) e ângulo de cor (°hue) de cambucis armazenados sob 21, 15, 10, 5 e 1kPa de O <sub>2</sub> e 0,03 de CO <sub>2</sub> durante 15 dias a 5 ± 1 °C, 90 ± 5% UR. ....	59
Tabela 4. Atributos de qualidade em cambucis armazenados sob 0,03, 1, 4, 7 e 10 kPa de CO <sub>2</sub> e 21 de O <sub>2</sub> durante 15 dias a 5 ± 1 °C, 90 ± 5% UR.....	66
Tabela 5. Compostos orgânicos voláteis identificados em polpa e na casca do cambuci ( <i>Campomanesia phaea</i> ) armazenado em baixo O <sub>2</sub> ou alto CO <sub>2</sub> a 20 °C e a 5 °C por micro extração de fase sólida de headspace combinada com cromatografia gasosa/espectrometria de massa (SPME-GC-MS). ....	72

# 1. INTRODUÇÃO

Cambuci é um fruto nativo da Mata Atlântica brasileira, na região da Serra do Mar Paulista. Cambucis maduros e recém-colhidos possuem formato romboide, casca verde brilhante e um sabor agradável incomparável resultante da combinação de ácidos, açúcares e taninos às notas de aroma amadeirada, fresca, doce e cítrica. Além do sabor apazível, reúne características nutricionais que beneficiam a saúde humana com potencial de despertar o interesse da indústria farmacêutica e alimentícia.

Informações sobre a fisiologia do cambuci são escassas. O fruto deteriora-se rapidamente após a colheita, a casca torna-se opaca e o aroma pungente e alcoólico. Esta perda de qualidade dificulta o desenvolvimento da cadeia produtiva para comercialização do fruto fresco.

A manutenção da qualidade e a redução das perdas em pós-colheita pode ser obtida pela diminuição da taxa respiratória. Controlar a temperatura e os gases do ambiente de armazenamento é uma das formas mais eficazes de reduzir a respiração. Em pós-colheita, estas duas técnicas são frequentemente associadas para reduzir danos em diferentes produtos hortícolas.

Contudo, resultados positivos dependem de informações sobre a fisiologia dos frutos para evitar por exemplo, distúrbios fisiológicos e o acúmulo de acetaldeído/etanol, que podem descaracterizar a aparência e gerar aromas desagradáveis.

Neste trabalho propomos o uso atmosfera controlada como uma ferramenta para caracterizar a atividade respiratória do cambuci em temperatura ambiente, e posteriormente, para identificar como o O<sub>2</sub> e o CO<sub>2</sub> influenciam nos atributos de qualidade do cambuci em diferentes temperaturas e tempos de exposição. Para isso, foi fundamental a adaptação de um sistema de controle e mistura de gases que viabilizasse o estabelecimento de atmosferas experimentais. O *flowboard* ou fluxcentro foi montado com base no equipamento descrito por CALBO (1989) e CARMELO (2015).

Este trabalho é o primeiro estudo sobre a fisiologia pós-colheita do cambuci em diferentes atmosferas de armazenamento.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Cambuci (*Campomanesia phaea*)

O Brasil é considerado um dos principais centros de recursos genéticos vegetais do mundo, destacando-se o bioma da Mata Atlântica, que apesar de extremamente fragmentado, é considerado um dos 25 *hotspots* para conservação da biodiversidade mundial (MYERS et al., 2000). Grande parte dessa biodiversidade é composta por espécies frutíferas nativas - a maioria desconhecida e subutilizada quando comparadas as frutíferas tradicionalmente cultivadas e consumidas, tais como a maçã, a laranja e a banana (DONADIO, 2012; LANDRUM; KAWASAKI, 1997).

O cambucizeiro (*Campomanesia phaea*) é uma espécie frutífera pertencente à família das mirtáceas e nativa do bioma da Mata Atlântica brasileira. As árvores de porte médio e copa densa ajudam a compor o paisagismo da Serra do Mar paulista, região na qual o cambucizeiro ocorre naturalmente.

A espécie já esteve ameaçada de extinção por ser endêmica do bioma mais degradado do Brasil, o que contrasta com relatos mais antigos de encontrar exemplares da espécie frondosos e floridos no verão distribuídos pelas calçadas e quintais da cidade de São Paulo. É tradicionalmente apreciado pela população local, como matéria-prima no preparo de sucos, pratos salgados, geleias e doces, devido à sua polpa carnosa e suculenta (LORENZI, 1992; VALLILO et al., 2005a).

O fruto que empresta seu nome a um bairro tradicional da cidade de São Paulo e faz parte da cultura e história do estado quase desapareceu, mas a iniciativa de alguns setores - público e privado - estimulou o interesse de pequenos produtores que enxergaram no cambuci uma oportunidade em obter uma nova fonte de renda (CAIRES; RACHED; BOFF, 2017; JORNAL PIRES RURAL, 2019). Nos últimos anos, o cambuci e seus subprodutos se tornaram parte da renda para alguns produtores nos municípios Paranapiacaba-SP, Salesópolis-SP, Paraibuna-SP e Natividade da Serra-SP. O resgate do cambuci também significa a recuperação de áreas degradadas do Bioma da Mata Atlântica e a valorização da biodiversidade brasileira. Aos poucos o cambuci retoma seu espaço nas propriedades localizadas nos fragmentos da Mata Atlântica, em feiras e mercados municipais e, até mesmo em festivais gastronômicos dedicados a ele e seus subprodutos, como a 'rota do cambuci' coordenado pelo Instituto AUÁ (ANDRADE; FONSECA; LEMOS, 2011).

Botanicamente o fruto do cambucizeiro é classificado como uma baga lisa romboide, de formato pouco comum para frutos, muitas vezes comparado a um "disco voador". A casca fina dos frutos é verde e não muda de cor durante o amadurecimento. Os cambucis tem polpa translúcida e carnosa - com muita água,

de teor de umidade médio de 90 % - o que confere uma textura macia quando maduros. As sementes são achatadas, de formato orbicular e coloração branco-pálida e, em média são encontradas 10 por fruto.(DONADIO; MORO; SERVIDONE, 2002; LORENZI, 1992; VALLILO et al., 2005a).

A principal característica do fruto *in natura* é marcadamente o *flavor* inconfundível e incomparável. O sabor é uma combinação entre a acidez, doçura e adstringência. O aroma é adocicado e cítrico com notas florais, doces e levemente amadeiradas. Estas características sobressaem quando o cambuci é utilizado como ingrediente principal em uma vasta quantidade de receitas gastronômicas, como são geleias, bolos, sucos, sorvetes, mousses, iogurtes, cachaças, xarope, chás, molhos etc. O rendimento de polpa elevado - superior a 80 % - indica um ótimo aproveitamento na indústria alimentícia (VALLILO et al., 2005a). Além dos pratos doces e salgados, o cambuci também é utilizado como matéria prima em produtos cosméticos como sabonetes, cremes hidratantes e xampus.

Adicionalmente, o cambuci tem grande potencial de uso pela indústria farmacêutica devido as suas propriedades nutricionais(TOKAIRIN et al., 2018). Estudos caracterizando a polpa do fruto identificaram quantidades elevadas de compostos fenólicos, cuja ação antioxidante está associada à diminuição dos riscos de doenças crônicas. Os principais compostos identificados foram taninos e flavonoides, cuja ação antioxidante está associada à diminuição dos riscos de doenças crônicas como a obesidade, hipertensão, diabetes, câncer, mal de Alzheimer e de Parkinson( KRIS-ETHERTON et al., 2002; ESPOSITO, 2003; SCALBERT et al., 2005; SEIFRIED et al., 2007; RUFINO et al., 2010; AZEVEDO et al., 2017; DI MATTEO; LEAO et al., 2017)

Contudo o cambuci é um fruto muito perecível - característica que dificulta a comercialização e o consumo *in natura* (SALTVEIT, 2016). O cambuci é um fruto sazonal, produzido entre os meses de fevereiro e maio em pequenos cultivos comerciais. A vida útil após a colheita não ultrapassa 4 dias devido a elevada taxa respiratória ( $30 \text{ mL kg h}^{-1}$ ) e a moderada produção de etileno ( $2,0 \mu\text{L kg h}^{-1}$ ) quando armazenado a  $22 \text{ }^\circ\text{C}$  (TOKAIRIN, 2017).

A perda de qualidade do cambuci é caracterizada pela alteração do aroma que se torna alcoólico e fermentado associada ao amolecimento da polpa (textura) e ao sabor ácido-ardido e menos adstringente enquanto a casca torna-se opaca e se desfaz com facilidade durante a manipulação do fruto. Essas características dificultam a comercialização de cambuci fresco. O uso de técnicas adequadas que diminuam a taxa respiratória pode prolongar a vida útil e manter a qualidade pós-colheita dos frutos viabilizando a comercialização do cambuci *in natura*.

## 2.2. Técnicas pós-colheita para estender a vida útil do cambuci

### 2.2.1. Armazenamento refrigerado

O armazenamento refrigerado possibilita estender vida útil de diversos produtos hortícolas possibilitando a um maior período de comercialização. A remoção do calor dos produtos vegetais desacelera as atividades metabólicas como a respiração e a produção de etileno e pode ser capaz de frear o processo de senescência (KADER, 2003).

O ajuste adequado da faixa de temperatura é fundamental para o sucesso da técnica evitando assim os danos por frio. O dano por frio ou *chilling* ocorre quando os frutos são armazenados a uma temperatura abaixo da ideal devido a peroxidação lipídica dos ácidos graxos insaturados responsáveis pela estrutura e função das membranas celulares (KANIUGA, 2008; PARK; SANGWANANGKUL; CHOI, 2018; WISE; NAYLOR; GOODWIN AVE, 1987). As membranas perdem fluidez e tem a permeabilidade prejudicada, facilitando rompimentos e a morte celular. No tecido vegetal isto é percebido pela manifestação de desordens fisiológicas variadas, sendo frequente o escurecimento da polpa, a descoloração e/ou manchas na casca, perda de sabor e alterações no aroma.

O cambuci é um fruto de clima tropical e não toleram baixas temperaturas em seu armazenamento, para isso, recomenda-se o uso de uma faixa de temperatura acima de 10/12 °C para evitar o *chilling* (BAMBALELE et al., 2021; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A temperatura ideal para armazenar o cambuci sem causar danos por frio não foi estabelecida até o presente momento, mas o uso da refrigeração associado a modificação e controle da atmosfera de armazenamento são comumente combinados para reduzir as perdas de qualidade pós-colheita de diferentes produtos hortícolas. Adicionalmente, a alteração da composição atmosférica quando utilizadas dentro dos limites tolerados pelos frutos pode atenuar as injúrias causadas pelo frio (PESIS et al., 2000; PARK; SANGWANANGKUL; CHOI, 2018).



### 2.2.2. Modificação e controle da atmosfera

No armazenamento em atmosfera modificada (AM), o produto vegetal é colocado em uma embalagem e a atividade respiratória - consumo de O<sub>2</sub> e produção de CO<sub>2</sub> - do produto modifica os gases do ambiente de modo passivo. Aos poucos, esta condição de armazenamento abranda a taxa respiratória, a produção de etileno e a perda de água, reduzindo a atividade enzimática e a taxa metabólica dos produtos hortícolas embalados (KADER; WATKINS, 2000; SELCUK; ERKAN, 2015; WANG et al., 2011).

Neste sistema é fundamental conhecer os limites de concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> dos produtos vegetais para evitar efeitos indesejados - como a fermentação devido aos danos por baixo teor de oxigênio. Estudos de atmosfera modificada muitas vezes são conduzidos com diversos experimentos para testar diferentes tipos de embalagens, o que pode ser demorado e não proporcionar a melhor condição de armazenamento.

A atmosfera controlada (AC) é uma técnica que se tornou mais conhecida a partir de 1927 (Kidd; West, 1927) e consiste no controle e monitoramento ativo contínuo das condições de armazenamento, e a sua eficiência depende do controle das variáveis composição gasosa, umidade relativa e temperatura ao longo do armazenamento. Experimentos de armazenamento com controle das composições gasosas são formas mais assertivas para identificar a sensibilidade dos frutos às concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>. Adicionalmente, viabiliza os estudos de fisiologia permitindo maior controle e manipulação das condições de armazenamento.

A composição gasosa da atmosfera é de 78 % N<sub>2</sub>, 21 % O<sub>2</sub> e 0,03 % CO<sub>2</sub>, o que pode diminuir o tempo de conservação de produtos perecíveis (CALBO; MORETTI; HENZ, 2007). Na AC a diminuição dos níveis de O<sub>2</sub> e elevação do CO<sub>2</sub> - reduzem a taxa respiratória e as atividades enzimáticas prolongando a vida útil e mantendo a qualidade de produtos hortícolas.

A associação da AC à refrigeração pode auxiliar na determinação de melhores condições de armazenamento e proporcionar o conhecimento da fisiologia do cambuci. Os resultados podem ser utilizados futuramente na determinação da permeabilidade ideal para embalagens que prolonguem a vida útil e preservem o aroma, aparência e os compostos bioativos (CEFOLA et al., 2018; CHANG; LEE; KIM, 2017; LIAMNIMTR et al., 2018).

### 2.2.3. Uso da atmosfera controlada em estudos pós-colheita

A atmosfera controlada, adicionalmente às suas propriedades de conservação, pode ser utilizada experimentalmente como uma ferramenta para estudos em fisiologia pós-colheita (ESCOBEDO-AVELLANEDA; WELTI-CHANES, 2016; THOMPSON, 2010). As características fisiológicas do cambuci podem ser avaliadas pela taxa de consumo de O<sub>2</sub> ao longo do armazenamento sob condições ambientais controladas (BODBODAK; MOSHFEGHIFAR, 2016).

A taxa respiratória determina o consumo de O<sub>2</sub> pelo fruto pode ser coordenada pelas modificações nas condições atmosféricas. Experimentalmente, pode ser estimada em concentrações pré-definidas de O<sub>2</sub> e, calculada no modelo de respiração *Michaelis-Menten* para qualquer concentração de O<sub>2</sub>. Os valores obtidos experimentalmente e os preditos no modelo se correlacionam e explicam o padrão respiratório de um fruto (FONSECA; OLIVEIRA; BRECHT, 2002c; MANGARAJ et al., 2014; MANGARAJ; K.GOSWAMI; MAHAJAN, 2015). Este parâmetro permite determinar o limite de O<sub>2</sub> tolerado necessário para otimizar a condição de armazenamento do cambuci e estudar a fisiologia do fruto ao longo deste período.

A atmosfera controlada é bastante utilizada e reconhecida por seus efeitos benéficos na conservação da qualidade de frutos. Comercialmente, o sistema é comum para preservar maçãs e permitir que estejam disponíveis para o consumidor (GRAN; BEAUDRY, 1993; SELCUK; ERKAN, 2015). Nesta condição o estabelecimento de atmosferas controladas é uma tecnologia de alto custo e precisão regida por softwares programados para as características intrínsecas de cada espécie.

Em laboratório, o estabelecimento da AC pode ser realizado por meio de um sistema de controle de gases - denominado *flowboard* ou fluxcentro. Este equipamento obedece aos mesmos princípios do sistema comercial que visa modificar e controlar gases atmosféricos, mas em menor escala e menor custo, viabilizando estudos em fisiologia pós-colheita para frutos como o cambuci.

#### **2.2.4. Montagem de um sistema de atmosfera controlada para estudos pós-colheita de produtos hortícolas**

O flowboard é um sistema de distribuição de gases que permite o controle, a composição e a manutenção de um fluxo estável de gases para a AC. O primeiro relato na literatura foi em 1821, (COUVERCHEL; COUVERCHEL, 1821) onde foi descrito o primeiro protótipo de um fluxcentro, que buscava compreender de que forma a alteração do meio atmosférico influenciaria na maturação dos frutos.

O princípio de funcionamento do sistema é simples: os gases saem de um cilindro e são conduzidos pela tubulação até as válvulas diferenciais para o controle da pressão (CALBO, 1989). O fluxo e a concentração gasosa são mantidos por capilares padronizados que são acoplados na saída de um distribuidor (CARMELO et al., 2015). A mistura gasosa formada é injetada nas minicâmaras de armazenamento modificando a sua composição gasosa.

O ajuste do sistema depende da dinâmica de interação entre os gases, da temperatura, da taxa de respiração do produto, do volume de frutos e do volume das minicâmaras onde são armazenados (CALBO; MORETTI; HENZ, 2007; KADER, 1986).

Apesar dos inúmeros benefícios o armazenamento em ambiente controlado pode causar a respiração anaeróbica dos produtos hortícolas devido a concentração de  $O_2$  abaixo dos níveis mínimos tolerados ou em níveis elevados de  $CO_2$  resultando em inúmeros efeitos indesejados a qualidade pós-colheita como produção de acetaldeído e etanol, danos severos a aparência, distúrbios fisiológicos e aparecimento de off-flavor (GUNES; LIU; WATKINS, 2002; LIAMNIMITR et al., 2018; PAUL; PANDEY, 2014a; PESIS, 2005b).

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, B. A. G. DE F.; FONSECA, P. Y. G. DA; LEMOS, F. **Cambuci: O Fruto, o Bairro, a Rota**. 1. ed. São Paulo: Ourivesaria da Palavra, 2011.
- AZEVEDO, M. C. S. et al. Physicochemical variability of cambuci fruit (*Campomanesia phaea*) from the same orchard, from different locations and at different ripening stages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 2, p. 526–535, 1 jan. 2017.
- BODBODAK, S.; MOSHFEGHIFAR, M. Advances in controlled atmosphere storage of fruits and vegetables. In: **Eco-Friendly Technology for Postharvest Produce Quality**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 39–76.
- CAIRES, L.; RACHED, M.; BOFF, M. **A volta do cambuci** -. Disponível em: <<https://www.comciencia.br/a-volta-do-cambuci/>>. Acesso em: 30 jan. 2022.
- CALBO, A. G. Adaptação de um fluxcentro para estudos de trocas gasosas e um método de aferição de capilares. **Pesq. agropcc. bras.**, v. 24, n. 6, p. 733–739, 1989.
- CALBO, A. G.; MORETTI, C. L.; HENZ, G. P. Respiração de Frutas e Hortaliças. **Comunicado Técnico**, v. 46, p. 1–10, 2007.
- CARMELO, L. G. P. et al. Portable flow board for storage of fruits and vegetables in mini-chambers with controlled atmosphere. **Engenharia Agrícola**, v. 35, n. 6, p. 1105–1116, 2015.
- CEFOLA, M. et al. Relationships among volatile metabolites, quality and sensory parameters of ‘Italia’ table grapes assessed during cold storage in low or high CO<sub>2</sub> modified atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, v. 142, p. 124–134, 1 ago. 2018.
- CHANG, E.-H.; LEE, J.-S.; KIM, J.-G. Cell wall degrading enzymes activity is altered by high carbon dioxide treatment in postharvest ‘Mihong’ peach fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 225, p. 399–407, 2017.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2005.
- COUVERCHEL, J. F.; COUVERCHEL, J. F. **Mémoire sur la maturation des fruits**. Paris: Impr. Royale, 1821.
- DI MATTEO, V.; ESPOSITO, E. Biochemical and therapeutic effects of antioxidants in the treatment of Alzheimer’s disease, Parkinson’s disease, and amyotrophic lateral sclerosis. **Current drug targets. CNS and neurological disorders**, v. 2, n. 2, p. 95–107, abr. 2003.
- DONADIO, L. C. Frutas nativas do Brasil: como despertar o interesse pela produção e comercialização. **VI Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul FRUTAS**, v. d, p. 181–182, 2012.

DONADIO, L. C. .; MORO, F. V.; SERVIDONE, A. A. . **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Funep, 2002.

ESCOBEDO-AVELLANEDA, Z.; WELTI-CHANES, J. Controlled Atmosphere Storage: Applications for Bulk Storage of Foodstuffs. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l: s.n.]. p. 301–307.

FONSECA, S. C.; OLIVEIRA, F. A. . R.; BRECHT, J. K. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 52, n. 2, p. 99–119, abr. 2002.

GRAN, C. D.; BEAUDRY, R. M. **Determination of the low oxygen limit for several commercial apple cultivars by respiratory quotient breakpoint** **Postharvest Biology and Technology**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/0925521493900617/1-s2.0-0925521493900617-main.pdf?\\_tid=f733cc4e-3130-4c5e-ae48-9c9e1fe21729&acdnat=1536866732\\_d3a870b76955739b5eff0bb9f38ab7ec](https://ac.els-cdn.com/0925521493900617/1-s2.0-0925521493900617-main.pdf?_tid=f733cc4e-3130-4c5e-ae48-9c9e1fe21729&acdnat=1536866732_d3a870b76955739b5eff0bb9f38ab7ec)>. Acesso em: 13 set. 2018.

GUNES, G.; LIU, R. H.; WATKINS, C. B. Controlled-atmosphere effects on postharvest quality and antioxidant activity of cranberry fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5932–5938, 2002.

JORNAL PIRES RURAL. O cultivo do cambuci na experiência do produtor Paulo Nakanishi. **Jornal Pires Rural**, n. 223, p. 2, 2019.

KADER, A. A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. **Food Technology**, v. 40, n. 5, p. 99–100 & 102–104, 1986.

KADER, A. A. A perspective on postharvest horticulture (1978-2003). **HortScience**, v. 38, n. 5, p. 1004–1008, 2003.

KADER, A. A.; WATKINS, C. B. **Modified atmosphere packaging - Toward 2000 and beyond**. HortTechnology. **Anais...**2000

KANIUGA, Z. Chilling response of plants: importance of galactolipase, free gorduroso acids and free radicals\*. **Plant Biology**, v. 10, n. 2, p. 171–184, 1 mar. 2008.

KRIS-ETHERTON, P. M. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American Journal of Medicine**, v. 113, n. 9, p. 71–88, 30 dez. 2002.

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an Illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v. 49, n. 4, p. 508, 1997.

LEAO, M. M. et al. The potencial of *Campomanesia phaea* O. Berg Landrum (Cambuci) as natural source of vitamin C. **Athens Journal of Sciences**, v. 4, n. 1, p. 37–45, 2017.

- LIAMNIMITR, N. et al. Optimization of bulk modified atmosphere packaging for long-term storage of “Fuyu” persimmon fruit. **Postharvest Biology and Technology journal**, v. 135, p. 1–7, 2018.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 1. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1992.
- MANGARAJ, S. et al. Design and development of modified atmosphere packaging system for guava (cv. Baruipur). **Journal of food science and technology**, v. 51, n. 11, p. 2925–46, nov. 2014.
- MANGARAJ, S.; K.GOSWAMI, T.; MAHAJAN, P. V. Development and validation of a comprehensive model for map of fruits based on enzyme kinetics theory and arrhenius relation. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 7, p. 4286–4295, 2 jul. 2015.
- MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853–858, 24 fev. 2000.
- PARK, M.-H.; SANGWANANGKUL, P.; CHOI, J.-W. Reduced chilling injury and delayed fruit ripening in tomatoes with modified atmosphere and humidity packaging. **Scientia Horticulturae**, v. 231, p. 66–72, 27 jan. 2018.
- PAUL, V.; PANDEY, R. Role of internal atmosphere on fruit ripening and storability - A review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 7, p. 1223–1250, 2014.
- PESIS, E. et al. Modified atmosphere and modified humidity packaging alleviates chilling injury symptoms in mango fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 19, n. 1, p. 93–101, 1 maio 2000.
- PESIS, E. The role of the anaerobic metabolites, acetAldeído and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, n. 1, p. 1–19, 1 jul. 2005.
- RUFINO, M. DO S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.
- SALTVEIT, M. E. Respiratory metabolism. **Postharvest Ripening Physiology of Crops**, n. 1, p. 139–156, 2016.
- SCALBERT, A. et al. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 4, p. 287–306, jun. 2005.
- SEIFRIED, H. E. et al. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 18, n. 9, p. 567–579, set. 2007.
- SELCUK, N.; ERKAN, M. The effects of modified and palliflex controlled atmosphere storage on postharvest quality and composition of ‘Istanbul’ medlar fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 99, p. 9–19, 1

jan. 2015.

THOMPSON, A. K. **Controlled atmosphere storage of fruits and vegetables**. 2. ed. Wallingford: CABI, 2010.

TOKAIRIN, T. DE O. **Caracterização e conservação pós-colheita de cambuci, fruto nativo da Mata Atlântica**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2017.

VALLILO, M. I. et al. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DOS FRUTOS DO CAMBUCIZEIRO (*Campomanesia phaea*). **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal**, v. 27, n. 011, p. 241–244, 2005.

WANG, C. T. et al. Effect of modified atmosphere packaging (MAP) with low and superatmospheric oxygen on the quality and antioxidant enzyme system of golden needle mushrooms (*Flammulina velutipes*) during postharvest storage. **European Food Research and Technology**, v. 232, n. 5, p. 851–860, 2 maio 2011.

WISE, R. R.; NAYLOR, A. W.; GOODWIN AVE, S. Chilling-Enhanced Photooxidation The Peroxidative Destruction of Lipids during Chilling Injury to Photosynthesis and Ultrastructure. **Plant Physiology**, v. 83, n. 2, p. 272–277, 1 fev. 1987.

## RESUMO

### **Fluxcentro: montagem e funcionamento**

O *flowboard* ou fluxcentro é um sistema de distribuição de gases que permite o controle, a composição e a manutenção de um fluxo estável de gases viabilizando estudos de pós-colheita com atmosfera controlada (AC). O fluxcentro desenvolvido neste estudo foi baseado no fluxcentro portátil descrito por Calbo (2015) com o objetivo de construir um equipamento mais prático para a realização de estudos pós-colheita. O *flowboard* foi construído no laboratório de Pós-colheita de Produtos Hortícolas da ESALQ-USP com 5 linhas para distribuição de gases, divididas em 21 saídas independentes que podem ser conectadas à 16 válvulas micrométricas para regulação de fluxo. A substituição dos capilares de vidro por válvulas agulhas e o uso do fluxímetro proporcionou maior precisão no ajuste dos fluxos em relação ao uso dos restritores de fluxo de vidro ou de cobre. Adicionalmente, uma melhora significativa em relação ao tempo empregado para a produção de composições gasosas foi alcançada devido a facilidade de uso das válvulas agulhas em relação aos capilares de vidro. As conexões pneumáticas de engate rápido garantiram a vedação e facilitaram a montagem, manuseio e manutenção do equipamento e o uso de manômetros em diferentes pontos das tubulações melhoraram o controle da pressão no fluxcentro. Todas as alterações realizadas garantiram a manutenção da estabilidade do fluxo. Desta forma as modificações tornaram o uso do fluxcentro mais simples e prático sem prejuízos a precisão do equipamento, facilitando o desenvolvimento de estudos de atmosfera controlada em pós-colheita.

**Palavras-chave:** 1. Método 2. Controle de fluxo 3. Fluxo de gás



## ABSTRACT

### **Flowboard: set-up and start-up**

The flowboard is a gas distribution system that allows the control, composition and maintenance of a stable gas flow enabling postharvest studies with controlled atmosphere (CA). The flowboard developed in this study was based on the portable flowboard described by Calbo (2015) with the objective of building a more practical equipment for conducting postharvest studies. The flowboard was built in the Horticultural Postharvest Laboratory at ESALQ-USP with 5 lines for gas distribution, divided into 21 independent outlets that can be connected to 16 micrometric valves for flow regulation. The replacement of the glass capillaries with needle valves plus the use of the flowmeter provided greater accuracy in flow adjustment compared to the use of glass or copper flow restrictors. Furthermore, a significant time improvement was achieved for the production of gas compositions due to the easier use of the needle valves compared to the glass capillaries. The quick coupling pneumatic connections provided sealing and made it easier to assemble, operate, and maintenance of the equipment, while the use of pressure manometers at different points in the piping improved the pressure control of the flowboard. All the performed changes ensured the maintenance of flow stability. Thus, the modifications made the use of the fluxcenter simpler and more practical without harming the accuracy of the equipment, facilitating the development of controlled atmosphere studies in postharvest.

**Keywords:** 1. Method 2. Flow control 3. Gas flow

### 3. INTRODUÇÃO

O flowboard é um sistema de distribuição de gases que permite o controle, a composição e a manutenção de um fluxo estável de gases viabilizando estudos de pós-colheita com atmosfera controlada (AC).

O primeiro relato científico sobre o efeito de diferentes atmosferas no amadurecimento de frutos foi realizado por Jacques Étienne Bérard em 1821 (COUVERCHEL; COUVERCHEL, 1821). Neste trabalho foi descrito o uso de um protótipo de um fluxcentro utilizando um recipiente de vidro tampado com uma rolha de cortiça conectada a um tubo com uma torneira e uma máquina pneumática para alterar a composição gasosa. Bérard constatou que os frutos consumiam oxigênio e liberavam dióxido de carbono e sugeriu que algumas frutas poderiam ser armazenadas por um período de até três meses na ausência de oxigênio.

Desde então, a alteração da composição gasosa tem sido utilizada para compreender a fisiologia dos frutos e aplicar esse conhecimento no aumento do tempo de prateleira. CALBO (1989) adaptou um fluxcentro para produzir a misturas gases, entretanto, o gasto com escape de gás através de barostato onerava a execução de experimento. Posteriormente, foi desenvolvido um fluxcentro portátil (CARMELO et al., 2015) simples e de baixo custo que substituiu o uso do barostato por uma válvula diferencial acoplada a um tubo de policloreto de vinila (PVC) com as saída para distribuir os gases chamado de manifold.

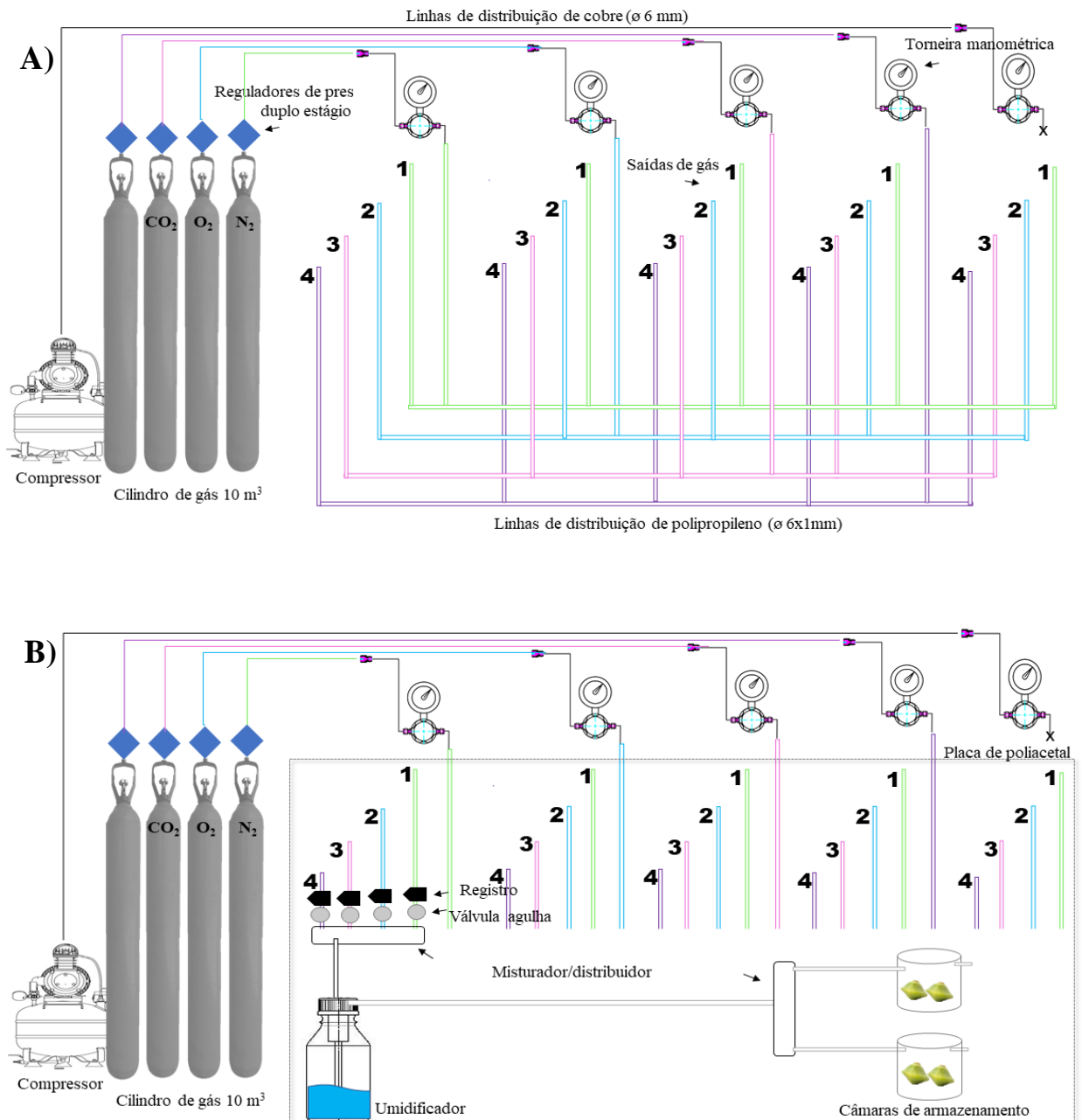
Em ambos os fluxcentros, o fluxo foi controlado com o uso de capilares de cobre ou de vidro aferidos com o auxílio de um bolhómetro. Apesar da precisão dos capilares foram observadas algumas limitações: capilares de cobre podem oxidar ou se deformar alterando a precisão do fluxo; capilares de vidro são frágeis e difíceis de fabricar pelo método da moldagem a quente sob fluxo continuado. Além disso, a fabricação manual pode aumentar a imprecisão no diâmetro dos capilares e provocar erro na estimativa do fluxo, o estabelecimento de uma composição gasosa depende de um grande acervo de capilares e adicionalmente, o uso de um bolhómetro para aferir o fluxo é trabalhoso dificultando o uso do fluxcentro.

Visando mitigar os problemas identificados anteriormente o controle da pressão foi realizado com manômetros em diferentes pontos do sistema, os capilares foram substituídos por válvulas-agulhas e para a aferir o fluxo utilizamos um fluxímetro digital. Este trabalho propôs adaptações ao fluxcentro portátil descrito por CARMELO (2015) com o objetivo de simplificar o seu uso e tornar mais prático os em estudos de atmosfera controlada em pós-colheita no Laboratório de Pós-colheita de Produtos Hortícolas (ESALQ/USP).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1.1. Materiais para montagem do fluxcentro

O fluxcentro foi construído no laboratório de Pós-colheita de Produtos Hortícolas da ESALQ-USP adaptando o fluxcentro desenvolvido por CALBO (1989) (Figura 1).



**Figura 1.** Esquema do fluxcentro para controle e medição de fluxo. (A) Cilindros, reguladores de pressão de dois estágios, torneira manométrica, distribuição (parte traseira do fluxcentro) e saída dos gases. (B) Registros (abre e fecha) e controle do fluxo com válvulas agulha, conexões utilizadas como misturadores, umidificador e distribuição para as câmaras de armazenamento (Frente do fluxcentro).

Os gases O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> utilizados no fluxcentro foram obtidos de cilindros de gás comprimido (10m<sup>3</sup>) e o ar atmosférico pressurizado de um compressor odontológico (MSV 6/30 Isento de óleo - Schulz). A pressão de saída dos gases do cilindro foi controlada com reguladores de pressão de duplo estágio e do compressor por um pressostato (LF10-W - LEFOO) e um relógio manométrico. Os manômetros auxiliaram na manutenção da pressão na tubulação de cobre de 6 mm em 200 kPa até as torneiras manométricas onde a pressão utilizada foi de 150kPa (700.8021P - Moriya) no fluxcentro.

A partir deste ponto, os componentes foram fixados em uma placa de poliacetal e os gases foram distribuídos em mangueira pneumática 6 mm com conexões pneumática - tipo T e cotovelo – formando 21 saídas de gás. Posteriormente, com o auxílio de conexões pneumáticas do tipo cotovelo foram conectadas por mangueiras flexíveis (6mm) a um conjunto de válvulas formado por um registro (válvula esfera reta construída em aço inoxidável - Série 42G - Swagelok) e uma válvula agulha (válvula micrométrica em aço inoxidável - Série L e M- Swagelok) formando 16 saídas com controle de fluxo.

Essas saídas de gás (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e ar atmosférico) foram unidas por uma conexão pneumática de engate rápido e conectadas ao umidificador para formação das misturas gasosas. O umidificador é formado por um frasco de vidro (1L) com tampa plástica com uma perfuração para entrada e outra para a saída da mistura gasosa. Após o umidificador, as misturas gasosas foram direcionadas por mangueiras flexíveis (6 mm) e conexões pneumáticas de engate rápido à tampa de acrílico das câmaras herméticas (4L) onde os frutos foram armazenados.

Foram realizados testes para a verificar a estanqueidade do sistema e estabilidade da pressão e do fluxo. Para analisar a vedação, o fluxcentro foi pressurizado e os pontos de conexão foram imersos em água para analisar a existência de vazamentos (bolhas) e, adicionalmente o fluxo foi medido com um fluxímetro (ADM Flow Meter, Agilent) na entrada e na saída do umidificador e nos misturadores. A medição realizada pelo ADM Flow Meter possui uma válvula acionada por solenoide que interrompe momentaneamente o fluxo de gás que se move através de um diafragma em proporção ao fluxo, sendo transformado em (mL/min).

A aferição das concentrações gasosas (1, 5, 10, 15, 21 kPa de O<sub>2</sub> – 1, 4, 7, 10 e 0,03 kPa de CO<sub>2</sub>) foi realizada na saída do umidificador e na entrada e saída das câmaras de armazenamento com o auxílio de um analisador de gases (Oxybaby® 6.0, WITT) e de um cromatógrafo a gás. O analisador de gases (Oxybaby® 6.0, WITT) coleta uma amostra de aproximadamente 2 ml do *headspace* através de agulha o O<sub>2</sub> é medido por célula eletroquímica e o CO<sub>2</sub> por espectroscopia (IR).

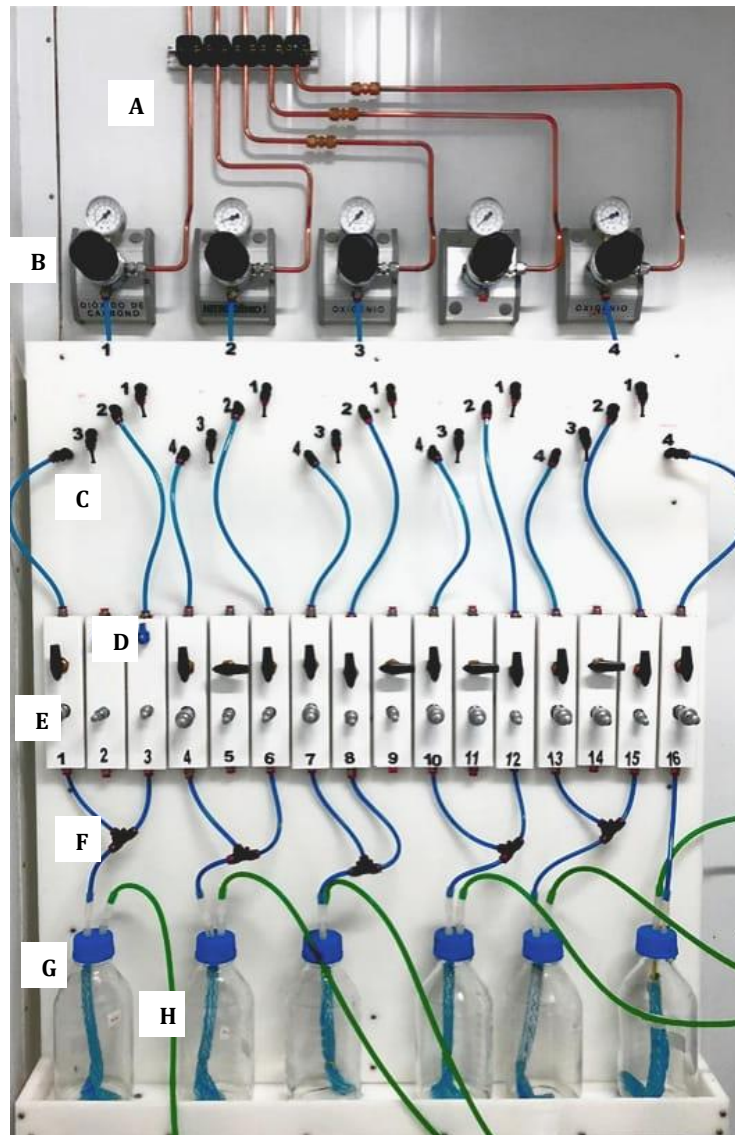
Para as medições de CO<sub>2</sub> realizadas no cromatógrafo a gás (TRACE 1310 - Thermo Fisher Scientific) utilizou-se uma seringa para coletas do *headspeace* (0,5 ml do e diluído em 0,5 ml de ar) e injetar 1 mL no septo do CG equipado com uma coluna Porapak N, aço inox 4 m X 1/8Ss, 80-100 Thermo Trace 1300, detector de ionização de chama (FID) a 250 °C, injetor e forno a 120 °C, hidrogênio como gás de arraste 20 mL<sup>-1</sup>, tempo de retenção de 1,485 minutos e tempo de corrida 2,0 minutos.

#### **4.1.2. Análise Estatística**

Os dados foram apresentados como média e desvio padrão referentes a 4 repetições.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fluxcentro foi alimentado por gases provenientes de cilindros de gases comprimidos e de um compressor odontológico. Os gases foram conduzidos por um sistema formado por tubos, mangueiras e conexões (Figura 2).



**Figura 2.** Fluxcentro em placa de poliacetal onde foram fixados: (A) tubulação de cobre (B) torneira manométrica, (C) linhas de distribuição dos gases, (D) registros (abre e fecha), (E) válvulas agulha, (F) conexões (misturadores), (G) umidificador e (H) mangueiras para a distribuição para as câmaras de armazenamento.

A pressão do sistema foi controlada por manômetros posicionados em diferentes partes do sistema e o ajuste fino do fluxo foi controlado por válvulas agulha e aferido com fluxímetro. Posteriormente, foram

formadas as misturas gasosas, direcionadas ao umidificador e aferidas com fluxímetros e Dansensor. A partir do umidificador as misturas gasosas foram distribuídas para as câmaras de armazenamento (Figura 2). O fluxcentro foi formado por diversos tipos de conexões, portanto a vedação cuidadosa foi fundamental para evitar vazamentos. A priorização da estanqueidade do sistema reduz a variação na pressão e fluxo aumentando a estabilidade das atmosferas de armazenamento.

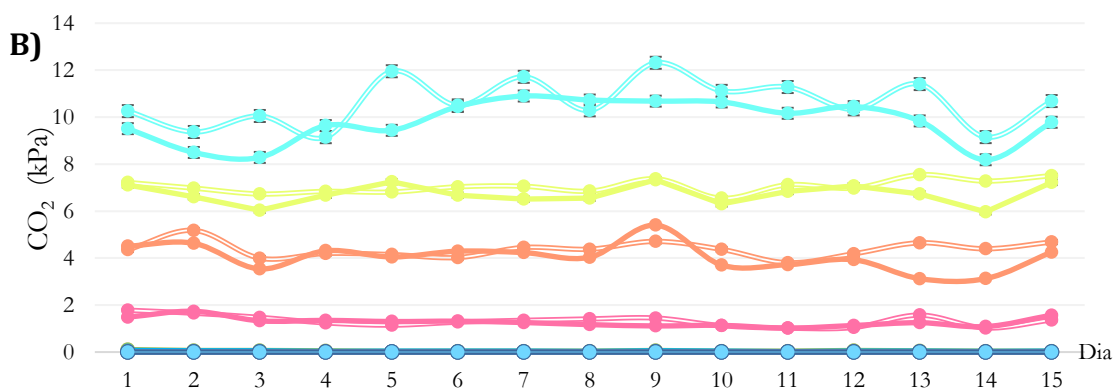
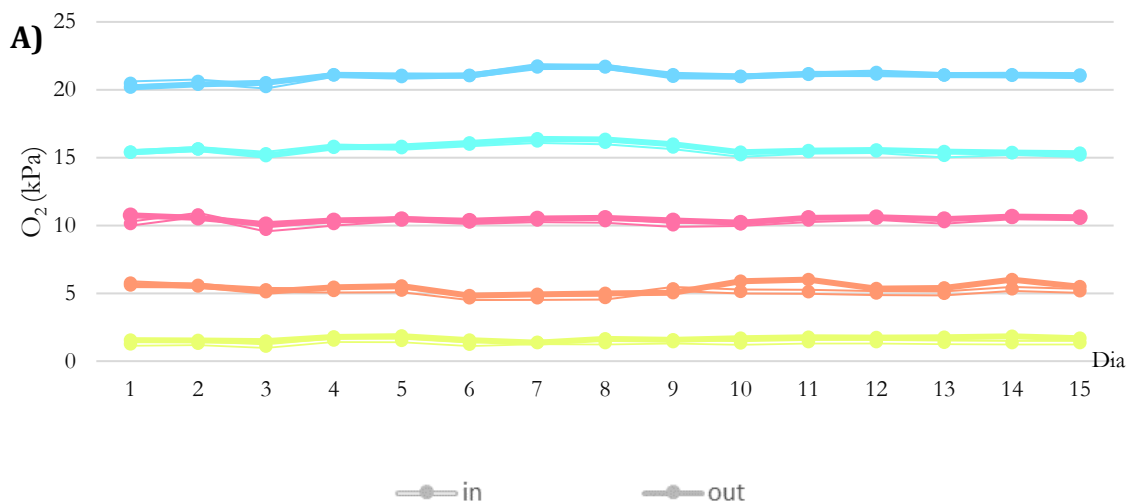
Após a verificação da estanqueidade do sistema foi estabelecido um fluxo de  $500 \text{ mL min}^{-1}$  nas linhas de distribuição. A manutenção deste fluxo na linha de distribuição foi possível com a pressão nos reguladores de duplo estágio dos cilindros a 200 kPa e a 150 kPa nas torneiras manométricas (Figura 1A).

O fluxo foi facilmente ajustado com as válvulas agulha permitindo maior agilidade na montagem das combinações gasosas em relação aos capilares de vidro e cobre (CALBO, 1989). As restrições de vidro são obtidas de forma manual a partir de tubos de vidro capilares do tipo microhematocrito seguindo o método de moldagem a quente sob fluxo de ar contínuo (CARMELLO et al., 2015), enquanto os capilares de cobre são produzidos apertando tubos de cobre até formar a restrição desejada.

Apesar de precisos em ambos os capilares as composições gasosas ficam limitadas ao fluxo para o qual foram fabricados. Adicionalmente, capilares de vidro são sensíveis ao manuseio e podem se quebrar com facilidade durante a montagem do fluxcentro.

O controle dos fluxos é o principal fator em estudos de atmosfera controlada de fluxo contínuo. O monitoramento do fluxo diariamente com o auxílio de um fluxímetro digital garantiu maior precisão (SALTVEIT, 2019), contudo o funcionamento deste equipamento está restrito a fluxos de até  $700 \text{ mL}^{-1}$ .

Os resultados obtidos com o analisador de gases e quantificado no cromatógrafo evidenciaram que o fluxcentro permitiu a combinação eficiente e estável de diferentes concentrações gasosas ao longo do armazenamento pelo sistema de fluxo contínuo (Figura 2).



**Figura 3.** Atmosfera controlada em fluxo contínuo de  $500\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  durante 15 dias estabelecida com o fluxcentro adaptado: Variação das misturas gasosas de  $\text{O}_2$  em (A) e de  $\text{CO}_2$  em (B). Os valores correspondem a média de 4 repetições e as barras verticais representam o desvio padrão da média.

O fluxcentro foi eficiente para estabelecer as misturas gasosas de  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$  em faixas que variaram entre  $1\text{kPa}$  a  $21\text{kPa}$ . Nas atmosferas com  $\text{CO}_2$  foram observadas maiores variações entre a entrada e a saída dos gases, esta variação está relacionada a maior precisão do cromatógrafo a gás em relação ao analisador de gases (Figura 3B).

É importante observar que para estabelecer as concentrações é necessário considerar a viscosidade de cada gás da mistura. A placa de poliacetil, na qual os componentes foram fixados, foi colocada a parede da câmara fria com o auxílio de dois ganchos localizados na parte superior podendo ser facilmente removida para manutenção. Adicionalmente, as conexões de engate rápido facilitaram a montagem de experimentos e a manutenção do equipamento.



## CONCLUSÃO

O fluxcentro desenvolvido foi otimizado com base nos equipamento e princípios descritos por CALBO (1989) e mostrou-se uma alternativa fácil e prática para produzir atmosferas controladas para estudos em pós-colheita de produtos hortícolas. A substituição dos capilares de vidro por válvulas agulhas e o uso do fluxímetro proporcionou maior precisão no ajuste dos fluxos em relação ao uso dos restritores de fluxo de vidro ou de cobre.

Adicionalmente, uma melhora significativa em relação ao tempo empregado para a produção de composições gasosas foi alcançada devido a facilidade de uso das válvulas agulhas em relação aos capilares de vidro. As conexões pneumáticas de engate rápido garantiram a vedação e facilitaram a montagem, manuseio e manutenção do equipamento e o uso de manômetros em diferentes pontos das tubulações melhoraram o controle da pressão no fluxcentro. Desta forma o fluxcentro foi uma alternativa viável para o desenvolvimento de estudos de atmosfera controlada em pós-colheita.

## REFERÊNCIAS

- CALBO, A. G. Adaptação de um fluxcentro para estudos de trocas gasosas e um método de aferição de capilares. *Pesq. agropcc. bras.*, v. 24, n. 6, p. 733–739, 1989.
- CARMELO, L. G. P. et al. Portable flow board for storage of fruits and vegetables in mini-chambers with controlled atmosphere. *Engenharia Agrícola*, v. 35, n. 6, p. 1105–1116, 2015.
- COUVERCHEL, J. F.; COUVERCHEL, J. F. *Mémoire sur la maturation des fruits*. Paris: Impr. Royale, 1821.
- SALTVEIT, M. E. Respiratory Metabolism. *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, p. 73–91, 1 jan. 2019.

## RESUMO

### Fisiologia pós-colheita do cambuci em atmosfera controlada

A atmosfera controlada (AC) pode ser utilizada como uma ferramenta de conservação e caracterização da fisiologia pós-colheita do cambuci. O objetivo deste trabalho foi estudar a fisiologia pós-colheita do cambuci sob atmosfera controlada. O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Pós-colheita de Produtos Hortícolas do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP, em Piracicaba, São Paulo. Inicialmente, estimou-se a taxa respiratória com o auxílio do modelo de respiração do tipo *Michaelis-Menten* para prever o consumo de O<sub>2</sub> e em temperatura ambiente 20 °C por um curto período. Em seguida, caracterizamos a taxa respiratória em diferentes concentrações de CO<sub>2</sub>. Posteriormente, testou-se as concentrações de 21, 15, 10, 5, 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> e 0,03, 1, 4, 7, 10 kPa de CO<sub>2</sub> e 21 kPa de O<sub>2</sub> ambos a 5 °C e por 15 dias e avaliou-se os efeitos nos atributos de qualidade do cambuci em análises físico-química, caracterização dos compostos bioativos e de aroma no início e no fim de cada armazenamento. Todas as análises foram realizadas em quadruplicata e os dados foram submetidos à análise de variância (teste Tukey) e análise multivariada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado no esquema fatorial, composto por 5 tratamentos com 4 repetições no primeiro experimento e 4 tratamentos com 3 repetições no segundo experimento. A taxa respiratória do cambuci foi reduzida em até 90% com a redução de O<sub>2</sub> ou aumento de CO<sub>2</sub> a 20 °C. A redução da temperatura para 5 °C ampliou a vida pós-colheita do cambuci. Os atributos de qualidade - sólidos solúveis, acidez, firmeza, açúcares e ácidos orgânicos - não sofreram alterações expressivas em nenhuma das condições de armazenamento, no entanto, foram verificados danos severos a aparência como descoloração e machas escuras em todos os tratamentos. Baixo O<sub>2</sub> e elevado CO<sub>2</sub> provocou o acúmulo de acetaldeído e etanol e contribuiu para a degradação de taninos em todos os experimentos. As atmosferas de armazenamento afetaram de forma diferente a emissão de voláteis da polpa e a casca. Baixo O<sub>2</sub>, a 20 °C por 27 h reduziu a emissão de compostos percebidos como frutados e doces apenas da casca, mas a 5 °C e após 15 dias degradou compostos da polpa e estimulou a produção de voláteis de notas amadeiradas e herbais. Sob elevado CO<sub>2</sub> a emissão de ésteres, aldeídos e álcoois foi reduzida na polpa e estimulada na casca (20 °C por 48 h). Em cambucis armazenados por 15 dias a 5 °C causou o aumento na produção de ésteres, aldeídos e álcoois na polpa e de ésteres na casca - voláteis associados ao aroma de fruta fresca, madura e doce.

**Palavras-chave:** 1. Cambuci 2. Fisiologia 3. Armazenamento 4. Qualidade.

## ABSTRACT

### Postharvest physiology of cambuci in controlled atmosphere

Controlled atmosphere (CA) can be used as a tool for conservation and characterization of the postharvest physiology of cambuci. The aim of this work was to study the cambuci postharvest physiology under a controlled atmosphere. The project was developed in the Postharvest of Horticultural Products Laboratory of the Plant Production Department of ESALQ/USP, in Piracicaba, São Paulo. Initially, we estimated the respiration rate with the aid of the Michaelis-Menten respiration model to predict the O<sub>2</sub> consumption and at room temperature 20 °C for a short period. Next, we characterized the respiration rate at different CO<sub>2</sub> concentrations. Subsequently, we tested the concentrations of 21, 15, 10, 5, 1 kPa O<sub>2</sub> and 0.03 CO<sub>2</sub> and 0.03, 1, 4, 7, 10 kPa CO<sub>2</sub> and 21 kPa O<sub>2</sub> both at 5 °C and for 15 days and evaluated the effect on the quality attributes of cambuci in physicochemical analyses, characterization of bioactive compounds and aroma at the beginning and end of each storage. All analyses were performed in quadruplicate and data were submitted to analysis of variance (Tukey test) and multivariate analysis. The experimental design was entirely randomized in a factorial scheme, composed of 5 treatments with 4 repetitions in the first experiment and 4 treatments with 3 repetitions in the second experiment. The respiration rate of cambuci was reduced by up to 90% with reduced O<sub>2</sub> or increased CO<sub>2</sub> at 20 °C. Reducing the temperature to 5 °C extended the postharvest life of cambuci. The quality attributes - soluble solids, acidity, firmness, sugars, and organic acids - did not change significantly under any of the storage conditions, however, severe damage to appearance such as discoloration and dark bruising was seen in all treatments. Low O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub> caused the accumulation of acetAldeído and ethanol and contributed to tannin degradation in all experiments. The storage atmospheres affected the emission of volatiles from the pulp and the rind differently. Low O<sub>2</sub> at 20 °C for 27 h reduced the emission of compounds perceived as frutado and doce from the rind only, but in 15 days at 5 °C degraded compounds from the pulp and stimulated the production of volatiles of amaderial and herbal notes. Under high CO<sub>2</sub> the emission of ésters, Aldeídos and Álcools was reduced in the pulp and stimulated in the peel (20 °C for 48 h). In cambucis stored for 15 days at 5 °C caused increased production of ésters, Aldeídos, and Álcools in the pulp and of ésters in the peel - volatiles associated with the aroma of fresh, ripe, doce fruit.

**Keywords:** 1. Cambuci 2. Physiology 3. Storage 4. Quality

## 6. INTRODUÇÃO

O armazenamento de frutos em diferentes atmosferas, com controle de gases objetivando prolongar a vida útil após colheita, é recorrente para frutas como maçã (MDITSHWA; FAWOLE; OPARA, 2018), pêsego (MURRAY et al., 2007; WANKIER; SALUNKHE; CAMPBELL, 1970) e pêra (LARRIGAUDIERE et al., 2001). A atmosfera controlada permite que os produtos vegetais sejam armazenados por mais tempo mantendo suas características de qualidade possibilitando, por exemplo, que os frutos sejam comercializados fora da época de produção.

A modificação dos gases (alto de CO<sub>2</sub> e baixo O<sub>2</sub>) presentes na atmosfera de armazenamento pode desacelerar processos metabólicos como a respiração, a produção de etileno e a senescência (BRIZZOLARA et al., 2020; THOMPSON; BISHOP, 2016) e, portanto, controla o metabolismo primário e secundário dos vegetais. Por este motivo, o controle dos gases constitui uma ferramenta importante para estudos sobre a fisiologia em pós-colheita pois, permite modular o ambiente de armazenamento e investigar as respostas do produto vegetal estudado.

Desta forma, é possível analisar quais são os limites tolerados pelo fruto evitando efeitos deletérios a qualidade. A extrapolação dos limites tolerados pelo fruto causará danos irreversíveis devido ao stress, como por exemplo, a anoxia. Os prejuízos mais comuns são decorrentes da fermentação como o acúmulo de acetaldeído e etanol, distúrbios fisiológicos na polpa e casca e desenvolvimento de aromas desagradáveis (BANGERTH; SONG; STREIF, 2012). A minimização desses efeitos é possível por meio da determinação de uma atmosfera de armazenamento ideal desenvolvida a partir do conhecimento sobre a fisiologia do fruto.

Frutas nativas, como o cambuci, são pouco exploradas e estudadas e até o presente momento não há estudos que elucidem os efeitos da redução do oxigênio ou do aumento do dióxido de carbono na atmosfera de armazenamento. Sobre o metabolismo do cambuci, sabe-se que a taxa respiratória é elevada (> 30 mL Kg h<sup>-1</sup>), que a produção de etileno é baixa (inferior a 2,5 µL Kg h<sup>-1</sup>) e que sensível a danos por frio (10 °C) (AZEVEDO et al., 2017; TOKAIRIN, 2017). Essa combinação de fatores diminui sua vida útil e dificulta a sua comercialização in natura, evidenciando a necessidade de conhecer os processos metabólicos e fisiológicos e assim propor soluções para aumento da sua vida de prateleira.

O estudo da taxa respiratória em diferentes composições gasosas é uma forma de compreender o metabolismo dos frutos. A taxa respiratória pode ser estimada pela determinação da produção de dióxido de carbono ou pelo consumo de O<sub>2</sub>. Os valores obtidos experimentalmente podem ser utilizados em cálculos

matemáticos - como o modelo de respiração Michaelis-Menten – e prever o padrão respiratório em diferentes concentrações gasosas (FONSECA; OLIVEIRA; BRECHT, 2002a; MANGARAJ et al., 2014).

Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi estudar a fisiologia pós-colheita do cambuci sob atmosfera controlada.

## 7. MATERIAL E MÉTODOS

### 7.1.1. Material vegetal

Cambucis (*Campomanesia phaea*) foram colhidos maduros em uma propriedade em Natividade da Serra, São Paulo, Brasil, 23° 31' S e 45° 27' W. Os frutos foram cuidadosamente embalados em plástico bolha e colocados em caixas de papelão e, em seguida em caixas isotérmicas onde foram transportados para o Laboratório de Pós-colheita de Produtos Hortícolas da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP). Os frutos escolhidos eram de tamanho uniforme (aproximadamente 70,0 g) e não apresentavam quaisquer sintomas de fermentos ou podridão.

### 7.1.2. Estabelecimento de atmosferas controladas

Cambucis foram armazenados em câmaras herméticas (4 L) sob fluxo contínuo de 500 mL min<sup>-1</sup> e 90 ± 5% de umidade relativa (UR) em diferentes concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> para a realização dos experimentos.

Estudos sob temperatura ambiente foram conduzidos com objetivo de acelerar os processos metabólicos dos frutos e exacerbar efeitos da taxa respiratória. Estudos sob refrigeração foram conduzidos simulando uma situação comercial.

A. Experimento 1: Estudo de concentrações de oxigênio em temperatura ambiente

21, 10, 5, 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 20 ± 1 °C por 27h

B. Experimento 2: Estudo de concentrações de dióxido de carbono em temperatura ambiente

0,03, 1, 4 e 7 kPa de CO<sub>2</sub> e 21 kPa de O<sub>2</sub> a 20 ± 1 °C por 48h

C. Experimento 3: Estudo de concentrações de oxigênio sob refrigeração

21, 10, 15, 5 e 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 5 ± 1 °C por 15 dias + 2 dias sob 20 ± 1 °C.

D. Experimento 4: Estudo de concentrações de dióxido de carbono sob refrigeração

0,03, 1, 4, 7, 10 kPa de CO<sub>2</sub> e 21 kPa de O<sub>2</sub> a 5 ± 1 °C por 15 dias + 2 dias sob 20 ± 1 °C

Todos os experimentos foram compostos por duas avaliações controle:

- 1) uma realizada no início do armazenamento denominada início nos resultados de caracterização e colheita nos resultados de voláteis.
- 2) Controle: correspondente aos frutos armazenados em composição atmosférica de 21 kPa de O<sub>2</sub> e 0,003 de CO<sub>2</sub> em todos os experimentos.

Os experimentos 1 e 2 foram finalizados a partir do aparecimento de danos a aparência dos frutos, como descoloração da casca, manchas escuras e ruptura).

Nos experimentos 3 e 4, um lote de fruto foi armazenado a  $20 \pm 1$  °C durante dois dias e, posteriormente caracterizados quanto as mudanças físico-químicas. Em todos os experimentos as câmaras herméticas foram conectadas ao fluxcentro - ligado a cilindros de gás de alta pureza O<sub>2</sub> e N<sub>2</sub> e à um compressor odontológico – utilizado para a produção das misturas gasosas.

### **7.1.3. Análises:**

#### **7.1.3.1. Determinação da taxa respiratória**

A taxa respiratória foi determinada pela taxa de consumo de O<sub>2</sub> no experimento 1 e pela produção de CO<sub>2</sub> no experimento 2.

No experimento 1 (21, 10, 5, 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a  $20 \pm 1$  °C por 24h) os dados foram utilizados para calcular a taxa de consumo de O<sub>2</sub> por meio da equação 1 (FONSECA; OLIVEIRA; BRECHT, 2002c).

$$(Eq. 1) \quad RO_2 = |y_{O_2 \text{ in}} - y_{O_2 \text{ out}}| / 100 \times F/M \times P/RT \times 106/60$$

Onde RO<sub>2</sub> é a taxa de consumo de O<sub>2</sub> pelo cambuci ( $\mu\text{mol kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), y<sub>O<sub>2</sub></sub> é a concentração volumétrica de O<sub>2</sub> na câmara (in = entrada, out = saída), F é o fluxo de gases (L min<sup>-1</sup>), M é a massa de produto (kg), P é a pressão atmosférica (= 101,3 kPa), R é a constante universal de gás (= 8,314 L kPa K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>) e T é a temperatura absoluta (Kelvin). O efeito das diferentes atmosferas na fisiologia pós-colheita do cambuci foi utilizado para prever a taxa de consumo de O<sub>2</sub> em qualquer concentração de O<sub>2</sub> atmosférico foi utilizado o modelo de Michaelis-Menten descrito da equação 2.



$$\text{Eq. (2)} \quad \text{RO}_2 = V_{\text{max}} [\text{O}_2] / (\text{K}_m + [\text{O}_2])$$

Onde  $\text{RO}_2$  é a taxa de consumo de  $\text{O}_2$  pelo cambuci ( $\mu\text{mol Kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ),  $V_{\text{max}}$  é a taxa máxima de respiração ( $\mu\text{mol Kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ),  $\text{K}_m$  é a constante aparente de Michaelis-Menten e  $[\text{O}_2]$  é a concentração de oxigênio (kPa). Para obter os valores de  $V_{\text{max}}$  e  $\text{K}_m$ , a Eq. (2) foi linearizada na equação 3 pelo método dos mínimos quadrados e foram utilizados os dados de consumo de  $\text{O}_2$  obtidos experimentalmente.

$$\text{Eq. (3)} \quad [\text{O}_2] / \text{RO}_2 = [\text{O}_2] / V_{\text{máx}} + \text{K}_m / V_{\text{max}}$$

Para validação foram utilizados como parâmetros o valor do coeficiente de determinação, o nível médio de erro quadrático encontrado entre os valores preditos e os valores encontrados no experimento.

Nos resultados do experimento 2 (1, 4 e 7 kPa de  $\text{CO}_2$  e colheita e controle a  $20 \pm 1$  °C por 48h) a taxa respiratória foi estimada pela produção de  $\text{CO}_2$  com o auxílio da cromatografia gasosa.

### **7.1.3.2. Produção de dióxido de carbono**

A produção de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) foram realizadas com amostras de 1 mL com uma seringa para injeção no cromatógrafo a gás (TRACE 1310 - Thermo Fisher Scientific) equipado com detector de ionização de chama (FID) a 250 °C, coluna Porapak N, aço inox 4 m X 1/8Ss, 80-100 Thermo Trace 1300, injetor e forno a 120 °C, hidrogênio como gás de arraste  $20 \text{ mL}^{-1}$ , tempo de retenção de 1,485 minutos e tempo de corrida 2,0 minutos. Os resultados da produção de  $\text{CO}_2$  foram expressos em  $\text{mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

### **7.1.3.3. Análise de composição gasosa**

A análise da composição gasosa foi realizada com um analisador de gases Oxybaby, para verificar  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$  no interior das minicâmaras herméticas a cada 15 min nos experimentos 1 e 2 e duas vezes ao dia nos experimentos 3 e 4.

### **7.1.3.4. Cor**

A cor da casca dos cambucis foi obtida com um colorímetro Minolta® CR-300, com duas leituras feitas em lados opostos de cada fruta e os resultados foram expressos em ângulo de cor (° hue).

#### **7.1.3.5. Sólidos solúveis**

O conteúdo de sólidos solúveis da polpa do cambuci foi homogeneizada com um mixer e filtrada com uma gaze. A quantificação foi realizada com um refratômetro digital Atago Palette PR-101 e os resultados foram expressos em °Brix.

#### **7.1.3.6. Acidez titulável**

A acidez titulável da polpa foi determinada por titulação de neutralização usando 2 g de polpa homogeneizada em 18 mL de água destilada e filtrada. As amostras foram tituladas com uma solução padrão de hidróxido de sódio 1 N (NaOH) até pH 8,1. Os resultados foram expressos em % em equivalentes de ácido cítrico.

#### **7.1.3.7. Acetaldeído e etanol**

A análise de acetaldeído e etanol foi realizada com 1 g de cambuci armazenado em frascos de vidro de 13 mL. Os frascos foram então selados com septos de silicone e tampas plásticas e armazenados a -20 °C para análise no cromatógrafo. Posteriormente, as amostras foram descongeladas em banho-maria a 30 °C durante 30 minutos. Em seguida 1 mL do headspace foi coletado através do septo de silicone com o auxílio de uma seringa e injetado no cromatógrafo (Trace 1310 - Thermo) equipado com uma coluna Porapak N de 1,8 metros, injetor a 140 °C, forno a 60 °C por 12 minutos com rampa de 25 °C por minuto até 180 °C na qual permaneceu por 2 minutos, detector a 250 °C e fluxo 25 mL min<sup>-1</sup> de nitrogênio. O tempo de corrida foi de 18,8 minutos sendo a retenção do acetaldeído em 4,49 min e etanol a 12,03 minutos de acordo com o que foi proposto por (DAVIS, P.L. CHACE, 1969). .

#### **7.1.3.8. Taninos**

A determinação de taninos foi realizada com 1 g de casca de cambuci foi homogeneizada em moinho analítico (IKA A11) e nitrogênio líquido e de acordo com o estabelecido por (SUN; SILVA; SPRANGER, 1998). Os resultados foram expressos em catequina mg 100 g<sup>-1</sup>.

### **7.1.3.9. Vitamina C**

A quantificação da vitamina C foi realizada com 0,2 g de polpa em 3mL de 3% homogeneizada em Potter durante 1 min, centrifugada a 8000 rpm por 20 min a 4 °C e filtradas em PTFE de 0,45 µm. em seguida adicionou-se ditioneitol (DTT) para a redução do ácido dehidroascórbico. por cromatografia líquida de alta eficiência (Waters ACQ Arc Sys Core 1 HPLC system) de acordo com o método adaptado de (PASTERNAK et al., 2011) em coluna µBondpack C18 (3.9 mm x 300 mm.- WAT027324, Waters, Milford, MA), detecção UV 245 nm e fase móvel KCL 2mM a 0,8 mL<sup>-1</sup>. O padrão utilizado foi vitamina C obtido da MERK. Os resultados foram expressos em vitamina C mg 100 g<sup>-1</sup>.

### **7.1.3.10. Ácidos orgânicos**

A análise de ácidos orgânicos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (Waters ACQ Arc Sys Core 1 HPLC system) de acordo com o método adaptado de (AMORÓS et al., 2003) coluna Shodex RSpak KC-811 (8.0mm x 300mm - Waters, Milford, MA), fase móvel ácido fosfórico 0,1% a um fluxo de 0,5 mL<sup>-1</sup>.

### **7.1.3.11. Açúcares orgânicos**

A determinação de açúcares (frutose, glicose e sacarose) foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (Waters ACQ Arc Sys Core 1 HPLC system) de acordo com o método adaptado de (CHENLO et al., 2010) Amino (NH<sub>2</sub>) (3.9 mm X 300 mm - WAT084038, Waters, Milford, MA) com ACN 80% na fase móvel e fluxo de 1,0 mL<sup>-1</sup>.

### **7.1.3.12. Análise de compostos voláteis orgânicos**

Um total de 3 g de polpa e da casca de cada tratamento foi triturado em um moinho (IKA A11) com N<sub>2</sub> líquido e colocados em frascos de vidro de 20 mL contendo 7 mL de uma solução de NaCl a 30% (p/v). Os frascos foram então selados com tampas de aço inoxidável com septos de silicone e armazenados a -20 °C para análise GC-MS. Os compostos voláteis foram analisados aplicando o método de micro extração de fase sólida (SPME), consistindo em quatro réplicas.

As ampolas foram descongeladas num banho de água a 40 °C, sob agitação, durante 10 min, para acumular compostos voláteis no espaço da cabeça. Após o tempo de equilíbrio, o septo foi perfurado com uma agulha, permitindo a exposição da fibra SPME (divinilbenzeno, carboxeno, e polidimetilsiloxano 50/30 µm, Supelco, Inc., (Sigma-Aldrich, Belfonte, PA, EUA)) durante 50 min. Uma vez capturados, os compostos voláteis foram desorvidos da fibra por exposição ao calor do injetor de cromatografia (200 °C) durante 10 min.

Foi utilizado um cromatógrafo Hewlett-Packard (HP) 6890 para a detecção de compostos voláteis orgânicos (sigla em inglês - VOC's) acoplado a um espectrómetro de massa HP modelo 5973, com uma coluna cromatográfica Supelcowax 10 (30 m, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm espessura do filme). O programa de temperatura utilizado compreendia uma rampa de temperatura de 2 °C/min, de 40 a 150 °C.

A temperatura de interface entre o cromatógrafo e o detector de massa seletivo foi de 230 °C e a ionização foi realizada por impacto de elétrons (70 eV) com a fonte de íons mantida a 150 °C. O tempo total de funcionamento foi de 62 minutos. Os COVs foram identificados por comparação utilizando NIST2011, (Gaithersburg, EUA) e confirmados com dados espectrais disponíveis no *MassBank North America* (MoNA: <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/>).

Um conjunto dos seguintes padrões externos de compostos voláteis (Sigma-Aldrich, Belfonte, PA, EUA) foi preparado e injetado em GC-MS para validar a identificação de compostos por comparação do espectro de massas: Etil acetato; hexanal; 1-hexanol; (Z)-3-hexen-1-ol; 2-hexenal; 1-penten-3-ol; 6-metil-5-hepten-2-one; 1-pentanol; benzaldeído; β-mirceno; 2-feniletanol; δ-cadineno; α-cubebeno; β-cariofileno; D-limoneno; geraniol; α-felandreno; isoamil acetato; etanol; 4-terpineol; β-cariofileno-oxide; canfora; humuleno; γ-terpineno; α-pineno; β-pineno; etil butirato.

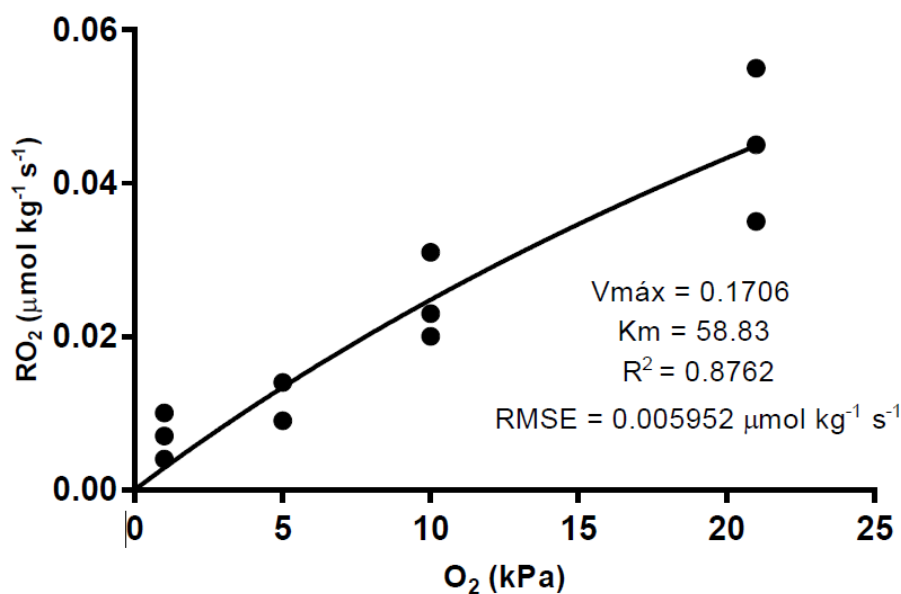
#### **7.1.4. Análise estatística**

Uma análise de variância (one-way ANOVA) e o teste Tukey ( $p < 0,05$ ) tamanho da amostra ( $N = 3$ ). Os resultados de compostos voláteis foram analisados com multivariada parcial dos mínimos quadrados-discriminantes (PLS-DA) e um agrupamento hierárquico e *heatmap*, preparados no programa Metaboanalyst 5.0, tamanho da amostra ( $N = 4$ ).

## 8. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 8.1. Estudo de concentrações de oxigênio em temperatura ambiente

A relação entre a concentração de  $O_2$  e as taxas de consumo de  $O_2$  por cambucis armazenados a 20 °C descrita pela equação de Michaelis-Menten revelou que a taxa respiratória diminuiu de acordo com o decréscimo de  $O_2$  (Figura 1).



**Figura 1.** Determinação da taxa respiratória: consumo de  $O_2$  - experimental e previsto de cambucis em 21, 10, 5 e 1 kPa  $O_2$  e 0,03 kPa de  $CO_2$  a  $20 \pm 1$  °C por 27 h, UR. Símbolos representam os valores dos dados experimentais ( $n = 4$ ) e a linha representa o modelo previsto pela modelo *Michaelis-Menten*.

A taxa de consumo de  $O_2$  a 1 kPa  $O_2$  foi suprimida em 91 % quando comparada com os frutos armazenados em atmosferas com 21 kPa  $O_2$  a  $20 \pm 1$  °C. Os valores preditos podem explicar a alteração da taxa respiratória experimental sob as diferentes concentrações de  $O_2$  no ambiente devido ao alto coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,88$ ) e ao baixo nível de erro quadrático médio ( $\text{RMSE} = 5,95 \times 10^{-3} \mu\text{mol kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) entre os valores preditos e os valores experimentais.

A limitação da quantidade de oxigênio disponível na atmosfera de armazenamento não causou mudanças significativas nos atributos de qualidade como sólidos solúveis, acidez titulável e firmeza em nenhum tratamento - 21, 10, 5 e 1 kPa  $O_2$  e 0,03 kPa de  $CO_2$  (Tabela 1). Tal resultado pode ser devido ao pouco tempo de exposição de apenas 27h.

**Tabela 1.** Mudança nos atributos de qualidade em cambucis armazenados sob 21, 10, 5 e 1kPa de O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> durante 27 h a 20 ± 1 °C e 90 ± 5 % UR.

	Sólidos solúveis (°Brix)		% acidez		Firmeza (N)		Ângulo de cor (° hue)	
	Início	Fim <sup>a</sup>	Início	Fim <sup>a</sup>	Início	Fim <sup>a</sup>	Início	Fim <sup>a</sup>
Controle	10,43 ns	9,93 ns	3,86 ns	3,43 ns	1,5 ns	0,73 ns	104,35 aA	108,88 aA
1 kPa O <sub>2</sub>	10,43 ns	9,61 ns	3,86 ns	3,57 ns	1,5 ns	0,76 ns	104,35 aA	97,56 cB
5 kPa O <sub>2</sub>	10,43 ns	10,04 ns	3,86 ns	3,81 ns	1,5 ns	1,00 ns	104,35 aA	103,22 bA
10 kPa O <sub>2</sub>	10,43 ns	10,01 ns	3,86 ns	3,75 ns	1,5 ns	1,25 ns	104,35 aB	106,56 abA

\*NS: não significativo, não foi aplicado o teste de comparação de médias, o F de interação não foi significativo. <sup>a</sup>Após 27 h de armazenamento a 20 °C. Letras minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si.

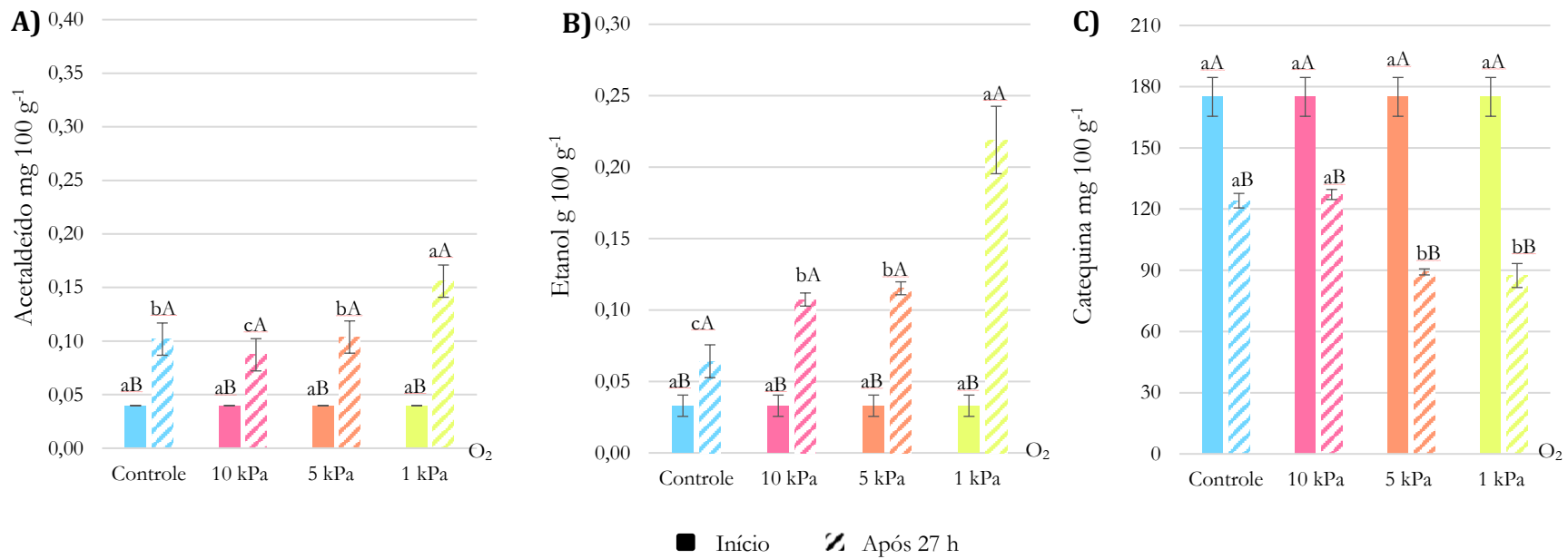
Entretanto, foram observados danos significativos na aparência dos cambucis. A casca foi a parte mais afetada, quanto menor disponibilidade de O<sub>2</sub> mais tons amarelados foram observados. A intensidade dos danos foi maior nos cambucis submetidos ao tratamento de 1 kPa de O<sub>2</sub>, onde o ângulo de cor da casca (° hue) foi modificado de 104,35 ± 2,9 para 97,6 ± 1,2 (Tabela 1).

A perda intensa de clorofila representa um importante prejuízo para o cambuci – um fruto de casca tipicamente verde mesmo quando completamente maduro. Adicionalmente é contraditório com o resultado observado em outros estudos, o mais recente elucidada sobre o mecanismo, em brócolis, a baixa pressão de oxigênio desacelerou o amarelecimento inibindo a expressão de genes relacionados com a degradação da clorofila e aumentando o teor de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ZHANG et al., 2021).

O catabolismo da clorofila em um curto período de armazenamento é um indicativo do metabolismo anaeróbico, especificamente do acúmulo de etanol (DEELL; TOIVONEN, 2000). O etanol pode modificar a estrutura das membranas celulares - inclusive dos cloroplastos e seus componentes – e, conseqüentemente prejudicar o seu funcionamento (BRUEMMER, 1986; SUZUKI et al., 2005).

O aumento da produção de etanol está relacionado com a perda da função dos cloroplastos. Nesse caso, a clorofila pode ser convertida a feofitina devido a perda de Mg<sup>2+</sup> em condições ácidas transformando a coloração para verde amarronzado (FAN et al., 2005; HUMPHREY, 1980; MINGUEZ-MOSQUERA; FERNANDEZ; GANDUL-ROJAS, 2002).

Estes resultados condizem com acúmulo de acetaldeído e etanol na polpa do cambuci de todos os tratamentos (Figura 2). No controle, o aumento entre início e o fim do armazenamento foi três vezes maior para o acetaldeído e duas vezes para o etanol (Figura 2A e 2B).



**Figura 2.** Acetaldeído, etanol da polpa e taninos da casca de cambucis armazenados em 21, 10, 5, 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 kPa de CO<sub>2</sub> armazenado a 20 ± 1 °C por 27h, 90 ± 5% UR. Letras minúsculas indicam diferenças entre tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4; ANOVA e teste Tukey). Gráficos representam a média e desvio padrão da média.

Em atmosferas com 10 kPa de O<sub>2</sub> observou-se uma concentração de acetaldeído levemente menor 0,08 mg 100g<sup>-1</sup> em relação aos outros tratamentos. Enquanto, em 5 kPa de O<sub>2</sub> o acúmulo de acetaldeído foi semelhante ao controle. O tratamento com 1 kPa de O<sub>2</sub> (0,15 mg 100g<sup>-1</sup>) concentrou a maior quantidade de acetaldeído (Figura 2A). Este valor foi 66% superior ao 0,09 mg 100g<sup>-1</sup> de acetaldeído encontrado em pera e correlacionado com danos severos como o *brown core*.(PINTÓ et al., 2001)

A maior quantidade de etanol também foi caracterizada no tratamento com 1 kPa de O<sub>2</sub>. O valor aferido foi 70% maior que o controle. Os tratamentos de 10 e 5 kPa de O<sub>2</sub> foram maiores em relação ao controle e não diferiram entre si (Figura 2B). Estes resultados sugerem que a diminuição da disponibilidade de O<sub>2</sub> induziu a respiração anaeróbica intensificando a produção de acetaldeído e etanol.

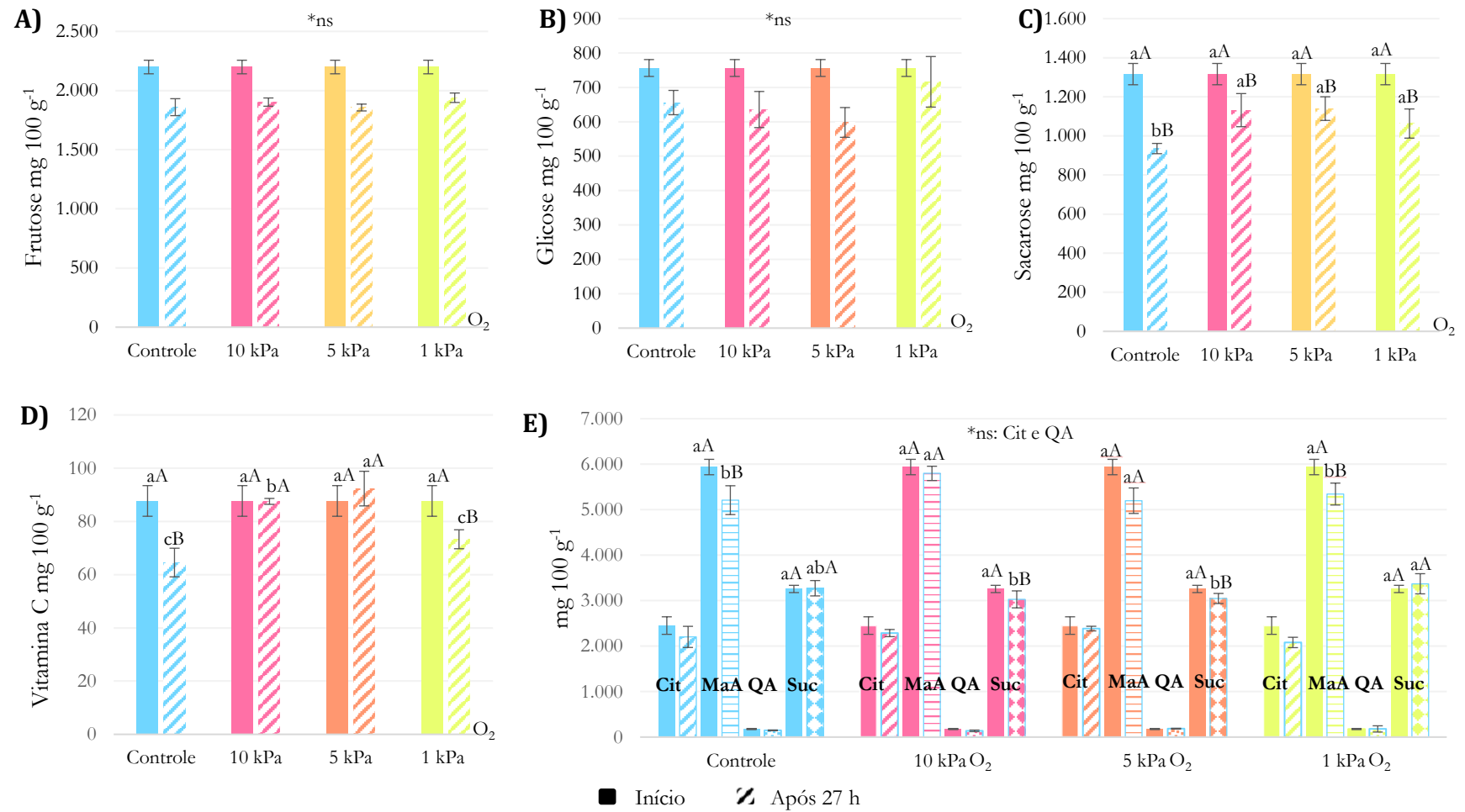
Adicionalmente, o acúmulo de acetaldeído e etanol está associado a modificações na adstringência do cambuci. No início do armazenamento as concentrações de taninos na casca do cambuci eram elevadas (175 mg 100 g<sup>-1</sup>), mas diminuíram rapidamente ao longo das 27 horas de armazenamento (Figura 2C). Sob as atmosferas com 5 e 1 kPa de O<sub>2</sub> a degradação de taninos foi mais intensa e resultou em um conteúdo cerca de 50% maior em relação ao início e 30% em comparação com o controle e o tratamento com 10 kPa de O<sub>2</sub>.

A diminuição relevante destes compostos fenólicos ocorreu nos tratamentos (5 e 1 kPa de O<sub>2</sub>) - onde foi caracterizado o maior incremento de acetaldeído e etanol. Estes resultados são sustentados pela hipótese de que o acetaldeído polimeriza os taninos solúveis formando um composto insolúvel que não interagem com as papilas gustativas (ES-SAFI; CHEYNIER; MOUTOUNET, 2002). Portanto, podemos inferir que a alteração do conteúdo de taninos solúveis - catequina – diminuiu a adstringência e pode ter alterado a experiência sensorial do consumo do cambuci.

Assim como os taninos, os açúcares são importantes constituintes para a experiência de consumo do cambuci, e combinados com os ácidos orgânicos são fundamentais para a composição do sabor. A composição de açúcares em armazenamento em atmosferas com reduzido O<sub>2</sub> produz respostas variadas, podendo diminuir, aumentar ou serem conservadas (LAKAKUL; BEAUDRY; HERNANDEZ, 1999).

Para o cambuci o conteúdo de frutose e glicose na polpa não foi afetado entre os tratamentos com baixo O<sub>2</sub> no período de 27 h de armazenamento a 20 °C (Figura 3A e 3B). A sacarose diminuiu para todos os tratamentos em comparação com o início do armazenamento. A maior perda ocorreu no controle, onde a sacarose ficou 30% menor em relação ao início. Todavia, não houve diferença estatística entre os tratamentos com 10, 5, e 1 kPa de O<sub>2</sub> entre os quais a diminuição em relação ao início foi em média de 19% (Figura 3C).





**Figura 3.** Açúcares – Frutose (A), glicose (B), sacarose (C), vitamina C (D) e ácidos orgânicos(E) – ácido cítrico (Cit), ácido málico (MaA), ácido quínico (QA) e ácido succínico (Suc) na polpa de cambuci armazenados em 21, 10, 5, 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 kPa de CO<sub>2</sub> armazenado a 20 ± 1 °C por 27h, 90 ± 5% UR. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, ANOVA e teste Tukey). \*ns: não significativo. Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média.

A diminuição do oxigênio reduz as perdas de sacarose (KNEE, 2002), concordando com o que foi observado no cambuci: a sacarose foi menos degradada nos tratamentos com menor da taxa respiratória uma vez que a partir de 10 kPa de O<sub>2</sub> a taxa respiratória foi reduzida em 50% em relação ao controle (Figura 1).

A vitamina C é utilizada como um índice da qualidade dos frutos, sendo este um dos motivos pelos quais é amplamente estudada na tentativa de prevenir perdas (ODRIOZOLA-SERRANO; HERNÁNDEZ-JOVER; MARTÍN-BELLOSO, 2007). No cambuci a maior redução da vitamina C foi observado no controle, onde o conteúdo de vitamina C foi 26% menor em relação ao início do armazenamento seguido por uma perda de 14% no tratamento com 1 kPa de O<sub>2</sub>.

Estes resultados contrastam com os tratamentos com 5 e 10 kPa O<sub>2</sub> nos quais a vitamina C foi conservada (Figura 3D). Elevadas concentrações de O<sub>2</sub> provocam facilmente a oxidação do ácido ascórbico (J.F. GREGORY, 1996). A degradação de vitamina C foi minimizada em ambientes com baixo O<sub>2</sub> – entre 10 e 5 kPa. Por outro lado, condições de O<sub>2</sub> muito baixo (1 kPa) a vitamina C foi tão degradada quanto no controle.

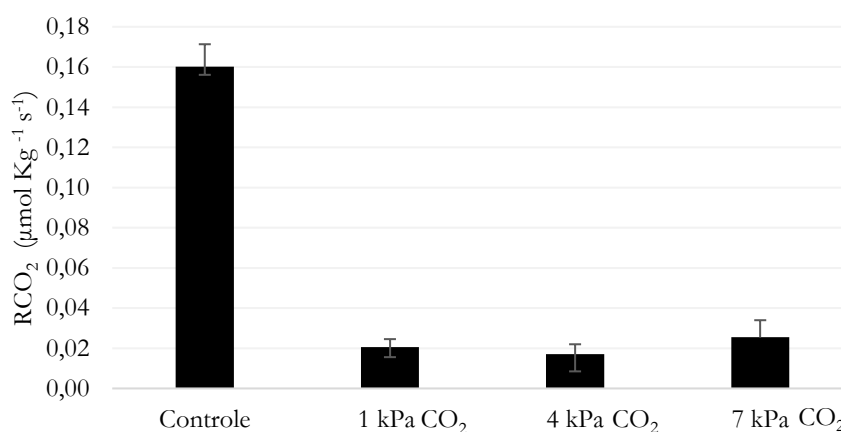
A presença dos ácidos orgânicos é fundamental para caracterização do sabor do cambuci e geralmente tendem a diminuir durante o armazenamento, pois podem ser utilizados como substratos respiratórios. Nas condições avaliadas neste experimento, não houve alterações expressivas para o conteúdo de ácido cítrico e quínico considerados os principais constituintes da acidez do cambuci (SPRICIGO et al., 2021) (Figura 3E).

A redução da disponibilidade de oxigênio foi vantajosa para a manutenção das concentrações de ácido málico em relação ao controle e para o ácido succínico houve uma pequena redução do conteúdo para os tratamentos do controle e com 10 e 5 kPa de O<sub>2</sub>. O maior teor de ácidos succínico foi quantificado nos tratamentos com 1 kPa de O<sub>2</sub> (Figura 3E). A quantidade de ácidos orgânicos na polpa do cambuci foi pouco dependente do efeito da baixa pressão de oxigênio sob 27 horas de armazenamento a 20 °C.

A diminuição do oxigênio na atmosfera de armazenamento reduziu a taxa respiratória do cambuci durante 27 horas sem causar mudanças significativas no conteúdo de sólidos solúveis, % de acidez, firmeza, açúcares e ácidos orgânicos e vitamina C. As maiores modificações ocorreram na aparência do cambuci (ângulo de cor), no acúmulo de acetaldeído e etanol e na degradação de taninos sobretudo nos cambucis armazenados sob as concentrações de 1 kPa de O<sub>2</sub>. Os resultados podem ter influenciado significativamente pelo pouco tempo de armazenamento e pela temperatura elevada (20 °C). Destacando-se a necessidade de um maior período de armazenamento para resultado mais conclusivo.

## 8.2. Estudo de concentrações de dióxido de carbono em temperatura ambiente

A taxa respiratória do cambuci foi medida pela produção de CO<sub>2</sub> em atmosferas enriquecidas com 1, 4 e 7 kPa de CO<sub>2</sub> como resultado observou-se a diminuição de 80% da taxa respiratória em relação ao controle para todos os tratamentos mesmo com a manutenção do O<sub>2</sub> a 21 kPa (Figura 4).



**Figura 4.** Determinação da taxa respiratória pela produção de CO<sub>2</sub> emitido por cambucis armazenados em 0,03, 1, 4 e 7 kPa de CO<sub>2</sub> e 21 kPa O<sub>2</sub> a 20 ± 1 °C por 48h e 90 ± 5% UR. Os valores representam a média e as barras verticais representam desvio padrão da média (n = 4).

A influência do CO<sub>2</sub> no processo de redução da taxa respiratória ainda não foi completamente elucidada, mas fatores como a concentração de CO<sub>2</sub>, o tempo de exposição e o tipo de produto vegetal contribuem para respostas variadas (FONSECA; OLIVEIRA; BRECHT, 2002b). Diversos estudos observaram pouco ou nenhum efeito do CO<sub>2</sub> na redução da taxa respiratória (AMTHOR, 1991; BEAUDRY et al., 1992; KERBEL; KADER; ROMANI, 1988; TALASILA; CHAU; BRECHT, 1992) resultados contrários ao constatado para o cambuci.

Adicionalmente, verificamos que taxa respiratória não diminuiu de forma gradual para cada concentração de CO<sub>2</sub> como observado no experimento 1 (Figura 1). Aparentemente, 1 kPa de CO<sub>2</sub> e 7 kPa CO<sub>2</sub> provocaram o mesmo efeito na produção de CO<sub>2</sub> podendo ter influenciado o metabolismo primário e consequentemente, de forma semelhante (Figura 4).

Após 48 horas, sob as atmosferas com 1, 4 e 7 kPa de CO<sub>2</sub>, não foram identificadas alterações significativas para os atributos de sólidos solúveis (°Brix), % acidez, firmeza (N) e ângulo de cor (°hue) em comparação com

os cambucis os resultados obtidos no início e no fim das 48h de armazenamento (Tabela 2). Estes resultados são semelhantes ao observado para o experimento 1. A ausência de diferenças significativas para estes atributos também pode estar correlacionada com o pequeno período de armazenamento.

**Tabela 2.** Mudança nos atributos de qualidade em cambucis armazenados sob 0,03, 1, 4 e 7 kPa de CO<sub>2</sub> e 21 kPa de O<sub>2</sub> durante 48 h a 20 ± 1 °C e 90 ± 5 % UR.

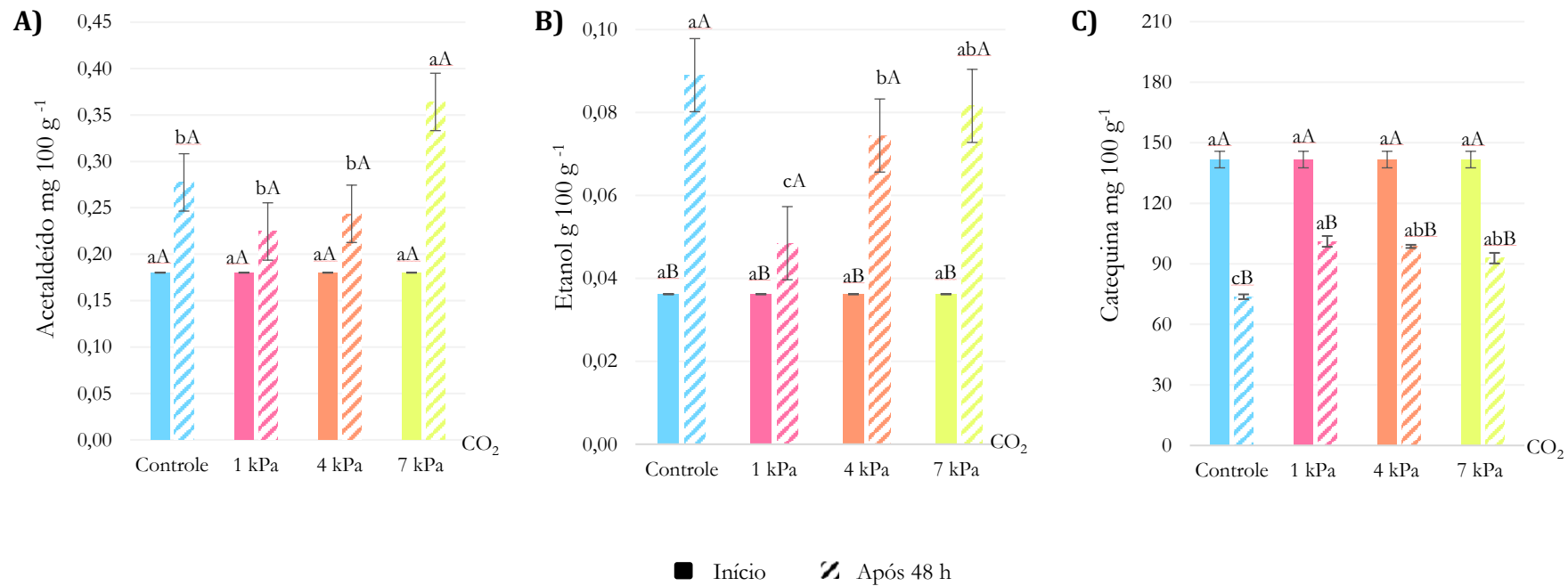
	Sólidos solúveis (°Brix)		% acidez		Firmeza (N)		Ângulo de cor (° hue)	
	Início	Fim <sup>a</sup>	Início	Fim <sup>a</sup>	Início	Fim <sup>a</sup>	Início	Fim <sup>a</sup>
Controle	10,15 ns	9,83 ns	2,9 ns	2,97 ns	2,37 ns	1,24 ns	109,11 ns	102,45 ns
1 kPa CO <sub>2</sub>	10,15 ns	10,13 ns	2,9 ns	2,87 ns	2,37 ns	1,47 ns	109,11 ns	102,95 ns
4 kPa CO <sub>2</sub>	10,15 ns	9,97 ns	2,9 ns	2,83 ns	2,37 ns	1,31 ns	109,11 ns	102,46 ns
7kPa CO <sub>2</sub>	10,15 ns	10,05 ns	2,9 ns	2,92 ns	2,37 ns	1,35 ns	109,11 ns	104,31 ns

\*NS: não significativo, não foi aplicado o teste de comparação de médias, o F de interação não foi significativo. <sup>a</sup>Após 48 h de armazenamento a 20 °C. Letras minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si.

Contudo, foram observadas manchas amarronzadas e algumas rachaduras na casca que prejudicaram a aparência dos frutos. Manchas marrons na casca de frutos armazenados em atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> é um dano comumente observado em maçãs e peras quando armazenados em concentrações acima do limite tolerado ou durante longos períodos de armazenamento (JAMES; JOBLING, 2009; LAU, 1998; VOLZ et al., 1998; WATKINS; SILSBY; GOFFINET, 1997). Contudo, há evidências de que essa desordem fisiológica possa estar associada a fatores pré-colheita. Em maçã ‘Fuji’ o teor de cálcio menor que 80 mg kg<sup>-1</sup> aumentou susceptibilidade ao problema (CORRÊA et al., 2017).

Entretanto, estes danos não foram observados apenas nos tratamentos com alto CO<sub>2</sub>, mas também nos frutos do controle. Estas deteriorações podem estar relacionadas com o acúmulo de acetaldeído e etanol na polpa dos frutos (Figura 5). Uma vez que o aumento destes compostos foi constatado em todos os tratamentos em quantidades superiores ao início do armazenamento e pode ter sido potencializado pela temperatura de armazenamento (20 °C).

No controle e nos tratamentos com 1 e 4 kPa de CO<sub>2</sub> as concentrações de acetaldeído foram em média 37% maior que o início. Evidenciando que armazenamento do cambuci em atmosfera normal (0,03 kPa de CO<sub>2</sub> e 21 kPa de O<sub>2</sub>) e em atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> (1 e 4 kPa de CO<sub>2</sub>) resultou no acúmulo de acetaldeído em proporções equivalentes (Figura 5A).



**Figura 5.** Acetaldeído(A), etanol (B) e taninos (C) de cambucis armazenados em 0,03, 1, 4, 7 kPa CO<sub>2</sub> e 21 kPa O<sub>2</sub> a 20 ± 1 °C por 48h, 90 ± 5% UR. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, ANOVA e teste Tukey). Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média.

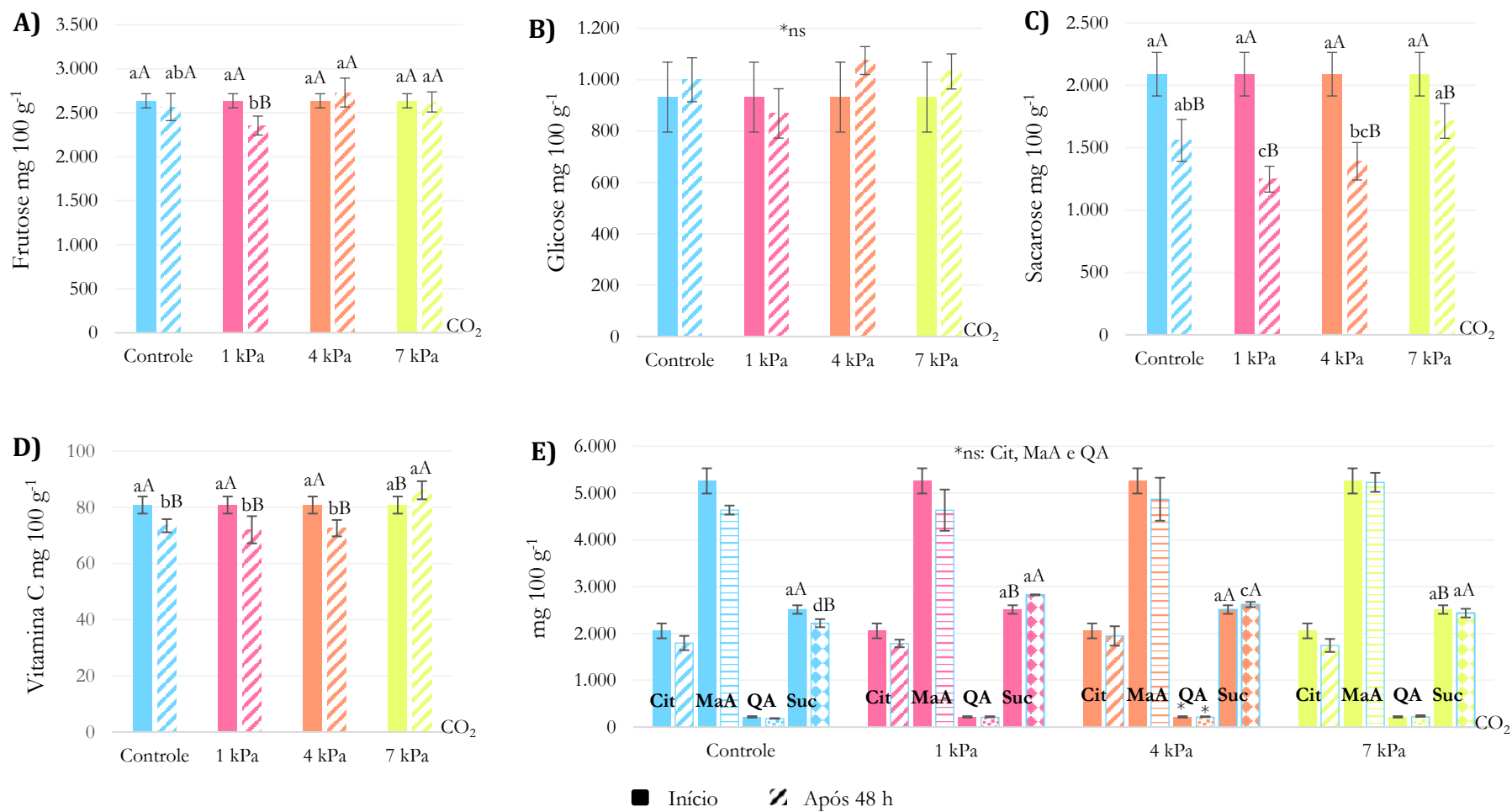
No entanto, o acúmulo de acetaldeído foi mais abundante nos cambucis armazenados a 7 kPa de CO<sub>2</sub> onde os valores dobraram em relação ao início e chegaram a 0,36 mg 100g<sup>-1</sup>(Figura 5A).

O incremento de etanol foi significativo na polpa dos cambucis do grupo controle, a quantidade de etanol no tecido vegetal foi 2,25 vezes maior entre o início e o fim das 48h de armazenamento (Figura 5B). O segundo maior valor para o etanol foi caracterizado na polpa dos cambucis sob 7 kPa de CO<sub>2</sub> - 1,55 vezes maior que o início do armazenamento - seguido, pelos tratamentos 4 kPa de CO<sub>2</sub> e 1 kPa de CO<sub>2</sub> (Figura 5B).

O aumento de acetaldeído e etanol em poucas horas nas amostras do controle foi semelhante ao observado no experimento 1 e sugere o acúmulo destes compostos ocorre naturalmente no cambuci. Estes resultados são coerentes com o acúmulo de acetaldeído e etanol observado durante o processo de amadurecimento da manga 'Tommy Atkins' e maçã 'Fuji'(ARGENTA; FAN; MATTHEIS, 2002; BENDER et al., 2000). A produção de acetaldeído e etanol inicia-se ainda na árvore e quanto mais avançado o estágio de maturação mais rápido poderá ocorrer a fermentação durante o armazenamento em pós-colheita (PESIS, 2005a).

Outra consequência do incremento de acetaldeído foi a diminuição dos taninos da casca do cambuci, que ocorreu em todos os tratamentos em relação ao início do armazenamento (Figura 5C). O acetaldeído está diretamente envolvido com a polimerização destes compostos fenólicos. Em aqui, a diminuição de taninos foi correlacionada ao acúmulo de acetaldeído durante o tratamento com elevado dióxido de carbono (MATSUO; ITOO, 2014). No cambuci o acúmulo de acetaldeído não foi diretamente proporcional a degradação de taninos. O tratamento com 7kPa de CO<sub>2</sub> houve a maior concentração de acetaldeído, mas foi no controle que ocorreu o maior decréscimo no conteúdo de taninos. A menor no tratamento com 1 kPa de CO<sub>2</sub> (Figura 5C).

A frutose foi mais degradada no tratamento com 1 kPa e conservada nos tratamentos com elevado CO<sub>2</sub> (> 4%). O conteúdo de glicose na polpa dos cambucis não foi afetado significativamente pela elevação do CO<sub>2</sub> na atmosfera de armazenamento (Figura 6A e 6B). Por outro lado, a quantidade de sacarose decresceu em todos os tratamentos. Aparentemente, a sacarose foi mais utilizada como substrato respiratório nos cambucis dos tratamentos que produziram menor quantidade de acetaldeído e etanol. Assim, constatou-se que cerca de 40 e 30% da sacarose foi perdida nas concentrações atmosféricas de 1 e 4 kPa CO<sub>2</sub>, respectivamente (Figura 6C). Enquanto, a 7 kPa de CO<sub>2</sub> apenas 18% do teor de sacarose foi degradado, seguido pelo controle (25 %) em relação com início do armazenamento (Figura 6C).



**Figura 6.** Açúcares – Frutose (A), glicose (B), sacarose (C), vitamina C (D) e ácidos orgânicos (E) – ácido cítrico (Cit), ácido málico (MaA), ácido quínico (QA) e ácido succínico (Suc) na polpa de cambuci armazenados em 0,03 1, 4, 7 kPa CO<sub>2</sub> e 21 kPa de O<sub>2</sub> a 20 ± 1 °C por 48h, 90 ± 5% UR. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, ANOVA e teste Tukey). \*ns: não significativo. Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média.

A vitamina C foi conservada no tratamento com maior concentração de CO<sub>2</sub> – 7 kPa – concentração semelhante ao quantificado no início do armazenamento. A perda da vitamina C pode ser reduzida em atmosferas enriquecidas com até 10% de CO<sub>2</sub> (LEE; KADER, 2000). Entretanto, os tratamentos com 1 e 4 kPa de CO<sub>2</sub> não tiveram este efeito e a vitamina C foi tão degradada quanto no controle (Figura 6D).

As quantidades de ácido cítrico, málico e quínico na polpa de cambucis não foram modificadas de forma significativa (Figura 6E). O ácido succínico foi preservado nas atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> em comparação ao controle. Entre os tratamentos 1, 4 e 7 kPa de CO<sub>2</sub> o maior teor de ácido succínico foi (2.825 mg 100 g<sup>-1</sup>) quantificado no tratamento com 1 kPa de CO<sub>2</sub> (Figura 6E).

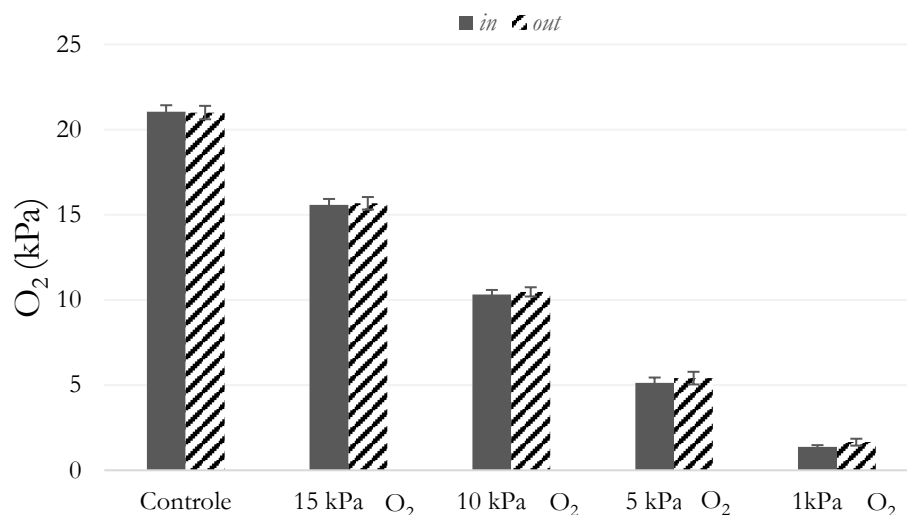
O aumento de dióxido de carbono na atmosfera de armazenamento reduziu a taxa respiratória do cambuci sem alterar significativamente o conteúdo de sólidos solúveis, % de acidez, firmeza e ângulo de cor. Açúcares, ácidos orgânicos e vitamina C menos degradados em 7 kPa de CO<sub>2</sub>. Os atributos que mais se modificaram durante as 48h de armazenamento foram acetaldeído, etanol e taninos. Destacando-se o fato de que apesar do acúmulo de acetaldeído ter sido maior no tratamento com 7 kPa de CO<sub>2</sub> a maior degradação de taninos ocorreu na casca dos cambucis do controle.

Tendo em vista a diminuição da taxa respiratória e as poucas modificações nos produtos do metabolismo primário e secundário, enfatiza-se mais uma vez o curto tempo de armazenamento. A necessidade de um maior período para observação da fisiologia pós-colheita do cambuci foi fundamental para uma constatação mais precisa, da influência da atmosfera de armazenamento.



### 8.3. Estudo de concentrações de oxigênio sob refrigeração

Neste experimento os cambucis foram armazenados em atmosferas com 21, 15, 10, 5 e 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 kPa CO<sub>2</sub> sob fluxo contínuo (500 mL min<sup>-1</sup>) a 5 °C durante 15 dias para verificar o efeito de atmosferas com baixa disponibilidade de O<sub>2</sub> associada a temperatura na qualidade pós-colheita do cambuci (Figura 7).



**Figura 7.** Atmosfera controla com 21, 15, 10, 5 e 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 kPa CO<sub>2</sub> em fluxo contínuo de 500 ml min<sup>-1</sup> durante 15 dias a 5 ± 1 °C, 90 ± 5% UR Onde, *in* refere-se a entrada e *out* a saída de fluxo das câmaras de armazenamento. Os valores correspondem a média e barras verticais representam desvio padrão da média (n= 4).

A redução da temperatura para 5 °C contribuiu para o aumento da vida pós-colheita do cambuci em 14 dias comparado ao experimento 1 e foi superior a 10 dias em relação aos resultados reportados por (TOKAIRIN, 2017).

A associação da refrigeração com a diminuição da disponibilidade de O<sub>2</sub> contribuiu para a manutenção da qualidade dos frutos por um maior tempo, permitindo um maior tempo de observação dos efeitos das atmosferas de armazenamento nos atributos de qualidade, mas podem provocar efeitos indesejáveis como o dano por frio – *chilling* e perda do aroma (KADER, 2003). Algumas modificações foram verificadas nas características nos sólidos solúveis, acidez, firmeza e ângulo de cor dos cambucis depois dos 15 dias a 5 ± 1 °C e, após 2 dias a 20 ± 1 °C.

Os sólidos solúveis entre o início e o fim dos 15 dias de armazenamento refrigerado aumentou em mais de 9% e após 2 dias sob 20 °C a produção de sólidos solúveis foi 16% maior em relação ao início (Tabela 3). Nos tratamentos com 5, 10, 15 kPa de O<sub>2</sub> houve um decréscimo entre 1 e 7% durante os 15 dias de armazenamento, seguido por aumento que variou entre 3 e 10% após 2 dias sob 20 °C e atmosfera normal.

**Tabela 3.** Mudança nos atributos de qualidade - sólidos solúveis (° brix), % acidez, firmeza (N) e ângulo de cor (°hue) de cambucis armazenados sob 21, 15, 10, 5 e 1kPa de O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> durante 15 dias a 5 ± 1 °C, 90 ± 5% UR.

	Sólidos solúveis (°Brix)						% Ac. cítrico			Firmeza (N)			Ângulo de cor (° hue)											
	Início		Fim <sup>a</sup>		Ambiente <sup>b</sup>		Início		Fim <sup>a</sup>	Ambiente <sup>b</sup>	Início		Fim <sup>a</sup>	Ambiente <sup>b</sup>	Início		Fim <sup>a</sup>	Ambiente <sup>b</sup>						
1 kPa O <sub>2</sub>	9,4	aA	9,8	abA	9,5	dA	2,6	aAB	2,2	cB	3,0	aA	1,6	ns	2,3	ns	1,0	ns	119,7	aA	104,4	aB	91,73	bC
5 kPa O <sub>2</sub>	9,4	aA	8,7	dB	9,7	cdA	2,6	aA	2,6	bcA	3,0	aA	1,6	ns	2,4	ns	1,5	ns	119,7	aA	106,2	aB	93,88	bC
10 kPa O <sub>2</sub>	9,4	aB	9,2	cB	10,4	bA	2,6	aB	2,7	bcAB	3,1	aA	1,6	ns	2,0	ns	1,6	ns	119,7	aA	105,4	aB	91,98	bC
15 kPa O <sub>2</sub>	9,4	aB	9,3	bcB	10,1	bcA	2,6	aA	2,8	abA	2,0	bB	1,6	ns	2,2	ns	1,2	ns	119,7	aA	106,9	aB	99,45	bB
Controle	9,4	aC	10,3	aB	10,9	aA	2,6	aB	3,3	aA	2,0	bB	1,6	ns	2,0	ns	1,2	ns	119,7	aA	104,1	aB	97,21	bB

\*NS: não significativo, não foi aplicado o teste de comparação de médias porque o F de interação não foi significativo. <sup>a</sup>Após 15 d de armazenamento a 5 °C. <sup>b</sup> Ensaio de comercialização frutos armazenados por 2d a 20 °C. Letras minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si.

O tratamento com 1 kPa de O<sub>2</sub> registrou o menor conteúdo de sólidos solúveis, apenas 1% maior que o início do armazenamento (Tabela 3). A disponibilidade de O<sub>2</sub> no controle e nas atmosferas com 5, 10 e 15 kPa parece ter colaborado para o incremento no conteúdo de sólidos solúveis.

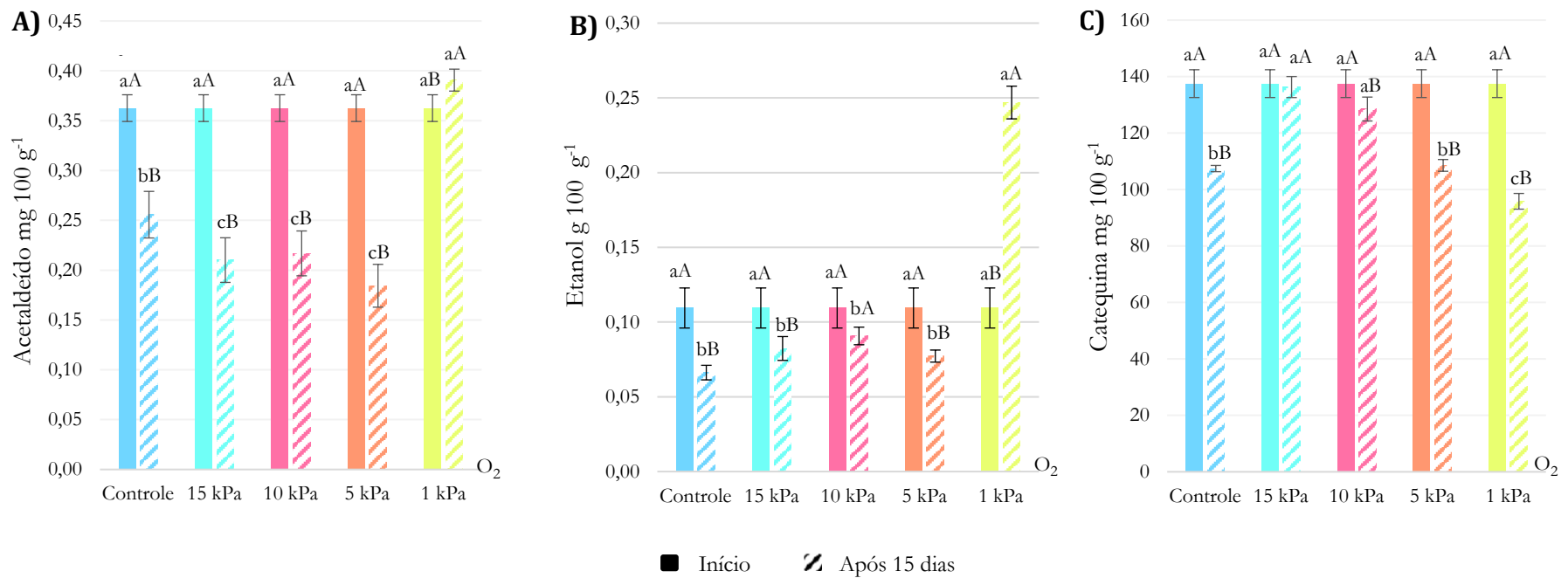
A acidez dos cambucis do controle aumentou em 27% em relação aos valores encontrados no início do armazenamento, mas após a exposição a temperatura ambiente (20 °C) foi reduzida em 15% em comparação ao quantificado no início. A mesma tendência foi observada nos cambucis do tratamento com 15 kPa de O<sub>2</sub>. O contrário ocorreu nos tratamentos com 10, 5 e 1 kPa O<sub>2</sub> onde os maiores percentuais de acidez foram observados depois de 2 dias a 20 ± 1 °C (Tabela 3).

A firmeza não foi alterada significativamente para nenhum dos tratamentos.

O ângulo de cor diminuiu no fim dos 15 dias de armazenamento em todos os tratamentos e não foi observado efeito das atmosferas de armazenamento neste período (Tabela 3). Ocorreu o amarelecimento da casca devido a perda da clorofila semelhante ao observado no experimento 1, mas em tempo maior. Após a saída da refrigeração, a coloração da casca tornou-se mais amarelada, principalmente para os tratamentos com 1, 5 e 10 kPa de O<sub>2</sub> nos quais houve em média uma redução de 23 % no ângulo hue em comparação com ao início e de 5% em relação ao controle.

A diminuição do ângulo de cor intensificou com o aumento da taxa respiratória e das atividades metabólicas quando os frutos foram expostos a temperaturas superiores. Além da degradação de clorofilas, a casca do cambuci tornou-se mais acinzentada devido ao aparecimento de manchas e pequenas depressões caracterizando o dano por *chilling*.

Temperaturas reduzidas e o tempo de armazenamento podem contribuir para o aumento das concentrações da acetaldeído e etanol, dependendo do produto armazenado e da sua sensibilidade a fermentação. No cambuci, a produção de acetaldeído entre o início e o fim do armazenamento foi reduzida em mais de 27%. A redução foi ainda maior para os tratamentos com 15, 10 e 5 kPa de O<sub>2</sub> nos quais a concentração de acetaldeído foi, em média, 43% menor que o início do armazenamento (Figura 8A).



**Figura 8.** Acetaldeído(A), etanol (B) e taninos (C) de cambucis armazenados em 21, 15, 10, 5 e 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 kPa CO<sub>2</sub> durante 15 dias à 5 ± 1 °C e 90 ± 5% UR. Início refere-se ao dia da colheita e após 15 d refere-se ao último dia de armazenamento a 5 °C. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, ANOVA e teste Tukey). Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média.

No entanto, no tratamento com 1 kPa O<sub>2</sub> o conteúdo de acetaldeído não foi degradada e ainda sofreu um incremento de 8 % em relação ao valor inicial. A mesma resposta foi observada para os resultados de etanol (Figura 8B).

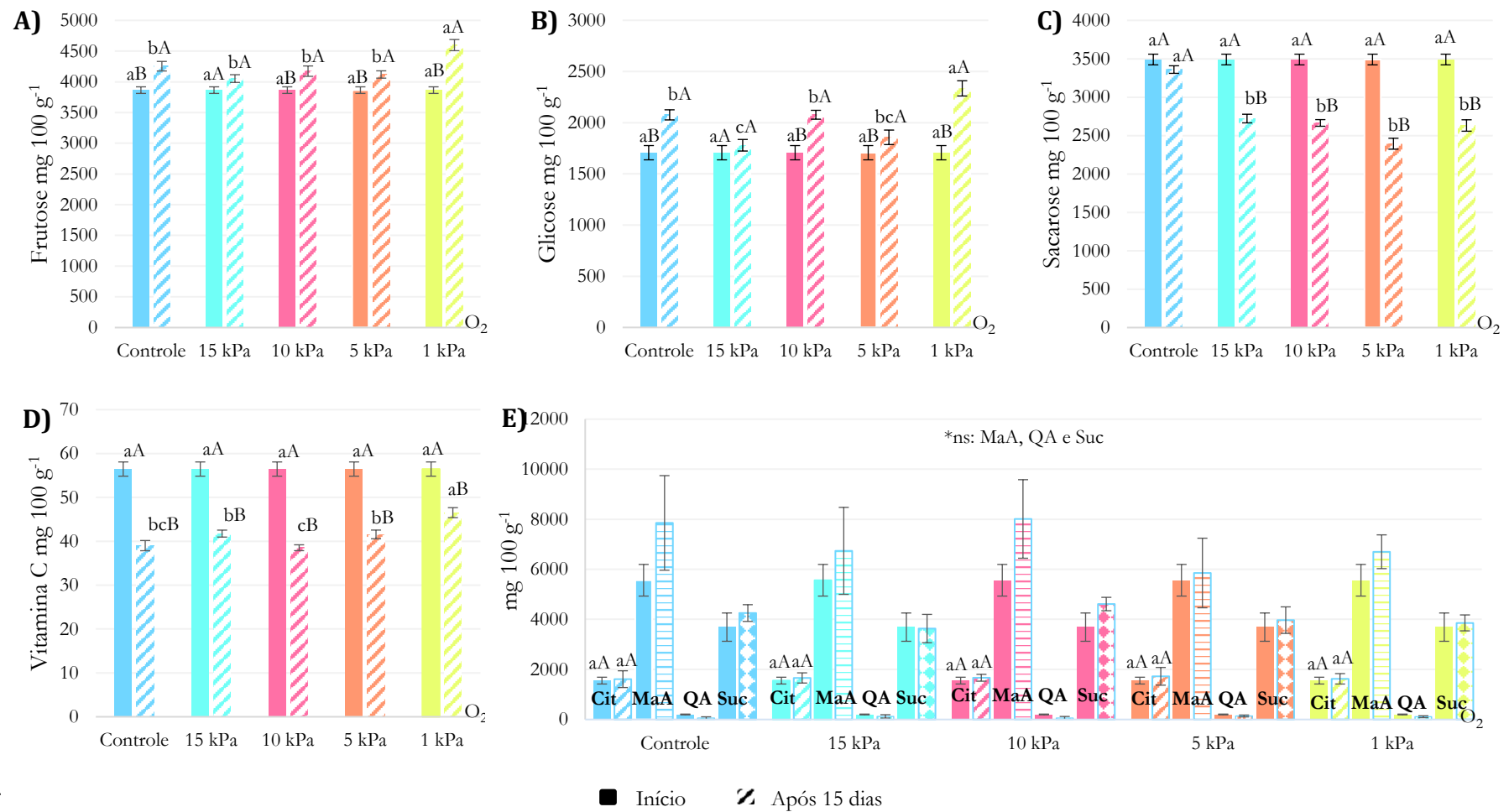
O etanol quantificado no início do armazenamento na polpa do cambuci foi reduzido após os 15 dias para todos os tratamentos, exceto para o tratamento com 1 kPa de O<sub>2</sub>. Neste tratamento houve um incremento de 120% em relação ao etanol caracterizado no início do armazenamento (Figura 8B).

O decréscimo de acetaldeído e etanol contrariou o que foi verificado em cambucis armazenados nos tratamentos com 5, 10 e 21 kPa de O<sub>2</sub> sob temperatura ambiente em 27h (experimento 1) sugerindo que o efeito da temperatura maximizou a produção destes compostos e foi mais influente do que o tempo de armazenamento. Uma explicação possível é a diminuição da atividade da enzima ADH – implicada na interconversão do acetaldeído em etanol através da redução do NAD<sup>+</sup> em NADH (BICSAK et al., 1982). Baixas temperaturas em tomates e uva a redução dos níveis de acetaldeído e etanol foram correlacionadas com a diminuição da atividade da enzima álcool desidrogenase (CIRILLI et al., 2012; DÍAZ DE LEÓN-SÁNCHEZ et al., 2009)

Os resultados de acetaldeído e etanol refletiram na quantificação de taninos: a maior degradação dos taninos da casca correlacionou-se com os tratamentos com maior concentração de acetaldeído e etanol. Desta forma, a menor concentração de catequina (95,8 mg 100 g<sup>-1</sup>) foi mensurada no tratamento com menor disponibilidade de oxigênio – 1 kPa de O<sub>2</sub>. Em seguida, destacou-se o controle (107,4 mg 100 g<sup>-1</sup>) e o tratamento com 5 kPa de O<sub>2</sub> (108,5 mg 100 g<sup>-1</sup>) (Figura 8C).

A frutose aumentou em todos os tratamentos em relação ao início do armazenamento destacando-se o tratamento com 1 kPa O<sub>2</sub> com um incremento de 19% em relação ao início (Figura 9A). Um comportamento semelhante foi constatado para o conteúdo de glicose (Figura 9B). O maior conteúdo de glicose foi quantificado na polpa dos cambucis armazenados sob 1 kPa O<sub>2</sub> o valor foi 37% maior que o início e 15% maior que o controle (Figura 9B).

O acúmulo de glicose foi correlacionado com o passo no metabolismo que precede a fermentação. A energia que não está sendo suprida pela respiração é recuperada em partes pelo aumento da produção de glicose que será quebrada em piruvato e que posteriormente, poderá ser utilizado na produção de etanol. Em cenouras, constatou-se a diminuição do O<sub>2</sub> afetou o aumento a produção de frutose-1,6-bisfosfato e a atividade enzimática da fosfofrutoquinase (KATO-NOGUCHI; WATADA, 1996).



**Figura 9.** Açúcares – Frutose (A), glicose (B), sacarose (C), vitamina C (D) e ácidos orgânicos(E) – ácido cítrico (Cit), ácido málico (MaA), ácido quínico (QA) e ácido succínico (Suc) na polpa de cambuci armazenados em 21, 15, 10, 5 e 1 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 kPa CO<sub>2</sub> armazenado a 5 ± 1 °C durante 15 dias, 90 ± 5% UR. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, ANOVA e teste Tukey). \*ns: não significativo. Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média.

O contrário foi observado para a sacarose, que diminuiu nos tratamentos com concentração de O<sub>2</sub> menor que 21 kPa de O<sub>2</sub> (controle) além disso, nenhuma diferença foi observada diferença entre os tratamentos (Figura 9C). A diminuição deste dissacarídeo pode estar relacionada ao seu uso como substrato para a produção de energia, colaborando para o aumento do fluxo de glicose (GUPTA; ZABALZA; VAN DONGEN, 2009).

Após 15 dias de armazenamento as perdas no conteúdo de vitamina C ocorreram para todos os tratamentos sendo mais intensa no controle. Em média, foram degradados 16 mg 100 g<sup>-1</sup> de vitamina C em relação ao início do armazenamento.

Tal resultado foi esperado uma vez que a vitamina C tende a diminuir durante o armazenamento principalmente em atmosferas com elevado O<sub>2</sub> (DAVEY et al., 1999). Conseqüentemente, o tratamento com menor disponibilidade de O<sub>2</sub> (1 kPa de O<sub>2</sub>) foi o mais eficiente em conservar este antioxidante, a retenção da vitamina C foi 30% superior em relação ao controle.

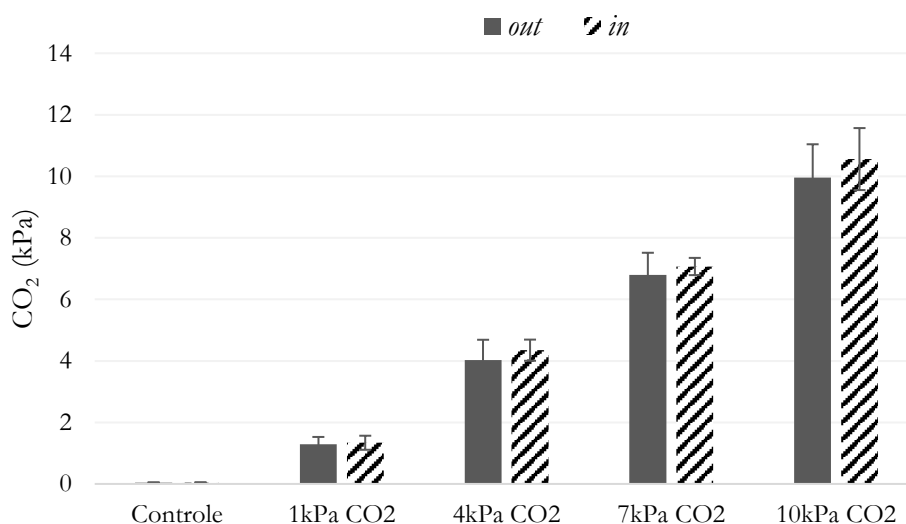
Os ácidos orgânicos - cítrico, málico, quínico e succínico - não foram afetados pelas atmosferas com pouca disponibilidade de O<sub>2</sub> e baixa temperatura (Figura 9E).

A redução da temperatura foi fundamental para ampliar a vida pós-colheita do cambuci. O maior tempo de armazenamento colaborou para expressão de um maior número de alterações nos atributos de qualidade - exceto para a firmeza e ácidos orgânicos que não foram alterados significativamente.

Baixo O<sub>2</sub> reduziu o conteúdo de sólidos solúveis (°Brix), aumentou a % acidez e tornou a coloração da casca mais amarelada. O acúmulo de acetaldeído e etanol ocorreu exclusivamente na polpa dos cambucis do tratamento com 1 kPa de O<sub>2</sub> em todos os outros tratamentos observou-se a diminuição destes compostos em relação ao início do armazenamento. Além disso, em foi 1 kPa de O<sub>2</sub> houve a maior degradação de taninos e aumento de frutose e glicose, enquanto o efeito totalmente contrário foi verificado para o conteúdo de sacarose. A vitamina C foi reduzida em todos os tratamentos, mas de forma mais acentuada no controle.

#### 8.4. Estudo de concentrações de dióxido de carbono sob refrigeração

No 4º experimento, os frutos foram armazenados a 5 ° C sob fluxo contínuo de 0,03, 1, 4, 7 e 10 kPa CO<sub>2</sub> e 21 kPa O<sub>2</sub> e permaneceram nesta condição por 15 dias para verificar o efeito da temperatura associada a atmosfera controlada na qualidade pós-colheita do cambuci (Figura 10).



**Figura 10.** Atmosfera controlada com 0,03, 1, 4, 7 e 10 kPa CO<sub>2</sub> e 21 kPa O<sub>2</sub> em fluxo contínuo de 500 ml min<sup>-1</sup> durante 15 dias a 5 ± 1 °C, 90 ± 5% UR. Onde, *in* refere-se a entrada e *out* a saída de fluxo das câmaras de armazenamento. Valores correspondem a média e barras verticais representam desvio padrão da média (n= 4).

Neste experimento houve extensão da vida útil dos frutos assim como no experimento 3 (KADER, 2013). O aumento do CO<sub>2</sub> na atmosfera de armazenamento combinado a refrigeração resultou em diversas alterações na qualidade físico-química do cambuci.

O teor de sólidos solúveis foi pouco alterado durante o armazenamento com variações entre 0,1 e 0,2 para o controle, 7 e 10 kPa CO<sub>2</sub> (Tabela 4). Após 2 dias sob temperatura ambiente (20 ± 1 °C) e atmosfera normal não houve diferença estatística entre o controle e os tratamentos com 1, 7 e 10 tratamentos de CO<sub>2</sub> (Tabela 4). Os valores quantificados a polpa destes cambucis estavam abaixo da média (10,8 °Brix) observada por (SPRICIGO et al., 2021). A acidez e a firmeza não foram significativamente alteradas entre o controle e os tratamentos 1, 4, 7 e 10 kPa de CO<sub>2</sub> (Tabela 4).

As mudanças mais relevantes ocorreram na aparência dos frutos, especialmente após os 2 dias em exposição a 20 °C. Nas atmosferas com maior quantidade de CO<sub>2</sub> (7 e 10 kPa de CO<sub>2</sub>) foram identificados os maiores valores para o ângulo de cor - 102,4 para 7 kPa e 111,7 para 10 kPa.



**Tabela 4.** Atributos de qualidade em cambucis armazenados sob 0,03, 1, 4, 7 e 10 kPa de CO<sub>2</sub> e 21 de O<sub>2</sub> durante 15 dias a 5 ± 1 °C, 90 ± 5% UR.

	Sólidos solúveis (°brix)			% Ac. cítrico			Firmeza (N)			Ângulo de cor (° hue)		
	Início	Fim <sup>a</sup>	Ambiente <sup>b</sup>	Início	Fim <sup>a</sup>	Ambiente <sup>b</sup>	Início	Fim <sup>a</sup>	Ambiente <sup>b</sup>	Início	Fim <sup>a</sup>	Ambiente <sup>b</sup>
1 kPa CO <sub>2</sub>	8,6 aB	9,1 aA	8,5 bB	1,9 ns	2,3 ns	2,0 ns	3,1 ns	1,8 ns	0,7 ns	114,4 aA	106,8 aA	94,2 bcB
4 kPa CO <sub>2</sub>	8,6 aB	8,1 cA	9,2 aA	1,9 ns	2,2 ns	1,9 ns	3,1 ns	1,4 ns	1,1 ns	114,4 aA	102,2 aB	88,6 cC
7 kPa CO <sub>2</sub>	8,6 aA	8,2 cA	8,2 bA	1,9 ns	2,0 ns	2,0 ns	3,1 ns	1,8 ns	0,8 ns	114,4 aA	105,6 aAB	102,4 abB
10 kPa CO <sub>2</sub>	8,6 aA	8,8 abA	8,6 bA	1,9 ns	1,9 ns	2,0 ns	3,1 ns	1,4 ns	1,5 ns	114,4 aA	106,0 aA	111,7 aA
Controle	8,6 aA	8,5 bcA	8,6 bA	1,9 ns	2,1 ns	1,9 ns	3,1 ns	2,5 ns	0,8 ns	114,4 aA	105,7 aA	89,8 cB

\*não significativo, não foi aplicado o teste de comparação de médias, o F de interação não foi significativo. <sup>a</sup>Após 15 d de armazenamento a 5 ± 1 °C <sup>b</sup>. Ensaio de comercialização frutos armazenados por 2 dias a 20 °C Letras minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si.

Sugerindo que foram mais eficientes para manutenção da clorofila e, conseqüentemente conservando a cor verde do cambuci. Na contramão, as concentrações de  $\text{CO}_2 > 7$  kPa resultaram na diminuição do índice de cor (Tabela 4).

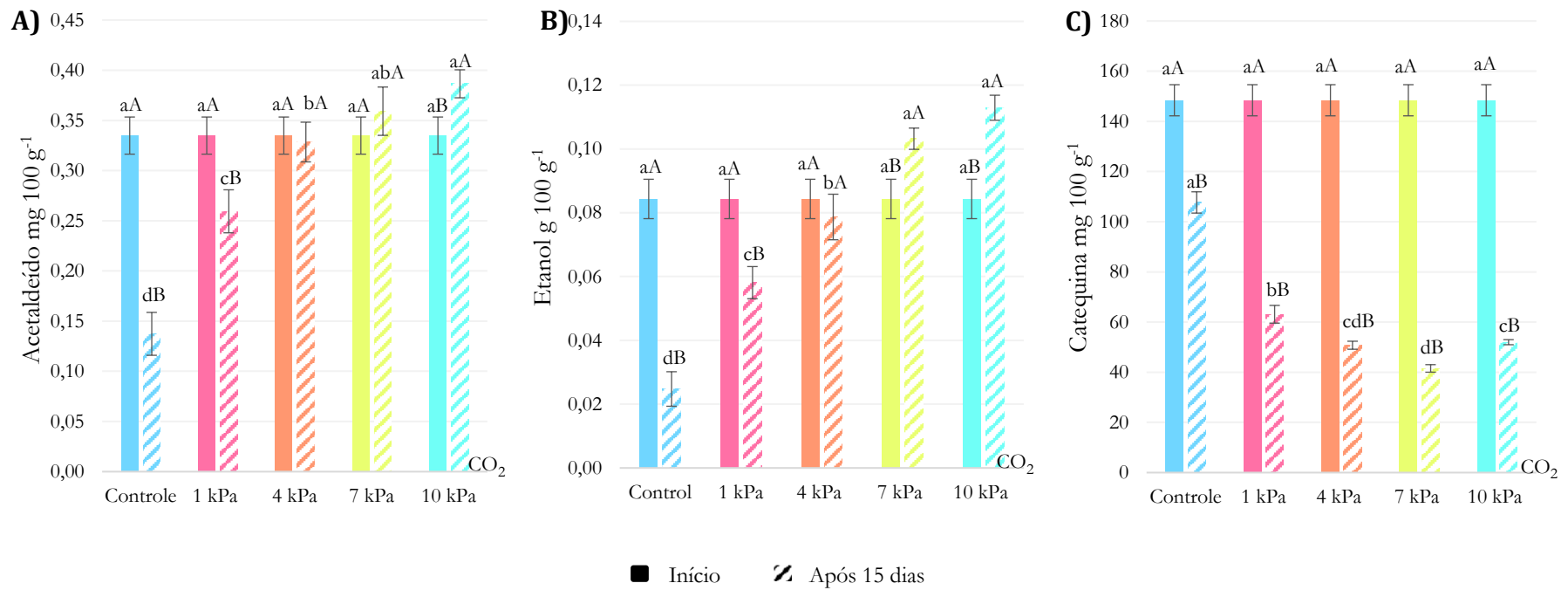
A manutenção da cor verde contribuiu para melhorar a aparência dos frutos semelhante ao que foi verificado em figos armazenados em ambientes enriquecidos com  $\text{CO}_2$  (COLELLI; MITCHELL; KADER, 1991). No entanto, neste período apareceram alguns pontos escuros na casca e, após 2 dias de exposição dos frutos a temperatura ambiente e atmosfera normal essas injúrias foram intensificadas pelo desenvolvimento de manchas de cor marrom-acinzentado em todos os tratamentos.

Estes danos foram piores que o observado no experimento 2 e aparentemente, estavam intercorrendo de forma lenta devido à baixa temperatura ( $5^\circ\text{C}$ ). O aumento da temperatura para  $20^\circ\text{C}$  pode ter contribuído para catalisar o processo causando prejuízos irreparáveis a aparência dos frutos.

As lesões caracterizadas foram parecidas com as relatadas para maçã em concentrações maiores que 2 kPa de  $\text{CO}_2$  (WATKINS; LIU, 2010). Para o cambuci os danos não podem ser atribuídos apenas ao dióxido de carbono, pois foram constatados nos frutos do controle sugerindo que podem estar associados a danos por frio como os distúrbios na casca de manga, nectarinas e kiwi (CANTRE et al., 2017; LURIE; CRISOSTO, 2005; SUO et al., 2018).

Nas amostras do controle, o total de acetaldeído foi 57% menor ao quantificado no início do armazenamento (Figura 11A). Indicando que em atmosferas normais, o conteúdo de acetaldeído é degradado. No entanto, com incremento de dióxido de carbono nas atmosferas parece suprimir a degradação do acetaldeído. Atmosferas enriquecidas com 1 kPa de  $\text{CO}_2$  a degradação do acetaldeído foi 86% menor em relação ao controle (Figura 11A).

O aumento das concentrações de  $\text{CO}_2$  para 4, 7 e 10 kPa degradação foi completamente cessada. Houve inclusive um aumento de 18% na produção de acetaldeído no tratamento com 10 kPa de  $\text{CO}_2$  em relação ao início do armazenamento (Figura 11A).



**Figura 11.** Acetaldeído(A), etanol (B) e taninos (C) de cambucis armazenados em 0,03, 1, 4, 7 e 10 kPa CO<sub>2</sub> e 21 kPa durante 15 dias à 5 ± 1 °C e 90 ± 5% UR. Início refere-se ao dia da colheita e após 15 d refere-se ao último dia de armazenamento a 5 °C. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, ANOVA e teste Tukey). Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média.

A mesma tendência foi observada para os resultados de etanol. Inicialmente, a concentração de etanol era de 0,08 g 100 g<sup>-1</sup>, depois de 15 dias foi reduzido para 0,02 g 100 g<sup>-1</sup> - uma redução de 75% do total inicial de etanol. Em atmosferas enriquecidas com 1 e 4 kPa de CO<sub>2</sub> etanol continuou sendo degradado de forma menos intensa. A partir de 7 kPa de CO<sub>2</sub> iniciou-se a síntese de etanol levando a um aumento de até 37% em relação ao conteúdo inicial (Figura 11B).

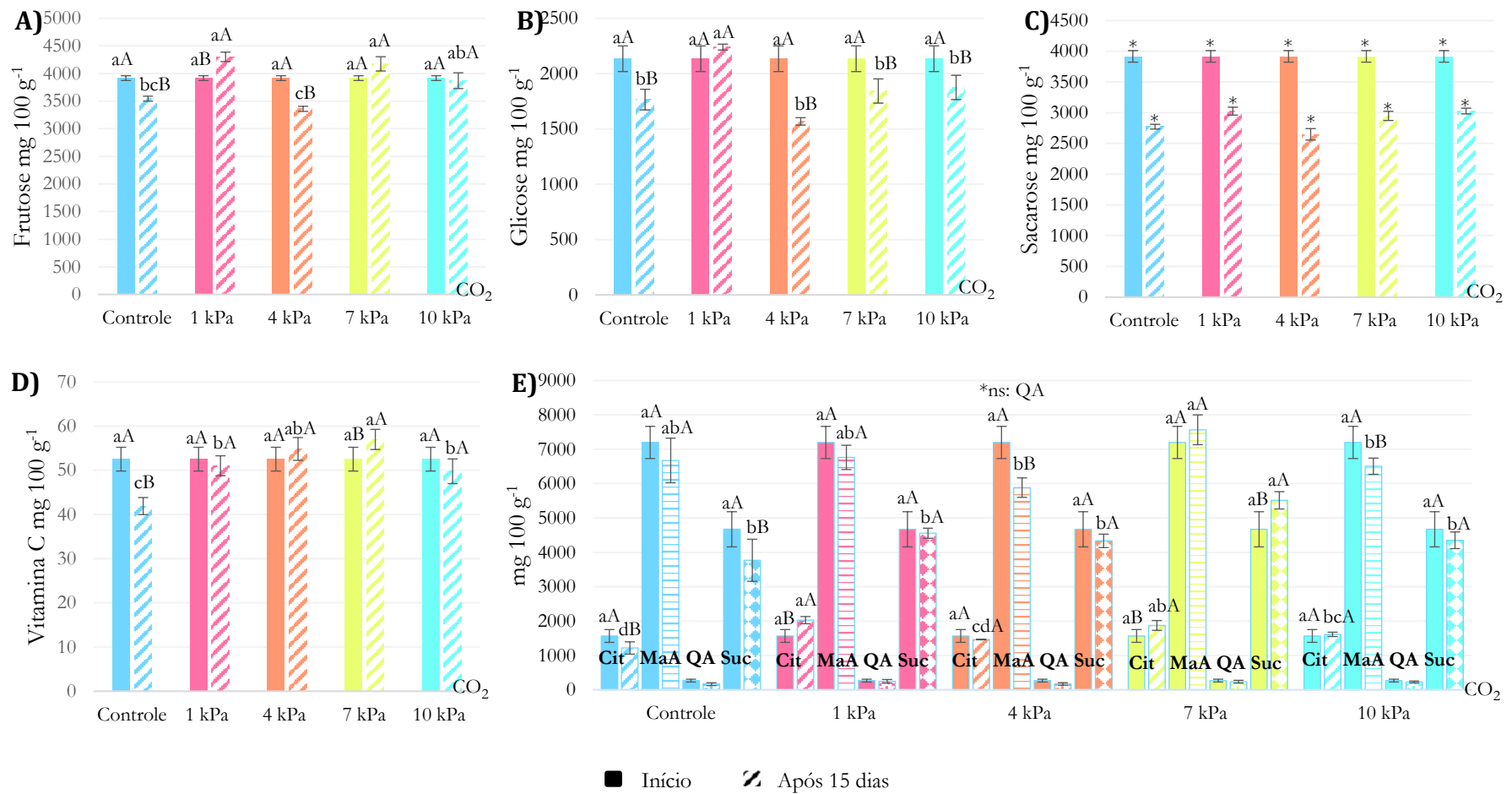
As alterações observadas na biossíntese de acetaldeído e etanol podem estar correlacionadas com o a atividade da enzima ADH - protagonista no metabolismo destes compostos. Atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> podem estimular expressão do gene Adh e estimular a atividade da piruvato descarboxilase (BONGHI et al., 1999; MUNOZ; ESCRIBANO; MERODIO, 1997). Os resultados de acetaldeído e taninos reforçam mais uma vez a correlação entre o acúmulo de acetaldeído e degradação de taninos (Figura 11C).

O cambuci é rico em compostos fenólicos como taninos (DONADO-PESTANA et al., 2015). No controle foram identificadas a maior concentração final de catequina 120 mg 100g<sup>-1</sup> - 1,3 vezes menor em relação ao início. Este valor é similar ao conteúdo de taninos verificado em cambucis maduros (AZEVEDO et al., 2017b). A destaninização foi constatada em todos os tratamentos avaliados o que pode ter contribuído para a diminuição da adstringência (Figura 11C).

A diminuição de taninos foi proporcional ao acúmulo de acetaldeído, reforçando a característica deste composto como agente polimerizador. Desta forma o decréscimo de taninos da casca do cambuci foi mais relevante nos tratamentos com 4, 7 e 10 kPa de CO<sub>2</sub> em média 2,85 a 3,57 vezes menor que o início do armazenamento.

O conteúdo de frutose no início foi de 3916,2 mg 100 g<sup>-1</sup> de polpa e após 15 dias foi reduzido em 9% nos cambucis do controle. O decréscimo na frutose também ocorreu nos tratamentos com 1 e 4kPa de CO<sub>2</sub>. Por outro lado, nos tratamentos com maiores concentrações de CO<sub>2</sub> (7 e 10 kPa de CO<sub>2</sub>) a frutose foi mantida em concentrações semelhantes ao início do armazenamento (Figura 12A).

A glicose também diminuiu consideravelmente entre o início e o fim do armazenamento nos frutos do controle variou de 2134,4 para 1765,3 mg 100 g<sup>-1</sup> de polpa. Essa depleção da glicose também foi observada nos tratamentos com 4, 7 e 10 kPa de CO<sub>2</sub> (Figura 12A). Excetuando-se o resultado do tratamento com 1 kPa de CO<sub>2</sub> no qual a glicose permaneceu como no início do armazenamento.



**Figura 12.** Açúcares – Frutose (A), glicose (B), sacarose (C), vitamina C (D) e ácidos orgânicos(E) – ácido cítrico (Cit), ácido málico (MaA), ácido quínico (QA) e ácido succínico (Suc) na polpa de cambuci armazenados em 0,03, 1, 4, 7 e 10 kPa CO<sub>2</sub> e 21 kPa durante 15 dias à 5 ± 1 °C e 90 ± 5% UR. Início refere-se ao dia da colheita e após 15 d refere-se ao último dia de armazenamento a 5 °C, 90 ± 5% UR. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos e maiúsculas entre os dias de análise (n = 4, ANOVA e teste Tukey). \*ns: não significativo. Os valores dos gráficos são referentes a média e ao desvio padrão da média.

A sacarose é considerada o principal açúcar do cambuci (SPRICIGO et al., 2021). Depois de 15 dias de armazenamento o teor de sacarose diminuiu em todos os tratamentos, apesar de não ter sofrido a influência dos tratamentos, no entanto a interação não foi significativa entre os tratamentos avaliados (Figura 12C).

A vitamina C é considerada um composto relevante para o cambuci, concentrando cerca de 33 mg 100 g<sup>-1</sup> de acordo com (VALLILO et al., 2005b). Durante 15 dias armazenados a 5 °C 19% do conteúdo de vitamina C foi perdido nos frutos armazenados sob atmosfera normal (0,03 de CO<sub>2</sub> e 21 kPa de O<sub>2</sub>) (12D). Todas as atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> (1, 4, 7 e 10 kPa de CO<sub>2</sub>) ajudaram a conservar a vitamina C, destacando-se os tratamentos com 7kPa de CO<sub>2</sub> devido o maior teor (57 mg 100 g<sup>-1</sup> de polpa).

Ácidos orgânicos são essenciais para o sabor ácido dos cambucis. A quantidade de ácido cítrico e succínico diminuiu ao final de 15 dias de armazenamento, contrariamente ao observado nas atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> nas quais estes ácidos foram mantidos em proporções semelhantes ao início do armazenamento (Figura 12E). (HULME, 1956) relatou que danos por dióxido de carbono são acompanhados por um aumento de ácido succínico no tecido vegetal, no entanto isto não aconteceu para o cambuci.

O conteúdo de ácido málico nas amostras do controle foi pouco alterado entre o início e o fim do armazenamento e apesar da redução de 7%, permaneceu estatisticamente igual ao valor inicial (Figura 12E). Sob 1, 4 e 10 kPa de CO<sub>2</sub> foi observado o mesmo padrão das amostras do controle, sobressaindo o tratamento com 4 kPa com uma perda de 12% em relação ao controle. Atmosferas com 7 kPa de CO<sub>2</sub> o conteúdo de ácido málico permaneceu similar ao início do armazenamento. Para o metabolismo de ácido quínico não foram identificadas alterações significativas em nenhum dos tratamentos.

O efeito da temperatura associado a atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> ampliou a vida pós-colheita do cambuci, como o observado para o experimento 3. A aparência foi o atributo de qualidade mais alterado. Maior concentração de CO<sub>2</sub> minimizou o amarelecimento da casca durante os 15 dias sob 5 °C, mas após 2 dias em 20 °C e atmosfera normal foram observados danos severos nos cambucis de os todos os tratamentos. Em 4 kPa de CO<sub>2</sub> a degradação de acetaldeído e etanol foi suprimida e acima de 7 kPa CO<sub>2</sub> houve um incremento destes compostos acima do que foi observado no início.

A degradação de taninos ocorreu em todos os tratamentos e foi superior nos cambucis armazenados acima de 1 kPa de CO<sub>2</sub>. Para açúcares o incremento de CO<sub>2</sub> nas atmosferas contribuiu para preservar o teor de frutose, mas a glicose e a sacarose foram degradadas. Todas as atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> (1, 4, 7 e 10 kPa de CO<sub>2</sub>) ajudaram a conservar a vitamina C, o ácido cítrico e succínico, no entanto não tiveram grande influência no metabolismo de ácido málico e quínico.

## 8.5. Influência de diferentes atmosferas de armazenamento no aroma do cambuci

O aroma é um dos principais atributos de qualidade do cambuci caracterizado pela presença predominante de monoterpenos e sesquiterpenos, seguidos por ésteres, álcoois e aldeídos que se combinam e formam uma identidade aromática inconfundível. Compostos identificados em polpa e casca de cambucis armazenados em temperatura ambiente e sob refrigeração são mostrados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Compostos orgânicos voláteis identificados em polpa e na casca do cambuci (*Campomanesia phaea*) armazenado em baixo O<sub>2</sub> ou alto CO<sub>2</sub> a 20 °C e a 5 °C por micro extração de fase sólida de *headspace* combinada com cromatografia gasosa/espectrometria de massa (SPME-GC-MS).

ID	Nome	Aroma	Classe	CAS
1	Etil 3-acetoxibutanoato	Menta	Éster	27846-49-7
2	Myrtenol	Herbal	Monoterpeno	515-00-4
3	(E)-2-decenal	Gorduroso	Aldeído (cadeia média)	3913-81-3
4	(E)-2-hexen-1-ol	Frutado	Álcool	928-95-0
5	(E)-2-hexen-1-yl acetate	Verde	Álcool	2497-18-9
6	(E)-2-hexenal	Verde	Álcool	6728-26-3
7	(E)-2-octenal	Gorduroso	Álcool	2548-87-0
8	(E)-3-Hexen-1-ol	Verde	Álcool	928-97-2
9	(E)-germacrene D	Amadeirado	Sesquiterpeno	23986-74-5
10	(E)- $\beta$ -ocimene	N.d.	Monoterpeno	3779-61-1
11	(E, Z)-alloocimene	N.d.	Monoterpeno	7216-56-0
12	(R)-isocarvestrene	N.d.	Monoterpeno	1461-27-4
13	(R)- $\gamma$ -cadinene	Amadeirado	Sesquiterpeno	39029-41-9
14	(Z)-2-heptenal	N.d.	Álcool	57266-86-1
15	(Z)-3-hexen-1-ol	Verde	Ácido graxo	928-96-1
16	(Z)-3-hexen-1-yl acetato	Verde	Acetato éster	3681-71-8
17	(Z)-3-hexen-1-yl hexanoato	Verde	Éster	31501-11-8
18	(Z)-3-hexen-1-yl isobutyrate	Frutado	Álcool	41519-23-7
19	1,8-cineole	Herbal	Monoterpeno álcool	470-82-6
20	1-epi-bicyclosesquiphellandrene	N.d.	Sesquiterpeno	54274-73-6
21	1-hepten-3-one	Metálico	Éster	2918-13-0
22	1-Pentanol	Fermentado	Álcool	71-41-0
23	2-etil-1-hexanol	Cítrico	Álcool	104-76-7
24	2-heptanone	Queijo	Cetona	110-43-0
25	3-hexenal	N.d.	Aldeído	4440-65-7
26	4(5)-carene	N.d.	Monoterpeno	29050-33-7
27	4-hexen-1-ol acetato	N.d.	Éster	72237-36-6
28	4-terpineol	Picante	Monoterpeno álcool	562-74-3
29	5-hexenil acetato	N.d.	Éster	5048-26-0
30	Acetaldeído	Etéreo	Aldeído	75-07-0
31	Alloaromadendrene	Amadeirado	Sesquiterpeno	25246-27-9
32	Alloocimene	Floral	Monoterpeno	673-84-7
33	Cadine-1,4-diene	Picante	Sesquiterpeno	16728-99-7
34	Calamenene	Herbal/ardido	Sesquiterpeno	483-77-2

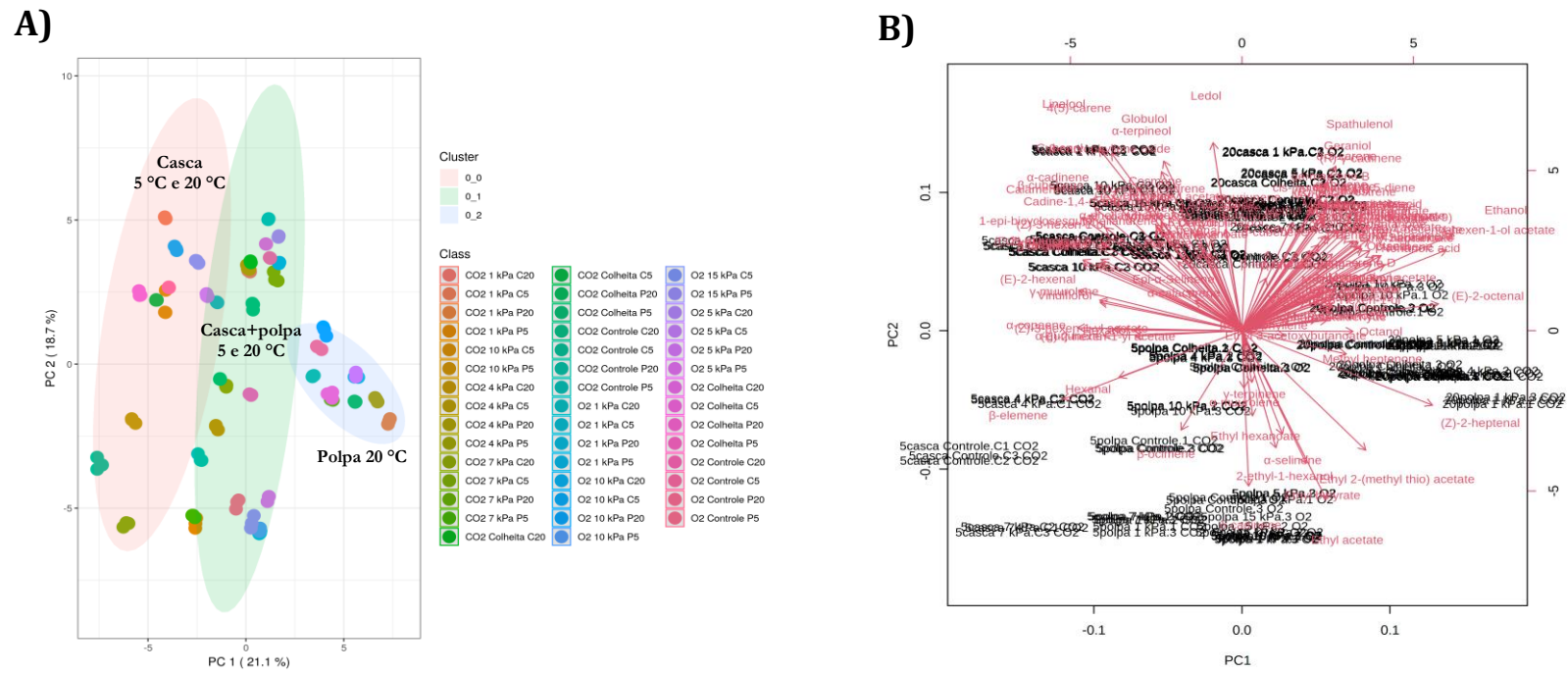
36	cis-muuro-la-4(14),5-diene	N.d.	Sesquiterpeno	157477-72-0
37	Cosmene	N.d.	Alcano	460-01-5
38	Cubenol	Picante	Sesquiterpeno álcool	21284-22-0
39	Deidrolinalool	Mofo	Álcool	29957-43-5
40	Dietil succinato	Frutado	Éster	123-25-1
41	D-limonene	Cítrico	Monoterpeno	5989-27-5
42	Epi- $\alpha$ -Selinene	N.d.	Sesquiterpeno	1000192-43-5
43	Etanol	Alcoólico	Álcool	64-17-5
44	Etil (E)-4-decenoato	Verde	Éster	76649-16-6
45	Etil (Z)-4-octenoato	Frutado	Éster	34495-71-1
46	Etil-2- (metil tio) acetato	Frutado	Ácido carboxílico éster	4455-13-4
47	Etil 2-furoato	Balsamic	Éster	614-99-3
48	Etil 2-metilbutirato	Frutado	Éster	7452-79-1
49	Etil acetato	Etéreo	Éster	141-78-6
50	Etil butirato	Frutado	Éster	105-54-4
51	Etil decanoato	Cera	Éster	110-38-3
52	Etil heptanoato	Frutado	Éster	106-30-9
53	Etil hexanoato	Frutado	Éster	123-66-0
54	Etil isoalerato	Frutado	Éster	108-64-5
55	Etil octanoato	Cera	Éster	106-32-1
56	Etil-9-decenoato	Frutado	Éster	67233-91-4
57	Geraniol	Floral	Álcool	106-24-1
58	Germacrene B	Amadeirado	Sesquiterpeno	15423-57-1
59	Globulol	Floral	Sesquiterpeno	51371-47-2
60	Hexanal	Verde	Aldeído c-6	66-25-1
61	Hexanol	Verde	Álcool	111-27-3
62	Hexil acetate	Frutado	Éster	142-92-7
63	Hexil butyrate	Verde	Éster	2639-63-6
64	Hexil hexanoate	Verde	Éster	6378-65-0
65	Isoamil acetato	Frutado	Éster	123-92-2
66	Isoforone	Amadeirado	Cetona	78-59-1
67	Isoterpinolene	N.d.	Monoterpeno	586-63-0
68	Ledol	Doce	Sesquiterpeno álcool	577-27-5
69	Linalool	Floral	Sesquiterpeno álcool	78-70-6
70	Melon heptenal	Melão	Aldeído	106-72-9
71	Metil -2- (metil thio) acetato	Nozes	Metil éster	16630-66-3
72	Metil acetato	Etéreo	Éster	79-20-9
73	Metil butirato	Frutado	Éster	623-42-7
74	Metil heptenone	Cítrico	Cetona	110-93-0
75	Metil hexanoato	Frutado	Éster	106-70-7
76	Metil salicilato	Menta	Éster	119-36-8
77	Metil tio acético acido	Nozes	Metil éster	16630-66-3
78	Nerol	Floral	Monoterpeno	106-25-2
79	Nonanal (aldeído C-9)	Fresco	Aldeído	124-19-6
80	Nonanoico ácido	Cera	Ácido graxo (cadeia média)	112-05-0
81	Octanal	Fresco	Aldeído c-8	124-13-0
82	Octanol	Cera	Álcool	111-87-5
83	o-cymene	N.d.	Monoterpeno	527-84-4
84	Rosifoliol	N.d.	Sesquiterpeno	63891-61-2



85	Sabinene	Amadeirado	Monoterpeno	3387-41-5
86	Spathulenol	Terra	Sesquiterpeno	6750-60-3
35	cis-muurola-3,5-diene	N.d.	Sesquiterpeno	1000365-95-4
87	Umbellulone	Menta	Monoterpeno cetona	24545-81-1
88	Viridiflorene	N.d.	Sesquiterpeno	21747-46-6
89	Viridiflorol	Herbal	Sesquiterpeno	552-02-3
90	$\alpha$ -cadinene	Amadeirado	Sesquiterpeno	24406-05-1
91	$\alpha$ -calacorene	Amadeirado	Sesquiterpeno	21391-99-1
92	$\alpha$ -copaene	N.d.	Sesquiterpeno	1000360-33-0
93	$\alpha$ -cubebene	Herbal	Sesquiterpeno	17699-14-8
94	$\alpha$ -gurjunene	Amadeirado	Sesquiterpeno	489-40-7
95	$\alpha$ -humulene	Amadeirado	Sesquiterpeno	6753-98-6
96	$\alpha$ -muurolene	Amadeirado	Sesquiterpeno	31983-22-9
97	$\alpha$ -phellandrene	Cítrico	Monoterpeno	99-83-2
98	$\alpha$ -pyronene	N.d.	Monoterpeno	514-94-3
99	$\alpha$ -selinene	Picante	Sesquiterpeno	473-13-2
100	$\alpha$ -terpineol	Terpênico	Monoterpeno álcool	98-55-5
101	$\alpha$ -tujene	Amadeirado	Monoterpeno	2867-05-2
102	$\beta$ -cariofilene	Picante	Sesquiterpeno	87-44-5
103	$\beta$ -cariofilenoóxido	Amadeirado	Sesquiterpeno	1139-30-6
104	$\beta$ -cubebene	Cítrico	Sesquiterpeno	13744-15-5
105	$\beta$ -elemene	Doce	Sesquiterpeno	515-13-9
106	$\beta$ -ocimene	Floral	Monoterpeno	13877-91-3
107	$\beta$ -phellandrene	Menta	Monoterpeno	555-10-2
108	$\beta$ -selinene	Herbal	Sesquiterpeno	17066-67-0
109	$\beta$ -terpineno	N.d.	Monoterpeno	99-84-3
110	$\beta$ -thujene	N.d.	Monoterpeno	28634-89-1
111	$\gamma$ -elemene	Amadeirado	Sesquiterpeno	29873-99-2
112	$\gamma$ -gurjunene	Mofo	Sesquiterpeno	22567-17-5
113	$\gamma$ -muurolene	Amadeirado	Sesquiterpeno	30021-74-0
114	$\gamma$ -terpineno	Terpênico	Monoterpeno	99-85-4
115	$\delta$ -3-carene	Cítrico	Monoterpeno	13466-78-9
116	$\delta$ -cadinene	Herbal	Sesquiterpeno	483-76-1
117	$\delta$ -elemene	Herbal	Sesquiterpeno	20307-84-0
118	$\delta$ -selinene	Amadeirado	Sesquiterpeno	515-17-3

\*Chemical abstracts service (CAS) é a sigla em inglês uma divisão da Sociedade Americana de Química. \*\* Descrições consultadas nos sites: <https://www.pherobase.com/>, <http://www.thegoodscentscompany.com/>, <https://www.flavornet.org/>.

Foram identificados 118 compostos voláteis em cambucis, de diferentes classes e aromas (Tabela 5). Os compostos voláteis emitidos pelas plantas possuem inúmeras funções: podem atrair dispersores e até afastar predadores, ou seja, mediam as interações entre os frutos e o ambiente (DICKE; VAN LOON; SOLER, 2009; MEENTS; MITHÖFER, 2020). Os resultados de todos os experimentos foram reunidos e analisados em conjunto para observação de possíveis tendências e padrões no perfil voláteis de cada tratamento ou de um determinado grupo de compostos (Figura 13).



**Figura 13.** Análise de componentes principais representado por (A) *Self-organizing* Map (SOM) e (B) *biplot* – perfil volátil da casca e polpa de cambucis armazenados em atmosfera controlada de fluxo contínuo sob baixo O<sub>2</sub> e elevado CO<sub>2</sub> nas temperaturas de 20 ° e 5 ° C

A alteração do perfil de aroma do cambuci pode conter informações que auxiliem a compreender como diferentes atmosferas de armazenamento (alto CO<sub>2</sub> e baixo O<sub>2</sub>), diferentes temperaturas (20 °C e 5 °C) e tempo de exposição (27, 48 e 15 dias) interferiram na produção de compostos voláteis (Figura 13).

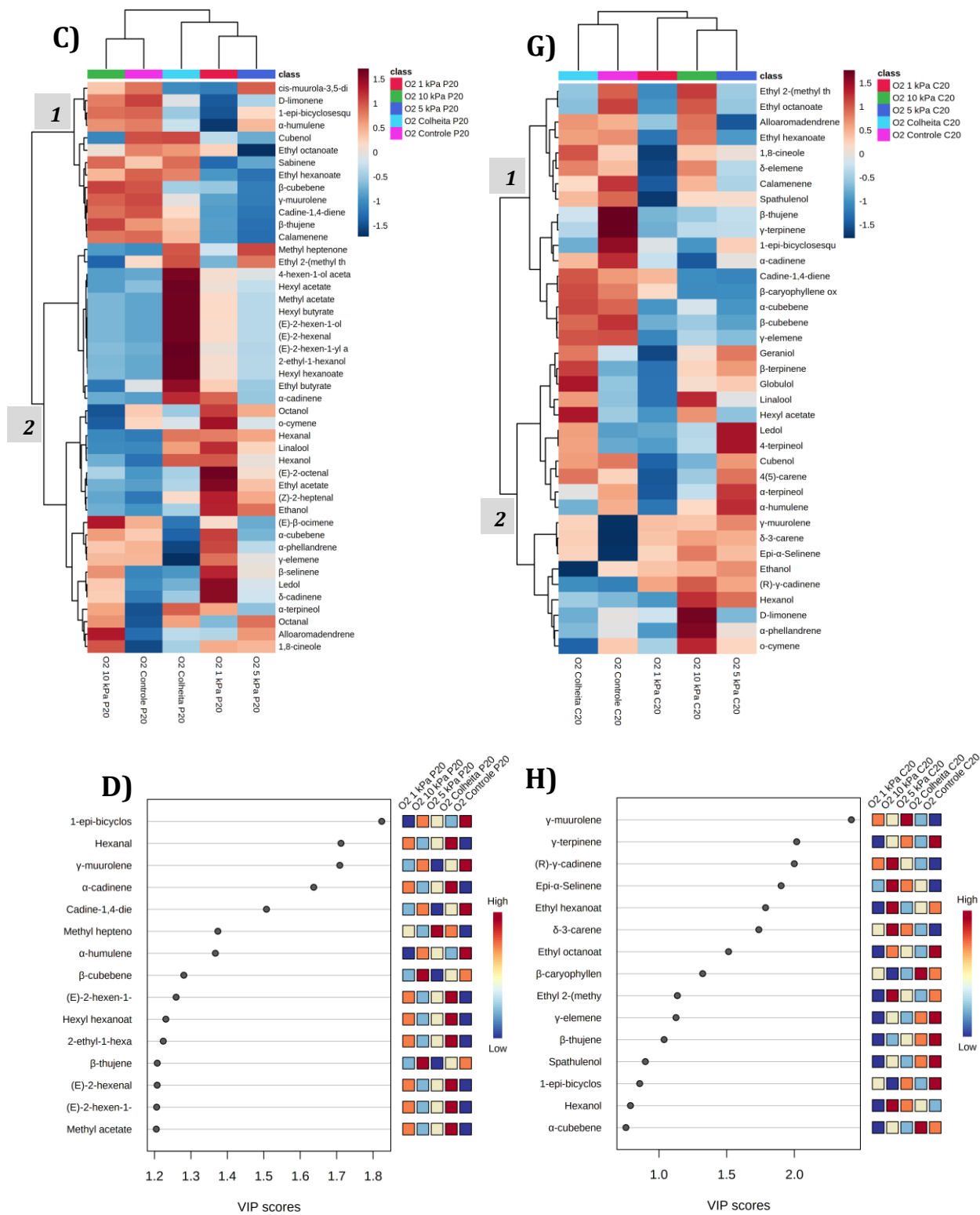
As amostras com maior similaridade formaram 3 grupos (Figura 13A): Os clusters 0 e 2 reuniram, respectivamente, as amostras da casca armazenados à 5 °C e da polpa armazenados à 20 °C – de todas as concentrações de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>. Exceto para o tratamento com 1 kPa de O<sub>2</sub> a 5 °C que foi identificado no cluster 1 junto com as amostras da casca armazenados a 20 °C e da polpa armazenados a 5 °C de todos os tratamentos. As temperaturas utilizadas (20 e 5 °C) e o tipo de amostra (casca e polpa) foram fatores mais discriminantes para a formação dos agrupamentos em relação as composições gasosas das atmosferas de armazenamento.

No *biplot* (Figura 13B) observamos 118 compostos voláteis (Tabela 5) e, quais mais influenciaram na formação dos clusters e na divisão das componentes principais em 21,1% para a PC1 e 18,7% na PC2. Monoterpenos e sesquiterpenos como o linalool, 4(5)-carene, ledol, globulol,  $\alpha$ -terpineol e  $\beta$ -elemene destacaram-se nas amostras da casca, enquanto na polpa sobressaíram os álcoois e ésteres como o etanol, (E)-2-octenal, (Z)-2-heptenal, octenal, 4-hexen-1-ol acetato, etil 2-(metilthio) acetato e acetato de etila.

A composição do aroma da casca foi formada principalmente por terpenos (sesquiterpenos e monoterpenos). Terpenos são reconhecidos por auxiliar na proteção contra patógenos e predadores e, portanto, fazem parte da primeira barreira de contenção a esses ataques (PIERIK; BALLARÉ; DICKE, 2014; VICKERS et al., 2009).

A diferença entre os perfis voláteis dos 4 experimentos foi maior entre tipo de amostra (casca e polpa) e temperatura (20 e 5 °C) e não revelou as modificações causadas por cada tratamento. Estas alterações na composição do aroma foram observadas com a avaliação dos dados separadamente.





**Figura 14.** Análise discriminante dos mínimos quadrados parciais (PLS-DA), *loadings plot*, *hierarchical clustering (heatmap)* e *VIP scores* de cambucis (*Campomanesia phaea*) armazenados sob atmosfera controlada com 1, 5, 10 kPa de O<sub>2</sub>, colheita e controle - ambos à 21 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 20 °C por 27 h. Onde: A, B, C e D

Na análise de componentes principais das amostras da polpa a colheita foi o tratamento mais dispar (Figura 14A). Os voláteis emitidos caracterizaram-se pela presença de ésteres, álcoois e aldeídos associados a fragrâncias doces e frutadas (Figura 14B).

Este aroma típico de fruta madura especialmente devido aos voláteis reunidos no cluster 2 (4-hexen-1-ol-acetato, hexil acetato, metil acetato, hexil butirato, (E)-2-hexen-1-ol, (E)-2-hexenal, (E)-2-hexen-yl-acetato, 2-etil-1-hexanol, hexil hexanoato, etil butyrato) foi reduzido em todos os tratamentos após 27 h de armazenamento (Figura 14D). A degradação de ésteres pode estar associada a supressão da atividade das enzimas álcool aciltransferase (AAT) ou álcool desidrogenase (ADH) que possuem papel fundamental na biossíntese de ésteres pela via de  $\beta$ -oxidação descrita para melão (SHAN et al., 2012) e maçã (DIXON; HEWETT, 2000, 2010).

No controle, depois de 27 h de armazenamento as notas aromáticas que prevaleceram nas amostras foram sobretudo amadeiradas e cítricas devido a monoterenos (D-limonene,  $\beta$ -thujene, sabinene) e sesquiterpenos (1-epi-bicyclosquiphellandrene,  $\gamma$ -muurolene,  $\beta$ -cubebene, cadine-1,4-diene, cis-murola-3,5-diene, cubenol, calamene,  $\alpha$ -humulene) agrupados no cluster 1 (Figura 14C). O mesmo grupo de terpenos prevaleceu no tratamento com 10 kPa de  $O_2$  e evidenciou que atmosferas de armazenamento com 21 e 10 kPa de  $O_2$  provocaram alterações semelhantes no aroma de cambuci.

Compostos terpênicos foram escassos na composição do perfil volátil dos tratamentos com 1 e 5 kPa de  $O_2$ . Nestes tratamentos prevaleceram álcoois (octanol, linalool, hexanol e etanol) e aldeídos (hexanal, (E)-2-octenal, (E)-2-heptenal e octanal) reunidos no cluster 2 (Figura 14C). O contraste entre ésteres e álcoois versus terpenos foi similar ao observado em maçã armazenadas em atmosferas modificadas (CLIFF et al., 2010).

Estes voláteis agrupados no cluster 2 foram mais abundantes no tratamento com 1 kPa de  $O_2$  e, também foi observada a presença discreta de ésteres, álcoois e aldeídos caracterizados no dia da colheita. Esta mistura complexa contribuiu para a formação de um aroma com notas agradáveis ao olfato (frescas, doces e cítricas) associadas a *off-flavors* (alcoólicas, apimentadas e fermentadas) devido ao metabolismo fermentativo (KADER, 2008).

O ranking de 15 compostos que mais influenciaram a PLS-DA predominaram sesquiterpenos e álcoois, sendo que 93% destes voláteis modificaram-se de maneira semelhante para a colheita e o tratamento com 1 kPa de  $O_2$  (Figura 14D).

Na casca destes cambucis, o controle e a colheita foram os tratamentos mais distantes nos quadrantes da PLS-DA em relação aos outros tratamentos (Figura 14) provocada pela variação de poucos compostos voláteis (Figura 14F).

Entre o dia da colheita e o controle a alteração do perfil aromático caracterizou-se pela perda de voláteis como o geraniol (álcool), globulol (sesquiterpeno), linalool (monoterpeno), ledol (sesquiterpeno álcool), 4-terpineol (monoterpeno álcool), hexil acetate (éster) reconhecidos pelo aroma floral, doce e frutado (Figura 14F e 14G). Contudo, após 27 h de armazenamento o perfil aromático do controle (cluster 1) permaneceu semelhante a colheita - resultado contrário ao observado para a polpa.

Em atmosferas com 10 kPa de O<sub>2</sub> houve uma redução dos compostos voláteis emitidos, exceto etil ésteres que perduraram em comparação a colheita e ao controle. Os monoterpenos D-limonene,  $\alpha$ -phellandrene e o-cymene foram mais abundantes, sugerindo a persistência de um aroma mais cítrico em relação aos demais tratamentos (Figura 14G).

Nos tratamentos com 1 e 5 kPa de O<sub>2</sub> na atmosfera foi observada a diminuição da emissão dos compostos voláteis, sobretudo para os tratamentos com 1 kPa de O<sub>2</sub> (Figura 14F e 14G). No tratamento com 1 kPa de O<sub>2</sub> os voláteis com maior área relativa foram 3 sesquiterpenos ( $\gamma$ -muurolene, (R)- $\gamma$ -cadinene, epi- $\alpha$ -selinene) 1 monoterpeno ( $\delta$ -3-carene) e 1 álcool (etanol) agrupados no cluster 2 e descritos como um aroma amadeirado, cítrico e fermentado. Alguns compostos, como o etanol apareceram na casca em todos os tratamentos, exceto na colheita. A presença do etanol pode ser resultado da fermentação devido à ausência de oxigênio.

Terpenos constituíram mais de 84% dos compostos voláteis da casca do cambuci e junto com etil ésteres foram as classes mais relevantes no ranking dos 15 compostos que mais contribuíram para a modificação do perfil volátil (Figura 14H).

Diversas alterações no perfil volátil do cambuci ocorreram em pouco tempo, muitas pela ação da temperatura de armazenamento (20 °C) facilmente observado entre os tratamentos colheita e controle. Na polpa dos frutos observamos que quanto menor a disponibilidade de oxigênio menor foi a degradação dos compostos voláteis característicos no dia da colheita. Na casca dos frutos observamos o efeito contrário, houve uma intensa degradação de compostos no tratamento com 1 kPa de O<sub>2</sub>.

A diminuição da emissão de compostos voláteis, especialmente ésteres, em baixo O<sub>2</sub> (<5 kPa) em longos períodos de armazenamento é comum em maçãs (ARGENTA et al., 2004), mas os resultados sobre o efeito isolado do oxigênio na degradação de voláteis em curto período de exposição sob elevadas temperaturas (20 °C) são escassos.

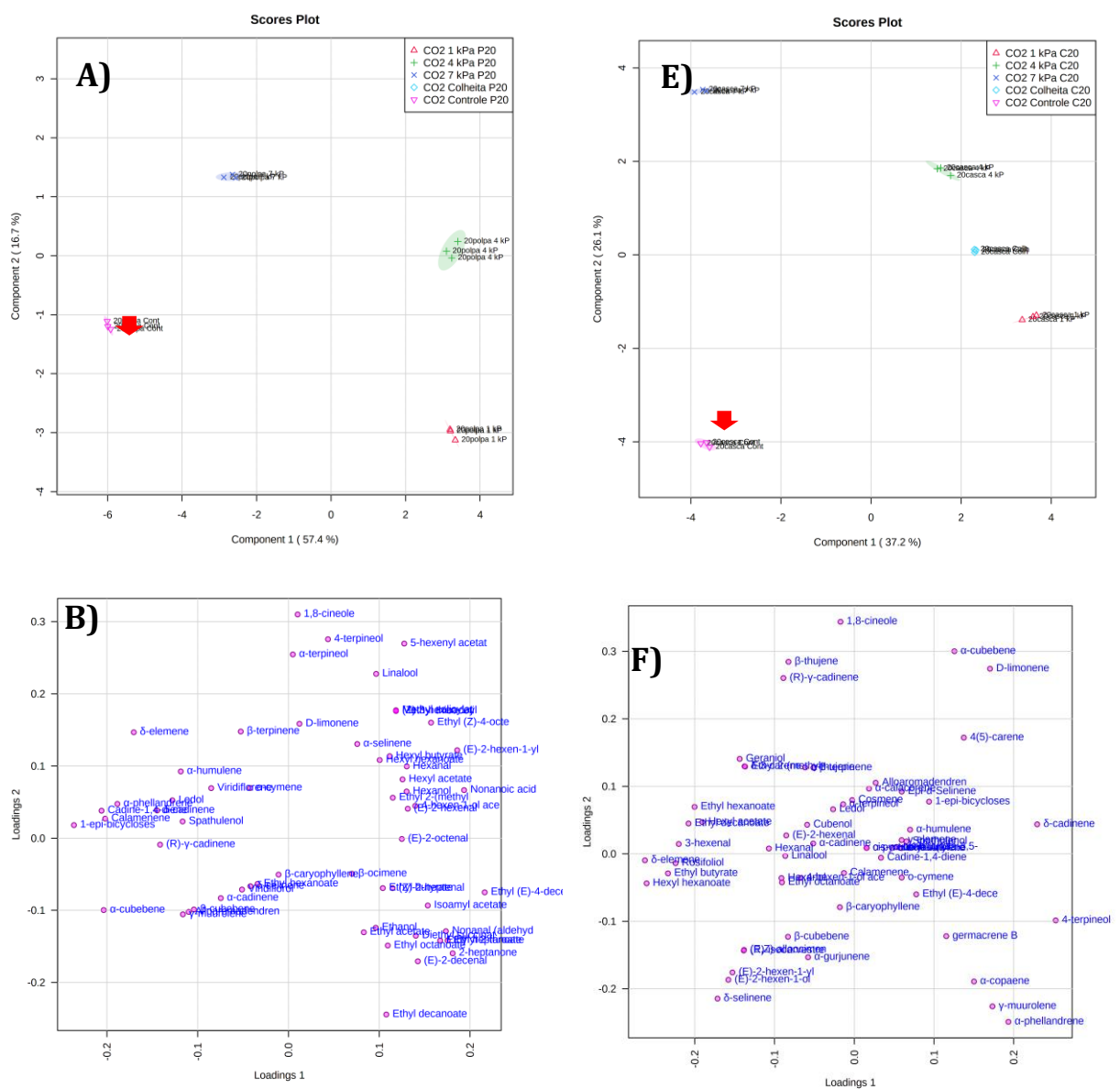
A diferença entre a polpa e a casca pode estar associada a difusão do O<sub>2</sub> no tecido vegetal, a casca do cambuci foi a primeira barreira a ser transposta pelos gases, e ficou mais tempo exposta a atmosfera de armazenamento em relação a polpa (PAUL; PANDEY, 2014b). As frutas são em si, sua própria embalagem de atmosfera modificada, dentro das quais residem os seus tecidos (DADZIE et al., 1993).

## 8.5.2. Estudo de concentrações de dióxido de carbono em temperatura ambiente:

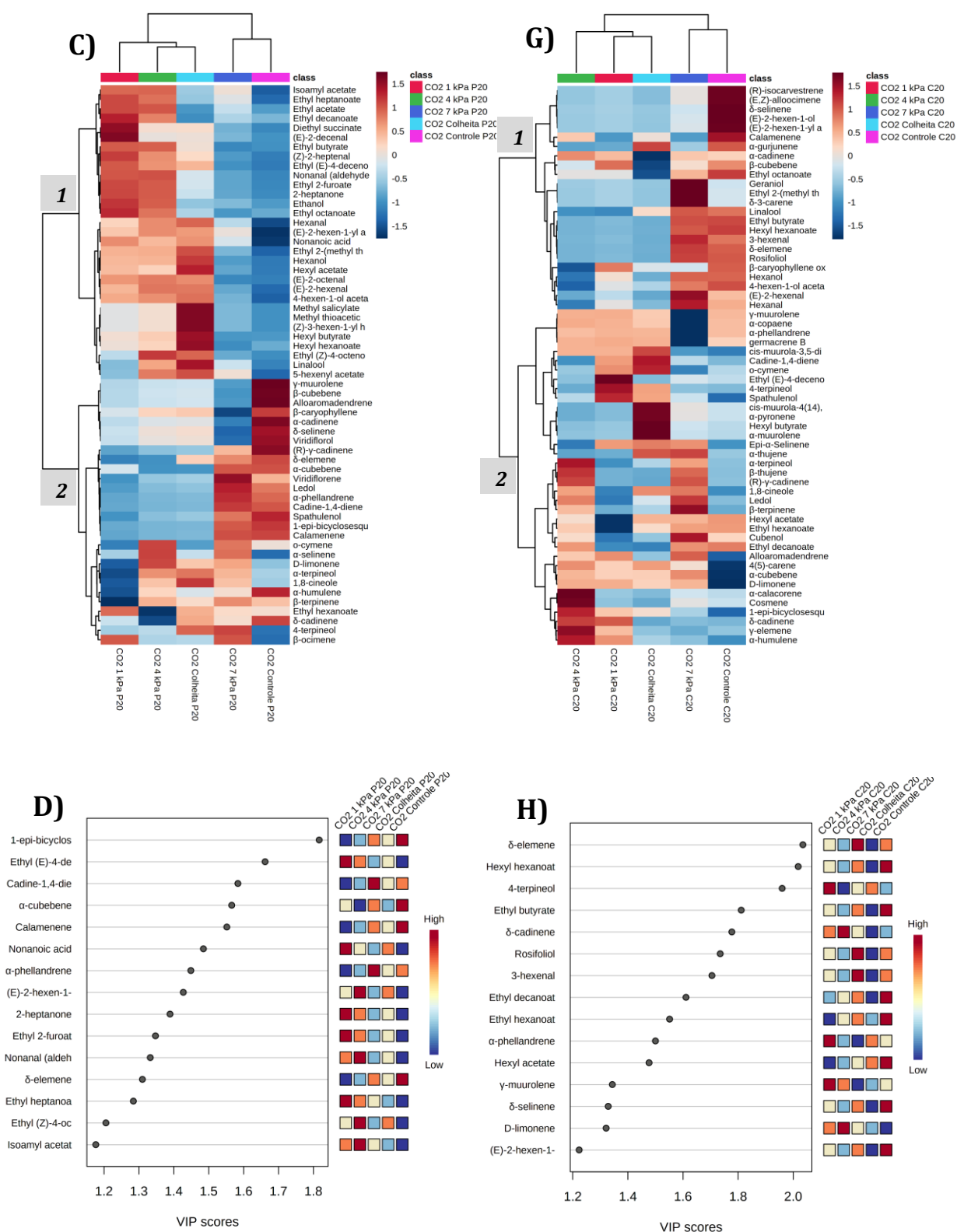
### Aroma

No experimento 2 os cambucis foram armazenados em atmosfera controlada enriquecidas com 0,03, 1, 4 e 7 kPa de CO<sub>2</sub> (21 kPa de O<sub>2</sub>) a 20 ° C por 48 h (Figura 15). A análise multivariada (PLS-DA) evidenciou alterações significativas no perfil dos COVs emitidos pela polpa e casca (Tabela 5).

As amostras da polpa e casca do controle e do tratamento com 7 kPa de CO<sub>2</sub> agruparam-se do lado esquerdo do gráfico, enquanto a colheita, 1 e 4 kPa de CO<sub>2</sub> reuniram -se no quadrante oposto. O controle foi responsável pela maior variabilidade da componente 1 na polpa (57,4%) e na casca (37,2%) (Figura 15A e 15E).







**Figura 15.** Análise discriminante dos mínimos quadrados parciais (PLS-DA), *loadings plot*, *hierarchical clustering (heatmap)* e *VIP scores* de cambucis (*Campomanesia phaea*) armazenados sob atmosfera controlada com 1, 4, 7 kPa de CO<sub>2</sub>, colheita e controle - ambos à 21 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 20 °C por 48 h. Onde: A, B, C e D representam os resultados da polpa, E, F, G e H referem-se a casca. No *heatmap* e no *VIP Scores* cada cor corresponde a um valor de concentração dos voláteis.

A análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) forneceu uma visão geral do perfil aromático de todos os tratamentos da polpa e da casca (Figura 15B e 15F).

Na polpa as amostras avaliadas no dia da colheita tiveram como principais constituintes álcoois (linalool e hexanol) e ésteres (metil salicilate e hexil butirato) agrupados no cluster 1, caracterizando um aroma de fruta madura e fresca com notas doces, herbais e cítricas (15B). No controle, após 48 h de armazenamento a produção destes compostos foi suprimida, prevalecendo monoterpenos, sesquiterpenos e álcoois tornando o aroma amadeiro e fermentado - cluster 2 (Figura 15C). A diminuição de ésteres e o predomínio de terpenos são coincidentes com as alterações observadas no perfil volátil em amostras da colheita e o controle no experimento 1.

A degradação de álcoois e ésteres foi acentuada nas amostras do controle e do tratamento 7 kPa de CO<sub>2</sub>, em comparação aos outros tratamentos (Figura 15C). Esta perda de voláteis descaracterizou o aroma de fruta madura comum a polpa do cambuci, prevalecendo compostos terpênicos como espatulenol e calamene descritos como aroma floral e amadeirado.

Nos tratamentos com 1 e 4 kPa de CO<sub>2</sub> a polpa do cambuci apresentou diversos etil ésteres responsáveis por um aroma de fruta doce e madura, similar ao identificado no dia da colheita (Figura 15D). Estes voláteis são importantes para a qualidade do aroma das frutas que tem sido utilizados como marcadores para caracterizar a doçura do morango, com o objetivo de reforçar a preferência do consumidor (FAN et al., 2021).

Na casca, a principal modificação observada em 48 h entre a colheita e o controle foi o aumento de ésteres (etil butirato, hexil hexanoato), álcoois ((E)-2-hexen-1-ol, (E)-2-hexen-1-yl-acetato, linalool, rosifoliol, hexanol) e aldeídos (3-hexenal) compostos associados a um aroma adocicado, cítrico e floral (Figura 15F e 15G) resultado comum durante o amadurecimento dos frutos (EL HADI et al., 2013). Terpenos também foram identificados na casca dos cambucis do controle, destacando-se os monoterpenos ((R)-isocarvestrene, (E, Z)-alocimene e o sesquiterpeno  $\delta$ -selinene reunidos no cluster 1 (Figura 15G). O aumento de ésteres, álcoois e aldeídos foi diferente do observado na casca dos frutos do experimento 1, onde ocorreram poucas modificações no aroma em 27h. Além disso, contrária o que foi observado na polpa dos frutos, confirmando que a atmosfera de armazenamento provocou efeitos diferentes na polpa e na casca do fruto.

O aumento de álcoois, aldeídos e ésteres (linalool, etil butirato, hexil hexanoato, 3-hexenal,  $\delta$ -elemene, rosifoliol, hexanol, 4-hexen-1-ol-acetato, (E)-2-hexenal, hexanal, hexil acetato, etil hexanoato, cubenol e etil decanoato) também foi observado na casca dos cambucis armazenado em atmosferas com 7kPa de CO<sub>2</sub>. Estes VOC's apresentaram uma área relativa semelhante ao observado para o controle. Além desses COVs, destacaram-se geraniol, etil 2-(metiltio) acetato e  $\delta$ -3-carene (Figura 15G).

Abundância de álcool, aldeído e éster especialmente, os etil ésteres que são frequentemente associados com o amadurecimento de diversas frutas pode ter sido provocado pelo acúmulo de etanol - principal substrato para a biossíntese de ésteres etílicos, principalmente etil acetatos (KE DANGYANG; ZHOU; KADER, 1994). Apesar de estarem associados ao aroma agradável de fruta madura, a sua presença foi correlacionada com aumento de *off-flavors* em morangos (LARSEN; WATKINS, 1995).

O perfil volátil da casca de cambucis armazenados sob 4 kPa e 1 kPa de CO<sub>2</sub> foi semelhante ao emitido no dia da colheita, devido à ausência de ésteres, álcoois e aldeídos do cluster 1 (Figura 15G). A maior parte dos voláteis do tratamento com 4 kPa de CO<sub>2</sub> concentraram-se no cluster 2, destacando-se os sesquiterpenos de aroma amadeirado e herbal ( $\alpha$ -calacorene,  $\delta$ -cadinene, 1-epi-bicyclosesquiphellandrene,  $\gamma$ -elemene,  $\alpha$ -humulene). O tratamento com 1kpa de CO<sub>2</sub> conservou a maior parte dos grupos de voláteis observados na colheita (Figura 15G).

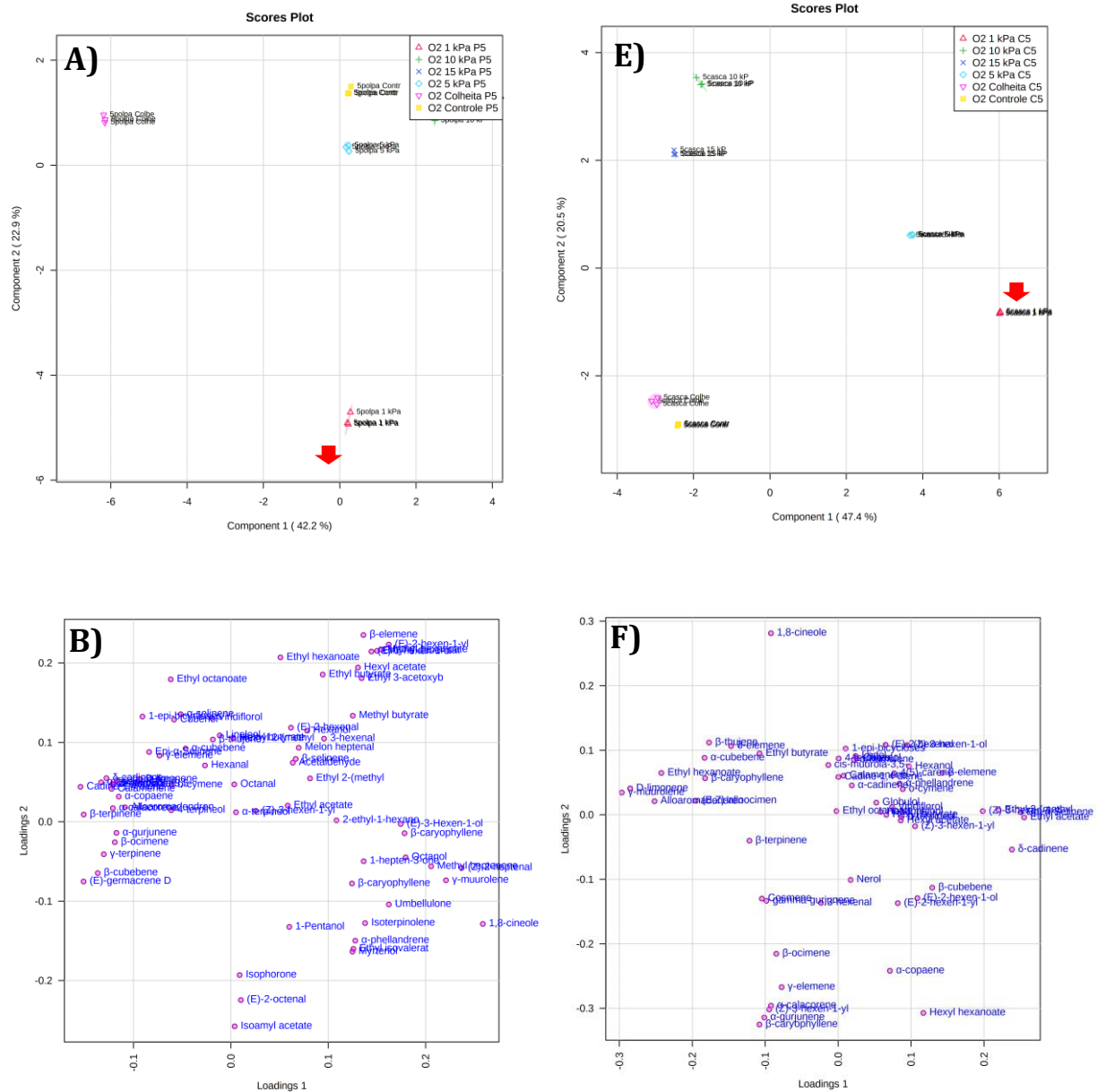
Ésteres constituíram apenas 15% do total de voláteis identificados, mas foram determinantes para a separação entre os tratamentos (Figura 15H).

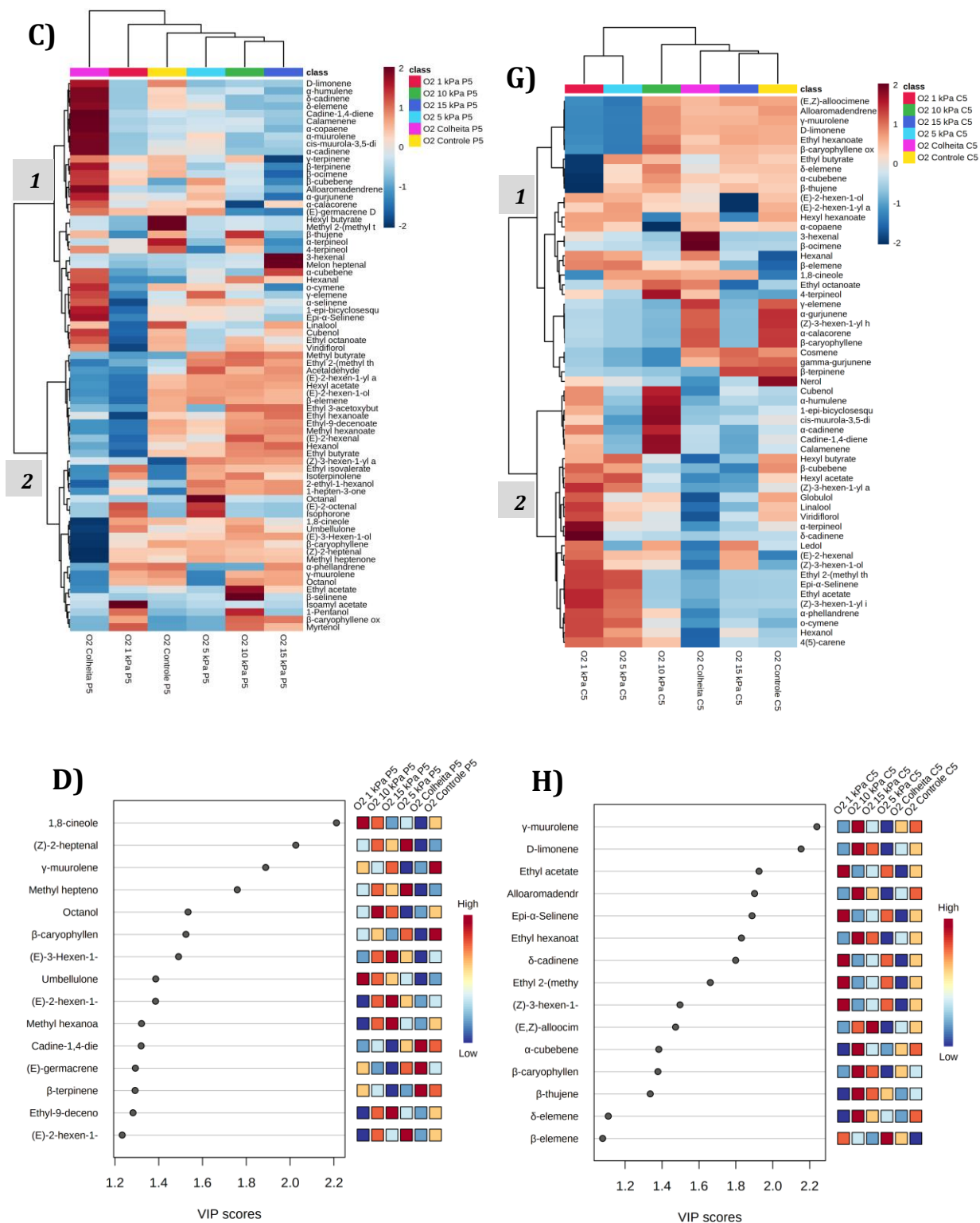
O controle e o tratamentos com 7 kPa de CO<sub>2</sub> foram influenciados de forma semelhante para produção de voláteis na polpa e casca. Na polpa provocaram a degradação de ésteres, aldeídos e álcoois e na casca estimularam a produção destas mesmas classes de compostos. Ambos os tratamentos promoveram as maiores modificações no aroma do cambuci em relação ao dia da colheita. Por outro lado, o aumento na concentração de CO<sub>2</sub> para 1 kPa colaborou para a manutenção das características do aroma semelhantes ao início do armazenamento.

### 8.5.3. Estudo de concentrações de oxigênio sob refrigeração: aroma

No experimento 3, cambucis foram armazenados nas concentrações 1, 5, 10, 15 e 21 kPa de O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 5 °C durante 15 dias. A fim de caracterizar a variabilidade observada entre os tratamentos aplicou-se a análise multivariada (PLS-DA) nos 130 COVs – 73 na polpa e 57 na casca - identificados na polpa e casca do cambuci (Tabela 15).

Na polpa as amostras da colheita foram as que mais contribuíram para 42,2% da variabilidade apontada no componente 1 (Figura 16A), enquanto na casca do cambuci o tratamento com 1 kPa de O<sub>2</sub> foi o de maior relevância para 47,4% verificada na componente 1 (Figura 16E).





**Figura 16.** Análise discriminante dos mínimos quadrados parciais (PLS-DA), *loadings plot*, *hierarchical clustering (heatmap)* e *VIP Scores* de cambucis (*Campomanesia phaea*) armazenados sob atmosfera controlada com 1, 5, 10, 15 kPa de O<sub>2</sub>, colheita e controle - ambos à 21 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 5°C por 15 dias. Onde: A, B, C e D representam os resultados da polpa e D, E, F e G referem-se a casca. No *heatmap* e *VIP scores* cada cor corresponde a um valor de concentração dos voláteis.

Na polpa identificamos que a maior influência na divisão das componentes 1 e 2 (Figura 16B) foi expressa pela diminuição de terpenos entre os 15 dias de armazenamento que separam a colheita dos outros tratamentos. Ésteres e álcoois também foram reduzidos em menor intensidade (Figura 16E). Estes resultados contrariaram o que foi observado nos experimentos discutidos anteriormente.

Na colheita, o perfil de compostos voláteis emitidos pela polpa de cambuci foi caracterizado pela abundância de monoterpênicos (D-limonene, o-cimene,  $\beta$ -ocimene,  $\beta$ -terpineno,  $\beta$ -tujene,  $\gamma$ -terpineno) e sesquiterpênicos ( $\alpha$ -cadinene,  $\alpha$ -calacorene,  $\alpha$ -copaene,  $\alpha$ -cubebene,  $\alpha$ -gurjunene,  $\alpha$ -humulene,  $\alpha$ -selinene,  $\alpha$ -muurolene,  $\beta$ -cubebene,  $\gamma$ -elemene,  $\delta$ -cadinene,  $\delta$ -elemene, calamene, cadine-1,4diene, cis-muurola-3,5-diene, Epi- $\alpha$ -selinene, (E)-germacrene D, alloaromadendrene e 1-epi-bicyclosesquiphellandrene) reunidos no cluster 1 com notas aromáticas majoritariamente amadeirada e herbal (Figura 16 C).

Após 15 dias sob 5 °C os compostos terpênicos da polpa diminuíram, sobrelevando a emissão de ésteres e álcoois (Figura 16C). Esta tendência na modificação dos compostos voláteis emitidos foi observada em todos os tratamentos e representada no *heatmap* (Figura 16C). O processo de perda de COVs também foi observado no experimento 1, sob 20 °C e 27h de armazenamento os compostos terpênicos foram mantidos em detrimento dos ésteres, álcoois e aldeídos.

Terpenos são amplamente distribuídos no reino vegetal e possuem uma diversidade de funções biológicas como a resposta ao estresse (PICHERSKY; GERSHENZON, 2002). Sugerindo que o número elevado de terpenos na colheita (polpa) pode ser uma resposta ao estresse causado pela estiagem durante a safra de 2020/2021 (SIMON et al., 2011).

A baixa disponibilidade de oxigênio reduziu a emissão dos compostos voláteis em todos os tratamentos em relação ao dia da colheita. A redução mais drástica foi constatada nas amostras com 1 kPa O<sub>2</sub> que deixou de emitir 66% de compostos voláteis em relação a colheita. Esta perda significativa de compostos foi observada na casca dos frutos armazenados em 1 kPa O<sub>2</sub> por um curto período a 20 °C.

A degradação de voláteis está associada aos baixos níveis de O<sub>2</sub> (1 kPa) e a baixa temperatura (5 °C). Ambos restringem a respiração e a produção de energia (ATP) necessária para uma vasta gama de processos de biossíntese e degradação que fornecem substratos para a produção de COVs (BRIZZOLARA et al., 2020). Tomates armazenados a 5 °C durante 4 dias tiveram a qualidade do sabor e aroma prejudicados (MAUL et al., 2000). Em papaia 'Golden' o armazenamento refrigerado diminuiu a produção de linalool e a expressão linalool sintetase (LIS), o maior composto

detectado (GOMES; FABI; PURGATTO, 2016). Baixo oxigênio durante o armazenamento foi um dos fatores que reduziu a emissão de voláteis importantes para formação do aroma em maçãs (DIXON; HEWETT, 2000).

O índice com os 15 voláteis mais relevantes ajudou a identificar quais os COVs mais impactaram nos tratamentos (Figura 16D). O monoterpeneo 1,8 cineole foi a variável que, individualmente, teve maior influência na separação entre os tratamentos e apenas cadine-1,4 diene, (E)-germacrene D e  $\beta$ -terpineno faziam parte do perfil volátil do cambuci da colheita.

Na casca os tratamentos agruparam-se em pares na análise discriminante dos mínimos quadrados parciais (PLS-DA): controle e colheita, 10 e 15 kPa de O<sub>2</sub>, 1 e 5 kPa de O<sub>2</sub> – sugere que atmosferas com diferença <5 kPa de O<sub>2</sub> provocaram mudanças semelhantes na emissão dos 57 voláteis identificados na casca dos cambucis (Figura 16E).

Terpenos foram os principais constituintes da casca somando 65% do total de voláteis identificados em relação a ésteres, álcoois, aldeídos e alcanos (Figura 16F). Os monoterpeneos apareceram com maior intensidade nos tratamentos com maior disponibilidade de O<sub>2</sub> e foram majoritários no dia da colheita e no controle.

Os voláteis reunidos no cluster 1 produziram uma mistura diversificada resultante da combinação de notas cítricas dos terpenos D-limonene e  $\beta$ -ocimene, doces e frutadas dos ésteres etil butirato e etil hexanoato e verde do hexanal produzidas por cambucis no dia da colheita e do controle (Figura 16G). Após 15 dias de armazenamento a 5 °C o aroma foi preservado, semelhante ao observado para a casca dos cambucis do experimento 1.

Atmosferas com 10 e 15 kPa de O<sub>2</sub> também preservaram os voláteis observados na colheita, contudo a partir de 10 kPa houve um incremento na produção de sesquiterpenos (cluster 2), destacando-se cubenol,  $\alpha$  - humulene, 1-epi-bicyclosesquiphellandrene, cis-muurolo-3,5-diene,  $\alpha$ -cadinene, cadine-1,4 diene e calamene (Figura 16G).

Os sesquiterpenos foram mais abundantes nos tratamentos de 1 e 5 kPa de O<sub>2</sub> alterando significativamente o aroma em comparação ao controle e a colheita, nos quais predominaram monoterpeneos. Diferente do que foi encontrado em maçãs 'Royal Gala': durante 28 dias sob 0,5 e 0,7 kPa de O<sub>2</sub> a produção de terpenos não foi afetada (BOTH et al., 2016). Outros resultados sugerem que terpenos diminuem durante o amadurecimento em *raspberry* (FORNEY, 2001). Aparentemente, a alteração da biossíntese de terpenos sob baixo O<sub>2</sub> não obedece a um padrão único.

De modo geral, a maior divergência no aroma dos cambucis foi entre colheita e 1 kPa de O<sub>2</sub>, especificamente para os compostos etil acetato, epi-  $\alpha$ -selinene,  $\delta$ -cadinene (herbal), etil-2- (metil thio) acetato, (Z)-3 hexen-1-ol -

descritos como notas aromáticas frutada/doce/verde. Estes compostos destacaram-se entre as 15 variáveis que mais afetaram a separação entre os tratamentos e não foram quantificados nas amostras da colheita (Figura 16H).

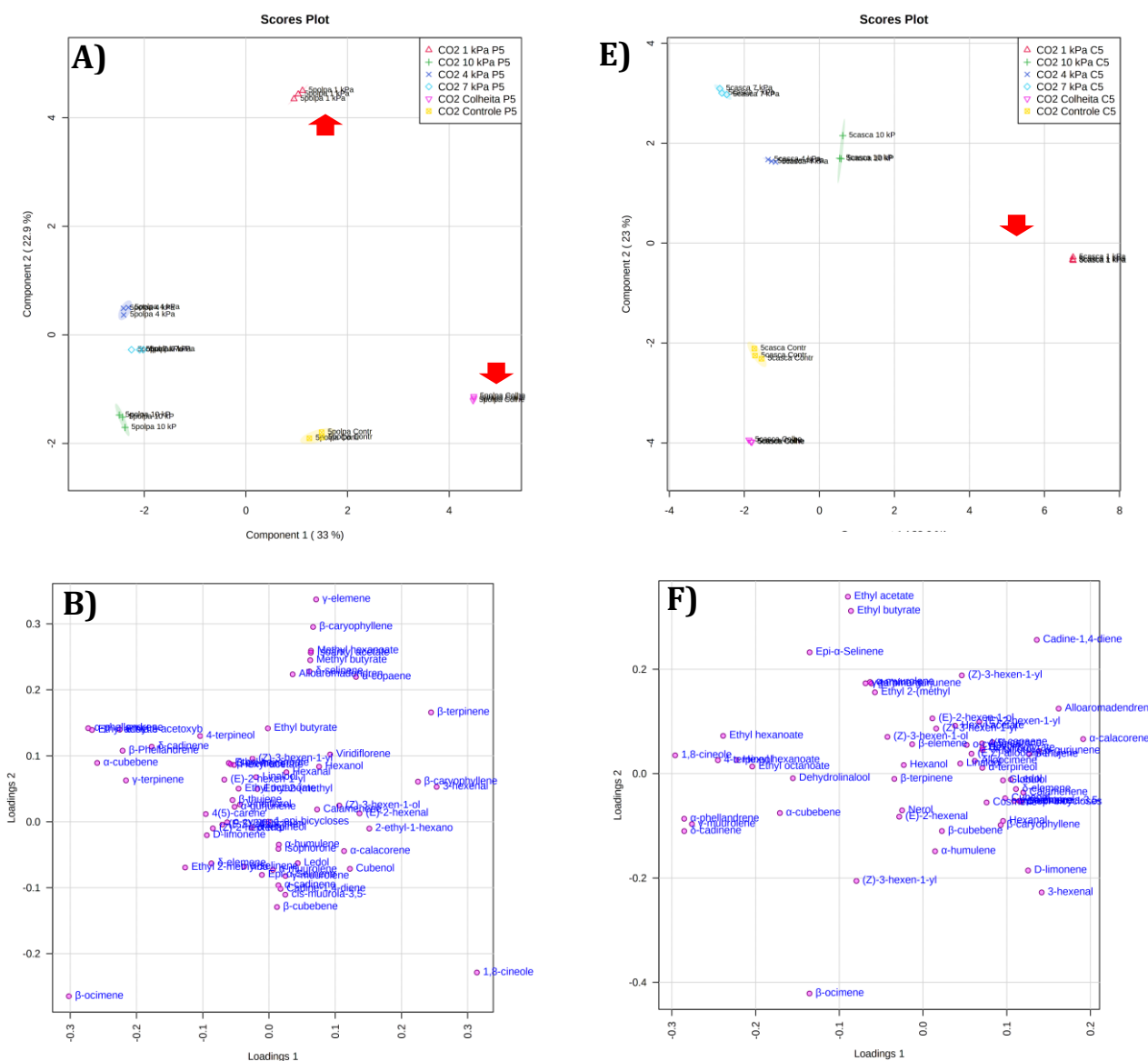
Na casca do tratamento 1kPa de O<sub>2</sub> foram identificados 50% do total de ésteres a maior parte formada por hexil e etil ésteres. Estes resultados foram contrários ao observado em pêras 'Nanguo', onde o estresse por frio induziu a perda de ésteres aromáticos como hexil hexanoato devido a alteração no metabolismo de ácidos graxos (HUI et al., 2010; SHI et al., 2019). O incremento de voláteis no cambuci pode ser resultado do estresse por hipoxia, como constatado em maçãs (DIXON; HEWETT, 2010).

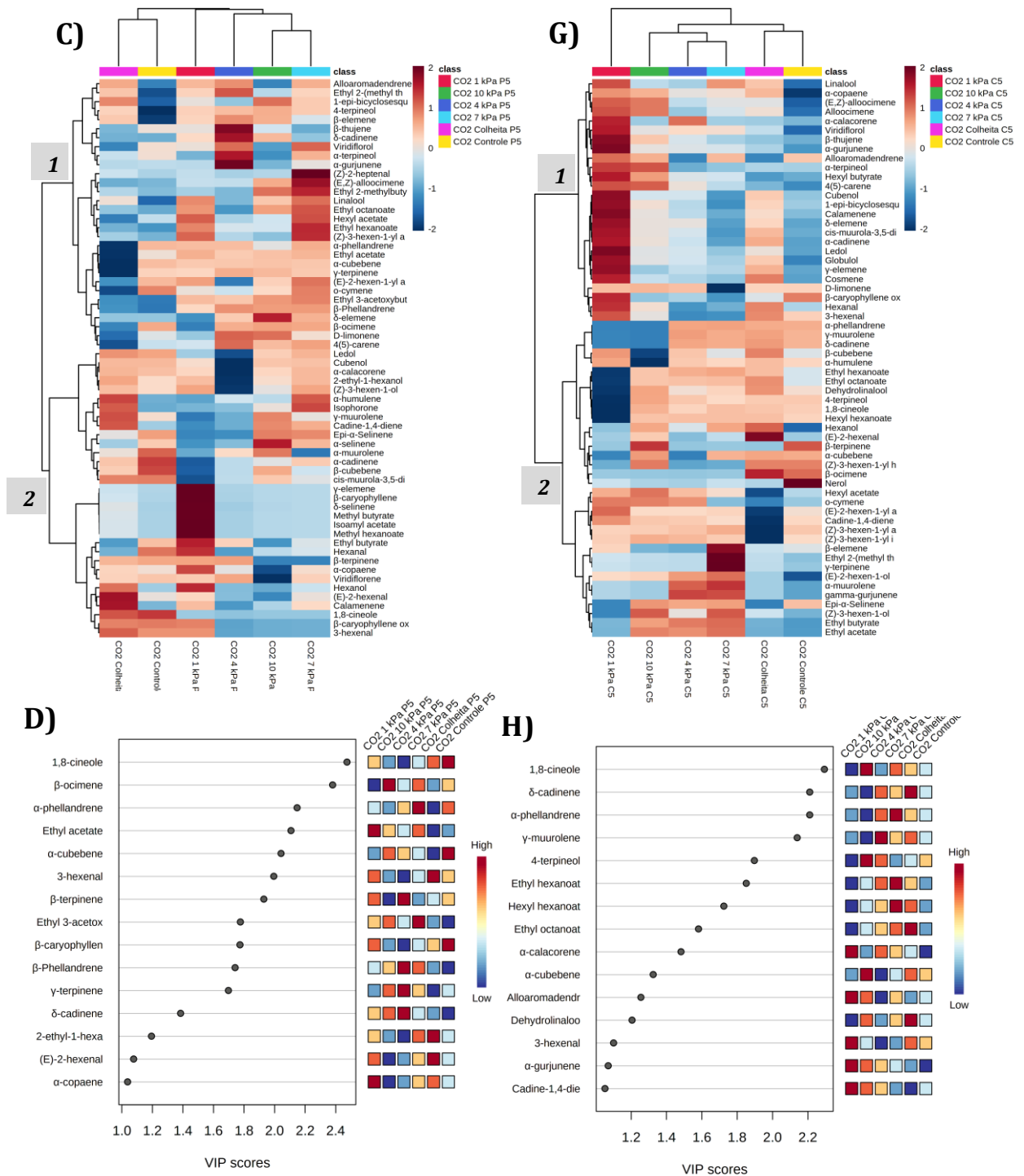
A redução da temperatura para 5 °C associada ao baixo O<sub>2</sub> interferiu significativamente no metabolismo de compostos voláteis do cambuci. As maiores mudanças foram a perda de compostos terpênicos na polpa e o aumento de sesquiterpenos em concentrações <10 kPa de O<sub>2</sub> na casca. Entretanto, os tratamentos com 10 e 15 kPa de O<sub>2</sub> preservaram a maior parte dos COVs emitidos pela casca no dia da colheita.



### 8.5.4. Estudo de concentrações de dióxido de carbono sob refrigeração: aroma

A variabilidade entre o perfil volátil emitido pela polpa e casca de cambucis armazenados sob as concentrações de 0,03, 1, 4, 7, 10 kPa de CO<sub>2</sub> e 21 kPa O<sub>2</sub> a 5 °C por 15 dias foi constatada na análise discriminante dos mínimos quadrados parciais (PLS-DA) (Figura 17A e 17B).





**Figura 17.** Análise discriminante dos mínimos quadrados parciais (PLS-DA) *loadings Plot* e *hierarchical clustering (heatmap)* e *VIP scores* de cambucis (*Camponesia phaea*) armazenados em AC nos tratamentos 1, 4, 7, 10 kPa de CO<sub>2</sub>, colheita e controle - ambos a 21 kPa O<sub>2</sub> e 0,03 de CO<sub>2</sub> a 5°C por 15 dias. Onde: A, B, C e D representam os resultados da polpa e E, F, G e H referem-se aos resultados da casca. No *heatmap*, e no *VIP scores* a cor corresponde a concentração dos voláteis.

A disposição das amostras entre as componentes 1 (33%) e 2 (22,9%) e o posicionamento centralizado dos 62 compostos voláteis (Tabela 5) identificados evidenciou a diferença entre os tratamentos, destacando -se a colheita e o tratamento 1 kPa (Figura 17A e 17B).

No dia da colheita as notas aromáticas mais frequentes foram cítricas, amadeiras e frescas/verde emitidas por compostos terpênicos (ledol, cubenol,  $\alpha$ -calacorene,  $\alpha$ -humulene, isophorone,  $\gamma$ -muurolene, cadine-1,4diene,  $\beta$ -terpineno,  $\alpha$ -copaene, calamene, 1,8 cineole) e álcoois (2-etil-hexanol, (Z)-3-hexen-1-ol, hexanol, 3-hexenal) reunidos no cluster 2. Na polpa dos cambucis do controle após 15 dias, a maior parte dos compostos foram conservados com área relativa similar a colheita, predominando as mesmas notas aromáticas citadas anteriormente. Porém, destaca-se a diminuição da área relativa de ésteres e aldeídos como etil-2- (metil tio) acetato e (E)-2-hexenal correspondendo ao observado no experimento 1, 2 e 3 (Figura 17C).

Cambucis armazenados nas atmosferas com 1 kPa de CO<sub>2</sub> emitiram COVs que mais se aproximou do controle e da colheita. Contudo, um grupo formado por 7 COVs detectados no tratamento com 1 kPa de CO<sub>2</sub> foi o maior destaque no cluster 2: terpenos ( $\gamma$ -elemene,  $\beta$ -cariofilene,  $\delta$ -selinene) e ésteres (metil butirato, isoamil acetato, metil hexanoato, etil butirato) contribuíram para um aroma mais apimentado/ardido e frutado em relação ao dia da colheita e ao controle (Figura 17C).

Grande parte dos COVs (48,4%) foram identificados após 15 dias de armazenamento e concentraram-se no cluster 1, principalmente nos tratamentos com maior concentração de CO<sub>2</sub> (4, 7 e 10 kPa) (Figura 17C). Notas aromáticas associadas a fruta madura e doce como as emitidas por Z) -2-heptenal, (E, Z) -alloocimene, etil 2-metilbutirato, linalool, etil octanoato, hexil acetato, etil hexanoato e (Z)-3-hexen-1-yl- acetato, foram produzidas após os 15 dias de armazenamento, especialmente nos tratamentos com 7 e 10 kPa de CO<sub>2</sub> (Figura 17C).

Concentrações elevadas de CO<sub>2</sub> podem aumentar a atividade da enzima álcool aciltransferase (ATT) responsável por catabolizar reações de esterificação lipídico (álcool e ácido orgânico) em ésteres voláteis (PALIYATH et al., 2008). A atividade da ATT foi observada em morangos armazenados em atmosferas com até 30% de CO<sub>2</sub> (PÉREZ et al., 1996; SANZ; OLÍAS; PÉREZ, 2003). Adicionalmente, FELLMAN (1993) confirmou a relação positiva entre produção de ésteres acetatos e aumento da atividade da ATT em atmosferas de armazenamento com até 1 kPa de O<sub>2</sub>.

Apesar do aumento na produção de ésteres e aldeídos, os monoterpenos foram os fatores que mais influenciaram a separação entre os tratamentos - 1,8-cineole, foi COVs mais abundante nas amostras da colheita e do controle, enquanto o  $\beta$ -ocimene destacou-se nos tratamentos 4, 7 e 10 kPa de CO<sub>2</sub> (Figura 17D). Ambos

monoterpenos cíclicos e acíclicos, respectivamente, são essenciais para a formação do aroma de do gênero Cítrico (MCGARVEY; CROTEAU, 1995; SHIMADA et al., 2005).

Na casca foram identificados 60 compostos voláteis, onde 38,6% da variabilidade foi explicada pela componente 1 e 23% pela componente 2 (Figura 17E e 17F). A modificação do aroma entre a colheita e o controle foi marcada pela diminuição da área relativa de 13 compostos terpênicos presentes no cluster 1, reduzindo a emissão de notas aromáticas majoritariamente amadeiradas (Figura 17F).

Em contrapartida, estes 13 COVs foram maiores nos cambucis do tratamento com 1 kPa CO<sub>2</sub> somados a outros 13 deste mesmo cluster. No total foram 26 compostos voláteis, dos quais 85% são sesquiterpenos e monoterpenos foram os responsáveis pelas maiores áreas relativas no perfil volátil do tratamento 1 kPa de CO<sub>2</sub>, caracterizando um aroma mais amadeirado e herbal em comparação aos outros tratamentos (Figura 17G). O aumento da concentração de CO<sub>2</sub> em até 1 kPa estimulou a produção destes compostos na casca. Em concentrações >1kPa de CO<sub>2</sub> a produção da maioria dos compostos foi suprimida.

Nos tratamentos 4, 7, e 10 kPa de CO<sub>2</sub> observou-se uma profusão de etil ésteres, como etil butirato, etil acetato e etil 2-metilbutyrate na casca. Estes COVs são descritos como representantes de um aroma doce e frutado. Estes compostos são dependentes de substratos (ácido e etanol) que são produzidos em maior abundância durante a fermentação e sugere que talvez estes cambucis estavam fermentando. Além disso, estes resultados são equivalentes ao observado no tratamento com 7 kPa de CO<sub>2</sub> do experimento 2 (Figura 17G).

Dentre os 15 compostos que mais participaram na separação entre os tratamentos > 66% são terpenos (Figura 15H), observa-se que a separação foi influenciada pelos voláteis ausentes no tratamento 1 kPa de CO<sub>2</sub>. Monoterpenos e sesquiterpenos são os voláteis majoritários do aroma da manga (MACLEOD; PIERIS, 1984; PANDIT et al., 2009). Mangas dos cultivares 'Haden', 'Keitt' e 'Tommy Atkins' armazenados em diferentes atmosferas controladas com até 25 kPa CO<sub>2</sub> verificaram a diminuição da concentração de terpenos em todos os tratamentos em relação ao controle (BENDER; BRECHT; BALDWIN, 2021). O armazenamento de groselhas negras sob elevado CO<sub>2</sub> (18 kPa) resultou na diminuição de voláteis, especialmente de terpeno álcool (HARB; BISHARAT; STREIF, 2008).

Atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> sob temperatura reduzida (5 °C) durante 15 dias modificaram o perfil volátil do cambuci. Na polpa, o aumento das concentrações de CO<sub>2</sub> provocou incremento na produção de COVs, especialmente de ésteres, aldeídos e álcoois em todos os tratamentos. O tratamento com 1 kPa de CO<sub>2</sub> foi o que mais conservou o aroma inicial da polpa do cambuci. Na casca, destaca-se o incremento na produção de compostos

terpênicos no tratamento com 1 kPa de CO<sub>2</sub>, alterando completamente o aroma em relação aos demais tratamentos.

### **8.5.5. Qualidade geral do cambuci submetido a diferentes condições de armazenamento**

O baixo oxigênio diminuiu a taxa respiratória do cambuci (experimento 1) possivelmente por interferir na produção de energia (ATP), além disso a redução de oxigênio prejudica a atividade de enzimas como a polifenol oxidase, ascorbato oxidase e citocromo oxidase, enquanto favorece a atividade da piruvato descarboxilase (PDC), álcool desidrogenase (ADH) e até no metabolismo de antioxidantes (KADER, 1986; LARRIGAUDIÈRE et al., 2001).

Atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> também reduziram a respiração (experimento 2) dos frutos. O efeito do CO<sub>2</sub> no metabolismo respiratório até a presente data não foi totalmente esclarecido, mas pode ser resultante de uma combinação complexa de ações em enzimas e substratos que teriam seu funcionamento alterado supostamente devido a acidificação do pH (CHAVEZ-FRANCO; KADER, 1993; KADER et al., 1989; KUBO; INABA; NAKAMURA, 1990; PEPPELENBOS; VAN'T LEVEN, 1996). Posteriormente, a redução da temperatura nos experimentos 3 e 4 ajudou a desacelerar ainda mais estes processos permitindo que os frutos tivessem um maior tempo de vida após a colheita (BRECHT; PLIAKONI; BATZIAKAS, 2020).

Apesar da notável modificação na atividade respiratória, os atributos físico-químicos relacionados a textura e ao sabor doce e ácido como açúcares e ácidos orgânicos do cambuci sofreram poucas alterações. Contudo, distúrbios fisiológicos graves afetaram a aparência dos cambucis de todos os tratamentos e em todas as condições de armazenamento. Quando armazenados sob baixo O<sub>2</sub>, a casca do cambuci tornou-se mais amarelada e sob elevado CO<sub>2</sub> observamos aparecimento de manchas escuras. Sob 5 °C os prejuízos a aparência se tornaram drásticos após a exposição a temperatura ambiente e a atmosfera normal, provavelmente devido também a um dano por frio.

A diminuição da respiração parece ter implicado na mudança do metabolismo aeróbico para anaeróbico e a fermentação tornou-se fundamental para produção de energia, mesmo sob redução da temperatura. A fermentação é uma forma de obter energia (ATP) suficiente para manutenção do metabolismo celular (MATHOOKO, 1996). O NAD<sup>+</sup> passa a ser produzido a partir descarboxilação do piruvato sem absorção de O<sub>2</sub> partir do piruvato gerando acetaldeído, que por sua vez é convertido a etanol pela ação da enzima álcool desidrogenase (PESIS, 2005a).

O acúmulo de acetaldeído e etanol associado a degradação de taninos está entre as principais modificações nos cambucis armazenados em baixas concentrações de oxigênio (27h) e elevado CO<sub>2</sub> (48h) a 20 °C. A redução da temperatura para 5 °C inibiu o metabolismo de acetaldeído e etanol. O incremento de acetaldeído só ocorreu para os cambucis dos tratamentos com 1 kPa de O<sub>2</sub> e maior que 7 kPa CO<sub>2</sub>. A fermentação pode ter ocorrido devido ao

aumento da expressão do gene do álcool desidrogenase (ADH) comum em situações de hipoxia ou em atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> (BONGHI et al., 1999; CUKROV et al., 2016; PENG et al., 2001).

Possivelmente, a produção de acetaldeído está associada a modificação do aroma do cambuci, principalmente a intensificação da produção ésteres voláteis (PESIS, 2005a). O perfil volátil emitido pelos cambuci sofreu alterações substanciais devido a modificação das atmosferas de armazenamento, além disso a produção de voláteis da polpa e casca foram afetadas distintivamente, provavelmente devido as características de difusividade e aos diferentes gradientes de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> no tecido vegetal (HO et al., 2006, 2008). Durante o armazenamento em baixo oxigênio (1 kPa) a perda de voláteis da polpa foi minimizada a 20 °C por 27 h, mas na casca houve intensa degradação, principalmente de ésteres. Cambucis armazenados nesta mesma concentração por 15 dias a 5 °C causou a degradação de compostos da polpa e estimulou a produção de terpenos na casca prevalecendo notas amadeiradas e herbais.

A exposição dos cambucis por um curto período (48h) a atmosferas enriquecidas com 7 kPa de CO<sub>2</sub> sob 20 °C provocou a degradação de ésteres, aldeídos e álcoois na polpa e estimulou a produção destas mesmas classes de compostos na casca. No entanto, o aumento da concentração CO<sub>2</sub> em atmosferas a 5 °C por 15 dias resultou no incremento na produção de ésteres, aldeídos e álcoois na polpa do cambuci, enquanto na casca a emissão de etil ésteres foi majoritária, como etil butirato, etil acetato e etil 2-metilbutyrate compostos relacionados ao aroma de fruta madura.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atividade respiratória do cambuci foi reduzida pela alteração nos níveis de  $O_2$  e  $CO_2$  no ambiente, mesmo em um curto período de armazenamento. Desta forma ambos os gases podem ser utilizados para modular a taxa respiratória do cambuci. Mesmo com a taxa respiratória reduzida, a qualidade do cambuci decaiu rapidamente sob  $20\text{ }^\circ\text{C}$ : em 27 horas para  $O_2$  e em 48 h para  $CO_2$ . Nessas condições, observamos danos a aparência dos frutos, aumento da produção de acetaldeído e etanol, degradação de taninos e do aroma da casca. Embora destes resultados terem sido mais explícitos nos tratamentos com baixo  $O_2$  e alto  $CO_2$ , também foram observados nos frutos do controle - indicando que o cambuci desencadeia rapidamente a respiração anaeróbica, causando a fermentação.

A associação da temperatura à atmosfera controlada foi essencial para ampliar conservação pós-colheita do cambuci. Estas duas técnicas juntas constituíram uma ferramenta importante para examinar as respostas ao baixo  $O_2$  e alto  $CO_2$ . Durante 15 dias de armazenamento os atributos físico-químicos - incluindo a aparência - foram pouco alterados, enquanto após 2 dias a  $20\text{ }^\circ\text{C}$  e atmosfera convencional o dano a aparência desenvolveu-se a um nível drástico e irreversível. O teor de acetaldeído e etanol diminuiu ao longo do armazenamento para a maior parte dos tratamentos, exceto para as concentrações mais limitantes com 1kPa de  $O_2$  e mais que 7 kPa de  $CO_2$ , nestes tratamentos também observamos a maior degradação de taninos da casca. O aroma foi notavelmente modificado, em geral, observou-se que sob baixo  $O_2$  prevaleceram voláteis terpênicos de notas aromáticas majoritariamente amadeiradas e herbais e em atmosferas com elevado  $CO_2$  observamos a predominância de ésteres de notas frutadas e doces.

Estes resultados constituem a primeira referência sobre a fisiologia pós-colheita do cambuci em diferentes atmosferas de armazenamento. A modificação da composição atmosférica e o uso de temperaturas reduzidas parecem ser a melhor possibilidade para o aumento da vida pós-colheita do cambuci.

No entanto, para viabilizar o transporte e comercialização da fruta fresca, ressalta-se a necessidade investigar e desenvolver melhores combinações entre temperatura e níveis de  $O_2$  e  $CO_2$  - que minimizem o dano a aparência, reduza o acúmulo de acetaldeído e etanol e preserve o aroma do cambuci.

## REFERÊNCIAS

- AMORÓS, A. et al. Physico-chemical and physiological changes during fruit development and ripening of five loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindl.) cultivars. **Food Science and Technology International**, v. 9, n. 1, p. 43–51, 3 fev. 2003.
- AMTHOR, J. S. Respiration in a future, higher-CO<sub>2</sub> world. **Plant, Cell & Environment**, v. 14, n. 1, p. 13–20, 1 jan. 1991.
- ANDRADE, B. A. G. DE F.; FONSECA, P. Y. G. DA; LEMOS, F. **Cambuci: O Fruto, o Bairro, a Rota**. 1. ed. São Paulo: Ourivesaria da Palavra, 2011.
- ARGENTA, L. C. et al. Production of volatile compounds by Fuji apples following exposure to high CO<sub>2</sub> or low O<sub>2</sub>. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 19, p. 5957–5963, 22 set. 2004.
- ARGENTA, L. C.; FAN, X.; MATTHEIS, J. P. Responses of ‘Fuji’ apples to short and long duration exposure to elevated CO<sub>2</sub> concentration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, n. 1, p. 13–24, 1 jan. 2002.
- AZEVEDO, M. C. S. et al. Physicochemical variability of cambuci fruit (*Campomanesia phaea*) from the same orchard, from different locations and at different ripening stages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 2, p. 526–535, 1 jan. 2017a.
- AZEVEDO, M. C. S. et al. Physicochemical variability of cambuci fruit (*Campomanesia phaea*) from the same orchard, from different locations and at different ripening stages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 2, p. 526–535, 1 jan. 2017b.
- BAMBALELE, N. L. et al. Recent advances on postharvest technologies of mango fruit: a review. **International Journal of Fruit Science**, v. 21, n. 1, p. 565–586, 2021.
- BANGERTH, F. K.; SONG, J.; STREIF, J. Physiological impacts of fruit ripening and storage conditions on aroma volatile formation in apple and strawberry fruit: A review. **HortScience**, v. 47, n. 1, p. 4–10, jan. 2012.
- BEAUDRY, R. M. et al. Modified-atmosphere Packaging of Blueberry Fruit: Effect of Temperature on Package O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub>. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 117, n. 3, p. 436–441, 1 maio 1992.
- BENDER, R. J. et al. Aroma volatiles of mature-verde and tree-ripe “Tommy Atkins” mangoes after controlled atmosphere vs. air storage. **HortScience**, v. 35, n. 4, p. 684–686, 2000.
- BENDER, R. J.; BRECHT, J. K.; BALDWIN, E. A. Aroma of mature-verde and tree-ripe mangoes after refrigerated air or controlled atmosphere storage. **Ciência Rural**, v. 52, n. 6, 22 nov. 2021.
- BICSAK, T. A. et al. Tomato Álcool dehydrogenase: purification and substrate specificity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 216, n. 2, p. 605–615, 1 jul. 1982.
- BODBODAK, S.; MOSHFEGHIFAR, M. Advances in controlled atmosphere storage of fruits and vegetables. In: SIDDIQUI, M. W. (Ed.). **Eco-Friendly Technology for Postharvest Produce Quality**. 1. ed. Boston: Elsevier, 2016. p. 39–76.
- BONGHI, C. et al. Peach fruit ripening and quality in relation to picking time, and hypoxic and high CO<sub>2</sub> short-term postharvest treatments. **Postharvest Biology and Technology**, v. 16, n. 3, p. 213–222, 1 jul. 1999.
- BOTH, V. et al. Effect of low oxygen conditioning and ultralow oxygen storage on the volatile profile, ethylene production and respiration rate of ‘Royal Gala’ apples. **Scientia Horticulturae**, v. 209, p. 156–164, 19 set. 2016.
- BRECHT, J. K.; PLIAKONI, E. D.; BATZIAKAS, K. The impact of temperature on atmosphere requirements and effects: the limits of design and utility for CA/MA/MAP. In: GIL, M. I.; BEAUDRY, R. M. (Eds.). **Controlled and Modified Atmospheres for Fresh and Fresh-Cut Produce**. 1. ed. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 147–166.



- BRIZZOLARA, S. et al. Primary metabolism in fresh fruits during storage. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1, 19 fev. 2020.
- BRUEMMER, J. H. Regulation of acetAldeído and ethanol accumulation in cítrico fruit. In: PARLIMENT, T. H.; CROTEAU, R. (Eds.). **Biogeneration of Aromas**. 317. ed. flórida: [s.n.], p. 275–285.
- CAIRES, L.; RACHED, M.; BOFF, M. **A volta do cambuci** -. Disponível em: <<https://www.comciencia.br/a-volta-do-cambuci/>>. Acesso em: 30 jan. 2022.
- CALBO, A. G. Adaptação de um fluxcentro para estudos de trocas gasosas e um método de aferição de capilares. **Pesq. agropcc. bras.**, v. 24, n. 6, p. 733–739, 1989.
- CALBO, A. G.; MORETTI, C. L.; HENZ, G. P. Respiração de frutas e hortaliças. **Comunicado Técnico**, v. 46, p. 1–10, 2007.
- CANTRE, D. et al. Tissue breakdown of mango (*Mangifera indica* L. cv. Carabao) due to chilling injury. **Postharvest Biology and Technology**, v. 125, 2017.
- CARMELO, L. G. P. et al. Portable flow board for storage of fruits and vegetables in mini-chambers with controlled atmosphere. **Engenharia Agrícola**, v. 35, n. 6, p. 1105–1116, 2015.
- CEFOLA, M. et al. Relationships among volatile metabolites, quality and sensory parameters of ‘Italia’ table grapes assessed during cold storage in low or high CO<sub>2</sub> modified atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, v. 142, p. 124–134, 1 ago. 2018.
- CHANG, E.-H.; LEE, J.-S.; KIM, J.-G. Cell wall degrading enzymes activity is altered by high carbon dioxide treatment in postharvest ‘Mihong’ peach fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 225, p. 399–407, 2017.
- CHAVEZ-FRANCO, S. H.; KADER, A. A. Effects of CO<sub>2</sub> on ethylene biosynthesis in “Bartlett” pears. **Postharvest Biology and Technology**, v. 3, n. 3, 1993.
- CHENLO, F. et al. Effects of storage conditions on sugars and moisture content of whole chestnut fruits. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 34, n. 4, p. 609–620, ago. 2010.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2005.
- CIRILLI, M. et al. Temperature and water loss affect ADH activity and gene expression in grape berry during postharvest dehydration. **Food Chemistry**, v. 132, n. 1, p. 447–454, 1 maio 2012.
- CLIFF, M. A. et al. Quality of fresh-cut apple slices stored in solid and micro-perforated film packages having contrasting O<sub>2</sub> headspace atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, v. 58, n. 3, p. 254–261, 1 dez. 2010.
- COLELLI, G.; MITCHELL, F. G.; KADER, A. A. Extension of postharvest Life of ‘Mission’ figs by CO<sub>2</sub>-enriched atmospheres. **HortScience**, v. 26, n. 9, 1991.
- CORRÊA, T. R. et al. Multivariate analysis of mineral content associated with flesh browning disorder in ‘Fuji’ apples produced in Southern Brazil. **Bragantia**, v. 76, n. 2, p. 327–334, 15 maio 2017.
- COUVERCHEL, J. F.; COUVERCHEL, J. F. **Mémoire sur la maturation des fruits**. Paris: Impr. Royale, 1821.
- CUKROV, D. et al. Extreme hypoxic conditions induce selective molecular responses and metabolic reset in detached apple fruit. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. FEB2016, 2016.
- DADZIE, B. K. et al. Role of skin resistance to gas diffusion in the response of fruits to modified atmospheres. **Acta Horticulturae**, n. 343, p. 129–134, jun. 1993.
- DAVEY, M. W. et al. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. 80, p. 825 a 860, 1999.
- DAVIS, P.L. CHACE, W. G. Determination of Álcool in cítrico juice by gas chromatographic analysis of headspace.

**HortScience**, p. 117–119, 1969.

DEELL, J. R.; TOIVONEN, P. M. A. Chlorophyll fluorescence as a nondestructive indicator of broccoli quality during storage in modified-atmosphere packaging. **HortScience**, v. 35, n. 2, p. 256–259, 1 abr. 2000.

DI MATTEO, V.; ESPOSITO, E. Biochemical and therapeutic effects of antioxidants in the treatment of Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. **Current drug targets. CNS and neurological disorders**, v. 2, n. 2, p. 95–107, abr. 2003.

DÍAZ DE LEÓN-SÁNCHEZ, F. et al. Effect of refrigerated storage on aroma and Álcool dehydrogenase activity in tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 54, n. 2, p. 93–100, 1 nov. 2009.

DICKE, M.; VAN LOON, J. J. A.; SOLER, R. Chemical complexity of volatiles from plants induced by multiple attack. **Nature Chemical Biology** 2009 5:5, v. 5, n. 5, p. 317–324, 17 abr. 2009.

DIXON, J.; HEWETT, E. W. Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration: a review. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 28, n. 3, p. 155–173, 2000.

DIXON, J.; HEWETT, E. W. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration: A Review. 2010.

DONADIO, L. C. Frutas nativas do Brasil: como despertar o interesse pela produção e comercialização. **VI Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul FRUTAS**, v. d, p. 181–182, 2012.

DONADIO, L. C.; MORO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Funep, 2002.

DONADO-PESTANA, C. M. et al. Phenolic compounds from cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg) fruit attenuate glucose intolerance and adipose tissue inflammation induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, v. 69, p. 170–178, 2015.

EL HADI, M. A. M. et al. **Advances in fruit aroma volatile research Molecules** Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), jul. 2013.

ES-SAFI, N. E.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. Role of fresco derivatives in the condensation of phenolic compounds with emphasis on the sensorial properties of fruit-derived foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 20, p. 5571–5585, 25 set. 2002.

ESCOBEDO-AVELLANEDA, Z.; WELTI-CHANES, J. Controlled atmosphere storage: applications for bulk storage of foodstuffs. In: CABALLERO, B.; TOLDRA, F.; FINGLAS, P. M. (Eds).. **Encyclopedia of Food and Health**. 1. ed. Monterrey: Elsevier, 2016. p. 301–307.

FAN, L. et al. Ethanol production and chlorophyll fluorescence predict breakdown of heat-stressed apple fruit during cold storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 130, n. 2, p. 237–243, 1 mar. 2005.

FAN, Z. et al. Strawberry doceness and consumer preference are enhanced by specific volatile compounds. **Horticulture Research** 2021 8:1, v. 8, n. 1, p. 1–15, 1 abr. 2021.

FELLMAN, J. K. et al. Ester biosynthesis in “Rome” apples subjected to low-oxygen atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, v. 3, p. 201–214, 1993.

FONSECA, S. C.; OLIVEIRA, F. A.; BRECHT, J. K. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 52, n. 2, p. 99–119, abr. 2002a.

FONSECA, S. C.; OLIVEIRA, F. A.; BRECHT, J. K. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 52, n. 2, p. 99–119, 1 abr. 2002b.

FONSECA, S. C.; OLIVEIRA, F. A. R.; BRECHT, J. K. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 52, n. 2, p. 99–119, abr. 2002c.

FORNEY, C. F. Horticultural and other factors affecting aroma volatile composition of small fruit. **HortTechnology**,

v. 11, n. 4, p. 529–538, 1 jan. 2001.

GOMES, B. L.; FABI, J. P.; PURGATTO, E. Cold storage affects the volatile profile and expression of a putative linalool synthase of papaya fruit. **Food Research International**, v. 89, p. 654–660, nov. 2016.

GRAN, C. D.; BEAUDRY, R. M. Determination of the low oxygen limit for several commercial apple cultivars by respiratory quotient breakpoint. **Postharvest Biology and Technology**, v. 3, p. 259, 1993.

GUNES, G.; LIU, R. H.; WATKINS, C. B. Controlled-atmosphere effects on postharvest quality and antioxidant activity of cranberry fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5932–5938, 2002.

GUPTA, K. J.; ZABALZA, A.; VAN DONGEN, J. T. Regulation of respiration when the oxygen availability changes. **Physiologia Plantarum**, v. 137, n. 4, p. 383–391, 1 dez. 2009.

HARB, J.; BISHARAT, R.; STREIF, J. Changes in volatile constituents of blackcurrants (*Ribes nigrum* L. cv. 'Titania') following controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, n. 3, p. 271–279, 1 mar. 2008.

HO, Q. T. et al. Gas diffusion properties at different positions in the pear. **Postharvest Biology and Technology**, v. 41, n. 2, p. 113–120, 1 ago. 2006.

HO, Q. T. et al. A continuum model for metabolic gas exchange in pear fruit. **PLoS Computational Biology**, v. 4, n. 3, p. 1000023, mar. 2008.

HUI, Y. H. et al. **Handbook of fruit and vegetable flavors**. [s.l: s.n.].

HULME, A. C. **Carbon dioxide injury and the presence of succinic acid in apples [30]** *Nature*, 1956.

HUMPHREY, A. M. Chlorophyll. **Food Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 57–67, 1 jan. 1980.

J.F. GREGORY. Food Chemistry. In: OWEN R. FENNEMA (Ed.). **Food Chemistry**. 3rd ed. ed. Madison: MARCEL DEKKER, INC, 1996. v. 76p. 559–578.

JAMES, H. J.; JOBLING, J. J. Contrasting the structure and morphology of the radial and diffuse flesh browning disorders and CO<sub>2</sub> injury of 'Cripps Pink' apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 53, n. 1–2, p. 36–42, 1 jul. 2009.

JORNAL PIRES RURAL. O cultivo do cambuci na experiência do produtor Paulo Nakanishi. **Jornal Pires Rural**, n. 223, p. 2, 2019.

KADER, A. A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. **Food Technology**, v. 40, n. 5, p. 99–100 & 102–104, 1986.

KADER, A. A. et al. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, n. 1, p. 1–30, jan. 1989.

KADER, A. A. A perspective on postharvest horticulture (1978–2003). **HortScience**, v. 38, n. 5, p. 1004–1008, 2003.

KADER, A. A. Flavor quality of fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 11, p. 1863–1868, 30 ago. 2008.

KADER, A. A. Postharvest Technology of Horticultural Crops - An Overview from Farm to Fork. **Journal of Applied Sciences and Technology**, v. 1, 2013.

KADER, A. A.; WATKINS, C. B. Modified atmosphere packaging - toward 2000 and beyond. **HortTechnology**, v. 10, n. 3, p. 483–486, 2000.

KANIUGA, Z. Chilling response of plants: importance of galactolipase, free gorduroso acids and free radicals\*. **Plant Biology**, v. 10, n. 2, p. 171–184, 1 mar. 2008.

KATO-NOGUCHI, H.; WATADA, A. E. Regulation of glycolytic metabolism in fresh-cut carrots under low oxygen atmosphere. **J. AMER. SOC. HORT. SCI**, v. 121, n. 1, p. 123–126, 1996.

KE DANGYANG; ZHOU, L.; KADER, A. A. Mode of oxygen and carbon dioxide action on strawberry ester

- biosynthesis. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 119, n. 5, p. 971–975, 1 set. 1994.
- KERBEL, E. L.; KADER, A. A.; ROMANI, R. J. Effects of elevated CO<sub>2</sub> concentrations on glycolysis in intact 'Bartlett' pear fruit. **Plant Physiology**, v. 86, n. 4, p. 1205–1209, 1 abr. 1988.
- KNEE, MICHAEL. **Fruit quality and its biological basis**. 1. ed. Columbus: Sheffield Academic Press, 2002.
- KRIS-ETHERTON, P. M. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American Journal of Medicine**, v. 113, n. 9, p. 71–88, 30 dez. 2002.
- KUBO, Y.; INABA, A.; NAKAMURA, R. Respiration and C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> production in various harvested crops held in CO<sub>2</sub>-enriched atmospheres. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, n. 6, 1990.
- LAKAKUL, R.; BEAUDRY, R. M.; HERNANDEZ, R. J. Modeling respiration of apple slices in modified-atmosphere packages. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1, p. 105–110, jan. 1999.
- LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an Illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v. 49, n. 4, p. 508, 1997.
- LARRIGAUDIÈRE, C. et al. Short-term effects of air and controlled atmosphere storage on antioxidant metabolism in conference pears. **Journal of Plant Physiology**, v. 158, n. 8, p. 1015–1022, 1 jan. 2001.
- LARSEN, M.; WATKINS, C. B. Firmness and concentrations of acetAldeído, ethyl acetate and ethanol in strawberries stored in controlled and modified atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, v. 5, n. 1–2, p. 39–50, 1 jan. 1995.
- LAU, O. L. Effect of growing season, harvest maturity, waxing, low O<sub>2</sub> and elevated CO<sub>2</sub> on flesh browning disorders in 'Braeburn' apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 14, n. 2, p. 131–141, 1 out. 1998.
- LEAO, M. M. et al. The potencial of *Campomanesia phaea* O. Berg Landrum (Cambuci) as natural source of vitamin C. **Athens Journal of Sciences**, v. 4, n. 1, p. 37–45, 2017.
- LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, n. 3, p. 207–220, 2000.
- LIAMNIMITR, N. et al. Optimization of bulk modified atmosphere packaging for long-term storage of "Fuyu" persimmon fruit. **Postharvest Biology and Technology journal**, v. 135, p. 1–7, 2018.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 1. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1992.
- LURIE, S.; CRISOSTO, C. H. Chilling injury in peach and nectarine. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, n. 3, 2005.
- MACLEOD, A. J.; PIERIS, N. M. Comparison of the volatile components of some mango cultivars. **Phytochemistry**, v. 23, n. 2, p. 361–366, 1 jan. 1984.
- MANGARAJ, S. et al. Design and development of modified atmosphere packaging system for *guava* (cv. Baraipur). **Journal of food science and technology**, v. 51, n. 11, p. 2925–46, nov. 2014.
- MANGARAJ, S.; K. GOSWAMI, T.; MAHAJAN, P. V. Development and validation of a comprehensive model for map of fruits based on enzyme kinetics theory and arrhenius relation. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 7, p. 4286–4295, 2 jul. 2015.
- MATHOOKO, F. M. Regulation of respiratory metabolism in fruits and vegetables by carbon dioxide. **Postharvest Biology and Technology**, v. 9, n. 3, p. 247–264, 1996.
- MATSUO, T.; ITOO, S. A model experiment for de-astringency of Persimmon fruit with high carbon dioxide treatment: in vitro gelation of kaki-tannin by reacting with acetAldeído. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 46, n. 3, p. 683–689, 2014.

- MAUL, F. et al. Tomato flavor and aroma quality as affected by storage temperature. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 7, p. 1228–1237, 1 out. 2000.
- MCGARVEY, D. J.; CROTEAU, R. Terpenoid metabolism. **The Plant Cell**, v. 7, p. 1015–1026, 1995.
- MDITSHWA, A.; FAWOLE, O. A.; OPARA, U. L. Recent developments on dynamic controlled atmosphere storage of apples—A review. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 59–68, 1 jun. 2018.
- MEENTS, A. K.; MITHÖFER, A. Plant–plant communication: is there a role for volatile damage-associated molecular patterns? **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1538, 15 out. 2020.
- MINGUEZ-MOSQUERA, M. I.; FERNANDEZ, J.; GANDUL-ROJAS, B. Pigment changes in olives during fermentation and brine storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, n. 1, p. 8–11, 1 jan. 2002.
- MUNOZ, M. T.; ESCRIBANO, M. I.; MERODIO, C. Ethanolic metabolism in cherimoya fruit during storage at ambient and under high CO<sub>2</sub> atmospheres. **Journal of Horticultural Science**, v. 72, n. 3, 1997.
- MURRAY, R. et al. Combined pre-storage heat treatment and controlled atmosphere storage reduced internal breakdown of ‘Flavorcrest’ peach. **Postharvest Biology and Technology**, v. 44, n. 2, p. 116–121, 1 maio 2007.
- MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853–858, 24 fev. 2000.
- ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1151–1158, 1 jan. 2007.
- PALIYATH, G. et al. **Postharvest biology and technology of fruits, vegetables, and flowers**. 1. ed. Ames: WILEY, 2008.
- PANDIT, S. S. et al. Cultivar relationships in mango based on fruit volatile profiles. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 363–372, 1 maio 2009.
- PARK, M.-H.; SANGWANANGKUL, P.; CHOI, J.-W. Reduced chilling injury and delayed fruit ripening in tomatoes with modified atmosphere and humidity packaging. **Scientia Horticulturae**, v. 231, p. 66–72, 27 jan. 2018.
- PASTERNAK, T. et al. Complementary interactions between oxidative stress and auxins control plant growth responses at plant, organ, and cellular level. **Journal of Experimental Botany**, v. 1, n. 418, p. 8–12, 1 ago. 2011.
- PAUL, V.; PANDEY, R. Role of internal atmosphere on fruit ripening and storability - A review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 7, p. 1223–1250, 2014a.
- PAUL, V.; PANDEY, R. Role of internal atmosphere on fruit ripening and storability - A review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 7, p. 1223–1250, 2014b.
- PENG, H. P. et al. Signaling events in the hypoxic induction of Álcool dehydrogenase gene in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 126, n. 2, 2001.
- PEPPELENBOS, H. W.; VAN’T LEVEN, J. Evaluation of four types of inhibition for modelling the influence of carbon dioxide on oxygen consumption of fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 7, n. 1–2, p. 27–40, 1 jan. 1996.
- PÉREZ, A. G. et al. Evolution of Strawberry Álcool Acyltransferase Activity during Fruit Development and Storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 10, p. 3286–3290, 1996.
- PESIS, E. et al. Modified atmosphere and modified humidity packaging alleviates chilling injury symptoms in mango fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 19, n. 1, p. 93–101, 1 maio 2000.
- PESIS, E. The role of the anaerobic metabolites, acetAldeído and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, n. 1, p. 1–19, jul. 2005a.
- PESIS, E. The role of the anaerobic metabolites, acetAldeído and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit

- quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, n. 1, p. 1–19, 1 jul. 2005b.
- PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: Perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, n. 3, p. 237–243, 1 jun. 2002.
- PIERIK, R.; BALLARÉ, C. L.; DICKE, M. Ecology of plant volatiles: taking a plant community perspective. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, n. 8, p. 1845–1853, 1 ago. 2014.
- PINTÓ, E. et al. Role of fermentative and antioxidant metabolisms in the induction of core browning in controlled-atmosphere stored pears. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 81, p. 364–370, 2001.
- RUFINO, M. DO S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.
- SALTVEIT, M. E. Respiratory metabolism. **Postharvest Ripening Physiology of Crops**, n. 1, p. 139–156, 2016.
- SALTVEIT, M. E. Respiratory Metabolism. **Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables**, p. 73–91, 1 jan. 2019.
- SANZ, C.; OLÍAS, R.; PÉREZ, A. G. Effect of modified atmosphere on Álcool acyltransferase activity and volatile composition of strawberry. **Acta Horticulturae**, v. 600, p. 563–566, 10 mar. 2003.
- SCALBERT, A. et al. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 4, p. 287–306, jun. 2005.
- SEIFRIED, H. E. et al. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 18, n. 9, p. 567–579, set. 2007.
- SELCUK, N.; ERKAN, M. The effects of modified and palliflex controlled atmosphere storage on postharvest quality and composition of ‘Istanbul’ medlar fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 99, p. 9–19, 1 jan. 2015.
- SHAN, W. et al. Antisense suppression of Álcool acetyltransferase gene in ripening melon fruit alters volatile composition. **Scientia Horticulturae**, v. 139, p. 96–101, 18 maio 2012.
- SHI, F. et al. Low-temperature stress-induced aroma loss by regulating gorduroso acid metabolism pathway in ‘Nanguo’ pear. **Food Chemistry**, v. 297, 2019.
- SHIMADA, T. et al. Isolation and characterization of (E)-beta-ocimene and 1,8 cineole synthases in Cítrico unshiu Marc. **Plant Science**, v. 168, n. 4, p. 987–995, 1 abr. 2005.
- SIMON, J. E. et al. Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of doce basil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 4, n. 1, p. 71–75, 2011.
- SPRICIGO, P. C. et al. Classical food quality attributes and the metabolic profile of cambuci, a native brazilian Atlantic Rainforest fruit. **Molecules** 2021, Vol. 26, Page 3613, v. 26, n. 12, p. 3613, 12 jun. 2021.
- SUN, B.; SILVA, J. M. R.; SPRANGER, I. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4267–4274, 1998.
- SUO, J. et al. Characteristics of chilling injury-induced lignification in kiwifruit with different sensitivities to low temperatures. **Postharvest Biology and Technology**, v. 135, 2018.
- SUZUKI, Y. et al. Ultrastructural evidence for the inhibition of chloroplast-to-chromoplast conversion in broccoli floret sepals by ethanol vapor. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, n. 3, p. 237–243, 1 mar. 2005.
- TALASILA, P. C.; CHAU, K. V.; BRECHT, J. K. Effects of gas concentrations and temperature on O<sub>2</sub> consumption of strawberries. **Transactions of the ASAE**, v. 35, n. 1, p. 221–224, jan. 1992.
- THOMPSON, A. K. **Controlled atmosphere storage of fruits and vegetables**. 2. ed. Wallingford: CABI, 2010.
- THOMPSON, A. K.; BISHOP, D. Controlled atmosphere technology. In: **Reference Module in Food Science**. [s.l.] Elsevier, 2016.

- TOKAIRIN, T. DE O. **Caracterização e conservação pós-colheita de cambuci, fruto nativo da Mata Atlântica.** [s.l.] Universidade de São Paulo, 2017.
- TOKAIRIN, T. DE O. et al. Cambuci: a native fruit from the Brazilian Atlantic forest showed nutraceutical characteristics. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 5, out. 2018.
- VALLILO, M. I. et al. Características físicas e químicas dos frutos do cambucizeiro (*Campomanesia phaea*). **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal**, v. 27, n. 011, p. 241–244, 2005a.
- VALLILO, M. I. et al. Características físicas e químicas dos frutos do cambucizeiro (*Campomanesia phaea*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 2, p. 241–244, 2005b.
- VICKERS, C. E. et al. A unified mechanism of action for volatile isoprenoids in plant abiotic stress. **Nature Chemical Biology** 2009 5:5, v. 5, n. 5, p. 283–291, 17 abr. 2009.
- VOLZ, R. K. et al. Prediction of controlled atmosphere-induced flesh browning in ‘Fuji’ apple. **Postharvest Biology and Technology**, v. 13, n. 2, p. 97–107, 1 abr. 1998.
- WANG, C. T. et al. Effect of modified atmosphere packaging (MAP) with low and superatmospheric oxygen on the quality and antioxidant enzyme system of golden needle mushrooms (*Flammulina velutipes*) during postharvest storage. **European Food Research and Technology**, v. 232, n. 5, p. 851–860, 2 maio 2011.
- WANKIER, B. N.; SALUNKHE, D. K.; CAMPBELL, W. F. Effects of controlled atmosphere storage on biochemical changes in apricot and peach fruit. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v. 95, p. 604–9, 1970.
- WATKINS, C. B.; LIU, F. W. Temperature and carbon dioxide interactions on quality of controlled atmosphere-stored “Empire” apples. **HortScience**, v. 45, n. 11, 2010.
- WATKINS, C. B.; SILSBY, K. J.; GOFFINET, M. C. Controlled atmosphere and antioxidant effects on external CO<sub>2</sub> injury of ‘Empire’ apples. **HortScience**, v. 32, n. 7, p. 1242–1246, 1 dez. 1997.
- WISE, R. R.; NAYLOR, A. W.; GOODWIN AVE, S. Chilling-enhanced photooxidation the peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure. **Plant Physiology**, v. 83, n. 2, p. 272–277, 1 fev. 1987.
- YAHIA, E. M. Modified and controlled atmospheres for tropical fruits. **Horticultural Reviews**, p. 123–183, 26 jul. 2010.
- ZHANG, Y. et al. Comprehensive insight into the chlorophyll degradation mechanism of postharvest broccoli heads under elevated O<sub>2</sub> controlled atmosphere. **Scientia Horticulturae**, v. 288, p. 110395, 15 out. 2021.

