

**KARINA SOARDI**

**QUALIDADE DE MAÇÃS 'CRIPPS PINK' ARMAZENADAS EM ATMOSFERA CONTROLADA EM FUNÇÃO DO 1-MCP, VAPOR DE ETANOL E ÓXIDO NÍTRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano André Steffens

**Lages, SC  
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

SOARDI, KARINA  
QUALIDADE DE MAÇÃS 'CRIPPS PINK'  
ARMAZENADAS EM ATMOSFERA CONTROLADA EM  
FUNÇÃO DO 1-MCP, VAPOR DE ETANOL E ÓXIDO  
NÍTRICO / KARINA SOARDI. -- 2019.  
99 p.

Orientador: Cristiano André Steffens  
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de  
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,  
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages,  
2019.

1. Malus domestica. 2. Armazenamento. 3. Qualidade  
pós-colheita. I. Steffens, Cristiano André. II. Universidade do  
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção  
Vegetal. III. Título.

**KARINA SOARDI**

**QUALIDADE DE MAÇÃS 'CRIPPS PINK' ARMAZENADAS EM ATMOSFERA CONTROLADA EM FUNÇÃO DO 1-MCP, VAPOR DE ETANOL E ÓXIDO NÍTRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

**Banca Examinadora**

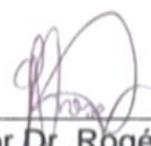
Orientador: \_\_\_\_\_

  
Professor Dr. Cristiano André Steffens  
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages/SC

Membro: \_\_\_\_\_

  
Professor Dr. Cassandro Vidal Talamini do Amarante  
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages/SC

Membro: \_\_\_\_\_

  
Professor Dr. Rogério de Oliveira Anese  
Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC),  
Urupema/SC

**Lages, 31 de julho de 2019**



“Dedico esse trabalho ao meu pai Valdemar, com todo o meu amor e gratidão. Sei que, de algum lugar, ele olha por mim.”



## **Agradecimentos**

Á Deus.

A minha família, em especial aos meus pais, Lourdes e Valdemar, pelo incentivo, apoio, amor e por acreditarem em mim a todo o momento. Ao meu namorado Gustavo, pela compreensão e carinho.

Ao meu orientador, Cristiano André Steffens pela oportunidade, confiança, amizade, dedicação e orientação excelente.

As grandes amigas que fiz durante essa etapa e que guardarei para sempre no coração, Angélica, Juliana, Janaiana, Keli e Adriana, pelo acolhimento, pela amizade verdadeira, por estarem presentes em todos os momentos, por serem minha família Lageana.

Aos professores, funcionários e colegas graduandos e pós-graduandos, especialmente da equipe do laboratório de fisiologia e tecnologia pós-colheita, pelos ensinamentos de qualidade, auxílio na realização de experimentos, suporte, dedicação e paciência na realização das atividades

A empresa Schio, pela concessão dos frutos para realização do projeto.

Ao CAV/UDESC, pela estrutura de materiais e apoio, laboratórios e pela oportunidade de realização do curso.

Ao Programa de Apoio à Pesquisa (PAP) da Universidade do Estado de Santa Catarina e à FAPESC pela concessão de auxílio financeiro à execução deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.



## RESUMO

SOARDI, Karina. **Qualidade de maçãs 'Cripps Pink' armazenadas em atmosfera controlada em função do 1-mcp, vapor de etanol e óxido nítrico**. 2019, 99 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Área de Fisiologia Pós-Colheita) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2019.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de tecnologias complementares à atmosfera controlada (AC) sobre a manutenção da qualidade de maçãs 'Cripps Pink'. Os tratamentos avaliados foram controle, aplicação de 1-MCP ( $1 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 24 horas, aplicação de vapor de etanol ( $6 \text{ mL kg}^{-1}$ ), por 24 horas, e aplicação de óxido nítrico ( $10$  e  $20 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 2 horas. Após a aplicação dos tratamentos, os frutos foram armazenados em atmosfera controlada (AC:  $1,2 \text{ kPa O}_2 + <0,1 \text{ kPa CO}_2$ ) a  $1,5 \pm 0,2$  °C e  $94 \pm 2\%$  de UR por 5 meses. Ao final do armazenamento foram avaliados os atributos cor da epiderme, oleosidade, incidência de escaldadura e podridões e taxas respiratória e de produção de etileno. Após mais sete dias de exposição dos frutos em condições ambiente, os frutos foram avaliados quanto a cor da epiderme, oleosidade, incidência de podridões, escaldadura, polpa farinácea e escurecimento de polpa, firmeza de polpa, taxas respiratória e de produção de etileno, acidez titulável, sólidos solúveis, teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante total (métodos DPPH e ABTS), atividade das enzimas peroxidase e superóxido dismutase e conteúdo de peróxido de hidrogênio. Todos os tratamentos obtiveram menores valores de taxa respiratória em relação ao controle, após sete dias em condição ambiente, e maior atividade antioxidante, pelo método ABTS, na casca. O tratamento com 1-MCP reduziu a taxa de produção de etileno e as incidências de escaldadura, polpa farinácea e podridões, manteve maior firmeza de polpa e apresentou os frutos mais verdes após sete dias em condições ambiente. O tratamento com 1-MCP ainda aumentou a acidez titulável, o teor de sólidos solúveis, o conteúdo de compostos fenólicos na casca, bem como a atividade das enzimas peroxidase e superóxido dismutase na casca, porém sem diferir do controle, e da enzima superóxido dismutase na polpa. O tratamento com vapor de etanol proporcionou frutos com menor incidência de oleosidade, na saída da câmara, e de escurecimento de polpa após sete dias em condições ambiente, bem como maior atividade antioxidante na casca, pelo método DPPH e menor atividade da enzima superóxido dismutase na polpa. O óxido nítrico, em ambas as doses avaliadas, aumentou o conteúdo de peróxido de hidrogênio e a atividade da enzima peroxidase na polpa. No geral, o tratamento com 1-MCP apresentou frutos com melhor qualidade em relação aos frutos dos demais tratamentos utilizados.

**Palavras-chave:** *Malus domestica*. Armazenamento. Qualidade pós-colheita.



## ABSTRACT

SOARDI, Karina. **Quality of 'Cripps Pink' apples stored in controlled atmosphere as a function of 1-MCP, ethanol vapor and nitric oxide.** 2019. 99 f. Master (Dissertation in Vegetable Production – Area: Biology and Post-Harvest) – University of de Santa Catarina State. Graduate Program in Vegetable Production, Lages, 2019.

The objective of the present work was to evaluate the effect of controlled atmosphere (CA) complementary technologies on the quality maintenance of 'Cripps Pink' apples. Treatments evaluated were control, 1-MCP ( $1 \mu\text{L L}^{-1}$ ), ethanol vapor ( $6 \text{ mL kg}^{-1}$ ), and nitric oxide (10 and  $20 \mu\text{L L}^{-1}$ ). After the treatments, the fruits were stored under controlled atmosphere (CA:  $1.2 \text{ kPa O}_2 + <0.1 \text{ kPa CO}_2$ ) at  $1.5 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$  and  $94 \pm 2\%$  RH for 5 months. At the end of storage, the attributes skin color, greasiness, superficial scald, rot and respiratory and ethylene production rates were evaluated. After seven days of shelf life, the fruit were evaluated for skin color, greasiness, rot incidence, superficial scald, flesh mealiness and flesh browning, flesh firmness, respiratory and ethylene production rates, titratable acidity, soluble solids, total phenolic compound content, total antioxidant activity (DPPH and ABTS methods), peroxidase and superoxide dismutase enzymes activity and hydrogen peroxide content. All treatments had lower respiratory rate compared to control, after seven days of shelf life, and higher antioxidant activity by the ABTS method in the skin. 1-MCP treatment reduced the ethylene production rate and the superficial scald, mealiness and rot incidence, maintained greater flesh firmness and presented the greenest fruits after seven days of shelf life. 1-MCP treatment further increased titratable acidity, soluble solids content, phenolic content in the skin, as well as the peroxidase and superoxide dismutase enzymes activities in the skin, but without differing from the control, and the superoxide dismutase enzyme activity. in the pulp. The treatment with ethanol vapor provided fruits with lower incidence of greasiness, at chamber opening, and flesh browning, after shelf life, as well as higher antioxidant activity in the skin (DPPH method) and lower superoxide dismutase enzyme activity, in the pulp. Nitric oxide, at both doses evaluated, increased the hydrogen peroxide content and the peroxidase enzyme activity in the pulp. In general, the 1-MCP treatment showed fruits with better quality compared to the fruits of the other treatments applied.

**Keywords:** *Malus domestica*. Storage. Postharvest quality.



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Taxas de produção de etileno ( $\text{pmol C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) e respiratória ( $\text{nmol de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) e cor da casca na região menos vermelha ( $h^p$ ) em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).....50
- Tabela 2 – Incidência (%) de escaldadura, índice de oleosidade (1 a 4) e incidência (%) de podridão em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).....53
- Tabela 3 – Incidência (%) de polpa farinácea e escurecimento de polpa e firmeza de polpa (N) em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).....56
- Tabela 4 – Acidez titulável (AT; %), sólidos solúveis (SS; %) e relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT) em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).....59
- Tabela 5 – Conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT;  $\text{mg EAG.100 g}^{-1}$  de massa fresca) e atividade antioxidante total (AAT; quantificada pelos métodos DPPH e ABTS, expressa em  $\mu\text{Mol de equivalente Trolox.g}^{-1}$  de massa fresca), em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).....61
- Tabela 6 – Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD;  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$ ) e peroxidase (POD;  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$ ) em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante

5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).....64

Tabela 7 – Teor de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ;  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).....67

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

(h°)	Ângulo <i>hue</i>
°C	Graus celsius
µL	Microlitro
µMol	Micromol
1-MCP	1-Metilciclopropeno
AAT	Atividade antioxidante total
ABPM	Associação Brasileira de Produtores de Maçã
ABTS	2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico
AC	Atmosfera controlada
ACC	Ácido-1-carboxílico-1-aminociclopropano
ACD	Atmosfera controlada dinâmica
APX	Ascorbato peroxidase
AT	Acidez titulável
AVG	Aminoetoxivinilglicina
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	Etileno
CAT	Catalase
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
CTF	Compostos fenólicos totais
DPPH	2,2-difenil-1-picril hidrazil
EDTA	Etilenodiaminotetracético
EP	Escurecimento de polpa
Fe (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Sulfato de amônio ferroso
g	Gramas
GR	Glutathione redutase
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ILOS	Estresse inicial por baixo oxigênio
IPLA	International Pink Lady Alliance
kg	Quilograma
KPa	Quilopascal
L	Litro
m	Metro

MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MDA	Aldeído malônico
mg	Miligrama
Min	Minuto
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mm	Milímetro
N	Newton
NaOH	Hidróxido de sódio
Nm	Nanômetro
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NR	Nitrato redutase
O <sup>-</sup>	Ânion superóxido
O <sub>2</sub>	Oxigênio
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ânion superóxido
°Brix	Grau Brix
OH <sup>-</sup>	Radicais hidroxil
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
PAL	Fenilalanina amônia liase
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfônico
POD	Peroxidase
ppm	Parte por milhão
EROs	Espécies reativas de oxigênio
rpm	Rotação por minuto
SNP	Nitroprussiato de sódio
SOD	Superóxido dismutase
SS	Sólidos solúveis
STS	Tiosulfato de prata
UR	Umidade relativa
USDA	United States Department of Agriculture
v/v	Volume por volume
ηmol	Nanomol

$\mu\text{Mol}$

Micromol



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>25</b>
2.1	A CULTURA DA MAÇÃ.....	25
2.2	'CRIPPS PINK' .....	26
2.3	ARMAZENAMENTO.....	27
2.4	MATURAÇÃO E AMADURECIMENTO DOS FRUTOS .....	31
2.5	ETILENO .....	31
2.6	1-MCP .....	33
2.7	ETANOL.....	36
2.8	ÓXIDO NÍTRICO .....	38
<b>3</b>	<b>MATERIAL E METÓDOS</b> .....	<b>41</b>
3.1	ATRIBUTOS DE QUALIDADE .....	42
3.2	COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (AAT).....	44
<b>3.2.1</b>	<b>Preparação das amostras</b> .....	<b>44</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Obtenção dos extratos para quantificação de CFT e AAT</b> .....	<b>44</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Determinação do conteúdo de CFT na casca e na polpa</b> .....	<b>45</b>
<b>3.2.4</b>	<b>Determinação da AAT na casca e na polpa</b> .....	<b>45</b>
3.3	ATIVIDADE ENZIMÁTICA: PEROXIDASE (POD) E SUPEROXIDO DISMUTASE (SOD).....	46
3.4	PEROXIDO DE HIDRIGÊNIO (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	47
3.5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	47
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>49</b>
4.1	ATRIBUTOS DE QUALIDADE .....	49
4.2	COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (AAT).....	60
4.3	ATIVIDADE ENZIMÁTICA E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	63

<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>69</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>73</b>
	<b>ANEXO A – MINICÂMARAS PARA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS .....</b>	<b>93</b>
	<b>ANEXO B – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS NA SAÍDA DA CÂMARA .....</b>	<b>95</b>
	<b>ANEXO C – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS APÓS 7 DIAS EM CONDIÇÕES AMBIENTE.....</b>	<b>97</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A maçã (*Malus domestica* Borkh.) é o fruto de clima temperado de maior dispersão, comercialização e consumo como fruta fresca no mundo, sendo a quarta frutífera mais produzida, perdendo somente para citros, uva e banana (FURLAN et al., 2010). Atualmente, é uma das principais espécies frutíferas cultivadas no país, apresentando importante papel social e econômico. O agronegócio da maçã se localiza na região Sul, envolvendo seus três estados, notadamente nas regiões mais frias dos mesmos, destacando-se a região de Vacaria, no Rio Grande do Sul, São Joaquim e Fraiburgo, em Santa Catarina, e de Palmas, no Paraná (PETRI et al., 2011).

O aumento da exigência na qualidade, somado à concentrada produção de maçã em um curto período do ano, faz necessário o uso do armazenamento para fornecer ao mercado consumidor um produto de qualidade por um maior período de tempo. Um fator importante é a temperatura de armazenamento que exerce importante papel na conservação das qualidades físicas e químicas dos frutos e na prevenção ou na diminuição da incidência de doenças e distúrbios fisiológicos. O abaixamento da temperatura reduz os processos metabólicos, principalmente a respiração dos frutos, retardando o amadurecimento (KADER, 1986), resultando em maior período de conservação (LYONS, 1975).

Comercialmente, a forma mais utilizada para o armazenamento de maçãs é a atmosfera controlada (AC). Este sistema de armazenagem objetiva um longo período de armazenamento dos frutos por meio da redução das pressões parciais de oxigênio ( $O_2$ ) e/ou aumento das pressões parciais de gás carbônico ( $CO_2$ ), além da redução da temperatura e manutenção de uma alta (> 90%) umidade relativa (UR) nas câmaras de armazenamento (BRACKMANN et al., 2005), afim de reduzir o metabolismo e prolongar a vida pós- colheita dos frutos. No Brasil é comum estender a prática de armazenamento de maçãs sob AC em até 8 ou 9 meses (BRACKMANN et al., 2013; WEBER et al., 2013), com o intuito de ofertar o produto durante o período de entressafra.

Os baixos níveis de  $O_2$  durante o armazenamento reduzem a respiração e síntese de etileno, retardando a maturação dos frutos e, conseqüentemente, a senescência (WRIGHT et al., 2015). A redução da atividade de várias oxidases, como a citocromo c oxidase, a polifenoloxidase e ácido ascórbico oxidase, em função do baixo  $O_2$ , favorece a redução da atividade respiratória dos frutos (WRIGHT et al.,

2015). Todavia, mesmo assim, no armazenamento em AC perdas consideráveis podem ocorrer. Desta forma, o uso de tecnologias complementares, que reduzem a síntese e/ou a ação do etileno e que promovam outras alterações fisiológicas que beneficiem os frutos durante o armazenamento em AC, podem melhorar a manutenção da qualidade de maçãs armazenadas.

A utilização de tecnologias comerciais para aumentar a durabilidade e manutenção da qualidade dos frutos são fundamentais, sobretudo, na minimização dos efeitos deletérios causados pela exposição ao etileno desde a maturação até o momento da chegada ao consumidor (WATKINS, 2002).

Sendo comumente utilizado por empresas armazenadoras de maçãs por apresentar grandes benefícios, o 1-MCP tem como principal objetivo prolongar o tempo de armazenamento e vida de prateleira das frutas (WATKINS, 2006). Existem vários trabalhos na literatura reportando os benefícios da aplicação de 1-MCP nos vários parâmetros ligados ao avanço do amadurecimento e, conseqüentemente, senescência dos frutos (WATKINS, 2006). O tratamento pós-colheita com 1-MCP reduz a produção de etileno e a respiração (AKBUDAK et al., 2009), retarda a perda de firmeza de polpa, da acidez titulável e dos sólidos solúveis (AKBUDAK et al., 2009), reduz a ocorrência de escaldadura superficial (WHATKINS, 2008) e o escurecimento interno de polpa (WHATKINS, 2006). Além disso, o 1-MCP pode reduzir a incidência de podridões pós-colheita (SAFTNER et al., 2003).

A inibição da ação do etileno pelo uso do 1-MCP, traz benefícios importantíssimos como redução da respiração, que se em taxas elevadas, desencadeia uma série de eventos ligados ao amadurecimento, reduzindo o período de vida de prateleira do fruto. Assim, a aplicação de 1-MCP proporcionou menor perda de firmeza em maçãs 'Gala', 'Granny Smith', 'Golden Delicious', 'Braeburn' (MARIN et al., 2009; MOGGIA et al., 2010; ZANELLA, 2015), menor taxa respiratória e manutenção de ácidos (ARGENTA et al., 2010), além de menor produção de etileno e redução do desenvolvimento de distúrbios fisiológicos, como a escaldadura superficial (WATKINS, 2012; LU et al., 2012). Entretanto, o armazenamento em AC por um período prolongado proporciona risco de ocorrência de distúrbios fisiológicos, como o desenvolvimento de escurecimento de polpa (BRACKMANN et al., 2002). Dessa forma, os efeitos do 1-MCP em maçãs dependem da cultivar e da condição de armazenamento (WATKINS et al., 2000; AKBUDAK et al., 2009), bem como da interação entre concentração do produto e estágio de maturação do fruto (ARGENTA

et al., 2005). Menores benefícios do 1-MCP são observados em maçãs colhidas em estágio avançado de maturação (ARGENTA et al., 2005) ou tratadas depois de decorrido certo tempo de armazenamento refrigerado (ARGENTA et al., 2005; WATKINS, 2008). A menor eficiência do 1-MCP nestas condições é resultado do maior acúmulo de transcritos dos genes das rotas de biossíntese de etileno e de  $\alpha$ -farneseno (PECHOUS et al., 2005; TSANTILI et al., 2007). Recentemente, tem-se investigado produtos alternativos ao uso do 1-MCP, como o etanol, que se trata de um produto da fermentação produzido pelo próprio fruto (WEBER et al., 2015).

O etanol também é capaz de retardar a senescência, devido a inibição da produção de etileno em plantas (PESIS, 2005). O tratamento com vapor de etanol, suprime a indução da expressão de genes de resposta ao etileno, o que sugere que o etanol suprime a resposta de etileno ao nível molecular. O tratamento com etanol reduziu o acúmulo de ACC e inibiu a atividade da ACC oxidase (WU et al., 1992). A atividade de ACC sintase e ACC oxidase são inibidos por etanol, devido à supressão no nível de transcrição (ASODA et al., 2009). Tratamentos com vapor de etanol suprimiram a expressão de CM-ACO1, CM-ACO2, CM-ACO3 e CM-ACS1, CM-ACS2 e CM-ACS3 em melões durante o armazenamento (JIN et al., 2013). Liu et al. (2012) verificaram que a aplicação pós-colheita de etanol pode reduzir a concentração interna de etileno e retardar a senescência de melões, além de melhorar os níveis de compostos aromáticos voláteis, especialmente os ésteres etílicos. Adicionalmente, tem sido sugerido que o etanol pode regular o sistema antioxidante, e aumentar a atividade das enzimas peroxidase, catalase e superóxido dismutase durante o armazenamento (HAN et al., 2006). Bai et al. (2004), fazendo o uso do vapor de etanol em maçãs na concentração de 5mL/kg de fruto e expostos por 24 horas a temperatura ambiente obtiveram a redução de 20% da produção de etileno em relação aos frutos controle. No entanto, em maçãs 'Royal Gala' a aplicação de 0,5 mL de etanol kg<sup>-1</sup> de fruto mês<sup>-1</sup> resultou em dano ao tecido e conseqüentemente aumento na produção de etileno e CO<sub>2</sub> (WEBER, 2015). Em pequenas quantidades estes metabólitos apresentam um efeito benéfico nos frutos, enquanto em grandes quantidades apresentam efeitos negativos como o desenvolvimento de *off-flavours* (PESIS, 2005). Além do etanol, outra substância alternativa ao uso do 1-MCP é o óxido nítrico, de particular interesse por inibir a atividade da ACC sintase, que reduz concomitantemente o conteúdo de ACC (ZHU e ZHOU, 2007).

O óxido nítrico (NO) exerce, possivelmente, o papel de proteção da célula contra o estresse oxidativo (YIN et al., 2012). Adicionalmente, o mecanismo pelo qual o NO pode retardar a senescência pode ser também relacionado com a capacidade dessa molécula de interromper as reações em cadeia que levam a peroxidação lipídica, e a modificação da atividade de proteínas (PROCHÁZKOVA, 2011).

A capacidade do NO em exercer a função de proteção da célula contra o estresse oxidativo está relacionada aos fatores como a reação com radicais lipídicos, a eliminação do ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e de peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), que são tóxicos para as plantas, e a ativação de enzimas do sistema antioxidativo, como dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD) (HAYAT et al., 2010). Tais enzimas são ativadas durante a fase de senescência para reduzir as EROs, como ânion superóxido, radicais hidroxil ( $OH^{\cdot}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), naturalmente formadas, e que podem causar danos e morte celular (FERRANTE, 2006). Adicionalmente o NO também inibe a expressão de genes envolvidos na rota biossintética do etileno (MANJUNATHA et al., 2012).

Devido ao conhecimento de trabalhos que apresentaram resultados positivos referente ao uso de etanol (ANAMI, et al., 2017; WEBER et al., 2019; SHOETHE et al., 2017) e do óxido nítrico (HENDGES et al., 2016; ARORA, 2008) com diferentes doses e períodos de exposição dos frutos, optou-se pelas doses e períodos utilizados no presente trabalho com o intuito de se chegar o mais próximo possível de doses ideais para ambas as substâncias, a fim de que as mesmas levem a resultados onde os frutos mantenham sua qualidade durante o período de armazenamento.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de tecnologias complementares (1-MCP, vapor de etanol e óxido nítrico) à atmosfera controlada (AC), visando a manutenção da qualidade de maçãs 'Cripps Pink' após 5 meses de armazenamento.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A CULTURA DA MAÇÃ

A fruticultura está presente em todos os estados brasileiros. O Brasil está entre os maiores produtores mundiais de frutas, destacando-se principalmente na produção de banana, maçã, uva, melão, manga, abacate e abacaxi, cujo volume produzido destina-se, quase em sua maioria, para o consumo interno (LACERDA et al., 2004).

Nos últimos quatro anos, a produção brasileira de maçãs variou de aproximadamente um milhão a um milhão e duzentas mil toneladas (ARGENTA et al., 2015), envolvendo mais de 3000 produtores nesta atividade e gerando em torno de 150 mil empregos diretos e indiretos (PETRI et al., 2011). O destino das maçãs produzidas no Brasil nos últimos anos tem sido o consumo *in natura* interno (67,6%), consumo *in natura* externo (7%) e industrialização para produção de suco e outros alimentos (25,4%) (ARGENTA et al., 2015).

Atualmente a macieira é, uma das principais espécies frutíferas cultivadas no país, apresentando importante papel social e econômico. O agronegócio da maçã se localiza na região Sul, envolvendo seus três estados, notadamente nas regiões mais frias dos mesmos, destacando-se a região de Vacaria, no Rio Grande do Sul, São Joaquim e Fraiburgo, no Estado de Santa Catarina, e de Palmas, no Estado do Paraná (PETRI et al., 2011).

No Brasil, o cultivo da macieira ocupa uma área superior a 35 mil hectares. O estado de Santa Catarina é o maior produtor do país, com 17.604 ha plantados (IBGE, 2018) e uma produção de 638.351 toneladas (ABPM, 2018). O estado do Rio Grande do Sul é responsável por 46% da área total (IBGE, 2018) e contribui com 577.774 toneladas da produção anual (ABPM, 2018), ficando então em segundo lugar tanto na produção como na área plantada. Estas regiões detêm aproximadamente 95% da produção nacional da fruta, distribuídos em aproximadamente 32.750 hectares, a qual possui grande relevância econômica e social em diversos segmentos e organizações vinculadas aos setores primário, secundário e terciário, sendo responsável pelo emprego de grande quantidade de mão-de-obra (USDA, 2011).

‘Gala’ e a ‘Fuji’ são as principais cultivares de maçãs produzidas no Brasil, e representam em torno de 60% e 30% da produção, respectivamente (PETRI et al., 2011). Ambas são cultivares internacionalmente bem-conceituadas, que abastecem o

mercado interno com elevado padrão de qualidade e, ao mesmo tempo, possibilitam a exportação de uma parcela significativa da produção (FIORAVANÇO et al., 2011). Esta escolha é resultado da aceitação do mercado e dos consumidores pela coloração e o sabor, bem como o potencial de conservação apresentado por ambas.

Embora não seja tão relevante quanto as cultivares Gala e Fuji, a cultivar Cripps Pink, que pode ser comercializada como 'Pink Lady<sup>®</sup>', onde o Clube Pink Lady<sup>®</sup> é regido pela "International Pink Lady Alliance" (IPLA), vem ganhando espaço e aumentando sua produção, o que significa vantagens importantes para o setor.

Na safra 2017/2018 a produção de maçãs 'Cripps Pink' atingiu a marca de 16.563 toneladas, sendo cultivada em cinco cidades dos Campos de Cima da Serra, no Rio Grande do Sul (AGAPOMI, 2018).

Segundo Fioravanzo et al. (2011), observando quatro safras (de 2007/2008 a 2010/2011), a produtividade da 'Cripps Pink' foi superior ou semelhante à das cultivares Gala e Fuji, na maioria das avaliações realizadas, quando utilizado o porta-enxerto M-9. Além disso, apresentou uma evolução constante da produtividade de uma safra para outra, não se verificando, alternância de produção nessa porta-enxerto.

## 2.2 'CRIPPS PINK'

A cultivar Cripps Pink foi desenvolvida na década de 70, a partir do cruzamento das cultivares Golden Delicious e Lady Williams, em 1973, por John Cripps, na estação de Pesquisa de Stoneville, Austrália (IPLA, 2011). Buscando-se a combinação da boa firmeza de polpa, bom potencial de armazenamento e baixa suscetibilidade ao "bitter pit" da cultivar Lady Williams, com a boa qualidade organoléptica e baixa ocorrência de escaldadura da cultivar Golden Delicious (KELLERHALS; RAPILLARD, 2002). Somente entre 1994 e 1995 iniciaram-se os cultivos comerciais em diversos países, como Austrália, França, Itália, Áustria, Suíça e Brasil, dentre outros.

A janela de colheita de maçãs no sul do Brasil se concentra basicamente no final de janeiro (colheita da 'Gala') e meados de abril (colheita da 'Fuji'). No início de maio inicia-se a colheita das cultivares bem tardias, como 'Cripps Pink' e 'Granny Smith' (EPAGRI, 2015).

Mundialmente, a maçã 'Pink Lady®' é produzida e comercializada em um sistema de clube, no qual a fruta que atinge determinado padrão de qualidade é comercializada sob a marca. Os frutos da 'Pink Lady®' são muito atrativos, de coloração rosa-avermelhada, uniforme (sem estrias) e sobre fundo verde-amarelado. Geralmente, a cor de superfície recobre a maior parte do fruto, mas não completamente. A epiderme do fruto da 'Pink Lady®' é fina, lisa, com lenticelas pouco evidentes. A polpa é branca, consistente, crocante, com suculência e aroma acentuados (FIORAVANÇO et al., 2011). Apresenta maior acidez que 'Gala' e 'Fuji' e teor de sólidos solúveis (SS) intermediário ao dessas cultivares.

O sabor é moderadamente ácido (FIORAVANÇO et al., 2011), com frutos de tamanho médio a grande (70 a 75 mm de diâmetro) e formato oblongo-cônico (CRIPPS et al., 1993). Ocasionalmente, na cavidade peduncular pode haver um *russeting* leve de 2 a 3 cm (CRIPPS et al., 1993). A epiderme do fruto se torna oleosa com o avanço do amadurecimento. Segundo a International Pink Lady Alliance (IPLA), a especificação internacional de qualidade 'Pink Lady®' é focada na qualidade do fruto, em termos de SS e firmeza de polpa, e atributos de cor que, juntamente com seu sabor único, definem a característica da maçã da marca 'Pink Lady®'. A especificação de qualidade deve ser atingida e é inflexível. Os fornecedores / exportadores / importadores devem apenas enviar e vender frutas que atendam às especificações: firmeza - média de 64 N, teor de SS com média de 13° Brix, cor da epiderme com pelo menos 40% da superfície recoberta de cor com tonalidade rosa-avermelhada, uniforme (sem estrias) e sobre fundo verde-amarelado. Geralmente, a cor de superfície recobre a maior parte do fruto, mas não completamente. As frutas que não atingem este padrão mínimo de qualidade não podem ser comercializadas como 'Pink Lady®', devendo ser vendidas como 'Cripps Pink' (IPLA, 2011). No Brasil, a 'Cripps Pink' foi registrada em 1999 no Registro Nacional de Cultivares, do MAPA.

### 2.3 ARMAZENAMENTO

Produtos agrícolas perecíveis, a exemplo das frutas tropicais, têm sua vida útil reduzida quando comparados aos duráveis (grãos e cereais), por apresentarem elevado teor de umidade, textura macia, facilmente danificáveis e altas taxas respiratórias e de produção de calor. Essas características geram desvantagens quanto ao seu manuseio após a colheita, resultando em perdas decorrentes da falta

de comercialização ou de consumo do produto em tempo hábil (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

O aumento da exigência na qualidade, somado à concentrada produção de maçã em um curto período do ano, faz necessário o uso do armazenamento para fornecer ao mercado consumidor um produto de qualidade por um maior período (KADER, 1986).

O manejo pós-colheita é influenciado por diversos fatores, dentre eles a cultivar, o estágio de maturação na colheita e as condições de armazenagem. O estágio de maturação de maçãs, no momento da colheita, é de fundamental importância para obtenção de frutos de qualidade (SUGAR; BASILE, 2013).

A colheita antes da maturação adequada pode resultar em frutos de baixa qualidade após o armazenamento devido à falta de sabor e aroma, bem como pelo surgimento de distúrbios fisiológicos (YUAN; CARBAUGH, 2007). Quando colhidos tardiamente, devido ao desencadeamento de alguns processos fisiológicos, pode haver redução do período de conservação, maior incidência de pingo-de-mel (BRACKMANN et al., 2004). Adicionalmente, maçãs podem ser insípidas, especialmente pelo baixo teor de açúcares e pela baixa produção de compostos aromáticos, quando colhidas precocemente, ou apresentam qualidade sensorial desagradável devido à perda de crocância e de suculência, e relação açúcar/acidez excessivamente alta, quando colhidas tardiamente (LITTLE; HOLMES, 2000; WATKINS et al., 2005), além de maior incidência de escurecimento de polpa (STEFFENS et al., 2005). Para atenuar essas alterações, pode-se diminuir a pressão parcial de O<sub>2</sub> e elevar a de CO<sub>2</sub>, reduzindo o metabolismo e, em consequência, a produção e ação do etileno, contribuindo para a retenção da firmeza de polpa e preservação da acidez total titulável e SS (SISLER; SEREK, 1997).

O armazenamento refrigerado (AR) é o método mais utilizado para manter a qualidade pós-colheita de frutas e hortaliças frescas, por regular as taxas dos processos fisiológicos e bioquímicos associados à senescência (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Fatores como redução da temperatura e controle da umidade relativa são importantes para a conservação de frutas *in natura* (EKMAN et al., 2005; STEFFENS et al., 2007). A maçã é um fruto que possui um bom potencial de armazenamento, podendo ser conservada com segurança de baixos índices de perdas por até três meses em armazenamento refrigerado. Porém, este período não é suficiente para ofertar o produto durante o ano todo (BRACKMANN, 1999). Foi

observado que após um período de três meses em AR ocorrem problemas de ordem fisiológica e sanitária, que depreciam a qualidade dos frutos (BRACKMANN; CERETTA, 1999).

A maçã 'Cripps Pink' apresenta boa capacidade de conservação em armazenamento refrigerado a temperaturas entre 0 e 3 °C, podendo ser armazenada por até quatro meses (JOBILING, 2002). Entretanto, em função de eventuais surgimentos de escurecimento de polpa, quando armazenada a 0 °C, é conveniente armazená-la em temperatura próxima de 1 °C (MOGGIA; PEREIRA, 2003).

A longevidade da maçã geralmente é limitada pela baixa firmeza de polpa, amarelecimento da casca, e ocorrência de escurecimento de polpa, polpa farinácea, rachadura nos frutos e podridões (LU et al., 2012; WATKINS; NOCK 2012). Nesse sentido, o armazenamento em atmosfera refrigerada vem sendo substituído pelo armazenamento em atmosfera controlada (AC), o qual é mais eficiente na redução da respiração e da produção de etileno, e conseqüentemente do amadurecimento (BOTH et al., 2014).

A AC consiste, além do controle de temperatura e umidade relativa, a redução da pressão parcial de O<sub>2</sub> e a elevação da pressão parcial de CO<sub>2</sub> na câmara de armazenamento. Os níveis de O<sub>2</sub> são fixados e mantidos em 1,0 até 1,5 kPa, ao longo do armazenamento, independentemente do metabolismo dos frutos (BRACKMANN et al., 2008). Esta técnica permite o armazenamento de maçãs por até nove meses (BRACKMANN et al., 2005), dependendo da cultivar e do estágio de maturação na colheita.

A baixa pressão parcial de O<sub>2</sub> e alta de CO<sub>2</sub>, usadas no armazenamento em AC, reduzem a produção de etileno e respiração, conservando assim as características físico-químicas e inibindo e/ou diminuindo a ocorrência de alguns distúrbios fisiológicos (VAN DONGEN, 2009). Para a síntese do etileno é necessário a participação de enzimas ACC sintase, que converte o S-adenosilmetionina à ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), e da ACC oxidase, que faz a conversão do ACC a etileno, sendo necessário O<sub>2</sub> para esta etapa (YANG; HOFFMAN, 1984).

No entanto, deve-se ressaltar que o uso de baixas pressões parciais de O<sub>2</sub> exige um controle muito rígido, visto que níveis muito baixos de O<sub>2</sub> podem desencadear o processo de respiração anaeróbica nos frutos, com elevada produção de etanol. Além disso, baixos níveis de O<sub>2</sub> podem acentuar o desenvolvimento de

alguns distúrbios, como rachadura na epiderme, escurecimento da polpa e podridões (HO et al., 2013; KWEON et al., 2013).

Em condições de AC a maçã 'Cripps Pink' pode ser armazenada até oito meses, dependendo das combinações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> na câmara (MOGGIA; PEREIRA, 2003). Pressões parciais de O<sub>2</sub> entre 1 e 3 kPa e de CO<sub>2</sub> entre 0,5 e 3 kPa são recomendadas para o armazenamento de maçãs "Cripps Pink' (MOGGIA; PEREIRA, 2003; CROUCH, 2003). Tendo em vista que a cultivar é sensível ao CO<sub>2</sub>, sendo o dano intensificado em frutos colhidos tardiamente (DRAHORAD, 1998; BAAB, 1999), recomenda-se, independente do ponto de maturação, manter as pressões parciais de CO<sub>2</sub> abaixo de 1 kPa (JOBILING, 2002; CROUCH, 2003; MOGGIA; PEREIRA, 2003).

Mesmo com a utilização de AC podem ocorrer danos nos frutos quando armazenados por um período prolongado, em função da presença de etileno no ambiente de armazenamento. Neste sentido, busca-se técnicas complementares à AC que auxiliem a manter a qualidade e prolongar o armazenamento. Dentre estas, estão a aplicação de 1-MCP, regulador de crescimento que se liga aos receptores de etileno, inibindo o estímulo fisiológico e a transdução de sinal, reduzindo o amadurecimento de produtos hortícolas (BLANKENSHIP; DOLE, 2003).

Em armazenamento prolongado, os frutos podem desenvolver distúrbios fisiológicos que comprometem seu aspecto visual, e conseqüentemente sua comercialização, tais como a escaldadura superficial. A 'Cripps Pink' é considerada pouco suscetível ao desenvolvimento de escaldadura, contudo esse distúrbio pode tornar-se um sério problema em frutos de colheitas precoces e armazenados sob refrigeração (CALVO; GOMILA, 2014). O ponto de colheita é um fator importante para a suscetibilidade dos frutos à incidência de escaldadura superficial, bem como a ação do fitohormônio etileno sobre os frutos. Seu controle em pós-colheita pode ser realizado com a aplicação do 1-MCP. Contudo, diversos trabalhos têm demonstrado efeito positivo do vapor de etanol sobre a redução na síntese de etileno em diversos produtos vegetais, podendo ser uma alternativa ao uso do 1-MCP, visando a conservação da qualidade dos frutos, por retardar a senescência (SOETHE et al., 2017).

A cultivar de maçã 'Cripps Pink' possui a epiderme com lenticelas pouco evidentes, podendo tornar-se oleosa com o avanço do amadurecimento, o que pode limitar as trocas gasosas, resultando em níveis muito baixos de O<sub>2</sub> e/ou altos de CO<sub>2</sub>

no interior do fruto, prejudicando a polpa da fruta sob certas condições de AC (FIORAVANÇO et al., 2011).

## 2.4 MATURAÇÃO E AMADURECIMENTO DOS FRUTOS

Na fase final de desenvolvimento do fruto ocorre a maturação, que envolve alterações bioquímicas e fisiológicas. Representam uma etapa intermediária entre o final do desenvolvimento e o início da senescência, sendo um processo normal e irreversível, porém pode ser retardado com o uso de tecnologias. A fase final da maturação é designada como amadurecimento, em que há predominância de processos degradativos que culminam com a senescência (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Em frutos climatéricos, como a maçã, o amadurecimento é caracterizado por um incremento na taxa de respiração e biossíntese do etileno (LELIÉVRE et al., 1997). De acordo com estes autores, o forte incremento na produção de etileno (climatério) no início do amadurecimento, é considerado como um controlador das mudanças de coloração, aroma, textura, *flavor* e outros atributos bioquímicos e fisiológicos.

Os indicadores de maturação de maçãs mais empregados e considerados de fácil aplicação prática e que mais se relacionam com o ponto ideal de colheita comercial são a firmeza de polpa, o índice de amido, o teor de sólidos solúveis e a cor de fundo da epiderme (WATKINS, 2003). Estes atributos têm oferecido resultados seguros na estimativa de maturação e ponto ideal de colheita para diversas cultivares de maçãs destinadas a armazenagem e ao consumo imediato (ARGENTA, 2006), e são os mais usados pelos fruticultores pela simplicidade, rapidez e baixo custo das análises (ARGENTA et al., 2010). Adicionalmente, o percentual de cobertura das maçãs com cor vermelha é levado em consideração para determinar o início da colheita, por afetar significativamente a aparência e o seu valor comercial (ARGENTA et al., 2010).

## 2.5 ETILENO

O etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) é um fitohormônio gasoso que atua como um potente regulador de crescimento, afetando vários processos de desenvolvimento das plantas (KADER,

1999). Nos frutos climatéricos, a produção de etileno é um dos processos metabólicos mais importantes (VILAS BOAS, 2002).

O etileno, apesar de não ser o único hormônio a atuar no processo, é considerado o principal do amadurecimento. A interação entre os fitohormônios promotores e inibidores é o fator controlador do amadurecimento. Segundo Vendrell e Palomer (1997), o etileno e o ácido abscísico, podem ser considerados promotores, enquanto giberelinas e citocininas são possíveis inibidores do amadurecimento. Em frutos climatéricos o etileno é necessário para coordenar e completar o amadurecimento (GIOVANNONI, 2001).

Antes do amadurecimento, ocorre um aumento natural na produção de etileno, que catalisa o climatério respiratório, dando o suporte energético para as rápidas transformações na aparência, *flavor* e textura característica dos frutos prontos para serem consumidos (VILAS BOAS, 2002).

Em determinado estágio da maturação, o etileno se liga ao seu receptor na célula, um complexo protéico-enzimático, e desencadeia uma série de eventos que culminam com o amadurecimento e senescência do fruto (LELIÈVRE et al., 1997). Os parâmetros de amadurecimento, como perda de firmeza de polpa (HAJI et al., 2003), mudanças na coloração da epiderme (FLORES et al., 2001) e produção de aromas são fortemente dependentes da produção de etileno (FLORES et al., 2002). BRACKMANN et al. (2000) verificaram que, quanto mais baixa a concentração de etileno durante o armazenamento da maçã cultivar Royal Gala, maior é a retenção da firmeza de polpa, sendo que, para os demais atributos de qualidade, concentrações inferiores a  $1\mu\text{L L}^{-1}$  apresentam efeito semelhante.

A presença do etileno em ambientes de armazenamento e transporte compromete a qualidade de frutos climatéricos (KADER, 1992). Devido aos efeitos diversos do etileno em grande número de espécies de plantas, muitos deles indesejáveis, há necessidade de controlar esses efeitos durante a fase de pós-colheita dos produtos (PEREIRA; BELTRAN, 2002). Desta forma, torna-se importante o manejo do etileno durante o armazenamento dos frutos, de maneira a reduzir seu efeito deletério sobre a manutenção da qualidade de maçãs armazenadas. A absorção do etileno, durante o armazenamento de maçãs 'Gala', permite a manutenção da firmeza se polpa, da acidez titulável e da cor de fundo da epiderme, além de diminuir a incidência de distúrbios fisiológicos (BRACKMANN et al., 2003).

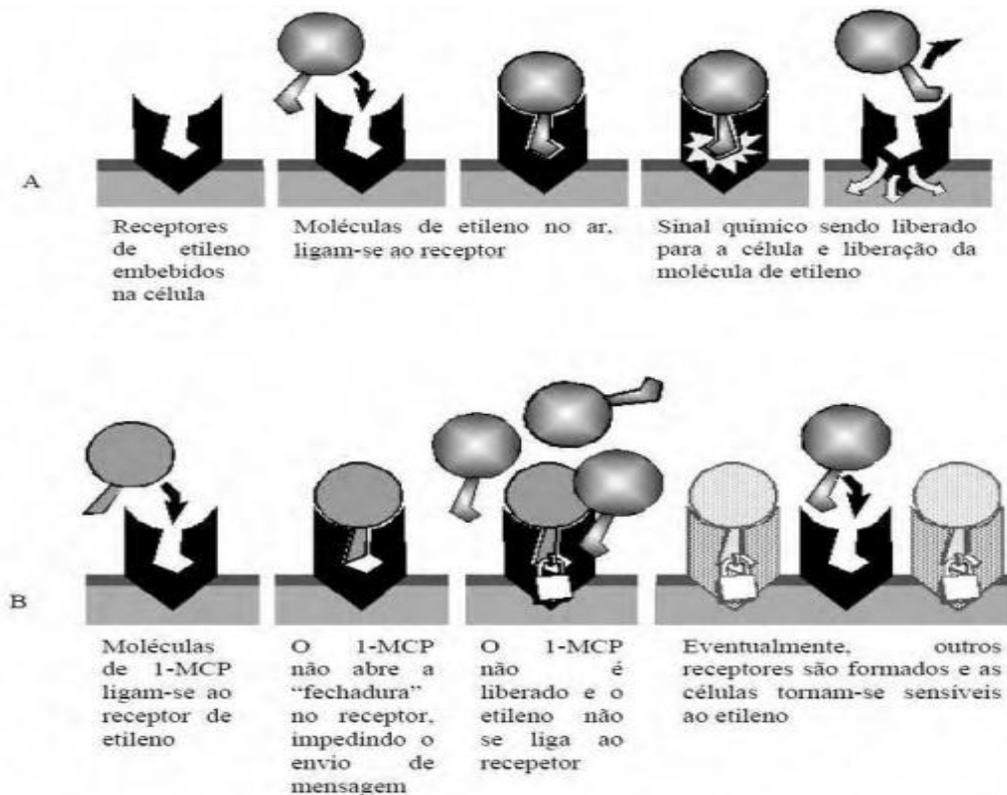
## 2.6 1-Metilciclopropeno (1-MCP)

O 1-MCP é um composto que bloqueia a ação do etileno, através de competição pelos sítios de ligação com os receptores nas membranas celulares, reduzindo os efeitos do etileno procedente de fontes internas e externas (BLANKENSHIP; DOLE, 2003).

Trata-se de um composto volátil que se liga de forma irreversível aos receptores de etileno no fruto, impedindo, desta forma, a ligação do fitohormônio ao receptor e, conseqüentemente, sua ação nos processos de maturação e amadurecimento (BRACKMANN et al., 2009). O 1-MCP liga-se fortemente ao sítio do etileno com uma meia vida de difusão entre 7 e 12 dias (SISLER; BLANKENSHIP, 1996; SISLER; SEREK, 1997) (Figura 1).

Embora o 1-MCP seja um gás, ele tem sido formulado em pó, o qual libera o ingrediente ativo quando misturado a uma solução básica ou água. (KLUGE et al., 2002). A aplicação pode ser realizada colocando-se os frutos numa câmara ou contentor, onde se libera o 1-MCP, que após 6 ou 24 horas de exposição penetra no produto. Após esse período, retorna-se o produto para as condições desejadas de armazenamento (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Figura 1 – Mecanismo de ligação do etileno em seu sítio receptor (A) e ligação do 1-MCP no sítio receptor de etileno (B).



Fonte: Bower, citado por Blankenship (2001).

A afinidade do 1-MCP com os receptores é aproximadamente 10 vezes maior que a do próprio etileno. Comparada com o etileno, o 1-MCP é ativo em concentrações muito menores (BLANKENSHIP; DOLE, 2003).

Dependendo da espécie vegetal, o 1-MCP pode ter vários efeitos, atuando sobre a respiração, produção de etileno e voláteis, degradação da clorofila, mudanças de cor, amaciamento da polpa, ocorrência de distúrbios e doenças (BLANKENSHIP, 2003). O efeito benéfico do 1-MCP, na melhoria da qualidade dos frutos e redução dos distúrbios fisiológicos, pode ser devido à manutenção da capacidade antioxidante, bem como a inibição da ação do etileno e redução da taxa de respiração (FU et al., 2007).

Além de prolongar o período necessário para o início do amadurecimento, outro benefício importante é a inibição da lesão gerada por dano mecânico, podendo ser por meio do impacto, compressão e atrito, que podem ser causados em todas as etapas, desde a colheita até a comercialização (FRANCK et al., 2007).

Segundo Blankenship e Dole (2003), o 1-MCP possui diferentes efeitos sobre o amadurecimento e qualidade de frutos e hortaliças de comportamento climatérico

ou não. Vários fatores, como a concentração do gás 1-MCP necessário para saturar os receptores e competir com o etileno, tempo de aplicação, temperatura ideal para que o tratamento seja efetivo e grau de maturação do produto, pois o 1-MCP não é efetivo em maturação avançada, podem influenciar os tratamentos.

Apesar de ser um produto de alto custo, o 1-MCP é uma ferramenta útil para aplicação comercial a fim de reduzir o processo de amadurecimento, manter a qualidade e estender a vida de prateleira de frutos, vegetais e espécies ornamentais (BLANKENSHIP; DOLE, 2003).

A aplicação de 1-MCP na dose de  $625 \mu\text{L L}^{-1}$  proporcionou maior firmeza de polpa, cor da epiderme mais verde e menor incidência de distúrbios fisiológicos, podridões e menores taxas respiratórias e de produção de etileno, demonstrando o forte efeito desse antagonista ao etileno sobre o controle do amadurecimento de maçãs 'Gala' (BRACKMANN et al., 2004).

O armazenamento em AC pode prolongar o efeito do 1-MCP sobre as características físicas e sensoriais de maçãs, e estas duas tecnologias geralmente são mais eficientes quando combinadas (BAI et al., 2005). Quando utilizado em combinação com baixa temperatura, o efeito do 1-MCP aumenta a vida útil de maçãs em comparação com o uso de 1-MCP em frutos conservados em temperatura mais elevada. Este resultado sugere que a taxa de formação de novos receptores de etileno é suprimida pela baixa temperatura, aumentando assim a eficiência do 1-MCP (ASIF et al., 2009). Porém, a aplicação de 1-MCP não interfere no potencial de conservação, como por exemplo em pêssigo cv. Glohaven (ZILIOTTO et al., 2002). Em outras, reduz drasticamente a produção e a ação do etileno, reduzindo a velocidade do amadurecimento e senescência, como no caso de bananas (JIANG et al., 1999), maçãs (ZANELLA, 2001). Em caquis 'Fuyu', que são sensíveis à ação do etileno, o 1-MCP não apresentou efeitos positivos na manutenção da qualidade destes (GIRARDI et al., 2003). Já para a cultivar de caquis Tonewase, o 1-MCP diminuiu a produção de etileno e a perda de firmeza da polpa (WATKINS; MILLER, 2002). Fato semelhante foi observado em algumas cultivares de pêssigo (ZILIOTTO et al., 2002).

Apesar dos vários benefícios da aplicação de 1-MCP no armazenamento de maçãs, parece que a suscetibilidade a algumas desordens pode aumentar pelo tratamento com 1-MCP, apesar de poucos trabalhos destas respostas terem sido publicados (WATKINS, 2006). Foi observada maior ocorrência de injúria externa por alto  $\text{CO}_2$  em frutos tratados com 1-MCP, comparada aos não tratados (DeELL et al.,

2003; ZANELLA, 2003; WATKINS; NOCK., 2004). Além de retardar o processo de amadurecimento normal, o 1-MCP pode influenciar a susceptibilidade dos frutos a determinadas desordens fisiológicas (LU et al., 2012). Enquanto distúrbios associados à senescência ou diretamente relacionados ao etileno são inibidos pelo 1-MCP, distúrbios relacionados à ausência de etileno são aumentados pelo atraso da maturação, em função da ação desse produto. Ocorrem ainda distúrbios fisiológicos associados com a interação do 1-MCP com a forma de armazenamento, indicando a complexidade do efeito desse produto (WATKINS, 2008). Esse inibidor da ação do  $C_2H_4$  pode ainda aumentar a susceptibilidade dos frutos a determinadas doenças, uma vez que o etileno coordena genes de defesa (WATKINS, 2008). Além disso, o 1-MCP pode afetar os índices de maturação, tendo um impacto na qualidade sensorial dos frutos. Como exemplo tem-se o efeito negativo sobre o aroma dos frutos, o que afetar a aceitabilidade por parte dos consumidores (SILVEIRA et al., 2012; BOTH et al., 2014).

Recentemente, tem-se investigado produtos alternativos ao 1-MCP, como forma de manter a qualidade e reduzir a aplicação de produtos químicos em pós-colheita, como o etanol (WEBER et al., 2015) e o óxido nítrico (BRACKMANN et al., 2016).

É crescente a procura por maçãs produzidas com uso de menor quantidade de produtos químicos, mas que também tenham qualidade e sejam visualmente atrativas ao consumidor (DORR; MARQUES, 2006).

O etanol é considerado um composto natural e, portanto, passível de ser usado em sistemas de conservação de produtos vegetais cultivados de forma orgânica ou agroecológica (PESIS, 2005). Ainda, segundo Asoda et al., (2009) a aplicação de etanol nos sistemas de armazenagem possui vantagens, como o tratamento simples, aplicação com poucos efeitos negativos e o fácil controle das dosagens.

Estas observações sugerem que uso do etanol pós-colheita em substituição ao 1-MCP pode ser uma excelente alternativa para a manutenção da qualidade de frutos, mesmo quando os custos dos produtos se mostram bastante semelhante.

## 2.7 ETANOL

Devido à facilidade de uso, a aplicação de etanol para promover ou inibir o amadurecimento de frutos climatéricos, e conseqüentemente a redução de distúrbios

fisiológicos, depende de inúmeros fatores que incluem espécie, cultivar, concentração, modo de aplicação e duração do período de exposição (RITENOUR et al., 1997).

Estudos demonstram que o vapor de etanol pode ser adotado como tratamento complementar à refrigeração visando à conservação da qualidade dos frutos (LICHTER, 2006). O vapor de etanol vem mostrando um efeito positivo sobre a síntese de etileno em diversos produtos vegetais, por reduzir a concentração interna de etileno, retardar a senescência e melhorar os níveis de compostos aromáticos, visando à conservação da qualidade dos frutos (LICHTER et. al., 2006; LIU et al., 2012).

O etanol apresenta efeito sobre diversos frutos climatéricos, podendo melhorar a manutenção dos atributos de qualidade, dependendo da espécie (PESIS, 2005).

A aplicação de etanol durante o armazenamento em AC de maçãs 'Braeburn' proporcionou diminuição na biossíntese de etileno, na taxa de respiração e também na permeabilidade da membrana (WEBER et al., 2019).

Liu et al. (2012) trabalhando com melões, verificaram que a aplicação pós-colheita de etanol pode reduzir a concentração interna de etileno, retardar a senescência e melhorar os níveis de compostos aromáticos voláteis, especialmente os ésteres etílicos. Adicionalmente, tem sido sugerido que o etanol pode regular o sistema antioxidante, resultando em um atraso na senescência (HAN et al., 2006).

O tratamento com vapor de etanol apresentou resultados positivos no retardo do amadurecimento de melão (JIN et al., 2013) e tomate (TZORTZAKIS; ECONOMAKIS, 2007), e da senescência de brócolis (ASODA et al., 2009).

Além do retardo da senescência, o tratamento com vapor de etanol em brócolis incrementou o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante total, bem como a atividade das enzimas superóxido dismutase, ascorbato peroxidase e catalase (XU et al., 2012). O etanol reduz a incidência e a severidade do escurecimento da polpa, além de contribuir para a manutenção da firmeza de polpa de ameixas 'Laetitia' armazenadas (HEINZEN, 2016). Ainda, tem sido proposto que o escurecimento de polpa (EP) em ameixas é decorrente de um processo oxidativo relacionado a produção de espécies reativas de oxigênio, que causam a peroxidação de lipídeos, com consequente danos as membranas celulares (SINGH; SINGH, 2012).

De acordo com Pesis (2005), a aplicação de produtos da fermentação no ambiente de armazenamento pode ser uma alternativa para a manutenção da

qualidade de frutos. Bai et al. (2004), usando vapor de etanol em maçãs na concentração de 5 mL kg<sup>-1</sup> de fruto e expostos por 24 horas a temperatura de 20 °C, obtiveram redução de 20% da produção de etileno em relação aos frutos controle, após permanecerem por 14 dias a temperatura de 5 °C, sem no entanto, causar danos ao aspecto global dos frutos, principalmente nos pedúnculos, o que pode ser atribuída a diferença do tempo, de concentração e da espécie.

Além da aplicação de vapor de etanol, a indução da produção de etanol pelo próprio fruto em condições de estresse inicial por baixo O<sub>2</sub> (ILOS; 1 kPa) pode contribuir para o retardo do amadurecimento dos frutos e para a redução do escurecimento de polpa em ameixas 'Laetitia' armazenadas sob refrigeração (BOTH et al., 2014). O ILOS provoca um período de anaerobiose nos frutos, intensificando a via fermentativa e culminando na produção de etanol, que, em pequenas concentrações, pode ser benéfico para manutenção da qualidade dos mesmos durante o armazenamento (BOTH et al., 2014).

Para Bai et al. (2004), o mecanismo de ação do etanol está relacionado a concentração endógena de acetaldeído, que é um fator biologicamente ativo e que afeta a produção de etileno. Foi observado por Jin et al. (2013), inibição da biossíntese da ACC (ácido 1-carboxílico-1-amino ciclopropano), e da atividade de ACC oxidase e ACC sintase, conduzindo à inibição da biossíntese de etileno interno em melões tratados com vapor de etanol.

Por outro lado, se baixas concentrações de etanol são aplicadas, pode-se induzir a síntese de ACC ou aumentar a atividade da ACC sintase, causando o possível mecanismo de ação do etileno em frutos (BAI et al., 2004).

## 2.8 ÓXIDO NÍTRICO

O óxido nítrico (NO) é uma espécie gasosa reativa de oxigênio (EROs); é considerado altamente reativo, por ser um radical livre, podendo assim atuar como antioxidante, permitindo a eliminação de intermediários reativos, ou atuando destacadamente como uma molécula sinalizadora, numa cadeia de eventos, levando a mudanças de expressão gênica (VAN BREUSEGEM et al., 2001).

Trata-se de uma molécula de sinalização importante que inibe a produção de etileno durante o amadurecimento e armazenamento (MANJUNATHA; LOKESH; NEELWARNE, 2010). Porém, o conhecimento da relação direta entre o NO e o ciclo

do etileno só recentemente foi descoberto e, portanto, vem sendo gradativamente aumentada as avaliações no contexto do amadurecimento de frutos (PRESTIJRNO et al., 2006).

Alguns estudos sugerem que o NO apresenta propriedades antissenescentes, podendo estender a vida pós-colheita de produtos hortícolas quando esses são tratados com compostos doadores de NO, como o nitroprussiato de sódio (SNP) ou 2,2'-(hidroxinitrosohidrazino)- bisetanamina (DETA/NO) (ARORA, 2008), como alternativa a outros compostos químicos utilizados, como o tiosulfato de prata (STS) e 1-MCP (SEYF et al., 2012).

O tratamento pós-colheita de produtos hortícolas com baixa concentração de gás de NO pode prolongar a vida pós-colheita (WILLS et al., 2007).

A perda de firmeza de polpa em pêssegos foi significativamente retardada pelo tratamento com NO, que foi atribuído à manutenção da integridade da membrana celular e à redução do vazamento de eletrólitos por retardar o início da senescência (FLORES et al., 2008). O NO também reduziu os níveis de diacilglicerol e triacilglicerol, e inibiu o escurecimento em maçãs (PRISTIJONO et al., 2006). Além disso, tratamento com NO também melhorou a vida de prateleira e os atributos desejáveis de banana (CHENG et al., 2009), tomate (ABOUL-SOUD, 2010) e quivi (LESHEM, 2009).

Em plantas, o NO é gerado pelas enzimas óxido nítrico sintase (NOS), nitrato redutase (NR) ou nitrito: NO (Ni-Nor), ou por via não enzimática, por meio da conversão do nitrito a NO e nitrato, em altos valores de pH (HAYAT et al., 2010). Em baixas concentrações ( $m < 1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), o NO tem meia-vida de minutos a horas, podendo se difundir em várias camadas de células ou a longas distâncias em espaços celulares. Em altas concentrações, o NO apresenta meia-vida relativamente curta, na ordem de segundos (PROCHÁZKOVÁ; WILHELMOVÁ, 2011).

Os sistemas de defesa enzimático e não-enzimático, ativados durante a senescência, podem ser afetados negativamente pelo etileno, inibindo o processo de detoxificação e acelerando a senescência. O etileno é conhecido como o hormônio do amadurecimento que desencadeia uma série de transformações bioquímicas que culminam no amadurecimento e na senescência dos frutos (MA et al., 2006).

Existe uma relação estequiométrica entre a produção de etileno e de NO durante o período de estresse, e o nível endógeno de NO, emitido por esses órgãos, variando em função da maturidade (LESHEM et al., 1998).

O NO é uma molécula bioativa que pode regular a produção de etileno por meio da inibição estequiométrica direta ou inibindo enzimas que atuam na biossíntese desse hormônio (MANJUNATHA et al., 2012). Essa molécula tem a capacidade de se ligar à ACC oxidase resultando na formação do complexo ACC oxidase-NO, o qual forma um complexo estável ACC-ACC oxidase-NO, que reduz a produção de etileno. O NO inibiu a produção de etileno em frutos de quivi tratados com  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  e reduziu o conteúdo de SS e aldeído malônico (MDA) (ZHU et al., 2010). Também, a produção de etileno foi inibida por NO em frutos de tomate, retardando o amadurecimento (LAI et al., 2011).

### 3 MATERIAL E METÓDOS

O experimento foi realizado com maçãs 'Cripps Pink', na safra 2017/18, provenientes de um pomar comercial no município de Vacaria, RS (50°42' W; 28°33' S; 955 m de altitude).

Os frutos colhidos foram posteriormente conduzidos até o Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita do CAV-UDESC para a homogeneização das amostras experimentais e posteriormente a aplicação dos tratamentos. Antes da homogeneização das amostras, os frutos com danos físicos, podridões e rachaduras foram eliminados.

Os tratamentos consistiram em controle (sem tratamento pós-colheita); 1-MCP ( $1 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 24 horas; etanol ( $6 \text{ mL kg}^{-1}$  de fruto) por 24 horas; e óxido nítrico ( $10$  e  $20 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 2 horas.

Para aplicação de 1-MCP, os frutos de cada amostra foram pesados e acondicionados no interior de minicâmaras de 180 L que permitiram o fechamento hermético pelo período de 24 horas em condições de temperatura ambiente ( $20 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$  e UR de  $63 \pm 2\%$ ). Para gerar a concentração de  $1 \mu\text{L L}^{-1}$  de 1-MCP utilizou-se o produto comercial SmartFresh<sup>®</sup>, que também foi adicionado em placas de Petri de 35 mL (diâmetro de 50 mm), que foram acondicionadas no interior das minicâmaras.

Para aplicação do vapor de etanol os frutos também foram acondicionados no interior de minicâmaras que permitiram o fechamento hermético. O volume de etanol líquido necessário para atingir a concentração de  $6 \text{ mL kg}^{-1}$  foi adicionado em placas de Petri de 35 mL (diâmetro de 50 mm), que foram acondicionadas no interior das minicâmaras, antes do fechamento das mesmas. A exposição dos frutos ao vapor de etanol foi durante 24 horas em condições de temperatura ambiente ( $20 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$  e UR de  $63 \pm 2\%$ ).

Para os tratamentos com óxido nítrico, foram adicionadas as doses de  $10 \mu\text{L L}^{-1}$  e  $20 \mu\text{L L}^{-1}$  do gás (óxido nítrico  $1000 \mu\text{L L}^{-1}$  + balanço  $\text{N}_2$ ) dentro de minicâmaras com fechamento hermético com o auxílio de seringas, pelo período de 2 horas em condições de temperatura ambiente ( $20 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$  e UR de  $63 \pm 2\%$ ).

A aplicação de óxido nítrico foi realizada em ambiente com 1 kPa de  $\text{O}_2$ , em AC com o intuito de manter os gases equilibrados durante o período de aplicação do tratamento, reduzindo a produção de etileno e a respiração.

Após a aplicação dos tratamentos os frutos foram armazenados em minicâmara de AC na condição de 1,2 kPa de O<sub>2</sub> + <0,5 kPa CO<sub>2</sub> (na temperatura de 1,5 ± 0,2 °C e umidade relativa de 96 ± 2%). As condições de armazenamento foram monitoradas diariamente durante 5 meses. As condições de AC foram estabelecidas mediante a diluição do O<sub>2</sub> no ambiente de armazenamento com injeção de N<sub>2</sub>. A manutenção das pressões parciais desejáveis de O<sub>2</sub>, que variou em razão da respiração dos frutos, foi realizada, diariamente, com o uso de equipamento automático para controle de gases, marca Shelle®. Quando os níveis do CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> não estavam adequados, o equipamento procedia à correção das pressões parciais até os níveis preestabelecidos nos tratamentos. O O<sub>2</sub> consumido pela respiração foi repostado por meio da injeção de ar atmosférico nas minicâmaras. A pressão parcial de CO<sub>2</sub> foi mantida por meio da colocação de cal hidratada no interior das minicâmaras, para a contínua eliminação do CO<sub>2</sub> no ambiente de armazenamento.

Após o período de cinco meses de armazenamento, seguidos de mais sete dias em exposição dos frutos em condições ambiente, para simular o período de comercialização, os frutos foram avaliados quanto aos atributos de qualidade. Na saída do armazenamento foram avaliados quanto à cor da epiderme, escaldadura, oleosidade, incidência de podridões e taxas respiratória e de produção de etileno. Após os sete dias em condições ambiente, os frutos foram avaliados em termos de cor da epiderme, escaldadura, oleosidade, incidência de podridões, firmeza de polpa, polpa farinácea, escurecimento de polpa, taxas respiratória e de produção de etileno, acidez titulável (AT), sólidos solúveis (SS), relação SS/AT, teor de compostos fenólicos totais (CFT), atividade antioxidante total (AAT; pelos métodos DPPH e ABTS), atividade das enzimas peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) e conteúdo de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

### 3.1 ATRIBUTOS DE QUALIDADE

A cor da epiderme foi avaliada em termos de valores de ângulo *hue* (*h*<sup>o</sup>, 0<sup>o</sup> =vermelho; 90<sup>o</sup>=amarelo; 180<sup>o</sup>=verde; e 270<sup>o</sup>=azul) com o auxílio de um colorímetro Minolta® modelo CR 400 (Konica, Tóquio, Japão). As leituras foram realizadas na região equatorial dos frutos.

A incidência de podridões (%) foi avaliada pela contagem dos frutos afetados com características de infecção por patógenos.

A incidência de escaldadura superficial (%) também foi avaliada pela contagem dos frutos afetados.

A oleosidade foi avaliada pela análise subjetiva da sensação de oleosidade presente na superfície do fruto, utilizando uma escala de 1 a 4, onde: 1 – não apresenta oleosidade; 2 – pouca oleosidade; 3 – moderada; e 4 – muita oleosidade.

As taxas respiratórias ( $\eta\text{mol CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) e de produção de etileno ( $\text{pmol C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) foram quantificadas por cromatografia gasosa. Frutos de cada repetição foram acondicionados em recipientes de 4,1 L, com fechamento hermético. As taxas respiratórias e de produção de etileno foram obtidas pela concentração de  $\text{CO}_2$  e  $\text{C}_2\text{H}_4$ , respectivamente, no interior do recipiente, após 30 min do fechamento dos recipientes contendo os frutos. Após este período, utilizando uma seringa plástica de 1,0 mL, foram coletadas três amostras da atmosfera do espaço livre destes recipientes, as quais foram injetadas em um cromatógrafo a gás, marca Varian®, modelo CP-3800 (Palo Alto, CA, EUA), equipado com coluna Porapak N® de 3 m de comprimento (80-100 mesh), metanador e detector de ionização de chama, para a quantificação de  $\text{CO}_2$ . As temperaturas da coluna, detector, metanador e injetor foram 70; 250; 380 e 130 °C, respectivamente. Os fluxos de nitrogênio, hidrogênio e ar sintético foram de 70, 30 e 300 mL  $\text{min}^{-1}$ , respectivamente. Para quantificação do etileno, o equipamento utilizado foi um cromatógrafo a gás, modelo Clarus 580 GC (PerkinElmer, USA).

A firmeza de polpa (N) foi determinada na região equatorial dos frutos, em duas superfícies opostas, após a remoção de uma pequena porção da epiderme, com auxílio de um penetrômetro eletrônico (GÜSS Manufacturing Ltd, Cidade 48 do Cabo, África do Sul) equipado com ponteira de 11 mm de diâmetro.

Os valores de AT (% ácido málico) foram obtidos através de uma amostra de 5 mL de suco, obtido pelo processamento dos frutos em uma centrífuga. Essa amostra foi diluída em 45 mL de água destilada e titulada com solução de NaOH 0,1N até pH 8,1. Para titulação das amostras foi utilizado um titulador automático TitroLine® Easy da SCHOTT Instruments (Mainz, Alemanha).

Os teores de SS (%) foram determinados em um refratômetro digital modelo PR201 $\alpha$  (Atago®, Tóquio, Japão), utilizando uma alíquota do suco obtido pelo processamento dos frutos.

A relação de SS/AT foi determinada pela razão entre os atributos SS e AT.

Para avaliar a incidência do escurecimento de polpa, foram feitos cortes na secção transversal dos frutos. Realizou-se, a contagem dos frutos que apresentavam

regiões internas da polpa com qualquer tipo de escurecimento. A polpa farinácea foi determinada pela quantificação dos frutos que apresentaram sintomas do distúrbio (polpa seca, sem suculência, aspecto farináceo). Os resultados foram expressos em percentagem de frutos com o distúrbio.

## 3.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (AAT)

### 3.2.1 Preparação das amostras

Após cinco meses de armazenamento e mais sete dias de prateleira, a casca de toda superfície distal do fruto (devido a grande quantidade de análises a serem realizadas) foi removida com uma lâmina cortante (1 mm de espessura). A amostra de polpa foi retirada por meio de uma fatia longitudinal, de cerca de um centímetro, da porção mediana da região distal, descartando a região do endocarpo e conservando cada lado da fatia. Imediatamente após as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em *ultrafreezer*, marca Thermo Scientific, modelo 900 Series (Ohio, Estados Unidos). As amostras de polpa foram processadas com triturador vertical, marca Philips Walita, modelo R11364 (Varginha, Brasil) e as amostras de casca foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido.

### 3.2.2 Obtenção dos extratos para quantificação de CFT e AAT

A obtenção do extrato para a quantificação de CFT e AAT foi realizada conforme descrito por Rufino et al. (2007), adaptado de Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997). Foram utilizadas 5 g de polpa e 2,5 g de casca. A amostra foi colocada em um tubo Falcon (Zollstr, Suíça) adicionando-se 10 mL de metanol/água destilada (50:50, v/v), com posterior homogeneização em ultraturrax, marca Heidolph, modelo D91126 (Schwabach, Alemanha) e repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Após, as amostras foram centrifugadas a 15.000 rpm por 15 minutos a 4 °C, em uma centrífuga Eppendorf, modelo 5810R (Hamburgo, Alemanha). O sobrenadante foi filtrado em balão volumétrico de 25 mL e ao resíduo da primeira extração, foram adicionados 10 mL de acetona/água destilada (70:30, v/v), com posterior homogeneização e repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. As amostras

foram submetidas à nova centrifugação nas mesmas condições. O sobrenadante foi transferido para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e o volume foi completado para 25 mL com água destilada. Os extratos foram reservados para análise de CFT e AAT.

### **3.2.3 Determinação do conteúdo de CFT na casca e na polpa**

O conteúdo de CFT foi determinado usando o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu modificado. A curva padrão foi obtida com ácido gálico (BIOTEC, Pinhais, Brasil), nas concentrações de 0, 10, 30, 50, 70, 90 e 100 ppm. Para análise foram adicionados 2,5 mL de Folin-Ciocalteu/água destilada (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, USA) (1:3), 0,5 mL de amostra diluída (1:20) e 2,0 mL da solução de carbonato de sódio (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) 10%. Os tubos foram agitados em vortex incubados por uma hora em ausência de luz. Realizou-se a leitura no comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 765 nm em leitora de microplacas, modelo EnSpire (PerkinElmer, USA). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de massa fresca da amostra (mg EAG.100 g<sup>-1</sup>).

### **3.2.4 Determinação da AAT na casca e na polpa**

A determinação da AAT foi baseada na extinção da absorção dos radicais DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazil) e ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico).

O método DPPH foi analisado de acordo com Rufino et al. (2007), com adaptações. Em ambiente escuro, foram pipetados 100  $\mu$ L de amostra e misturados com 3.900  $\mu$ L de radical DPPH. Os tubos foram agitados e deixados para reagir por 30 min. A leitura foi realizada no  $\lambda=515$  nm, e os resultados expressos em  $\mu$ Mol de equivalente Trolox.100 g<sup>-1</sup> de massa fresca da amostra.

O método ABTS foi analisado conforme descrito por Rufino et al. (2007), com adaptações. Em ambiente escuro, foram pipetados 30  $\mu$ L de amostra e misturados com 3.000  $\mu$ L de radical ABTS. A leitura foi realizada após reação de 6 minutos em  $\lambda=734$  nm, e os resultados expressos em  $\mu$ Mol de equivalente Trolox.g<sup>-1</sup> de massa fresca da amostra.

### 3.3 ATIVIDADE ENZIMÁTICA: PEROXIDASE (POD) E SUPEROXIDO DISMUTASE (SOD)

A atividade da peroxidase (POD) foi determinada de acordo com o método proposto por Kar e Mishra (1976), com modificações. Para obtenção do extrato enzimático foi macerado 0,3 g do tecido da polpa com 3 mL do meio de extração composto de tampão fosfato de potássio 0,1 M (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM (Dinâmica, Diadema, Brasil), fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM (SIGMA, St. Louis, USA). A atividade da peroxidase (POX) foi determinada pela adição de 600  $\mu$ L do extrato enzimático em um tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, guaiacol 20 mM e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20 mM. O decréscimo na absorbância a 420 nm, na temperatura de 25°C, foi medida durante 1 minuto da reação com auxílio de uma leitora de microplacas modelo EnSpire (PerkinElmer, USA) a 420 nm, durante 1 minuto. A atividade das POD foi determinada com base na inclinação da reta no intervalo de 0 a 1 minutos e expressa em  $\mu$ mol min<sup>-1</sup> mg proteína<sup>-1</sup>.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com o método proposto por Del Long et al. (1993), com modificações. Para obtenção no meio de extração, o tecido vegetal foi macerado em nitrogênio líquido, posteriormente foi utilizado 0,3 g do tecido vegetal, e posteriormente adicionado 3 mL do meio de extração, composto de tampão fosfato de sódio 0,1 M (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM (Dinâmica, Diadema, Brasil), fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM (SIGMA, St. Louis, USA). Após a homogeneização em almofariz, mantido em gelo picado, as amostras foram acondicionadas em eppendorfs e centrifugadas a temperatura de 4 °C por 15 minutos, a 10.000 rpm com auxílio de uma centrífuga Eppendorf, modelo 5810R, (Hamburgo, Alemanha). Posteriormente retirou-se uma alíquota de 50  $\mu$ L do sobrenadante que foi adicionada a 2,95 mL do meio de reação, composto de tampão de fosfato de sódio 50 mM (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), pH 7,8, metionina 13 mM (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75  $\mu$ M (Vetec, Duque de Caxias, Brasil), EDTA 0,1 mM (Dinâmica, Diadema, Brasil) e riboflavina 2  $\mu$ M (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) que estavam acondicionados em recipientes de vidro recobertos com e sem papel alumínio e que em seguida foram mantidas a exposição a luz por 10

minutos. A quantificação da atividade enzimática foi determinada no comprimento de onda de 560 nm com auxílio de uma leitora de microplacas, modelo EnSpire (PerkinElmer, USA) e expressa em expressa em  $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mg proteína}^{-1}$ .

### 3.4 PEROXIDO DE HIDRIGÊNIO ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

A quantidade de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) foi determinado de acordo com o método proposto por Gay, Collins e Gebicki (1999) e Hermes- Lima, Willmore Storey (1995), com modificações. Uma grama da amostra foi macerada em nitrogênio líquido e homogeneizado em 10 mL de metanol (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) a 0 °C, com auxílio de ultraturrax Heidolph, modelo D-91126 (Schwabach, Alemanha). Após a completa homogeneização as amostras foram centrifugadas a temperatura de 4 °C por 10 minutos, a 10.000 rpm com auxílio de uma centrífuga Eppendorf, modelo 5810R, (Hamburgo, Alemanha). Em seguida retirou-se uma alíquota de 35  $\mu\text{L}$  do sobrenadante, à qual foi pipetado em um recipiente contendo 500  $\mu\text{L}$  de sulfato de amônio ferroso  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$  1 mM (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) e 200  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico  $\text{H}_2\text{SO}_4$  250 mM (MERCK, Darmstadt, Alemanha) que permaneceu em reação por 5 minutos no escuro. Em seguida adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  de xilenol laranja 1 mM (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, USA) e a mistura foi mantida no escuro por 20 minutos quando então procedeu-se à leitura da absorbância das amostras a 560 nm em leitora de microplacas, modelo EnSpire (PerkinElmer, USA). As leituras foram comparadas com uma curva padrão com concentrações conhecidas de peróxido de hidrogênio (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) e expressas em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  de massa fresca.

### 3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Cada tratamento foi composto de quatro repetições, sendo cada unidade experimental constituída de 30 frutos. Os valores em % foram previamente transformados pela fórmula arco seno  $[(x+0,5) / 100]^{1/2}$ . Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste LSD a 5% de probabilidade.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ATRIBUTOS DE QUALIDADE

Na colheita os frutos de 'Cripps Pink' apresentaram cor de casca no lado menos vermelho ( $h^p$ ) de 107,5, acidez titulável (%) de 3,82 e sólidos solúveis (%) de 13,83. Sobre a firmeza de polpa os frutos apresentaram 82,34 N.

A taxa de produção de etileno, tanto na saída da câmara como após sete dias em condições ambiente, não apresentou diferença entre os tratamentos controle e a aplicação de óxido nítrico e etanol, porém foi menor no tratamento com a aplicação do 1-MCP (Tabela 1). Em recente trabalho com maçãs 'Cripps Pink', Anami et al. (2017) também constataram que a aplicação de 1-MCP reduziu os valores de taxa de produção de etileno. A utilização de 1-MCP reduz a produção de etileno e a atividade respiratória, e ainda retarda o pico de produção de etileno e mantém a qualidade dos frutos (STEFFENS et al., 2008). Este resultado provavelmente está relacionado a menor atividade da ACC oxidase nos frutos tratados com 1-MCP, pois Dong et al. (2001) reportaram que o 1-MCP reduziu a síntese autocatalítica de etileno pela supressão de genes da ACC oxidase.

Em maçãs 'Galaxy' tratadas com óxido nítrico, maior produção de etileno foi observada na dose de 20  $\mu\text{L L}^{-1}$  em comparação com aquelas tratadas com 40  $\mu\text{L L}^{-1}$ , indicando que a menor dose de óxido nítrico foi menos eficiente na redução das taxas de etileno (BRACKMANN et al., 2017). A exposição de frutas e legumes a baixas concentrações de óxido nítrico causam melhorias na manutenção da vida pós-colheita, retarda o amadurecimento e diminui a síntese do etileno (LESHEM et al., 1998). Yamasaki et al. (2001), sugerem que óxido nítrico atua na supressão da ATP sintase nas mitocôndrias vegetais, que podem ser atribuídas ao efeito inibitório sobre o citocromo (citocromo-c-oxidase) da cadeia de transporte de elétrons. O óxido nítrico deprime a atividade da citocromo-c-oxidase porque compete com o oxigênio pelo sítio ativo dessa enzima, outros gases também interferem reduzindo o desempenho da citocromo-c-oxidase como, por exemplo, o monóxido de carbono e o ácido sulfídrico (SRINIVASA e AVADHANI, 2012).

O tratamento com aplicação de vapor de etanol obteve a maior taxa de produção de etileno (Tabela 1). Corroborando com os resultados encontrados, Anami et al. (2017), em estudo recente com maçãs 'Pink Lady', observaram que a aplicação

do vapor de etanol na dose de 3 mL kg<sup>-1</sup> de fruto durante 24 horas apresentou maior taxa de produção de etileno. O mecanismo de ação do etanol está relacionado a concentração endógena de acetaldeído que é um fator biologicamente ativo e que conseqüentemente afeta de forma drástica a produção de etileno (BAI et al., 2004; ASODA et al., 2009). Segundo Weber et al. (2016), a ação do produto de fermentação sobre a manutenção da qualidade dos frutos é dependente da dose aplicada.

Tabela 1 – Taxas de produção de etileno (pmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) e respiratória (ηmol de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) e cor da casca na região menos vermelha (*h*<sup>o</sup>) em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada (1±0,5 °C e 96±2% de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente (20±0,5 °C e 63±2% de UR).

Tratamentos	Produção de etileno (pmol C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> kg <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	Taxa respiratória (ηmol CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	Cor da casca <i>h</i> <sup>o</sup>
	Saída da câmara		
Controle	0,19 AB	53,4 D	104,9 A
1-MCP (1 μL L <sup>-1</sup> )	0,01 C	57,6 BC	101,6 B
Etanol (6 mL kg <sup>-1</sup> )	0,21 A	54,4 CD	101,0 B
Óxido nítrico (10 μL L <sup>-1</sup> )	0,16 B	59,3 B	101,5 B
Óxido nítrico (20 μL L <sup>-1</sup> )	0,17 B	64,9 A	101,7 B
C.V. (%)	15,24	4,15	0,85
Após 7 dias em condições ambiente			
Controle	0,70 AB	56,5 A	98,1 B
1-MCP (1 μL L <sup>-1</sup> )	0,06 C	40,3 C	99,8 A
Etanol (6 mL kg <sup>-1</sup> )	0,82 A	50,0 B	98,5 AB
Óxido nítrico (10 μL L <sup>-1</sup> )	0,56 B	41,3 C	98,4 B
Óxido nítrico (20 μL L <sup>-1</sup> )	0,70 AB	47,6 B	98,4 B
C.V. (%)	18,09	7,3	0,9

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste LSD (p<0,05).

A taxa respiratória, na saída da câmara, apresentou menor valor nos frutos do tratamento controle, que não diferiram dos frutos tratados com vapor de etanol. Na avaliação realizada após sete dias em condições ambiente, os frutos de todos tratamentos apresentaram taxa respiratória inferior aos do controle, com destaque aos frutos do tratamento com 1-MCP e óxido nítrico 10 μL L<sup>-1</sup>, que apresentaram a menor taxa respiratória do que os demais tratamentos (Tabela 1). Em avaliação realizada após 6 meses de armazenamento, Williamson et al. (2018), também obtiveram redução na taxa respiratória em maçãs ‘Cripps Pink’ com aplicação de 1-MCP. Em trabalho realizado por Brackmann et al. (2014), a respiração foi menor em maçãs da

cultivar 'Fuji' tratadas com 1-MCP, independente da reaplicação durante armazenamento refrigerado.

O resultado do óxido nítrico sobre a redução da taxa respiratória também foi observado por Brackmann et al. (2017), em maçãs 'Galaxy', que receberam  $40 \mu\text{L L}^{-1}$ . Singh, Singh e Swinny (2009), obtiveram uma redução na produção de  $\text{CO}_2$  quando aplicado NO em ameixas nas concentrações de 5, 10 e  $20 \mu\text{L L}^{-1}$ .

Com relação a aplicação de etanol, o tratamento apresentou uma alta taxa respiratória não diferindo do tratamento com maior dose de óxido nítrico. Frutos de 'Royal Gala' tratados com etanol apresentaram maior taxa respiratória comparados ao controle (WEBER et al., 2016). Resultados semelhantes também foram observados por Souza et al. (2009). Com dados divergentes Weber et al., (2019) obtiveram redução na taxa respiratória de maçãs 'Braeburn' tratadas com etanol. Entretanto, Asoda et al. (2009), afirmam que a exposição dos frutos e hortaliças, como tomate e brócolis, aos produtos da fermentação (etanol ou aldeído acético), em doses não tóxicas, pode diminuir a taxa respiratória.

Em relação à cor de epiderme, na saída da câmara, todos os tratamentos diferiram do controle, que obteve cor de fundo da epiderme mais verde. Os demais tratamentos não apresentaram efeito positivo na manutenção da cor verde dos frutos como esperado, neste momento da avaliação. Porém, após sete dias de exposição dos frutos, em condição ambiente, o tratamento com 1-MCP manteve a epiderme dos frutos menos amarela, sem diferir do tratamento com vapor de etanol, que apresentou resultados intermediários (Tabela 1). Resultados encontrados por Castro, Biasi e Mitcham (2007), demonstram que a aplicação pós-colheita de 1-MCP mantém a cor de fundo da epiderme mais verde em maçãs 'Pink Lady'. Aspectos da aparência, incluindo a coloração, ainda são os atributos de qualidade mais percebidos pelos consumidores e que mais influencia a primeira compra de frutos, embora o contínuo retorno a compra de tais frutos seja determinado pela qualidade sensorial (BALDWIN, 2002; HARKER et al., 2003). Brackmann et al. (2004), em trabalho realizado com maçãs 'Fuji', constataram que a aplicação inicial de  $625 \text{ nL L}^{-1}$  de 1-MCP manteve os frutos mais verdes, em ambas avaliações (saída da câmara e após período de 14 dias em temperatura ambiente), independente da reaplicação. A perda de coloração verde do fruto está ligada à quebra da estrutura da molécula de clorofila, envolvendo, principalmente, a atividade da enzima clorofilase, que é modulada pelo etileno (MENDONÇA et al., 2003). Assim, a redução na produção de etileno verificada em

frutos tratados com 1-MCP pode ter influência direta na redução da perda de coloração verde do fruto.

A maior evolução da coloração da epiderme das maçãs 'Cripps Pink' tratadas com o vapor de etanol e óxido nítrico em ambas as doses, pode estar relacionada, em parte, a maior taxa de produção de etileno. De acordo com Larrigaudière et al. (2008), a mudança da coloração da epiderme nesses tratamentos deve estar relacionada a maior biossíntese e ação do etileno. Weber et al., (2019) relataram que a aplicação de etanol  $500 \mu\text{L L}^{-1}$  em maçãs 'Braeburn' manteve a cor dos frutos mais verdes.

Com relação a escaldadura, na saída da câmara, os tratamentos não apresentaram diferença em relação ao controle. Contudo, após o período de 7 dias em temperatura ambiente, observou-se que os frutos tratados com 1-MCP não apresentaram incidência de escaldadura superficial. Deve-se ressaltar que frutos que apresentaram podridões foram descartados na saída da câmara, dessa forma esses mesmos frutos poderiam apresentar além de podridões, incidência de escaldadura (Tabela 2). Farneti et al. (2015), observaram escaldadura superficial em maçãs 'Cripps Pink' após 4 meses de armazenamento, porém foi significativamente reduzida quando o fruto foi tratado com 1-MCP. Os dados de Anami et al. (2017), corroboram com tais resultados, onde maçãs 'Cripps Pink' tratadas com 1-MCP não apresentaram incidência de escaldadura superficial. Amarante et al. (2010), observaram que em maçãs 'Fuji' das regiões de Fraiburgo e São Joaquim, o tratamento com 1-MCP reduziu substancialmente a incidência de escaldadura superficial, quando feito até os 12 dias de armazenamento refrigerado.

Ainda com relação a escaldadura pode-se observar o efeito da aplicação de óxido nítrico da dose de  $10 \mu\text{L L}^{-1}$  em relação ao controle, porém, o mesmo não diferiu da aplicação de óxido nítrico na dose de  $20 \mu\text{L L}^{-1}$ . Tanto a aplicação de NO  $20 \mu\text{L L}^{-1}$  quanto a de etanol não apresentaram diferença com relação ao controle.

O etileno desempenha um papel fundamental na promoção do amadurecimento dos frutos, portanto, alterar sua biossíntese / sinalização pode ser um meio importante para retardar esse processo. Sabe-se que o NO retarda a produção de etileno em maçãs (PRISTIJONO et al., 2006). Dessa forma, atribui-se a menor incidência de escaldadura no tratamento com NO ao fato do mesmo reduzir a biossíntese do etileno.

Corroborando com os dados obtidos no presente trabalho, Anami et al. (2017), em estudo com maçãs 'Pink Lady' tratadas com vapor de etanol durante 24 horas, apresentou pequena diferença se comparado aos frutos do controle, diminuindo a

incidência de escaldadura. Em maçãs ‘Cripps Pink’ o tratamento com vapor de etanol por 24 horas ocasionou pequena redução na incidência do distúrbio se comparado ao controle (SOETHE et al., 2017). Sabban-Amin, Feygenberg, Belausov e Pesis (2011) relatam que a aplicação de etanol em maçãs ‘Granny Smith’ ocasionou uma diminuição na biossíntese de  $\alpha$ -farneseno levando a redução da incidência de escaldadura superficial. De acordo com Pesis (2005), o etanol e o aldeído acético podem ter efeito positivo no aumento da resistência do fruto a danos por frio, bem como, podem atuar na inibição de desordens fisiológicas que envolvem atividade oxidativa, como a escaldadura superficial. É importante resaltar que os tratamentos que apresentaram menor produção de etileno, também apresentaram menor incidência de escaldadura. A produção de etileno promove a biossíntese de  $\alpha$ -farneseno, aumentando assim a incidência de escaldadura (WHITAKER et al., 2000).

Tabela 2 – Incidência (%) de escaldadura, índice de oleosidade (1 a 4) e incidência (%) de podridão em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5$  °C e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5$  °C e  $63\pm 2\%$  de UR).

Tratamentos	Escaldadura (%)	Acumulado	Oleosidade (1 a 4)	Podridão (%)	Acumulado
Controle	5,8 AB	7	1,15 <sup>ns</sup>	7,5 <sup>ns</sup>	9
1-MCP (1 $\mu\text{L L}^{-1}$ )	0,8 B	1	1,1	6,7	8
Etanol (6 mL $\text{kg}^{-1}$ )	7,5 A	9	0,7	16,8	20
Óxido nítrico (10 $\mu\text{L L}^{-1}$ )	1,7 AB	2	1,21	11,7	14
Óxido nítrico (20 $\mu\text{L L}^{-1}$ )	5,8 AB	7	1,06	10,8	13
C.V. (%)	49,7		18,94	28,52	
Após 7 dias em condições ambiente					
Controle	18,3 A	20	1,43 AB	3,8 <sup>ns</sup>	4
1-MCP (1 $\mu\text{L L}^{-1}$ )	0,0 C	0	1,24 B	1,0	1
Etanol (6 mL $\text{kg}^{-1}$ )	15,0 AB	15	1,44 AB	2,9	3
Óxido nítrico (10 $\mu\text{L L}^{-1}$ )	10,1 B	10	1,58 A	6,7	7
Óxido nítrico (20 $\mu\text{L L}^{-1}$ )	9,8 AB	10	1,61 A	3,8	4
C.V. (%)	27,1		15,62	82,4	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste LSD ( $p < 0,05$ ). ns: não significativo ( $p > 0,05$ ).

Com relação a oleosidade, pode-se observar que os frutos, na saída da câmara, não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, no entanto, o tratamento com aplicação de vapor etanol (6 mL  $\text{kg}^{-1}$  de fruto durante 24 horas), apresentou frutos com menor incidência, se comparados ao controle. Já após 7 dias

em condições ambiente, o tratamento com aplicação de 1-MCP apresentou frutos com menor oleosidade do que os frutos que receberam aplicação de óxido nítrico (Tabela 2). Yang et al. (2017a) verificaram que a aplicação pós-colheita de 1-MCP em maçãs 'Cripps Pink', reduziu a oleosidade após 70 dias de armazenamento. A cultivar de maçãs 'Cripps Pink' possui a epiderme do fruto fina, lisa e com lenticelas pouco evidentes, que as torna oleosa com o avanço do amadurecimento e que também pode limitar as trocas gasosas através da polpa, resultando em baixos valores de O<sub>2</sub> e/ou altos valores de CO<sub>2</sub>, o que pode prejudicar a polpa dos frutos sob certas condições de AC (FIORAVANÇO et al., 2011). Yang et al. (2017a) sugerem que a supressão da oleosidade da epiderme em maçãs pelo 1-MCP pode ser um efeito indireto devido à inibição da ação do etileno, em vez de afetar diretamente os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da oleosidade da epiderme.

A incidência de podridões, na saída da câmara e após o período de 7 dias em condição ambiente, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Entretanto, como citado anteriormente os frutos que apresentaram podridões na saída da câmara foram descartados. (Tabela 2). A aplicação de 1-MCP não apresentou influência sobre a ocorrência de podridão em maçãs da cultivar Royal Gala, após quatro meses de armazenamento a 0,5 °C mais sete dias a 20 °C (BRACKMANN et al., 2009). Em contrapartida, Amarante et al. (2010) observaram que a aplicação de 1-MPC em maçãs 'Fuji Suprema' reduziu a incidência de podridões, durante o armazenamento. A aplicação de 1-MCP pode resultar no retardo do amadurecimento e, sendo assim, pode inferir maior proteção à infecção de patógenos aos tecidos dos frutos, ocasionando uma redução de incidência de doenças pós-colheita (SAFTNER et al., 2003).

O etanol é considerado um composto que pode ter efeito sobre o retardamento da incidência de podridões em vários frutos, como pêssigo, citrus e uva de mesa (ROMANAZZI et al., 2007), e por ser um composto natural, pode ser usado em frutas no período pós-colheita (PESIS, 2005). No entanto, neste trabalho a aplicação de etanol não reduziu a incidência de podridões. Segundo Weber et al. (2016), o tratamento com etanol pode não ter efeito em maçãs.

Segundo Sanhueza (1999), frutas com maturação avançada são mais suscetíveis às podridões, principalmente por terem menor firmeza, e, em consequência, maior predisposição a ferimentos e/ou a machucaduras.

Após o período de sete dias em temperatura ambiente, o tratamento com 1-MCP mostrou-se eficiente na redução da incidência de polpa farinácea, porém os demais tratamentos não diferiram do controle. (Tabela 3). Corroborando com dados obtidos no presente trabalho, Mosquera et al. (2018) observaram, em trabalho com maçãs da cultivar 'Gala', que o tratamento com 1-MCP reduziu polpa farinácea comparado com o tratamento controle. Com dados divergentes, Brackmann et al. (2013) constataram que a aplicação de 1-MCP não foi eficiente na redução da incidência de polpa farinácea. Quanto à resposta ao 1-MCP, é conhecido que varia em função de uma série de fatores (WATKINS, 2006). A ocorrência de polpa farinácea está relacionada com a força relativa que mantém a estrutura da parede celular em comparação com a força de ligação da lamela média. Quando a força de ligação que mantém unida uma célula à outra é menor que a força que mantém a integridade da parede celular de células individuais, ocorre a separação das células e estas células intactas dão a sensação de textura farinácea. Isto ocorre porque as moléculas de protopectina (pectina insolúvel) são transformadas em pectinas solúveis na lamela média, diminuindo a força de coesão entre as células (PRASANNA et al., 2007). Este distúrbio geralmente está associado com o avanço do amadurecimento dos frutos, sendo que a forma de armazenamento exerce grande influência (BOTH et al., 2014).

Weber et al. (2016), observaram que a incidência de polpa farinácea foi maior em frutos tratados com vapor de etanol. Em contrapartida, Brackmann et al. (2000) relataram redução na incidência de polpa farinácea em maçãs tratadas com concentrações de etanol abaixo de  $1,0 \mu\text{L L}^{-1}$ . Brackmann et al. (2014) relacionam o aumento desse distúrbio a maior concentração interna de etileno e maior taxa de produção de etileno dos frutos.

Sobre a aplicação de óxido nítrico em maçãs 'Galaxy', Brackmann et al. (2016) obtiveram resultados, onde a incidência de polpa farinácea se mostrou maior após a aplicação do tratamento. Nesse sentido, os frutos podem não ter tolerado sua dose, estimulando a degradação da parede celular, devido a maior produção de etileno (Tabela 3).

Os tratamentos não diferiram do controle com relação a incidência de escurecimento da polpa nos frutos (Tabela 3). Esse é um dos principais distúrbios que ocorrem em pós-colheita de maçãs, sendo de difícil detecção, pois não pode ser visualizado externamente no fruto.

A presença de etileno na câmara de armazenamento acelera a senescência e proporciona maior ocorrência de escurecimento da polpa nos frutos. Dessa forma, a aplicação de 1-MCP pode reduzir a incidência de escurecimento da polpa nos frutos (WHATKINS et al., 2000; DELONG et al., 2004). No entanto, no presente trabalho, não se obteve diferença com a aplicação do 1-MCP, onde o tratamento obteve resultados semelhante ao controle (Tabela 3).

Tabela 3 – Incidência (%) de polpa farinácea e escurecimento de polpa e firmeza de polpa (N) em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).

Tratamentos	Polpa farinácea (%)	Escurecimento de polpa (%)	Firmeza de polpa (N)
	Após 7 dias em condições ambiente		
Controle	16,4 A	5,31 AB	71,5 C
1-MCP ( $1 \mu\text{L L}^{-1}$ )	0,0 B	5,45 AB	78,2 A
Etanol ( $6 \text{ mL kg}^{-1}$ )	10,8 A	1,08 B	74,9 B
Óxido nítrico ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ )	9,1 A	4,16 AB	71,3 C
Óxido nítrico ( $20 \mu\text{L L}^{-1}$ )	9,6 A	9,95 A	71,4 C
C.V. (%)	44,1	57,23	3,5

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de LSD ( $p < 0,05$ ).

Em altas concentrações, a aplicação do vapor de etanol pode causar danos a membrana e, conseqüentemente, o escurecimento dos tecidos da polpa (LEE; MATTHEIS; RUDELL, 2012). Frank et al. (2007), descreveram a incidência de distúrbios fisiológicos ligados a senescência, como o escurecimento da polpa. Este distúrbio estaria diretamente relacionado a concentração de etanol na polpa da pera. Todavia, Fernandez-Trijulo et al. (2001), observaram que o acúmulo de produtos de fermentação, como o etanol, não é a causa direta do escurecimento da polpa em maçãs. O envolvimento direto de produtos de fermentação na manifestação de distúrbios fisiológicos ainda não foi comprovado, o composto final da respiração anaeróbica é o etanol, porém a causa mais provável do desenvolvimento do escurecimento da polpa é a privação de energia à célula que este tipo de metabolismo provoca. Isso resultaria em deficiência de potencial redutor para mecanismos de defesa, reparação de membranas danificadas e reações de biossíntese (PEDRESCHI et al., 2009).

Já a aplicação de NO na menor dose, proporcionou uma pequena diminuição na incidência de escurecimento de polpa se comparado ao controle, porém não diferiu do mesmo estatisticamente. Isto pode ser explicado pelo fato de que uma menor taxa de produção do etileno reduz a degradação dos componentes da parede celular, em especial a protopectina, e, com isso, evita a ocorrência de escurecimento de polpa (STEFFENS et al., 1998). O que se pode observar no presente trabalho, onde a taxa de produção de etileno também é menor nesse tratamento, porém sem diferir do controle (Tabela 3).

Os tratamentos com a aplicação de 1-MCP e etanol, respectivamente, exibiram os frutos mais firmes durante a avaliação após sete dias em condição ambiente, em comparação aos demais tratamentos (Tabela 3).

A perda de firmeza dos frutos é dada pela degradação e desmontagem da parede celular em decorrência da despolimerização e solubilização dos carboidratos que a constituem, tais como pectina e hemicelulose, que resulta no afrouxamento dessa estrutura (SINGH; KHAN, 2010). Khan e Singh (2007) verificaram que o 1-MCP inibiu a atividade das enzimas poligalacturonase, pectinametilesterase e endo-1,4- $\beta$ -D-glucanase em ameixas 'Tegan Blue', refrigeradas (1 °C) ou sob temperatura ambiente (20 °C). Cocci et al. (2014) também verificaram maçãs 'Pink Lady' mais firmes quando tratadas com 1-MCP, após o período de 6 meses de armazenamento. As mesmas maçãs avaliadas após 4 meses de armazenamento apresentaram valor de firmeza semelhante ao valor inicial, concluindo que o tratamento com 1-MCP pode ser usado para retardar efeitos indesejáveis de amolecimento em frutos (COCCI et al., 2014).

Em trabalho realizado com maçãs 'Fuji' armazenadas por 30 semanas, Lu, Ma e Liu (2012) também observaram maior firmeza em frutos tratados com 1-MCP pós-colheita. Em média, maçãs tratadas com 1-MCP apresentaram firmeza de polpa de 6 N superior àquelas não tratadas. Isso significa um ganho tecnológico importante, uma vez que essa é uma das principais variáveis de qualidade (CORRENT et al., 2012).

Em estudo realizado por Weber et al. (2016), a aplicação de etanol em maçãs 'Royal Gala' proporcionou frutos com maior firmeza de polpa. Há divergências na literatura quanto ao efeito de produtos alternativos sobre o amadurecimento de frutos. Foi verificado que vapor de etanol reduziu a atividade de enzimas pectolíticas (pectina) em goiabas e manteve a firmeza da polpa por mais tempo, no entanto, acelerou o amadurecimento de bananas (SIDDIQUI et al., 2005). Todavia, em tomates e melões

também foi observado retardo na redução da firmeza de polpa em frutos submetidos ao vapor de etanol (TZORTZAKIS; ECONOMAKIS, 2007; JIN et al., 2013). A firmeza de polpa é mantida em pêssigo, nectarina, tomate, uva e abacate como resultado da aplicação de etanol (PESIS, et al., 2005).

Em estudo realizado por Bai et al. (2004) com maçãs 'Fuji', a aplicação de vapor de etanol proporcionou frutos com maior firmeza de polpa. O fornecimento de doses de etanol em tratamento de maçãs 'Royal Gala' resultou em frutos com maior firmeza após o armazenamento (WEBER et al., 2016). A perda de firmeza dos frutos pode ser reduzida devido à diminuição da atividade das enzimas responsáveis pela degradação da parede celular (KHAN; SINGH, 2007).

A aplicação de óxido nítrico em maçãs 'Cripps Pink' apresentou efeito nulo sob a firmeza de polpa após 5 meses de armazenamento e mais sete dias em condições ambiente, não diferindo do controle. Isso pode ser explicado pelo fato de que altas taxas de etileno foram produzidas pelo tratamento. O etileno está diretamente envolvido no aumento das atividades das enzimas de amaciamento de frutas (KHAN; SINGH, 2007). Com resultados divergentes, Singh et al. (2009), observaram que a aplicação de óxido nítrico na dose de  $20 \mu\text{L L}^{-1}$  em ameixas diminui a perda de firmeza da polpa. O gás NO na dose de  $10 \mu\text{L L}^{-1}$  manteve a firmeza de polpa de peras 'Feicheng' (SUN et al., 2011).

Foi observado, na avaliação após o período de comercialização simulada, que os frutos que foram tratados com 1-MCP, apresentaram maior valor de acidez titulável (Tabela 4). Ao observar que a aplicação de 1-MCP proporcionou maior acidez titulável, é possível atribuir esse efeito a menor atividade respiratória que o produto conferiu nos frutos tratados. Sob essas condições, houve menor demanda por ácidos orgânicos como substratos no processo respiratório, que continuaram a ser produzidos e acumulados nos frutos. Cocci et al. (2014) verificaram em maçãs 'Pink Lady<sup>®</sup>', após 6 meses de armazenamento, que a aplicação de 1-MCP inibiu a perda de acidez dos frutos. Com resultados semelhantes, Brackmann et al. (2004), em maçãs 'Gala', e Corrent (2005), em maçãs 'Fuji', observaram uma maior preservação da acidez titulável em maçãs 'Fuji' tratadas com 1-MCP. A aplicação de 1-MCP atrasa a degradação dos ácidos orgânicos resultando em maiores níveis de acidez titulável, especialmente após um período de vida de prateleira dos frutos (ZANELLA et al., 2005).

Em relação aos sólidos solúveis (SS), observou-se que o tratamento com a aplicação de NO na dose de  $10 \mu\text{L L}^{-1}$  reduziu o teor de SS, em relação ao controle (Tabela 4). Em trabalho realizado com ameixas, os frutos fumigados com  $20 \mu\text{L L}^{-1}$  NO apresentaram menor SS. A aplicação de óxido nítrico em kiwis causou diminuição no teor de sólidos solúveis totais (ZHU et al., 2010). Zhu et al. (2006) relataram redução do teor de SS em pêssegos tratados com NO. Com a evolução do amadurecimento, e a respiração ocorrendo na ausência de fotossíntese, o teor de sólidos solúveis diminui devido à utilização desses compostos como substrato para a respiração.

Tabela 4 – Acidez titulável (AT; %), sólidos solúveis (SS; %) e relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT) em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).

Tratamentos	AT (%)	SS (°Brix)	SS/AT
	Após 7 dias em condições ambiente		
Controle	0,16 B	13,6 A	83,0 A
1-MCP ( $1 \mu\text{L L}^{-1}$ )	0,17 A	13,5 A	75,9 B
Etanol ( $6 \text{ mL kg}^{-1}$ )	0,15 B	13,4 AB	87,5 A
Óxido nítrico ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ )	0,15 B	13,1 B	84,3 A
Óxido nítrico ( $20 \mu\text{L L}^{-1}$ )	0,16 B	13,3 AB	82,0 A
C.V. (%)	4,8	1,8	4,5

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste LSD ( $p < 0,05$ ).

Corroborando com os dados obtidos, Gago et al. (2016) encontraram maior teor de sólidos solúveis em maçãs ‘Golden Delicious’ tratadas com 1-MCP, após seis meses de armazenamento, seguido de sete dias em temperatura ambiente. Brackmann et al. (2004), em experimentos com maçãs ‘Gala’, constataram que após 6 meses de armazenamento, seguido de 14 dias em temperatura ambiente, os frutos tratados com 1-MCP obtiveram maiores teores de sólidos solúveis. Ainda, Corrent et al. (2005) verificaram que para maçãs ‘Fuji’ tratadas com 1-MCP e armazenadas em AA, os SS foram mais elevados do que em frutas que não receberam tratamento com 1-MCP, devido a menor atividade respiratória relacionada a menor produção de etileno, podendo assim esclarecer os resultados obtidos no presente trabalho.

Os frutos tratados com 1-MCP apresentaram menor relação SS/AT, devido a maior acidez dos frutos tratados com 1-MCP (Tabela 4). O sabor é um dos

componentes mais subjetivos da qualidade das frutas e é resultado da combinação entre as sensações produzidas pelo paladar e o olfato. Nos frutos, o gosto é composto principalmente pelo teor de açúcares e pela relação deste teor com o de acidez titulável, e o sabor, pela combinação do gosto com o olfato, estimulado pelos produtos voláteis (BALDWIN, 2002). Do ponto de vista fisiológico, o comportamento observado neste trabalho pode ser explicado por menor atividade metabólica das maçãs tratadas com 1-MCP, representada pela menor produção de etileno. Segundo Pech (2002), os ácidos orgânicos constituem, juntamente com os açúcares, os substratos da respiração e estão intrinsecamente ligados à conservabilidade de maçãs.

#### 4.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (AAT)

A aplicação de 1-MCP propiciou frutos com maior conteúdo de CFT na casca, porém, não diferiu estatisticamente do tratamento com óxido nítrico (Tabela 5).

O estresse causado aos frutos, em razão do armazenamento, pode ativar o metabolismo secundário das células, que é uma das rotas formadoras de compostos fenólicos (DING et al., 2001). Em resultados semelhantes, Lee, Jeong e Ku (2017), em maçãs 'Fuji' tratadas com 1-MCP, em comparação com aquelas não tratadas, apresentaram valores significativamente maiores de compostos fenólicos na casca. Em maçãs 'Jonagold' tratadas com 1-MCP e armazenadas por 6 meses, Ma et al. (2019) encontraram maiores valores de CFT na casca em comparação aos frutos não tratados. Em resultados contrastantes, Hoang, Golding e Wilkes (2011) encontraram menor teor de CFT em casca de maçãs 'Cripps Pink' tratadas com 1-MCP, quando comparado aos frutos não tratados.

Yamasaki et al. (2001) sugerem que óxido nítrico atua na supressão da ATP sintase nas mitocôndrias, que podem ser atribuídas ao efeito inibitório sobre o citocromo da cadeia de transporte de elétrons. Em estudos realizados com bananas, a aplicação de óxido nítrico exógeno reduziu danos causado pelo armazenamento a baixas temperaturas devido ao aumento de antioxidantes no sistema de defesa e metabólitos secundários (WANG et al., 2013). Resultados divergentes foram obtidos por Brackmann et al. (2015), onde, utilizando duas doses de óxido nítrico e uma dose

de etanol em maçãs ‘Galaxy’ não observaram diferença entre os tratamentos e o controle para os CFT.

Tabela 5 – Conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT; mg EAG.100 g<sup>-1</sup> de massa fresca) e atividade antioxidante total (AAT; quantificada pelos métodos DPPH e ABTS, expressa em µMol de equivalente Trolox.g<sup>-1</sup> de massa fresca), em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada (1±0,5 °C e 96±2% de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente (20±0,5 °C e 63±2% de UR).

Tratamentos	CFT (mg EAG.100 g <sup>-1</sup> )	Atividade antioxidante	
		DPPH (µMol de equivalente Trolox.g <sup>-1</sup> de massa fresca)	ABTS
		Após 7 dias em condições ambiente	
		Casca	
Controle	184,0 C	3787,5 B	6,24 C
1-MCP (1 µL L <sup>-1</sup> )	250,3 A	2718,7 CB	10,06 AB
Etanol (6 mL kg <sup>-1</sup> )	229,9 B	5202,0 A	8,86 B
Óxido nítrico (10 µL L <sup>-1</sup> )	235,5 AB	2685,4 CB	10,24 AB
Óxido nítrico (20 µL L <sup>-1</sup> )	248,9 AB	2233,3 C	11,39 A
C.V. (%)	5,8	23,8	11,3
		Polpa	
Controle	30,9 <sup>ns</sup>	85,7 <sup>ns</sup>	2,38 <sup>ns</sup>
1-MCP (1 µL L <sup>-1</sup> )	30,3	90,3	2,18
Etanol (6 mL kg <sup>-1</sup> )	31,8	84,2	2,40
Óxido nítrico (10 µL L <sup>-1</sup> )	30,6	87,9	2,47
Óxido nítrico (20 µL L <sup>-1</sup> )	31,3	85,3	2,45
C.V. (%)	5,5	7,3	8,9

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste LSD (p<0,05). ns: não significativo (p>0,05).

Com relação a aplicação do vapor de etanol, o conteúdo de compostos fenólicos foi maior em relação ao controle. Além do retardo da senescência, o tratamento com vapor de etanol, em brócolis, incrementou o conteúdo de compostos fenólicos (XU et al., 2012) Os compostos fenólicos acumulam-se como consequência do estresse e da produção de radicais reativos, podendo oxidar-se através da ação da PPO, convertendo fenóis em quinonas, que se polimerizam para formar melanina (pigmento escuro), que reduz a qualidade visual de frutos (CHARLES et al., 2013). O etanol pode representar uma fonte de estresse oxidativo nas maçãs.

Os CFT são compostos que têm participação no “*flavor*”, na coloração, na vida de prateleira e na ação do produto como alimento funcional, notadamente como

antioxidantes. A concentração de fenólicos é correlacionada com a ação antioxidante, podendo ser utilizada para o acompanhamento da perda de qualidade do produto na fase pós-colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Segundo relatado por Sies e Stahk (1995), os antioxidantes podem ser definidos como quaisquer substâncias que, presentes em baixas concentrações quando comparadas a um substrato oxidável, atrasam ou inibem a oxidação deste substrato de maneira eficaz.

Estudos mostram que a síntese de antocianinas e o etileno estão intimamente relacionados, no entanto, ainda não está bem esclarecido como a sinalização de etileno estimula a síntese de antocianinas na casca da maçã (HONDA; MORIYA, 2018). Tsao et al. (2005) atribuíram grande importância às antocianinas no teor de compostos fenólicos totais. As plantas contêm fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados do ácido benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos, lignanas e ligninas (NACZK; SHAHIDI, 2006).

A aplicação de vapor de etanol proporcionou frutos com maior ATT na casca das maçãs 'Cripps Pink', pelo método DPPH (Tabela 5). Kristl et al. (2011) observaram que a evolução do amadurecimento resultou em aumento na ATT de ameixas. De acordo com Rotili et al. (2013), a atividade antioxidante em frutos é decorrente da ação de uma variedade de compostos que são degradados ou sintetizados durante o armazenamento, em resposta a estresses bióticos e abióticos. Hoang, Golding e Wilkes (2011), constataram que conforme o acréscimo do tempo de armazenamento, houve também um aumento na AAT, em casca de maçãs 'Cripps Pink'. Em trabalhos realizados por Fernandes et al. (2018), a aplicação de 3 mL kg<sup>-1</sup> por 24 horas em maçãs 'Pink Lady<sup>®</sup>' reduziu o teor de AAT, quantificado pelo método DPPH.

Em referência ao método ABTS, a aplicação dos tratamentos proporcionou frutos com maior ATT na casca das maçãs, onde todos os tratamentos diferiram do controle, com destaque ao tratamento com óxido nítrico (20 µL L<sup>-1</sup>) (Tabela 5). Tendo em vista tais resultados, é importante salientar que apesar dos altos níveis de antioxidantes serem desejáveis e benéficos a saúde humana (SOETHE et al., 2016), as maçãs tratadas com óxido nítrico (20 µL L<sup>-1</sup>) não mantiveram a qualidade dos frutos. Isto porque produziu alta taxa de etileno, o que resulta em frutos menos firmes e com alto teor de açúcar, tornando-os menos atrativos ao consumidor.

No entanto, na polpa das maçãs 'Cripps Pink', não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, tanto pelo método DPPH quanto pelo

método ABTS (Tabela 5). A ausência de diferença para AAT pode estar relacionada a ausência de diferença para o conteúdo de CFT, pois de acordo com Zheng et al. (2012) e Panzella et al. (2013), os CFT são os principais contribuintes da AAT em maçãs, o que pode ser observado no presente trabalho.

Para cada cultivar, existem grupos de compostos fenólicos específicos (STANGER et al., 2017). Estes grupos de compostos fenólicos diferentes levam a variações na atividade antioxidante total (ZHENG; KIM; CHUNG, 2012). E ainda, a AAT resulta da presença de várias moléculas, como o ácido ascórbico, não podendo assim, ser relacionada a uma única classe de compostos (BOLLING; CHEN; CHEN, 2013). Para Vieira et al. (2009a) e Vieira et al. (2009b), os diferentes métodos de extração e análise, bem como as diferentes cultivares de maçã, podem contribuir para a variação nos níveis de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Com relação ao conteúdo de CFT e ATT não foi observada diferença entre os tratamentos na polpa das maçãs (Tabela 5).

#### 4.3 ATIVIDADE ENZIMÁTICA E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Com relação a atividade da enzima SOD, o tratamento com óxido nítrico, independente da dose, obteve menor atividade da enzima na casca de maçãs 'Cripps Pink', com destaque para a maior dose de ON que apresentou uma atividade da SOD ainda menor. Já os demais tratamentos não diferiram entre si (Tabela 6). Zhu et al. (2008), obtiveram resultados contrastantes ao presente trabalho em kiwi, onde a atividade da SOD teve aumentos em frutos tratados com óxido nítrico. O NO desencadeou a expressão da enzima superóxido dismutase em pêssegos (FLORES et al., 2008).

A SOD é a primeira enzima ativada em reações de peroxidação e a produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pode servir como um mensageiro químico no caso de um eventual estresse, antes de ser metabolizado pela CAT e POD. As SODs são metaloenzimas que protegem as células dos radicais reduzindo-os a O<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e formam a primeira linha de defesa contra as EROs. Sua atividade tem sido associada aos estresses fisiológicos, como baixa temperatura, estresses hídricos e oxidativos (LURIE, 2003).

A SOD também participa ativamente na remoção de O<sub>2</sub><sup>-</sup>, gerado através de diferentes processos do metabolismo celular, tais como o transporte de elétrons na mitocôndria e cloroplastos, citosol e peroxissomos. O produto da dismutação do

superóxido pela SOD, o  $\text{H}_2\text{O}_2$ , deve ser removido a fim de evitar sua conversão em radicais mais reativos, como o  $\text{OH}^\cdot$  (MITTLER, 2002).

Quando fornecido em baixas concentrações, o NO promove ativação dessa enzima, potencializando o sistema de defesa. Em trabalho com kiwi realizado por Zhu et al. (2008), o tratamento com  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  de NO inibiu a atividade da enzima, corroborando com os dados obtidos no presente trabalho. Contrastando, os mesmos autores quando utilizaram a dose de  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  NO observaram ativação da SOD nos frutos tratados.

Tabela 6 – Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD;  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$ ) e peroxidase (POD;  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$ ) em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5^\circ\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses, seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).

Tratamentos	SOD	POD
	( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$ )
	Após 7 dias em condições ambiente	
	Casca	
Controle	2,51 A	10,95 BC
1-MCP ( $1 \mu\text{L L}^{-1}$ )	2,52 A	13,35 A
Etanol ( $6 \text{ mL kg}^{-1}$ )	2,50 A	9,30 C
Óxido nítrico ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ )	1,72 B	11,16 ABC
Óxido nítrico ( $20 \mu\text{L L}^{-1}$ )	1,09 C	12,16 AB
C.V. (%)	18,77	12,9
	Polpa	
Controle	0,62 B	2,60 B
1-MCP ( $1 \mu\text{L L}^{-1}$ )	2,59 A	2,59 B
Etanol ( $6 \text{ mL kg}^{-1}$ )	0,20 B	2,07 B
Óxido nítrico ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ )	1,46 AB	3,30 A
Óxido nítrico ( $20 \mu\text{L L}^{-1}$ )	0,73 B	3,41 A
C.V. (%)	81,65	18,83

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de LSD ( $p < 0,05$ ).

O tratamento com 1-MCP obteve maior atividade enzimática da SOD na polpa das maçãs após sete dias em condições ambiente, diferindo do controle, porém sem diferir do tratamento com óxido nítrico na dose de  $10 \mu\text{L L}^{-1}$  (Tabela 6). O 1-MCP mostrou um efeito de indução da atividade da SOD ao longo do período de armazenamento em pêssegos (ZHENG, 2012). Com resultados divergentes, Wang et al. (2010) relataram que o 1-MCP aplicado em mangas cultivar ‘Tainong’ inibiu a atividade das enzimas CAT, SOD e APX. Os resultados sugerem que o 1-MCP pode

ter papel positivo na regulação da ativação do balanço do metabolismo do oxigênio. Segundo Shi et al. (2013), dados indicam que o 1-MCP teve resultados distintos na eliminação do oxigênio ativo em diferentes espécies como caquis (BRACKMANN et al., 2002), repolhos (BRACKMANN et al., 2003) e até mesmo em flores, como é o caso do lírio oriental (CELIKEL; REID, 2002).

A atividade da enzima peroxidase (POD) na casca das maçãs foi maior em frutos tratados com 1-MCP, porém sem diferir dos tratamentos com óxido nítrico, em ambas as doses avaliadas (Tabela 6). O início da escaldadura está relacionado a capacidade da atividade de enzimas antioxidantes, como a POD de desintoxicar espécies reativas de oxigênio (SHAHAM; LERS; LURIE, 2003), como pode ser observado nos resultados obtidos no presente trabalho, onde frutos tratados com 1-MCP não apresentaram tal distúrbio (Tabela 2).

Corroborando com os dados obtidos, Shi et al. (2013) verificaram um aumento na atividade da enzima POD com o prolongamento do tempo de armazenamento de damascos japoneses submetidos ao tratamento com 1-MCP. Contrastando com os resultados obtidos, Arquiza et al. (2005), em estudos realizados com maçãs 'Delicious', observaram que o 1-MCP proporcionou frutos com menor atividade da POD que outros tratamentos, o que também foi encontrado por Shaham et al. (2003). Segundo Aryanpooya et al. (2010), a atividade enzimática, tanto da POD como da superóxido dismutase (SOD), variou conforme o estágio de amadurecimento dos frutos, onde nos estágios iniciais de amadurecimento o tratamento com 1-MCP reprimiu o aumento da atividade das enzimas, enquanto nos estágios tardios de amadurecimento a atividade foi diminuída, contrastando com os resultados obtidos. Desta forma, pode-se constatar que mesmo dentro da mesma espécie, é possível encontrar respostas diferentes, uma vez que estes processos estão condicionados a vários fatores fisiológicos e não fisiológicos (ZHANG et al., 2009).

O tratamento que proporcionou maior atividade da enzima POD na polpa das maçãs foi a aplicação de óxido nítrico, em ambas as doses avaliadas (Tabela 6). O óxido nítrico aumentou a expressão da enzima POD em pêssegos submetidos a esse tratamento (FLORES et al., 2008). A capacidade do NO em exercer a função de proteção da célula contra o estresse oxidativo está relacionada aos fatores como a reação com radicais lipídicos, à eliminação do ânion superóxido ( $O_2^-$ ) e formação de peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), que é tóxico para as plantas, e à ativação de enzimas do sistema antioxidativo como catalase (CAT), SOD e POD (HAYAT et al., 2010). Tais

enzimas são ativadas durante a fase de senescência para reduzir as EROs como ânion superóxido, radicais hidroxil ( $\text{OH}^\cdot$ ),  $\text{H}_2\text{O}_2$  e oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), naturalmente formadas, e que podem causar danos e morte celular (FERRANTE; FRANCINI, 2006).

Estresses ambientais como elevadas ou baixas temperaturas, e infecções patogênicas são potencialmente prejudiciais aos frutos (VAN BREUSEGEM et al., 2001). Uma alteração metabólica que ocorre em frutos em condições de estresse é o aumento da produção de EROs (APEL & HIRT, 2004; FOYER & NOCTOR, 2005). Para evitar o acúmulo das EROs as plantas possuem sistemas de defesa antioxidantes eficientes, enzimáticos e não-enzimáticos, que permitem a eliminação dessas espécies ativas e a proteção contra os danos oxidativos (HERNÁNDEZ et al., 2001). O sistema defensivo enzimático envolve ação de enzimas como a SOD, CAT, POD, glutathiona peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX), glutathiona redutase (GR) e glutathiona S-transferase (GSTs) (SCANDALIOS, 2005). A POD utiliza o  $\text{H}_2\text{O}_2$  como oxidante e composto de natureza fenólica como doadores de elétrons. Dessa forma, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  formado pela ação da SOD também pode ser eliminado pela POD além da CAT (LOCATO et al., 2010).

O conteúdo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  se mostrou mais elevado, tanto na polpa quanto na casca, em maçãs “Cripps Pink” tratados com óxido nítrico. Além disso, a aplicação de 1-MCP proporcionou conteúdo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  na polpa maior que o controle (Tabela 7). A aplicação do óxido nítrico, nas doses estudadas pode ter gerado um estresse e por isso resultou em maiores concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , tanto na casca como na polpa, dos frutos submetidos a esse tratamento. Segundo Romero-Puertas et al. (2004), o excesso de NO nos tecidos pode resultar em morte celular, sendo importante o equilíbrio entre esse composto e o  $\text{H}_2\text{O}_2$  (NEILL et al., 2003). Os níveis endógenos do NO são determinados pelo balanço entre a síntese e a degradação desse radical (MURGIA et al., 2004).

Níveis mais baixos de peróxido de hidrogênio foram relatados por Vilaplana e Valentine (2006), em maçãs tratadas com 1-MCP. Em contrapartida, no presente trabalho o teor de  $\text{H}_2\text{O}_2$  na polpa foi mais elevado no tratamento com 1-MCP se comparado ao controle. Como as EROs, altas concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  são frequentemente indicação de estresse oxidativo, embora também sejam importantes na transdução de sinal envolvida em vários processos (APEL & HIRT, 2004). A concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi maior em AC se comparada ao AR em armazenamento de maçãs 'Pink Lady', sugerindo uma resposta ao estresse (DE CASTRO et al., 2008).

O  $H_2O_2$  pode desempenhar papel de molécula de sinalização, porém se tornou metabólito tóxico nessa forma de armazenamento (AC). Pesquisas adicionais são requeridas.

Tabela 7 – Teor de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ;  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) em maçãs ‘Cripps Pink’ submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5^\circ\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses seguidos por mais 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).

Tratamentos	$H_2O_2$ ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )	
	Casca	Polpa
	Após 7 dias em condições ambiente	
Controle	5,94 B	4,62 D
1-MCP ( $1 \mu\text{L L}^{-1}$ )	5,99 B	6,27 BC
Etanol ( $6 \text{ mL kg}^{-1}$ )	6,02 B	6,00 DC
Óxido nítrico ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ )	8,16 A	8,16 A
Óxido nítrico ( $20 \mu\text{L L}^{-1}$ )	7,78 A	7,47 AB
C.V. (%)	10,07	14,92

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de LSD ( $p < 0,05$ ).

O  $H_2O_2$  é considerado um dos sinais envolvidos em morte celular programada (BEERS; McDOWELL, 2001) e é produzido a partir de diferentes fontes do metabolismo normal, mas, sob estresse abiótico, a sua produção é bastante aumentada. Nesse sentido a aplicação do 1-MCP ou até mesmo o estresse desencadeado pelo frio podem ter aumentado o teor de peróxido de hidrogênio.

Na polpa dos frutos, menores concentrações de  $H_2O_2$  foram detectadas em tratamentos que também resultaram em menor atividade da enzima POD. Isso pode estar atrelado ao fato de que outras enzimas, além da POD que atua na remoção do  $H_2O_2$  (MERIGA et al., 2004), na oxidação de fenóis, na síntese de compostos fenólicos tóxicos aos fungos e na síntese de lignina (CAMPOS et al., 2004), também podem agir na detoxificação do  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ , a CAT e a APX (YAN et al., 2011; MITTLER et al., 2004).

De maneira geral, é importante ressaltar que por questões de logística os frutos de todos os tratamentos foram acondicionados em uma mesma minicâmara durante os cinco meses de armazenamento onde permaneceram em ambiente expostos ao etileno, fato esse que pode vir a justificar a ausência ou então a menor eficiência do vapor de etanol e do óxido nítrico, desse modo estudos adicionais devem ser realizados.



## 5 CONCLUSÕES

A aplicação pós-colheita de 1-MCP, na condição de atmosfera controlada (1,2 kPa de O<sub>2</sub> + <0,5 kPa CO<sub>2</sub>, na temperatura de 1,5 ± 0,2°C e umidade relativa de 96 ± 2%) avaliada, resulta em uma melhor manutenção da qualidade e maior retardo do amadurecimento de maçãs 'Cripps Pink'.

A aplicação do etanol, nas condições avaliadas, não apresenta efeito adicional sobre a manutenção da qualidade dos frutos.

Frutos armazenados em atmosfera controlada e submetidos a aplicação de óxido nítrico em ambas as doses avaliadas não apresentam resposta positiva ao tratamento, onde o mesmo não se mostra eficaz no retardo do amadurecimento de maçãs 'Cripps Pink' quando comparados aos frutos da colheita.



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de maçãs concentrada em um curto período de safra, atrelada a crescente preocupação dos consumidores por frutos tratados com quantidades menores de agrotóxicos ou até mesmo orgânicos, torna necessária a busca por novas tecnologias que aliadas a atmosfera controlada venham a prolongar o tempo de armazenamento e a vida de prateleira sem que se comprometam suas qualidades.

A utilização de vapor de etanol e óxido nítrico podem se mostrar eficientes no retardo do amadurecimento, na manutenção da qualidade dos frutos além de estender o período de armazenamento. No entanto, essas alternativas não apresentaram resultados superiores ao 1-MCP, porém são resultados preliminares. Ainda existe uma quantidade bastante significativa de fatores que podem vir a alterar a ação desses produtos, como, momento da colheita, o clima que antecede a colheita, o tempo para a aplicação do produto, a dose utilizada, o tempo de exposição dos frutos ao tratamento e o tempo de armazenamento em AC. Neste sentido, são necessários mais estudos para ajustar a melhor dosagem, o tempo correto de exposição dos frutos bem como o tempo de armazenamento. A ausência de efeitos e/ou uma menor eficiência, tanto do vapor de etanol como do óxido nítrico, pode estar ligada a forma de aplicação dos produtos utilizados, bem como o fato de os tratamentos terem sido acondicionados em uma mesma minicâmara e estando expostos ao etileno no ambiente durante todo o período de armazenamento, dessa forma podendo ter mascarado alguns resultados.

A eficiência desses produtos sobre o potencial de armazenamento e a qualidade pós-colheita dos frutos é relevante, por se tratarem de moléculas produzidas naturalmente pelos mesmos. Estudos mais aprofundados são necessários para que se possa confirmar esses produtos como alternativa na conservação pós-colheita de frutos.



## REFERÊNCIAS

- ABDI, N. et al. Responses of climacteric and suppressed-climacteric plums to treatment with propylene and 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, v.14, p.29-39, 1998.
- ABOUL-SOUD M. O óxido nítrico exógeno tem um impacto negativo nas emissões de etileno de frutos de tomate intactos e minimamente processados. **Research Journal of Biological Sciences**, v.5, p.209-14, 2010.
- ABPM. Informações estatísticas. **Associação Brasileira dos Produtores de Maçã**. Online. Disponível em: <<http://www.abpm.org.br/estatisticas/informacoesestatisticas.htm>>. Acesso em: 18 maio 2018.
- AGAPOMI, **Associação Gaúcha dos Produtores de Maçã**. Disponível em: <[www.agapomi.com.br](http://www.agapomi.com.br)>. Acesso em: 12 out. 2018.
- AKBUDAK, et al. Response of 1-methylcyclopropene treated “Granny Smith” apple fruit to air and controlled atmosphere storage conditions. **Journal of Food Quality**, v.32, n.1, p.18-33, 2009.
- AMARANTE, C. V. T. et al. Alteração da eficiência do 1-MCP com o retardo na sua aplicação após a colheita em maçãs 'Fuji Suprema'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.4, p.984-992, 2010.
- ANAMI, J. M. et al. Vapor do etanol e 1-metilciclopropeno na manutenção da qualidade de maçãs 'Cripps Pink' armazenadas. **Congrega Urcamp**, v.14, n.14, 2017.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, n.123, p.373-399, 2004.
- ARGENTA, L. C. et al. Diagnóstico da qualidade de maçãs no mercado varejista brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.37, n.1, p.48-63, 2015.
- ARGENTA, L. C. Fisiologia e tecnologia pós-colheita: Maturação, colheita e armazenagem dos frutos. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. 2 ed. Epagri, Florianópolis, v.1, p.691-732, 2006.

ARGENTA, L. C.; VIEIRA, M. J.; SCOLARO, A. M. T. Validação de catálogos de cores como indicadores do estágio de maturação e do ponto de colheita de maçã. **Revista Agropecuária Catarinense**, v.23, n.3, p.71-77, 2010.

ARORA, A. Biochemistry of flower senescence. In: PALIYATH, G.; MURR, D. P.; HANDA, A. K.; LURIE, S (Eds.). **Postharvest biology and technology of fruits, vegetables and flowers**. Ames: Wiley-Blackwell, p.51-85, 2008.

ARQUIZA, J. et al. 1-Methylcyclopropene interactions with diphenylamine on diphenylamine degradation,  $\alpha$ -farnesene and conjugated trienol concentrations, and polyphenol oxidase and peroxidase activities in apple fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.7565-7570, 2005.

ARYANPOOYA, Z; DAVARYNEJAD, G. H.; NEMATI, S. H. Some physical properties of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) fruit after ethephon application. In: **28th International horticultural congress**, v.28, p.13, 2010.

ASIF, M. H. et al. Effect of low oxygen, temperature and 1-methylcyclopropene on the expression of genes regulating ethylene biosynthesis and perception during ripening in apples. **South African Journal of Botany**, v.75, p.137-144, 2009.

ASODA, T. et al. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ethylene responsiveness in broccoli. **Postharvest Biology and Technology**, v.52, n.2, p.216-220, 2009.

ASODA, T. et al. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ethylene responsiveness in broccoli. **Postharvest Biology and Technology**, v.52, p.216-220, 2009.

BAAB, G. 'Cripps Pink' (cov) die Sorte, 'Pink Lady' die frucht. **Obstbau**, Bonn, n.5, p.266-269, 1999.

BAI, J. et al. Effect of pretreatment of intact 'Gala' apple with ethanol vapor, heat, or 1-methylcyclopropene on quality and shelf life of fresh-cut slices. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.129, n.4, p.583-593, 2004.

BAI, J. et al. Response of four apple cultivars to 1-methylcyclopropene treatment and controlled atmosphere storage. **Hort Science**, v.40, p.1534-1538, 2005.

BALDWIN, E. A. **Flavor. USDA/ARS, citrus and subtropical products laboratory, winter haven, Florida, EUA**. Disponível em: <<https://www.ars.usda.gov/pandp/people/people.htm?>>. Acesso em: 16 jul. 2019.

BALDWIN, E. A. Fruit flavor, volatiles metabolism and consumer perceptions. In: **Fruit Quality and its Biological Basis**. KNEE, M. ed. Sheffield: Academic Press. p.90-106, 2002.

BAVITA, A.; SHASHI, B.; NAVTEJ, S. B. Nitric oxide alleviates oxidative damage induced by high temperature stress in wheat. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.50, p.372-378, 2012.

BEERS, E. P.; MCDOWELL, J. M. Regulation and execution of programmed cell death in response to pathogens, stress and developmental cues. **Current opinion in plant biology**, Australia, v.4, n.6, p.561-567, 2001.

BLANKENSHIP, S. M.; DOLE, J. M. 1-Methylcyclopropene: a review. **Postharvest Biology and Technology**, v.28, p.1-25, 2003.

BOLLING, B. W.; CHEN, Y. Y.; CHEN, C. Y. O. Contributions of phenolics and added vitamin C to the antioxidant capacity of pomegranate and grape juices: synergism and antagonism among constituents. **International Journal of Food Science & Technology**, v.48, p.2650-2658, 2013.

BOTH, V., et al. Effect of storage under extremely low oxygen on the volatile composition of 'Royal Gala' apples. **Food Chemistry**, London, v.156, p.50-57, 2014.

BRACKMANN, A. et al. Absorção de 1-metilciclopropeno aplicado em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em atmosfera refrigerada juntamente com madeira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.6, p.1676-1681, 2009.

BRACKMANN, A. et al. Armazenamento de maçã 'Gala' em atmosfera controlada com remoção de etileno. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.4, p.647-650, 2003.

BRACKMANN, A. et al. Armazenamento de maçã 'Royal Gala' sob diferentes concentrações de etileno. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.6, p.39-41, 2000.

BRACKMANN, A. et al. Dynamic controlled atmosphere (DCA) monitored by respiration quotient and chlorophyll fluorescence for apple storage. In: **XI International Controlled & Modified Atmosphere Research Conference**, v.11, 2013.

BRACKMANN, A. et al. Efeito da temperatura e condições de atmosfera controlada na armazenagem de maçãs Fuji com incidência de pingo-de-mel. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, p.37-42, 2002.

BRACKMANN, A. et al. Effect of growth regulators on 'Brookfield' apple gas diffusion and metabolism under controlled atmosphere storage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, p.323-329, 2014.

BRACKMANN, A. et al. Ethanol and nitric oxide in quality maintenance of 'Galaxy' apples stored under controlled atmosphere. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v.39, n.5, p.1-9, 18 dez. 2017.

BRACKMANN, A. et al. Manutenção da qualidade pós-colheita de maçãs 'Royal Gala' e 'Galaxy' sob armazenamento em atmosfera controlada. **Ciência Rural**, v.38, p.2478-2484, 2008.

BRACKMANN, A. et al. Qualidade da maçã cv. Gala tratada com 1-metilciclopropano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.5, p.1415-1420, 2004.

BRACKMANN, A. et al. Temperatura e otimização da atmosfera controlada para o armazenamento de maçã 'Gala'. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.11, n.4, p.505- 508, 2005.

BRACKMANN, A.; CERETTA, M. Efeito da redução nos níveis de etileno e da umidade relativa no armazenamento de maçã 'Gala' em atmosfera controlada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.12, p.2169-2174, 1999.

BRACKMANN, A.; STEFFENS, C. A.; GIEHL, R. F. H. Maturação da maçã 'Fuji' em função do atraso na colheita e da aplicação pré-colheita de aminoetoxivinilglicina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.3, p.737-742, 2004.

BRICEÑO, S.; ZAMBRANO, J.; CASTELLANOS, E. Retardo en la maduración de frutos de mango cv. 'Kent' y 'Palmer' mediante la mezcla vermútila – KMnO<sub>4</sub> y silicagel- KMnO<sub>4</sub>. **Agronomía Tropical**, Maracay, v.49, n.1, p.41-49, 1999.

CALVO, G; GOMNILA, T. **Alteraciones de poscosecha de frutos de manzanas 'Cripps Pink'**. Anguil: INTA, 2014, 3 p. Disponível em: <[https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_alteraciones-poscosecha-de-manzanas-cripps-pink.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_alteraciones-poscosecha-de-manzanas-cripps-pink.pdf)>. Acesso em: 07 fev. 2019.

CAMPOS, Â. D. et al. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.7, p.637-643, 2004.

CASTRO, E. de; BIASI, W. V.; MITCHAM, E. J. Quality of Pink Lady apples in relation to maturity at harvest, prestorage treatments, and controlled atmosphere during storage. **Hortscience**, [s.l.], v.42, n.3, p.605-610, 2007.

CELIKEL, F. G.; REID, M. S. Postharvest handling of stock (*Matthiola incana*). **HortScience**, Alexandria, v.37, p.144-147, 2002.

CHENG, G. et al. Effect of nitric oxide on ethylene synthesis and softening of banana fruit slice during ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.5799-804, 2009.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. Lavras: FAEPE, p.785, 2005.

COCCI, E. et al. Response of Pink Lady® apples to post-harvest application of 1-methylcyclopropene as a function of applied dose, maturity at harvest, storage time and controlled atmosphere storage. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, v.94, n.13, p.2691-2698, 2014.

CORRENT, A. R. et al. Efeito do 1-metilciclopropeno em maçãs 'Fuji' armazenadas em atmosfera refrigerada e atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.11, n.1, p.91-94, 2005.

CRIPPS, J. E. L.; RICHARDS, L. A.; MAIRATA, A. M. 'Pink Lady' apple. **HortScience**, v.28, n.10, p.1057-1057, 1993. Disponível em: <<http://hortsci.ashspublications.org/content/28/10/1057.full.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2018.

CROUCH, I. Postharvest apple practices in South África. In: WASHINGTON TREE FRUIT POSTHARVEST CONFERENCE, 2003, Wenatchee: Washington State, **Horticultural Association**, p.1-3, 2003.

DE CASTRO, E. et al. Biochemical factors associated with a CO<sub>2</sub>-induced flesh browning disorder of Pink Lady apples. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, p.182-191, 2008.

DeELL, J. R. et al. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) increases CO<sub>2</sub> injury in apples. **Acta Horticulturae**, v.600, p.277-280, 2003.

DEL LONGO, O. T. et al. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, Córdoba v.34, n.7, p.1023-1028, 1993.

DeLONG, J. M.; PRANGE, R. K.; HARRISON, P. A. The influence of 1-methylcyclopropene on 'Cortland' and 'McIntosh' apple quality following long-term storage. **HortScience**, v.39, p.1062-1065, 2004.

DONG, L. et al. Ethylene involvement in the cold storage disorder of 'Flavortop' nectarine. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.23, n.2, p. 105-115, 2001.

DORR, A.C.; MARQUES, P.V. Exigências dos consumidores europeus em relação à maçã, na visão dos exportadores. **Organizações rurais e Agroindustriais**, v. 8, n. 1, p. 40-48, 2006.

DRAHORAD, W. Apfel – Qualität, markt und konsum. **Obstbau-Weinbau**, Schweiz, v.6, p.222-223, 1998.

EKMAN, J. H.; GOLDING, J. B.; McGLASSON, W. B. Innovation in cold storage technologies. **Stewart Postharvest Review**, v. 1, p. 1-14, 2005.

FARNETI, B. et al. Use of the index of absorbance difference (IAD) as a tool for tailoring post-harvest 1-MCP application to control apple superficial scald. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v.190, p.110-116, 2015.

FERNANDES, R. C. et al. Teor de composto fenólicos e atividade antioxidante em maçãs 'Pink Lady<sup>®</sup>' frigoconservadas em resposta ao vapor de etanol e 1-MCP. In: **13º Seminário Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado**, São Joaquim. Anais, 2018.

FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J. P. et al. Peroxidase activity and superficial scald development in apple fruit. **Journal of agricultural and food chemistry**, Davis, v.51, n.24, p.7182-7186, 2003.

FERRANTE, A.; FRANCINI, A. Ethylene and leaf senescence. In: **KHAN, N. A. Ethylene action in plants**. New York: Springer, p.51-67, 2006.

FIORAVANÇO J. C. et al. Avaliação da cultivar de macieira Pink Lady<sup>®</sup> em Vacaria, RS. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, Embrapa Uva e Vinho. **Comunicado Técnico**, v.112, p.8, 2011.

FLORES, F. B. et al. Efeitos de um pré-tratamento com óxido nítrico sobre o armazenamento de pessegueiro (*Prunus persica L.*) à temperatura ambiente. **European Food Research and Technology**, v.227, p.1599–611, 2008.

FLORES, F. et al. Role of ethylene in the biosynthetic pathway of liphatic ester aroma volatiles in Charentais Cantaloupe melons. **Journal of Experimental Botany**, v.53, p.201- 206, 2002.

FLORES, F. et al. The use of ethylene-suppressed lines to assess differential sensitivity to ethylene of the various ripening pathways in Cantaloupe melons. **Physiologia Plantarum**, v.113, p.128-133, 2001.

FOYER, C. H., NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a reevaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant Cell Environ**, v.28, p.1056- 71, 2005.

FRANCK, C. et al. Browning disorders in pear fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.43, p.1-13, 2007.

FU, L. et al. Effect of 1-methylcyclopropene on fruit quality and physiological disorders in yali pear (*Pyrus bretschneideri* rehd.) during storage. **Food Science and Technology International**, v.13, n.1, p.49–54, 2007.

FURLAN, C. R. C. et al. Resistência genética dos acessos do banco de germoplasma de macieira da Epagri à mancha foliar de glomerella (*Colletotrichum gloeosporioides*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.2, p.507-514, 2010.

GAGO, et al. Effect of harvest date and 1-MCP (SmartFresh™) treatment on 'Golden Delicious' apple cold storage physiological disorders. **Postharvest Biology and Technology**, v.110, p.77-85, 2015.

GAY, C.; COLLINS, J.; GEBICKI, J. M. Hydroperoxide assay with the ferric-xylenol orange complex. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.273, p.149–155, 1999.

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

GIRARDI, C. L. et al. Conservação de caqui (*Diospyros kaki*, L.), cv. Fuyu, pela aplicação de 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.25, n.1, p.53-55, 2003.

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, 2009.

HAJI, T.; YAEGAKI, H.; YAMAGUCHI, M. Softening of stony hard peach by ethylene and the induction of endogenous ethylene by 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC). **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.72, p.212-217, 2003.

HAN, J. H. et al. Physiology and quality responses of fresh-cut broccoli florets pretreated with ethanol vapor. **Journal of Food Science**, Hoboken, v.71, n.5, p.385-389, 2006.

HAN, J.H. et al. Physiology and quality responses of fresh-cut broccoli florets pretreated with ethanol vapor. **Journal of Food Science**, Hoboken, v.71, n.5, p.385-389, 2006.

HAYAT, S. et al. Nitric oxide: chemistry, biosynthesis and physiological role. In: HAYAT, S. et al. (Eds.). **Nitric oxide in plant physiology**. Ames: Wiley-Blackwell, p.1-16, 2010.

HENDGES, M. et al. 'Packham's triumph' pear response to 1- methylcyclopropene and nitric oxide treatments. **Revista Caatinga**, v.29, n.2, p.283-289, 2016.

HEIZEN, A. S. Qualidade de ameixas 'Laetitia' frigoconservadas e submetidas ao estresse inicial por baixo oxigênio, tratamento térmico e vapor de etanol. **Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção Vegetal)** - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2016.

HERMES-LIMA, M.; WILLMORE, W.G.; STOREY, K.B. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe(III) xylenol orange complex formation. **Free Radicals in Biology and Medicine**, San Diego, v.19, p.271–280, 1995.

HOANG, N. T. T.; GOLDING, J. B.; WILKES, M. A. The effect of postharvest 1-MCP treatment and storage atmosphere on 'Cripps Pink' apple phenolics and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v.127, n.3, p.1249-1256, 2011.

HONDA, C.; MORIYA, S. Anthocyanin biosynthesis in apple fruit. **The Horticulture Journal**, p.1-10, 2018.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal 2015**. Rio de Janeiro: IBGE, 2016. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/index.php>>. Acesso em: 12 out. 2018.

INTERNATIONAL PINK LADY ALLIANCE LIMITED. **Welcome to the International Pink Lady® Alliance**. Disponível em: <<http://www.pinkladyapples.com>>. Acesso em: 11 out . 2018.

JIANG, Y.; JOYCE, D. C.; MACNISH, A. J. Extension of shelf life of banana fruit by 1-methylcyclopropene in combination with polyethylene bags. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.16, p.187-193, 1999.

JIN, Y. Z. et al. Ethanol vapor treatment maintains postharvest storage quality and inhibits internal ethylene biosynthesis during storage of oriental sweet melons. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.86, p.372-380, 2013.

JOBLING, J. Harvest maturity is critical for Pink Lady fruit quality. **Sydney Postharvest Laboratory Information Sheets**, Sydney, p.1-5, 2002.

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

KADER, A. A. Fruit maturity ripening and quality relationships. proceedings international symposium on effect of pre and postharvest factors on storage of fruits. **Acta Horticulturae**, New York, v.485, p.203–208, 1999.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant physiology**, Oxford, v.57, n.2, p.315-319, 1976.

KHAN, A. S., SINGH, Z. 1-MCP regulates ethylene biosynthesis and fruit softening during ripening of 'Tegan Blue' plum, **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.43, p.298-306, 2007.

KLUGE, R. A. et al. Inibição do amadurecimento de abacate com 1-metilciclopropeno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v.37, n.7, p.895-901, 2002.

KRISTL, J. et al. Extractable antioxidants and non-extractable phenolics in the total antioxidant activity of selected plum cultivars (*Prunus domestica* L.): Evolution during on-tree ripening. **Food Chemistry**, Amsterdam, v.125, n.1, p.29-34, 2011.

KVTSCHAL et al. SCS 427 Elenise. Epagri, **Comunicado Técnico**, Caçador, p.6, 2015.

KWEON, H. J. et al. Fruit maturity, controlled atmosphere delays and storage temperature affect fruit quality and incidence of storage disorders of 'Fuji' apples. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.157, p.60-64, 2013.

LACERDA, M. A. D.; LACERDA, R. D.; ASSIS, P. C. O. A participação da fruticultura no agronegócio brasileiro. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, vol.4, n.1, 2004.

LAI, T. et al. Defense responses of tomato fruit to exogenous nitric oxide during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.62, p.127-132, 2011.

LARRIGAUDIÈRE, C. et al. Comparative study of the effects of 1-MCP treatment on apple quality by instrumental and multivariate analysis. **Journal of Science and Food Agriculture**, Oxford, v.88, p.1614-1621, 2008.

LEE, J.; JEONG, M.; KU, K. Chemical, physical, and sensory properties of 1-MCP-treated Fuji apple (*Malus domestica* Borkh.) fruits after long-term cold storage. **Applied Biological Chemistry**, v.60, n.4, p.363-374, 2017.

LEE, JINWOOK; MATTHEIS, J. P.; RUDELL, D; R. Antioxidant treatment alters metabolism associated with internal browning in 'Braeburn' apples during controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.68, p.32-42, 2012.

LELIÈVRE, J. M. et al. Effects of chilling on the expression of ethylene biosynthetic genes in Passe-Grassane pear (*Pyrus communis* L.) fruits. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v.33, p.847-855, 1997.

LESHEM, Y. Y.; WILLS, R. B. H.; KU, V. V. Evidence for the function of the free radical gas – nitric oxide (NO) – as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.36, n.11, p.825-833, 1998.

LESHEM, Y. Y.; WILLS, R. B. H.; KU, V. V. V. Evidence for the function of the free radical gas nitric oxide (NO) as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Poitiers, v.36, n.11, p.825-833, 1998.

LI, T. et al. Exploring the apple genome reveals six ACC synthase genes expressed during fruit ripening. **Scientia Horticulturae, Amsterdam**, v.157, p.119-123, 2013.

LICHTER, A.; GABLER, F. M.; SMILANICK, J. L. Control of spoilage in table grapes. **Stewart Postharvest Review**, Quebec, v.6, n.1, p.1-10, 2006.

LIMA, L. C. et al. Perda de firmeza de polpa de maçãs (*Malus domestica*, Borkh) 'Royal Gala' armazenadas sob refrigeração e atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.22, p.26-31, 2000.

LITTLE, C. R.; HOLMES, R. J. Harvest maturity. In: LITTLE, C. R.; HOLMES, R. J. **Storage technology for apples and pears**. Knoxfield: Department of Natural Resources and Environment, p.112-152, 2000.

LIU, W. W. et al. Ethanol treatment inhibits internal ethylene concentrations and enhances ethyl ester production during storage of oriental sweet melons (*Cucumis melo* var. *makuwa* Makino). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.67, p.75-83, 2012.

LOCATO, V. et al. Reactive oxygen species and ascorbate glutathione interplay in signaling and stress responses. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfield: **Science Publishers, Jodhpur**, p.45-64, 2010.

LU, X.; MA, Y.; LIU, X. Effects of maturity and 1-MCP treatment on postharvest quality and antioxidant properties of 'Fuji' apples during long-term cold storage. **Horticulture, Environment, And Biotechnology**, [s.l.], v.53, n.5, p.378-386, 2012.

LURIE, S. Antioxidants. In: HODGES, D.M. **Postharvest oxidative stress in horticultural crops**. New York: Food Products Press, p.131-150, 2003.

LYONS, J. M. The influence of temperature on fruit ripening. **Colloques Internationaux Du Centre National de la Recherche Scientifique**, Paris, n.238, p.17-21, 1975.

MA, B. et al. Subcellular localization and membrane topology of the melon ethylene receptor CmERS1. **Plant Physiology**, Waterbury, v.141, p.587-597, 2006.

MA, Y. et al. 1-Methylcyclopropene (1-MCP), storage time, and shelf life and temperature affect phenolic compounds and antioxidant activity of 'Jonagold' apple. **Postharvest Biology and Technology**, v.150, p.71-79, 2019.

MANJUNATHA, G.; LOKESH, V.; NEELWARNE, B. Nitric oxide in fruit ripening: trends and opportunities. **Biotechnology Advances**, Amsterdam, v.28, n.4, p.489-499, 2010.

MARIN, A. B. et al. Measuring consumer response to "Gala" apples treated with 1-methylcyclopropene (1-MCP). **Postharvest Biology and Technology**, v.51, p.73-79, 2009.

MARTIN, M.S. de et al. Escurecimento da polpa em pera 'Rocha' influenciado pela composição mineral do fruto e condições de atmosfera controlada. **Bragantia**, v.76, n.2, p.318-326, 2017.

MENDONÇA, K. et al. Concentração de etileno e tempo de exposição para desverdecimento de limão 'Siciliano'. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.6, n.2, p.179-183, 2003.

MERIGA, B. et al. Aluminium-induced production of oxygen radicals, lipid peroxidation and DNA damage in seedlings of rice (*Oriza sativa* L.). **Journal of Plant Physiology**, v.161, p.63-68, 2004.

MITTLER, R. et al. Reactive oxygen gene network of plant. **Trends in Plant Science**, v.9, p.490-498, 2004.

MOGGIA, C. et al. Effect of DPA [Diphenylamine] and 1-MCP [1-methylcyclopropene] on chemical compounds related to superficial scald of 'Granny Smith' apples. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.69, p.383-390, 2010.

MOGGIA, C.; PEREIRA, M. Manzanillas Pink Lady. **Pomáceas Boletín Técnico**, Talca, v.3, n.4, p.1-3, 2003.

MOSQUERA, D.J. et al. Qualidade pós-colheita de maçãs 'Gala' tratadas com 1-metilciclopropeno. **Revista da 15ª Jornada de Pós-graduação e Pesquisa**, Bagé, v.15, n.15, 2018.

MURGIA I. et al. Comparative effects of various nitric oxide donors on ferritin regulation, programmed cell death, and cell redox state in plant cells. **Journal of Plant Physiology**, v.161, p.777-783, 2004.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v.41, p.1523–1542, 2006.

NEILL, S. J. et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v.53, p.1237-1247, 2002.

PANZELLA, L. et al. A reappraisal of traditional apple cultivars from Southern Italy as a rich source of phenols with superior antioxidant activity. **Food Chemistry**, Barking, v.140, n.4, p.672–679, 2013.

PECH, J.C. Unraveling the mechanisms of fruit ripening and development of sensory quality through the manipulation of ethylene biosynthesis in melon. In: Nato advanced research workshop on biology and biotechnology of the plant hormone ethylene, Murcia. **Anais**, 2002.

PECHOUS, S. W.; WATKINS, C. B.; WHITAKER, B. D. Expression of  $\alpha$ -farnesene synthase gene AFS1 in relation to levels of  $\alpha$ -farnesene and conjugated trienols in peel tissue of scald-susceptible 'Law Rome' and scald-resistant 'Idared' apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.35, n.2, p.125-132, 2005.

PEDRESCHI, R. et al. Metabolic profiling of 'Conference' pears under low oxygen stress. **Postharvest Biology and Technology**, v.54, p.123-130, 2009.

PEREIRA, W. S. P.; BELTRAN, A. Mecanismos de ação e uso de 1-MCP – bloqueador da ação de etileno, visando prolongar a vida útil das frutas. In: ZAMBOLIM, L. (Org.). **Manejo integrado: fruteiras tropicais-doenças e pragas**. Viçosa: MG: UFV, v.1, p.1-30, 2002.

PESIS, E. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, v.37, p.1-19, 2005.

PETRI, J. L. et al. Avanços na cultura da macieira no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.especial, p.48-56, 2011.

PRASANNA, V.; PRABHA, T. N.; THARANATHAN, R. N. Fruit ripening phenomena-an overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.47, n.1, p.1-19, 2007.

PRISTIJONO P, WILLS R, GOLDING J. Inibição do escurecimento da superfície das fatias de maçã por exposição a curto prazo ao gás de óxido nítrico (NO). **Biology and Technology Pós-colheita**, v.42, p.256–9, 2006.

PROCHÁZKOVÁ, D.; WILHELMOVÁ, N. Nitric oxide, reactive nitrogen species and associated enzymes during plant senescence. Nitric Oxide receptor. **Botanical Bulletin Academia Sínica**, v.24, p.61-65, 2011.

QUAN, L. J. et al. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.50, p.2-18, 2008.

RITENOUR, M. A. et al. Ethanol effects on the ripening of climacteric fruit. **Postharvest Biology Technology**, v.12, p.35–42, 1997.

ROMANAZZI, G; KARABULUT, O.A.; SMILANICK, J. L. Combination of chitosan and ethanol to control postharvest gray mold of table grapes. **Postharvest Biology and Tchnology**, v.45, p.134-140, 2007.

ROTILI, M. C. C. et al. Composição, atividade antioxidante e qualidade do maracujá amarelo durante armazenamento. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.34, n.1, p.227-240, 2013.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH e determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Fortaleza: Embrapa, **Comunicado Técnico**, n.127, 4 p., 2007.

SABBAN-AMIN, R., FEYGENBERG, O., BELAUSOV, E., PESIS, E. Low-oxygen and 1-MCP pretreatments delay superficial scald development by reducing reactive oxygen species (ROS) accumulation in stored 'Granny Smith' apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, p. 295-304, 2011.

SAFTNER, R. A. et al. Effects of 1-Methylcyclopropene and Heat Treatments on Ripening and Postharvest Decay in 'Golden Delicious' Apples. **Journal Of The American Society For Horticultural Science**, [s.l.], v. 128, n.1, p.120-127, 2003.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v.38, n.7, p.995-1014, 2005.

SEYF, M. et al. Effect of sodium nitroprusside on vase life and postharvest quality of a cut rose cultivar (*Rosa hybrida* 'Utopia'). **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v.4, n.12, p.174-181, 2012.

SHAHAM, Z.; LERS, A.; LURIE, S. Effect of heat or 1-methylcyclopropene on antioxidative enzyme activities and antioxidants in apples in relation to superficial scald development. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.128, n.5, p.761-766, 2003.

SHI, T., et al. Effect of 1-methylcyclopropene(1-MCP) treatment on antioxidant enzymes of postharvest Japanese apricot. **Afr. Journal Biotechnology**, v.12, p.689–694, 2013.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SILVEIRA, S. V., et al. Aspectos Técnicos da Produção de Quivi. Embrapa Uva e Vinho. **Documentos**, Bento Gonçalves, n.79. p.82, 2012.

SINGH, H. P. et al. Nitric oxide alleviates arsenic toxicity by reducing oxidative damage in the roots of *Oryza sativa* (rice). **Nitric Oxide**, v.20, p.289-297, 2009.

SINGH, S. P.; SINGH, Z. Role of membrane lipid peroxidation, enzymatic and nonenzymatic antioxidative systems in the development of chilling injury in Japanese plums. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.137, n.6, p.473-481, 2012.

SINGH, S. P.; SINGH, Z.; SWINNY, E. E. Postharvest nitric oxide fumigation delays fruit ripening and alleviates chilling injury during cold storage of Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell). **Postharvest Biology And Technology**, v.53, n.3, p.101-108, set. 2009.

SIS, S. A. et al. Effect of nitric oxide on ethylene biosynthesis and antioxidant enzymes on Iranian peach (*Prunus persica* cv. Anjiri). **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.10, n.2, p.125-129, 2012.

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

SOETHE, C. et al. Metilciclopropeno e uso do vapor de etanol na manutenção da qualidade das maçãs 'Cripps Pink' armazenadas. **AGAPOMI**, Vacaria, v.274, p.3, 2017.

SOETHE, C. et al. Qualidade, compostos fenólicos e atividade antioxidante de amoras-pretas 'Tupy' e 'Guarani' armazenadas a diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.8, p.950-957, 2016.

SOUZA, M. S. et al. Resposta da aplicação do 1-MCP em frutos de mamoeiro 'golden' em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v.31, n.3, p.693-700, 2009.

SRINIVASAN S; AVADHANI, N.G. Cytochrome c oxidase dysfunction in oxidative stress. **Free Radical Biology e Medicine**, v.53, n.6, p.1252-1263, 2012.

STANGER, M. C. et al. Respiração, produção de etileno e qualidade de maçãs "Gala" em função do dano mecânico por impacto e da aplicação de 1-metilciclopropeno. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1864-1870, 2008.

STEFFENS, C. A. et al. Respiração, produção de etileno e qualidade de maçãs "Gala" em função do dano mecânico por impacto e da aplicação de 1-metilciclopropeno. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1864-1870, 2008.

STEFFENS, C. A.; GIEHL, R. F. H.; BRACKMANN, A. Maçã 'Gala' armazenada em atmosfera controlada e tratada com aminoetoxivinilglicina e ethefon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.9, p.837-843, 2005.

STEFFENS, C. A.; HUNSCHE, M.; BRACKMANN, A. Armazenamento de maçã cv. Gala em atmosfera controlada e diferentes concentrações de etileno. In: **JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, XIII, 1998**, Santa Maria. Anais... Santa Maria: UFSM, p.635, 1998.

SUGAR, D.; BASILE, S. R. Integrated ethylene and temperature conditioning for induction of ripening capacity in 'Anjou' and 'Comice' pears. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.83, n.3, p.9-16, 2013.

SUGAR, D.; BASILE, S.R. Integrated ethylene and temperature conditioning for induction of ripening capacity in 'Anjou' and 'Comice' pears. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.83, p.9-16, 2013.

SUN, Z.; LI, Y.; ZHOU, J.; ZHU, S. Effects of exogenous nitric oxide on contents of soluble sugars and related enzyme activities in 'Feicheng' peach fruit. **Journal of Science Food and Agriculture**, Malden, v.91, n.10, p.1795-1800, 2011.

TSANTILI, E. et al. Ethylene and  $\alpha$ -farnesene metabolism in green and red skin of three apple cultivars in response to 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v.55, n.13, p.5267-5276, 2007.

TSAO, R. et al. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.12, p.4989-4995, 2005.

TZORTZAKIS, N. G.; ECONOMAKIS, C. D. Maintaining postharvest quality of the tomato fruit by employing methyl jasmonate and ethanol vapor treatment. **Journal of Food Quality**, Malden, v.30, p.567-580, 2007.

USDA. **PSD online: custom query**. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/home>>. Acesso em: 01 ago. 2018.

VAN BREUSEGEM, F. et al. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, Limerick, v.161, p.405-14, 2001.

VIEIRA, F. G. K. et al. Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.59, n.1, p.101-106, 2009b.

VIEIRA, F. G. K. et al. Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. **Scientia Horticulturae**, v.122, n.3, p.421-425, 2009a.

VILAPLANA, R., et al. Antioxidant potential and peroxidative state of 'Golden Smoothie' apples treated with 1- methylcyclopropene. **J. American Society for Horticultural Science**, v.131, p.104–109, 2006.

VILAS BOAS, E. V. B. 1-MCP: um inibidor da ação do etileno. In: simpósio de controle de doenças de plantas, 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, p.24-30, 2002.

WANG, H.; HUANG, J.; BI, Y. B. Nitrate reductase-dependent nitric oxide production is involved in aluminum tolerance in red kidney bean roots. **Plant Science**, v.179, p.281-288, 2010.

WANG, P. G. et al. Nitric Oxide Donors: Chemical activities and biological applications. **Chemical Reviews**, v.102, p.1091-1134, 2002.

WATKINS, C. B.; NOCK, F. SmartFresh™ (1-MCP) - the good and bad as we head into the 2004 season. **New York Fruit Quarterly**, v.12, p.3-8, 2004.

WATKINS, B. C. Possible Implications of 1-Methylcyclopropene Registration for use on horticultural products. Nato Advanced Research Workshop on Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene, Murcia. **Anais...** 2002.

WATKINS, C. B. Dynamic controlled atmosphere storage – a new technology for the new york storage industry? **New York Fruit Quarterly**, v.16, p.23-26, 2008.

WATKINS, C. B. et al. Harvest data effects on maturity, quality, and storage disorders of 'Honeycrisp' apples. **HortScience**, Salt Lake, v.40, n.1, p.164-169, 2005.

WATKINS, C. B. et al. Responses of early, mid and late season apple cultivars to postharvest application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) under air and controlled atmosphere storage conditions. **Postharvest Biology and Technology**, v.19, n.1, p.17-32, 2000.

WATKINS, C. B. Overview of 1-methylcyclopropene trials and uses for edible horticultural crops. **HortScience**, v.43, n.1, p.86-94, 2008.

WATKINS, C. B. Principal and practices of postharvest handling and stress. In: FERREE, D.C.; WARRINGTON, I.J. **Apples: Botany, production and uses**. Wallingford: CABI Publishing, p.585-614. 2003.

WATKINS, C. B. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. **Biotechnology Advances**, v.24, p.389-409, 2006.

WATKINS, C. B.; NOCK, J. F. Rapid 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment and delayed controlled atmosphere storage of apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.69, p.24-31, 2012.

WATKINS, C.B. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. **Biotechnology advances**, v.24, n.4, p.389-409, 2006

WATKINS, C.B.; NOCK, J.F. Effects of delays between harvest and 1-methylcyclopropene treatment, and temperature during treatment, on ripening of air-stored and controlled- atmosphere-stored apples. **HortScience**, v.40, p.2096-2101, 2005.

WEBER, A. et al., Influence of respiratory quotient dynamic controlled atmosphere (DCA – RQ) and ethanol application on softening of Braeburn apples. **Food Chemistry**, v.303, p.125346, 2019.

WEBER, A. et al. Ethanol reduces ripening of 'Royal Gala' apples stored in controlled atmosphere. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.88, n.1, p.403-410, 2016.

WHITAKER, B. D.; NOCK, J. F.; WATKINS, C. B. Peel tissue  $\alpha$ -farnesene and conjugated trienol concentrations during storage of 'White Angel' \_ 'Rome Beauty' hybrid apple selections susceptible and resistant to superficial scald. **Postharvest Biology and Technology**, v.20, p.231-241, 2000.

WILLIAMSON, V. G. et al. Storage performance of two 'Pink Lady®' clones differs, but 1-MCP treatment is beneficial, regardless of maturity at harvest. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v.235, p.142-151, 2018.

WILLS, R. B. H.; SOEGIARTO, L.; BOWYER M. C. Use of a solid mixture containing diethylenetriamine/nitricoxide (DETANO) to liberate nitric oxide gas in the presence of horticultural produce to extend postharvest life. **Nitric Oxide**, v.17, p.44-49, 2007.

WRIGHT, A. H. et al. The trend toward lower oxygen during apple (*Malus x domestica* Borkh) storage- A review. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.90:1, p.1-13, 2015.

XU, F. et al. Effect of ethanol treatment on quality and antioxidant activity in postharvest broccoli florets. **European Food Research Technology**, v.235, p.793-800, 2012.

YAMASAKI, H. et al. Inhibitory effects of nitric oxide on oxidative phosphorylation in plant mitochondria. **Nitric Oxide**, New York, v.5, n.1, p.261-270, 2001.

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

YANG, Y. et al. Analysis of the inhibitory effect of 1-methylcyclopropene on skin greasiness in postharvest apples by revealing the changes of wax constituents and gene expression. **Postharvest Biology And Technology**, v.134, p.87-97, dez. 2017a.

YANG, Y. et al. Relationships between cuticular waxes and skin greasiness of apples during storage. **Postharvest Biology And Technology**, v.131, p.55-67, set. 2017b.

YIN, J. et al. Effect of nitric oxide on the activity of phenylalanine ammonia-lyase and antioxidative response in sweet potato root in relation to wound-healing. **Postharvest Biology and Technology**, v.74, p.125-131, 2012.

YUAN, R.; CARBAUGH, D. H. Effects of ANA, AVG, and 1-MCP on ethylene biosynthesis, preharvest fruit drop, fruit maturity and quality 'Golden Delicious' apples. **HortScience**, Saint Joseph, v.42, n.1, p.101-105, 2007.

ZANELLA, A. Control of apple superficial scald and ripening - a comparison between 1- methylcyclopropene and diphenylamine postharvest treatments, initial low oxygen stress and ultralow oxygen storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.27, p.69-78, 2003.

ZANELLA, A. Controllo del riscaldamento e miglioramento della qualità delle mele Granny Smith mediante 1-MCP applicato in post-raccolta. **Rivista di Frutticoltura e di Ortofloricoltura**, Bologna, v.63, n.9, p.67-72, 2001.

ZANELLA, A. et al. Fruit fluorescence response to low oxygen stress: modern storage technologies compared to 1-MCP treatment of apple. **Acta Horticulturae**, v.682, p.1535-1542, 2005.

ZANELLA, A.; ROSSI, O. Post-harvest retention of apple fruit firmness by 1- methylcyclopropene (1-MCP) treatment or dynamic CA storage with chlorophyll fluorescence (DCA-CF). **European Journal of Horticultural Science**, v.80, n.1, p.11-17, 2015.

ZHANG, R. Q. et al. Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation increases phenolic synthesis in clover roots via hydrogen peroxide, salicylic acid and nitric oxide signaling pathways. **Journal of Plant Physiology**, v.170, p.74-79, 2013.

ZHENG, H.; KIM, Y.; CHUNG, K. A profile of physicochemical and antioxidant changes during fruit growth for the utilization of unripe apples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.131, n.1, p.106-110, 2012.

ZHU, S.; SUN, L., ZHOU, J. Efeitos da aplicação diferente de óxido nítrico na qualidade de kiwis durante o armazenamento a 20°C. **International Journal of Food Science e Technology**, v.45, p.245–51, 2010.

ZHU, S. et al. Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, n.1, p.2324-2331, 2008.

ZHU S, ZHOU J. Efeito do óxido nítrico na produção de etileno em frutos de morango durante o armazenamento. **Food Chemmistry**, v.100, p.1517-1522, 2007.

ZHU, S., LIU, M., ZHOU, J. Inhibition by nitric oxide of ethylene biosynthesis and lipoxygenase activity in peach fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.42, p.41–48, 2006.

ZILIOTTO, F. et al. Effect of 1- MCP on peach fruit postharvest physiology. In: Nato Advanced Research Workshop on Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene, 2002, Murcia. **Anais...** Murcia, p.457-458, 2002.

## ANEXO A – MINICÂMARAS PARA APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS

Figura 2 – Minicâmaras para aplicação dos tratamentos em maçãs ‘Cripps Pink’.

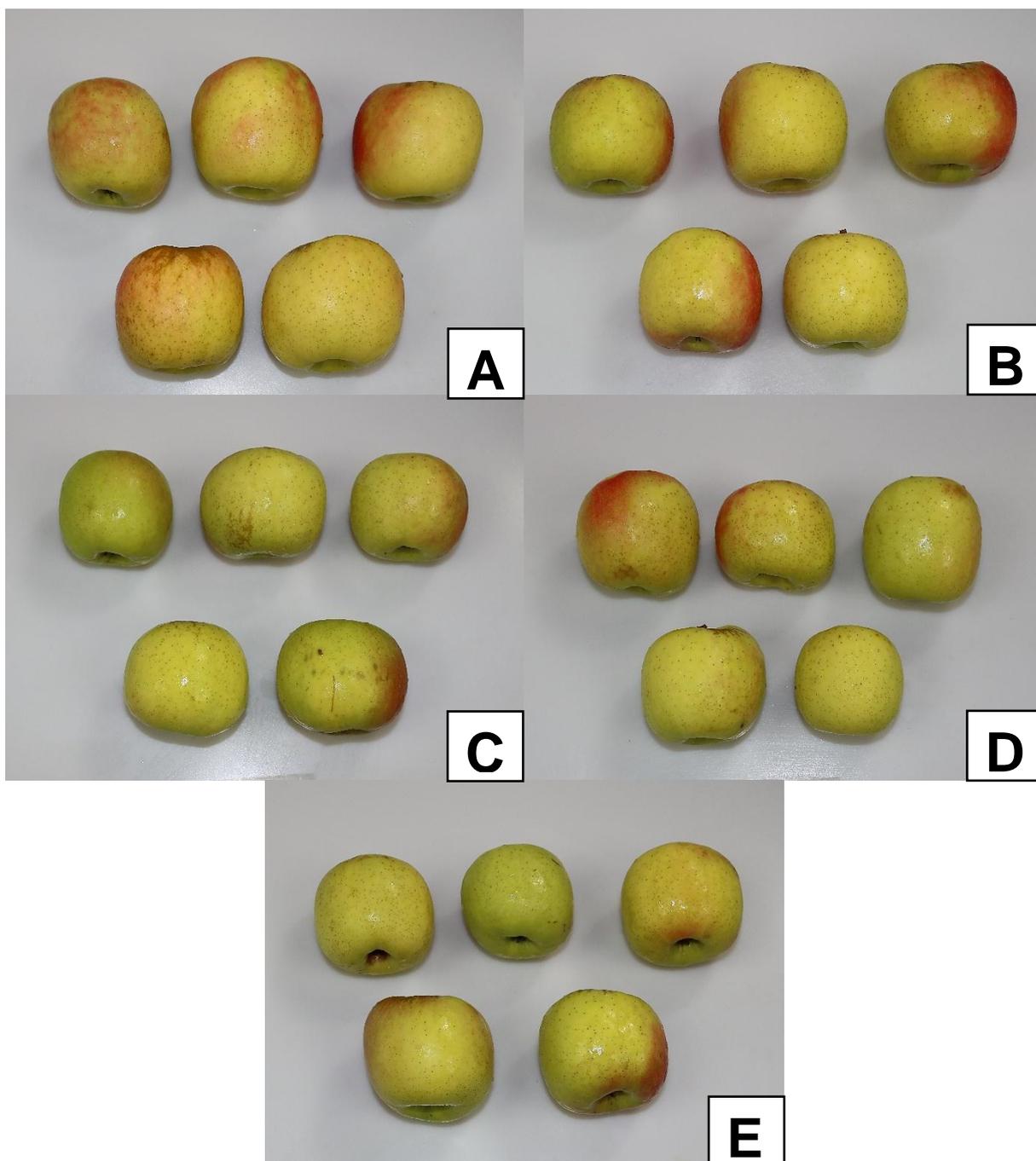


Fonte: Elaborado pela autora, 2019.



## ANEXO B – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS NA SAÍDA DA CÂMARA

Figura 3 – Maçãs 'Cripps Pink' na saída da câmara submetidas aos tratamentos controle (A) Etanol por 24 horas ( $6 \text{ mL kg}^{-1}$  de fruto) (B); 1-MCP ( $1 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 24 horas (C); Óxido Nítrico ( $20 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 2 horas (D); e Óxido Nítrico ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 2 horas (E) e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1 \pm 0,5^\circ\text{C}$  e  $96 \pm 2\%$  de UR) durante 5 meses.

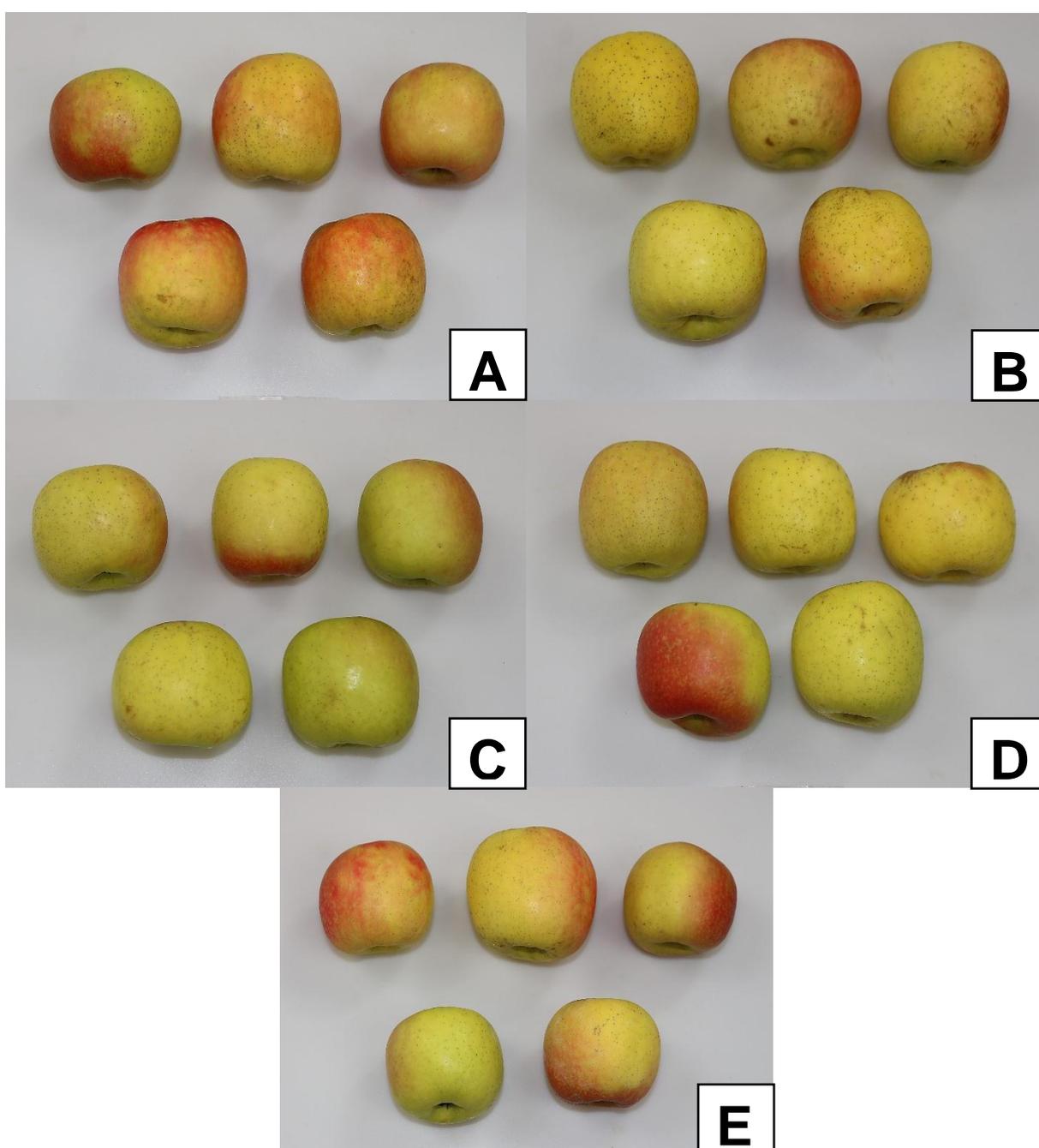


Fonte: Elaborado pela autora, 2019.



### ANEXO C – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRATAMENTOS APÓS 7 DIAS EM CONDIÇÕES AMBIENTE

Figura 4 – Maçãs 'Cripps Pink' submetidas aos tratamentos controle (A), etanol por 24 horas ( $6 \text{ mL kg}^{-1}$  de fruto) (B), 1-MCP ( $1 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 24 horas (C), óxido nítrico ( $20 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 2 horas (D), e Óxido Nítrico ( $10 \mu\text{L L}^{-1}$ ) por 2 horas (E) e armazenadas sob atmosfera controlada ( $1\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $96\pm 2\%$  de UR) durante 5 meses, após 7 dias em condições ambiente ( $20\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $63\pm 2\%$  de UR).



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.