

MARCELO JOSÉ DE CARVALHO

**INJÚRIA POR FRIO, RESPIRAÇÃO E PRODUÇÃO DE ETILENO PÓS-COLHEITA EM QUIABO (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2001

MARCELO JOSÉ DE CARVALHO

**INJÚRIA POR FRIO, RESPIRAÇÃO E PRODUÇÃO DE ETILENO PÓS-COLHEITA EM QUIABO (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 9 de fevereiro de 2001.

---

Prof. Vicente Wagner Dias Casali

---

Prof. Paulo Roberto Mosquim

---

Prof. Juraci Alves de Oliveira

---

Prof. Mário Puiatti

---

Prof. Fernando Luiz Finger  
(Orientador)

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realizar este Curso.

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

Aos professores Fernando Luiz Finger, Mário Puiatti e Rolf Puschmann, pela orientação e compreensão pessoal.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

MARCELO JOSÉ DE CARVALHO, filho de Manoel Francisco de Carvalho e Maria Vicentina de Carvalho, nasceu em Abaeté, Minas Gerais, em 26 de dezembro de 1969.

Em fevereiro de 1997, graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

Em março de 1998, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	4
2.1. Experimento I – Efeito de duas temperaturas de armazenamento sobre conservação da massa fresca, níveis visuais de injúria e escurecimento, teor de clorofila, teor de compostos fenólicos e atividade de peroxidases e polifenol oxidases em frutos do quiabeiro .....	4
2.1.1. Perda de massa fresca.....	5
2.1.2. Análise visual de injúria por frio.....	5
2.1.3. Análise visual de escurecimento .....	6
2.1.4. Clorofilas .....	7
2.1.5. Atividade das polifenol oxidases .....	8
2.1.6. Atividades das peroxidases .....	8
2.1.7. Compostos fenólicos solúveis totais .....	9
2.2. Experimento II – Influência do tempo e temperatura de armazenamento sobre a taxa respiratória e produção de etileno em frutos do quiabeiro.....	10
2.2.1. Influência da temperatura sobre a taxa respiratória.....	10
2.2.2. Relação entre nível de injúria por frio, temperatura e taxa respiratória.....	11

	<b>Página</b>
2.2.3. Taxa de produção de etileno em função da temperatura de armazenamento e do nível de injúria por frio .....	11
2.3. Delineamento experimental .....	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	13
3.1. Experimento I – Efeito de duas temperaturas de armazenamento sobre conservação da massa fresca, níveis visuais de injúria e escurecimento, teor de clorofila, teor de compostos fenólicos e atividades de peroxidases e polifenol oxidases em frutos do quiabeiro .....	13
3.1.1. Perda de massa fresca .....	13
3.1.2. Análise visual de injúria por frio .....	16
3.1.3. Análise visual de escurecimento .....	17
3.1.4. Clorofila .....	21
3.1.5. Atividade das polifenol oxidases .....	22
3.1.5. Atividades das peroxidases .....	23
3.1.6. Compostos fenólicos solúveis totais .....	25
3.2. Experimento II – Influência do tempo e temperatura de armazenamento sobre a taxa respiratória e produção de etileno em frutos de quiabeiro .....	27
3.2.1. Atividade respiratória de frutos de quiabeiro em função da temperatura de armazenamento .....	27
3.2.2. Relação entre nível de injúria por frio, temperatura e taxa respiratória .....	29
3.2.3. Taxa de produção de etileno em função da temperatura de armazenamento e do nível de injúria por frio .....	30
4. CONCLUSÕES .....	32
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	34

## EXTRATO

CARVALHO, Marcelo José de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2001. **Injúria por frio, respiração e produção de etileno pós-colheita em quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench).** Orientador: Fernando Luiz Finger. Conselheiros: Mário Puiatti e Rolf Puschmann.

Quiabos, variedade Amarelinho, foram embalados em filme de PVC e após o armazenamento nas temperaturas de 5 ou 10 °C, durante 2, 4, 6, 8 ou 10 dias, foram mantidos por 2, 4, 6, 8 ou 10 h a 25 °C, para avaliar a evolução dos sintomas de injúria por frio e escurecimento. Os frutos armazenados nas temperaturas de 5 e 10 °C tiveram taxas de perdas de massa fresca constante em torno de 0,5 e 0,7 % por dia, respectivamente, que se acentuaram com a transferência dos frutos para 25 °C. O surgimento dos sintomas de injúria foi detectado no segundo dia de armazenamento sob 5 ou 10 °C. Após 10 horas a 25 °C e 10 dias de armazenamento a 5 e 10 °C, os frutos se apresentavam próximo do valor máximo (4) da escala de injúria por frio. A temperatura de 10 °C foi mais efetiva em estimular o surgimento de sintomas de escurecimento nos frutos do que a temperatura de 5 °C. O armazenamento a 5 ou 10 °C não estimulou a degradação de clorofila. As enzimas peroxidases expressaram o estímulo dado pela baixa temperatura imediatamente após a saída dos frutos da câmara de armazenamento.

Houve aumento de atividade das peroxidases até o sexto dia de armazenamento a 5 ou 10 °C, após o sexto dia a atividade foi constante. A atividade específica das peroxidases foi estimulada pela injúria por frio. Não houve diferença significativa entre os teores de fenóis solúveis totais dos frutos armazenados a 5 ou 10 °C. Os frutos com valor 4 da escala de injúria por frio tiveram taxa respiratória duas vezes maior que os frutos sem sintomas. Houve aumento significativo da evolução de etileno, quando os frutos alcançaram o nível máximo de injúria por frio.

## ABSTRACT

CARVALHO, Marcelo José de, M.S., Federal University of Viçosa, February, 2001. **Chilling injury, respiration rate and ethylene of post harvested okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) stored at chilling injured temperatures.** Advisor: Fernando Luiz Finger. Committee members: Mário Puiatti and Rolf Puschmann.

Okra pods were stored at 5°C or 10°C during 0, 2, 4, 6, 8 or 10 days and transferred to 25 °C for 2, 4, 6, 8, or 10 h to evaluate chilling symptoms. Pods stored at 5 and 10 °C had weight loss about 0,5 and 0,7% at day. Rate of weight loss just increased once they were transferred to 25 °C. Chilling symptoms were detected after 2 days storing at 5 or 10 °C. Browning was more prevalent on fruit stored at 10 °C. There were not chlorophyll degradation of pods stored at 5°C or 10°C. Increase in peroxidases activity was induced by low temperatures. There was increasing of peroxidases activity from the 2 day to the 6 day storage. After 6 days of storing, peroxidases activity was constant. There were not differences of total soluble phenol content of okra pods stored at 5 or 10 °C. The chilling injured fruits had rate respiration 2 times more than fruits without symptoms and they had ethylene increasing.

## 1. INTRODUÇÃO

O quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*) é uma espécie tropical cujos frutos são utilizados como ingrediente em sopas e outras receitas, sendo este fonte de fibra e vitamina C. A coloração verde brilhante e a aparência tenra do fruto são requisitos exigidos pelo consumidor que recusa aqueles frutos com murcha, endurecidos ou fibrosos, amarelos e com manchas escuras (BAXTER e WATERS JUNIOR, 1990a). Os frutos de características desejáveis são obtidos entre o sexto e o oitavo dia após a antese (DELLA JUSTINA et al., 1998), quando estes estão ainda parcialmente desenvolvidos e fisiologicamente imaturos.

Existe uma correlação inversa entre taxa respiratória e vida pós-colheita dos produtos hortícolas, sendo que elevadas taxas respiratórias resultam em deterioração pós-colheita prematura. Para diminuir a taxa respiratória a níveis que estendam a vida de prateleira dos produtos perecíveis, a redução da temperatura de armazenamento tem se mostrado como a técnica pós-colheita mais eficaz e econômica (PAULL, 1994). Entretanto, espécies de origem tropical, subtropical e algumas de origem temperada são sensíveis à injúria por frio ("chilling"). A injúria por frio ocorre sob temperaturas não-congelantes, geralmente entre 5 e 12°C, causando o aparecimento de sintomas de degeneração dos tecidos (WILLS et al., 1981). O grau de injúria por frio, sofrido por uma planta ou pela parte desta sensível ao frio, depende da temperatura, da duração do tempo de exposição e da espécie (KAYS, 1991).

Respostas à injúria por frio são consideradas, na fase inicial, de natureza física, incluindo alterações da permeabilidade das membranas celulares. Posteriormente, ocorrem alterações na taxa respiratória e na síntese de etileno (JACKMAN et al., 1988). Externamente, podem ocorrer pontuações e, ou, manchas de cores marrom ou preta, descoloração, amarelecimento e amolecimento dos tecidos. Os sintomas visuais causados pela injúria por frio geralmente aumentam significativamente após a transferência dos frutos e hortaliças para ambientes com temperaturas mais elevadas àquelas que originalmente causaram desenvolvimento dos sintomas de injúria (MORRIS, 1982).

A produção de etileno, em um grande número de espécies vegetais é estimulada pela injúria por frio. O aumento na produção de etileno é devido ao incremento da capacidade das células de sintetizarem o ácido 1-aminociclopropano 1-carboxílico (ACC), que é considerado o precursor imediato da rota biossintética do etileno em plantas superiores. Os níveis de ACC e, conseqüentemente, de etileno permanecem baixos enquanto os frutos são submetidos à injúria por frio, porém aumentam rapidamente após a transferência dos órgãos vegetais a temperaturas mais elevadas (WANG, 1982). Entretanto, o acúmulo de ACC em frutos de pepino, observado por Mc COLLUM et al. (1995), e em abacate por ZAUBERMAN e JOBIN-DOCOR, (1995), ocorreu também durante o armazenamento dos frutos sob temperaturas causadoras de injúria por frio. Segundo ZAUBERMAN e JOBIN-DOCOR (1995), o acúmulo de ACC pode ter ocorrido em função da ativação da ACCsintase e pela inibição da atividade da enzima formadora de etileno (EFE) como resposta a esse estresse.

A resposta do sistema respiratório ao tratamento frio pode ser utilizada como índice para avaliar a intensidade da injúria por frio nos tecidos e órgãos vegetais (WANG, 1982). Quanto maior o tempo de armazenamento do quiabo a baixas temperaturas causadoras de injúria por frio, maior é o estímulo da taxa respiratória (ILKER e MORRIS, 1975). Durante o armazenamento de frutos de pepino a temperatura causadora de injúria por frio não há aumento da taxa respiratória, todavia, quando estes frutos são transferidos para temperatura ambiente, há aumento significativo da taxa respiratória (Mc COLLUM et al., 1995).

Os sintomas de injúria por frio em quiabo, normalmente, se manifestam por pontuações e manchas escuras distribuídas na superfície do fruto (DELLA-JUSTINA, 1998). O escurecimento dos frutos pode ocorrer em função da ativação das enzimas oxidativas presentes nos tecidos. As enzimas peroxidases e polifenol oxidases podem estar envolvidas nos processos de escurecimento enzimático de vegetais (LAGRIMINI, 1991; CHAZARRA et al., 1997). As polifenol oxidases são enzimas não-específicas podendo oxidar grande variedade de compostos mono e difenólicos. Normalmente, elas estão contidas dentro de plastídeos e podem ser encontradas no citoplasma celular em condição de senescência ou degeneração dos tecidos vegetais (HAMMER, 1993). As baixas temperaturas poderiam estimular a produção das enzimas peroxidases e polifenol oxidases, sendo que a expressão do sintoma de escurecimento ocorreria com maior intensidade após a transferência dos frutos para um ambiente de temperatura mais elevada.

Os fenóis são componentes estruturais básicos de carbono que podem ser polimerizados e unidos às proteínas formando complexos solúveis ou insolúveis. Eles são de grande interesse em função da grande atuação aos níveis de organismo e ecossistema (TORTI et al., 1995). Os compostos fenólicos podem auxiliar na defesa das plantas contra o ataque de patógenos e insetos e podem estar envolvidos nos processos de senescência e de degeneração (KETSA e ATANTEE, 1998).

DELLA-JUSTINA (1998) estudando o armazenamento de quiabo em baixas temperaturas observou que o armazenamento deve ser feito a 10 °C para não haver desenvolvimento de sintomas de injúria por frio. Entretanto, são necessários estudos mais detalhados sobre os fatores que induzem o aparecimento de injúria por frio em quiabo, como a influência do tempo de exposição à temperatura causadora de injúria para o desenvolvimento dos sintomas e a subsequente vida de prateleira à temperatura ambiente.

O trabalho teve como objetivos caracterizar os sintomas de injúria por frio em quiabo armazenado sob baixas temperaturas e a influência da temperatura na atividade respiratória dos frutos e produção de etileno.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Frutos do quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*), cv. Amarelinho, foram colhidos entre sete e nove horas da manhã nos meses de fevereiro, março e abril, na área de pesquisa da horta da Universidade Federal de Viçosa e transportados em caixas plásticas ao laboratório de análises. Os frutos foram padronizados com comprimento entre 9 e 12cm. Foram eliminados frutos deformados, amarelados, com ataques de patógenos ou de insetos.

### **2.1. Experimento I – Efeito de duas temperaturas de armazenamento sobre conservação da massa fresca, níveis visuais de injúria e escurecimento, teor de clorofila, teor de compostos fenólicos e atividade de peroxidases e polifenol oxidases em frutos do quiabeiro**

Os frutos foram armazenados nas temperaturas de 5 °C ou de 10 °C em uma câmara de temperatura controlada e umidade relativa de 90 %. A unidade amostral foi constituída de sete frutos embalados em bandeja de isopor de 15 cm x 20 cm, revestidas com uma camada de filme de PVC (cloreto de polivinil). Após 2, 4, 6, 8 ou 10 dias, cinco unidades amostrais, de cada temperatura, foram retiradas do local de armazenamento e transferidas à temperatura de 25 °C por 2, 4, 6, 8 ou 10 horas. Desta forma, a cada duas

horas, uma das cinco unidades amostrais, de cada temperatura, foi analisada quanto à perda de massa fresca, análise visual de injúria, análise visual de escurecimento, teor de clorofila, teor de compostos fenólicos e atividade de peroxidases e polifenol oxidases.

### **2.1.1. Perda de massa fresca**

Todas as unidades amostrais foram pesadas no início e no final do armazenamento a frio e depois de 2, 4, 6, 8 ou 10 horas a 25 °C após a retirada da câmara de refrigeração. A perda de massa fresca foi estimada em percentual em relação ao peso inicial dos frutos, como segue:

$$PMF = ((PI - PF) \times 100) / PI$$

em que

PMF: perda de massa fresca;

PI = peso inicial dos frutos; e

PF = peso final dos frutos.

### **2.1.2. Análise visual de injúria por frio**

A análise visual de injúria foi realizada utilizando-se a escala visualizada na Figura 1. Os frutos receberam notas de 0 a 4, conforme o estado de conservação dos mesmos. O grau de severidade da injúria por frio foi avaliado como segue: valor zero (0), quando não apresentavam nenhum ponto de injúria; valor um (1), quando possuíam menos de cinco pontos; valor dois (2), com 5 a 10 pontos de injúria; valor três (3), de 11 a 15 pontos de injúria e valor quatro (4), quando apresentavam mais de 15 pontos de injúria por frio.



Figura 1 – Escala visual de avaliação de injúria por frio em frutos do quiabeiro com notas de 0 a 4: 0, valor zero (0), quando não apresentavam nenhum ponto de injúria; valor um (1), quando possuía menos de cinco pontos de injúria; valor dois (2), com 5 a 10 pontos de injúria; valor três (3), de 11 a 15 pontos de injúria e valor quatro (4), quando apresentavam mais de 15 pontos de injúria por frio.

### 2.1.3. Análise visual de escurecimento

A presença de manchas de escurecimento nos frutos foi avaliada utilizando-se escala observada na Figura 2. Os frutos receberam notas de 0 a 4, de acordo com: valor zero (0), ausência de manchas escuras; valor um (1), manchas pequenas; valor dois (2) manchas maiores em cerca de 30 % do fruto; valor três (3), manchas entre 30 e 50% da superfície do fruto e valor quatro (4), quando as manchas escuras ocupavam mais de 50 % do fruto.



Figura 2 – Escala visual de avaliação do escurecimento em frutos do quiabeiro armazenados sob baixa temperatura, com notas de 0 a 4: 0, valor zero (0), ausência de manchas escuras; valor um (1), manchas pequenas; valor dois (2) manchas maiores em cerca de 30 % do fruto; valor três (3), manchas entre 30 e 50 % da superfície do fruto e valor quatro (4), quando as manchas escuras ocupavam mais de 50 % do fruto.

#### 2.1.4. Clorofilas

Aproximadamente 1,5 g de frutos, sem endocarpo, foram macerados em almofariz e pistilo com 10 mL de metanol 90 %, contendo areia lavada e 10 mg de  $MgSO_4$ , e filtrados em papel de filtro quantitativo. O resíduo no papel de filtro foi lavado por mais quatro vezes com metanol 90 % e o volume completado para 25 mL.

O teor de clorofila foi quantificado de acordo com a metodologia descrita por PACKER e DOUCE (1987), utilizando-se o espectrofotômetro B34211, nos comprimentos de onda de 653 e 665 nm, por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Teor de clorofila total (mg Kg}^{-1} \text{ MF)} = ((0,28 A_{665} + 27,64A_{653}) V) / P$$

em que

MF = massa fresca;

A = absorvância;

V = volume de extração em litros; e

P = peso da amostra de tecido em kg.

### **2.1.5. Atividade das polifenol oxidases**

Na avaliação das atividades da polifenol oxidases foi feita a adequação prévia do método empregado por SHIN et al. (1997). Aproximadamente dois gramas dos frutos foram triturados em homogeneizador OMNI Mixer ES, sob 10 mL de tampão fosfato 50 mM, pH 6,8, contendo triton 100 1% e PVP 1%. O material homogeneizado foi centrifugado a 16.000 x g por 30 minutos a 4 °C em centrífuga Eppendorf-5415C. Do sobrenadante foram retiradas duas alíquotas. Na primeira, posteriormente, foi feita a leitura do teor de proteínas pelo método de BRADFORD (1976). Na Segunda, mediu-se as atividades das polifenol oxidases.

Na determinação das atividades da polifenol oxidases, uma alíquota de 100 µL a 500 µL do sobrenadante foi adicionada ao meio de incubação contendo de 0 a 400 µL de H<sub>2</sub>O, 1,5 mL de tampão fosfato 0,2 M pH 6 e 1 mL de substrato. Após a adição, a leitura foi feita em espectrofotômetro em comprimento de onda que dependia do substrato. A atividade foi expressa em Unidade de Absorvância (UA) min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

### **2.1.6. Atividade das peroxidases**

A atividade das peroxidases foi avaliada pelo método usado por LAGRIMINI e ROTHSTEIN (1987) com modificações. Aproximadamente 2 g de quiabo sem o endocarpo foram triturados em homogeneizador OMNI

Mixer ES, sob 10 mL de tampão fosfato 50 mM, pH 6, contendo NaCl a 150 mM e NaHSO<sub>3</sub> a 0,1 %. O Material homogeneizado foi centrifugado a 16000 x g por 30 minutos a 4 °C. Do sobrenadante foram retiradas alíquotas para posterior leitura do teor de proteína pelo método de BRADFORD (1976) e outra alíquota para se determinar a atividade das peroxidases. A atividade das peroxidases foi avaliada na alíquota de 100 µL do sobrenadante adicionada em meio de incubação contendo 2,9 mL de tampão fosfato 0,1 M, guaiacol 4 mM e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 mM. Após a adição do extrato protéico cru foi avaliada a taxa de mudança da absorbância por 3 min em espectrofotômetro a 470 nm. A atividade foi expressa em Unidade de Absorbância (UA) min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

#### **2.1.7. Compostos fenólicos solúveis totais**

A avaliação de compostos fenólicos solúveis foi realizada de acordo com a metodologia descrita por KUBOTA (1995), com modificações. Aproximadamente 4 g de fruto sem o endocarpo foram colocados em um béquer contendo 20 mL de água fervente e deixados sob fervura por período de 20 minutos. Após o resfriamento, o material foi homogeneizado em politron, ajustando o volume final com água a 50 mL. Após a homogeneização, foi retirada a alíquota de 1,5 mL que foi centrifugada por 30 minutos a 16000 x g. Na determinação dos compostos fenólicos, 0,25 mL do sobrenadante foi misturado com 0,25 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente de Folin, diluído de uma para duas partes de água, e 0,5 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anidro a 10 %. Após uma hora de repouso a 30°C, as leituras foram feitas em espectrofotômetro a 700 nm. Como padrão de comparação foi feita a curva de calibração com D-catequina.

## 2.2. Experimento II – Influência do tempo e temperatura de armazenamento sobre a taxa respiratória e produção de etileno em frutos do quiabeiro

### 2.2.1. Influência da temperatura sobre a taxa respiratória

A taxa respiratória dos frutos, em função da temperatura, foi avaliada em frutos duas horas após a colheita. Os frutos foram mantidos durante 30 minutos nas temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C. Passado este tempo, dois frutos de cada temperatura foram mantidos em recipiente de 425 mL hermeticamente fechado. Amostras de 1,0 mL de gás foram retiradas no momento do fechamento do recipiente e 15 minutos após e injetadas em cromatógrafo SHIMADZU, modelo GC-14B, equipado com coluna Porapak-Q de 1,0 m de comprimento e detetor de conectividade térmica. A corrente do detetor foi de 85 mA e usando-se N<sub>2</sub> como gás de arraste com fluxo de 30 mL min<sup>-1</sup>. A taxa respiratória foi estimada por meio da equação:

$$\text{Taxa respiratória (mg de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}) = (\Delta\% \times V \times 10.000) / P \times T \times F$$

em que

$\Delta\%$  = variação do teor de CO<sub>2</sub> do momento do fechamento do recipiente e 15 minutos de incubação;

V = volume livre do recipiente de incubação (L);

10.000 = fator de correção da unidade;

P = peso dos frutos (kg);

T = tempo de incubação (h); e

F = fator de correção de volume para peso dependente da temperatura.

O fator Q<sub>10</sub> foi estimado de acordo com a equação

$$Q_{10} = (R_2/R_1)^{e}, e = 10/(t_2-t_1)$$

em que

$Q_{10}$  = fator,  $R_2$  = taxa respiratória a temperatura maior;

$R_1$  = taxa respiratória a temperatura menor; e

$t_2$  = temperatura maior e  $t_1$  = temperatura menor.

### **2.2.2. Relação entre nível de injúria por frio, temperatura e taxa respiratória**

Os frutos, embalados em bandeja de isopor revestidos de uma camada de filme de PVC (cloreto de polivinil), foram armazenados nas temperaturas de 5 °C ou 10 °C e umidade relativa de 90 %. Após 10 dias de armazenamento os frutos foram transferidos para temperatura de 25 °C, permanecendo nessa temperatura por seis horas para atingirem o valor quatro da escala de injúria por frio. Frutos de nível zero de injúria foram analisados concomitantemente. Dois frutos de cada valor da escala foram mantidos em recipiente de 425 mL hermeticamente fechado. A taxa respiratória foi estimada de acordo com item 2.2.1

### **2.2.3. Taxa de produção de etileno em função da temperatura de armazenamento e do nível de injúria por frio**

Os frutos foram armazenados em bandeja de isopor e revestidos com uma camada de filme de PVC (cloreto de polivinil) nas temperaturas de 5 °C ou 10 °C e sob umidade relativa de 90 %. A colheita e armazenamento dos frutos foram feitos diariamente durante dez dias. No décimo dia os frutos foram transferidos a 25 °C e permaneceram durante seis horas até atingirem os índices 0, 1, 2, 3 ou 4 da escala de injúria. Na determinação da produção de etileno, dois frutos de cada valor da escala foram mantidos em recipiente de 425 mL hermeticamente fechado. Amostras de 1 mL de gás foram retiradas no momento do fechamento do recipiente e 30 minutos depois e injetadas em cromatógrafo a gás SHIMADZU, modelo GC-14B, que continha coluna Porapak-G de um metro de comprimento e detetor de ionização de

chama. As temperaturas da coluna, injetor e detetor foram 60, 100 e 150 °C respectivamente, usando-se N<sub>2</sub> como gás de arraste. A taxa de liberação de etileno foi estimada por meio da equação:

$$\text{TLE } (\eta\text{L de etileno kg}^{-1} \text{ MF h}^{-1}) = (\Delta \times V) / (P \times T)$$

em que

TLE = taxa de liberação de etileno;

$\Delta$  = variação do teor de etileno do momento do fechamento do recipiente e 30 minutos de incubação ( $\eta\text{L mL}^{-1}$ );

V = volume da alíquota amostrada, em mL;

P = peso dos frutos, em kg; e

T = tempo de incubação em h.

### **2.3. Delineamento experimental**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições em todas as determinações. A unidade experimental das análises de etileno e respiração foi constituída de dois frutos. Nas demais análises, a unidade amostral foi constituída de sete frutos contidos em uma bandeja de isopor. Foram feitas correlações entre as variáveis tempo, escurecimento, injúria, fenóis e atividade das peroxidases dos resultados dos frutos mantidos por duas horas a 25 °C após os armazenamento por 2, 4, 6, 8 ou 10 dias a 5 °C ou 10 °C.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Experimento I – Efeito de duas temperaturas de armazenamento sobre conservação da massa fresca, níveis visuais de injúria e escurecimento, teor de clorofila, teor de compostos fenólicos e atividades de peroxidases e polifenol oxidases em frutos do quiabeiro**

##### **3.1.1. Perda de massa fresca**

Os frutos armazenados a 5 e 10 °C tiveram perda de massa fresca constante de 0,5 e 0,7 % ao dia, respectivamente, enquanto mantidos na câmara de armazenamento (Figura 3). Com a transferência dos frutos ao ambiente de temperatura de 25 °C, a perda de massa fresca aumentou, principalmente, após oito dias de armazenamento dos frutos (Figura 4). Nesta temperatura os frutos aumentam a atividade metabólica e aceleram as trocas gasosas com meio. A 25 °C, ocorre também o aumento do gradiente de pressão de vapor do interior da embalagem para o meio externo, favorecendo a saída de água do fruto ao interior da embalagem plástica e desta ao ambiente.

WANG (1982) observou que um dos sintomas de injúria por frio seria o aumento da permeabilidade de membrana celular que permite maior saída

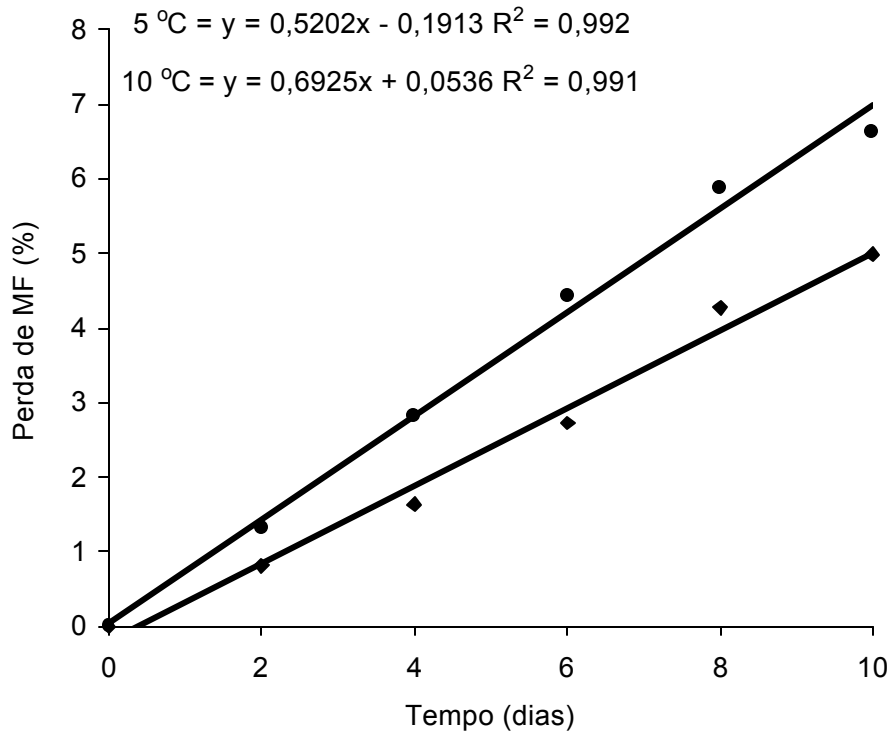


Figura 3 – Perda de massa fresca (MF) de frutos de quiabo mantidos por duas horas a 25 °C após o armazenamento por 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 dias a 5°C (◆) ou 10°C (●)

de água das células e conseqüentemente dos frutos. Com a perda de água ocorre aumento proporcional do teor de fibras acompanhado de murcha dos frutos. Estas características depreciam os frutos que, normalmente, são recusados pelo consumidor. No nosso trabalho não foi estudada a relação da perda de massa fresca nos frutos cuja presença de sintomas de injúria por frio foi detectada. Provavelmente, o revestimento dos frutos com filme de PVC após o armazenamento a baixa temperatura não permitiria avaliar essa relação. Em experimentos posteriores sugere-se a retirada do filme plástico após o armazenamento frigorificado, de modo a evidenciar a possível relação entre a injúria por frio e a perda de massa fresca.

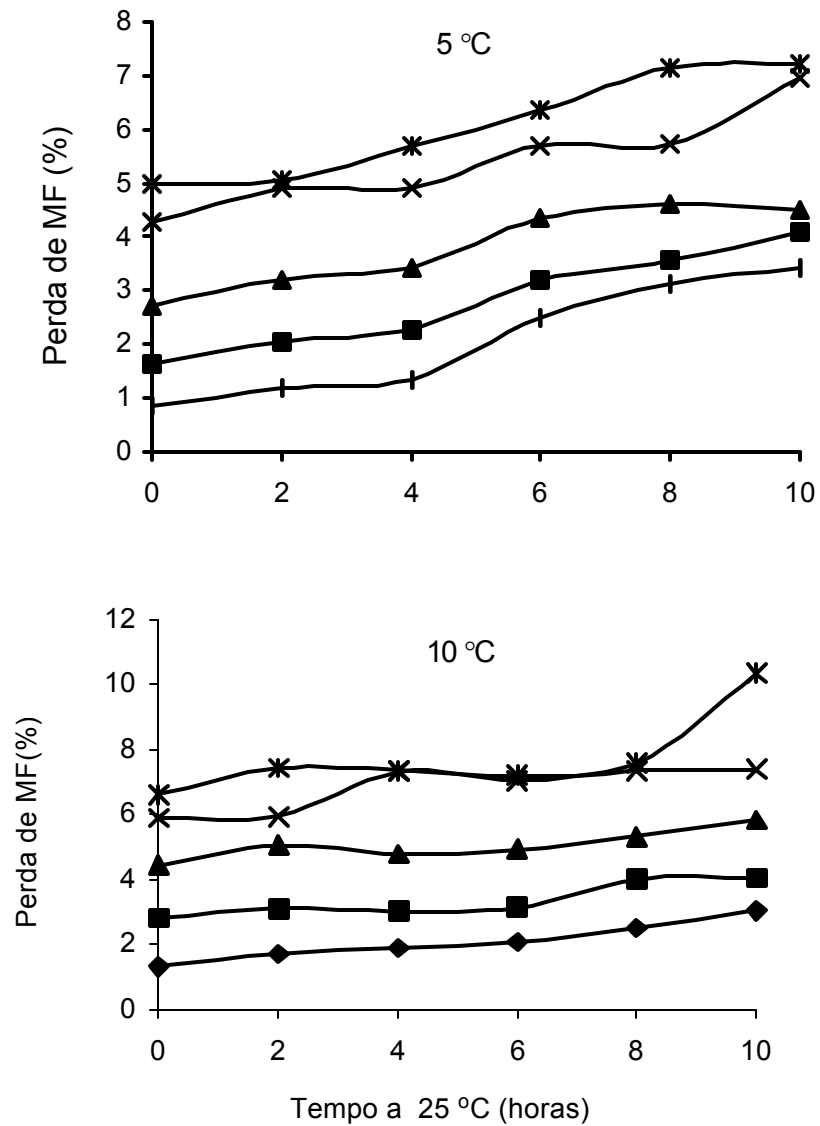


Figura 4 – Perda de massa fresca (MF) de frutos de quiabo mantidos por 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 horas a 25 °C após o armazenamento por 2(◆), 4(■), 6(▲), 8(×) ou 10(\*) dias a 5 ou 10°C.

### 3.1.2. Análise visual de injúria por frio

Resultados de injúria por frio dos frutos mantidos por duas horas a 25 °C após o armazenamento por 0, 2, 4, 6, 8, ou 10 dias a 5 ou a 10 °C são apresentados na Figura 5. Pelos dados evidencia-se que a injúria causada pelo estresse do armazenamento a 5 °C foi mais intensa nos seis primeiros dias de armazenamento, comparando àqueles frutos mantidos a 10 °C. Após oito dias de armazenamento o grau de injúria por frio dos frutos armazenados a 5 ou 10 °C toma-se semelhante, atingindo o valor 3 da escala de injúria por frio após o décimo dia de armazenamento. Observa-se que quanto maior foi o tempo de armazenamento nas temperaturas de 5 e 10 °C, maior foi o grau dos sintomas de injúria por frio.

Na Figura 6 observa-se a expressão da injúria por frio durante e após o armazenamento a frio. A transferência dos frutos para temperatura de 25 °C aumentou o desenvolvimento dos sintomas de injúria tanto para os frutos previamente armazenados a 5 °C e para aqueles a 10 °C por 2, 4, 6, 8 e 10 dias. O surgimento de sintomas de injúria foi detectado no segundo dia de armazenamento tanto a 5 °C como a 10 °C. Porém, a 5 °C os sintomas apresentados pelos frutos possuíram maior intensidade, estando acima do valor um da escala de injúria após a colocação dos frutos a 25 °C para quatro dias de armazenamento, enquanto no armazenamento dos frutos a 10 °C o valor um da escala foi atingido somente após oito horas a 25 °C e após seis dias de armazenamento. Após dez horas a 25 °C e ao décimo dia de armazenamento, o grau de injúria dos frutos armazenados tanto a 5 °C como a 10 °C estava próximo do valor quatro da escala, indicando que os frutos haviam atingido estágio avançado de senescência. Desta forma pode-se sugerir que o armazenamento dos frutos do quiabo a 10 °C durante seis dias seria a melhor condição para armazenamento a baixa temperatura (Figura 6).

Segundo COHEN et al. (1990) o estabelecimento de alta umidade relativa por meio de embalagens plásticas permite que alguns órgãos vegetais suscetíveis à injúria por frio sejam armazenados sob baixas temperaturas sem haver a expressão dos sintomas. Este comportamento

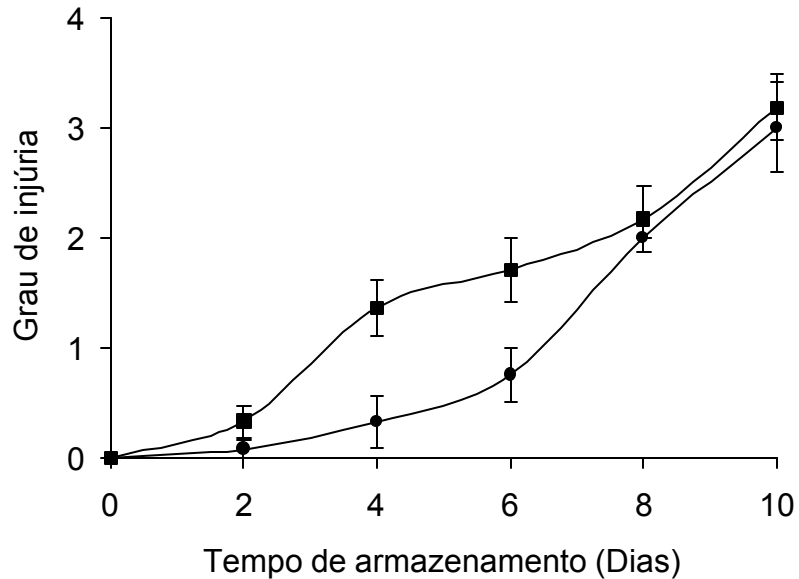


Figura 5 – Avaliação visual de injúria por frio de frutos de quiabo, mantidos por duas horas à 25 °C, após o armazenamento por 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 dias a 5 °C (■) ou 10 °C (●)

não foi observado em quiabo (Figuras 5 e 6), uma vez que a alta umidade relativa (UR) no interior da embalagem de PVC não foi suficiente para eliminar o aparecimento dos sintomas de injúria por frio. BAXTER e WATERS JUNIOR (1990b) sugerem que o polietileno de alta densidade pode ser um material de embalagem de maior potencial, devido a alta impermeabilidade do filme aos gases atmosféricos, reduzindo o surgimento de injúria por frio em quiabo armazenado a baixa temperatura.

### 3.1.3. Análise visual de escurecimento

Os resultados da análise visual de escurecimento dos frutos expostos duas horas a 25 °C após o armazenamento a 5 °C ou a 10 °C por períodos de 0, 2, 4, 6, 8, e 10 dias estão apresentados na Figura 7. Pelos dados evidencia-se que quanto maior o tempo de armazenamento no frio, maior foi o grau dos sintomas de escurecimento externo dos frutos. Duas horas após a saída do armazenamento por quatro dias, os frutos começaram

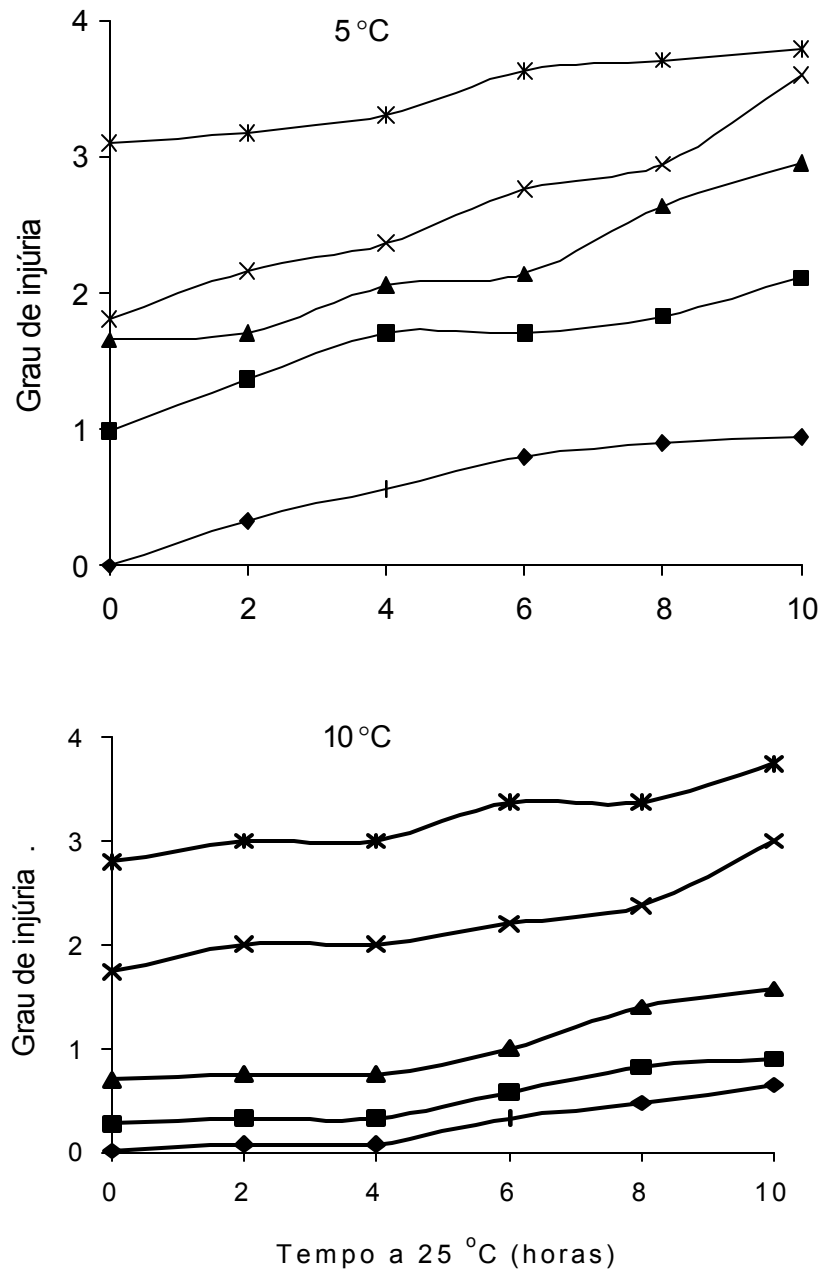


Figura 6 – Avaliação visual de injúria por frio de frutos de quiabo mantidos por 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 horas a 25 °C após o armazenamento por 2(◆), 4(■), 6(▲), 8(×) ou 10(\*) dias a 5 ou 10 °C.

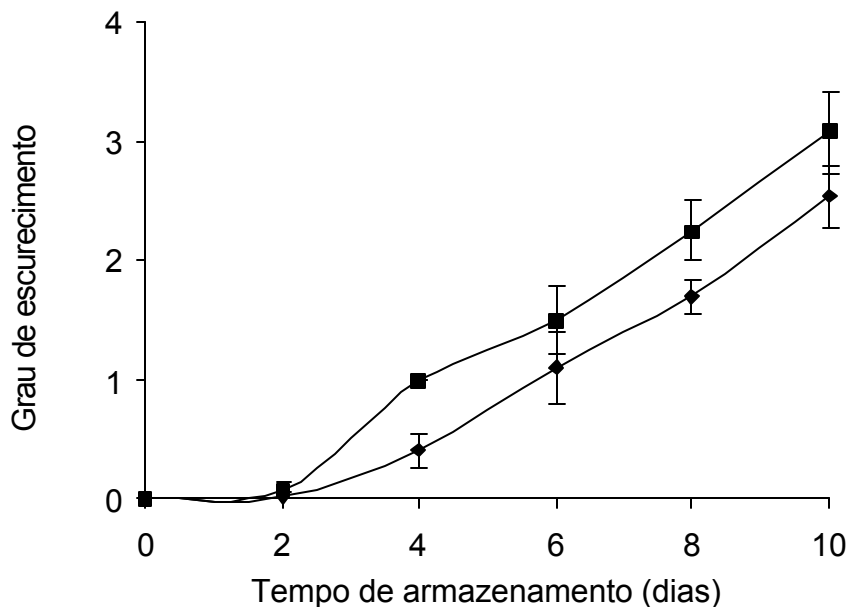


Figura 7 – Grau de escurecimento de frutos de quiabo mantidos por 2 horas à 25 °C, após o armazenamento por 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 dias a 5 °C (♦) ou 10°C (■). Barras verticais representam o erro-padrão da média.

a apresentar o sintoma de escurecimento externo estimulado pela condição de frio. Observa-se que a temperatura de 10 °C foi mais eficiente em estimular o surgimento de sintoma de escurecimento nos frutos que a temperatura de 5 °C.

Os frutos armazenados a 5 °C receberam o valor um da escala de escurecimento após permanecerem por 10 horas a 25 °C, depois de quatro dias de armazenamento a baixa temperatura (Figura 8). Enquanto os frutos armazenados a 10 °C receberam o valor um da escala de escurecimento após permanecerem por apenas duas horas a 25 °C, depois de quatro dias de armazenamento sob baixa temperatura. Observa-se que a temperatura de 10 °C parece dar maior estímulo para o desenvolvimento do escurecimento dos frutos após a retirada destes da câmara fria.

O escurecimento é uma das características que mais depreciam a qualidade dos frutos. SARGENT et al. (1996) observaram que o

armazenamento de quiabo em sacos plásticos perfurados a 8 °C possibilitou

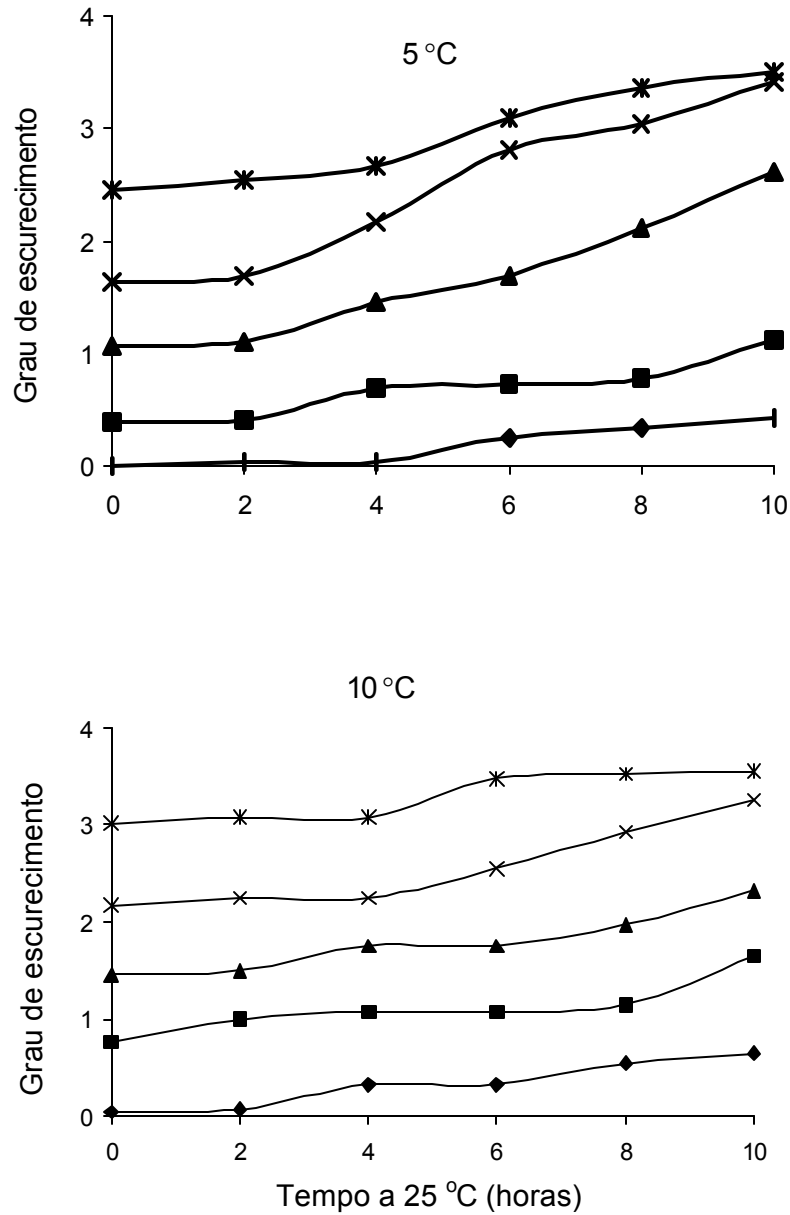


Figura 8 – Grau de escurecimento de frutos de quiabo mantidos por 2, 4, 6, 8 ou 10 horas a 25 °C após o armazenamento por 2(♦), 4(■), 6(▲),

8(×) ou 10(\*) dias a 5 ou 10 °C. melhor condição para manter a coloração desejada dos frutos, quando comparou com armazenamento a 8 °C em sacos plásticos não perfurados ou sem embalagem. BAXTER e WATERS JUNIOR (1990a) ao armazenarem quiabo sob atmosfera controlada de 5% de O<sub>2</sub>, 10 % de CO<sub>2</sub> a 11 °C e umidade relativa de 90 %, verificaram que nesta condição os frutos mantinham a coloração verde brilhante, cor desejada pelo consumidor, quando compararam com frutos armazenados sob atmosfera ambiente. No entanto, foi observada a ocorrência de coloração marrom na extremidade dos frutos armazenados sob as duas condições.

DELLA-JUSTINA (1998) mostrou que frutos de quiabo, cv. Amarelinho, embalados em filme de PVC não apresentaram escurecimento após dez dias de armazenamento a 5 °C, porém apresentaram esse sintoma, quando armazenados a 10 °C. O resultado do armazenamento a 5 °C do nosso trabalho não concorda com os dados obtidos por DELLA-JUSTINA (1998), porém os nossos resultados do armazenamento a 10°C são semelhantes aos resultados encontrados por esse trabalho.

#### **3.1.4. Clorofila**

No Quadro 1 são apresentados os teores de clorofila de quiabos analisados duas horas após a colheita e de frutos mantidos a 25 °C por 2, 4, 6, 8 ou 10 horas após o armazenamento a frio por 2, 4, 6, 8 ou 10 dias. Observa-se que os teores de clorofila diminuem ou aumentam aleatoriamente, quando comparados com os valores do teor de clorofila dos frutos do dia zero de armazenamento. Provavelmente, os tratamentos a baixa temperatura não influenciaram os teores de clorofila das amostras, mesmo sendo temperaturas causadoras de injúria por frio. Ao nível de campo foi constatada, visualmente, uma variação de forma e cor dos frutos. Apesar de ter sido feita uma padronização dos frutos no início do experimento, esta desuniformidade dos frutos do quiabeiro da variedade Amarelinho poderia ter contribuído na variação aleatória dos teores de clorofila dos frutos.

Quadro 1 – Teor de clorofila em mg kg<sup>-1</sup> de M F de quiabo analisado após 2, 4, 6, 8 ou 10 horas a 25 °C depois do armazenamento por 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 dias a 5 ou 10 °C

	Dia 0	Dia 2	Dia 4	Dia 6	Dia 8	Dia 10
Armazenamento a 5°C						
2 horas	53,7	46,4	63,3	54,5	58,9	50,3
4 horas		49,8	43,4	50,8	44,6	48,5
6 horas		58,6	53,9	69,5	73,8	62,2
8 horas		60,5	53,1	63,0	56,0	53,8
10 horas		69,3	55,1	55,3	56,4	62,7
Armazenamento a 10°C						
2 horas	62,3	63,4	60,4	63,4	72,0	55,2
4 horas		62,0	62,1	54,1	58,8	58,4
6 horas		62,5	58,2	77,0	64,5	53,5
8 horas		72,4	69,0	72,1	73,0	57,6
10 horas		59,4	51,6	66,9	65,7	52,6

Segundo BAXTER e WATERS JUNIOR (1990a), o principal benefício da atmosfera controlada aos produtos verdes, como o quiabo, seria a inibição da degradação das moléculas de clorofila. DELLA-JUSTINA (1998), mostrou que a redução da temperatura foi mais eficiente para evitar a redução do teor de clorofila do que a embalagem e que não houve diferença dos teores de clorofila de quiabo armazenado a 5 ou 10 °C durante dez dias, o que corrobora com os dados deste trabalho, indicando que as temperaturas causadoras de injúria por frio podem não afetar o teor de clorofila em quiabo.

### 3.1.5. Atividade das polifenol oxidases

Em experimento preliminar foi medida a atividade das polifenol oxidases em função de substratos. Como pode ser visto no Quadro 2, em quiabo, as polifenol oxidases tiveram maior afinidade pelo substrato 4-metil catecol.

Todavia, os resultados das atividades das polifenol oxidases obtidos no experimento foram descartados, já que não apresentaram consistência

Quadro 2 – Atividade específica e atividade relativa das polifenol oxidases, em função de cinco substratos

Substrato	Concentração (mM)	Atividade (UA min <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> prot.)	Atividade relativa (%)
4-metil catecol	5	0,0597	100,0
Pirogalol	5	0,0300	50,3
Pirocatequina	5	0,0160	26,9
Catecol	5	0,0156	26,2
L-Dopa	5	0,0032	5,3

com os resultados do teste preliminar. Não foi detectado nenhum pico de máxima atividade das enzimas que, também, rapidamente perdiam a atividade. Esta perda de atividade pode ter sido causada pela rápida saturação pelo substrato 4-metil catecol, inativando as enzimas. Segundo CHAZARRA et al., (1997), as polifenol oxidases apresentam uma reação de inativação irreversível, quando oxida difenóis a quinona, e a atividade enzimática decresce com o tempo e em poucos minutos. Neste caso, o substrato é chamado de substrato suicida.

### 3.1.5. Atividade das peroxidases

A exposição dos frutos por 4, 6, 8 ou 10 horas à temperatura de 25°C após o armazenamento a 5 ou 10°C não afetou a atividade específica das enzimas peroxidases. Foram obtidos valores médios de 11,51 e 10,43 UA min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína nas temperaturas de armazenamento de 5 e 10°C, respectivamente.

Os valores de atividade específica das amostras analisadas duas horas após a saída da câmara de armazenamento a 5 e 10°C, mostram que houve aumento crescente de atividade das peroxidases do dia zero até o dia seis de armazenamento (Figura 9). Os resultados da atividade específica

das peroxidases dos frutos armazenados a 5 e a 10 °C foram semelhantes até o sexto dia de armazenamento, diferindo apenas após o oitavo dia, em

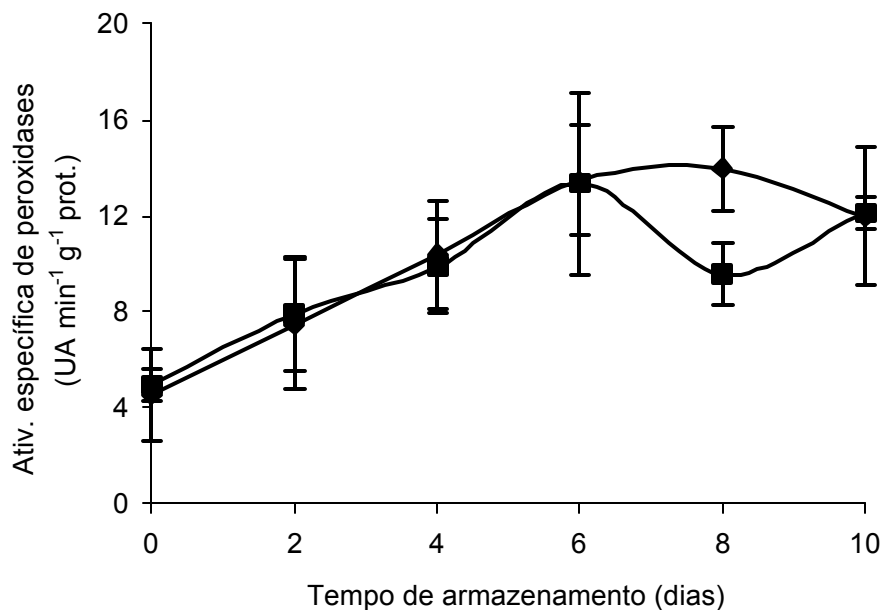


Figura 9 - Atividade específica de peroxidases de quiabo mantidos por 2 horas a 25°C após o armazenamento por 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 dias a 5°C (◆) ou 10°C (■). Barras verticais representam o erro padrão da média.

que a atividade das peroxidases foi significativamente menor nos frutos armazenados a 10 °C do que a 5 °C (Figura 9).

As correlações apresentadas no Quadro 3 foram obtidas dos resultados de frutos analisados após a colheita e de frutos após a saída do armazenamento a 5 ou a 10 °C. Pode ser visto que a correlação entre tempo e atividade das peroxidases de frutos armazenados a 5°C é de 86,99 %, ao nível de 1,21 % de probabilidade e a correlação entre tempo e atividade das peroxidases de frutos armazenados a 10 °C é de 78,87 %, a 3,11 % de probabilidade. Estes dados mostram que a atividade das peroxidases possuem alta correlação com os níveis de injúria e escurecimento dos frutos após os armazenamentos a 5 e a 10 °C. A correlação entre atividade das peroxidases, níveis de escurecimento e a injúria mostram que a expressão

e, ou, a atividade específica das peroxidases foi estimulada pela injúria por frio a 5 °C. Segundo LAGRIMINI e ROTHSTEIN (1987), o nível de expressão das peroxidases pode ser alterado como resposta a diferentes estresses.

Quadro 3 – Correlações das variáveis tempo, peroxidases 5 °C, peroxidases 10 °C, fenóis 5 °C, fenóis 10 °C, escurecimento 5 °C, escurecimento 10 °C, injúria 5 °C e injúria 10 °C, obtidas de quiabos mantidos por 2 horas a 25°C após o armazenamento por 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 dias a 5 ou 10°C

Variável	Variável	Correlação	Significância
Tempo	Peroxidases 5°C	0,8699	0,0121
Tempo	Peroxidases 10°C	0,7887	0,0311
Tempo	Fenol 10°C	0,8019	0,0275
Tempo	Fenol 5°C	-	-
Escurecimento 5°C	Injúria 5°C	0,9669	0,0008
Escurecimento 5°C	Peroxidases 5°C	0,7473	0,0439
Escurecimento 5°C	Fenol 5°C	-	-
Escurecimento 10°C	Injúria 10°C	0,9609	0,0011
Escurecimento 10°C	Peroxidases 10°C	0,7254	0,0514
Escurecimento 10°C	Fenol 10°C	0,8607	0,0139
Injúria 5°C	Peroxidases 5°C	0,8257	0,0215
Injúria 5°C	Fenol 5°C	-	-
Injúria 10°C	Peroxidases 10°C	-	-
Injúria 10°C	Fenol 10°C	0,8565	0,0147
Peroxidase 5°C	Peroxidases 10°C	0,8639	0,0133
Peroxidase 5°C	Fenol 5°C	-	-
Peroxidase 10°C	Fenol 10°C	-	-

LAGRIMINI e ROTHSTEIN (1987) e LAGRIMINI (1991) mostraram que as peroxidases podem ser responsáveis pelo escurecimento induzido por estresse em diferentes espécies vegetais.

### 3.1.6. Compostos fenólicos solúveis totais

Os teores de fenóis solúveis totais dos frutos analisados duas horas após a colheita e de frutos mantidos por duas horas a 25 °C após o armazenamento durante 2, 4, 6, 8 e 10 dias, não diferiram significativamente entre as temperaturas de armazenamento (Figura 10). Os teores de fenóis solúveis totais das amostras analisadas após duas horas da colheita ou da retirada da câmara a 10 °C possuíram correlação positiva com o tempo (Quadro 3). Isto significa que quanto maior o tempo de armazenamento dos frutos de quiabo a 10 °C, maior será o teor de fenóis solúveis totais dos

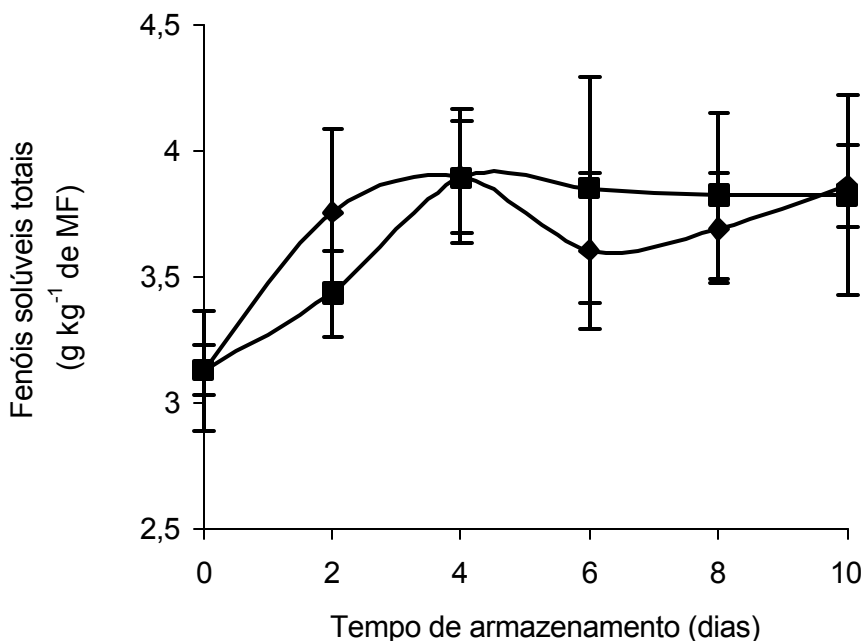


Figura 10 - Teor de fenóis solúveis totais de quiabo mantidos por 2 horas a 25 °C após o armazenamento por 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 dias a 5 °C (◆) ou 10 °C (■). Barras verticais representam o erro-padrão da média.

frutos. Para os frutos armazenados a 5°C os teores de fenóis solúveis totais não apresentaram correlação com o tempo de armazenamento, ou seja, o

tempo de armazenamento 5 °C não afetou a síntese, acúmulo ou degradação dos compostos fenólicos solúveis.

Observa-se (Quadro 3), que os teores de fenóis solúveis totais das amostras analisadas duas horas após a retirada da câmara a 10 °C correlacionaram positivamente com os níveis de escurecimento e injúria, com 86,07 % e 85,65 % de correlação aos níveis de 1,39 % e 1,47 % de probabilidade, respectivamente. O teor de fenóis solúveis totais nos frutos mantidos por duas horas a 25 °C após o armazenamento sob 5 °C não apresentaram correlação com nenhuma das variáveis estudadas neste trabalho (Quadro 3).

A conversão do aminoácido L-fenilalanina ao ácido trans-cinâmico é o primeiro passo da rota do fenil propanoide mediada pela enzima fenilalanina amonia liase (PAL). Reações seguintes da rota podem produzir vários compostos, como os compostos fenólicos (PEISER et al., 1998). De acordo com os dados apresentados na Figura 10, os teores de fenóis solúveis totais dos frutos analisados após o armazenamento durante 2, 4, 6, 8 e 10 dias foram superiores ao teor dos frutos analisados 2 horas após a colheita. Este resultado pode significar que o estresse causado pelo armazenamento a baixas temperaturas estimula a síntese dos compostos solúveis totais. Condição de estresse estimulou a rota do fenil propanóide em alface, aumentando a produção de compostos fenólicos e de complexos responsáveis pelo escurecimento das folhas (PEISER et al., 1998).

### **3.2. Experimento II – Influência do tempo e temperatura de armazenamento sobre a taxa respiratória e produção de etileno em frutos do quiabeiro**

#### **3.2.1. Atividade respiratória de frutos de quiabeiro em função da temperatura de armazenamento**

A avaliação da taxa respiratória dos frutos em diferentes temperaturas possibilita estimar o comportamento dos tecidos, quando submetidos a uma condição de estresse, assim como a longevidade pós-

colheita destes. Os frutos, uma vez colhidos, deixam de ser supridos com nutrientes orgânicos e água pela planta e passam a depender exclusivamente das reservas contidas nos próprios frutos para manter suas atividades metabólicas. O tempo de vida pós-colheita dos frutos vai depender diretamente da capacidade de reserva dos mesmos (KAYS, 1991).

Na Figura 11 é mostrado que a taxa respiratória dos frutos do quiabeiro tem um comportamento quadrático entre as temperaturas de 5 e 40 °C. Pode ser visto que quanto maior a temperatura, maior a taxa respiratória e, portanto, mais rapidamente as reservas são consumidas. Desta forma quanto maior a temperatura de armazenamento, menor é o tempo de vida pós-colheita dos frutos. PAULL (1994) relatou que frutos com em alta taxa respiratória possuem vida pós-colheita pequena, pois existe uma relação inversa entre taxa respiratória e vida de prateleira.

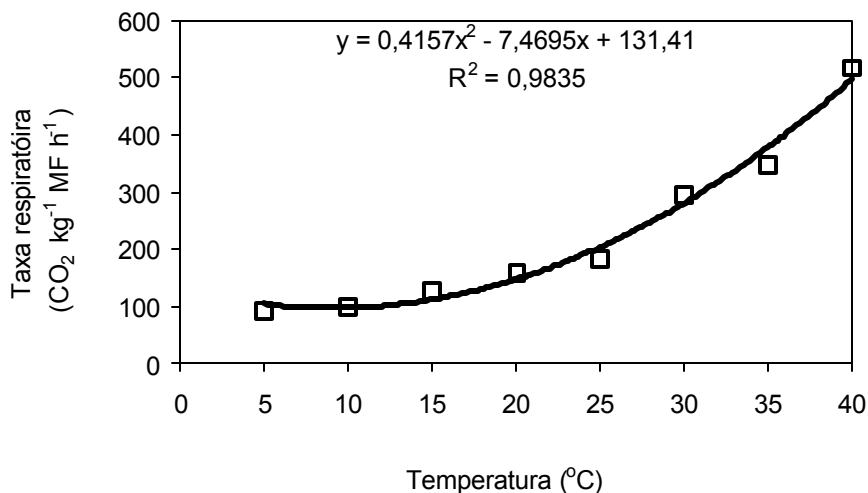


Figura 11 – Taxa respiratória de quiabo armazenado nas temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C, analisada após 30 minutos de incubação dos frutos nas respectivas temperaturas.

De acordo com tabela apresentada por PAULL (1994), que classifica as taxas respiratórias dos frutos, como muito baixa, baixa, moderada, alta e muito alta, o quiabo, que produziu 159,83 mg de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> a 20 °C (Quadro 4), pode ser classificado como fruto de alta taxa respiratória, enquadrando-se dentro dos limites de 150 a 300 mg de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> a 20 °C. Desta forma

ele pode ser considerado como produto perecível, quando considerada somente a taxa respiratória como parâmetro de avaliação.

Por meio da Lei de VANT 'HOFF ou Lei do  $Q_{10}$  pode-se estimar quantas vezes a atividade respiratória se eleva, quando se aumenta em 10 °C a temperatura do meio. O fator  $Q_{10}$  possibilita estimar a taxa respiratória a qualquer temperatura desde que se saiba a taxa respiratória a uma determinada temperatura (WATADA et al. 1996) No quiabo foram encontrados os índices 1,14, 1,53 e 2,62, quando se muda de 5°C a 10 °C, de 15 °C a 20 °C e de 25 °C a 30 °C respectivamente (Quadro 4). Pode ser visto que os índices não foram constantes na faixa de temperaturas analisadas.

O índice  $Q_{10}$  na mudança de temperatura de 5 °C para 10 °C foi duas vezes menor que o índice da mudança de 25 °C para 30 °C. Em cada atividade metabólica existe a temperatura ideal, sendo que temperaturas

Quadro 4 – Relação da temperatura, taxa respiratória e  $Q_{10}$  de frutos de quiabo analisados duas horas após colheita

Temperatura (°C)	R (mg * h <sup>-1</sup> * kg <sup>-1</sup> MF)	$Q_{10}$
5	94,21	-
10	100,77	1,14
15	129,06	1,64
20	159,83	1,53
25	182,28	1,3
30	295,24	2,62
35	348,25	1,39
40	517,28	2,2
10 - 20	-	1,58

mais baixas reduzem principalmente a atividade respiratória. Com a redução da respiração ocorre diminuição do suprimento de energia necessário para outras atividades metabólicas. KAYS (1991) afirma que para muitas espécies, para cada aumento de 10 °C na temperatura a taxa respiratória aumenta de 2 a 2,5 vezes. WATADA et al. (1996) mostraram que para tomate, morango, pepino e abóbora os índices  $Q_{10}$ , quando se eleva a temperatura de 10 para 20 °C, foram de 4,3, 4,4, 2,5 e 2,3, respectivamente.

Neste trabalho foi encontrado para quiabo índice igual a 1,58 para

essa condição. Possivelmente o quiabo possui menor índice por ser menos sensível a alteração da temperatura neste patamar. Além, de acordo com a classificação de PAUL (1984), os frutos já possuem taxa respiratória moderada a 10 °C.

### 3.2.2. Relação entre nível de injúria por frio, temperatura e taxa respiratória

O armazenamento dos frutos a 5 e 10 °C estimulou o aparecimento de sintomas de injúria máxima (valor quatro da escala) ao décimo dia de armazenamento. A injúria estimulou significativamente a respiração, alcançando valores duas vezes maiores do que a taxa respiratória de frutos sem injúria (valor zero da escala) (Figura 12).

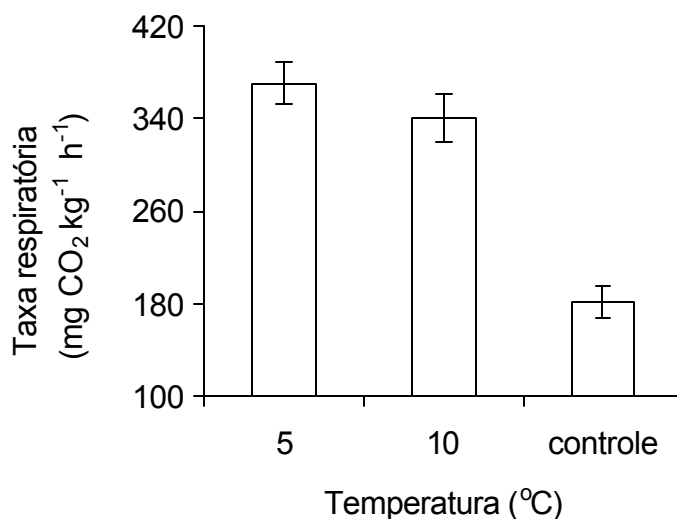


Figura 12 – Taxa respiratória de frutos do quiabeiro com injúria por frio após o armazenamento a 5 °C ou 10 °C por 10 dias, comparados com frutos sem injúria e armazenamento (controle). Barras verticais representam o erro-padrão da média.

Na escala de injúria, o valor quatro representa os frutos com mais de 15 pontos de injúria distribuídos por todo fruto. Na condição de acentuado

grau de injúria, os frutos se encontram em processo de senescência. Segundo ILKER e MORRIS (1975), quanto maior for o tempo de armazenamento de frutos de quiabo a baixas temperaturas, maior será a taxa respiratória dos frutos, quando estes forem retornados para temperatura ambiente. Neste sentido a medição da taxa respiratória dos frutos pode ser utilizada como método de avaliação do nível de injúria por frio.

### 3.2.3. Taxa de produção de etileno em função da temperatura de armazenamento e do nível de injúria por frio

Na análise do etileno liberado pelo quiabo, nos diferentes níveis de injúria por frio, observa-se que há aumento significativo na evolução do etileno apenas para o nível máximo de injúria por frio (Figura 13). De acordo

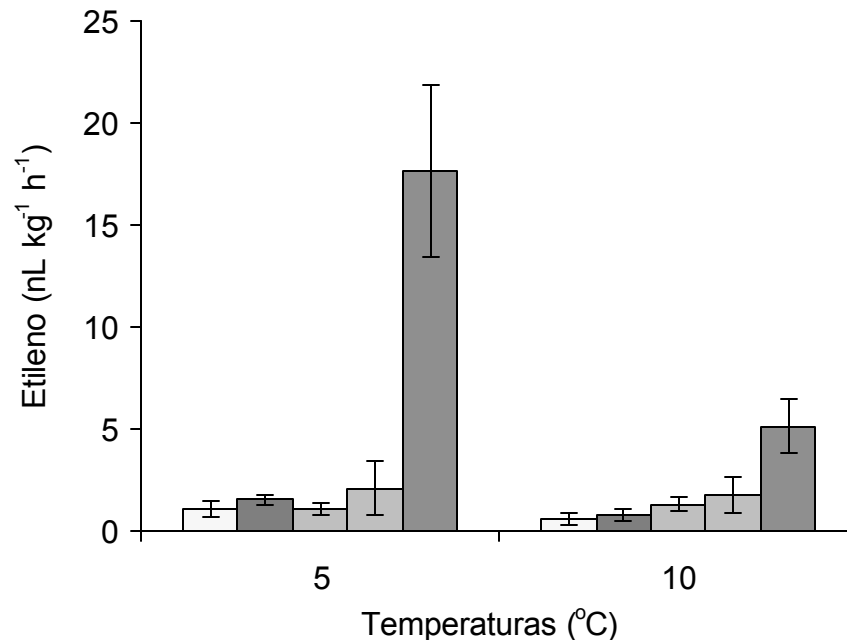


Figura 13 – Taxa de liberação de etileno por frutos de quiabeiro nos níveis 0 , 1 , 2 , 3 e 4 de injúria por frio após o armazenamento a 5 ou 10 °C. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

com WANG (1982) trabalhando com pepino, o passo que estimula o aumento da produção de etileno de tecidos com injúria por frio é resultado

do aumento da capacidade do tecido de produzir ACC (ácido 1-aminociclopropano 1-carboxílico). Os níveis de ACC, a atividade da sintase do ACC e a produção do etileno mantêm baixos enquanto o fruto é mantido a baixas temperaturas e aumentam rapidamente quando o fruto é transferido para temperatura ambiente. No entanto eles não estudaram uma correlação dos níveis de injúria com a produção de etileno.

A ausência de relação entre níveis de injúria por frio e produção de etileno pode ser indicativa de que o etileno não está relacionado diretamente e proporcionalmente com a injúria por frio em quiabo. Porém o aumento de produção de etileno observado no estágio máximo de injúria pode estar relacionado apenas ao estágio senescente avançado dos frutos e o etileno seria um sintoma secundário. De acordo com ROMANI (1984), o etileno, por meio de desconhecidos efeitos de estresses, pode ser preferencialmente um agente acelerador a ser um sintoma primário da senescência.

#### 4. CONCLUSÕES

Quiabos embalados em PVC e armazenados a 5 e 10°C perderam respectivamente 0,5 e 0,7 % por dia da matéria fresca enquanto estavam mantidos na câmara de armazenamento. Após a saída da câmara a perda de matéria fresca foi intensificada.

O grau de injúria por frio causado pelo armazenamento a 5°C foi maior do que a 10°C até o sexto dia de armazenamento, tornando-se semelhante após o oitavo dia.

Os sintomas de escurecimento foram detectados após dois dias de armazenamento a 5 e 10°C. A temperatura de 10°C foi mais eficiente que a temperatura de 5°C, em estimular o surgimento de sintomas de escurecimento nos frutos.

O teor de clorofila não sofreu influência das temperaturas 5 e 10°C de armazenamento.

As enzimas peroxidases expressaram o estímulo dado pela baixa temperatura imediatamente após a saída da câmara de armazenamento. A atividade específica das peroxidases dos frutos armazenados a 5 ou 10°C foram semelhante, diferindo significativamente apenas no oitavo dia de armazenamento. A correlação entre atividade específica das peroxidases e níveis de escurecimento e injúria por frio mostrou que a expressão e, ou, a atividade específica das peroxidases foi estimulada pela injúria por frio.

4-Metil catecol foi o substrato com o qual as enzimas polifenol oxidases tiveram maior afinidade.

Não houve diferença significativa dos teores de fenóis solúveis totais dos frutos armazenados a 5°C ou a 10°C. Os teores de fenóis solúveis totais dos frutos armazenados a 10°C possuíram correlação positiva com os níveis de injúria por frio e escurecimento. Os teores de fenóis solúveis dos

frutos armazenados a 5 °C não mostraram correlação com as variáveis estudadas.

Em função da sua taxa respiratória o quiabo foi considerado um produto perecível, com taxa respiratória igual a 159,83 mg de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> a 20 °C. Frutos com valor 4 da escala de injúria tiveram taxa respiratória duas vezes maior que frutos sem injúria.

O aumento significativo da evolução de etileno ocorreu, quando os frutos estavam no nível máximo de injúria por frio.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAXTER, L., WATERS JUNIOR, L. Chemical changes in okra stored in air and controlled atmosphere. **Journal of American Society of Horticultural Science**, v.3, n.115, p.452-454, 1990a.
- BAXTER, L., WATERS JUNIOR, L. Controlled atmosphere effects on physical changes and ethylene evolution in harvest okra. **HortScience**, v.25, n.1, p.92-95, 1990b.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytic Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- CHAZARRA, S., CABANES, J., ESCRIBANO, J., GARCÍA-CARMONA, F. Kinetic study of the suicide inactivation of latent polyphenoloxidase from iceberg lettuce (*Lactuca sativa*) induced by 4-*tert*-butylcatechol in the presence of SDS. **Biochimica et Biophysica Acta**, n.1339, p.297-303, 1997.
- COHEN, E., BEN-YESHOSHUA, ROSENBERGER, I., SHALOM, Y., SHAPIRO, B. Quality of lemons sealed in high-density polyethylene film during long-term storage at different temperatures with intermittent warning. **Journal of Horticultural Science**, v.5, n.65, p.603-610, 1990.
- DELLA-JUSTINA, M. E. **Conservação pós-colheita do quiabo influenciada por idade, dano mecânico, filme de PVC e temperatura** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 67p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- DELLA-JUSTINA, M.E., FINGER, F.L., PUIATTI, M. Perda pós-colheita da matéria fresca e da água em quiabo influenciada pelo tamanho do fruto e dano mecânico. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.1, n.23, p.37-40, 1998.
- HAMMER, F.E. Oxidoreductases. In: NAGODAWITHANA, T., REED, G. **Enzymes in food processing**. San Diego, Academic Press, 1993.
- ILKER, Y., MORRIS, L.L. Alleviation of chilling injury in okra. **HortScience**, Alexandria, v.10, n.3, p. 324, 1975. (Resumo).

- JACKMAN, R.L., YADA, R.Y., MARANGONI, A., PARKIN, K.L., STANLEY, D.W. Chilling injury. A review of quality aspects. **Journal of Food Quality**, n.11, p.253-278, 1988.
- KAYS, S. J. **Postharvest physiology of perishable products**. New York: AVI, 1991. 532p.
- KETSA, S., ATANTEE, S. Phenolics, lignin, peroxidase activity and increased firmness of damaged pericarp of mangosteen fruit after impact. **Postharvest Biology and Technology**, v.14, p.117-124, 1998.
- KUBOTA, N. Phenolic content and l-phenylalanine ammonia-lyase activity in peach fruit. In: LINSKENS, H.F., JACKSON, J.F. **Modern methods of plant analysis**. Berlin, Springer, 1995.
- LAGRIMINI, L.M. Wound-induced deposition of polyphenol in transgenic plants overexpressing peroxidase. **Plant Physiology**, n.96, p.577-583, 1991.
- LAGRIMINI, L.M., ROTHSTEIN, S. Tissue specificity of tobacco peroxidase isozymes and their induction by wounding and tobacco mosaic virus infection. **Plant Physiology**, n.84, p.438-442, 1987.
- Mc COLLUM, T.G., DOOSTDAR, H., MAYER, R.T., Mc DONALD, R.E. Immersion of cucumber fruit in heated water alters chilling-induced physiological changes. **Postharvest Biology and Technology**, v.6, p.55-64, 1995.
- MORRIS, L.L. Chilling injury of horticultural crops: an overview. **HortScience**, v.17, n.2, 1982.
- PACKER, L., DOUCE, R. The Chlorophylls. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 359– 366, 1987.
- PEISER, G., LOPEZ-GALVEZ, G., CANTWELL, M., SALTVEIT, M.E. Phenylalanine ammonia lyase inhibitors control browning of cut lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v.14, p.171-177, 1998.
- PAULL, R.E. Tropical fruit physiology and storage potential. In: CHAMP, B.R., HIGHLEY, E., JOHNSON, G.I. **Postharvest handling of tropical fruits**, 1994, p.198-204.
- ROMANI, R.J. Respiration, ethylene, senescence, and homeostasis in an integrated view of postharvest life. **Canadian Journal of Botany**, v.62, p.2950-2955, 1984.
- SARGENT, S.A., FOX, A.J., COELHO, E.C.M. LOCASCIO, S.J. Comparison of cooling and packaging methods to extend the postharvest life of okra.

**Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, n.109, p.285-288, 1996.

SHIN, R., FRODERMAN, T., FLURKEY, W. H. Isolation and characterization of a mung bean leaf polyphenol oxidase. **Phytochemistry**, v.45, n.1, p.15-21, 1997.

TORTI, S.D., DEARING, M.D., KURSAR, T.A. Extraction of phenolic compounds from fresh leaves: a comparison of methods. **Journal of Chemical Ecology**, v.21, n.2, 1995.

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

WATADA, A.E., KO, N.P., MINOTT, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Postharvest Biology and Technology**, v.9, p.115-125, 1996.

WILLS, R.H.H., LEE, T.H., GRAHAM, W.B. **Postharvest** An introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables. Westport: AVI., 1981. 162p.

ZAUBERMAN, G., JOBIN-DOCOR, M.P. Avocado (*Persea americana*. Mill.) quality changes in responses to low-temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.5, p.235-243, 1995.