

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**PRESSÕES HIPERBÁRICAS NA PÓS-COLHEITA DE
GOIABAS VERMELHAS CV. PEDRO SATO**

**José Sidnaldo Pinzetta Junior
Engenheiro Agrônomo**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**PRESSÕES HIPERBÁRICAS NA PÓS-COLHEITA DE
GOIABAS VERMELHAS CV. PEDRO SATO**

**Discente: José Sidnaldo Pinzetta Junior
Orientador: Ben-Hur Mattiuz**

**Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Campus de Jaboticabal, como parte das
exigências para obtenção do Título de
Doutor em Agronomia (Produção
Vegetal).**

P661p Pinzetta Junior, José Sidnaldo
Pressões hiperbáricas na pós-colheita de goiabas vermelhas cv.
Pedro Sato / José Sidnaldo Pinzetta Junior. -- Jaboticabal, 2021
63 p. : tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Ben-Hur Mattiuz

1. Tecnologia pós-colheita. 2. Fisiologia pós-colheita. 3.
Antioxidantes. 4. Produtos agrícolas Armazenamento. 5. estresse
vegetal. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: PRESSÕES HIPERBÁRICAS NA PÓS-COLHEITA DE GOIABAS VERMELHAS CV.
PEDRO SATO

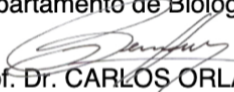
AUTOR: JOSÉ SIDNALDO PINSETTA JUNIOR

ORIENTADOR: BEN-HUR MATTIUZ

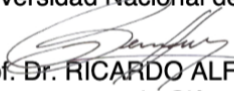
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:



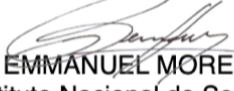
Prof. Dr. BEN-HUR MATTIUZ (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / IB / UNESP - Rio Claro



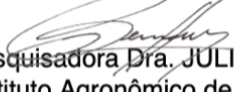
Prof. Dr. CARLOS ORLANDO INESTROZA LIZARDO (Participação Virtual)
Universidad Nacional de Agricultura/Facultad de Ciencias Tecnológicas / Catacamas/Honduras



Prof. Dr. RICARDO ALFREDO KLUGE (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas - ESALQ/USP / Piracicaba/SP



Dr. EMMANUEL MOREIRA PEREIRA (Participação Virtual)
Instituto Nacional do Semiárido-INSA / Campina Grande/PB



Pesquisadora Dra. JULIANA SANCHES DE LAURENTIZ (Participação Virtual)
Instituto Agronômico de Campinas-IAC / Campinas/SP

Jaboticabal, 23 de agosto de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

José Sidnaldo Pinzetta Junior – nascido em Taquaritinga, São Paulo, no dia 04 de novembro de 1987. Filho de José Sidnaldo Pinzetta e Maristela Amâncio dos Santos Pinzetta. Iniciou o curso de Engenharia Agrônômica em fevereiro de 2006, na Universidade Estadual Paulista, campus de Jaboticabal onde concluiu em dezembro de 2011. Durante a graduação foi bolsista do Programa de Educação Tutorial (PET) e realizou graduação sanduíche no Agrocampus Ouest, Rennes – França de setembro de 2010 a junho de 2011. Atuou como gerente de qualidade em uma multinacional do setor de processamento mínimo de vegetais até o ingresso em agosto de 2016 no curso de mestrado em Agronomia (Produção Vegetal) da Universidade Estadual Paulista campus de Jaboticabal onde realizou pesquisa com o uso de recobrimentos comestíveis em vegetais minimamente processados sob financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Em agosto de 2018, ingressou no curso de doutorado em Agronomia (Produção Vegetal) da Universidade Estadual Paulista campus de Jaboticabal onde desenvolveu pesquisas na área de pós-colheita de frutas e flores.

“Quem sabe faz a hora, não espera acontecer.”
Geraldo Vandré

Aos meus pais, Maristela e José, meus grandes incentivadores!
Por estarem sempre ao meu lado e por não medirem esforços para que eu chegasse até aqui.

À minha irmã Caroline – pelo apoio e cumplicidade de sempre –, e ao meu cunhado Willian, que juntos me permitiram ser tio do Bento, a maior alegria da nossa família!

Aos meus avós José (*in memoriam*) e Júlia (*in memoriam*) pelo apoio de sempre e exemplo de pessoas de bom coração, das quais guardo somente boas lembranças e saudades eternas!

Ao Sebastião, meu parceiro de todas as horas!

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua presença constante em minha vida e de minha família.

Ao professor Dr. Ben-Hur Mattiuz pela orientação, amizade e conselhos que contribuíram para minha melhor formação. Por estar sempre presente.

À professora Dra. Claudia Fabrino Machado Mattiuz pelos ensinamentos, amizade, incentivo e parceria em diversos projetos.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Dra. Juliana Sanches de Laurentiz, Prof. Dr. Carlos Inestroza-Lizardo, Prof. Dr. Ricardo Alfredo Kluge e Prof. Dr. Emmanuel Moreira Pereira pela disponibilidade e pela contribuição para melhoria da minha tese.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro na forma de bolsa de doutorado (nº Processo 2018/25874-7).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”.

À FCAV/UNESP (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal) e ao Departamento de Tecnologia, pela infraestrutura necessária para a realização deste trabalho.

À empresa Val Alimentos pelo fornecimento das goiabas utilizadas neste trabalho.

À toda equipe do Laboratório de Tecnologia Pós-Colheita Ellen, Karollayne e Fagner pela convivência, amizade e ajuda nos experimentos.

A todos que contribuíram de alguma maneira para a conclusão deste trabalho, e desta etapa da minha vida. Meu muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES.....	x
1. Introdução.....	13
2. Revisão de literatura.....	14
2.1 A Goiaba.....	14
2.2 Tratamentos com pressões hiperbáricas.....	15
2.3 Antioxidantes e Metabolismo oxidativo.....	17
3. Material e Métodos.....	19
3.1 Material vegetal.....	19
3.2 Sistema hiperbárico.....	19
3.3 Experimento.....	21
3.4 Avaliações.....	22
3.4.1 Perda acumulada de massa fresca.....	22
3.4.2 Firmeza do fruto.....	22
3.4.3 Cor da casca e da polpa.....	22
3.4.4 Pigmentos da casca.....	23
3.4.5 Conteúdo de ácido ascórbico (AA).....	23
3.4.6 Conteúdo de licopeno.....	23
3.4.7 Taxa respiratória durante os tratamentos.....	24
3.4.8 Taxa respiratória e produção de etileno após o armazenamento.....	24
3.4.9 Enzima Pectinametilesterase - PME (E.C. 3.1.1.11).....	25
3.4.10 Enzima Poligalacturonase - PG (E.C. 3.2.1.15).....	25
3.4.11 Sólidos solúveis (SS) e acidez titulável (AT).....	26
3.4.12 Peroxidação lipídica.....	26
3.4.13 Compostos fenólicos totais.....	27
3.4.14 Atividade antioxidante total.....	27
3.4.15 Extrato enzimático para enzimas SOD e POD.....	28
3.4.16 Enzima Superóxido dismutase - SOD (EC 1.15.1.1).....	28
3.4.17 Enzima Catalase - CAT (EC 1.11.1.6).....	28
3.5 Análise estatística.....	29
4. Resultados e Discussão.....	29
4.1 Qualidade e conservação pós-colheita.....	29
4.1.1 Perda acumulada de massa fresca (PAMF) e firmeza.....	29
4.1.2 Ângulo Hue da casca e cromaticidade da polpa.....	31
4.1.3 Clorofilas totais e carotenoides.....	34
4.1.4 Respiração e produção de etileno.....	36
4.1.5 Pectinametilesterase (PME) e Poligalacturonase (PG).....	40
4.1.6 Sólidos Solúveis (SS) e Acidez Titulável (AT).....	42
4.2 Antioxidantes e metabolismo oxidativo.....	44
4.2.1 Compostos fenólicos totais e Atividade antioxidante total.....	44
4.2.2 Conteúdo de ácido ascórbico (AA) e licopeno.....	45
4.2.3 Peroxidação lipídica e conteúdo de H ₂ O ₂	48
4.2.4 Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT).....	50
5. Conclusão.....	52
6. Referências.....	53
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60

LISTA DE ABREVIATÖES

AA – Ácido ascórbico

APG - ácido poligalacturônico

AT – Acidez titulável

CAT – Catalase

DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

DTT – Ditionitrosito

EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

GSH – Glutathione reduzida

MDA - Malondialdeído

NBT – p-nitro azul de tetrazólio

PAMF – Perda acumulada de massa fresca

PVP – Polivinilpirrolidona

PVPP – Polivinilpolipirrolidona

SOD – Superóxido dismutase

SS – Sólidos solúveis

TCA – Ácido tricloroacético

TEAC – Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox

RESUMO - Trabalhos recentes demonstram a possibilidade do uso de pressões hiperbáricas para retardar os mecanismos fisiológicos de amadurecimento e senescência em vegetais prolongando a vida útil dos produtos hortícolas. O objetivo deste trabalho foi determinar a influência de pressões hiperbáricas sobre os aspectos qualitativos e bioquímicos de goiabas vermelhas 'Pedro Sato' visando prolongar a vida pós-colheita. Os experimentos foram conduzidos sob refrigeração (12 °C) aplicando-se tratamentos hiperbáricos nas pressões de 100 (controle), 200, 400, 600, e 800 kPa, por períodos de 24, 48 e 72h, seguido de armazenamento por 10 dias. Verificou-se que as pressões de 600 e 800 kPa aplicadas por 72h resultaram na conservação das goiabas por 13 dias, sem prejuízos para a qualidade dos frutos, mantendo-se mais firmes, mais túrgidas, com preservação das clorofilas nas casca em 44%, redução na taxa respiratória de 26,4%, redução na atividade da poligalacturonase de 56%, maior indução da síntese de compostos fenólicos e antioxidantes, além da indução da atividade de enzimas do metabolismo oxidativo como a Superóxido Dismutase e a Catalase.

Palavras-chave: *Psidium guajava* L., qualidade, armazenamento.

ABSTRACT - Recent studies demonstrate the possibility of using hyperbaric pressure to delay the physiological mechanisms of ripening and senescence in vegetables, extending the shelf life of horticultural products. This study aimed to determine the influence of hyperbaric pressures on qualitative and biochemical aspects of red guava 'Pedro Sato' aiming to prolong the postharvest life. The experiments were conducted under refrigeration (12 °C) applying hyperbaric treatments at pressures of 100 (control), 200, 400, 600, and 800 kPa, for 24, 48, and 72 h, followed by storage for 10 days. The pressures of 600 and 800 kPa applied for 72 hours resulted in the preservation of guava for 13 days, without damaging the fruit quality, keeping them firmer, more turgid, preserving 44% of the chlorophylls in the peel, reduction in the respiratory rate of 26.4%, reduction in the activity of polygalacturonase of 56%, greater induction of the synthesis of phenolic compounds and antioxidants, and induction of the activity of oxidative metabolism enzymes, such as Superoxide Dismutase and Catalase.

Palavras-chave: *Psidium guajava* L., quality, storage.

INTRODUÇÃO

A goiaba (*Psidium guajava* L.) é uma fruta tropical considerada excelente para o consumo humano. Se destaca por seu elevado valor nutritivo, sendo uma das melhores fontes de vitamina C, licopeno, potássio, cobre e fibras (Queiroz, 2004). Os principais carotenoides presentes são o β -caroteno e licopeno (Wilberg et al., 1995), sendo que o licopeno representa cerca de 80% dos mesmos (Padula et al., 1987). Ela possui um elevado conteúdo de compostos bioativos, destacando-se os compostos fenólicos (Flores et al., 2015).

No Brasil, a goiabeira é cultivada em todo o território nacional, destacando-se os estados de São Paulo e Pernambuco como os maiores produtores de goiaba do país. A goiaba ocupa lugar expressivo no contexto da fruticultura brasileira com produção anual de aproximadamente 584 mil toneladas (IBGE, 2019).

A goiaba é um fruto muito perecível, com curto período de conservação em temperatura ambiente, devido à grande intensidade do seu metabolismo, apresentando vida pós-colheita muito curta (Braga et al., 2017). Os principais aspectos de deterioração são o rápido amolecimento, a perda de coloração verde e do brilho e a incidência de podridões (Gonçalves et al., 2015).

Em geral, frutas e vegetais frescos requerem baixa temperatura e alta umidade relativa para um adequado armazenamento e transporte, a fim de manter sua qualidade. A baixa temperatura tem efeito sob a redução da atividade metabólica e microbiológica que atuam de maneira direta na perda de qualidade (Valero e Serrano, 2010) e a umidade relativa atua de maneira a evitar a perda de peso e o ressecamento dos produtos. Tratamentos físicos como a refrigeração e atmosferas controladas (Raghavan et al., 2005), reduzem de modo eficiente as taxas respiratórias e retardam o desenvolvimento de podridões, mantendo a qualidade do produto por longos períodos. Entretanto, são tecnologias caras, sendo assim, estratégias alternativas que sejam ambientalmente corretas (com a redução energética) têm ganhado cada vez mais interesse no meio científico.

Nos últimos anos, o uso de atmosferas hiperbáricas tem se mostrado como uma técnica viável para a conservação de produtos frescos como alface, tomate, abacate e manga. No entanto, o uso desta técnica para conservação de goiabas ainda não foi relatado.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da aplicação de pressões hiperbáricas na conservação pós-colheita de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato e sobre os parâmetros físico-químicos e bioquímicos.

REVISÃO DE LITERATURA

1.1 A Goiaba

A goiaba (*Psidium guajava* L.) é uma fruta frequentemente incluída na categoria de “superfrutas” por apresentar atividade antioxidante, antiplasmodial, hepatoprotetiva, antidiarreica, anti-inflamatória e anticâncer. Ela possui um elevado conteúdo de compostos bioativos, destacando-se os compostos fenólicos (Flores et al., 2015).

No Brasil, a goiabeira é cultivada em todo o território nacional, destacando-se os estados de São Paulo e Pernambuco como os maiores produtores de goiaba do país. A goiaba ocupa lugar expressivo no contexto da fruticultura brasileira com produção anual de aproximadamente 584 mil toneladas, concentrada nos meses de fevereiro e março, porém a comercialização da fruta para consumo ocorre durante o ano todo (IBGE, 2019).

A goiaba vermelha se destaca por seu elevado valor nutritivo, sendo uma das melhores fontes de vitamina C, licopeno, potássio, cobre e fibras (Queiroz, 2004). Os principais carotenoides presentes são o β -caroteno e licopeno (Wilberg et al., 1995), sendo que o licopeno representa cerca de 80% dos mesmos (Padula et al., 1987).

No que se refere às cultivares, a ‘Pedro Sato’ é uma das mais plantadas no Brasil e seu mercado é voltado para o consumo *in natura* (Haida et al., 2015). Esta cultivar produz frutos grandes (300 a 400 gramas), com formato oblongo, a polpa é firme, espessa, de cor rosada, com sabor agradável, com uma cavidade central com poucas sementes e de casca muito rugosa, o que confere maior resistência ao transporte e a comercialização (Bassetto, 2002; Manica et al., 2000).

A goiaba é um fruto muito perecível, com curto período de conservação em temperatura ambiente, devido à grande intensidade do seu metabolismo, apresentando vida pós-colheita de no máximo 8 dias (Germano et al., 2019). Os

principais aspectos de deterioração são o rápido amolecimento, a perda de coloração verde e do brilho e a incidência de podridões (Valero e Serrano, 2010).

Os frutos da cultivar Pedro Sato apresentam comportamento característico climatérico, tornando-se uma fruta altamente perecível. Os frutos completam o processo de maturação em poucos dias após a colheita, tendo vida útil relativamente curta (3 a 4 dias), quando mantida à temperatura ambiente (Azzolini et al., 2004; Oliveira et al., 2018).

As principais características ligadas à deterioração são o amolecimento, perda da coloração verde externa, do brilho e o apodrecimento (Gonçalves et al., 2016). A firmeza é o atributo mais importante, pois além de manter a qualidade da fruta para o consumo *in natura*, também contribui para a conservação da fruta após a colheita, proporcionando maior resistência e proteção a danos físicos durante o transporte e resistência ao ataque de microrganismos (Abreu et al., 2012).

A refrigeração é a principal técnica de conservação pós-colheita para produtos frescos, no entanto apresenta limitações para frutos tropicais quando é reduzida abaixo de 12 °C, levando ao surgimento de desordens fisiológicas que comprometem de maneira irreversível a qualidade dos frutos (Barbosa e Lima, 2010; Steffens et al., 2008; Zhao, 2018). Portanto, é constante a procura por métodos alternativos de conservação dos frutos *in natura*, com vistas a aumentar tempo de conservação, manter a qualidade e reduzir custos.

1.2 Tratamentos com pressões hiperbáricas

O tratamento hiperbárico é um tratamento sob pressão que pode variar de 100 kPa (1 atm_{abs}) a 1000 kPa (10 atm_{abs}) (Kader e Ben-Yehoshua, 2000; Goyette et al., 2012a). Os tratamentos hiperbáricos diferem dos tratamentos de alta pressão (100 e 1200 MPa), considerada elevada para frutas e legumes frescos, causando danos irreversíveis às células dos vegetais (Ahmed E Ramaswamy, 2006; Goyette et al., 2007; Goyette et al., 2012a).

Ao contrário do tratamento térmico ou da radiação, o tratamento sob pressão assegura homogeneidade, agindo instantaneamente e de maneira uniforme, independentemente do tamanho, forma ou composição do produto, além de ser microbiologicamente seguro (Vigneault et al., 2012).

Trabalhos recentes demonstram a possibilidade do uso de pressões hiperbáricas para retardar os mecanismos fisiológicos de amadurecimento e de senescência em vegetais. Pesquisas de Goyette et al. (2012a,b) verificaram que aplicações de pressão hiperbárica em tomates, possibilitaram atraso no amadurecimento dos frutos tratados, demonstrado pela redução da taxa respiratória de até 22% quando comparado ao controle.

Inestroza-Lizardo et al. (2018) demonstraram que as pressões hiperbáricas no intervalo de 400 a 800 kPa são eficazes na conservação pós-colheita dos tomates cv. Débora quando aplicadas a 13 e 23°C. Segundo os autores, houve redução na perda de massa em 82% de tomates 'Débora' submetidos à pressão de 800 kPa por 6 dias, a 23°C. Esses autores verificaram a mesma tendência para a firmeza, cujos tomates com maior firmeza foram os submetidos às pressões de 600 e 800 kPa (média de 17,60 N), enquanto os tomates do controle apresentaram 8,15 N. Na temperatura de 13°C, as pressões de 400 a 800 kPa, durante 8 dias, influenciaram a menor taxa respiratória dos tomates e um atraso no aparecimento do pico do etileno. Independente da temperatura de armazenamento, observaram uma relação diretamente proporcional entre a pressão aplicada e a manutenção da coloração inicial dos tomates, ocorrendo a redução da síntese de licopeno em até a metade nos tomates tratados com 800 kPa em relação aos do controle.

Alfices tratadas com 850 kPa durante 5 dias, a 20°C, apresentaram maior turgescência, conteúdo de clorofila, qualidade visual e firmeza, em relação às aquelas não tratadas (100 kPa) (Liplap et al., 2014). Os autores sugerem que a pressão de 850 kPa apresenta potencial para manter a qualidade de alfaces em um armazenamento de curto prazo.

Em estudo realizado com brócolis da cv. Legacy, verificou-se que as pressões de 400, 600 e 800 kPa reduziram a taxa respiratória e a produção de etileno, mantiveram a massa fresca, a firmeza e a coloração verde das inflorescências. Ainda, as maiores pressões – 600 e 800 kPa – influenciaram a atividade antioxidante, propiciando a redução da peroxidação lipídica e da atividade das peroxidases, indicando retardo da senescência dos brócolis (Pereira, 2019).

Silva et al. (2021) mostraram que mangas armazenadas por 4 dias nas pressões hiperbáricas de 600 e 800 kPa tiveram sua qualidade pós-colheita

melhorada pela prevenção da perda de massa e redução da taxa respiratória em temperatura ambiente de 22 °C. O tratamento a 800 kPa retardou o processo de amadurecimento das mangas evidenciado pela manutenção da cor dos frutos, menor conteúdo de sólidos solúveis e maior acidez titulável.

1.3 Antioxidantes e Metabolismo oxidativo

Além dos efeitos positivos da pressão hiperbárica na manutenção da qualidade pós-colheita de produtos hortícolas, pesquisas revelam que essa técnica pode provocar um estresse específico no vegetal, dando origem a respostas biológicas benéficas (*hormesis*), aumentando a produção de compostos antioxidantes, como o licopeno e fitoalexinas.

As plantas têm numerosas estratégias para resistir ao estresse oxidativo (Gill e Tuteja, 2010). A primeira linha de defesa é a ativação e síntese de antioxidantes enzimáticos e compostos não-enzimáticos para lidar com a produção excessiva de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e a sua eliminação. Existem muitas enzimas antioxidantes que mostram grande afinidade com ERO's específicas, como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a ascorbato peroxidase (APX), a glutathione redutase (GR), e a peroxidase (POD). Por outro lado, os antioxidantes não-enzimáticos não são específicos de diferentes ERO's, tais como o ácido ascórbico, prolina, poliaminas, betaína, carotenos e flavonoides (Zagorchev et al., 2013).

Tanto os compostos antioxidantes como as enzimas antioxidantes funcionam em conjunto para interromper a cascata descontrolada de oxidação e evitar danos celulares (Gratão et al., 2005). Outra estratégia adaptada pela célula sob estresse é a programação da morte celular, este mecanismo provavelmente protege os tecidos vivos do estresse. As células sob condições de estresse morrem rapidamente por mecanismos induzidos por ERO's (Demidchik et al., 2014). Esse passo é comum para fornecer uma defesa contra infecções ou agentes agressivos. Quando a condição de estresse está sob controle no metabolismo das plantas, os sistemas de biossíntese para reparação de componentes danificados são ativados (Yoshiyama et al., 2013).

Goyette et al. (2010) verificaram retardo da síntese de licopeno de tomates

submetidos a diferentes níveis de pressão hiperbárica, quando comparados aos frutos controle. Entretanto, após a retirada dos tomates da condição de pressão, e deixados completar o amadurecimento, os pesquisadores constataram aumento significativo do teor de licopeno dos frutos tratados, em relação aos frutos a pressão ambiente.

Isso indica que mudanças no metabolismo antioxidante em plantas ocorrem geralmente em resposta a mudanças nas condições ambientais. Por exemplo, baixa temperatura (Prasad et al., 1994) e altas concentrações de O_2 em torno da fruta podem resultar no acúmulo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Este composto é reativo e causa peroxidação lipídica e desnaturação proteica (Halliwell e Gutteridge, 1990). Dessa forma, para minimizar os efeitos danosos resultantes da ação desses compostos há ativação do sistema de defesa antioxidante enzimático, que envolve oxi-redutases como a Superóxido Dismutase (SOD), Peroxidase (POD), Catalase (CAT) e Glutathione Redutase (GR) e do sistema antioxidante não enzimático, que promove a síntese de compostos como GSH (glutathione reduzida), ácido ascórbico, α -tocoferol, betacaroteno, licopeno e polifenóis (Mallick e Mohn, 2000).

O aumento da síntese desses compostos bioativos, especialmente em goiabas, se reveste de importância dada à associação destes com a prevenção de importantes doenças humanas, melhorando a funcionalidade desses alimentos (Chen et al., 2007).

Os antioxidantes naturais, presentes particularmente em frutas e hortaliças têm ganhado crescente interesse entre os consumidores e entre a comunidade científica. Estudos epidemiológicos sugerem que o frequente consumo desses alimentos é associado com a baixa incidência de doenças degenerativas incluindo o câncer, doenças cardiovasculares, inflamações, artrites, declínio do sistema imune, disfunção cerebral, diabetes, mal de Alzheimer e alguns tipos de catarata (Oliveira et al., 2011). O licopeno se destaca dentre os compostos antioxidantes presentes nos vegetais, sendo encontrado em goiabas vermelhas ($7,0 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) (Rodriguez-Amaya, 1999; Oliveira et al., 2011).

Esses compostos antioxidantes atuam também na resistência natural contra patógenos na pós-colheita. Romanazzi et al. (2008) demonstrou que curtos períodos (24 h) de pressão hiperbárica a $1,5 \text{ atm}_{\text{abs}}$ foram suficientes para induzir resistência

em uvas de mesa e cerejas contra *Botrytis cinerea*, reduzindo o diâmetro da lesão e a porcentagem de incidência do patógeno, quando comparado ao controle, demonstrando que a aplicação da técnica é promissora para o controle natural (físico) de microrganismos fitopatogênicos. Palaretti (2018), verificou que pressões de 800 kPa aplicadas por 3 dias reduziram a incidência e severidade de mofo cinzento (*B. cinerea*) e de mancha de alternaria (*Alternaria* sp.) em tomates 'Débora'. Essa resposta pode estar associada ao aumento da atividade das enzimas PAL, GLU e CAT, pela formação de compostos secundários, hidrólise da parede celular dos fungos e eliminação de H₂O₂ das células, tornando os frutos menos suscetíveis ao crescimento dos fungos.

MATERIAL E MÉTODOS

1.4 Material vegetal

Foram utilizadas goiabas cv. Pedro Sato colhidas no estágio de maturação fisiológica, ou seja, quando a cor da casca começar a mudar de verde-escura para verde-clara, e tendo como base os índices determinados por Cavalini et al. (2006), demonstrado na Tabela 1.

Os frutos foram colhidos em pomares comerciais da Empresa Val Alimentos, região de Vista Alegre do Alto, estado de São Paulo, Brasil (21° 9' 51" S e 48° 38' 19" W, 602 m de altitude). Foram colhidos frutos sadios e uniformes quanto ao tamanho e coloração, acondicionados em caixas com plástico-bolha e transportados por 50 km até o Laboratório de Tecnologia de Pós-Colheita da UNESP, Campus de Jaboticabal. No laboratório os frutos foram lavados com detergente; enxaguados com água potável; tratados com fungicida Magnate 500 EC (0,5 g L⁻¹ de imazalil - ADAMA Makhteshim Ltd.) durante um minuto; secos ao ambiente; novamente selecionadas e separadas em lotes, correspondentes aos tratamentos.

1.5 Sistema hiperbárico

Os experimentos foram conduzidos em sistema hiperbárico conforme o descrito em Inestroza-Lizardo et al. (2018) e demonstrado na Fig. 1. O sistema

consiste em 5 câmaras de aço com volume de 10,75 L, interligadas a um circuito fechado pelo qual circula um fluxo constante de ar comprimido, mantendo constante as pressões parciais de oxigênio (21 kPa) e de nitrogênio (78 kPa). O CO₂ foi adsorvido pela passagem prévia do ar em uma câmara contendo óxido de cálcio.

As câmaras de tratamento são equipadas com regulador de pressão no ponto de entrada e válvula de agulha no ponto de saída de cada vaso para regular a pressão do ar e o fluxo de ar, respectivamente, além de uma válvula de segurança. O sistema foi conectado a um compressor de ar comprimido de 250 L (Schulz, modelo MSV 20 MAX, Joinville, Santa Catarina, Brasil) para suprimento de ar comprimido. O fluxo de ar foi medido usando um “flowmeter” com uma faixa de medição de 5 a 2.000 mL min⁻¹ (Bronkhorst™, Ruurlo, Holanda). A concentração de CO₂ foi medida usando analisador de gás infravermelho (Guardian® Plus, Kirkton Campus, Livingston, Inglaterra). O medidor de vazão, e o analisador de CO₂ foram conectados ao cartão de aquisição e controle (PersonnelDAQ 3000, Cleveland, OH, EUA) e a um computador. Pressão, taxa de fluxo de ar e nível de CO₂ foram registrados usando o software DasyLab® (Measurement Computing Corporation, Norton, MA, EUA).

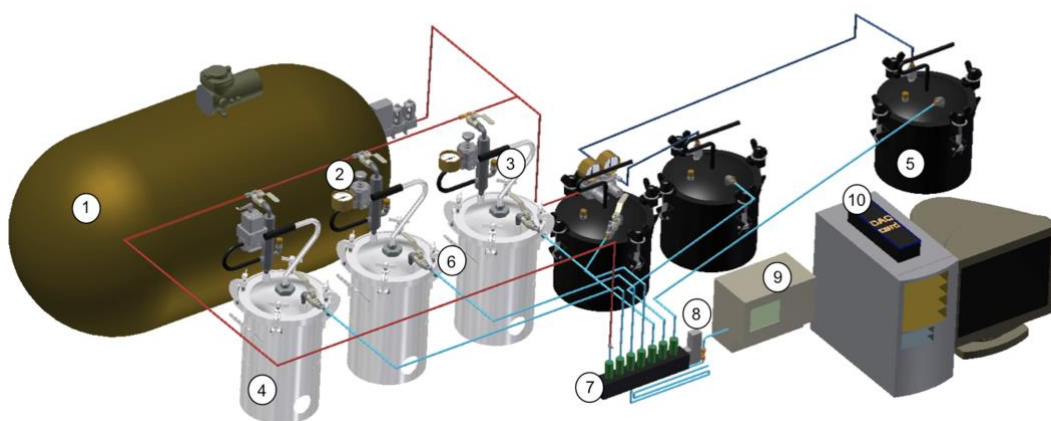


Figura 1. Esquema do sistema hiperbárico. 1. Compressor de ar comprimido; 2. Gerador de pressão; 3. Válvula de segurança; 4. Câmaras de 400 kPa, 600 kPa e 800 kPa; 5. Câmara de pressão do compressor (100 kPa); 6. Válvula de saída; 7. Coletor do ar das válvulas; 8. Medidor de fluxo de ar; 9. Analisador de gás infravermelho; 10. Placa de aquisição de dados e computador (Liplap et al. 2013).

1.6 Experimento

Em cada experimento foram colhidos e selecionados 85 frutos, dos quais 10 foram usados para análise inicial (Tabela 1). As demais 75 goiabas foram distribuídas nas 5 câmaras do sistema (15 goiabas/câmara). As câmaras foram seladas e os tratamentos consistiram em submeter os frutos às pressões hiperbáricas de 100 (controle), 200, 400, 600 e 800 kPa (tratamentos) por períodos de 24, 48 e 72h (tempos de tratamento) na temperatura de 12°C. A umidade relativa (UR) do ar no interior das câmaras foi equilibrada a 96%. A temperatura e UR foram monitoradas a cada 30 min. Ao término de cada período de armazenamento, as câmaras foram despressurizadas eletronicamente por 2h. Cinco goiabas foram analisadas após a retirada das câmaras (dia 0) e as demais foram armazenadas em câmara fria a 12 °C, sendo analisadas após 10 dias (armazenamento).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em arranjo fatorial 5x3x2 com três repetições (blocos), sendo que cada experimento (colheita) foi considerado um bloco. O primeiro fator corresponde aos tratamentos de pressão hiperbárica (100, 200, 400, 600 e 800 kPa), o segundo fator tempo de tratamento (24, 48 e 72 horas) e o terceiro fator dias de armazenamento após os tratamentos (0 e 10 dias).

Tabela 1. Caracterização inicial de goiabas cv. Pedro Sato.

Características	Valores
Massa fresca (g)	166 ± 11
Ângulo Hue da casca	113,8 ± 0,8
Cromaticidade da polpa	22,6 ± 0,9
Firmeza da polpa (N)	71,1 ± 0,6
Sólidos solúveis (%)	7,6 ± 0,3
Acidez titulável (g ácido cítrico 100 g ⁻¹ MF)	0,7 ± 0,1
Ácido ascórbico (mg 100 g ⁻¹ MF)	58,6 ± 9,6
Clorofilas totais (mg 100 g ⁻¹ MF)	1,1 ± 0,3
Carotenoides (mg 100 g ⁻¹ MF)	0,215 ± 0,05

Licopeno (mg 100 g ⁻¹ MF)	2,65 ± 0,1
Atividade da Poligalacturonase (U g ⁻¹ min ⁻¹)	8,2 ± 0,4
Conteúdo de compostos fenólicos (mg EAG 100 g MF ⁻¹)	155,7 ± 11,4
Atividade antioxidante (μmol TEAC kg MF ⁻¹)	12,99 ± 1,0
Atividade da Pectinametilesterase (U g ⁻¹ min ⁻¹)	10,32 ± 0,1
Conteúdo de Peróxido de Hidrogênio (mg H ₂ O ₂ g MF ⁻¹)	2,49 ± 0,1
Conteúdo de Malondialdeído (nmol MDA g MF ⁻¹)	2,206 ± 0,1
Atividade da Superóxido dismutase (U mg proteína ⁻¹)	480,23 ± 10,2
Atividade da Catalase (μmol H ₂ O ₂ min ⁻¹ mg proteína ⁻¹)	209,08 ± 0,9
Valores representam a média ± desvio padrão. MF = massa fresca. U = unidades. EAG = Equivalentes de ácido gálico.	

1.7 Avaliações

1.7.1 Perda acumulada de massa fresca

Foi calculada pela diferença entre o peso inicial e final dos frutos, dividido pelo peso inicial, utilizando uma balança eletrônica com faixa de medição entre 50 a 6000g ± 2g (Filizola, BP6, São Paulo, Brasil). Os resultados foram expressos em porcentagem.

1.7.2 Firmeza do fruto

Foi medida com penetrômetro digital com ponta de 8 mm (5–200 N ± 1N; Impac, IP-90DI, São Paulo, SP, Brasil). Os frutos foram cortados ao meio e a medição foi realizada na região equatorial da parte externa do fruto, em ambas as metades, totalizando 2 mediações por fruto. Os resultados foram expressos em Newton (N).

1.7.3 Cor da casca e da polpa

Foi determinado de acordo com os parâmetros Luminosidade (L*) e as coordenadas a* e b* (colorímetro Minolta CR-400, Konica Minolta, New Jersey). Essas coordenadas permitiram calcular o ângulo Hue ($\tan^{-1} b^*/a^*$) e a cromaticidade ($\sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$) (KONICA MINOLTA, 2007).

As leituras foram realizadas em dois locais na região equatorial da casca e em dois locais na região central para a polpa, totalizando 10 repetições por tratamento.

1.7.4 Pigmentos da casca

Os teores de clorofilas e carotenoides foram determinados conforme Lichtenthaler (1987), com modificações. A casca dos frutos foi removida com auxílio de um estilete. Para extração dos pigmentos, as amostras foram maceradas em N₂ líquido, pesadas, novamente maceradas em almofariz com 0,2 g de carbonato de cálcio (CaCO₃) e 5 mL de acetona 80%, e colocadas em tubos de Falcon, para posterior centrifugação a 3.000 xg por 10 minutos a 10 °C. A leitura do líquido sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro UV-visível (Femto, modelo 700 plus, Brasil) nos comprimentos de onda de 646 e 663 nm. Os resultados foram expressos mg de clorofilas kg⁻¹ MF e em mg de carotenoides kg⁻¹ MF. Foram realizadas 3 repetições por tratamento.

1.7.5 Conteúdo de ácido ascórbico (AA)

O conteúdo de ácido ascórbico foi determinado a partir do suco das goiabas, por meio de titulação de uma alíquota de 1 g de suco diluído em 50 mL de ácido oxálico, usando o reagente de Tillmans. O volume de 2,6-diclofenolindofenol de sódio gasto na titulação foi aferido e o teor de ácido ascórbico calculado, sendo os resultados expressos em mg de ácido ascórbico 100 g⁻¹ de MF. Foram realizadas três repetições por tratamento.

1.7.6 Conteúdo de licopeno

Para determinar o conteúdo de licopeno foi utilizada a metodologia de Nagata e Yamashita (1992). Cada amostra de polpa de goiaba foi macerada em N₂ líquido, transferida (2 g) para um tubo Falcon de 50 mL, adicionando-se 10 mL da solução extratora a base de acetona P.A. e hexano P.A. (4:6, v/v), homogeneizando-se em agitador tipo Vortex (Phoenix Luferco, modelo AP 56, Araraquara, Brasil). Depois de homogeneizado, foi retirado 4 mL da fase líquida e colocada em cubeta de quartzo

para a leitura em espectrofotômetro UV-visível (Femto, 700 plus, São Paulo, Brasil) em 663 nm (clorofila a), 645 nm (clorofila b), 505 nm (licopeno), 453 nm (β -caroteno). Para quantificar o conteúdo de licopeno foi utilizada a equação:

$$\text{Licopeno} = -0,0458 A_{663} + 0,204 A_{645} + 0,372 A_{505} - 0,0806 A_{453}$$

Em que A_{xxx} = absorvância no comprimento de onda especificado.

Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de polpa.

1.7.7 Taxa respiratória durante os tratamentos

As concentrações de CO₂ foram medidas automaticamente pelo sistema e em tempo real, com um intervalo de 14 minutos, totalizando 308 leituras por tratamento, durante o período de 72 horas. O cálculo da taxa respiratória (TR) foi realizado de acordo com a equação descrita por Goyette et al. (2011):

$$TR = (\Delta CO_2 \times Q) / W$$

Onde: ΔCO_2 é a diferença entre a concentração de CO₂ na entrada da câmara e a concentração de CO₂ na saída da câmara, Q é a taxa de fluxo de ar e W é a massa dos frutos de goiaba. Os resultados foram expressos em mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

1.7.8 Taxa respiratória e produção de etileno após o armazenamento

Após 5 e 10 dias de armazenamento os frutos foram acondicionados em recipientes herméticos com capacidade de 5 L e fechados. Após 60 minutos, amostras de 200 μ L da composição gasosa interna dos recipientes (*head space*) foram coletadas dos recipientes através de um septo de silicone, com auxílio de seringa de cromatografia gasosa (SGE, Analytical Science). As amostras foram injetadas em cromatógrafo a gás (Trace GC Ultra, Thermo Scientific) equipado com detector de ionização de chama (FID), coluna capilar Porapack N, com 2 m de comprimento e regulada para 80 °C. Utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste a 35 mL min⁻¹, e as temperaturas de trabalho do aparelho foram: 110 °C para a coluna,

250 °C para o detector, 200 °C para o injetor. Foram realizadas três repetições por tratamento e a respiração foi expressa em mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ e a produção de etileno foi expressa em mL C₂H₄ kg⁻¹ h⁻¹.

1.7.9 Enzima Pectinametilesterase - PME (E.C. 3.1.1.11)

A extração da PME foi realizada como descrito por Vicente et al. (2005); Costa (2009) com modificações. As amostras foram maceradas em N₂ líquido, pesadas, novamente maceradas em almofariz com 10 mL de NaCl 1,0 M contendo 10 g L⁻¹ de PVP-40 (Polivinilpirrolidona) (Sigma Aldrich). O homogenato foi mantido em repouso em tubos de Falcon, com agitação manual em intervalos de 30 min, durante 4 horas e centrifugada a 4000 x g, por 60 min, a 4 °C. O sobrenadante coletado teve o pH ajustado para 7,5 com NaOH 0,01 M e HCl 0,01 M. A atividade da PME foi realizada a partir de uma mistura em tubo de ensaio contendo 600 µL de pectina 0,5% (p/v), 200 µL de azul de bromotimol 0,01% (p/v) e 200 µL de extrato enzimático. Na reação controle adicionou-se água deionizada no lugar do extrato. Todas as soluções foram ajustadas para pH 7,5 antes do procedimento de dosagem para medir a atividade da enzima. A mistura permaneceu em banho-maria a 37 °C por seis minutos, e as leituras monitoradas a 620 nm, em espectrofotômetro UV-visível (Femto, modelo 700 plus, Brasil). Os resultados da PME foram expressos em Unidades de enzima por grama de MF por minuto (U g⁻¹ min⁻¹).

1.7.10 Enzima Poligalacturonase - PG (E.C. 3.2.1.15)

A extração da PG foi realizada como descrito por Nogata et al. (1993); Villarreal et al. (2008) com modificações. As amostras foram maceradas em N₂ líquido, pesadas, novamente maceradas em almofariz com 10 mL de tampão acetato de sódio a 50 mM (pH 6,0) contendo 10 g L⁻¹ de PVPP (Polivinilpolipirrolidona) (Sigma Aldrich) (Tampão A). O homogenato foi centrifugado a 4000 x g durante 60 min. e o sobrenadante foi descartado. O sedimento foi lavado duas vezes com 10 mL de tampão A, suspenso e adicionado 10 mL de tampão acetato de sódio a 50 mM (pH 6,0) contendo 10 g L⁻¹ de PVPP e NaCl 1,0 M (Tampão B). A mistura foi deixada em repouso em tubos de Falcon, com agitação

manual em intervalos de 30 min., durante 2 horas, a 4 °C. Após, foi centrifugada a 4000 x g, por 60 min., a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e usado para a determinação da atividade da PG. O volume de 1,0 mL de extrato enzimático foi incubado a 37 °C com 1,0 mL de ácido poligalacturônico (APG) a 0,3% (p/v) em tampão A. Alíquotas de 100 µL da mistura foram coletadas após 0 e 6 horas de reação, na reação controle foi adicionado tampão B no lugar da mistura (extrato + APG). A reação foi interrompida com a adição de 1,0 mL de tampão tetraborato de sódio 100 mM (pH 9,0) gelado e de 2-cianoacetamida a 1% (p/v). Após agitação a mistura foi colocada em água fervente por 10 min. (Gross, 1982; Villarreal et al., 2008). A mistura foi transferida para uma cubeta de quartzo e a leitura feita a 276 nm, em espectrofotômetro UV-visível (Femto, modelo 700 plus, Brasil). Os resultados da PG foram expressos em Unidades de enzima por grama de MF por minuto ($U\ g^{-1}\ min^{-1}$).

1.7.11 Sólidos solúveis (SS) e acidez titulável (AT)

Os teores de sólidos solúveis e de acidez titulável foram determinados a partir da extração do suco dos frutos, utilizando processador de alimentos (Mondial, modelo Super Centrífuga Premium, Brasil).

A análise de sólidos solúveis foi realizada em refratômetro digital (Atago, modelo PR 101), utilizando o suco extraído e filtrado. Os resultados expressos em %.

A análise de acidez titulável foi realizada por meio de titulação de 1,0 g do suco de goiaba diluído em 50 mL de água deionizada com NaOH 0,1 M, utilizando fenolftaleína 1% (p/v) como indicador (AOAC, 1997). A acidez foi expressa em mg de ácido cítrico $100\ g^{-1}$ de MF.

1.7.12 Peroxidação lipídica

O método seguiu o procedimento de Heath e Packer (1968). As amostras foram congeladas em N₂ líquido, maceradas, combinadas com 4,0 mL de tampão TCA (Ácido tricloroacético) 1% (p/v), homogeneizadas e centrifugadas a 10.000 x g por 10 min a 4 °C (Biofuge Stratos model, Heraeus, Hanau, Alemanha). A partir do sobrenadante, 1,0 mL foi pipetado e transferido para o tubo de ensaio, adicionando

3,0 mL de uma solução de ácido tiobarbitúrico a 0,5% (p/v) diluído em TCA 20% (p/v) e incubando em banho-maria a 95 °C por 60 min. Os tubos foram mantidos por 10 min em banho de gelo para interromper a reação. As amostras foram novamente centrifugadas durante 10 min a 10.000 x *g*. A absorbância do sobrenadante foi medida usando um espectrofotômetro UV-vis (Femto 700 plus, São Paulo - SP, Brasil) a 535 nm e 600 nm. Os resultados foram expressos como o conteúdo de Malondialdeído (MDA) por 100 g de massa fresca (nmol MDA 100g⁻¹ MF).

1.7.13 Compostos fenólicos totais

A determinação foi realizada pelo método espectrofotométrico, utilizando o reativo de Folin-Ciocalteu, conforme metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965), com adaptações. Foi obtido um extrato com 1 g de amostra fresca triturada e adicionados 9 ml de etanol, seguida de centrifugação a 10000 x *g* a 4 °C por 20 minutos. A reação foi feita misturando 0,3 mL do extrato vegetal; 0,75 mL de Folin-Ciocalteu 10%; 1,2 mL de água destilada e 0,75 mL de carbonato de sódio 4%. Após foram agitados e incubados no escuro por 2h. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 765 nm em triplicatas. O cálculo dos compostos fenólicos foi feito por meio da obtenção de curva padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente grama de ácido gálico/100g de amostra fresca (mg GAE 100⁻¹ MF).

1.7.14 Atividade antioxidante total

Foi realizada pelo método de DPPH, proposto por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). A solução de DPPH foi preparada a 2,0 x 10⁻⁴ g mL⁻¹ (0,0100 mg de DPPH em 50 mL de etanol a 99,8%). Para a extração, as amostras foram maceradas em N₂ líquido, pesadas e diluídas em 10 mL de etanol a 99,8% em tubo para centrífuga, e centrifugadas a 2.000 x *g* por 10 min a 5 °C. Alíquotas de 500 µL do sobrenadante foram combinadas com 3,0 mL de etanol P.A. Após a adição de 300 µL de DPPH 2,0 x 10⁻⁴ g mL⁻¹, homogeneização, os tubos de ensaios foram armazenados no escuro por 60 min. O controle negativo foi preparado com o DPPH a 0,3 mM em etanol para observar o decaimento do radical contra os antioxidantes doadores. A determinação foi realizada mediante leitura da absorbância a 517 nm e os resultados foram

convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (%DPPH reduzido = Abs branco – Abs amostra). Foi obtida a curva padrão do Trolox a partir da diluição da solução padrão de Trolox (2 mM). Foram preparadas soluções de concentrações de 50 μM a 1.000 μM . Os resultados foram expressos em μmol de Trolox equivalente por 100 g^{-1} MF.

1.7.15 Extrato enzimático para enzimas SOD e POD.

O extrato enzimático foi obtido pela mistura de 1g de polpa macerada em 5 mL de tampão fosfato de potássio + EDTA + DTT + PVPP 100 mmol L^{-1} (pH 7,5). A mistura foi agitada em vortex e em seguida centrifugada a 1000 xg por 5 minutos a 4 °C. O extrato foi armazenado em frasco âmbar em temperatura de 4 °C até o momento da utilização.

1.7.16 Enzima Superóxido dismutase - SOD (EC 1.15.1.1)

A atividade da superóxido dismutase foi determinada conforme Beauchamp e Fridovich (1971). A reação foi obtida combinando-se 50 μL de extrato enzimático, 2 mL de 50 mmol L^{-1} de tampão fosfato de sódio pH 7,8, 450 μL $\mu\text{mol L}^{-1}$ da mistura de p-nitro azul de tetrazólio (NBT) (33 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e EDTA (0,66 mmol L^{-1}) (5:4), 0,5 mL da mistura de L-metionina (5 mmol L^{-1}) e riboflavina (1,65 mol L^{-1}) (1:1), totalizando um volume de 3,0 mL. Após iluminação dos tubos, com lâmpadas fluorescentes de 20 W, por 20 min, a 25 °C, a redução do NBT foi medida por leituras de absorbância, em espectrofotômetro, a 560 nm. A atividade da SOD foi expressa em U SOD 100 g^{-1} MF.

1.7.17 Enzima Catalase - CAT (EC 1.11.1.6)

Foi determinada pela adaptação do método de Kar e Mishra (1976). A reação foi obtida pela combinação de 150 μL do extrato enzimático, 1950 μL de tampão fosfato de potássio 100 mmol L^{-1} (pH 7,5) (tampão de determinação), 150 μL de tampão fosfato de potássio + EDTA + DTT + PVPP 100 mmol L^{-1} (pH 7,5) (tampão de extração) e 750 μL de solução de peróxido de hidrogênio a 50 mM (substrato

enzimático). As leituras em 240 nm de absorbância foram feitas usando um espectrofotômetro UV-vis. A atividade específica da CAT foi expressa como proteína U kg⁻¹. Para o cálculo da atividade específica da CAT, o teor de proteína solúvel total foi medido usando o método de Bradford (LICHTENTHALER, 1987).

1.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o teste F para averiguar o efeito dos tratamentos. O teste de Tukey ($p \leq 0,05$) foi utilizado para a comparação de médias entre os tratamentos. Para a análise estatística foi empregado o programa Agroestat versão 1.1 (Barbosa; Maldonado Júnior, 2015) e para os gráficos o software GraphPad Prism, versão 8.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.9 Qualidade e conservação pós-colheita

1.9.1 Perda acumulada de massa fresca (PAMF) e firmeza

A perda acumulada de massa fresca foi alterada significativamente ($p < 0,05$) durante a aplicação do tratamento hiperbárico, como pode ser observado na Figura 2A. No entanto, a perda de massa durante o tratamento hiperbárico foi pequena, menor do que 0,6% para todos os tratamentos. Os frutos tratados por 72h apresentaram uma redução de 48% em relação ao controle.

Ao final de 10 dias de armazenamento as menores PAMF foram observadas para as pressões de 400, 600 e 800 kPa aplicadas durante 48 e 72h, resultando em perdas menores do que 10% comparadas aos demais tratamentos (Figura 2B).

Para a firmeza das goiabas, os frutos tratados com pressões hiperbáricas por 72h se mantiveram mais firmes do que os frutos controle. O tratamento dos frutos por 72h nas atmosferas hiperbáricas de 200 a 800 kPa resultou em frutos 88% mais firmes que o controle e não houve diferença ($p > 0,05$) entre a faixa de pressão de 400 a 800 kPa (Figura 2C).

Após 10 dias de armazenamento refrigerado, os tempos de tratamento hiperbárico de 24h e 48h resultaram em firmeza maior que a do controle. O menor

tempo de exposição à pressão – 24h – não apresentou diferença entre as pressões aplicadas ($p>0,05$). Para o tempo de tratamento de 48h, a pressão a 800 kPa foi a que manteve a maior firmeza em relação ao controle, de 19,4 N, valor apropriado para uma goiaba armazenada por um período total de 12 dias (pressão + ambiente). Portanto, este tratamento garantiu uma firmeza adequada por 12 dias (48h + 10 dias). Os frutos controle apresentaram uma firmeza de 12 N após 10 dias de armazenamento (Figura 2D).

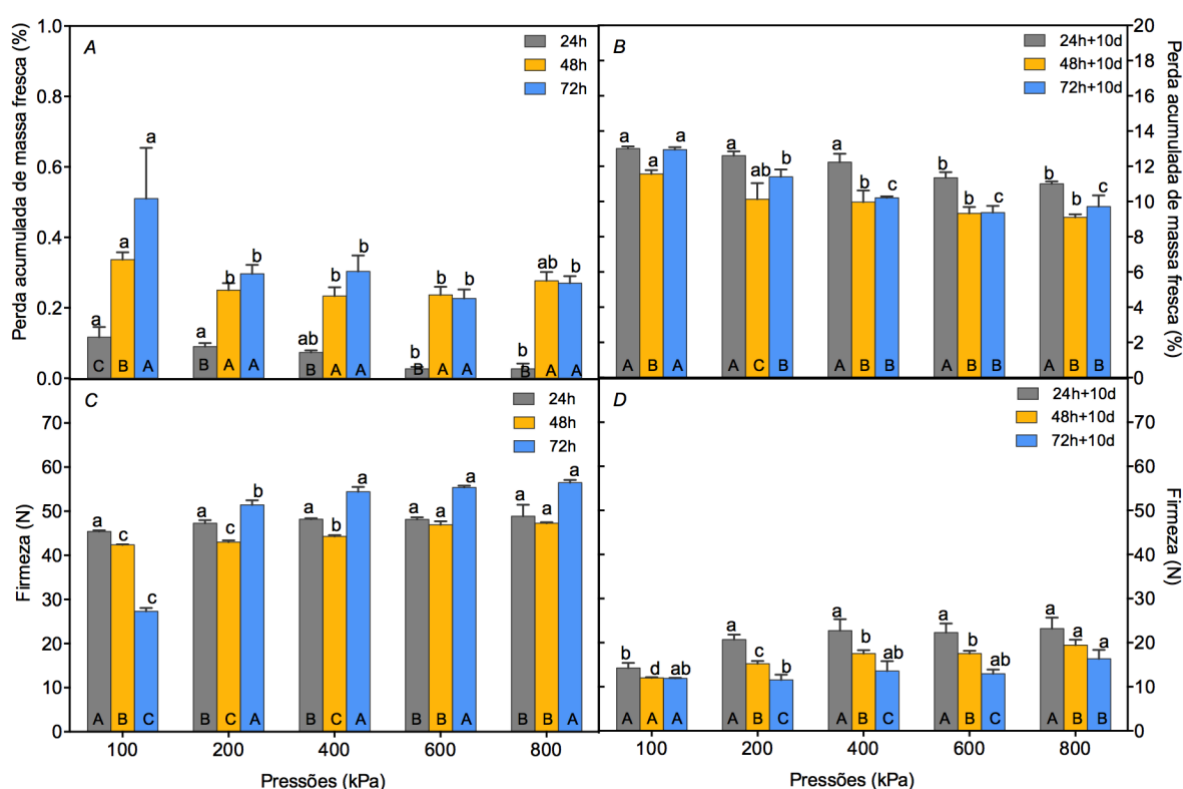


Figura 2. Perda acumulada de massa fresca e firmeza de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas a pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h (A e C) a 12 °C e 95% UR, seguidas de 10 dias (B e D) de armazenamento a 12 °C e 75% UR. Letras minúsculas iguais dentro do mesmo tempo de tratamento e letras maiúsculas iguais dentro da mesma pressão não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Desvio padrão da média (n=3).

Os resultados evidenciam a existência de um efeito benéfico das pressões hiperbáricas em função do tempo de aplicação, sendo os benefícios desta interação

observados não somente de forma imediata, mas também ao longo do período de armazenamento, observado tanto para a PAMF como para a firmeza.

A perda de massa e a firmeza são atributos de qualidade diretamente ligados com a vida pós-colheita dos frutos e, conseqüentemente, com sua aceitação pelo consumidor. Botelho et al. (2016), afirmam que a diminuição nos valores de firmeza dos frutos, está geralmente associada à ação enzimática de parede celular, durante o amadurecimento dos vegetais, principalmente de enzimas hidrolíticas como a poligalacturonase e a pectinametilesterase. Já a perda de massa é resultado do processo respiratório e transpiratório do vegetal, que é diretamente afetado pela diferença de pressão de vapor formada entre a superfície do fruto e o meio de armazenamento (Khaliq et al., 2015), onde pequenas variações são suficientes para resultar em perda de massa (Valero e Serrano, 2010). Em trabalho realizado com goiabas cv Allahabad safeda armazenadas em embalagens de polipropileno durante 28 dias a 12 °C, verificou-se que perdas de massa fresca abaixo de 5% não reduziram de forma significativa a qualidade das goiabas (Sahoo et al, 2015).

1.9.2 Ângulo Hue da casca e cromaticidade da polpa

O desenvolvimento da cor da casca da goiaba, como resultado do processo de maturação, foi inibido pelo uso de pressões hiperbáricas (Figura 3A).

Em relação ao ângulo Hue da casca das goiabas, os resultados mostram uma tendência de manutenção do ângulo Hue conforme aumento da pressão aplicada, em relação ao controle, para todos os tempos de exposição às pressões hiperbáricas (Figura 3A). Para o tempo de 24h não houve diferença significativa e permitiu um ângulo Hue maior que os demais tempos de exposição após a retirada da pressão hiperbárica, 112,9°, mantendo a coloração mais verde da casca que os demais tratamentos. Resultado que já era esperado em razão do menor tempo de tratamento a que foram expostos estes frutos. No entanto, o tempo de 48h e 72h, nas pressões de 400 a 800 kPa apresentaram resultados acima de 110°, o que é indicativo de cor verde da casca, mostrando que estes tratamentos puderam inibir a alteração de cor, que é esperada, durante o amadurecimento do fruto.

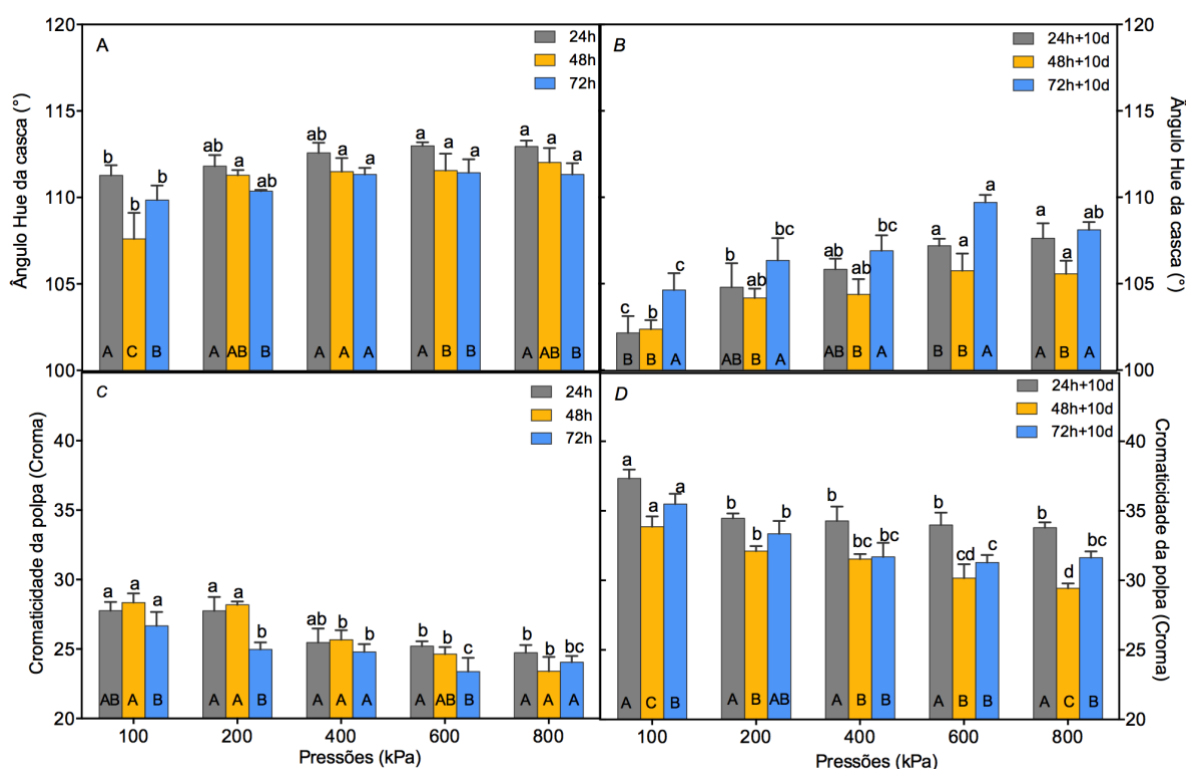


Figura 3. Ângulo Hue e cromaticidade de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas a pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h (A e C) a 12 °C e 95% UR, seguidas de 10 dias (B e D) de armazenamento a 12 °C e 75% UR. Letras minúsculas iguais dentro do mesmo tempo de tratamento e letras maiúsculas iguais dentro da mesma pressão não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Desvio padrão da média (n=3).

Ao final de 10 dias de armazenamento, a aplicação de pressões por 72h foi o que levou a uma maior manutenção do ângulo Hue das goiabas, em média 107,1°, sendo as pressões de 600 kPa a responsável pelo maior valor de Hue, diferindo significativamente do controle ($p < 0,05$) (Figura 3B). Este resultado indica que a exposição dos frutos por 72h às pressões hiperbáricas levou a uma manutenção da cor verde por mais tempo do que os demais tratamentos, chegando a um total de 13 dias. Nossos resultados mostram uma preservação da cor da casca superior à observada em estudo com goiabas armazenadas em atmosfera modificada à 10 °C por 8 dias, onde os autores obtiveram 84,79° para o ângulo Hue (Mangaraj et al., 2021).

A diminuição do Hue nos frutos controle (Figura 3B) indicam a degradação de pigmentos clorofílicos de cor verde com a síntese de pigmentos carotenoides,

responsáveis pela cor amarela (Khandaker et al., 2013), característica comum do amadurecimento de alguns frutos climatéricos, como a goiaba (Abreu et al., 2012). A coloração da casca em goiabas 'Pedro Sato', muda rapidamente após a colheita, passando de verde escuro para amarelo em 4 a 6 dias, em temperaturas próximas à 20 °C. Essa rápida mudança na coloração compromete a qualidade visual e, por conseguinte, a comercialização da fruta (Formiga et al., 2019).

Em relação à cromaticidade da polpa da goiaba, a aplicação das pressões hiperbáricas resultou em valores de cromaticidade mais baixos que o tratamento controle para todos dos tempos de exposição. As pressões de 400 a 800 kPa apresentaram um valor de cromaticidade 9,05% menor do que o controle (Figura 3D e Apêndice - Figuras 13, 14, 15 e 16).

As pressões aplicadas em seus diferentes tempos de exposição resultaram em menor cromaticidade com destaque para os tempos de 48 e 72h que retardaram o aumento da cromaticidade em 13% e 11,8%, respectivamente, após 10 dias de armazenamento, para as pressões de 400 a 800 kPa. Não houve diferença entre os tempos de tratamento 48h e 72h para as pressões de 400 e 600 kPa. Para a pressão de 800 kPa, o tempo de tratamento de 48h foi o que resultou em menor cromaticidade da polpa. (Figura 3C e 3D).

A cromaticidade, como indicativo da intensidade de uma cor, é esperado que seja maior com o avanço do estágio de maturação. Portanto, este resultado indica um atraso no processo de amadurecimento.

A elevação da cromaticidade na polpa e a diminuição do Hue na casca nos frutos controle indicam a síntese de pigmentos carotenoides caracterizada pela mudança na coloração da polpa de rosada para vermelha, e degradação de clorofilas e síntese de carotenoides, ou exposição dos mesmos após degradação dos anteriores (Abreu et al., 2012) características do amadurecimento das goiabas (Jacomino et al., 2003). Desta forma, os resultados mostram que os frutos submetidos às maiores pressões tiveram um retardo no desenvolvimento da coloração típica de frutos amadurecidos, diferente dos frutos não tratados (controle).

1.9.3 Clorofilas totais e carotenoides

A aplicação de pressões hiperbáricas inibiu a degradação de clorofilas totais em relação aos frutos controle, para todos os tempos de exposição, sendo que a degradação foi maior conforme se deu o aumento do tempo de exposição, como era esperado. Destaque é dado ao tratamento de pressão a 800 kPa que diferiu significativamente ($p < 0,05$) do controle. Os frutos expostos a 800 kPa por 24h apresentaram valores próximos aos iniciais, média de $1,13 \text{ mg } 100^{-1} \text{ MF}$. Já para os tempos de 48h e 72h essa maior pressão resultou em valores de clorofilas totais 27,3% e 26,4% maiores, respectivamente, que dos frutos controle. Não houve diferença entre os tempos de tratamento, indicando que o maior tempo de tratamento pode ser utilizado para preservação dos teores de clorofila na casca. (Figura 4A).

Após 10 dias de armazenamento, todos os tempos de exposição prévios apresentaram a mesma tendência em conteúdo de clorofila, mas as pressões de 400 a 800 kPa foram as que preservaram um maior conteúdo de clorofilas totais, em média 44,4% maiores do que o controle (Figura 4B). Não houve diferença significativa entre os tempos de exposição 24 e 72h ($p > 0,05$) para os frutos tratados a 600 e 800 kPa. Esse resultado nos mostra que um maior tempo de armazenamento sob pressão hiperbárica (72h) pode ser usado sem prejuízo para a manutenção do conteúdo de clorofilas totais.

Os resultados mostram que há uma tendência de redução do conteúdo de clorofilas ao longo do armazenamento, o que é esperado como parte do processo natural de amadurecimento dos frutos, onde ocorre desintegração do aparato fotossintético e início do catabolismo das clorofilas (Vergara-Domínguez et al., 2016). No entanto, observa-se que ao longo do armazenamento refrigerado, há uma tendência de maior conteúdo de clorofilas nos frutos tratados sob pressões maiores, até que esse valor se equilibra ao final do período de 10 dias, mostrando novamente que as maiores pressões e os maiores tempos de exposição a estas pressões permitiram maior preservação das clorofilas na casca.

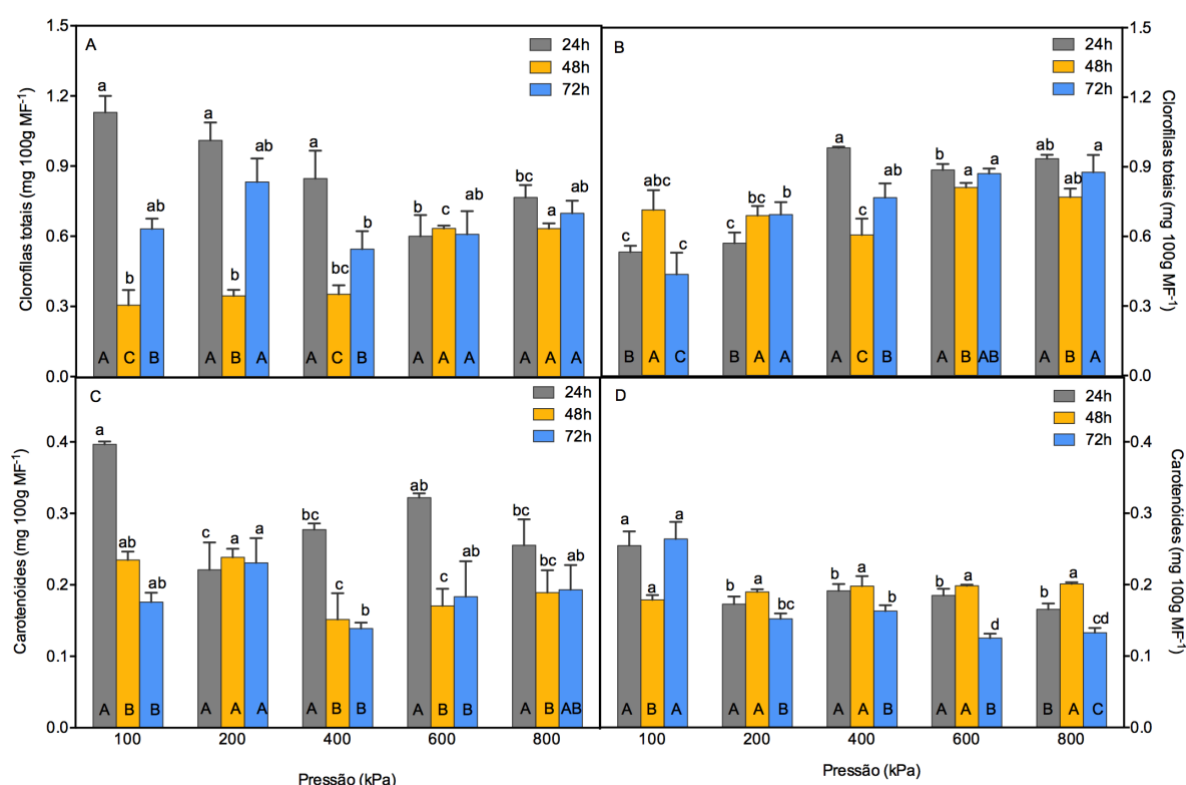


Figura 4. Clorofilas totais e carotenoides de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas a pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h (A e C) a 12 °C e 95% UR, seguidas de 10 dias (B e D) de armazenamento a 12 °C e 75% UR. Letras minúsculas iguais dentro do mesmo tempo de tratamento e letras maiúsculas iguais dentro da mesma pressão não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Desvio padrão da média (n=3).

Todos os tempos de tratamento às pressões hiperbáricas apresentaram maior retardo da síntese de carotenoides durante o período hiperbárico em relação ao controle. E as pressões aplicadas de 400 a 800 kPa reduziram em média 20% a síntese de carotenoides (Figura 4C). Verificou-se uma tendência de diminuição no conteúdo de carotenoides nos frutos tratados por 72h nas pressões de 400 a 800 kPa, em média de 7,5% em relação ao controle. Essa tendência continua até o 10º dia de armazenamento para todos os tempos de exposição 24, 48 e 72h (Figura 4C e D).

Os carotenoides são o grupo de pigmentos responsáveis pela coloração amarela dos vegetais, portanto sua presença está associada ao desenvolvimento do

processo de maturação e senescência dos vegetais. Os carotenoides se acumulam em grandes quantidades nos cromoplastos dos tecidos verdes de frutas, raízes e flores. A quantidade de carotenoides acumulada é determinada pela taxa de biossíntese e degradação, assim como pela capacidade de armazenamento estável dos produtos sintetizados nas estruturas de armazenamento (Li et al., 2013). Desta forma, o maior conteúdo de carotenoides ao final do armazenamento é justificado pela maior síntese e pela redução do teor de clorofilas (Arias et al., 2000), uma vez que os carotenoides estão armazenados nos cromoplastos, assim como as clorofilas.

1.9.4 Respiração e produção de etileno

A taxa respiratória (TR) dos frutos foi crescente durante o período de tratamento hiperbárico (Figura 6). O maior incremento da TR ocorreu no período de 24h, cujos tratamentos com as menores pressões (200 e 400 kPa) apresentaram maior taxa respiratória do que as pressões de 600 e 800 kPa. A partir das 24h de exposição, ocorre uma estabilização dos valores para os frutos controle, diferente das goiabas tratadas, cujo aumento da TR se verificou até 48h. Após 48h e até 72h, ocorreu estabilização das TR dos frutos de todo experimento.

O aumento da TR das goiabas tratadas pode ser atribuído à diluição do CO₂ nas câmaras contendo os frutos e a solubilização do CO₂ dentro do fruto resultado do aumento da pressão parcial dos gases na câmara hiperbárica (Goyette et al., 2012a). Segundo os autores, o CO₂ produzido pela respiração de frutos de tomate foi provavelmente solubilizado em sua polpa até que se igualasse a pressão parcial de CO₂ da atmosfera e posteriormente diluído dentro da câmara hiperbárica, levando a um aumento na pressão parcial de CO₂ do ar circundante ao produto e, conseqüentemente, da concentração de CO₂ na câmara. Este processo de diluição e solubilização é contínuo e somente estabiliza quando a quantidade de CO₂ saindo da câmara e entrando no leitor de gás se torna igual à gerada pela respiração do fruto (Liplap et al., 2013).

Frutas e vegetais podem aumentar ou diminuir a TR em resposta a um estresse externo e isto depende de vários fatores como estágio de maturação,

variedade, órgão vegetal, temperatura, composição atmosférica, entre outros (Fonseca et al., 2002).

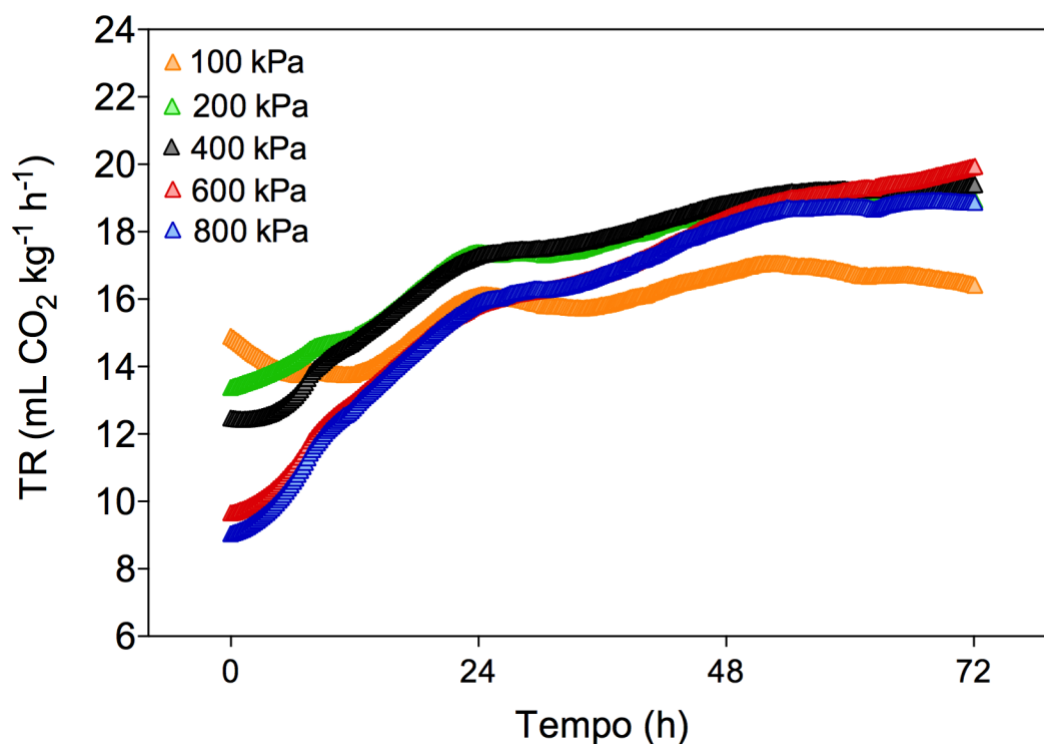


Figura 5. Taxa respiratória (TR) de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas às pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h a 12 °C e 95% UR.

Quando os frutos foram retirados das câmaras hiperbáricas, a taxa respiratória foi menor nos frutos tratados com pressões hiperbáricas por 24 e 72h (Figura 6A). No entanto, as menores taxas respiratórias foram observadas para o tempo de 24h nas pressões de 400 a 800 kPa, com média de 20,1 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Figura 5 e 6A). Este comportamento também foi observado por Baba e Ikeda (2003).

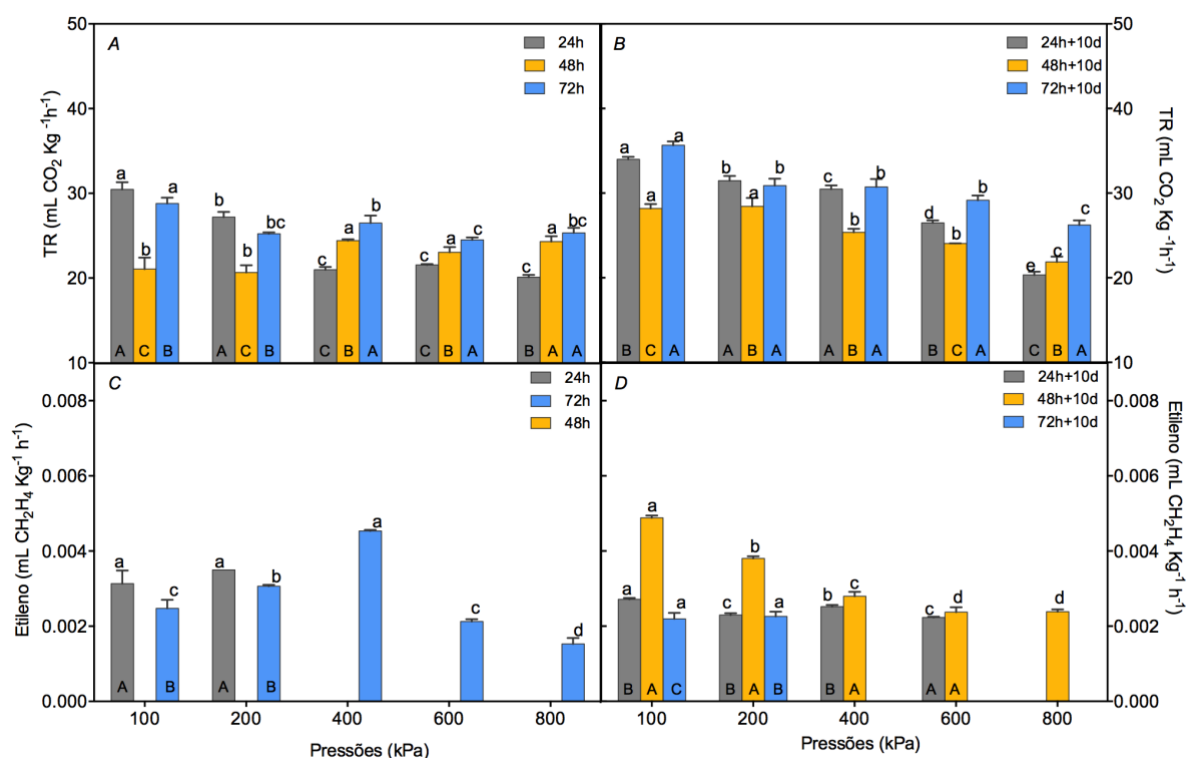


Figura 6. Taxa respiratória (TR) e produção de etileno de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas a pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h (A e C) a 12 °C e 95% UR, seguidas de 10 dias (B e D) de armazenamento a 12 °C e 75% UR. Letras minúsculas iguais dentro do mesmo tempo de tratamento e letras maiúsculas iguais dentro da mesma pressão não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Desvio padrão da média (n=3).

No caso dos tratamentos hiperbáricos, trabalhos conduzidos com tomates a 13 °C mostraram um decréscimo na TR inversamente proporcional à pressão aplicada (Goyette et al., 2012b), e corrobora com as respostas encontradas neste trabalho a 12°C.

Para todos os tempos de tratamento, a pressão de 800 kPa foi a que resultou em menor taxa respiratória em relação ao controle ao final de 10 dias de armazenamento (Figura 6B). O destaque foi para o tempo de tratamento de 24h que associado à pressão de 800 kPa resultou na menor TR após 10 dias de armazenamento.

Após 10 dias de armazenamento, os frutos tratados por 72h respiravam a uma taxa maior que os demais tempos de exposição e de maneira inversa ao

aumento da pressão, sendo que para os frutos tratados a 800 kPa a TR foi 26,4% menor (Figura 6B). Este resultado pode ser atribuído ao maior tempo de armazenamento a que estavam submetidos os frutos tratados por 72h – dois dias a mais que os frutos tratados por 24h.

O etileno foi detectado nos frutos que foram tratados por 72h, sendo menor sua produção à pressão de 600 e 800 kPa. Para o tratamento de 48h não foi detectada produção de etileno durante a aplicação das pressões. O etileno também foi detectado para o tempo de 24h sob as pressões de 100 e 200 kPa, as quais mostraram maior taxa respiratória para este tempo de exposição (Figura 6C) enquanto os tratamentos de 400 a 800 kPa evitaram a produção de etileno nos frutos tratados por 24h.

Somente após 10 dias de armazenamento verificou-se a produção de etileno no tratamento de 24h com uma tendência de produção inversamente proporcional à pressão aplicada, sendo que no tratamento a 800 kPa, não foi detectada produção de etileno. Para o tratamento de 48h, foi detectado a presença de etileno em todas as pressões e de maneira inversamente proporcional à pressão aplicada. Não foi detectado etileno nos frutos tratados por 72h nas pressões de 400 a 800 kPa (Figura 6D).

Nossos resultados mostram que houve produção de etileno quando houve maior tempo de exposição às pressões hiperbáricas. Desta forma, os frutos tratados por 24h (menor tempo de tratamento) nas pressões de 400 a 800 kPa não apresentaram produção de etileno, ao contrário do observado nos frutos controle e a 200 kPa. No entanto, a produção de etileno se manteve abaixo de $5 \mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ durante todo o período. Em estudo realizado por Abreu et al. (2012) após 8 dias de armazenamento em temperatura ambiente (22°C) a produção de etileno atingiu mais de $5 \mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ em goiabas cv. Pedro Sato, o que corresponde ao seu pico climatérico. Dessa forma, nossos resultados confirmam um retardo no pico de produção de etileno e consequente atraso no amadurecimento pelo uso de pressões hiperbáricas combinadas à refrigeração.

1.9.5 Pectinametilesterase (PME) e Poligalacturonase (PG)

Durante o período de tratamento, a atividade da enzima PME aumentou proporcionalmente às pressões aplicadas nos maiores tempos de aplicação (48 e 72h) (Figura 7). A atividade foi aumentada em 3,4 vezes para o tratamento a 800 kPa durante 72h em relação aos frutos mantidos em atmosfera ambiente. No tempo de 24h, ocorreu efeito contrário, a redução na atividade desta enzima com o aumento da pressão aplicada, de maneira que a 800 kPa de pressão apresentou a atividade de $13,0 \text{ U g}^{-1} \text{ min}^{-1}$.

A atividade da PME, em geral, se inicia na maturação fisiológica dos frutos e aumenta durante o amadurecimento dos frutos (Gill, 2015; García-Betanzos et al., 2017). Nossos resultados sugerem que as pressões de 400 a 800 kPa inibiram o processo de maturação pela diminuição da atividade da PME quando o tempo de tratamento foi de 24h. Para as pressões acima de 200 kPa, houve elevação da atividade da PME quando o tempo de tratamento foi maior que 48h. No entanto, os resultados da firmeza dos frutos (Figura 2A), mostram que mesmo esse aumento da atividade da PME não levou a diminuição da firmeza dos frutos. Nossos resultados corroboram com o observado por Formiga et al. (2019) para a atividade da PME, onde goiabas cv. Pedro Sato não tratadas, tiveram uma menor atividade da PME do que as goiabas tratadas com recobrimento e que se mantiveram imaturas por maior tempo, ou seja, a elevada atividade da PME nem sempre indica processo de maturação avançado. Linhares et al. (2007) observou a redução da atividade da PME ao longo do armazenamento e Botelho et al. (2016) afirma que goiabas recém-colhidas apresentavam elevada atividade da PME.

Para a atividade da PG, esta mostrou tendência de diminuição com o aumento da pressão aplicada, independente do tempo de tratamento hiperbárico. E ainda, o maior tempo de tratamento (72h) a 800 kPa foi o que resultou em menor atividade da PG, 56% menor que os frutos mantidos a pressão ambiente (Figura 7).

A atividade da PG é dependente da esterificação das cadeias do ácido galacturônico pela PME (Gayathri e Nair, 2017). Apesar disso, nos tratamentos onde a atividade da PME foi maior, 48 e 72h, a atividade da PG se manteve menor nesse tratamento, o que sugere que a atividade da PG é reduzida pelas pressões hiperbáricas mesmo na presença de maior quantidade de substrato.

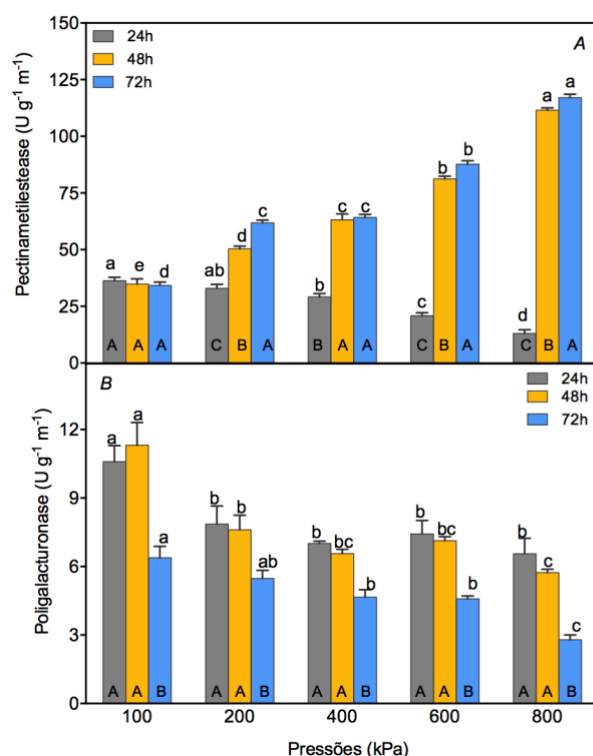


Figura 7. Atividade das enzimas Pectinametilsterase e Poligalacturonase de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas a pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h a 12 °C e 95% UR. Letras minúsculas iguais dentro do mesmo tempo de tratamento e letras maiúsculas iguais dentro da mesma pressão não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Desvio padrão da média (n=3).

O aumento na solubilização da pectina e rompimento das ligações microfibrílicas de celulose-xiloglucanos da goiaba é moderada pelo aumento na atividade da poligalacturonase (PG), pectinametilsterase (PME) e outras celulasas e tem sido associada com o rápido amaciamento do fruto (Ali et al., 2004).

A PG atua dissolvendo a pectina e desmembrando a parede celular. Esta enzima hidrolítica age sobre o ácido poligalacturônico e hidrolisa as ligações 1,4-glicosídicas entre os resíduos de ácido galacturônico em galacturonanos (Gayathri e Nair, 2017). As pressões hiperbáricas atuaram reduzindo atividade da PG o que pode ser confirmado pela manutenção da firmeza dos frutos durante o tratamento hiperbárico. Este comportamento também foi observado por Formiga et al. (2019) para goiabas cv. Pedro Sato, onde houve redução na atividade da PG em frutos

tratados com recobrimentos e que se mantiveram mais firmes que os frutos não tratados. Além disso, a baixa produção de etileno pode induzir a baixa atividade das enzimas pectinolíticas (Lelièvre et al., 1997), como discutido na seção 3.5.

Estudo realizado com goiabas brancas e vermelhas mostrou que a atividade da PG aumentou progressivamente durante o amadurecimento do fruto, resultando em uma alta correlação entre a atividade da PG e a firmeza do fruto ($r^2=0,987$) (Abu-Goukh e Bashir, et al., 2003).

1.9.6 Sólidos Solúveis (SS) e Acidez Titulável (AT)

As pressões hiperbáricas e os tempos de tratamento não influenciaram o conteúdo de sólidos solúveis dos frutos durante o período de tratamento hiperbárico (Figura 8A). Após 10 dias de armazenamento, os frutos que foram tratados por 48h nas pressões de 600 e 800 kPa apresentaram menor conteúdo de SS que o controle. O mesmo resultado foi obtido para o tempo de tratamento de 72h, que apesar de ter um conteúdo de SS maior que os demais tratamentos, apresentou menor conteúdo de SS para os frutos tratados com 600 e 800 kPa (Figura 8B). Resultado semelhante foi observado para a acidez titulável, onde ocorreu uma pequena variação ao longo do armazenamento hiperbárico, independente do tempo de tratamento (Figura 8C). Ao final de 10 dias de armazenamento, independentemente do tempo de exposição, o tratamento de 800 kPa se destacou das demais pressões, mantendo o teor de AT próximo aos valores iniciais (Figura 8D).

A pequena alteração no teor de SS e de AT pode ser resultado da baixa atividade metabólica e menor transpiração do produto (Rana et al., 2018) nas condições de atmosfera hiperbáricas. Somado a isso, outros autores relatam não haver uma variação significativa no conteúdo de SS e AT ao longo do armazenamento de goiabas pela natureza de baixo acúmulo de amido deste fruto (Abreu et al., 2012; Botelho et al., 2016).

Além disso, os ácidos orgânicos que compõem a acidez são substratos para o processo respiratório (Valero e Serrano, 2010). Assim, a diminuição da acidez

titulável é dependente da atividade metabólica, que é indicada pela respiração e evidenciada pelo amadurecimento (Liplap et al., 2013).

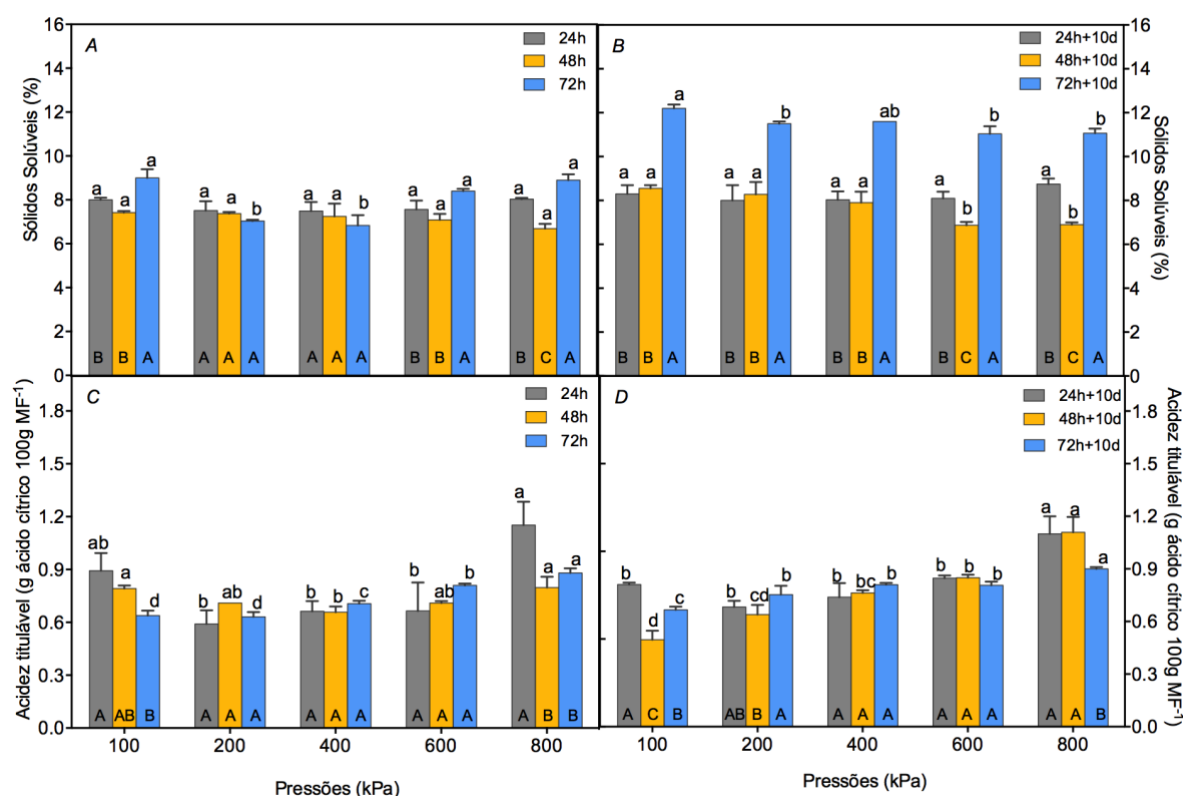


Figura 8. Sólidos solúveis e acidez titulável de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas a pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h (A e C) a 12 °C e 95% UR, seguidas de 10 dias (B e D) de armazenamento a 12 °C e 75% UR. Letras minúsculas iguais dentro do mesmo tempo de tratamento e letras maiúsculas iguais dentro da mesma pressão não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Desvio padrão da média (n=3).

Portanto, com base nos resultados observados, a goiaba 'Pedro Sato' respondeu ao tratamento hiperbárico para aumento da conservação. De acordo com Mattiuz e Durigan (2001) a goiaba tem uma vida pós-colheita de 5-6 dias em temperatura ambiente. Em condição de refrigeração é esperado que a vida de prateleira seja estendida. Germano et al. (2019) verificaram que goiabas armazenadas a 11 °C mantiveram a qualidade por 15 dias. Em nosso trabalho, a

combinação do tempo de tratamento e pressão hiperbárica resultou em parâmetros de qualidade satisfatórios até 13 dias de armazenamento.

1.10 Antioxidantes e metabolismo oxidativo

1.10.1 Compostos fenólicos totais e Atividade antioxidante total

Tratamentos hiperbáricos por 24h não tiveram influência no conteúdo de compostos fenólicos das goiabas testadas (Figura 9A). Já o tempo de 48h nas pressões de 200 a 800 kPa e o tempo de 72h nas pressões de 400 a 800 kPa foram os que resultaram em maior conteúdo de compostos fenólicos em relação ao controle.

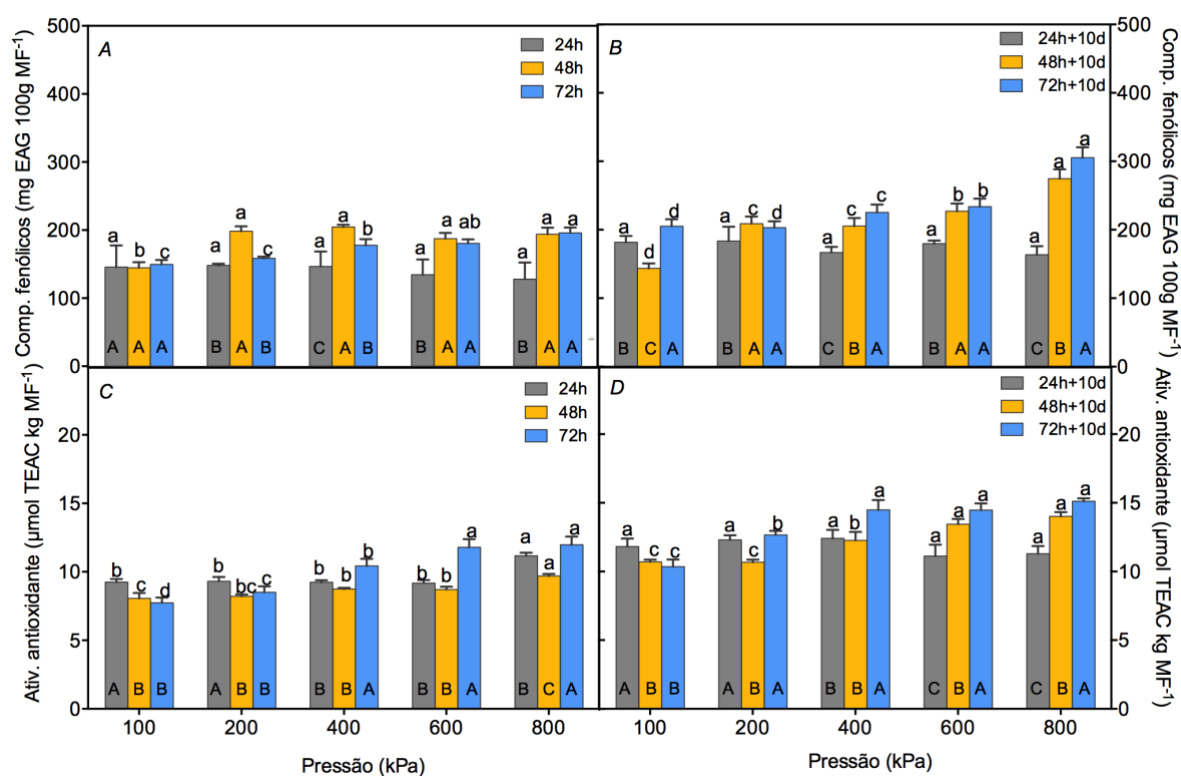


Figura 9. Compostos fenólicos totais e Atividade antioxidante total de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas a pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h (A e C) a 12 °C e 95% UR, seguidas de 10 dias (B e D) de armazenamento a 12 °C e 75% UR. Letras minúsculas iguais dentro do mesmo tempo de tratamento e letras maiúsculas iguais dentro da mesma pressão não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Desvio padrão da média (n=3).

As pressões de 200 a 800 kPa não se diferenciaram entre si ($p>0,05$) e propiciaram um aumento de 41% na síntese de compostos fenólicos. A pressão de 800 kPa por 72h resultou em conteúdo de compostos fenólicos 31% maior que o controle.

Após o período de armazenamento de 10 dias em pressão ambiente, os frutos tratados nas pressões de 800 kPa nos tempos de 48h e 72h, mantiveram a tendência dos tratamentos e foram os que apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos em relação ao controle (Figura 9B). Os frutos tratados por 24h não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) em relação ao controle.

Para a atividade antioxidante, os frutos tratados por 72h com pressões a partir de 200 kPa resultaram em maior atividade antioxidante, com destaque para as pressões de 600 e 800 kPa que apresentaram as maiores atividades. Para o tempo de 48h de tratamento, a pressão que resultou em maior atividade antioxidante foi a de 800 kPa.

Ao final do período de 10 dias de armazenamento, os frutos que apresentavam maior atividade antioxidante foram aqueles tratados por 72h nas pressões de 400 a 800 kPa e por 48h nas pressões de 600 e 800 kPa.

Os resultados mostram uma possível influência do tempo de tratamento e pressão, sendo que tempos maiores de exposição a baixas pressões levaram a uma resposta antioxidante, mesmo que modesta, do que tempos de exposição curtos a elevadas pressões. O tempo pode ser um fator chave na subversão da maquinaria celular para sinalizar uma resposta do metabolismo antioxidante.

Resultados semelhantes foram encontrados por Pereira (2019) em estudo realizado com brócolis, onde observou aumento da atividade antioxidante pela aplicação de pressões hiperbáricas. Inestroza-Lizardo et al. (2019) ao submeterem tomates 'Debora' ao tratamento hiperbárico por seis dias, obtiveram uma resposta sinérgica dos tratamentos de 200, 400, 600 e 800 kPa na atividade antioxidante total.

1.10.2 Conteúdo de ácido ascórbico (AA) e licopeno

O conteúdo de ácido ascórbico foi influenciado pelas pressões nos tempos de exposição (Figura 10A). As pressões de 600 e 800 kPa nos tempos de tratamento de 48h e 72h inibiram a síntese de ácido ascórbico em 15,5 e 17,5% em relação ao

controle. Essa tendência se manteve mesmo durante o armazenamento refrigerado a 12 °C por 10 dias. A pressão de 800 kPa por 48h foi a que resultou em menor teor de AA ao final do armazenamento (Figura 10B). No entanto, ao longo do armazenamento, o conteúdo médio de AA aumentou em todos os tratamentos, o que indica que as maiores pressões inibiram a síntese, porém não interromperam a mesma. Comportamento oposto foi observado para o tempo de 24h de pressão que levou ao aumento do conteúdo de AA conforme aumentou-se a pressão, após 10 dias de armazenamento (Figura 10C).

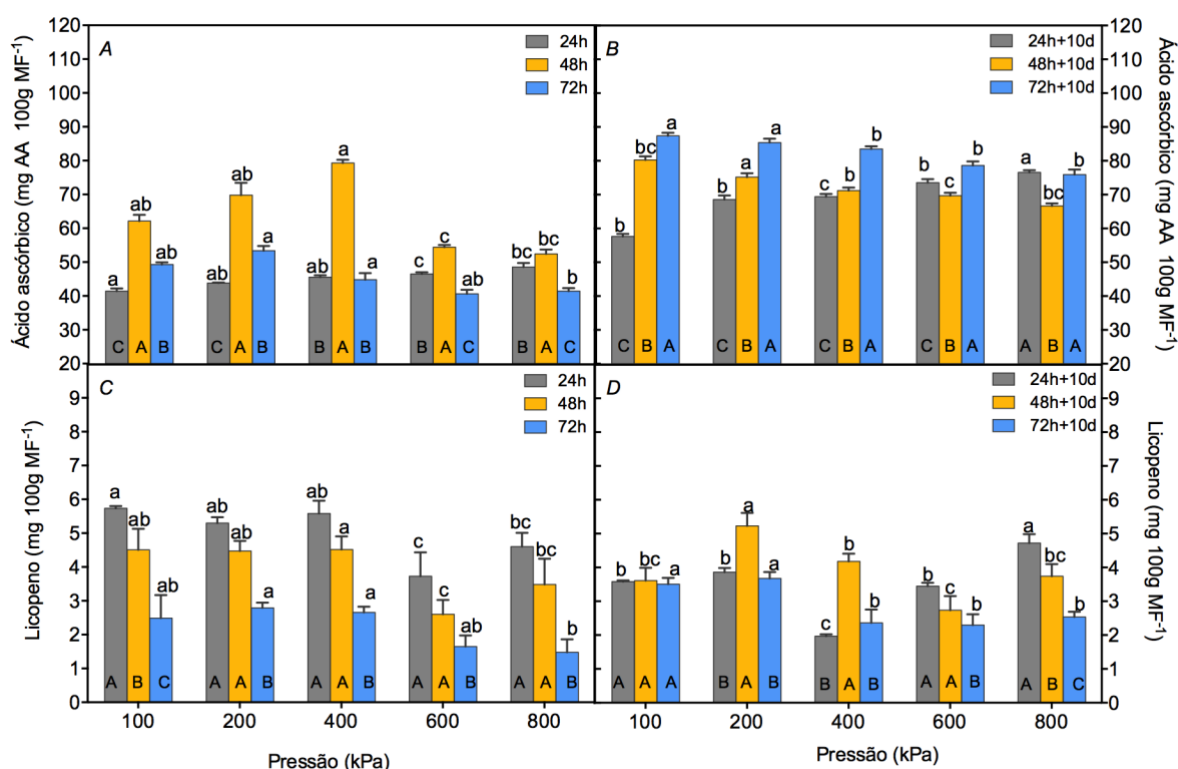


Figura 10. Ácido ascórbico e licopeno de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas a pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h (A e C) a 12 °C e 95% UR, seguidas de 10 dias (B e D) de armazenamento a 12 °C e 75% UR. Letras minúsculas iguais dentro do mesmo tempo de tratamento e letras maiúsculas iguais dentro da mesma pressão não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Desvio padrão da média (n=3).

O aumento do teor de ácido ascórbico é característico do amadurecimento do fruto conforme observado por Jacomino (1999) estudando goiabas brancas

‘Kumagai’ e armazenadas sob refrigeração de 10 °C. O aumento do conteúdo de AA decorre da síntese de intermediários metabólicos que são precursores do AA (Mercado-Silva et al., 1998). A galactose é um precursor da biossíntese de AA, proveniente da degradação de polissacarídeos da parede celular (Wheeler et al., 1998; Smirnoff et al., 2001).

Em nosso estudo, verificamos o aumento do conteúdo de AA após 10 dias de armazenamento para todos os tratamentos, o que é característico do amadurecimento. No entanto, esse aumento foi retardado nos frutos tratados com maiores tempos 48 e 72h e maiores pressões, mostrando mais uma vez o efeito que as pressões podem exercer na extensão da vida de prateleira da goiaba. Além disso, o conteúdo de AA ao final de 10 dias para o tratamento de 72h não diferiu do de 24h ($p>0,05$) a 800 kPa, mostrando que não houve perda da qualidade em benefício do maior tempo de conservação.

Azzolini et al. (2004) observaram que a elevação no teor de AA de goiabas, ao logo do amadurecimento, é devido ao incremento de metabólitos intermediários, precursores do ácido ascórbico, que desencadeiam o aumento do seu teor nas fases iniciais pós-colheita, com posterior redução devido à oxidação, por ocasião da senescência.

Durante a aplicação do tratamento hiperbárico houve tendência de inibição da síntese de licopeno em todos os tempos de tratamento, sendo a pressão de 800 kPa se destacou, apresentando inibição de 28,3, 41,5 e 24,1%, respectivamente, em relação ao controle para os tempos de 24, 48 e 72h. O tempo de tratamento de 72h foi o que resultou em menor conteúdo de licopeno, enquanto não houve diferença significativa para os tempos de 24 e 48h na pressão de 800 kPa. Após 10 dias de armazenamento, o tempo de 48h apresentou inibição da síntese de licopeno para as pressões de 400 a 800 kPa e para o tempo de 72h, para as pressões de 600 e 800 kPa. O tempo de 72h foi o que apresentou menor conteúdo de licopeno ao final do armazenamento, seguido do tempo de 48h. Para o tempo de tratamento de 24h foi observado que ocorreu indução da síntese de licopeno para os frutos submetidos às pressões de 600 e 800 kPa em relação ao controle (Figura 10C e 5D). Esse comportamento foi diferente do observado por Inestroza-Lizardo et al. (2018) para tomates, que verificou inibição da síntese de licopeno durante o tratamento

hiperbárico e aumento deste composto após o armazenamento fora das câmaras a temperatura de 23 °C. A temperatura de armazenamento mais fria (12 °C) pode justificar o resultado de nosso estudo.

Outro fator a se considerar para esse aumento do licopeno nos frutos tratados por 24h + 10 d a 800 kPa pode ser devido ao tempo de exposição ter gerado pouco efeito inibitório no mecanismo de síntese de licopeno (Figura 10D).

Dumas et al. (2003) indicaram que a temperatura ótima para a biossíntese de licopeno varia de 16 a 26 °C. Ainda, de acordo com Brandt et al. (2006) a biossíntese de pigmentos está sob controle genético, e a concentração de licopeno aumenta significativamente pela atividade dos genes *hp* e *og*. Este fato associado aos resultados obtidos pode sugerir a regulação da ativação gênica pelo tratamento hiperbárico, assim como ocorre com outros tratamentos físicos e que são característicos de estresse abióticos.

1.10.3 Peroxidação lipídica e conteúdo de H₂O₂

O melhor resultado para a preservação da membrana lipídica foi por meio de tratamentos hiperbáricos das goiabas por 72h (Figuras 11A e B). A peroxidação lipídica foi significativamente ($p < 0,05$) menor nos frutos que foram tratados por 72h com as pressões de 200 a 800 kPa, com destaque para a pressão de 600 kPa que resultou no menor conteúdo de malondialdeído (MDA) (Figura 11A). Após 10 dias de armazenamento, os frutos tratados por 72h apresentaram redução significativa em relação ao controle para o conteúdo de MDA, para todas as pressões aplicadas, com destaque para os tratamentos de 600 e 800 kPa que apresentaram os menores valores. A aplicação de pressões hiperbáricas por 24h não influenciou o conteúdo de MDA nos frutos armazenados, independente da pressão aplicada (Figura 11A e 11B). O MDA é um produto da peroxidação lipídica utilizado como indicador da integridade da membrana celular (Adiletta et al., 2018).

Em estudo realizado com tomates cv. 'Débora' submetidos a pressões hiperbáricas, Inestroza-Lizardo, et al. (2019) verificaram que a peroxidação lipídica aumentou progressivamente ao longo do armazenamento, tanto sob tratamento hiperbárico, quanto após o armazenamento sob condição ambiente. No entanto, o tratamento com 800 kPa por 6 dias resultou em conteúdo de malondialdeído 13%

menor do que os observados no controle. Esses resultados corroboram com o que foi observado neste trabalho, onde as maiores pressões (600 e 800 kPa) aplicadas durante o maior tempo (72h) levaram a menor peroxidação lipídica dos frutos.

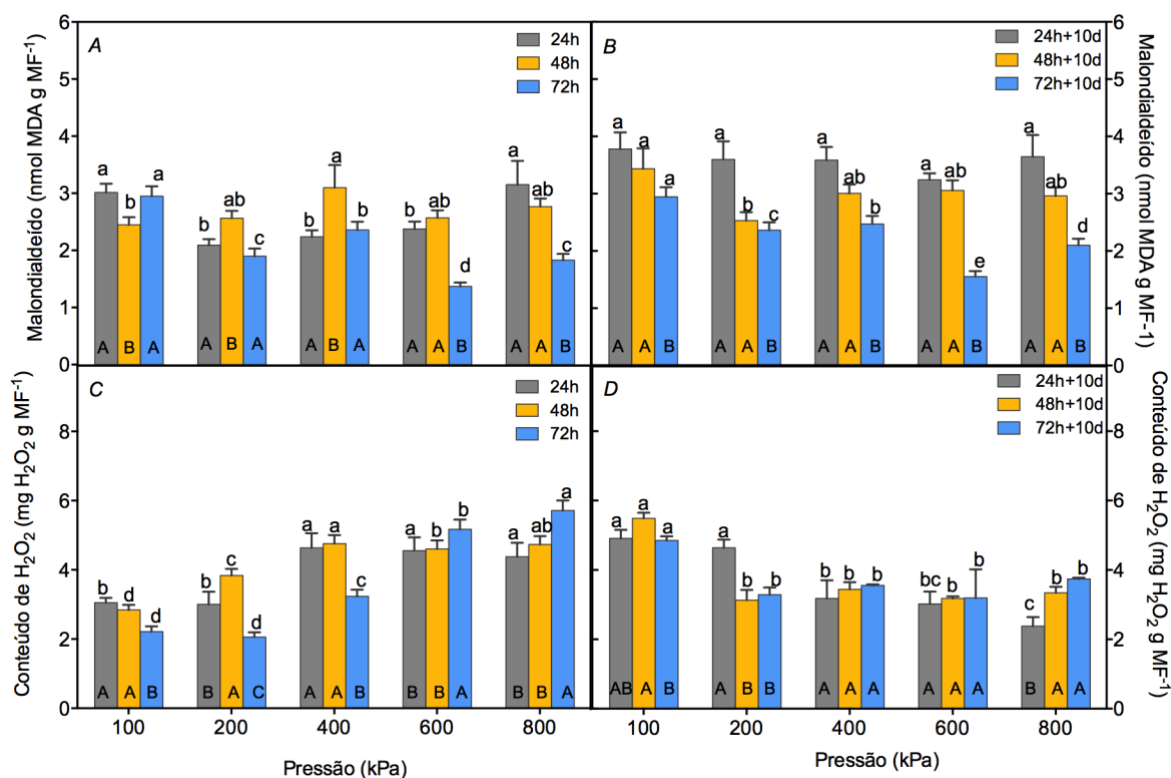


Figura 11. Peroxidação lipídica e de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas a pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h (A e C) a 12 °C e 95% UR, seguidas de 10 dias (B e D) de armazenamento a 12 °C e 75% UR. Letras minúsculas iguais dentro do mesmo tempo de tratamento e letras maiúsculas iguais dentro da mesma pressão não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Desvio padrão da média (n=3).

O estresse oxidativo pode ser medido mediante a peroxidação dos lipídeos; um processo que é iniciado pela reação de um radical livre com um ácido graxo insaturado e propagado por radicais peroxilas; resultando na formação de hidroperóxidos lipídicos e aldeídos, tais como o malondialdeído, 4-hidroxinonenal e isoprostanos (Lima e Abdalla, 2001). Este processo pode ocorrer em todos os organismos vivos, e pode desencadear lesões nas células (Gill e Tuteja, 2010),

alterando as membranas e levando a transtornos de permeabilidade e de morte celular.

O conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi influenciado tanto pelo tempo de tratamento quanto pelas pressões aplicadas (Figura 11C). Observa-se que com o aumento das pressões e do tempo de exposição às pressões, houve maior presença de H_2O_2 nos frutos, sendo o maior valor obtido para os frutos tratados por 72h na pressão de 800 kPa. Para essa mesma pressão, não houve diferença entre o tempo de 24 e 48h. Após o período de armazenamento de 10 dias, os frutos tratados apresentaram tendência de redução do conteúdo de H_2O_2 em relação controle. Os frutos tratados por 48h ou 72h nas pressões de 200 a 800 kPa mantiveram os níveis de peróxido de hidrogênio ao final de 10 dias de armazenamento. Nas pressões de 400 e 600 kPa, os tempos de tratamento não influenciaram o conteúdo de H_2O_2 . Na pressão de 800 kPa não houve diferença entre os tempos 48 e 72h (Figura 11 C e D). Além disso, observa-se que após 10 dias de armazenamento, houve redução do conteúdo de H_2O_2 para os frutos tratados em relação ao controle, indicando o restabelecimento da homeostase dos frutos tratados. Em estudo realizado com goiabas, verificou-se que o conteúdo de H_2O_2 foi crescente em goiabas armazenadas sob refrigeração a 11°C por até 12 dias (Germano et. al., 2019).

O peróxido de hidrogênio é uma espécie reativa de oxigênio que é produzida em resposta a um estresse. É esperado que o estresse abiótico provocado pela pressão hiperbárica resulte no aumento do conteúdo de espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo o H_2O_2 a mais estável e de maior tempo de vida. Outro fator a se considerar é que o conteúdo de H_2O_2 pode ser indicador do nível de estresse do vegetal e, portanto, a sua presença em determinada quantidade pode induzir respostas do metabolismo secundário e consequente biossíntese de compostos bioativos. O enriquecimento dos frutos em compostos bioativos é de interesse tanto para o consumo *in natura* quanto para a extração de compostos de interesse industrial.

1.10.4 Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT)

A atividade da enzima SOD foi aumentada nos frutos tratados por 48h e 72h nas pressões de 400 a 800 kPa e de 600 e 800 kPa, respectivamente (Figura 12A).

A atividade da SOD foi 44% maior nos frutos tratados por 48h a 800 kPa e 217% nos frutos tratados por 72h a 800 kPa, como diferença significativa entre os tempos de tratamento à pressão de 800 kPa. Após 10 dias de armazenamento, nos frutos submetidos previamente às pressões hiperbáricas por 48h, a atividade da POD foi reduzida nas pressões de 400 a 800 kPa, com destaque para a maior pressão, que registrou as menores médias (Figura 12 A e B).

As enzimas SOD e CAT são antioxidantes responsáveis, respectivamente, pela dismutação do radical superóxido ($O_2^{\bullet}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e eliminação deste último (H_2O_2), transformando-o em água e O_2 (Cunha Neto et al., 2012).

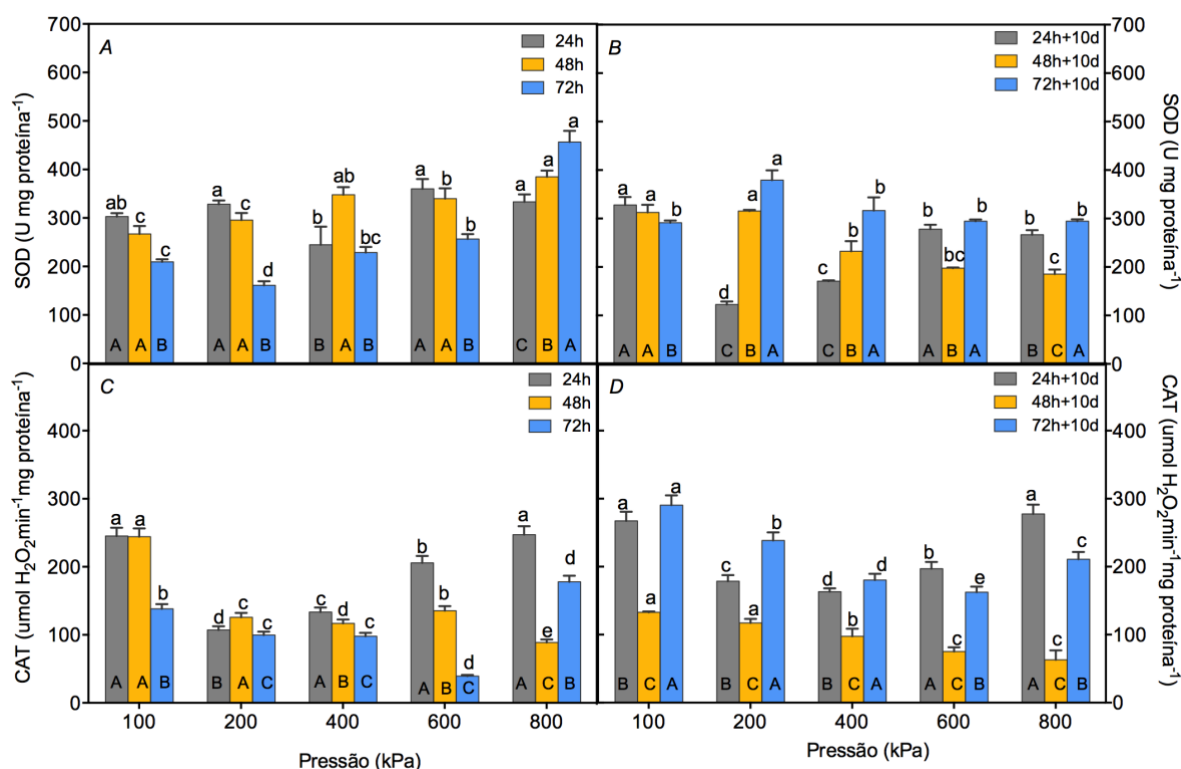


Figura 12. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) de goiabas vermelhas cv. Pedro Sato submetidas a pressões hiperbáricas por 24, 48 e 72h (A e C) a 12 °C e 95% UR, seguidas de 10 dias (B e D) de armazenamento a 12 °C e 75% UR. Letras minúsculas iguais dentro do mesmo tempo de tratamento e letras maiúsculas iguais dentro da mesma pressão não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Desvio padrão da média (n=3). SOD: Superóxido Dismutase; CAT: Catalase.

A SOD é considerada a primeira linha de defesa contra ERO's (Gratão et al., 2005), portanto, sua a variação da sua atividade vem em resposta ao estresse abiótico provocado pelo tratamento hiperbárico.

A atividade da enzima CAT se manteve abaixo da atividade verificada no controle para a maioria dos tratamentos durante a exposição às pressões (Figura 12C), o que contrasta com o resultado obtido por Inestroza-Lizardo et al. (2019) em tomates, com aumento da atividade da CAT nos frutos tratados por 2 e 4 dias.

No entanto, após 10 dias de armazenamento, observa-se que a atividade da enzima CAT nos frutos tratados por 48h e 72h era menor que no controle. Esta diminuição está relacionada ao menor conteúdo de H_2O_2 verificada após o período de tratamento hiperbárico, como pode ser visto na Figura 11C. Este resultado demonstra que ao final do período de armazenamento, os frutos restabeleceram o equilíbrio oxidativo em relação aos frutos não tratados.

A CAT tem papel fundamental na homeostase do H_2O_2 na célula vegetal. A enzima é importante na dismutação do H_2O_2 produzido nos peroxissomas pelas oxidases envolvidas na β -oxidação de ácidos graxos, fotorrespiração e catabolismo da purina (Gill e Tuteja, 2010; Igamberdiev e Lea, 2002). Portanto, a manutenção da atividade da CAT nos frutos é considerada um mecanismo de defesa contra os estresses abióticos e está associada ao atraso na senescência pós-colheita dos frutos (Boonkorn, 2016; Cao et al., 2014).

CONCLUSÃO

A aplicação de pressões hiperbáricas de 600 a 800 kPa por 72h a temperatura de 12 °C tem influência positiva na conservação pós-colheita de goiabas 'Pedro Sato' e período de armazenamento por 10 dias. Nessas condições houve diminuição da perda de peso, manutenção da firmeza, diminuição da taxa respiratória e da produção de etileno. As alterações bioquímicas resultaram em menor degradação de clorofilas, inibição da síntese de carotenoides e menor ação de enzimas pectinolíticas, indicando retardo do amadurecimento das goiabas.

Houve maior estímulo da biossíntese de compostos fenólicos e da atividade antioxidante, o que pode ser considerado benéfico do ponto de vista nutricional do fruto.

Este estudo demonstrou que as enzimas antioxidantes SOD e CAT inibiram os efeitos danosos do estresse provocado pelas pressões hiperbáricas de maneira que o emprego da técnica se mostra vantajoso.

REFERÊNCIAS

- Abreu JR, Santos CD, Abreu CMP, Pinheiro ACM, Corrêa AD (2012) Ripening pattern of guava cv. Pedro Sato. **Food Science and Technology** 32(2): 344-350. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000052>.
- Abu-Goukh ABA, Bashir HA (2003) Changes in pectic enzymes and cellulase activity during guava fruit ripening. **Food Chemistry** 83: 213–218.
- Adiletta G, Pasquariello M, Zampella L, Mastrobuoni F, Scortichini M, Petriccione M (2018) Chitosan Coating: A Postharvest Treatment to Delay Oxidative Stress in Loquat Fruits during Cold Storage. **Agronomy**. 8. 54. [10.3390/agronomy8040054](https://doi.org/10.3390/agronomy8040054).
- Ahmed, J.; Ramaswamy, H. S. (2006) High pressure processing of fruits and vegetables. **Stewart Postharvest Review**, London, 1 (8): 1-10.
- Ali ZM, Chin, LH, Lazan H (2004). A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. **Plant Science** 167: 317-327.
- AOAC, 1997. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. 16th ed. Washington: Ed. Patrícia Cuniff, 2, cap. 37. Método 942.15 e método 932, 12.
- Arias R, Lee TC, Logendra L, Janes H (2000) Correlation of lycopene measured by HPLC with the L*, a*, b* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. **J. Agric. Food Chem.** 48: 1697-1702.
- Azzolini M, Jacomino A P, Spoto MHF (2004) Estádios de maturação e qualidade pós-colheita de goiabas “Pedro Sato.” **Revista Brasileira de Fruticultura**, 26(1): 29–31. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452004000100009>
- Baba T, Ikeda F (2003) Use of high-pressure treatment to prolong the postharvest life of mume fruit (*Prunus mume*). **Acta Horticulturae** 628: 373-377.
- Barbosa FR, Lima MF (2 ed.) (2010) A cultura da goiaba. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica: 180.
- Barbosa JC, Maldonado Júnior W (2015). Experimentação agrônômica e AgroEstat - sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos (1st ed.). Jaboticabal: Multipress.

Bassetto E (2002) **Conservação de goiabas 'Pedro Sato' tratadas com 1-metilciclopropeno: concentrações e tempos de exposição**. 71f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Bassetto E (2002) **Conservação de goiabas 'Pedro Sato' tratadas com 1-metilciclopropeno: concentrações e tempos de exposição**. 71f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Bassetto E, Jacomino Ap, Pinheiro Al, Kluge Ra (2005) Delay of ripening of 'Pedro Sato' guava with 1- methylcyclopropene, **Postharvest Biology and Technology**, 35 (3): 303-308.

Beauchamp C, Fridovich I (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, New York, 44: 276- 287.

Boonkorn, P (2016) Impact of hot water soaking on antioxidant enzyme activities and some qualities of storage tomato fruits. **International Food Research Journal**, 23 (3): 934-938.

Botelho LNS, Rocha DA, Braga MA, Silva A, De Abreu CMP (2016) Quality of guava cv. 'Pedro Sato' treated with cassava starch and cinnamon essential oil. **Scientia Horticulturae**. 209: 214–20.

Braga MA, Marques TR, Simão AA, Botelho LNS, Oliveira LS, Abreu Cmp (2017) Mechanism of firmness loss in guava cv. Pedro Sato during ripening at room temperature. **Food Science and Technology** 38(1): 26–32. doi:10.1590/1678-457x.35416

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995) Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, Zurich, 28: 25-30.

Brandt S, Pék Z, Barna E, Lugasi A, Helyes L (2006) Lycopene content and colour of ripening tomatoes as affected by environmental conditions. **J Sci Food Agric** 86:568–572. DOI: 10.1002/jsfa.2390

Cao, S., Yang, Z., Cai, Y., & Zheng, Y (2014) Antioxidant enzymes and fatty acid composition as related to disease resistance in postharvest loquat fruit. **Food Chemistry**, 163, 92–96. doi:10.1016/j.foodchem.2014.04.084

Cavalini, F.C. et al., (2006) Maturity indexes for 'Kumagai' and 'Paluma' guavas. **Revista Brasileira de Fruticultura** 28 (2): 176-179.

Chen HC, Sheu MJ, Lin LY, Wu CM (2007) Chemical composition of the leaf essential oil of *Psidium guajava* L. from Taiwan. **J Essent Oil Res** 19: 345-347.

Costa FB (2009) Fisiologia e conservação de cultivares de morangos inteiros e minimamente processados. 125f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Demidchik, V.; Straltsova, D.; Medvedev, S.; Pozhvanov, G.; Sokolik, A.; Yurin, V. (2014) Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement to programmed cell death and metabolic adjustment. **Journal of Experimental Botany**. 65 (5: 1259-1270, 2014. DOI: 10.1093/jxb/eru004.

Dumas Y, Dadomo, M., Di Lucca, G., Grolier, P (2003). Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. **J. Sci. Food Agric.**, 83, 369-382.

Flores, G., Wu, S.B., Negrin, A., Kennelly, E.J., (2015) Chemical composition and antioxidant activity of seven cultivars of guava (*Psidium guajava*) fruits. **Food Chemistry**, 170: 327–335.

Fonseca, S.C., Oliveira, F.A.R., Brecht, JK (2002) Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. **Journal of Food Engineering**, Chicago, 52: 99-119.

Formiga, A. S., Pinsetta, J. S., Pereira, E. M., Cordeiro, I. N. F., Mattiuz, B.-H (2019) Use of edible coatings based on hydroxypropyl methylcellulose and beeswax in the conservation of red guava 'Pedro Sato.' **Food Chemistry**, 290, 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.142>

García-Betanzos, C.I., Hernández-Sánchez, H., Bernal-Couoh, T.F., Quintanar-Guerrero, D., Zambrano-Zaragoza, M.L (2017) Physicochemical, total phenols and pectin methylesterase changes on quality maintenance on guava fruit (*Psidium guajava* L.) coated with candeuba wax solid lipid nanoparticles-xanthan gum. **Food Research International** 101: 218–227.

Gayathri, T., Nair, A.S. (2017) Biochemical analysis and activity profiling of fruit ripening enzymes in banana cultivars from Kerala. **Journal of Food Measurement and Characterization** 11: 1274–1283.

Germano, T. A., Aguiar, R. P., Bastos, M. S. R., Moreira, R. A., Ayala-Zavala, J. F., & de Miranda, M. R. A (2019) Galactomannan-carnauba wax coating improves the antioxidant status and reduces chilling injury of “Paluma” guava. **Postharvest Biology and Technology**, 149, 9–17. doi:10.1016/j.postharvbio.2018.11.013

Gill, K.S (2015) Guavas. **Encyclopedia of Food and Health** 270–277. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00363-9>.

Gill, S.S.; Tuteja, N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry** 48: 909-930.

Gonçalves, B. J., Giarola, T. M. de O., Pereira, D. F., Vilas Boas, E. V. de B., & de Resende, JV (2015) Using infrared thermography to evaluate the injuries of cold-stored guava. **Journal of Food Science and Technology**, 53(2): 1063–1070. doi:10.1007/s13197-015-2141-4.

Goyette, B (2010) Hyperbaric treatment to enhance quality attributes of fresh horticultural produce. Doctoral thesis. Department of Bioresource Engineering McGill University, Montreal Quebec, Canada. 180 f.

Goyette, B., Vigneault, C., Charles, M.T., Raghavan, G., (2012b) Effect of hyperbaric treatments on the quality attributes of tomato. **Canadian Journal of Plant Science**, 92 (3): 541-551.

Goyette, B., Vigneault, C., Raghavan, G., Charles, M.T., (2012a) Hyperbaric treatment on respiration rate and respiratory quotient of tomato. **Food Bioprocess Technology** 5: 3066-3074.

Goyette, B., Vigneault, C., Wang, N., Raghavan, V (2011) Conceptualization, design and evaluation of a hyperbaric respirometer. **Journal of Food Engineering**, 105 (2): 283-288.

Goyette, B.; Vigneaul, C.; Charles, M.T.; Raghavan.V.G.S (2007) Pressure treatment for increasing fruit and vegetable qualities. **Stewart Postharvest Review**, 3 (5).

Gratão, P.L.; Polle, A.; Lea, P.J.; Azevedo, R.A (2005) Making the life of heavy metal- stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, 32: 481- 494.

Gross KG (1982) A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyanoacetamide. **HortScience** 17: 933-934.

Haida, K.S.; Haas, J.; Mello, S.A.D.; Haida, K.S.; Abrão, R.M.; Sahd, R. (2015) Compostos fenólicos e atividade antioxidante de goiaba (*Psidium guajava* L.) fresca e congelada. **Revista Fitos**, 9 (1): 37-44.

Halliwell B, Gutteridge JMC (1990) The antioxidants of human extracellular fluids. **Arch Biochem Biophys** 280: 1–8

Heath, R.L.; Packer, L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast: I.Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry Biophysics**, Abingdon, 125: 2141-2145.

IBGE, 2019. Sistema IBGE de recuperação automática - SIDRA. Rio de Janeiro. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>. Acesso em: 13 janeiro de 2021.

Igamberdiev, A.U.; Lea, PJ (2002) The role of peroxisomes in the integration of metabolism and evolutionary diversity of photosynthetic organism. **Phytochemistry**, 60: 651-674.

Inestroza-Lizardo C, Mattiuz BH, da Silva JP, Voigt V, Muniz A, Pinsetta Junior JS (2019) Effect of hyperbaric pressure on the activity of antioxidant enzymes and bioactive compounds of cv. ‘Débora’ tomatoes. **Scientia Horticulturae**, 249, 340–346.

Inestroza-Lizardo, C., Mattiuz, BH, Silva, J.P., Galati, V.C., Voigt, V (2018) Hyperbaric pressure at room temperature increases post-harvest preservation of the tomato cultivar “Débora”. **Scientia Horticulturae**. 228: 103-112.

Jacomino AP. Martínez-Ojeda R, Kluge RA, Scarpate Filho JA (2003) Conservação de goiabas tratadas com emulsões de cera de carnaúba. **Revista Brasileira de Fruticultura** 25(3): 401-405.

Jacomino, A. P., 1999. **Conservação de goiabas ‘Kumagai’ em diferentes temperaturas e materiais de embalagens**. Tese (doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 90p.

Kader, A.A., Ben-Yehoshua, S (2000) Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, 20: 1-13.

Kar, M.; Mishra, D (1976) Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, Wadsworth, 57: 315-319.

Khaliq, G., Mohamed, M.T.M., Ali, A., Ding, P., Ghazali, H.M (2015) Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. **Scientia Horticulturae** 190:187–194.

Khandaker, M.M., Boyce, A.N., Osman, N., Golam, F., Rahman, M.M., Sofian-Azirun, M (2013) Fruit development, pigmentation and biochemical properties of wax apple as affected by localized application of GA3 under field conditions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, 56, p11-20.

Lelièvre, J.M., Latché, A., Jones, B., Bouzayen, M., Pech, J.C., (1997) Ethylene and fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, 101: 727-739.

Li, L.; Yuan, H (2013) Chromoplasts biogenesis and carotenoid accumulation. *Arch. Biochem. Biophys.* 539, 102–109.

Lichtenthaler, H.K (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L.; DOUCE, R. (Eds.). *Methods in enzymology*. Bad Honnef: **Academic**, 148: 350-382. [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).

Lima, E.S.; Abdalla, D.S (2001) Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, 37: 293-303.

Linhares, L.A., Santos, C.D., Abreu, C.M.P., Corrêa, A.D (2007) Transformações químicas, físicas e enzimáticas de goiabas ‘Pedro Sato’ tratadas na pós-colheita com cloreto de cálcio e 1-metilciclopropeno e armazenadas sob refrigeração. **Ciência e Agrotecnologia** 31: 829–841.

Liplap, P., Vigneault, C., Toivonen, P., Charles, M. T.; Raghavan, G. V (2013). Effect of hyperbaric pressure and temperature on respiration rates and quality attributes of tomato. **Postharvest Biology and Technology**, 86: 240-248.

Liplap, P.; Boutin, J.; Leblanc, D.I.; Vigneault, C.; Vijaya Raghavan, G.S (2014) Effect of hyperbaric pressure and temperature on respiration rates and quality attributes of Boston lettuce. **International Journal of Food Science & Technology**, 49(1): 137-145.

Mallick, N, Mohn F (2000) Reactive oxygen species: Response of algal cells. **Journal of Plant Physiology**. 157. 183–193. 10.1016/S0176-1617(00)80189-3.

Manica, I. et al. **Goiaba** Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. 374p

Mangaraj S, Thakur RR, Mathangi RS, Yadav A, Swain S. Shelf-life enhancement of guava (*Psidium guajava* cv. Baruipur) stored under pilot scale modified atmosphere storage system. **Food Science and Technology International**. 2021;27(7):674-689. doi:10.1177/10820132211013269.

Mattiuz, B.H., Durigan, J.F., (2001) Efeito de injúrias mecânicas no processo respiratório e nos parâmetros químicos de goiabas “Paluma” e “Pedro Sato”. **Revista Brasileira de Fruticultura** 23: 282–287.

Mercado-Silva, E., Benito-Bautista, P., Garcia-Velasco, M.A., (1998) Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central México. **Postharvest Biology and Technology**, 13: 143-150.

- Nagata, M., Yamashita, I (1992) Simple Method for Simultaneous Determination of Chlorophyll and Carotenoids in Tomato Fruit. *Journal-Japanese Society of Food Science and Technology*, 39 (10): 925-928.
- Nogata, Y., Ohta, H., Voragen, A.G.J., (1993). Polygalacturonase in strawberry fruit. **Phytochemistry** 34: 617–620.
- Oliveira VRL, Santos FKG, Leite RHL, Aroucha EMM, Silva KNO (2018) Use of biopolymeric coating hydrophobized with beeswax in post-harvest conservation of guavas. **Food Chemistry** 259: 55–64.
- Oliveira, D.S.; Aquino, P.P.; Ribeiro, S.M.R.; Proença, R.P.C.; Pinheiro- Sant'ana, H.M (2011) Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum**. Health Sciences, Maringá, 33 (1): 89-98.
- Padula, M., Rodriguez-Amaya, D.B (1987) Changes in individual carotenoids and vitamin C on processing and storage of guava juice. **Acta Alimentaria**, 16: 209-216.
- Palaretti, VV (2018) **Pressões hiperbáricas no controle de mofo cinzento e de mancha de alternaria na pós-colheita de tomate débora**. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Pereira EM (2019) **Qualidade de brócolis e caju submetidos a atmosferas hiperbáricas**. 101f. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Prasad, TA, Marc M, Barry S (1994) Evidence for Chilling-Induced Oxidative Stress in Maize Seedlings and a Regulatory Role for Hydrogen Peroxide. **The Plant cell**. 6. 65-74. 10.1105/tpc.6.1.65.
- Queiroz, V.A.V (2004) **Teores de Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu e Se em frutas consumidas na região Norte Fluminense**. Campos dos Goytacazes, 73 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).
- Raghavan, G.S.V., Vigneault, C., Gariépy, Y., Markarian, N., Alvo, P., (2005) Refrigerated and controlled/modified atmosphere storage. In D. M. Barrett, L. Somogyi, & H. S. Ramaswamy (Eds.), **Processing fruits: Science and technology** (23-52). Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Rana, S., Siddiqui, S., Gandhi, K (2018) Effect of individual vacuum and modified atmosphere packaging on shelf life of guava. **International Journal of Chemical Studies** 6(2), 966-972.
- Rodriguez-Amaya Db (1999) Latin American food sources of carotenoids. **Archive Latinoamerican Nutrition**. 49(3):74–84.
- Romanazzi, G.; Nigro, F.; Ippolito, A. (2008) Effectiveness of a short hyperbaric treatment to control postharvest decay of sweet cherries and table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, 49 (3): 440-442.
- Sahoo, N.R.; Panda, M.K., Bal, L.M., Pal,, U.D., Sahoo, D. (2015) Comparative study of MAP and shrink wrap packaging techniques for shelf–life extension of fresh guava. **Scientia Horticulturae**, 182, pp. 1-7

- Silva JP, Inestroza-Lizardo C, Pinzetta Junior JS, Mattiuz BH (2021) Effect of hyperbaric pressure on postharvest conservation of “palmer” mangoes. **Journal of Food Processing and Preservation**. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15502>
- Smirnoff, N., Conklin, P., Loewus, F.A (2001) Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 52: 437-467.
- Steffens CA, Amarante CVT, Silveira JPG, Chechi R, Espindola BP (2008) Tolerância ao dano pelo frio e qualidade pós-colheita em goiabas ‘Pedro Sato’ submetidas ao condicionamento térmico. **Biotemas** 21: 75–80.
- Valero, D.; Serrano, M (2010) Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality. Taylor & Francis Group, Boca Raton, 217p.
- Vergara-Domínguez, H., Rios, J.J., Gandul-Rojas, B., Roca, M., (2016) Chlorophyll catabolism in olive fruits (var. Arbequina and Hojiblanca) during maturation. **Food Chem.** 202, 604-611.
- Vicente, A.R., Costa, M.L., Martínez, G.A., Chaves, A.R., Civello, P (2005) Effect of heat treatments on cell wall degradation and softening in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology** 38: 213–222.
- Vigneault, C., Leblanc, D. I., Goyette, B., Jenni, S (2012) Invited review: Engineering aspects of physical treatments to increase fruit and vegetable phytochemical content. **Canadian Journal of Plant Science**, 92: 373-397.
- Villarreal, N.M., Rosli, H.G., Martínez, G.A., Civello, P.M (2008) Polygalacturonase activity and expression of related genes during ripening of strawberry cultivars with contrasting fruit firmness. **Postharvest Biology and Technology** 47: 141–150.
- Wheeler, G.L., Jones, M.A., Smirnoff, N (1998) The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. **Nature**, 393: 365-369.
- Wilberg, V.C., Rodriguez-Amaya, D.B., (1995) HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie** 28 (5): 474-480.
- Yoshiyama, K. O.; Sakaguchi, K.; Kimura, S (2013) DNA damage response in plants: conserved and variable response compared to animals. **Biology**. 2 (4: 1338–1356. DOI: 10.3390/biology2041338.
- Zagorchev L, Seal C, Kranner I, Odjakova M (2013) A Central Role for Thiols in Plant Tolerance to Abiotic Stress. **International Journal of Molecular Sciences**, 14(4), 7405–7432. doi:10.3390/ijms14047405
- Zhao Y (2018) Edible coatings for extending shelf-life of fresh produce during postharvest storage. **Reference Module in Food Science**, 1–5.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos anos é crescente o interesse por técnicas que provoquem um estresse abiótico controlado em vegetais, de maneira a induzir a biossíntese de compostos de interesse. A pressão hiperbárica, por ser um estresse abiótico, tem potencial para responder à esta lacuna de pesquisa, portanto, encorajamos futuros estudos com outras combinações de tempo-pressão-temperatura.

Além disso, uma possível abordagem para futuros estudos é a utilização de outros gases, além do ar atmosférico, para realizar a pressurização das câmaras, a exemplo do argônio e xenônio, que podem levar a diferentes respostas na conservação dos frutos.

APÊNDICE

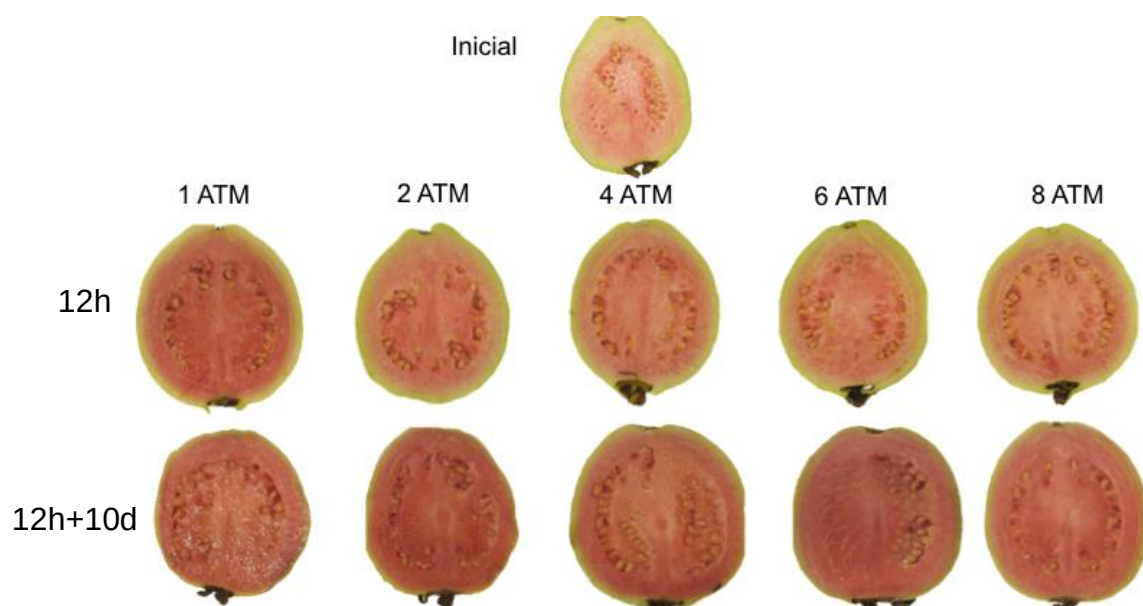


Figura 13. Goiabas 'Pedro Sato' tratadas com pressões hiperbáricas por 12h a 12 °C seguido de armazenamento a 12 °C por 10 dias.

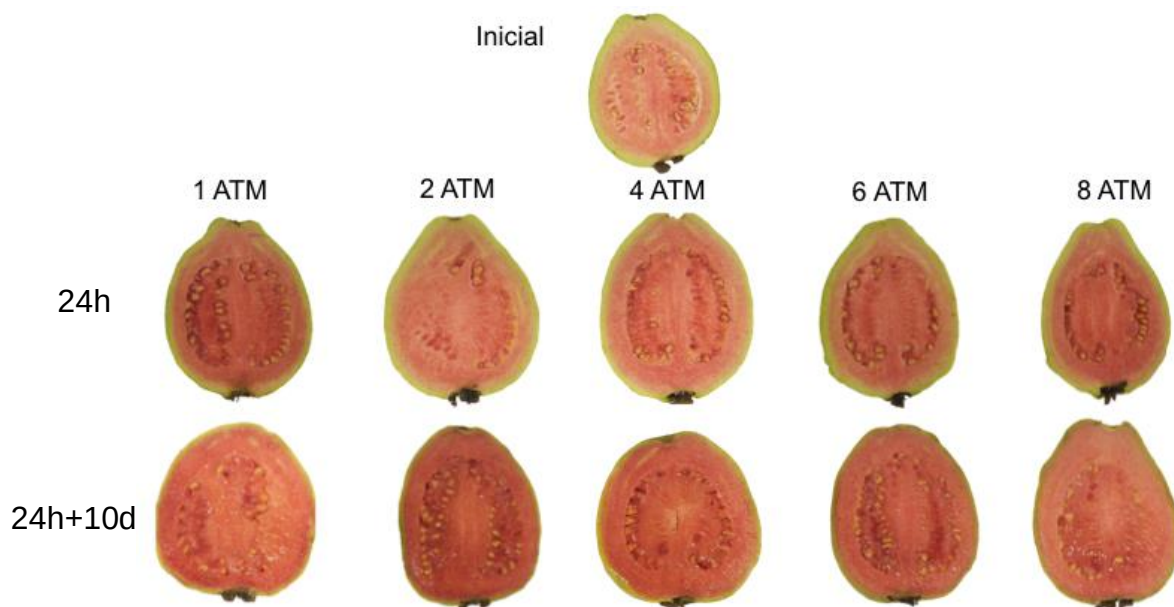


Figura 14. Goiabas 'Pedro Sato' tratadas com pressões hiperbáricas por 24h a 12 °C seguido de armazenamento a 12 °C por 10 dias.

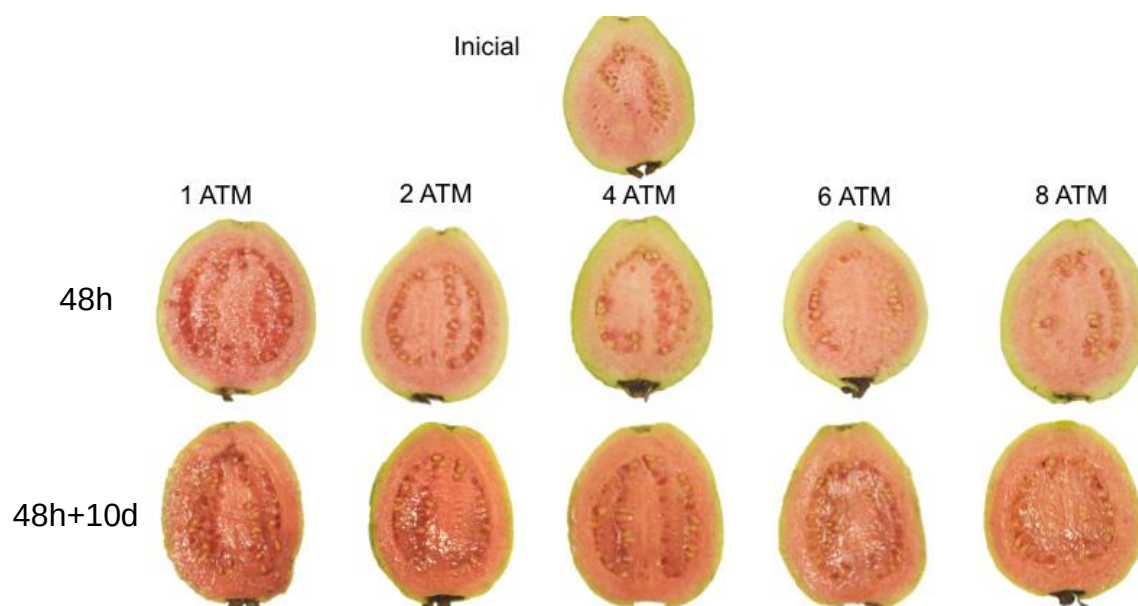


Figura 15. Goiabas 'Pedro Sato' tratadas com pressões hiperbáricas por 48h a 12 °C seguido de armazenamento a 12 °C por 10 dias.

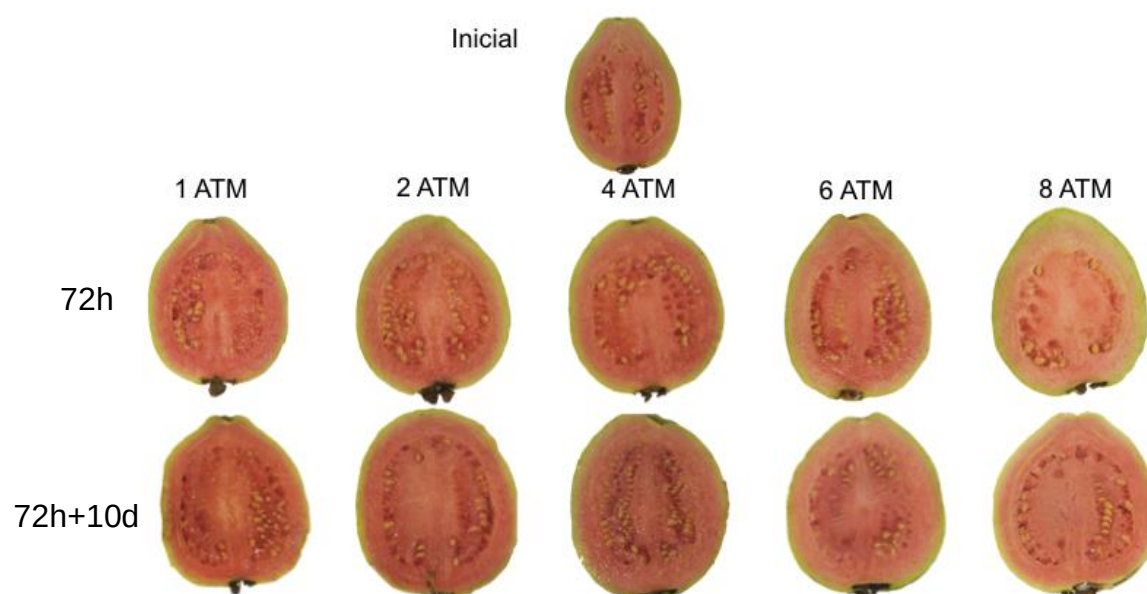


Figura 16. Goiabas 'Pedro Sato' tratadas com pressões hiperbáricas por 72h a 12 °C seguido de armazenamento a 12 °C por 10 dias.