

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA AGRÍCOLA

**ATIVIDADE DE POLIFENOLOXIDASE APÓS
VIBRAÇÃO E IMPACTO EM PÊSSEGO 'DOURADÃO'**

TIAGO BASSANI HELLMEISTER DANTAS

CAMPINAS
JULHO DE 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA AGRÍCOLA

**ATIVIDADE DE POLIFENOLOXIDASE APÓS
VIBRAÇÃO E IMPACTO EM PÊSSEGO ‘DOURADÃO’**

Dissertação de mestrado submetida à banca
examinadora para obtenção do título de
Mestre em Engenharia Agrícola, na área de
concentração Tecnologia Pós-colheita.

TIAGO BASSANI HELLMEISTER DANTAS

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos de Oliveira Ferraz

CAMPINAS
JULHO DE 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

D235a Dantas, Tiago Bassani Hellmeister
Atividade de polifenoloxidase após vibração e
impacto em pêssego 'Douradão' / Tiago Bassani
Hellmeister Dantas. --Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientador: Antônio Carlos de Oliveira Ferraz.
Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola.

1. Polifenoloxidase. 2. Vibração. 3. Impacto. 4.
Danos. 5. Pêssego - Fisiologia pós-colheita. I. Ferraz,
Antônio Carlos de Oliveira. II. Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Engenharia Agrícola. III.
Título.

Título em Inglês: Polyphenoloxidase activity after vibration and impact in
'Douradão' peach

Palavras-chave em Inglês: Polyphenoloxidase, Vibration, Impact, Damage, Peach
- Postharvest physiology

Área de concentração: Tecnologia Pós-colheita

Titulação: Mestre em Engenharia Agrícola

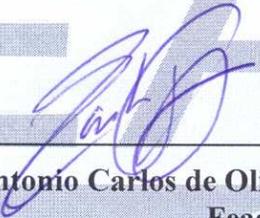
Banca examinadora: Ricardo Alfredo Kluge, Sylvio Luís Honório

Data da defesa: 13/07/2010

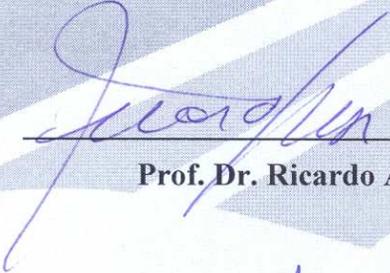
Programa de Pós Graduação: Engenharia Agrícola

Este exemplar corresponde à redação final da **Dissertação de Mestrado** defendida por **Tiago Bassani Hellmeister Dantas**, aprovado pela Comissão Julgadora em 13 de julho de 2010, na Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas.

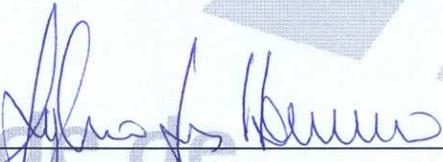
FEAGRI



**Prof. Dr. Antonio Carlos de Oliveira Ferraz – Presidente e Orientador
Feagri/Unicamp**



**Prof. Dr. Ricardo Alfredo Kluge – Membro Titular
Esalq/USP**



**Prof. Dr. Sylvio Luís Honório - Membro Titular
Feagri/Unicamp**

Faculdade de
Engenharia Agrícola
Unicamp

Aos meus pais, Tânia e André,
pelo esforço e dedicação em minha
formação como pessoa.

À minha esposa Fiorella e aos
meus filhos Carolina e Henrique pelo
apoio e pela paciência durante esta
jornada.

AGRADECIMENTOS

À FEAGRI/UNICAMP pela excelente acolhida a este engenheiro de alimentos, pela atenção de seus funcionários e colaboração de seus professores.

Ao CETEA/ITAL pelo apoio ao trabalho e pela infraestrutura cedida.

Ao professor Antônio Carlos de Oliveira Ferraz pela parceria e pelo constante incentivo à excelência na pesquisa científica.

Ao professor Sylvio Honório pelas contribuições e discussões no planejamento e desenvolvimento do trabalho.

Ao professor Paulo Mazzafera, do Instituto de Biologia da Unicamp, pelas sugestões dos parâmetros de avaliação das solicitações mecânicas em tecidos vegetais.

Ao colega Paulo Kiyataka, pelo auxílio na execução dos ensaios, e aos demais colegas de trabalho do CETEA que me auxiliaram, direta e indiretamente, nesta importante etapa de minha carreira.

À pesquisadora Sílvia Valentini, pela colaboração na etapa de adequação da metodologia e utilização de equipamentos e reagentes.

À professora Giuseppina Pace Pereira Lima, pela inestimável contribuição na adequação da metodologia e colaboração na execução dos ensaios.

Às estagiárias Evelise Oliveira Coelho e Adriana Ribeiro da Silva, sem as quais eu dificilmente teria chegado até aqui.

“Tudo o que leve ao declínio da
ignorância e ao aumento do
conhecimento sempre teve e para sempre
terá aprovação aos olhos do Senhor da
criação.”

Bahá'u'lláh

RESUMO

Estima-se que as perdas pós-colheita de frutas e hortaliças variam de 15 a 40% em relação ao total da produção brasileira. Uma das etapas em que ocorrem tais perdas é o transporte, envolvendo o meio de transporte, condições das rodovias brasileiras e embalagens, dentre outros fatores.

Dentre as principais dificuldades encontradas no acondicionamento de frutas e hortaliças, destacam-se os parâmetros do ensaio de vibração, utilizado como ferramenta no desenvolvimento de embalagens, e a forma de avaliação do desempenho físico-mecânico do conjunto produto-embalagem. Os parâmetros de vibração sugeridos em normas de ensaio como ABNT e ASTM não se aplicam à realidade de frutas e hortaliças, sendo excessivamente severos a tais produtos. Além disso, grande parte dos estudos nessa área é baseada em avaliações visuais de danos mecânicos e índices fisiológicos tradicionais, apresentando assim resultados pobres quanto ao conhecimento das reais alterações ocasionadas no produto.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo estudar as respostas bioquímicas do tecido vegetal em função de solicitações mecânicas por vibração e impacto, estabelecendo-se a seguinte hipótese: As alterações bioquímicas no tecido vegetal dependem dos níveis dos esforços vibracionais e por impacto. Amostras de pêssago ‘Douradão’ foram submetidas aos dois tipos de solicitação mecânica, em dois níveis de severidade para cada tipo, e avaliadas quanto à polifenoloxidase (PPO), cuja atividade está correlacionada ao nível de danos no tecido. Além dos tipos de solicitação mecânica, fez-se também a variação do tempo pós-colheita (4 épocas) e do tempo de repouso após a solicitação mecânica (3 períodos). A atividade de PPO foi determinada para cada pêssago pela variação de atividade na região danificada em relação à atividade na região sem dano.

A metodologia utilizada para a determinação da atividade de polifenoloxidase consistiu na extração da enzima e avaliação de sua atividade por espectrofotometria. O trabalho foi dividido em duas etapas, sendo a primeira composta por ensaios exploratórios, para definição dos parâmetros dos ensaios utilizados para aplicação dos danos nas frutas e adequação da metodologia, e a segunda, pelos ensaios finais. Com base nos ensaios exploratórios, fez-se a adequação da metodologia de PPO e a definição dos parâmetros de vibração e impacto. Os resultados dos ensaios finais mostraram a ocorrência de variações na atividade da polifenoloxidase em função das solicitações mecânicas aplicadas aos frutos.

Porém, para vibração, considerando-se os mesmos tempos pós-colheita e tempos de repouso, 2 de 12 tratamentos confirmaram a hipótese; para impacto, isso ocorreu em 5 dos 12 tratamentos. Além disso, em 40% dos tratamentos, a atividade média de PFO foi maior nos corpos-de-prova sem danos. Assim, não foi possível o estabelecimento de uma correlação entre a atividade de PPO e os diferentes níveis das solicitações para a metodologia utilizada.

Palavras-chave: polifenoloxidase, vibração, impacto, pós-colheita, danos mecânicos, *Prunus persica*.

ABSTRACT

It is estimated that post-harvest losses of fruits and vegetables in Brazil range from 15% to 40% of Brazilian production. Losses are significant during transportation, especially regarding transportation vehicles conditions, road conditions and inadequate packages, among other factors.

Regarding packaging for fruits and vegetables, one may consider the problem associated with the lack of knowledge concerning vibration test parameters, used as a tool for packaging development, and evaluation of package-product performance. The vibration parameters suggested in test standards such as ABNT and ASTM do not apply to fruits and vegetables, since they are excessively severe for such products. Besides, most of studies in this field are based on mechanical damage visual evaluation and traditional physiological indexes, which present poor information regarding the causes of such damage.

From this point of view, this work aimed to study the biochemical responses of the vegetal tissue under vibrational and impact stresses; the following hypothesis was established: The biochemical changes in the vegetal tissue depend on vibrational and impact stress levels. ‘Douradão’ peach samples were submitted to such stresses, in two different levels, and their polyphenoloxidase (PPO) activity response was measured. The activity of this enzyme is related to the level of damages in the tissue. Besides these mechanical stresses, post-harvest times (4 periods) and resting times after mechanical stress (3 periods) were defined. PPO activity was determined for each peach by the activity change in injured area related to activity in non-injured area.

The methodology for the determination of polyphenoloxidase activity comprised enzyme extraction and activity evaluation by spectrophotometry. The work was accomplished in two steps; the first one composed by exploratory tests, in order to define test parameters used in fruits injuring and for methodology adjustment, and the second one was composed by the final tests. Based on exploratory tests, PPO methodology was adjusted and vibration and impact parameters were defined. Final tests results showed PPO activity variations due to the mechanical stresses applied to the fruits. However, for vibration, considering the same post-harvest periods and resting times, 2 from 12 treatments confirmed the hypothesis; regarding impact, 5 from 12 treatments confirmed the hypothesis. Thus, it was not possible to establish a correlation between PPO activity and the several levels of stress for the applied methodology.

Keywords: polyphenoloxidase, vibration, impact, post-harvest, mechanical damages, *Prunus persica*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Modo de vibração na primeira ressonância (YONG; BILANSKI, 1979).	9
FIGURA 2. Modo de vibração na segunda ressonância (YONG; BILANSKI, 1979).....	9
FIGURA 3. Tipos de reações catalisadas pela polifenoloxidase (Fonte: Yoruk; Marshall, 2003).....	13
FIGURA 4. Equipamento de impacto AGR – CETEA/ITAL.....	18
FIGURA 5. Detalhes do equipamento de impacto: (a) pêndulo armado para o impacto; (b) pêndulo no momento do impacto; (c) base de apoio e contra-apoio (<i>back-stop</i>) e (d) escala de velocidade e energia.....	19
FIGURA 6. Pêssegos sobre a mesa de vibração.....	21
FIGURA 7. Ilustração da região de retirada e dos corpos-de-prova para a avaliação visual. ...	21
FIGURA 8. Tratamentos do ensaio exploratório 1 – etapa 1.	21
FIGURA 9. Tratamentos do ensaio exploratório 1 – etapa 2.	22
FIGURA 10. Espectro de vibração randômica – ASTM D4728 (2009).	24
FIGURA 11. Tratamentos e determinações – ensaio exploratório 4.....	25
FIGURA 12. Tratamentos e determinações – ensaio exploratório 5.....	28
FIGURA 13. Esquema do delineamento experimental – ensaios finais.....	31
FIGURA 14. Ilustração da disposição dos pêssegos sobre a mesa de vibração.	32
FIGURA 15. Regiões do pêssego para a extração dos corpos-de-prova.....	33
FIGURA 16. Aparência dos corpos-de-prova congelados, antes da maceração.	33
FIGURA 17. Ilustração de corpos-de-prova macerados.	34
FIGURA 18. Marca resultante do contato dos pêssegos com a mesa de vibração – etapa 2, 0,9 G, 18.000 ciclos.....	35

FIGURA 19. Aparência da polpa nas regiões de contato (indicadas pelas setas) após vibração de (a) 600 ciclos a 0,1 G e (b) 3.000 ciclos a 0,9 G, ambas com repouso de 1 hora.....	35
FIGURA 20. Aparência da polpa nas regiões de contato (indicadas pelas setas) após vibração de (a) 3.000 ciclos a 0,1 G e (b) 3.000 ciclos a 0,9 G, ambas com repouso de 4 horas. ...	36
FIGURA 21. Aparência da polpa nas regiões de contato (indicadas pelas setas) após vibração de (a) 9.000 ciclos a 0,5 G e (b) 18.000 ciclos a 0,9 G, ambas com repouso de 24 horas.	36
FIGURA 22. Variação da atividade da PPO em função do tempo de reação.	37
FIGURA 23. Ilustração do clareamento das soluções devido à adição de ácido para a interrupção da reação.....	50
FIGURA 24. Variação da atividade da PPO em função do tempo de repouso após as solicitações mecânicas – tempo pós-colheita de 3 dias.....	62
FIGURA 25. Variação da atividade da PPO em função do tempo de repouso após as solicitações mecânicas – tempo pós-colheita de 7 dias.....	62
FIGURA 26. Variação da atividade da PPO em função do tempo de repouso após as solicitações mecânicas – tempo pós-colheita de 11 dias.....	63
FIGURA 27. Variação da atividade da PPO em função do tempo de repouso após as solicitações mecânicas – tempo pós-colheita de 17 dias.....	63
FIGURA 28. Variação da atividade da PPO em função do tempo pós-colheita, para as quatro condições de solicitações mecânicas.....	64

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Atividade de PPO em pêssegos de mercado – ensaio exploratório 2.	37
TABELA 2. Atividade de PPO em pêssegos de mercado – ensaio exploratório 3.	38
TABELA 3. Concentração de sólidos solúveis nos cinco pêssegos – ensaio explor. 4, tempo de repouso de 4 h.	39
TABELA 4. Atividade de PPO nos 5 pêssegos submetidos ao ensaio de vibração, regiões com e sem contato com a mesa de vibração – ensaio explor. 4, tempo de repouso de 4 h.	40
TABELA 5. Condutividade elétrica relativa (CER) e concentração de sólidos solúveis – ensaio exploratório 4.	41
TABELA 6. Concentração de sólidos solúveis nos cinco pêssegos – ensaio explor. 4, tempo de repouso de 27 horas.	42
TABELA 7. Atividade de PPO nos 5 pêssegos submetidos ao ensaio de vibração, regiões com e sem contato com a mesa de vibração – ensaio explor. 4, tempo de repouso de 27 h	42
TABELA 8. Concentração de sólidos solúveis nos cinco pêssegos – ensaio explor. 5, primeira avaliação (impacto de 1 m/s, TR 24 h).....	43
TABELA 9. Atividade de PPO nos 5 pêssegos submetidos ao ensaio de impacto (1 m/s), regiões com e sem impacto – ensaio explor. 5, avaliação 4, tempo de repouso de 24 h...	44
TABELA 10. Condutividade elétrica relativa (CER) e concentração de sólidos solúveis – ensaio exploratório 5, avaliação 2 (1 m/s, TR 30 h).....	45
TABELA 11. Condutividade elétrica relativa (CER) e concentração de sólidos solúveis – ensaio exploratório 5, avaliação 2 (2 m/s, TR 20 h).....	46
TABELA 12. Concentração de sólidos solúveis nos cinco pêssegos – ensaio explor. 5, avaliação 4 (impacto de 2 m/s, TR 24 h).....	47

TABELA 13. Atividade de PPO nos 5 pêssegos submetidos ao ensaio de impacto (2 m/s), regiões com e sem impacto – ensaio explor. 5, avaliação 4, tempo de repouso de 24 h...47	
TABELA 14. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 3 dias, 1 hora de vibração (TPC_3; vib_1h).....51	
TABELA 15. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 3 dias, 2 horas de vibração (TPC_3; vib_2h).....51	
TABELA 16. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 3 dias, impacto de 0,7 m/s (TPC_3; imp_70).....52	
TABELA 17. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 3 dias, impacto de 1,4 m/s (TPC_3; imp_140).....52	
TABELA 18. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 7 dias, 1 hora de vibração (TPC_7; vib_1h).....53	
TABELA 19. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 7 dias, 2 horas de vibração (TPC_7; vib_2h).....53	
TABELA 20. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 7 dias, impacto de 0,7 m/s (TPC_7; imp_70).....54	
TABELA 21. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 7 dias, impacto de 1,4 m/s (TPC_7; imp_140).....54	
TABELA 22. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 11 dias, 1 hora de vibração (TPC_11; vib_1h).....55	
TABELA 23. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 11 dias, 2 horas de vibração (TPC_11; vib_2h).....55	
TABELA 24. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 11 dias, impacto de 0,7 m/s (TPC_11; imp_70).....56	

TABELA 25. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 11 dias, impacto de 1,4 m/s (TPC_11; imp_140).	56
TABELA 26. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 17 dias, 1 hora de vibração (TPC_17; vib_1h).	57
TABELA 27. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 17 dias, 2 horas de vibração (TPC_17; vib_2h).	57
TABELA 28. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 17 dias, impacto de 0,7 m/s (TPC_17; imp_70).	58
TABELA 29. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 17 dias, impacto de 1,4 m/s (TPC_17; imp_140).	58
TABELA 30. Consolidação dos resultados da atividade de PPO – TPC_3.	59
TABELA 31. Consolidação dos resultados da atividade de PPO – TPC_7.	59
TABELA 32. Consolidação dos resultados da atividade de PPO – TPC_11.	60
TABELA 33. Consolidação dos resultados da atividade de PPO – TPC_17.	60

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Frutas de caroço.....	3
2.2. Características gerais do pêsego ‘Douradão’	3
2.3. Produção e perdas de pêsegos	4
2.4. A influência dos danos mecânicos na fisiologia das frutas	5
2.5. Danos mecânicos e solicitações vibracionais	6
2.6 Danos mecânicos por impacto	10
2.7 Polifenoloxidase	12
2.8 Condutividade elétrica	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Amostras	17
3.2. Locais.....	17
3.3. Equipamentos	17
3.3.1. Mesa de vibração	17
3.3.2. Pêndulo de impacto.....	18
3.3.3. Condutímetro	19
3.3.4. Espectrofotômetro.....	19
3.3.5. Refratômetro	20
3.4. Ensaio exploratórios.....	20
3.4.1. Ensaio exploratório 1	20
3.4.2. Ensaio exploratório 2.....	22

3.4.3. Ensaio exploratório 3	23
3.4.4. Ensaio exploratório 4	25
3.4.5. Ensaio exploratório 5	27
3.5. Ensaaios finais	29
3.5.1. Ensaaios mecânicos	31
3.5.2. Obtenção dos corpos-de-prova	32
3.5.3. Determinação da atividade de polifenoloxidase	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	35
4.1. Ensaio exploratório 1	35
4.2. Ensaio exploratório 2	37
4.3. Ensaio exploratório 3	38
4.4. Ensaio exploratório 4	39
4.5. Ensaio exploratório 5	43
4.6. Avaliação dos resultados dos ensaios exploratórios	49
4.7. Ensaaios finais	50
5. CONCLUSÃO.....	65
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, um dos maiores produtores de frutas do mundo, observa-se um triste paradoxo: enquanto quase um terço da população tem rendimento de até dois salários mínimos, estima-se que as perdas pós-colheita de frutas e hortaliças variam de 15 a 40% do que é produzido. Uma das etapas em que ocorrem tais perdas é o transporte, envolvendo o estado de conservação dos meios de transporte, condições das rodovias brasileiras e embalagens inadequadas, dentre outros fatores.

As metodologias disponíveis para avaliação de desempenho no transporte de frutas e embalagens destinadas a estas, principalmente as que descrevem ensaios de vibração, seja vibração randômica ou senoidal, são muito abrangentes e procuram englobar a variedade de parâmetros existentes nos meios de transporte utilizados, dos quais predomina o modal terrestre. Em função disso, os ensaios executados com base em tais metodologias, como as descritas em procedimentos da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) ou da ASTM INTERNATIONAL, são mais severos que as condições reais de transporte. No caso de frutas e hortaliças, isso prejudica a avaliação das interações produto-embalagem, visto que tais ensaios têm como objetivo simular, de maneira acelerada, as ocorrências observadas no transporte real.

Além das questões relativas às normas, há também questionamentos quanto à forma de avaliação dos produtos. Os resultados de grande parte dos trabalhos nesta área se baseiam em avaliações visuais dos danos mecânicos e alguns índices fisiológicos tradicionais, como coloração, firmeza, etc.

Em um dos poucos trabalhos encontrados correlacionando as solicitações por vibração ao tipo de produto vegetal, Kawano (1984) utilizou, de forma inadequada, o modelo de falha por fadiga (curva S-N), aplicado aos materiais não-biológicos, que podem ser considerados contínuos e homogêneos (como, por exemplo, materiais construtivos), mas com comportamento muito diferente do tecido vegetal, principalmente no que se refere à viscoelasticidade.

Na avaliação de danos por impacto em frutas, há maior quantidade de estudos; porém, estes também se limitam a avaliações visuais, direcionadas a medições nas regiões que apresentam escurecimento, ou índices como coloração, acidez, sólidos solúveis, etc.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo compreender a resposta da polifenoloxidase em função dos esforços por vibração e impacto, observando-se a correlação entre diferentes níveis de solicitação mecânica e as alterações na atividade enzimática do tecido vegetal de pêssegos 'Douradão'. Definiu-se então a hipótese: As alterações bioquímicas no tecido vegetal dependem dos níveis dos esforços vibracionais e por impacto.

Decidiu-se trabalhar com pêssegos em função de: proximidade à produção, visto que, devido à natureza do trabalho, não poderíamos utilizar frutas disponíveis no mercado ou obtê-las em regiões produtoras distantes, pois em tais casos as frutas poderiam já ser submetidas a danos; importância desta fruta na economia do Estado de São Paulo; susceptibilidade do fruto a danos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Frutas de caroço

As frutas de caroço constituem um dos mais diversificados grupos de frutas, apresentando várias cultivares de importância comercial, regiões produtoras, tipos de embalagens e modos de comercialização (ALMEIDA, 2005). Porém, tanto varejistas quanto consumidores desconhecem tal diversidade; este fato, aliado à sazonalidade do produto, concentrada no final do ano, são fatores que dificultam o aumento no consumo deste tipo de fruta.

Em um dos principais mercados atacadistas de frutas, a CEAGESP – Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo, com a realização de entrevistas com os atacadistas, pôde-se estabelecer um panorama do mercado de frutas de caroço (ALMEIDA, 2005). Alguns pontos de interesse são a preferência do mercado consumidor pelas variedades de polpa branca e suculenta (‘Chiripá’, ‘Chimarrita’, etc.), mas as variedades de polpa amarela, como ‘Douradão’ e ‘Aurora’ começam a se impor no mercado, porém ainda recebem remuneração inferior; a protuberância do ápice, presente em grande parte das variedades no Brasil, traz problemas no uso da embalagem a granel. O ápice amadurece primeiro e pode, quando danificado, ser o ponto de entrada para patógenos. As variedades importadas são todas esféricas; o uso de bandejas plásticas com células (divisórias) para as frutas tem se intensificado.

As embalagens mais usuais para as frutas de caroço são: caixas pequenas, de 1,2 kg, em papelão ondulado ou madeira laminada; caixas de papelão ondulado de 6 ou 8 kg, com frutas a granel ou com bandejas plásticas; caixas de madeira descartáveis, de 4 a 7 kg, com bandejas; meia caixa M de 9 kg, retornável, a granel; caixa K, para produtos de baixo valor, como pêssegos para conserva.

2.2. Características gerais do pêssego ‘Douradão’

O pessegueiro é uma espécie nativa da China. Foram encontradas referências sobre o pêssego na literatura chinesa de 20 séculos a.C. O nome da espécie, entretanto, deriva da Pérsia, que foi erroneamente tomada como país de origem do pessegueiro. No Brasil, o pessegueiro foi introduzido em 1532 por Martin Afonso de Souza, através de mudas trazidas

da Ilha da Madeira e plantadas em São Vicente, SP. O pessegueiro pertence à família *Rosaceae*, subfamília *Prunoidea* e gênero *Prunus* (L.), subgênero *Amygdalus*. Todas as cultivares comerciais pertencem a *Prunus persica* (L.) Batsch. O fruto é uma típica drupa carnosa, com fino pericarpo, mesocarpo polposo e endocarpo lenhoso. Do ponto de inserção do pedúnculo parte uma linha de sutura que vai até o ápice do fruto, onde está presente uma protuberância típica. A cor da epiderme varia do amarelo-claro ao alaranjado, e muitas cultivares exibem uma rica coloração sobre essa coloração de fundo, de rósea a vermelha (SACHS, 1984).

O pêssego ‘Douradão’, lançado em 1998, é descendente do ‘Dourado-1’ e geralmente amadurece em meados de outubro. O pessegueiro apresenta vigor médio e crescimento compacto, com plena floração entre o final de junho e início de julho; cerca de 70% das gemas diferenciam-se em flor e seu índice de frutificação efetiva aproxima-se de 45% (NOVAS VARIEDADES..., 2000, p. 176).

O ‘Douradão’ apresenta frutos grandes, com massa média de 160 g e 6 cm de diâmetro transversal, globoso-oblongos, de coloração externa até 90% vermelho-estriada, sobre fundo amarelo-claro. A polpa amarela mostra-se espessa, firme, fibrosa, medianamente succulenta e sem aderência ao caroço, grande (6,5 g), bem corrugado e avermelhado. Apresenta sabor doce-acidulado bem equilibrado e agradável (NOVAS VARIEDADES..., 2000, p. 176).

2.3. Produção e perdas de pêssegos

A produção de frutas no mundo chegou a mais de 526 milhões de toneladas em 2006. Desse total, aproximadamente 17,2 milhões foram de pêssegos e nectarinas. Nessa produção, o Brasil contribui com 235 mil toneladas, pouco mais de 1,3% da produção mundial (FAO, 2008).

No cenário nacional, os estados do Rio Grande do Sul e São Paulo respondem por 43,5% e 22,2% da produção de pêssegos, respectivamente (IBGE, 2008).

Amorim et al. (2008), em um estudo realizado na CEAGESP entre 2003 e 2004, avaliando frutos com caroço, envolvendo pêssegos, nectarinas e ameixas, mostraram que o percentual de danos mecânicos pós-colheita em pêssegos variou de 9,3 a 14,9% do total comercializado, dependendo da variedade analisada.

Os pêssegos são um excelente exemplo de frutas suscetíveis ao escurecimento enzimático, sendo este um dos principais problemas causados durante seu manuseio e processamento (BRANDELLI; LOPES, 2005). Portanto, com base na representatividade da produção de pêssego na agricultura brasileira e pela reconhecida sensibilidade desta fruta aos danos mecânicos, foi que se decidiu por sua escolha para o presente estudo.

2.4. A influência dos danos mecânicos na fisiologia das frutas

Os danos mecânicos podem ser definidos como deformações plásticas, rupturas superficiais e destruição dos tecidos vegetais, provocadas por forças externas e que levam a modificações físicas e alterações fisiológicas, químicas, bioquímicas na cor, aroma, sabor e firmeza da polpa; podem ser agrupados em danos por impacto (colisão contra superfícies sólidas), por compressão ou amassamento (imposição de pressão variável pela embalagem ou por um fruto contra a superfície de outro fruto) e por corte (MOHSENIN, 1986).

De acordo com Mohsenin (1970), os danos mecânicos em produtos agrícolas são causados por forças externas, sob condições estáticas ou dinâmicas (como impactos em frutas e hortaliças), ou por forças internas, como rachaduras em grãos e hortaliças em função de variações de umidade e temperatura, e podem ocorrer em qualquer ponto da cadeia de comercialização, desde a colheita até o consumo do produto. Se o dano for primordialmente de natureza interna, tal como no esmagamento, torna-se difícil sua identificação sob certas circunstâncias, uma vez que a superfície externa pode permanecer íntegra (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

As principais origens de danos mecânicos basicamente compreendem as cinco etapas da cadeia logística de frutas e hortaliças: colheita, beneficiamento, embalagem, armazenamento e transporte (PELEG, 1985). No primeiro caso, a colheita pode ser automatizada ou semi-automatizada, ou então utilizarem o sistema de vibração de árvore e galhos para a remoção dos frutos; nem sempre as características do fruto são consideradas na escolha do equipamento, visto que a adequação deste pode ser conflitante com as questões de seletividade e rapidez buscadas pelos produtores.

As etapas de limpeza, seleção, classificação e embalagem também podem ser críticas em função do manuseio destes, podendo levar a impactos e amassamentos nas frutas. No

transporte, o aumento da demanda por produtos diversificados faz com que estes percorram longas distâncias até o ponto de venda e sejam submetidos a condições de estresse envolvendo compressão (entre frutos ou embalagens), impactos no manuseio das caixas e solicitações por vibração inerentes aos meios de transporte.

Os danos físicos causados aos tecidos modificam a sua atividade fisiológica promovendo respostas localizadas como aumento na taxa de respiração e na produção de etileno, o que torna os produtos mais perecíveis (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Além dessas alterações, diversos estudos se basearam em outras respostas fisiológicas para a avaliação do nível de danos causado ao tecido. Zhou et al. (2007) avaliaram danos mecânicos e alterações fisiológicas em pêras 'Huanghua' após transporte rodoviário e armazenamento por 36 dias, considerando mudanças de coloração, permeabilidade da membrana celular da pele do fruto, atividade de hidrolase, dentre outros fatores. Outro parâmetro avaliado no referido trabalho foi a condutividade elétrica relativa (CER), correlacionada aos danos no tecido vegetal em função do extravasamento de eletrólitos celulares. Os pesquisadores observaram o aumento da CER nas pêras submetidas ao transporte, em comparação com a amostra testemunha. Nesta mesma linha, Feng et al. (2005) avaliaram a cinética da CER em bagos de loureiro (árvore originária do Mediterrâneo, cujo fruto é uma pequena baga escura e amarga), observando a variação de tal parâmetro em função de diferentes temperaturas de estocagem (2, 8 e 15°C), e verificaram o aumento da CER nas três condições, porém com maior intensidade nas temperaturas de estocagem mais elevadas.

As perdas causadas por danos mecânicos são frequentemente negligenciadas e, devido à complexidade adicional das perdas fisiológicas e patológicas, são difíceis de ser estimadas. Em certas frutas, como por exemplo bananas, que são colhidas comercialmente imaturas, danos mecânicos não são aparentes no fruto verde; contudo, são bastante visíveis após o amadurecimento, por meio de sintomas como dessecação, descoloração e ataque de patógenos, promovendo, assim, a desqualificação ou perda total do produto maduro (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

2.5. Danos mecânicos e solicitações vibracionais

Um dos fatores mais importantes que afetam as características de venda de frutas e hortaliças são os danos mecânicos ocorridos no transporte (KAWANO, 1984). Tais danos

resultam do nível de aceleração das vibrações que ocorrem durante o transporte. Para proteger os produtos desses danos e isolar tais vibrações, é necessária uma embalagem adequada.

A sensibilidade de um produto às solicitações vibracionais pode ser estabelecida em função das frequências vibracionais, existentes nos meios de distribuição, com amplitude suficiente para causar a ressonância e consequentes danos ao produto. Informações sobre a sensibilidade à vibração podem ser utilizadas no desenvolvimento adequado do sistema de embalagem de forma a minimizar a resposta do produto às vibrações presentes na distribuição (BRANDENBURG; LEE, 1988).

A sensibilidade à vibração pode ser estabelecida identificando-se as frequências naturais do produto; as frequências presentes no meio de distribuição; e na determinação dos limites de ocorrência de danos ao produto caso este seja submetido a ensaios de vibração na frequência natural com as amplitudes encontradas no meio de distribuição.

Conforme Bandenburg e Lee (1988), as frequências naturais de um produto são usualmente identificadas utilizando-se uma mesa de vibração senoidal, geralmente na faixa de 3 a 100 Hz e com acelerações entre 0,1 e 0,5 G, sendo 1 G igual a $9,8 \text{ m/s}^2$.

O propósito de submeter o produto a ensaios é determinar se este é danificado quando exposto a vibrações em suas frequências naturais. As frequências que causam danos ao produto são importantes (BRANDENBURG; LEE, 1988). Assim, a única opção é embalar o produto de forma que este seja protegido de tais frequências. No caso de outros produtos, como eletro-eletrônicos, produtos alimentícios industrializados, produtos de limpeza, etc., é possível redesenhá-los de forma a eliminar ou reduzir a ressonância de acordo com as frequências encontradas nos meios de distribuição.

As frequências de vibração de maior intensidade encontradas no transporte de produtos varia de acordo com o meio de transporte e seus componentes. Por exemplo, o transporte rodoviário, usualmente utilizado para frutas e hortaliças, apresenta vibrações de maior intensidade nas faixas de 2 a 7 Hz, provenientes do sistema de suspensão, e de 50 a 100 Hz, provenientes da estrutura do veículo (BRANDENBURG; LEE, 1988).

Desde a década de sessenta, diversos pesquisadores buscam compreender o comportamento de frutas nos meios de distribuição, principalmente durante o transporte rodoviário. O'Brien et al. (1963, 1965), em estudos de contêineres para frutas no transporte rodoviário, observaram que o nível de danos está diretamente relacionado à magnitude das

acelerações e frequências vibracionais nas camadas superiores da embalagem. Observaram também que esta magnitude nas camadas superiores das frutas depende de diversos fatores, tais como altura de enchimento do contêiner; tensão no enchimento; tipo de suspensão do caminhão; magnitude da vibração proveniente do pavimento; e características vibracionais da fruta.

Além disso, quando a combinação de amplitudes e frequências das vibrações verticais nas camadas superiores são suficientes para produzir acelerações superiores a 1 G nos frutos, estes se movem livremente, uma vez que recebem energia suficiente das frutas adjacentes e das camadas inferiores de forma a, intermitentemente, perderem contato com as demais.

Outro fator estudado ainda na década de sessenta foi a influência da temperatura de estocagem sobre as características mecânicas de ressonância em frutas. Finney Jr. (1970) avaliou a variação dessas características em maçãs “Red Delicious” durante a estocagem a 0 e 10°C, com base no parâmetro f^2m , definido como o produto do quadrado da frequência de ressonância (f) do fruto pela sua massa (m). O pesquisador observou uma redução desse parâmetro durante a estocagem, sendo esta redução mais acentuada nas maçãs a 10°C, possivelmente devido à acelerada taxa de danos na estrutura física dos tecidos em tal temperatura.

Em 1971, Chesson e O’Brien avaliaram o comportamento de laranjas submetidas à vibração mecânica, também verificando maiores vibrações nas camadas superiores do contêiner e observando a ocorrência de rotações nos frutos, com acelerações próxima a 1 G.

Ainda nas décadas de sessenta e setenta, diversos pesquisadores realizaram ensaios de vibração para avaliar qualitativamente seu efeito em frutas (ABBOTT, 1968; BOWER, 1976; CLARK, 1973; FINNEY, 1968 e 1971; STEPHENSON, 1973;). Com foco nas frequências de ressonância das próprias frutas, não considerando o tipo de vibração presente nos meios de transporte e suas frequências, Yong e Bilanski (1979) descrevem a existência de diversas frequências de ressonância em frutos com formato aproximadamente esférico, mas ressaltam que apenas as duas frequências mais baixas são as de maior relevância para a avaliação de qualidade de frutas. O modo de vibração na primeira ressonância se caracteriza pelo modelo de Kelvin, do sistema vibracional de um grau de liberdade (Figura 1). Na segunda ressonância, o fruto inteiro vibra no modo esférico (Figura 2). Vale ressaltar que, neste trabalho, as

frequências de ressonância obtidas são consideradas altas (110 e 900 Hz) comparadas às principais frequências encontradas nos meios de transporte usuais.

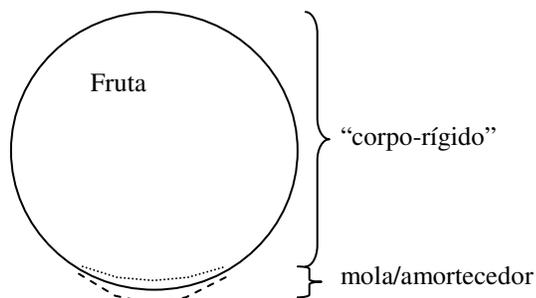


FIGURA 1. Modo de vibração na primeira ressonância (YONG; BILANSKI, 1979).

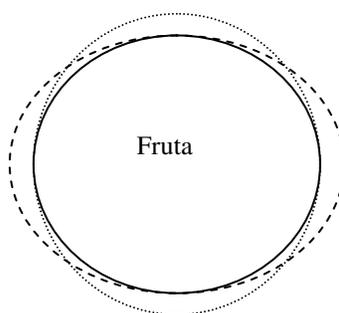


FIGURA 2. Modo de vibração na segunda ressonância (YONG; BILANSKI, 1979).

Com o advento de novos equipamentos, de maior capacidade de armazenamento de dados, surgiram trabalhos avaliando os níveis de danos no transporte real de produtos, com monitoramento das acelerações vibracionais e de impacto em determinados percursos. Peleg e Hinga (1986), realizaram um levantamento de dados vibracionais e de impacto em rotas de transporte de maçãs e cítricos, em Israel, com diferentes tipos de caminhão e pavimentos. Dessa forma, foram obtidos dados específicos para cada tipo de solicitação encontrado na cadeia de distribuição. Berardinelli et al. (2005) também estudaram o efeito das vibrações presentes do transporte de pêras, em diferentes rotas na Itália, avaliando o nível de danos nas frutas em função de seu posicionamento no caminhão e na coluna de caixas empilhadas. Embora o estudo forneça dados interessantes sobre as vibrações ao longo da pilha de caixas, a avaliação das frutas foi subjetiva, contemplando apenas descolorações externas nas frutas,

sendo que uma avaliação com relação aos danos mecânicos no tecido vegetal poderiam fornecer mais subsídios para o desenvolvimento ou adequação de embalagem destinada a pêras.

Um outro exemplo de estudo da influência das vibrações nos tecidos vegetais é descrito nos trabalhos de Bochu et al. (2001) e Yang et al. (2002). No primeiro, os pesquisadores cultivaram calos a partir de gérmen de gérbera, em meio de cultura; estes calos foram divididos em seis grupos, sendo um de controle e os outros cinco submetidos a ensaios de vibração com frequências de 1, 2, 3, 4 e 5 Hz, com 10 min de duração, duas vezes ao dia, durante 20 dias. Ao final do período, determinaram a taxa de crescimento dos grupos, dentre outros fatores, e observaram que o grupo submetido a vibrações em 3 Hz apresentou um crescimento médio de 506% em relação ao seu peso inicial, enquanto o grupo controle, não submetido aos ensaios de vibração, apresentou crescimento de 406%. Além disso, observaram também que, nas frequências acima de 3 Hz, o crescimento dos calos era inibido; o grupo submetido a vibrações em 5 Hz apresentou crescimento médio de 374%.

O trabalho de Yang et al. (2002) foi similar; foram cultivados calos de *Actinidia chinensis*, submetidos a vibrações nas frequências de 1 a 5 Hz, com 60 min de duração, uma vez ao dia, durante 20 dias. Os resultados foram similares ao trabalho de Bochu et al. (2001): o grupo submetido a vibrações em 3 Hz apresentou um crescimento médio de 42,0% em relação ao seu peso inicial; o grupo controle apresentou um crescimento de 24,6% e o grupo em 5 Hz, 20,9%.

Estes trabalhos evidenciam o efeito biológico das vibrações sobre as células vegetais, sejam eles positivos ou negativos em relação aos controles, e servem como mote para o presente estudo.

2.6 Danos mecânicos por impacto

O dano por impacto resulta da aplicação de uma força, num curto intervalo de tempo, e pontualmente quando um fruto impacta outro fruto ou uma superfície rígida. Diversos estudos utilizam a avaliação por impacto devido à facilidade de execução do ensaio e sua natureza realística (MANESS et al., 1992).

Uma das principais fontes de danos nas etapas de transporte e distribuição de frutas são os impactos. Diversos estudos buscaram compreender e correlacionar os níveis de

impactos e os danos causados. Brown et al. (1990) avaliaram os impactos presentes em 25 linhas comerciais de beneficiamento e embalagem de maçãs 'Golden delicious'; posteriormente, 5 dessas linhas foram reavaliadas após a implementação de diversas alterações para redução de impactos. Neste trabalho, os pesquisadores determinaram o número de injúrias (maiores que 6,3 mm) e a área injuriada total (somatória das áreas injuriadas) por fruta. Além da avaliação das frutas após a passagem pelas linhas, os pesquisadores utilizaram uma esfera instrumentada (89 mm de diâmetro) para registrar os impactos. Os danos encontrados variaram de 2,3 a 5,8 injúrias por fruta, com áreas injuriadas de 194 a 581 mm². Na avaliação dos impactos, em todas as linhas as acelerações médias excederam 30 G nos pontos de transferência, impactos estes que possivelmente causaram danos às frutas. Com base nos resultados, diversas modificações foram implementadas (acolchoamento, cortinas ou escovas para desaceleração, alteração de comprimento e ângulo das rampas, dentre outras), obtendo-se reduções de 13 a 52% no número de injúrias por fruta e de 12 a 50% na área total injuriada.

Maness et al. (1992) determinaram as respostas de 4 variedades de pêsego quando submetidas a diferentes níveis de impacto por queda livre. Verificou-se que os impactos de baixa e média energia tiveram efeitos desprezíveis sobre a respiração e produção de etileno das frutas; a quantidade e volume das injúrias foram proporcionais ao aumento das alturas de queda, especialmente nas frutas em estágio avançado de maturação.

Ferreira (1994) estudou as respostas fisiológicas de morangos a compressão e impactos, em diferentes temperaturas de armazenagem. Os danos foram determinados pelo volume das injúrias. Verificou-se que a 24°C as frutas mostraram alta sensibilidade à compressão, mas baixa sensibilidade a impactos. Com a diminuição da temperatura, as injúrias nas frutas submetidas à compressão foram menores. Em contrapartida, as frutas submetidas a impactos apresentaram mais injúrias em baixas temperaturas (1°C).

Durigan et al. (2005) estudaram a influência de injúrias mecânicas (dentre elas, impacto) sobre a qualidade pós-colheita de limões 'Thaiti'. Foram realizadas diversas avaliações, como atividade respiratória, aparência e perda de massa. Durante o armazenamento (25°C) das frutas injuriadas observou-se a perda de qualidade, com influência nos parâmetros químicos, aparência e vida útil.

Ferreira et al. (2009) avaliaram níveis de impacto presentes nas linhas de beneficiamento para tomate de mesa, utilizando uma esfera instrumentada, e determinaram, em laboratório, as alterações na qualidade dos tomates submetidos a danos físicos controlados, em diferentes superfícies de impacto. Os pontos críticos de transferência apresentaram valores de aceleração entre 30 e 129 G. Em laboratório, observou-se que a incidência de danos físicos foi proporcional ao aumento da altura de queda, especialmente em superfícies rígidas.

2.7 Polifenoloxidase

A polifenoloxidase é uma enzima que pode ser considerada universalmente distribuída em animais, plantas, fungos e bactérias, de acordo com Mayer (2006); é também conhecida como tirosinase, fenolase, catecol oxidase, *o*-difenol oxidase, monofenol oxidase e cresolase (RAMIREZ et al., 2003). A polifenoloxidase catalisa dois tipos de reação (Figura 3): a hidroxilação de monofenóis para *o*-difenóis, comumente referida como atividade de cresolase ou monofenolase (E.C. 1.14.18.1); e a oxidação de *o*-difenóis a *o*-quinonas, comumente referida como atividade de catecolase ou difenolase (E.C. 1.10.3.2) (MARTINEZ E WHITAKER, 1995; RAMÍREZ et al., 2003, YORUK E MARSHALL, 2003).

As reações de escurecimento não-enzimático ocorrem a partir das *o*-quinonas, com a formação das melaninas.

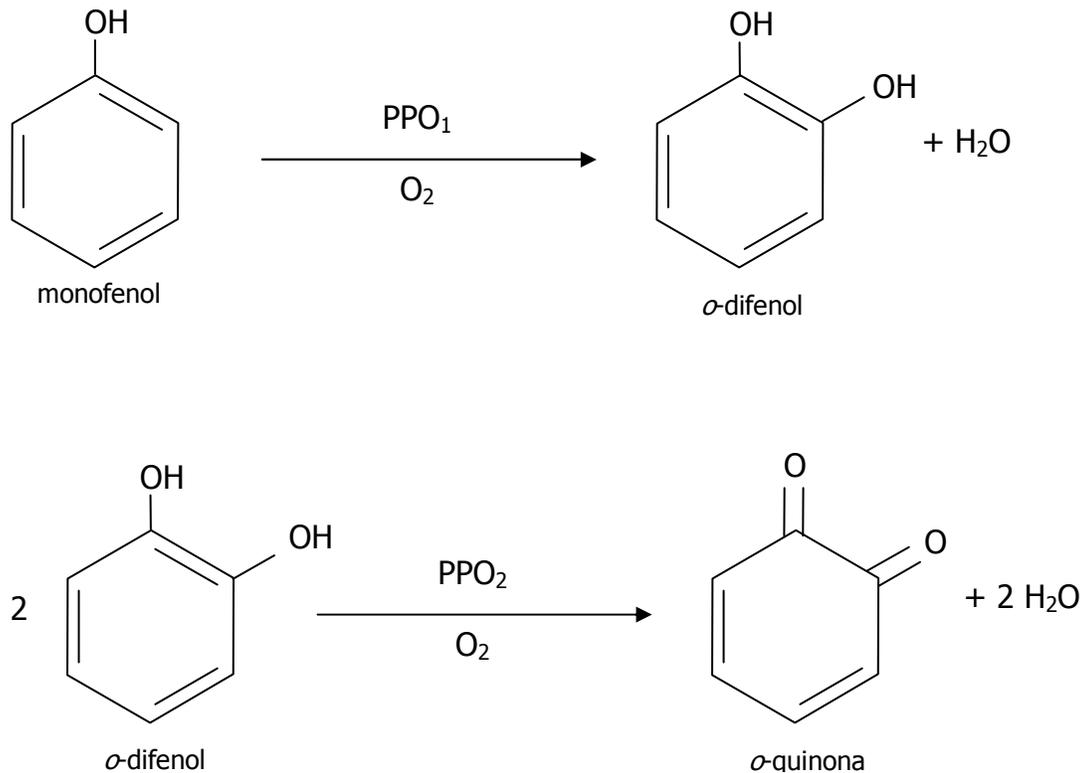


FIGURA 3. Tipos de reações catalisadas pela polifenoloxidase (Fonte: Yoruk; Marshall, 2003).

Nas plantas, a polifenoloxidase pode estar solúvel ou ionicamente ligada à membrana. Técnicas histoquímicas mostram que tais enzimas se localizam nos cloroplastos. O gene da PPO é codificado no núcleo celular e traduzido no citossol; a proPPO formada é então transportada ao cloroplasto, onde é clivada por uma protease, produzindo sua forma ativa (MARTINEZ E WHITAKER, 1995). Sua distribuição nas diferentes partes de frutas e hortaliças pode variar consideravelmente e a relação entre PPO solúvel e ligada varia em função do estágio de maturação (VÁMOS-VIGYÁZO, 1981).

Existem numerosos trabalhos publicados que tratam da atividade de PPO em plantas e fungos. Segundo Mayer (2006), tal excesso de publicações provavelmente é devido à relativa facilidade com que a atividade da PPO pode ser monitorada. Embora tenham sido obtidas informações úteis, as pesquisas não avançaram no entendimento básico da função

desta enzima nem na comprovação da relação entre alguns fenômenos observados e a atividade da PPO. Apesar da oxidação de fenóis e formação de melaninas serem processos normais da PPO em plantas, o significado da atividade enzimática nos tecidos vivos ainda não é totalmente compreendido (YORUK; MARSHALL, 2003).

As PPO's são enzimas codificadas por genes nucleares e, apesar de estarem localizadas em plastídios e separadas de seus substratos (compostos fenólicos, localizados principalmente nos vacúolos), têm atividade só quando liberadas no rompimento celular (MURATA et al., 1997). Embora o papel da PPO na biologia das plantas ainda não esteja totalmente claro, seus evidentes produtos de reação indicam que esta seja uma forma de defesa contra microorganismos, insetos e mamíferos herbívoros (THIPYAPONG et al., 1995, MAYER E HAREL, 1991). Thypiapong et al. (1995) observaram, ao se danificar folhas de batata com um hemostato (pinça cirúrgica), localizadas nos ramos mais baixos, que a atividade da PPO nas folhas dos ramos superiores aumentava 1,8 vezes no período de 48 horas, indicando a ativação do mecanismo de defesa da planta. Partington et al. (1999), em um estudo avaliando alterações na localização da PPO no interior da célula, em tecidos de tubérculo de batata submetidos a impactos, observaram pequenas alterações em tal localização, logo após o impacto, com a PPO mantendo-se no citoplasma periférico; porém, 12 horas depois, observou-se uma distribuição mais generalizada da enzima, detectada na região vacuolar. Presume-se que isso ocorra em função da perda de integridade da membrana, demonstrada pela evidência direta do “vazamento” em locais definidos, utilizando-se a técnica de localização por imuno-ouro (MAYER, 2006). Outra contribuição importante com relação às funções da PPO foi a observação de que, na maçã, tal enzima é codificada por uma família gênica múltipla, cuja expressão é regulada pela danificação do tecido (KIM et al., 2001). Constabel e Ryan (1998) avaliaram a resposta da PPO a danos em diversas plantas, com destaque para tomate, tabaco e álamo híbrido (tipo de árvore ornamental). Em outro trabalho com álamo, Constabel et al. (2000) também observaram uma expressiva resposta de expressão da PPO a danos mecânicos, tanto nas folhas danificadas como nas folhas sem danos

Em uma avaliação da atividade enzimática em pêssegos submetidos a danos mecânicos, Tourino et al. (1993) observaram o comportamento da PPO ao longo de 48 horas de estocagem. Os frutos, devidamente colhidos e selecionados, sofreram cortes aplicados em laboratório, utilizando-se um estilete. Dos frutos com e sem danos, armazenados em ambiente

a 20°C e 75% de U.R., foram retirados discos de tecido, com aproximadamente 10 mm de diâmetro e 4 mm de profundidade, ao redor dos cortes e também dos frutos não danificados, em intervalos de 6 horas, entre 0 e 48 horas. Os discos foram imediatamente imersos em nitrogênio líquido e armazenados, até a realização das análises. Após as análises, a avaliação dos resultados mostrou que, nos tecidos íntegros, a atividade de PPO apresentou uma leve e gradual diminuição durante o período de 48 horas (tempo de cura). Porém, nos tecidos danificados, o comportamento foi diferente, com aumento da atividade, sendo o pico desta atingido em torno de 24 horas após o dano.

Com relação à atividade da PPO, Toralles et al. (2005) observaram as condições ótimas de reação desta, considerando-se como substrato o catecol, com temperatura ótima de 30°C e pH entre 6,0 e 6,5.

2.8 Condutividade elétrica

Embora diversas técnicas para avaliação de danos tenham sido desenvolvidas, a avaliação visual ainda é a técnica mais simples e utilizada para quantificação dos danos mecânicos. Porém, dependendo do nível de tais danos, tal avaliação pode ser afetada pelas condições de iluminação, textura da superfície, avaliador, etc., e assim é menos precisa se comparada a medições instrumentais (JIANG et al., 2001). Assim, a medição da condutividade elétrica se apresenta como uma forma de avaliação do nível de danos no tecido vegetal, visto que tais danos levam à perda da integridade da membrana das células da região afetada do tecido, o que acarreta a perda de solutos citoplasmáticos com propriedades eletrolíticas (JIANG et al., 2001).

Montoya et al. (1994a) avaliaram a influência da temperatura e do uso de atmosfera modificada no armazenamento de abacates através da determinação periódica de condutividade elétrica nos frutos. Estes mesmos pesquisadores avaliaram a relação entre condutividade elétrica e a produção de etileno também no armazenamento de abacates e observaram que a condutividade elétrica pode ser utilizada como indicador do estágio de maturação, quando os frutos são armazenados em sua temperatura ideal (5°C) ou como indicador de injúrias pelo frio, visto que, em ambos os casos, foi observado aumento da condutividade elétrica nos frutos (MONTROYA et al., 1994b).

Couto et al. (1998) estudaram a utilização da condutividade elétrica como metodologia para quantificação de danos em grãos de soja. Os grãos foram danificados de duas formas: através de um corte na junção dos cotilédones ou por queda livre de uma massa sobre os grãos. Assim, observou-se a viabilidade de tal método para a referida quantificação de danos.

Um dos trabalhos utilizando a condutividade elétrica na avaliação de danos mecânicos no transporte foi realizado por Feng et al. (2005). O estudo avaliou a qualidade de bagos de loureiro (árvore originária do Mediterrâneo, cujo fruto é uma pequena baga escura e amarga), onde foram avaliados os efeitos das solicitações vibracionais, presentes no transporte, sobre os frutos, através do monitoramento da taxa de respiração e da condutividade elétrica relativa durante a estocagem após tal transporte. Tal metodologia também foi utilizada em outro trabalho, realizado por Zhou et al. (2007), em que foram avaliados danos mecânicos e alterações fisiológicas em pêras Huanghua após transporte rodoviário e armazenamento por 36 dias, considerando, além da condutividade, mudanças de coloração, permeabilidade da membrana celular da pele do fruto, atividade de hidrolase, dentre outros fatores. Neste caso, vale ressaltar que, embora não tenham sido observadas diferenças de cor, a avaliação da condutividade elétrica na pele dos frutos permitiu diferenciar os frutos submetidos a condições de maior estresse no transporte.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Antes da execução dos ensaios e avaliações finais, foram realizados diversos estudos exploratórios a fim de se estabelecer os parâmetros de ensaio e de avaliação de respostas do tecido vegetal aos danos mecânicos. Assim, o item 3.4 descreve as metodologias utilizadas nos principais ensaios exploratórios e o item 3.5, a metodologia utilizada para os ensaios finais.

3.1. Amostras

Para o ensaio exploratório 1, os pêssegos ‘Douradão’ foram obtidos em um produtor da cidade de Valinhos, SP; nos ensaios exploratórios 2 e 3, devido à precocidade da colheita na região em 2008 e conseqüente indisponibilidade de frutas, foram utilizados pêssegos de mercado. Para os ensaios exploratórios 4 e 5, e também para os ensaios finais, foram obtidos pêssegos ‘Douradão’ de um produtor da cidade de Jarinu, SP (Doni Frutas, proprietário: Donizeti de Oliveira). Os pêssegos foram colhidos no ponto de maturação usual definido pelo produtor e não passaram pelo processo de beneficiamento, a fim de trabalharmos com as frutas com o mínimo de danos possível.

3.2. Locais

Os ensaios de vibração, impacto e as estocagens foram realizados nos laboratórios do CETEA – Centro de Tecnologia de Embalagens do ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos. As análises bioquímicas e fisiológicas das amostras foram realizadas nos Laboratórios de Química e Cromatografia do CETEA (ensaios exploratórios) e no Departamento de Química e Bioquímica – IB da UNESP, campus Botucatu (ensaios finais).

3.3. Equipamentos

3.3.1. Mesa de vibração

Os ensaios de vibração foram executados em uma mesa de vibração, marca MTS, modelo 891, com 1,5 x 1,5 m e 5 ton de força dinâmica, controlada em vibração pelos equipamentos MTS, modelo “407 Controller” e “SignalCalc 550 Vibration Controller”,

utilizando-se um acelerômetro Kistler, modelo 8710A50M1, com resolução de 0,01 G e incerteza de medição de 0,03 G.

3.3.2. *Pêndulo de impacto*

Os ensaios de impactos foram realizados utilizando-se um equipamento de impacto tipo pêndulo (Figura 4), marca AGR, com pêndulo de 23,9 cm e 548 g, com ponteira de impacto esférica (esfera de aço com diâmetro de 12,7 mm, 130 g), contra-apoio em forma de “V” (*back-stop*) com ângulo de abertura de 120°, base de apoio da amostra com altura regulável e sistema de desengate (disparo) manual do pêndulo, sem interferência da aceleração deste. Faixa de operação: 0 a 320 cm/s (0 a 3,2 m/s). A Figura 5 apresenta detalhes do equipamento e da execução do ensaio.



FIGURA 4. Equipamento de impacto AGR – CETEA/ITAL.



FIGURA 5. Detalhes do equipamento de impacto: (a) pêndulo armado para o impacto; (b) pêndulo no momento do impacto; (c) base de apoio e contra-apoio (*back-stop*) e (d) escala de velocidade e energia.

3.3.3. Condutivímetro

A determinação de condutividade elétrica relativa foi realizada utilizando-se um condutivímetro marca Digimed, modelo DM3, com resolução de $0,01 \mu\text{S}/\text{cm}$ ($1 \cdot 10^{-6} \text{ S}/\text{m}$) e incerteza de medição de $0,06 \mu\text{S}/\text{cm}$ ($6 \cdot 10^{-6} \text{ S}/\text{m}$).

3.3.4. Espectrofotômetro

As leituras de absorvância para determinação de atividade de polifenoloxidase foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Visível, marca AnalytikJena, modelo Specord 210. Nos ensaios realizados na UNESP/Botucatu, utilizou-se um espectrofotômetro Ultrospec 2000, marca Pharmacia Biotech; ambos os equipamentos com resolução de 0,001.

3.3.5. Refratômetro

A determinação de sólidos solúveis foi realizada utilizando-se um refratômetro RF Sensor SR400, e os resultados foram expressos em °Brix.

3.4. Ensaio exploratórios

3.4.1. Ensaio exploratório 1

Este ensaio teve por objetivo o estabelecimento dos parâmetros do ensaio de vibração para a execução do trabalho, isto é, as acelerações, ciclos de vibração (tempo de ensaio) e tempos de repouso. A resposta do tecido vegetal dos frutos foi avaliada visualmente, pelo escurecimento da polpa na região de contato com a mesa de vibração.

Procedimento

Após a colheita, os pêssegos foram levados para os laboratórios do CETEA e submetidos a diversos ensaios de vibração, com frequência de 5 Hz, diretamente sobre a mesa de vibração (Figura 6), mantidos na mesma posição durante todo o ensaio. Os parâmetros de ensaio utilizados foram aceleração (0,1; 0,5 e 0,9 G); tempo de ensaio (2 min – 600 ciclos. 10 min – 3.000 ciclos, 30 min – 9.000 ciclos e 60 min – 18.000 ciclos; tempo de repouso (1 hora, 4 horas, 24 horas e 72 horas).

Para cada tratamento, foram avaliadas três frutas. Após o período de repouso, cada pêssego foi cortado, removendo-se uma calota da região de contato das frutas com a mesa de vibração, e esta calota, cortada ao meio (Figura 7). Os ensaios foram realizados em duas etapas, como esquematizado nas Figuras 8 e 9.



FIGURA 6. Pêssegos sobre a mesa de vibração.



FIGURA 7. Ilustração da região de retirada e dos corpos-de-prova para a avaliação visual.

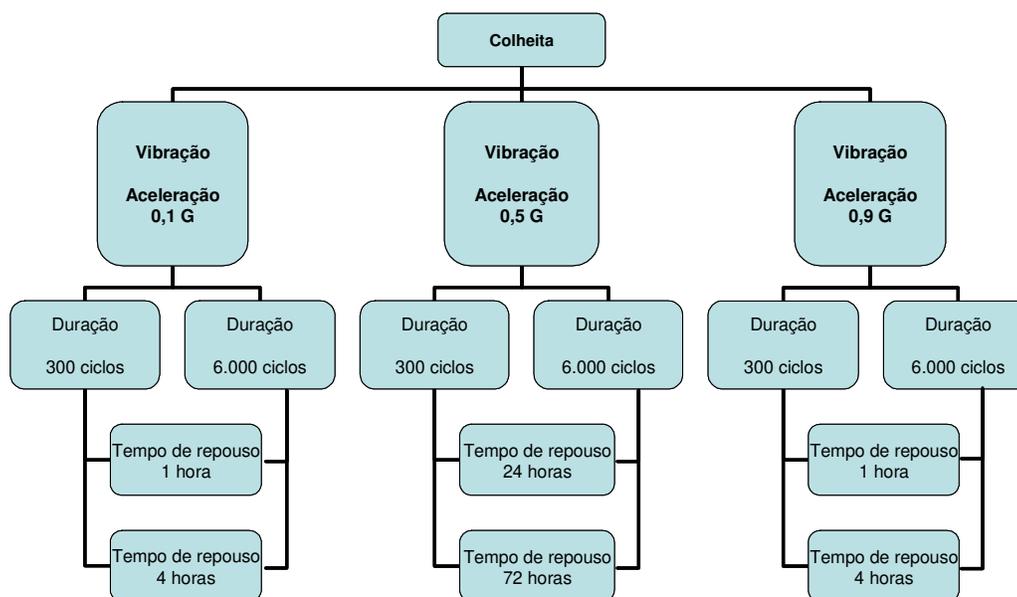


FIGURA 8. Tratamentos do ensaio exploratório 1 – etapa 1.

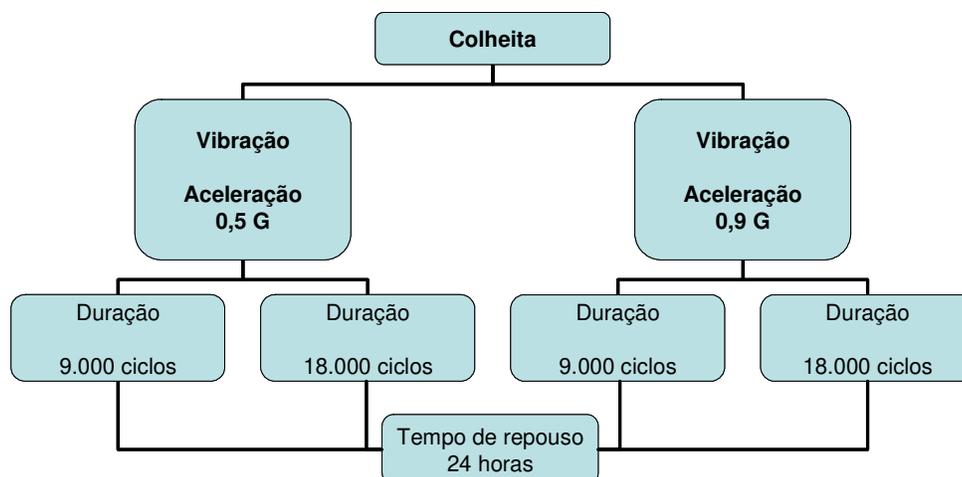


FIGURA 9. Tratamentos do ensaio exploratório 1 – etapa 2.

3.4.2. Ensaio exploratório 2

O segundo ensaio exploratório teve por objetivo adequar a metodologia proposta (adaptada de Flurkey, 1978 e Cano, 1997) para a determinação da atividade de polifenoloxidase.

Procedimento

Os pêssegos utilizados foram obtidos no varejo, sendo extraídos corpos-de-prova de aproximadamente 4 g de cada um dos três frutos utilizados para a avaliação; estes corpos-de-prova foram macerados, juntamente com 10 mL de água deionizada, em um extrator de vidro. Após a extração, as soluções foram centrifugadas a 5.000 x g durante 2 minutos. Do sobrenadante de cada amostra, foram pipetados 200 µL em um tubo de ensaio, ao qual foram adicionados 3 mL da solução tampão fosfato de sódio 0,05 M (pH 6,0) e 100 µL de 4-metilcatecol 2 mM. Após 25 minutos, determinou-se a absorbância de cada amostra em um espectrofotômetro, a 420 nm. As leituras foram efetuadas comparativamente ao “branco da solução”, composto por 3 mL da solução tampão, 100 µL de catecol e 200 µL de água deionizada, em substituição ao extrato da amostra.

O valor da atividade de PPO foi calculado utilizando-se a seguinte equação:

$$A_{PFO} = \frac{Abs \cdot \epsilon_{PFO} \cdot d}{P \cdot t \cdot a} \quad (1)$$

Onde:

A_{PPO} = atividade de polifenoloxidase [μmol de catecol degradado $\cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}$ massa fresca $^{-1}$];

Abs = absorvância

ϵ_{PPO} = absortividade molar da polifenoloxidase;

d = diluição (volume de solução tampão) [mL];

P = peso da amostra [g];

t = tempo de reação [min];

a = alíquota (volume retirado do sobrenadante para a reação) [mL];

3.4.3. Ensaio exploratório 3

O terceiro ensaio exploratório teve por objetivo observar a variação da atividade de polifenoloxidase em pêssegos submetidos a solicitações vibracionais.

Procedimento

Foram utilizados quatro pêssegos, obtidos no varejo, sendo dois utilizados como controle e outros dois submetidos ao ensaio de vibração randômica, baseado no procedimento D 4728 da ASTM (ASTM INTERNATIONAL, 2006), com duração de 1 hora, 0,52 G de aceleração RMS, utilizando espectro de transporte rodoviário (Figura 10) sugerido pela ASTM D 4169 (ASTM INTERNATIONAL, 2009). Os pêssegos foram colocados diretamente sobre a mesa de vibração e a região de contato destes com a mesa foi a mesma durante todo o ensaio. Após a vibração, os pêssegos com e sem vibração foram armazenados em refrigerador pelo período de 40 horas.

Após o referido tempo de repouso, fez-se a determinação da atividade de polifenoloxidase nos seguintes corpos-de-prova:

- V1 – retirado do pêssigo 1 submetido à vibração, na região de contato com a mesa de vibração;
- SV1 – retirado do pêssigo 1 submetido à vibração, na região sem dano (diametralmente oposta à região de contato com a mesa de vibração);
- V2 – retirado do pêssigo 2 submetido à vibração, na região de contato com a mesa de vibração;
- SV2 – retirado do pêssigo 2 submetido à vibração, na região sem dano;
- T1 – pêssigo testemunha 1;
- T2 – pêssigo testemunha 2;

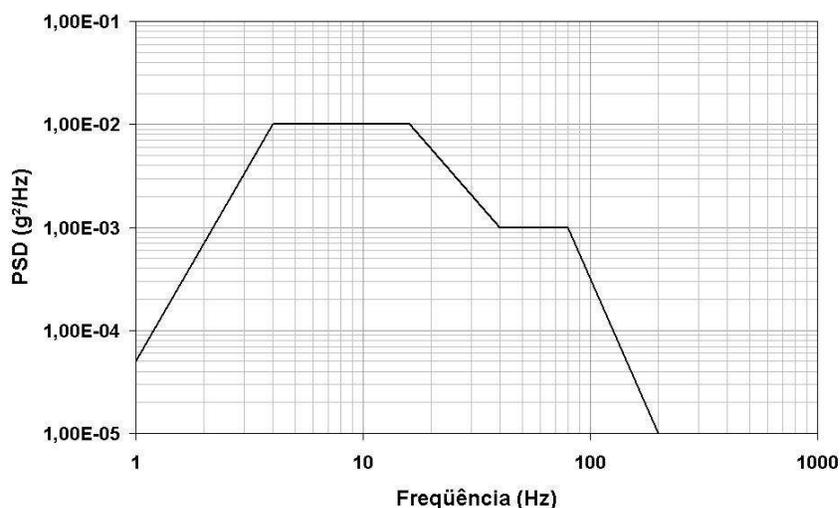


FIGURA 10. Espectro de vibração randômica – ASTM D4728 (2009).

Em cada extração, foram obtidos corpos-de-prova de 1 g, os quais foram cortados em pedaços de aproximadamente 2 x 2 mm; os pedaços de cada corpo-de-prova foram macerados, juntamente com 5 mL de água deionizada, utilizando-se o extrator de vidro, pelo período de 1 minuto.

Após a extração, as seis amostras foram centrifugadas a 5.000 x g durante 5 minutos. Do sobrenadante de cada amostra, foram pipetados 200 µL em um tubo de ensaio, ao qual foram adicionados 3 mL da solução tampão fosfato de sódio 0,05 M (pH 6,0) e 100 µL de 4-

metil-catecol 2 mM; tal procedimento foi realizado em duplicata. Após 20 minutos em estufa a 30°C, determinou-se a absorvância de cada amostra em um espectrofotômetro, a 420 nm.

3.4.4. Ensaio exploratório 4

O quarto ensaio exploratório teve por objetivo avaliar a concentração de sólidos solúveis (CSS), a variação da condutividade elétrica relativa (CER) e da atividade de PPO em pêssegos submetidos a solicitações vibracionais.

Procedimento

Para este ensaio foram obtidos 30 pêssegos ‘Douradão’ diretamente do produtor (Doni Frutas, Jarinu, SP; setembro de 2009), colhidos em seu estágio de maturação ideal para comercialização, conforme critérios definidos pelo produtor. Os pêssegos foram armazenados em câmara climatizada (4°C) e, sete dias após a colheita, foram submetidos ao ensaio de vibração senoidal, com duração de 2 horas, 0,9 G de aceleração em 5 Hz de frequência. Os pêssegos foram colocados diretamente sobre a mesa de vibração e a região de contato destes com a mesa foi a mesma durante todo o ensaio. Após a vibração, os pêssegos foram mantidos no laboratório (tempo de repouso em temperatura nominal de 23 °C). As determinações foram feitas em três etapas, com três tempos de repouso diferentes. Os tratamentos e determinações são mostrados no esquema da Figura 11.

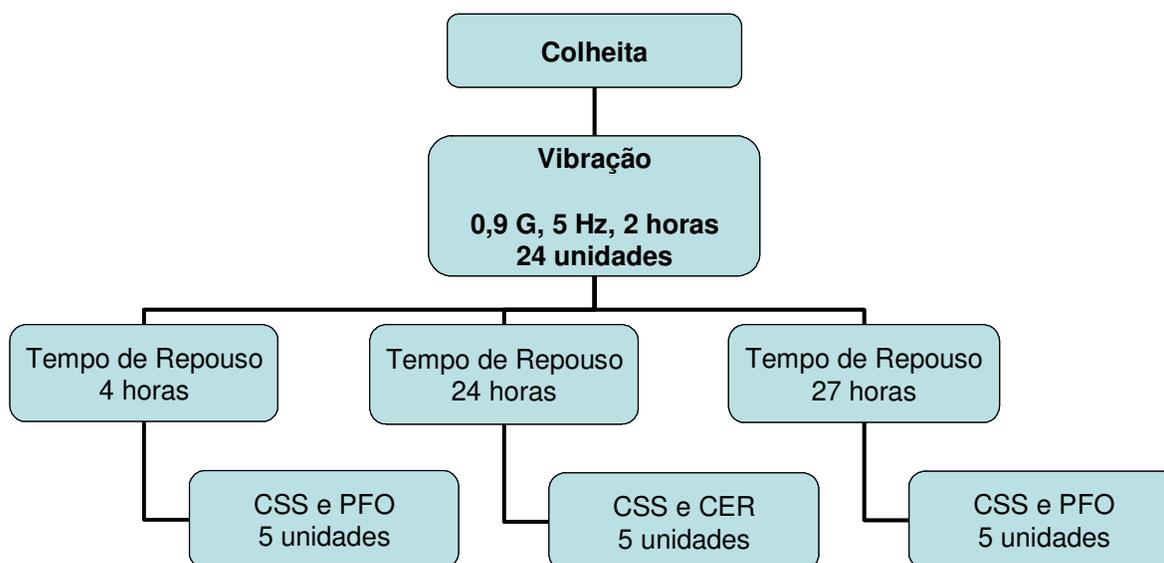


FIGURA 11. Tratamentos e determinações – ensaio exploratório 4.

Na primeira etapa de avaliação, foram feitas a determinação da atividade de polifenoloxidase, realizada conforme a metodologia descrita no ensaio exploratório 3, e a determinação de sólidos solúveis em cinco das unidades ensaiadas, com tempo de repouso de 4 horas. Na determinação da atividade de PPO fez-se uma modificação no procedimento, incluindo-se a interrupção da reação pela adição de 0,4 mL de ácido clorídrico 6M após 30 minutos.

Na segunda etapa de avaliação, fez-se a determinação de sólidos solúveis e a condutividade elétrica relativa (CER) nos frutos com 24 horas de tempo de repouso. Na determinação da CER, conforme procedimento descrito por Feng et al. (2005), os corpos-de-prova, extraídos das regiões com e sem contato dos frutos com a mesa de vibração, da região hemisférica dos pêssegos, são lavados com água bi-destilada deionizada e levemente enxugados com papel-filtro antes da análise. Cada corpo-de-prova é imerso em béquer de 250 mL, contendo 100 mL de água bi-destilada deionizada, pelo período de 1 hora. Após a medição da condutividade parcial (ECp), o béquer é imerso em um banho a 100°C por 5 minutos e posteriormente resfriado, em banho de gelo, até atingir a temperatura ambiente, quando então será novamente efetuada a medição de condutividade (condutividade total, ECt). A medição de cada tratamento é efetuada 3 vezes. O valor percentual de condutividade elétrica relativa (CER) será calculado dividindo-se o valor da primeira medição (ECp) pelo valor da segunda medição (ECt), após o banho a 100°C.

Na terceira etapa de avaliação, foram feitas a determinação da atividade de polifenoloxidase, também realizada conforme a metodologia descrita no ensaio exploratório 3, e a determinação de sólidos solúveis em cinco das unidades ensaiadas, porém com tempo de repouso de 27 horas.

3.4.5. Ensaio exploratório 5

O quinto ensaio exploratório também teve por objetivo determinar a concentração de sólidos solúveis (CSS), a variação da condutividade elétrica relativa (CER) e a atividade de polifenoloxidase em pêssegos submetidos a impactos.

Procedimento

Os ensaios foram realizados 24 e 48 horas após a colheita, com impactos de 1 e 2 m/s, respectivamente, sendo um único impacto por fruto, cinco frutos por condição. Os tratamentos e determinações são mostrados no esquema da Figura 12. Na primeira etapa de avaliação, fez-se a determinação da atividade de polifenoloxidase, realizada conforme a metodologia descrita no ensaio exploratório 4, e a determinação de sólidos solúveis em cinco das unidades ensaiadas (impacto de 1 m/s), com tempo de repouso de 24 horas.

Na segunda etapa de avaliação, fez-se a determinação de sólidos solúveis e a condutividade elétrica relativa (CER) nos frutos com 30 horas de tempo de repouso. As metodologias utilizadas foram as mesmas descritas no ensaio exploratório 4.

Na terceira etapa de avaliação, também foram feitas as determinações de sólidos solúveis e da condutividade elétrica relativa (CER), porém em frutos submetidos a impactos de 2 m/s e com 20 horas de tempo de repouso. As metodologias utilizadas foram as mesmas descritas no ensaio exploratório 4.

Na quarta etapa de avaliação, foram feitas a determinação da atividade de polifenoloxidase e a determinação de sólidos solúveis em cinco das unidades, como na avaliação 1, porém em unidades impactadas a 2 m/s, com tempo de repouso de 24 horas.

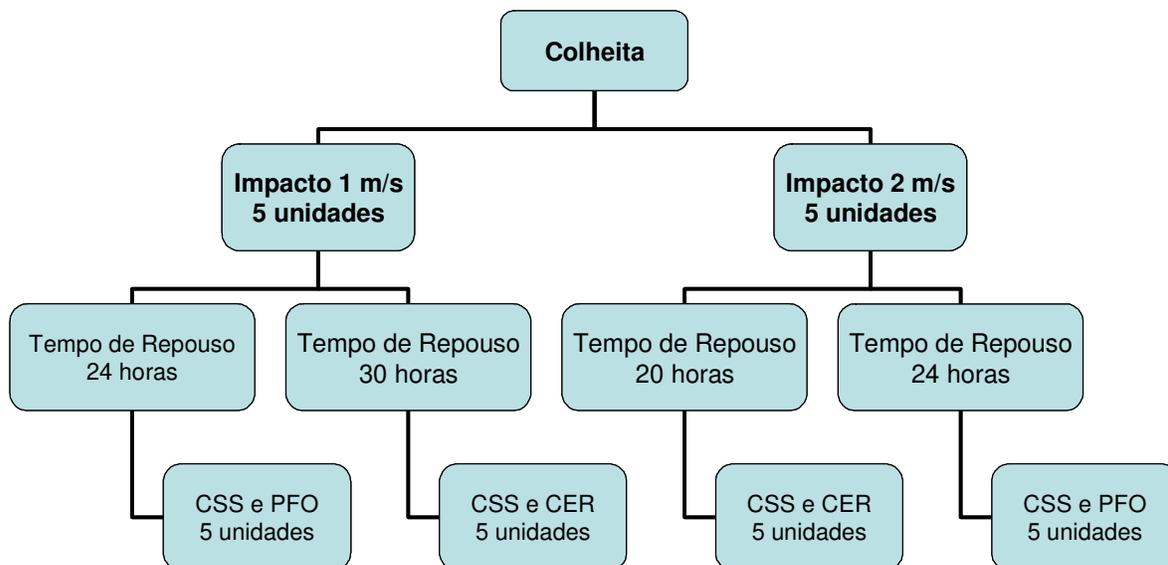


FIGURA 12. Tratamentos e determinações – ensaio exploratório 5.

3.5. Ensaios finais

Após a definição da metodologia final, fez-se uma nova coleta de amostras, também do produtor Doni Frutas (Jarinu, SP; outubro de 2009), colhidos em seu estágio de maturação ideal para comercialização, conforme critérios definidos pelo produtor. Devido ao elevado número de ensaios e análises, e à proximidade do final da colheita do pêsego, decidiu-se pela execução dos ensaios (vibração e impacto), extração e congelamento dos corpos-de-prova, para posterior realização das análises de polifenoloxidase. Com isso, foi possível também minimizar as variações oriundas da colheita, visto que todas as unidades utilizadas para os ensaios finais foram colhidas num único dia.

O delineamento experimental é apresentado no esquema da Figura 13. A execução dos ensaios mecânicos foi efetuada em quatro datas diferentes, definidas como “tempo pós-colheita” (TPC), com 3, 7, 11 e 17 dias após a data da colheita (TPC_3, TPC_7, TPC_11 e TPC_17, respectivamente); durante este período, os pêsegos foram armazenado em câmara a 4°C. Para cada tipo de ensaio mecânico foram definidos dois níveis de severidade: para vibração, foram executados ensaios com 1 e 2 horas de duração (vb_1h e vb_2h, respectivamente); para impacto, foram executados ensaios com velocidades de impacto de 0,7 e 1,4 m/s (imp_70 e imp_140, respectivamente). Outro fator definido no planejamento, com base nos ensaios exploratórios, foi o tempo de repouso: os corpos-de-prova (com e sem danos) foram extraídos dos pêsegos 1, 24 e 72 horas após os ensaios mecânicos (TR_1, TR_24 e TR_72, respectivamente); durante o tempo de repouso, os pêsegos foram mantidos à temperatura de 23°C. Desta forma, considerando-se o tempo pós-coheita (4 épocas), 2 tipos de solicitação mecânica (vibração e impacto) em 2 níveis diferentes para cada, 3 tempos de repouso e 2 posições por fruta (região com e sem dano) foram definidos 96 tratamentos; sendo que, para cada tratamento, foram utilizados 4 pêsegos.

Para os ensaios finais, definiu-se como parâmetro de avaliação da resposta dos frutos aos efeitos mecânicos apenas a atividade de polifenoloxidase, visto que não seria possível a análise da condutividade elétrica relativa nos corpos-de-prova congelados. A análise de condutividade deve ser realizada no tecido fresco; o congelamento dos corpos-de-prova inviabiliza tal análise, devido ao rompimento celular que ocorre no momento do

descongelamento, o que resultaria em resultados falsos, pois identificaríamos um aumento da condutividade elétrica não decorrente das solicitações por vibração e impacto.

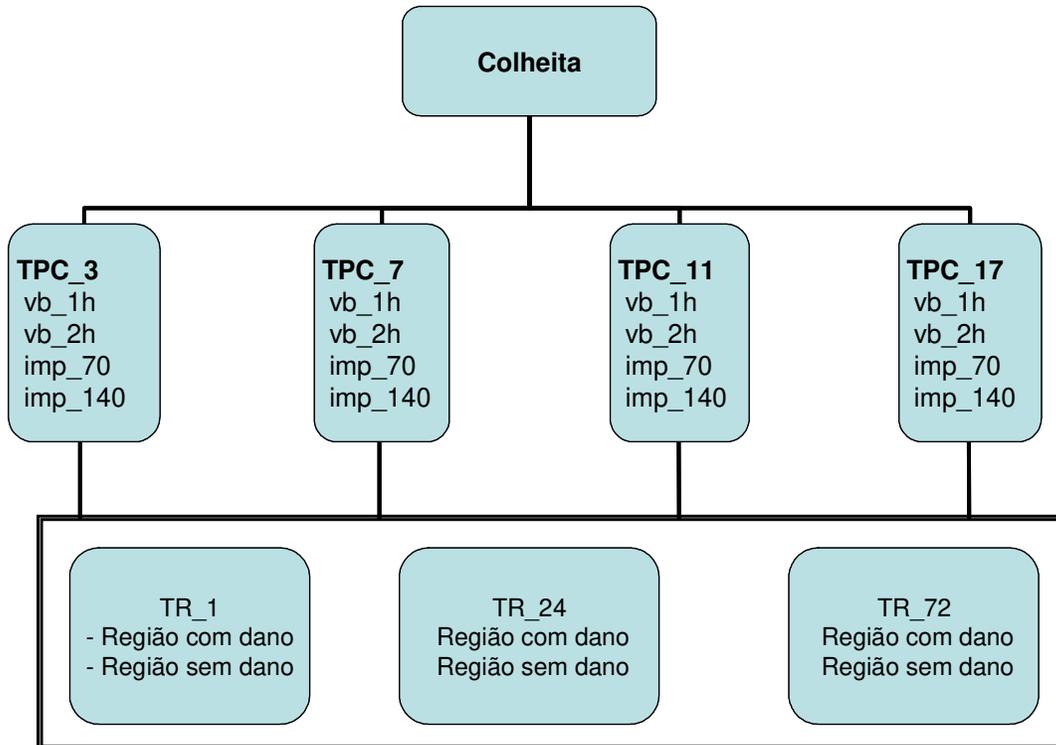


FIGURA 13. Esquema do delineamento experimental – ensaios finais.

3.5.1. Ensaios mecânicos

Vibração

O ensaio de vibração foi realizado em frequência fixa de 5 Hz, 0,9 G de aceleração, com durações de 1 e 2 horas (18.000 e 36.000 ciclos, respectivamente). Os pêssegos foram colocados diretamente sobre a mesa de vibração (Figura 14), sendo a movimentação lateral destes limitada por uma cinta de tecido. Foram submetidos à vibração 24 unidades por ensaio, sendo 12 retiradas após 1 hora de ensaio e as outras 12, após 2 horas. Para cada condição estabelecida foram utilizadas 4 unidades.



FIGURA 14. Ilustração da disposição dos pêssegos sobre a mesa de vibração.

Impacto

No ensaio de impacto, cada pêssego foi posicionado sobre a base de apoio do equipamento, junto ao contra-apoio (*back-stop*), como já exemplificado na Figura 4, e submetido a um único impacto, com velocidade de 0,7 ou 1,4 m/s. Para cada condição estabelecida foram utilizadas 4 unidades.

3.5.2. Obtenção dos corpos-de-prova

De cada pêssego submetido aos ensaios, foram retirados dois corpos-de-prova, em formato de calota, com aproximadamente 30 mm de diâmetro e 3 mm de espessura; nas unidades submetidas ao ensaio de vibração, os corpos-de-prova foram retirados da região de contato com a mesa de vibração (região “com dano”) e da região diametralmente oposta à anterior (região “sem dano”); no caso das unidades submetidas ao ensaio de impacto, os corpos-de-prova foram retirados da região impactada (“com dano”) e da região 90° adjacente à anterior (“sem dano”). A Figura 15 apresenta as posições de retirada dos corpos-de-prova; após a retirada, os corpos-de-prova foram imediatamente imersos em nitrogênio líquido e armazenados em *freezer* (-20 a -24 °C) para a realização das análises de PPO (Figura 16).

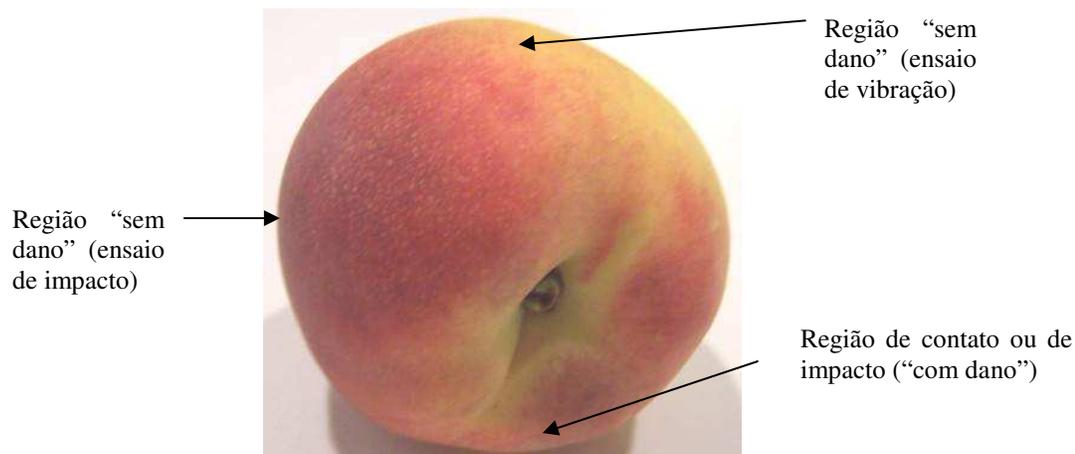


FIGURA 15. Regiões do pêssgo para a extração dos corpos-de-prova.



FIGURA 16. Aparência dos corpos-de-prova congelados, antes da maceração.

3.5.3. Determinação da atividade de polifenoloxidase

Cada corpo-de-prova, ainda congelado, foi macerado em nitrogênio líquido até a obtenção de um pó homogêneo (Figura 17). Do material macerado, foram retirados aproximadamente 2 g, adicionados a um tubo de centrífuga contendo 5 mL de solução tampão fosfato 0,05 M (pH 6,0), sendo a mistura mantida em banho de gelo. O extrato foi centrifugado a 10.000 x g por 30 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi filtrado em tecido de organza; posteriormente, foram retirados 0,5 mL do sobrenadante, aos quais foram adicionados 3 mL de solução tampão fosfato 0,05 M (pH 6,0) e 0,1 mL de catecol 2 mM. A

mistura foi colocada em banho-maria a 30°C por 30 minutos, sendo a reação interrompida colocando-se os tubos em água fervente por 5 minutos. Os tubos foram colocados em banho de gelo até atingirem a temperatura ambiente para a leitura da absorbância, feita em espectrofotômetro, a 420 nm. A atividade enzimática foi expressa em $\Delta A_{420} \text{ min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{PF}$ (adaptado de Cano et al., 1997).

O valor da atividade de PPO foi calculado utilizando-se a equação 1 (item 3.4.2).



FIGURA 17. Ilustração de corpos-de-prova macerados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Ensaio exploratório 1

Nos ensaios da etapa 1, observou-se que nenhuma das amostras apresentou danos mecânicos visíveis. Assim, para a etapa 2, decidiu-se pela execução dos ensaios com os níveis mais altos de aceleração (0,5 e 0,9 G) e com maior duração (9.000 e 18.000 ciclos, ou 15 e 30 minutos de ensaio, respectivamente). Porém, os resultados da etapa 2 foram similares à etapa anterior; apenas as amostras submetidas ao ensaio com 0,9 G, 18.000 ciclos apresentaram evidência de dano na região externa (Figura 18). As Figuras 19 a 21 ilustram o efeito da vibração em alguns dos pêssegos submetidos à vibração.



FIGURA 18. Marca resultante do contato dos pêssegos com a mesa de vibração – etapa 2, 0,9 G, 18.000 ciclos.

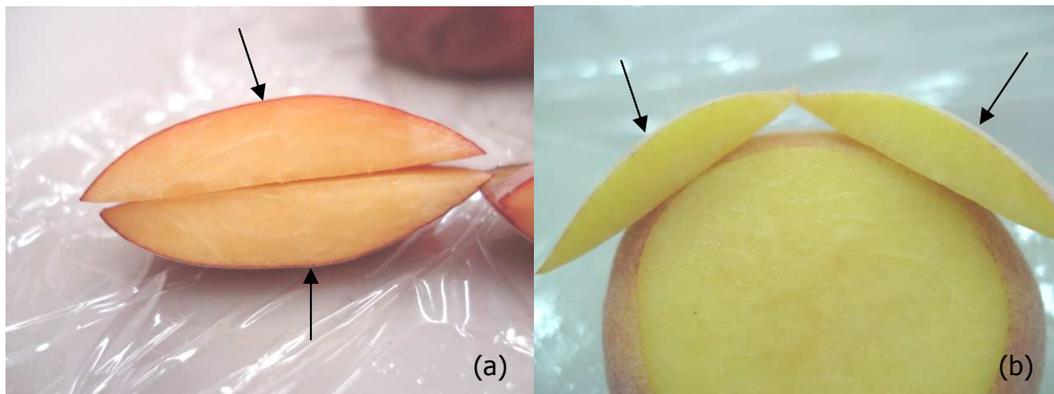


FIGURA 19. Aparência da polpa nas regiões de contato (indicadas pelas setas) após vibração de (a) 600 ciclos a 0,1 G e (b) 3.000 ciclos a 0,9 G, ambas com repouso de 1 hora.

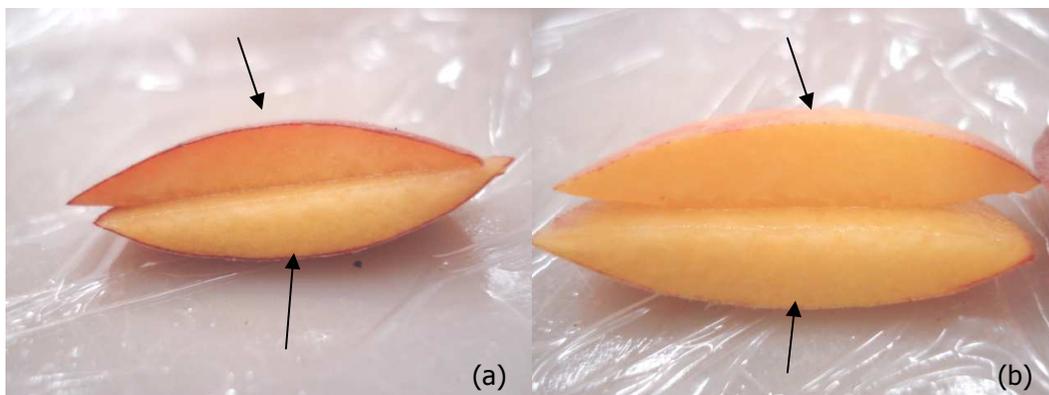


FIGURA 20. Aparência da polpa nas regiões de contato (indicadas pelas setas) após vibração de (a) 3.000 ciclos a 0,1 G e (b) 3.000 ciclos a 0,9 G, ambas com repouso de 4 horas.

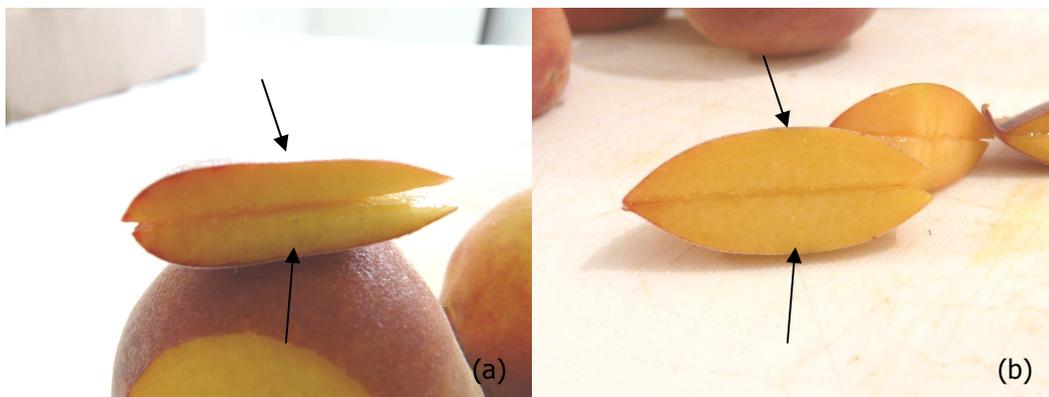


FIGURA 21. Aparência da polpa nas regiões de contato (indicadas pelas setas) após vibração de (a) 9.000 ciclos a 0,5 G e (b) 18.000 ciclos a 0,9 G, ambas com repouso de 24 horas.

4.2. Ensaio exploratório 2

Os resultados apresentados na Tabela 1 apresentam as determinações de atividade de PPO. A confirmação de tal atividade foi obtida pelo acompanhamento da reação em uma das amostras, cujo resultado é apresentado no gráfico da Figura 22.

TABELA 1. Atividade de PPO em pêssegos de mercado – ensaio exploratório 2.

Amostra	Peso (g)	Absorbância a 420 nm	Atividade de PPO*
1	4,00	0,155	77,50
2	4,41	0,115	52,08
3	3,69	0,110	59,36

* expressa em $[\mu\text{mol de catecol degradado} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g massa fresca}^{-1}]$, considerando-se o fator de absorvidade molar da PPO como sendo 1.000.

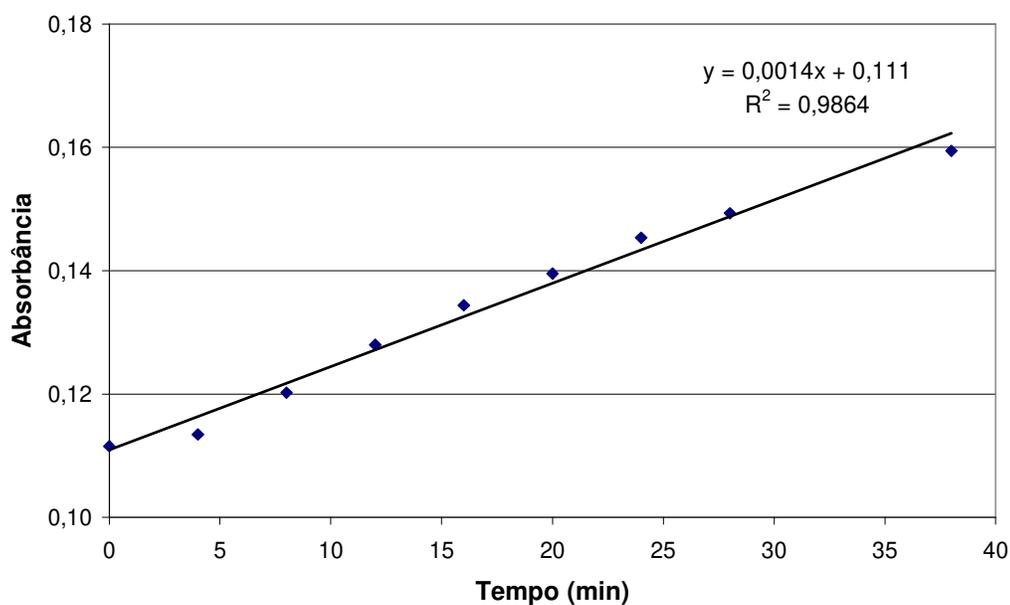


FIGURA 22. Variação da atividade da PPO em função do tempo de reação.

Com o procedimento adotado foi possível detectar a atividade de PPO, fato este confirmado pelo acompanhamento da reação em função do tempo. Observou-se também que a

execução do ensaio poderia ser simplificada e melhor controlada com a interrupção da reação da PPO, facilitando o processo de leitura no espectrofotômetro; com tal interrupção, é possível o preparo das amostras para leitura sem a necessidade de intervalos determinados para isso, tornando independentes as etapas de reação e de leitura.

4.3. Ensaio exploratório 3

Os resultados são apresentados na Tabela 2. Os valores de variação referem-se à relação entre as atividades de PPO nos corpos-de-prova com dano (V) e sem dano (SV), como mostra a equação abaixo:

$$\text{Variação} = \left(\frac{V - SV}{SV} \right) \cdot 100 \quad (2)$$

TABELA 2. Atividade de PPO em pêssegos de mercado – ensaio exploratório 3.

Tratamento	Peso (g)	Replicata	Absorbância a 420 nm	Atividade de PPO*	Média por tratamento	Variação (%)
V1	1,1041	1	0,117	131,95	139,33	+12,4%
		2	0,130	146,71		
SV1	1,0005	1	0,101	125,85	123,98	
		2	0,098	122,10		
V2	1,0836	1	0,100	115,48	114,31	+14,9%
		2	0,098	113,13		
SV2	0,9789	1	0,075	96,23	99,44	
		2	0,080	102,65		
T1	1,1402	1	0,116	127,18	131,51	n.a.
		2	0,124	135,83		
T2	1,1333	1	0,083	91,22	91,55	
		2	0,083	91,88		

Legenda: V – região em contato com a mesa de vibração; SV – região sem contato; C – controle;
 * expressa em $[\mu\text{mol de catecol degradado} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g massa fresca}^{-1}]$, considerando-se o fator de absorvidade molar da PPO como sendo 1.000.
 n.a. – não se aplica.

Embora a proposta inicial fosse trabalhar com vibrações em frequência fixa (senoidal), para este ensaio foi utilizado o ensaio de vibração randômica devido à

disponibilidade de uso do equipamento. Apesar do tipo de vibração ser diferente, foi possível observar diferenças entre os corpos-de-prova das regiões com e sem contato com a mesa de vibração, na ordem de 12 a 15%. Porém, foi possível observar também a variabilidade da atividade de PPO entre os frutos, visto que uma das unidades de controle (testemunha) apresentou atividade similar às unidades danificadas. Assim, faz-se necessário que a avaliação da atividade seja comparativa entre regiões com e sem solicitação por solicitações mecânicas no fruto.

4.4. Ensaio exploratório 4

Avaliação 1

A Tabela 3 apresenta os resultados da determinação de sólidos solúveis (em °Brix a 20 °C) e a Tabela 4, os resultados de atividade da PPO; nesta última, os valores de variação foram calculados conforme a equação 2 (item 4.3), apresentando a atividade de PPO na região com dano (em contato com a mesa de vibração) em comparação à atividade de PPO determinada na região sem dano.

TABELA 3. Concentração de sólidos solúveis nos cinco pêssegos – ensaio exploratório 4, tempo de repouso de 4 horas.

Amostra	Leituras		Concentração média de sólidos solúveis (°Brix)
1	9,9	10,1	10,0
2	10,5	9,5	10,0
3	11,5	11,7	11,6
4	9,7	9,9	9,8
5	12,0	11,7	11,9
	Média		10,7
	C.V. (%)		9,4

TABELA 4. Atividade de PPO nos 5 pêssegos submetidos ao ensaio de vibração, nas regiões com e sem contato com a mesa de vibração – ensaio explor. 4, tempo de repouso de 4 h.

Amostra	Peso dos corpos-de-prova (g)	Absorbância @ 420 nm	Atividade PPO*	Varição (%)
V1	1,0693	0,062	72,17	+4,7
SV1	1,0662	0,059	68,90	
V2	0,9366	0,042	56,16	-13,6
SV2	0,8460	0,044	64,98	
V3	1,5469	0,068	54,63	+4,0
SV3	0,8648	0,036	52,53	
V4	1,4737	0,048	40,82	-11,8
SV4	1,3670	0,051	46,26	
V5	1,1609	0,042	45,62	-42,0
SV5	1,6423	0,103	78,59	

Legenda: V – região em contato com a mesa de vibração; SV – região sem contato.

* expressa em [$\mu\text{mol de catecol degradado} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g massa fresca}^{-1}$], considerando-se o fator de absortividade molar da PPO como sendo 1.000.

Avaliação 2

Os resultados são apresentados na Tabela 5. A variação apresentada se refere à razão entre as condutividades das regiões com e sem contato com a mesa de vibração.

TABELA 5. Condutividade elétrica relativa (CER) e concentração de sólidos solúveis – ensaio exploratório 4.

Amostra	CER ¹	Variação (%)	Concentração ² de sólidos solúveis (°Brix)
V1	$4,86 \cdot 10^{-4}$	+4,9	11,1
SV1	$4,63 \cdot 10^{-4}$		
V2	$4,08 \cdot 10^{-4}$	+19,0	n.d.
SV2	$3,43 \cdot 10^{-4}$		
V3	$4,69 \cdot 10^{-4}$	+24,5	10,8
SV3	$3,77 \cdot 10^{-4}$		
V4	$5,08 \cdot 10^{-4}$	+12,0	10,5
SV4	$4,54 \cdot 10^{-4}$		
V5	$4,69 \cdot 10^{-4}$	+20,8	9,5
SV5	$3,88 \cdot 10^{-4}$		
Média		+16,2	10,5
C.V. (%)		6,7	6,6

1 – valores médios referentes a 3 leituras da CE parcial e 3 leituras da CE total, em S/m;

2 – valores médios referentes a 2 leituras;

n.d. – não determinado.

Avaliação 3

A Tabela 6 apresenta os resultados da determinação de sólidos solúveis (em °Brix a 20 °C) e a Tabela 7, os resultados de atividade da PPO.

TABELA 6. Concentração de sólidos solúveis nos cinco pêssegos – ensaio exploratório 4, tempo de repouso de 27 horas.

Amostra	Leituras		Concentração média de sólidos solúveis (°Brix)
1	10,6	9,2	9,9
2	11,7	11,7	11,7
3	11,3	11,2	11,3
4	9,0	7,8	8,4
5	12,7	11,5	12,1
	Média		10,7
	C.V. (%)		14,2

TABELA 7. Atividade de PPO nos cinco pêssegos submetidos ao ensaio de vibração, nas regiões com e sem contato com a mesa de vibração – ensaio exploratório 4, tempo de repouso de 27 horas.

Amostra	Peso dos corpos-de-prova (g)	Absorbância @ 420 nm	Atividade PPO*	Variação (%)
V1	0,4575	0,032	86,42	-1,4
SV1	0,8013	0,056	87,64	
V2	1,5487	0,141	113,95	+8,7
SV2	1,3044	0,109	104,83	
V3	1,2038	0,150	156,10	+85,6
SV3	1,1311	0,076	84,10	
V4	0,9299	0,066	88,75	+88,6
SV4	1,2626	0,048	47,05	
V5	1,1194	0,078	87,37	+63,9
SV5	1,4684	0,063	53,31	

Legenda: V – região em contato com a mesa de vibração; SV – região sem contato.

* expressa em $[\mu\text{mol de catecol degradado} \cdot (\text{min})^{-1} \cdot (\text{g massa fresca})^{-1}]$, considerando-se o fator de absorvidade molar da PPO como sendo 1.000.

Nas determinações da concentração de sólidos solúveis, foram obtidos valores médios de 10,7, 10,5 e 10,7 °Brix na primeira, segunda e terceira determinações,

respecitivamente, com coeficientes de variação de 9,4, 6,6 e 14,2%, o que pode ser considerado satisfatório quanto a variabilidade de tal parâmetro em frutas.

Nos valores da atividade de PPO verifica-se que, na primeira determinação, a variação da relação de atividade de PPO entre regiões com e sem contato na vibração é alta (de -42,0 a +4,7%), sendo duas unidades com atividade de PPO maior na região de contato e três com atividade maior na região sem contato. Porém, na terceira avaliação, cuja diferença em relação à primeira foi o tempo de repouso, apesar de também ocorrer uma elevada variação na relação entre regiões com e sem contato na vibração (-1,4 a +88,6%), observa-se que a atividade de PPO nas regiões de contato é maior. Isso pode indicar a importância e real necessidade do tempo de repouso para a expressão da PPO após as solicitações mecânicas.

Quanto à condutividade elétrica relativa, observa-se um aumento médio de +16,2% comparando-se as amostras com e sem contato com a mesa de vibração, com coeficiente de variação de 6,7%, indicando a possibilidade de se utilizar tal parâmetro na avaliação do nível de danos em função das solicitações mecânicas aplicados aos frutos.

4.5. Ensaio exploratório 5

Avaliação 1

A Tabela 8 apresenta os resultados da determinação de sólidos solúveis (em °Brix a 20 °C) e a Tabela 9, os resultados de atividade da PPO; nesta última, a variação apresentada foi calculada conforme a equação 2 (item 4.3).

TABELA 8. Concentração de sólidos solúveis nos cinco pêssegos – ensaio exploratório 5, primeira avaliação (impacto de 1 m/s, TR 24 h).

Amostra	Leituras		Concentração média de sólidos solúveis (°Brix)
1	8,9	9,9	9,4
2	10,1	8,8	9,5
3	7,9	7,5	7,7
4	12,4	11,5	12,0
5	8,8	9,6	9,2
	Média		9,6
	C.V. (%)		16,2

TABELA 9. Atividade de PPO nos cinco pêssegos submetidos ao ensaio de impacto (1 m/s), nas regiões com e sem impacto – ensaio exploratório 5, quarta avaliação, tempo de repouso de 24 horas.

Amostra	Peso dos corpos-de-prova (g)	Absorbância @ 420 nm	Atividade PPO*	Varição (%)
I1	1,2398	0,012	11,63	-32,5
SI1	1,1345	0,016	17,22	
I2	1,5781	0,015	12,10	-47,2
SI2	0,8188	0,015	22,92	
I3	1,0018	0,014	18,01	+21,7
SI3	1,4615	0,017	14,80	
I4	0,9631	0,036	46,40	+2,6
SI4	1,4802	0,054	45,21	
I5	0,9534	0,014	18,39	-7,2
SI5	1,2112	0,019	19,82	

Legenda: I – região impactada; SI – região sem impacto.

* expressa em $[\mu\text{mol de catecol degradado} \cdot (\text{min})^{-1} \cdot (\text{g massa fresca})^{-1}]$, considerando-se o fator de absortividade molar da PPO como sendo 1.000.

Avaliação 2

A Tabela 10 apresenta os resultados da determinação de sólidos solúveis (em °Brix a 20 °C) e de condutividade elétrica relativa nas amostras submetidas a impacto de 1 m/s, com tempo de repouso de 30 horas.

TABELA 10. Condutividade elétrica relativa (CER) e concentração de sólidos solúveis – ensaio exploratório 5, segunda avaliação (1 m/s, TR 30 h).

Amostra	CER ¹	Variação (%)	Concentração ² de sólidos solúveis (°Brix)
I1	$5,93 \cdot 10^{-4}$	+8,3	9,8
SI1	$5,48 \cdot 10^{-4}$		
I2	$5,90 \cdot 10^{-4}$	+21,9	9,8
SI2	$4,84 \cdot 10^{-4}$		
I3	$4,89 \cdot 10^{-4}$	+5,4	10,4
SI3	$4,64 \cdot 10^{-4}$		
I4	$5,86 \cdot 10^{-4}$	+36,0	9,4
SI4	$4,31 \cdot 10^{-4}$		
I5	$3,97 \cdot 10^{-4}$	-16,2	n.d.
SI5	$4,74 \cdot 10^{-4}$		
Média		+11,1	9,8
C.V. (%)		17,6	4,2

Legenda: I – região impactada; SI – região sem impacto.

1 – valores médios referentes a 3 leituras da CE parcial e 3 leituras da CE total, em S/m;

2 – valores médios referentes a 2 leituras;

n.d. – não determinado.

Avaliação 3

A Tabela 11 apresenta os resultados da determinação de sólidos solúveis (em °Brix a 20 °C) e de condutividade elétrica relativa nas amostras submetidas a impacto de 2 m/s, com tempo de repouso de 20 horas.

TABELA 11. Condutividade elétrica relativa (CER) e concentração de sólidos solúveis – ensaio exploratório 5, segunda avaliação (2 m/s, TR 20 h).

Amostra	CER ¹	Varição (%)	Concentração ² de sólidos solúveis (°Brix)
I1	$4,62 \cdot 10^{-4}$	+54,5	10,0
SI1	$2,99 \cdot 10^{-4}$		
I2	$5,34 \cdot 10^{-4}$	+11,0	11,0
SI2	$4,81 \cdot 10^{-4}$		
I3	$3,52 \cdot 10^{-4}$	-9,2	10,1
SI3	$3,87 \cdot 10^{-4}$		
I4	$4,08 \cdot 10^{-4}$	+61,2	10,7
SI4	$2,53 \cdot 10^{-4}$		
I5	$4,86 \cdot 10^{-4}$	+23,7	12,4
SI5	$3,93 \cdot 10^{-4}$		
Média		+28,2	10,8
C.V. (%)		23,1	8,9

Legenda: I – região impactada; SI – região sem impacto.

1 – valores médios referentes a 3 leituras da CE parcial e 3 leituras da CE total, em S/m;

2 – valores médios referentes a 2 leituras;

Avaliação 4

A Tabela 12 apresenta os resultados da determinação de sólidos solúveis (em °Brix a 20 °C) e a Tabela 13, os resultados de atividade da PPO, para as amostras submetidas ao impacto de 2 m/s e tempo de repouso de 24 horas.

TABELA 12. Concentração de sólidos solúveis nos cinco pêssegos – ensaio exploratório 5, quarta avaliação (impacto de 2 m/s, TR 24 h).

Amostra	Leituras		Concentração média de sólidos solúveis (°Brix)
1	9,5	9,3	9,4
2	8,1	7,7	7,9
3	9,4	9,5	9,5
4	9,9	9,5	9,7
5	8,6	9,0	8,8
Média			9,1
C.V. (%)			8,0

TABELA 13. Atividade de PPO nos cinco pêssegos submetidos ao ensaio de impacto (2 m/s), nas regiões com e sem impacto – ensaio exploratório 5, quarta avaliação, tempo de repouso de 24 horas.

Amostra	Peso dos corpos-de-prova (g)	Absorbância @ 420 nm	Atividade PPO*	Varição (%)
I1	0,9398	0,015	19,51	-24,2
SI1	0,8835	0,018	25,73	
I2	0,5823	0,028	59,74	+202,2
SI2	0,9506	0,015	19,77	
I3	0,8538	0,018	27,01	+24,2
SI3	0,7969	0,014	21,75	
I4	0,9767	0,033	42,75	+60,5
SI4	1,0110	0,022	26,63	
I5	0,6530	0,022	42,29	+58,6
SI5	0,8974	0,019	26,66	

Legenda: I – região impactada; SI – região sem impacto.

* expressa em $[\mu\text{mol de catecol degradado} \cdot (\text{min})^{-1} \cdot (\text{g massa fresca})^{-1}]$, considerando-se o fator de absorvidade molar da PPO como sendo 1.000.

Nas determinações da concentração de sólidos solúveis, foram obtidos valores médios de 9,6, 9,8, 10,8 e 9,1 °Brix na primeira, segunda e terceira avaliações, respectivamente, com coeficientes de variação de 16,2, 4,2, 8,9 e 8,0%, o que pode ser considerado satisfatório quanto a variabilidade de tal parâmetro em frutas. Em média, os frutos colhidos para este ensaio apresentaram concentração de sólidos solúveis aproximadamente 10% menor que os frutos do ensaio exploratório 4; isso pode ter ocorrido devido à colheita, feita com os frutos menos maduros que os da coleta anterior, ou devido às chuvas do período, que foram mais intensas do que o normalmente previsto.

Na atividade de PPO verifica-se que, na primeira avaliação, da mesma maneira que o ensaio exploratório 4 (vibração), a variação da relação de atividade de PPO entre regiões com e sem impacto é alta (de -47,2 a +21,7%), sendo duas unidades com atividade de PPO maior na região impactada e três com atividade maior na região sem impacto. Esta variação foi ainda maior na quarta avaliação (de -24,2 a +202,2%); porém, considerando-se estes extremos como “outliers”, a atividade de PPO na região impactada foi +48% em relação à região sem impacto, o que pode indicar uma diferença de resposta da PPO em relação ao nível de impacto, visto ter sido esta a variação entre a primeira (1 m/s) e a quarta (2 m/s) avaliação.

Na avaliação dos resultados de condutividade elétrica relativa, também pode ser observada esta diferença entre os níveis de impacto aplicados, com variação de +11,1% para o impacto de 1 m/s e +28,2% para 2 m/s.

4.6. Avaliação dos resultados dos ensaios exploratórios

Embora grande parte dos resultados tenha sido satisfatória, no que se refere à hipótese de que a atividade de polifenoloxidase e a condutividade elétrica relativa, devido ao extravasamento de eletrólitos (rompimento celular), aumentam em função dos danos mecânicos e suas variações, constatou-se um erro na metodologia da determinação da PPO; em consulta com pesquisadores com experiência na área bioquímica, verificou-se que, em alguns dos ensaios, as leituras de absorvância, que representam o grau de atividade da referida enzima devido às reações de escurecimento na qual a PPO participa, apresentaram valores baixos, inferiores a 0,1, o que pode levar a resultados questionáveis, pois tais leituras são muito próximas à resolução do equipamento. Assim, fez-se uma adequação da metodologia para a determinação da atividade de PPO em pêssegos. Esta nova metodologia apresenta as seguintes diferenças em relação à utilizada nos ensaios exploratórios:

- A extração da enzima é realizada pela maceração dos corpos-de-prova com nitrogênio líquido, para evitar a perda da PPO em função da temperatura. Assim, ao invés do extrator de vidro, foi utilizado um almofariz para o preparo das amostras;
- Foram retirados corpos-de-prova maiores, com aproximadamente 2 gramas, a fim de se aumentar a quantidade de enzima disponível para a oxidação do substrato (catecol), obtendo-se maior escurecimento na reação e conseqüentemente maiores valores de absorvância nas leituras em espectrofotômetro;
- Outra correção na metodologia foi a inclusão da leitura do “branco da amostra”, ou seja, na leitura final da absorvância da solução após a reação, além da subtração da absorvância da solução reagente (“branco da solução”), fez-se também a subtração da absorvância do extrato (“branco da amostra”), a fim de se eliminar possíveis interferências da coloração própria da fruta na coloração proveniente da reação enzimática;
- Além disso, nos ensaios exploratórios realizados com as alterações acima, verificou-se que o ácido utilizado na interrupção da reação (HCl 6M) não era adequado para tal função, pois este causava o clareamento da solução, como mostrado na Figura 23. Fez-se uma tentativa com ácido sulfúrico a 5% e também

com ácido perclórico, mas os resultados foram insatisfatórios, devido à ocorrência de precipitação na solução. Assim, optou-se pela interrupção da reação efetuando-se a desnaturação proteica da enzima, pelo aquecimento da solução de reação a aproximadamente 100°C por 5 minutos.



FIGURA 23. Ilustração do clareamento das soluções devido à adição de ácido para a interrupção da reação.

4.7. Ensaios finais

As Tabelas 14 a 29 apresentam os valores médios obtidos para cada condição avaliada. As Tabelas 30 a 33 apresentam a consolidação dos resultados, considerando as relações entre as atividades de PPO das amostras com e sem danos. Nas tabelas e gráficos apresentados a seguir, a unidade de atividade da polifenoloxidase é μmol de catecol degradado $\cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}$ massa fresca⁻¹.

TABELA 14. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 3 dias, 1 hora de vibração (TPC_3; vib_1h).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	8,1	8,5
	2	11,6	8,0
	3	12,9	5,1
	4	10,8	6,2
24	1	11,6	7,5
	2	7,1	9,2
	3	9,3	7,4
	4	10,5	7,0
72	1	10,5	3,8
	2	9,3	4,6
	3	9,4	3,2
	4	11,3	5,3

Obs. 1: valores de atividade referentes a uma medição por unidade amostral;

Obs. 2: alíquota de 0,7 mL para a reação na condição TR_24 (com e sem dano).

TABELA 15. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 3 dias, 2 horas de vibração (TPC_3; vib_2h).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	4,2	2,4
	2	6,4	4,0
	3	3,2	3,4
	4	3,2	3,9
24	1	14,0	7,9
	2	9,8	9,1
	3	10,5	7,2
	4	12,9	9,4
72	1	25,3	9,4
	2	27,1	23,8
	3	38,3	34,8
	4	24,9	24,4

Obs. 1: valores de atividade referentes a uma medição por unidade amostral.

TABELA 16. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 3 dias, impacto de 0,7 m/s (TPC_3; imp_70).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	10,1	10,2
	2	11,2	12,6
	3	8,8	15,7
	4	13,3	16,7
24	1	7,7	8,1
	2	11,7	10,4
	3	8,1	9,4
	4	8,8	10,0
72	1	9,0	6,6
	2	9,9	5,0
	3	10,4	8,5
	4	9,4	5,2

Obs. 1: valores de atividade referentes a uma medição por unidade amostral;

Obs. 2: alíquota de 0,7 mL para a reação nas três condições de TR (com e sem dano).

TABELA 17. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 3 dias, impacto de 1,4 m/s (TPC_3; imp_140).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	19,8	10,0
	2	16,0	10,4
	3	17,2	10,6
	4	18,7	9,8
24	1	25,8	13,1
	2	40,1	19,3
	3	28,2	22,4
	4	33,8	21,5
72	1	12,5	6,4
	2	11,0	7,2
	3	10,4	10,6
	4	11,6	6,2

Obs. 1: valores de atividade referentes a uma medição por unidade amostral;

Obs. 2: alíquota de 0,7 mL para a reação na condição TR_72 (com e sem dano).

TABELA 18. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 7 dias, 1 hora de vibração (TPC_7; vib_1h).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	18,2	20,0
	2	21,3	19,8
	3	20,7	19,8
	4	23,2	25,0
24	1	20,4	18,9
	2	18,3	27,3
	3	20,3	25,0
	4	22,5	20,9
72	1	21,8	17,9
	2	16,1	16,7
	3	24,3	18,9
	4	22,2	12,3

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral.

TABELA 19. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 7 dias, 2 horas de vibração (TPC_7; vib_2h).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	20,2	19,5
	2	15,5	19,1
	3	19,0	24,7
	4	16,1	25,7
24	1	16,3	24,8
	2	17,6	18,6
	3	16,1	16,1
	4	21,7	24,2
72	1	25,2	16,5
	2	23,2	21,3
	3	21,8	16,8
	4	21,4	19,6

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral.

TABELA 20. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 7 dias, impacto de 0,7 m/s (TPC_7; imp_70).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	n.d.	n.d.
	2	20,5	18,7
	3	17,3	15,4
	4	17,9	19,3
24	1	n.d.	n.d.
	2	17,2	20,2
	3	18,1	21,9
	4	15,4	18,5
72	1	n.d.	n.d.
	2	13,1	15,3
	3	12,1	10,1
	4	n.d.	n.d.

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral; n.d.: corpo-de-prova não disponível.

TABELA 21. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 7 dias, impacto de 1,4 m/s (TPC_7; imp_140).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	n.d.	n.d.
	2	17,5	26,3
	3	20,0	17,5
	4	23,7	25,0
24	1	n.d.	n.d.
	2	n.d.	n.d.
	3	21,5	20,7
	4	16,7	21,0
72	1	n.d.	n.d.
	2	25,0	33,0
	3	22,4	23,6
	4	25,4	25,2

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral; n.d.: corpo-de-prova não disponível.

TABELA 22. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 11 dias, 1 hora de vibração (TPC_11; vib_1h).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	20,7	16,7
	2	19,9	22,2
	3	15,4	19,2
	4	15,8	15,9
24	1	18,9	18,8
	2	27,0	23,0
	3	14,6	9,9
	4	26,3	9,9
72	1	48,9	15,9
	2	50,6	21,3
	3	50,7	22,0
	4	48,1	18,1

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral.

TABELA 23. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 11 dias, 2 horas de vibração (TPC_11; vib_2h).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	n.d.	n.d.
	2	12,0	29,1
	3	13,9	31,7
	4	10,9	24,4
24	1	20,6	19,6
	2	20,8	18,7
	3	26,7	20,4
	4	18,0	15,8
72	1	n.d.	n.d.
	2	26,9	29,0
	3	31,0	35,1
	4	n.d.	n.d.

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral.
n.d.: corpo-de-prova não disponível.

TABELA 24. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 11 dias, impacto de 0,7 m/s (TPC_11; imp_70).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	23,6	17,9
	2	19,8	17,9
	3	24,6	20,0
	4	20,3	18,6
24	1	31,6	25,2
	2	34,1	20,3
	3	24,0	25,3
	4	30,4	27,9
72	1	33,7	26,2
	2	24,9	24,8
	3	29,6	20,8
	4	21,4	20,6

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral;

TABELA 25. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 11 dias, impacto de 1,4 m/s (TPC_11; imp_140).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	16,2	15,2
	2	19,1	16,8
	3	15,5	24,4
	4	18,9	18,5
24	1	21,6	29,1
	2	17,9	22,2
	3	17,5	24,9
	4	24,1	24,3
72	1	25,1	23,6
	2	23,0	19,9
	3	20,2	23,4
	4	18,8	17,8

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral;

TABELA 26. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 17 dias, 1 hora de vibração (TPC_17; vib_1h).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	28,2	16,2
	2	25,7	15,7
	3	26,5	13,8
	4	27,1	15,8
24	1	18,3	8,5
	2	17,6	16,4
	3	18,1	25,2
	4	21,5	19,3
72	1	22,6	16,6
	2	22,4	18,1
	3	14,0	10,2
	4	27,0	15,8

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral.

TABELA 27. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 17 dias, 2 horas de vibração (TPC_17; vib_2h).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	n.d.	16,5
	2	24,3	15,4
	3	24,4	16,0
	4	22,0	18,9
24	1	13,7	18,6
	2	14,4	19,6
	3	22,2	9,8
	4	15,4	9,7
72	1	13,0	12,9
	2	13,0	12,5
	3	14,4	7,5
	4	18,5	10,9

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral.

n.d.: corpo-de-prova não disponível.

TABELA 28. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 17 dias, impacto de 0,7 m/s (TPC_17; imp_70).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	22,4	19,5
	2	15,2	16,4
	3	17,0	17,6
	4	18,6	15,7
24	1	n.d.	n.d.
	2	n.d.	n.d.
	3	20,0	20,9
	4	19,3	21,5
72	1	17,5	18,0
	2	20,1	25,4
	3	15,7	15,1
	4	19,4	23,1

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral;
n.d.: corpo-de-prova não disponível.

TABELA 29. Atividade de PPO – ensaios finais, tempo pós-colheita de 17 dias, impacto de 1,4 m/s (TPC_17; imp_140).

Tempo de repouso (hora)	Unidade amostral	Atividade de polifenoloxidase	
		Região com dano	Região sem dano
1	1	19,2	16,4
	2	19,1	18,3
	3	21,8	26,3
	4	21,8	25,2
24	1	19,7	17,5
	2	22,2	16,7
	3	23,5	23,2
	4	27,6	18,6
72	1	21,1	18,5
	2	13,8	16,6
	3	15,9	16,5
	4	13,3	14,1

Obs. 1: valores de atividade referentes à média de duas medições (duplicata) por unidade amostral;

TABELA 30. Consolidação dos resultados da atividade de PPO – TPC_3.

Tempo de repouso (hora)	Ensaio mecânico	Variação da atividade de PPO (%)	
		Média	Coefficiente de variação (%)
1	vib_1h	+66,4	39,5
	vib_2h	+28,5	35,4
	imp_70	-19,0	22,4
	imp_140	+76,7	11,9
24	vib_1h	+26,6	28,0
	vib_2h	+42,1	19,7
	imp_70	-4,5	12,4
	imp_140	+71,9	21,7
72	vib_1h	+147,2	18,8
	vib_2h	+48,4	53,6
	imp_70	+59,0	22,3
	imp_140	+58,6	27,8

Obs. 1: variação de atividade referente à razão entre as atividades da região com e sem dano.

TABELA 31. Consolidação dos resultados da atividade de PPO – TPC_7.

Tempo de repouso (hora)	Ensaio mecânico	Variação da atividade de PPO (%)	
		Média	Coefficiente de variação (%)
1	vib_1h	-1,0	8,2
	vib_2h	-18,7	20,2
	imp_70	+4,9	9,4
	imp_140	-7,7	24,0
24	vib_1h	-9,0	21,3
	vib_2h	-12,0	19,6
	imp_70	-16,1	7,8
	imp_140	-8,3	15,5
72	vib_1h	+32,2	26,1
	vib_2h	+25,1	18,5
	imp_70	+8,8	39,1
	imp_140	-9,5	13,2

Obs. 1: variação de atividade referente à razão entre as atividades da região com e sem dano.

TABELA 32. Consolidação dos resultados da atividade de PPO – TPC_11.

Tempo de repouso (hora)	Ensaio mecânico	Variação da atividade de PPO (%)	
		Média	Coefficiente de variação (%)
1	vib_1h	-1,3	20,0
	vib_2h	-56,6	5,1
	imp_70	+19,5	12,1
	imp_140	-3,4	21,7
24	vib_1h	+58,2	44,4
	vib_2h	+15,8	12,2
	imp_70	+24,4	24,1
	imp_140	-18,8	15,2
72	vib_1h	+160,6	13,1
	vib_2h	-9,5	3,8
	imp_70	+19,0	16,5
	imp_140	+3,7	12,8

Obs. 1: variação de atividade referente à razão entre as atividades da região com e sem dano.

TABELA 33. Consolidação dos resultados da atividade de PPO – TPC_17.

Tempo de repouso (hora)	Ensaio mecânico	Variação da atividade de PPO (%)	
		Média	Coefficiente de variação (%)
1	vib_1h	+75,4	8,3
	vib_2h	+42,7	18,1
	imp_70	+5,8	11,8
	imp_140	-1,7	18,7
24	vib_1h	+26,2	45,4
	vib_2h	+33,7	54,8
	imp_70	-7,2	5,2
	imp_140	+24,3	16,9
72	vib_1h	+42,0	14,5
	vib_2h	+42,1	31,2
	imp_70	-9,1	12,7
	imp_140	-3,0	12,5

Obs. 1: variação de atividade referente à razão entre as atividades da região com e sem dano.

Avaliando-se os resultados, não é possível o estabelecimento de uma correlação direta entre a severidade da solitação mecânica aplicada à fruta e a resposta da atividade de polifenoloxidase, para a metodologia proposta. Por exemplo, no caso da vibração, esperava-se que a atividade de PPO nas unidades submetidas a 2 horas de ensaio fosse maior que nas

unidades submetidas a 1 hora de ensaio. Porém, comparando-se tais atividades nas quatro condições de tempo pós-colheita, para os três tempos de repouso, isso ocorreu em apenas dois dos doze tratamentos. No caso do impacto verifica-se o mesmo, com apenas cinco tratamentos condizentes com a hipótese.

Outra questão importante é o fato de que em quase 40% dos tratamentos (19 em 48 observações) a relação entre a atividade de PPO na região com dano e na região sem dano foi negativa, ou seja, nestes casos, a atividade de PPO foi maior na região sem dano. É possível que isso ocorra devido à variabilidade da distribuição da enzima nas diferentes regiões do fruto. Outra possibilidade é que as solicitações mecânicas aplicadas atuem no aumento da atividade enzimática em todo o fruto, e não apenas na região de contato ou impactada. Desta maneira, faz-se necessário um estudo mais focalizado, avaliando-se a atividade de PPO em uma quantidade maior de amostras, a fim de se minimizar o efeito da variabilidade de atividade entre os frutos.

Avaliou-se também a influência do tempo de repouso na atividade de polifenoloxidase. Os gráficos da variação da atividade de PPO em função do tempo de repouso, para cada condição, são apresentados nas Figuras 24 a 27. Cada ponto apresentado se refere ao valor médio da atividade de PPO nos corpos-de-prova das regiões com dano. O comportamento da atividade de PPO não apresentou uma tendência em relação aos tempos de repouso estabelecidos, ou seja, não se confirmou o resultado obtido por Tourino et al. (1993), no qual a enzima apresentou um pico de atividade entre 24 e 36 horas de tempo de repouso após a injúria aplicada aos frutos.

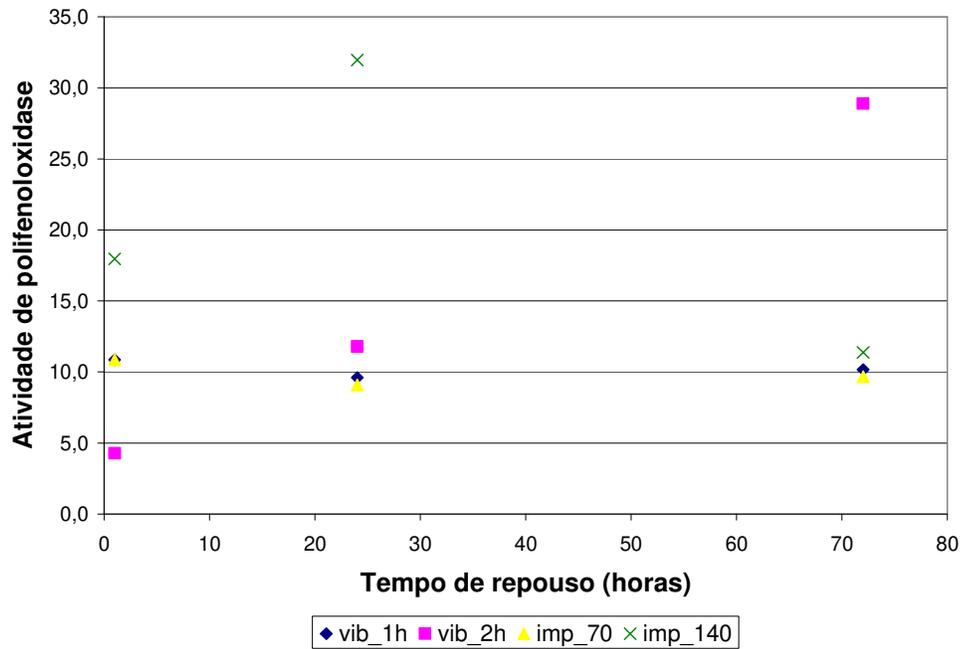


FIGURA 24. Variação da atividade da PPO em função do tempo de repouso após as solicitações mecânicas – tempo pós-colheita de 3 dias.

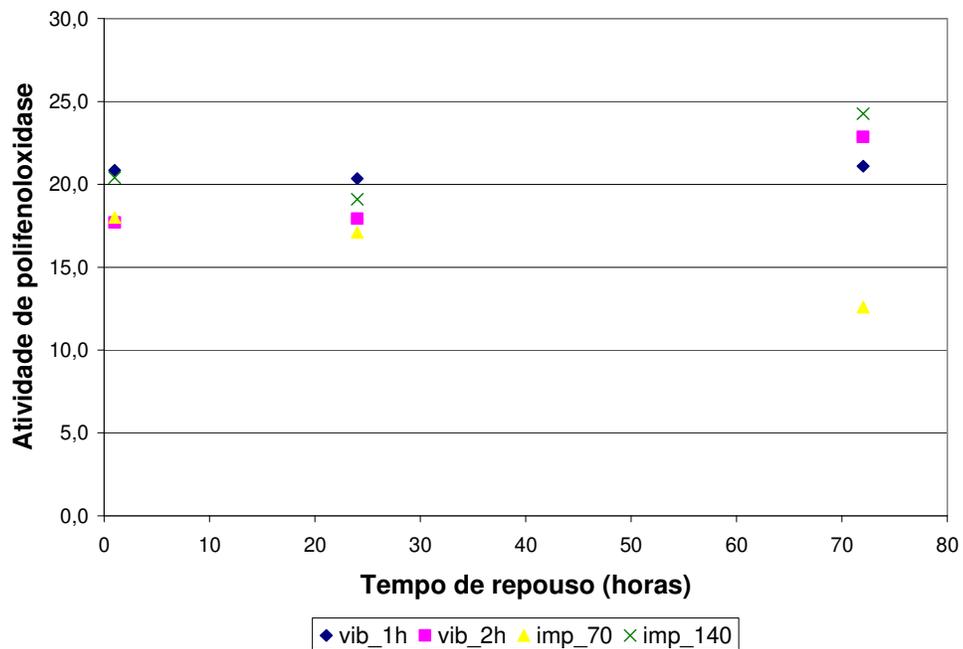


FIGURA 25. Variação da atividade da PPO em função do tempo de repouso após as solicitações mecânicas – tempo pós-colheita de 7 dias.

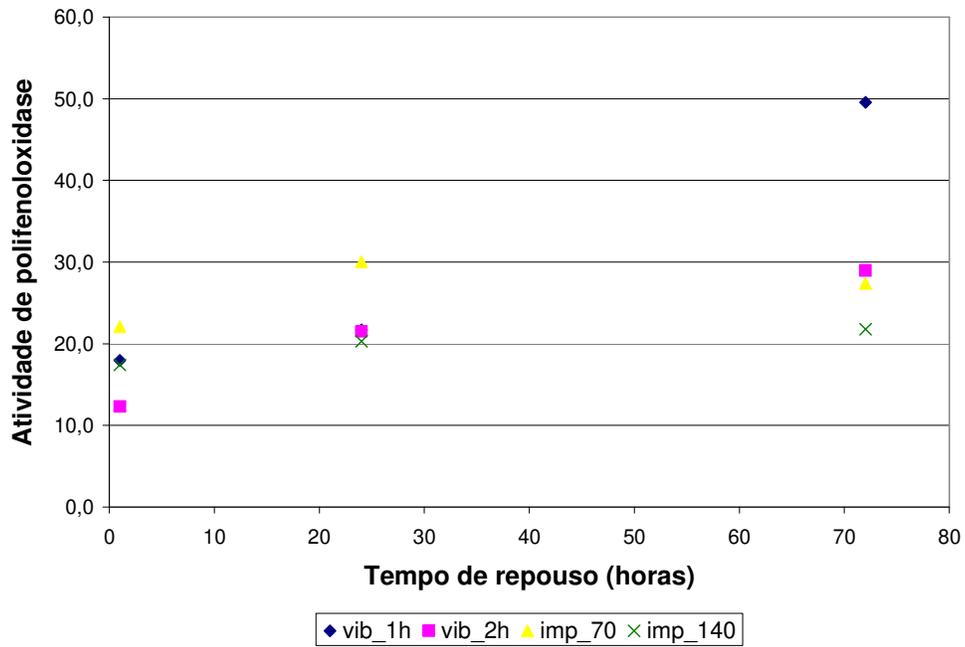


FIGURA 26. Variação da atividade da PPO em função do tempo de repouso após as solicitações mecânicas – tempo pós-colheita de 11 dias.

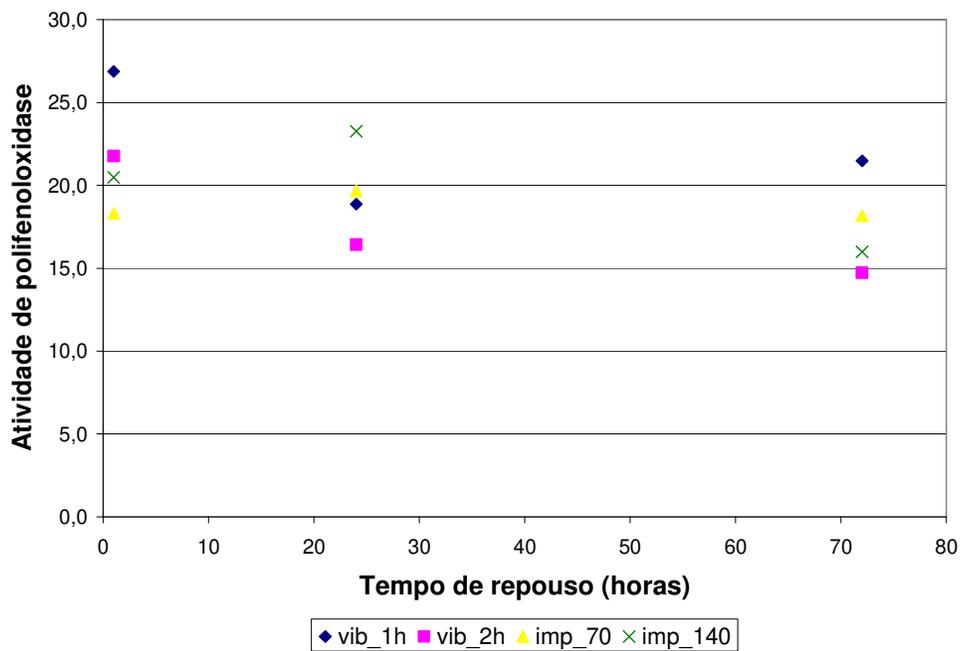


FIGURA 27. Variação da atividade da PPO em função do tempo de repouso após as solicitações mecânicas – tempo pós-colheita de 17 dias.

Na avaliação da influência do tempo pós-colheita sobre a atividade da PPO, também não foi possível verificar uma tendência, como mostra o gráfico da Figura 28. Para a apresentação deste gráfico, os tempos de repouso foram somados ao tempo pós-colheita. Por exemplo, na condição TPC_3, os corpos-de-prova com tempo de repouso de 24 horas foram considerados como tendo tempo pós-colheita de 4 dias.

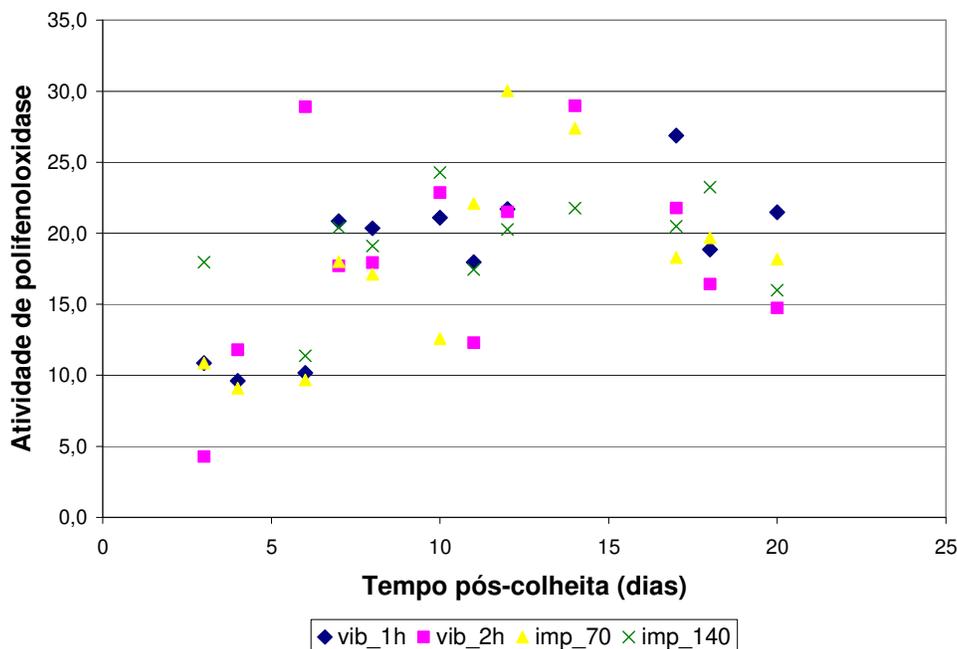


FIGURA 28. Variação da atividade da PPO em função do tempo pós-colheita, para as quatro condições de solicitações mecânicas.

5. CONCLUSÃO

Embora tenham sido encontradas variações na atividade da polifenoloxidase, em pêssegos ‘Douradão’, em função das solicitações mecânicas (vibração e impacto) aplicados nos frutos, não foi comprovada a hipótese proposta para a metodologia aplicada, de que a variação do nível de tais solicitações tenha correlação direta com a atividade enzimática no tecido vegetal.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com base nos resultados obtidos e nas discussões apresentadas, verifica-se a possibilidade de desdobramento do trabalho nos seguintes itens: determinação da influência do modo de aplicação dos esforços vibracionais (contínuo ou intermitente); investigação das frequências de ressonância e sua influência nos parâmetros bioquímicos de pêssegos, visto que em outros trabalhos, com outros tipos de vegetais, foi observada diferença no comportamento do tecido em função das diferentes frequências de vibração aplicadas; investigação do efeito de solicitações por compressão em pêssegos, pois tal efeito também é observado nas etapas de transporte e distribuição de frutas; correlação entre ensaios de vibração e compressão cíclica, para um mesmo nível energético aplicado; determinação da distribuição da polifenoloxidase (e outras enzimas que possam ser utilizadas como parâmetro de avaliação de danos mecânicos) nas diferentes regiões do fruto; determinação da influência da casca do pêssego na determinação da atividade de polifenoloxidase, uma vez que este foi um dos fatores que podem ter influenciado na variabilidade das respostas de atividade da polifenoloxidase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, J. A. et al. Sonic techniques for measuring texture of fruits and vegetables. **Food Technology**, v. 22, p. 635-646, 1968.
- ALMEIDA, G. V. B.; MANCO, J. R.; SAKABE, M. Mercado atacadista de frutas de caroço e suas exigências. In: CALEGARIO, F. F. **Padronização e classificação de pêsegos e nectarinas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. p. 19-29.
- AMORIM, L. et al. Stone fruit injuries and damage at the wholesale market of São Paulo, Brazil. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, n. 3, p. 353-357, 2008.
- ASTM INTERNATIONAL. **D 4169-09**: standard practice for performance testing of shipping containers and systems. Philadelphia, 2009. 14 p.
- ASTM INTERNATIONAL. **D 4728-06**: standard test method for random vibration testing of shipping containers. Philadelphia, 2006. 7 p.
- BERARDINELLI, A. et al. Damage to pears caused by simulated transport. **Journal of Food Engineering**, v. 66, n. 2, p. 219-226, 2005.
- BOCHU, W. et al. Response of gerbera jamesonii acrocarpous callus stimulated by mechanical vibration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 21, n. 4 p. 253-257, 2001.
- BOWER, D. R.; ROHRBACH, R. P. Application of vibrational sorting to Blueberry firmness separation. **Transactions of the ASAE**, v. 19, n. 1, p. 185-191, 1976.
- BRANDELLI, A.; LOPES, C. H. G. L. Polyphenoloxidase activity, browning potential and phenolic content of peaches during postharvest ripening. **Journal of Food Biochemistry**, v. 29, n. 6, p. 624-637, 2005.

BRANDENBURG, R. K.; LEE, J. J. **Fundamentals of Packaging Dynamics**. 3. ed. East Lansing: MTS Systems Corporation, 1988.

BROWN, G. K. et al. E. Apple packing line impact damage reduction. **Applied Engineering in Agriculture**, St. Joseph, v. 6, n. 6, p. 759-764, 1990.

CANO, M. P.; HERNANDEZ, A.; DE ANCOS, B. High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 1, p. 85-88, 1997.

CHESSON, J. H.; O'BRIEN, M. Analysis of mechanical vibration of fruit during transportation. **Transactions of the ASAE**, v. 14, n. 2, p. 222-224, 1971.

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

CLARK, R. L.; SHACKELFORD, P. S. Resonance and optical properties of peaches as related to flesh firmness. **Transactions of the ASAE**, v. 16, n. 6, p. 1140-1142, 1973.

CONSTABEL, C. P.; RYAN, C. A. A survey of wound- and methyl jasmonate-induced leaf polyphenol oxidase in crop plants. **Phytochemistry**, v. 47, n. 4, p. 507-511, 1998.

CONSTABEL, C. P. et al. Polyphenol oxidase from hybrid poplar. Cloning and expression in response to wounding and herbivory. **Plant Physiology**, v. 124, p. 285-295, 2000.

COUTO, S. M.; SILVA, M. A.; REGAZZI, A. J. An electrical conductivity method suitable for quantitative mechanical damage evaluation. **Transactions of the ASAE**, v. 41, n. 2, p. 421-426, 1998.

DURIGAN, M. F. B.; MATTIUZ, B.; DURIGAN, J. F. Injúrias mecânicas na qualidade pós-colheita de lima ácida “Tahiti” armazenada sob condição ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 369-372, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **Statistical databases – ProdSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx>>. Acesso em: 28 jun. 2008.

FENG, Guoping; YANG, Hongshun; LI, Yunfei. Kinetics of relative electrical conductivity and correlation with gas composition in modified atmosphere packaged bayberries (*Myrica rubra* Siebold and Zuccarini). **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 249-254, May 2005.

FERREIRA, M. D. **Physiological response of strawberry to handling impacts and precooling methods**. 1994. 124 f. Tese (Mestrado) – University of Florida, Gainesville, 1994.

FERREIRA, M. D. et al. Determinação em tempo real da magnitude de danos físicos por impacto em linhas de beneficiamento e em condições de laboratório e seus efeitos na qualidade de tomate. **Engenharia Agrícola**. [on line], Jaboticabal, v. 29, n. 4, p. 63, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69162009000400013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 19 maio 2010.

FINNEY, E. E.; NORRIS, K. H. Instrumentation for investigating dynamic mechanical properties of fruits and vegetables. **Transactions of the ASAE**, v. 11, n. 1, p. 94-97, 1968.

FINNEY, E. E. Vibration techniques for testing fruit. **ASAE Paper No. 71-802**. St. Joseph: 1971.

FINNEY JUNIOR, E. E. Mechanical resonance within red delicious apples and its relation to fruit texture. **Transactions of the ASAE**, v. 13, n. 2, p. 177-180, 1970.

FLURKEY, W. H.; JEN, J. J. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 6, p. 1826-1831, 1978.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. **Produção Agrícola Municipal**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=t&o=10>>. Acesso em: 28 jun. 2008.

JIANG, Y. et al. Electrical conductivity evaluation of postharvest strawberry damage. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p. 1392-1395, 2001.

KAWANO, S; IWAMOTO, M; HAYAKAWA, A. **Evaluation of in-transit mechanical injury of fruits and vegetables for simulation of transport test**. Ibaraki: AFFRC, 1984. p. 92-96. Report Of The National Food Research Institute.

KIM, J. Y. et al. T. Two polyphenol oxidases are differentially expressed during vegetative and reproductive development and in response to wounding in the Fuji apple. **Plant Science**, v. 161, n. 6, p. 1145–1152, 2001.

MANESS, O. N.; BRUSEWITZ, G. H.; MCCOLLUM, T. G. Impact bruise resistance comparison among peach cultivars. **HortScience**, v. 27, n. 9, 1008-1011, 1992.

MARTINEZ, M. V.; WHITAKER, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, n. 6, p. 195-200, 1995.

MAYER, A.M.; HAREL, E. Phenoloxidases and their significance in fruit and vegetables. In: FOX, P. F. (Ed.). **Food enzymology**. London: Elsevier Applied Science, 1991. p.373-398.

MAYER, A. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. **Phytochemistry**, v. 67, n. 21, p. 2318-2331, 2006.

MOHSENIN, N. N. **Physical properties of plant and animal materials**. New York: Gordon and Breach, 1970.

MOHSENIN, N. N. **Physical properties of plant and animal materials: structure, physical characteristics and mechanical properties**. 2nd. ed. New York: Gordon and Breach, 1986. 891 p.

MONTOYA, M. M.; DE LA PLAZA, J. L.; LÓPEZ-RODRIGUEZ, V. Electrical conductivity of avocado fruits during cold storage and ripening. **Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie**, v. 27, p. 34-38, 1994a.

MONTOYA, M. M.; DE LA PLAZA, J. L.; LÓPEZ-RODRIGUEZ, V. Relationship between changes in electrical conductivity and ethylene production in avocado fruits. **Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie**, v. 27, p. 482-486, 1994b.

MURATA, M. et al. Subcellular location of polyphenol oxidase in apples. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 61, n. 9, p. 1495-1499, 1997.

NOVAS variedades brasileiras de frutas. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2000. 205 p.

O'BRIEN, M. et al. Causes of fruit bruising on transport trucks. **Hilgardia**, v. 35, n. 6, p. 113-124, 1963.

O'BRIEN, M.; GENTRY, J. P.; GIBSON, R. C. Vibrating characteristics of fruits as related to in-transit injury. **Transactions of the ASAE**, v. 8, n. 2, 1965.

PARTINGTON, J. C.; SMITH, C.; BOLWELL, G. P. Changes in location of polyphenol oxidase in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber during cell death in response to impact injury: comparison with wound tissue. **Planta**, v. 207, p. 449-460, 1999.

PELEG, K. Biomechanics of fruits and vegetables. **Journal of Biomechanics**, v. 18, n. 11, p. 843-862, 1985.

PELEG, K.; HINGA, S. Transportation environments of fresh produce. **The Journal of Environmental Sciences**, v. 29, n. 3, p. 19-25, May/June 1986.

RAMÍREZ, E. C.; WHITAKER, J. R.; VIRADOR, V. M. Polyphenol oxidase. In: WHITAKER, J. R; VORAGEN, A. G. J; WONG, D. W. S. **Handbook of Food Enzymology**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2003. Chapter 9, p. 509-523.

SACHS, S. **A cultura do pessegueiro**. Pelotas, RS: Comitê de Publicações, 1984. 156 p.

STEPHENSON, K. Q.; BYLER, R. K.; WITTMAN, M. A. Vibrational response properties as sorting criteria for tomatoes. **Transactions of the ASAE**, v. 16, n. 2, p. 258-260, 265, 1973.

THIPYAPONG, P.; HUNT, M. D.; STEFFENS, J. C. Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenol oxidase. **Phytochemistry**, v. 40, n. 3, p. 673-676, 1995.

TORALLES, R. P. et al. Properties of polyphenoloxidase and peroxidase from 'Granada' clingstone peaches. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, n. 3, p. 233-242, 2005.

TOURINO, M. C. C. et al. Injúria mecânica em tecidos de frutos de pessegueiros (*Prunus persica* (L.) Batsch): mecanismos de cura. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 69-78, 1993.

VÁMOS-VIGYÁZÓ, L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **CRC – Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 49-127, 1981.

YANG, X. C. et al. Biological effects of *Actinidia chinensis* callus on mechanical vibration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 25, n. 3, p. 197-203, 2002.

YONG, Y. C.; BILANSKI, W. K. Modes of vibration of spheroids at the first and second resonant frequencies. **Transactions of the ASAE**, v. 21, p. 1463-1466, 1979.

YORUK, R.; MARSHALL M. R. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 27, n. 5, p. 361-422, 2003.

ZHOU, R. et al. Effect of transport vibration levels on mechanical damage and physiological responses of Huanghua pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai, cv. Huanghua). **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, n. 1, p. 20-28, 2007.