UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Agronomia

TESE

Qualidade e maturação de frutas avaliadas por meio de métodos não destrutivos

Débora Leitzke Betemps

Pelotas, 2011

DÉBORA LEITZKE BETEMPS

Engenheira Agrônoma

Qualidade e maturação de frutas avaliadas por meio de métodos não destrutivos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (Fruticultura de Clima Temperado).

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Fachinello

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

B562q Betemps, Débora Leitzke

Qualidade e maturação de frutas avaliadas por meio de métodos não destrutivos / Débora Leitzke Betemps ; orientador José Carlos Fachinello - Pelotas,2011.-167f. : il..- Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

1.Esctroscopia VIS/NIR 2.Infravermelho próximo 3.Fluorescência 4.Parâmetros de qualidade I.Fachinello, José Carlos(orientador) II.Título.

CDD 634

Aprovada em: _/__/___ Homologada em:

Comissão Julgadora:

Dr. José Carlos Fachinello (DFT, FAEM/UFPel)	Dr. Gilmar A.B. Marodin (UFRGS)
Dr. Marcelo Barbosa Malgarim (DFT, FAEM/UFPel)	Dr. Juan Saavedra del Aguila (DFT, FAEM/UFPel)
Luciano Picolotto (EMBRAPA)	

AGRADECIMENTOS

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

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Fruticultura de Clima Temperado, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação em Agronomia.

Ao professor Dr. José Carlos Fachinello por sua orientação, profissionalismo, amizade e confiança.

Aos demais professores, colegas e amigos da Pós-Graduação pela amizade e pelos momentos que juntos compartilhamos.

Aos amigos e colegas Professor Rossano Massai e Damiano Remorini pelo carinho, atenção e ensinamentos recebidos durante a execução dos trabalho realizado no período de doutorado sanduíche na Universidade de Pisa, Itália.

Agradeço a minha família pela compreensão, parceria, apoio e incentivo para que este trabalho fosse concluido.

Dedico este trabalho a uma lista interminável de pessoas...
Mas menciono aqui um companheiro silencioso, que passava os dias ao meu lado, e assim como a vida, sempre percorrendo o seu curso.
A você "Arno" meu companheiro de escrita, de caminhadas e de reflexões,
"Ci vediamo un giorno".

RESUMO

BETEMPS, DÉBORA L. **Qualidade e maturação de frutas avaliada através de métodos não destrutivos** 2011. 167f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Atualmente os consumidores não estão focados apenas nas caracterísiticas externas das frutas, como cor e tamanho, as características internas como teores de açúcares e a presença de compostos antioxidantes passam a ter uma maior importância na decisão de compra. A mensuração destes parâmetros, normalmente é feita através de análises tradicionais que apresentam como característica principal a destrutição da amostra, além de ser realizada em um número restrito de frutas, normalmente não representativo do lote ou do pomar. Os métodos ópticos baseados nas técnicas da espectroscopia do visível (Vis) e do infravermelho próximo (NIR), assim como a fluorescência da clorofila são apontadas como uma evolução dos métodos clássicos de avaliação, permitindo avaliar vários componentes ao mesmo tempo, sem a destruição das amostras. O objetivo da realização deste trabalho foi utilizar a espectroscopia do Vis/NIR e da fluorescência da clorofila como métodos não destrutivos para avaliar parâmetros de qualidade de pêssegos, mangas e maçãs. Em pêssegos utilizou-se o equipamento NIR-Case para o estabelecimento de modelos de calibração para a estimação dos parâmetros sólidos solúveis (SS) e firmeza de polpa para as cultivares Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu por dois anos consecutivos, sendo que no segundo ano avaliou-se também o efeito de época de colheita sobre os modelos de calibração. Pelos resultados obtidos podemos inferir que para o atributo SS, os modelos de calibração apresentaram valores de coeficiente de determinação aceitáveis e adequados para prever o comportamento de amostras futuras, nos dois anos consecutivos. Para a firmeza de polpa apenas os modelos desenvolvidos para as cultivares Jubileu e Eldorado foram considerados satisfatórios, necessitando para as demais cultivares, novos ajustes para safras futuras. Os modelos de calibração apresentam resultados diferentes ao longo das datas de colheita, sendo que os melhores ajustes ocorrem no final da safra, fato

observado em todas as cultivares de pêssegos. Em mangas da cultivar Tommy Atkins e em pêssegos das cultivares Eldorado e Jubileu, foi testada o uso desta técnica para a separação das frutas em categorias de acordo com o estádio de maturação e acompanhamento desta diretamente no campo, com o uso do espectrofotômetro portátil (DA-meter®) que emite dois sinais luminosos nos comprimentos de onda 670 e 720nm e fornece um índice (DA), que se correlaciona com o conteúdo de clorofila presente na epiderme das frutas. Através destes trabalhos foi possível concluir que, com o índice DA é possível separar as frutas de manga em categorias de acordo com o grau de maturação bem como acompanhar a maturação de pêssegos diretamente no campo, e as relações entre os valores destes índices e os parâmetros de qualidade, determinadas através dos coeficientes de determinação (R^2) foram satisfatórios. Em maçãs das cultivares Fuji, Granny Smith e Golden Delicious utilizou-se um sensor com base na técnica da fluorescência da clorofila para a estimação de clorofilas, antocianinas e flavonóides presentes na epiderme das frutas. De uma maneira geral os lados com maior exposição a luz solar apresentaram os maiores índices para os antocianinas e flavonóides e menores para clorofila. As correlações entre os índices não destrutivos e o conteúdo real destes pigmentos nas epidermes das maçãs demonstraram a existência de correlações signifcativas entre os dois métodos propostos. Uma correlação negativa foi encontrada entre o teor de sólidos solúveis em maçãs e a fluorescência da clorofila (CHL) no espectro do vermelho distante. Os resultados também indicam que um sensor multiparamético de base fluorescente pode fornecer índices de maturação e qualidade de maçãs de forma não destrutiva. Sendo assim, após a execução dos trabalhos pode-se concluir que os diferentes métodos e tecnologias não destrutivas apresentam potencial para avaliação dos parâmetros de qualidade em frutas.

Palavras Chaves: Esctroscopia VIS/NIR, Infravermelho próximo, Fluorescência, Parâmetros de qualidade.

ABSTRACT

BETEMPS, DÉBORA L.- **Quality and maturation of fruits assessed through non-destructive methods** 2011. 167f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Currently consumers are not focused only on the external characteristics of the fruits, as color and size, the internal characteristics such as sugar content and the presence of antioxidant compounds acquires a greater importance in purchasing decisions. The measurement of these parameters is usually done by traditional analysis that presented as main characteristic the sample destruction, beyond being held in a limited number of fruits, normally not representative of the lot or orchard. The optical methods based in visible spectroscopy techniques (Vis) and near-infrared (NIR), as the chlorophyll fluorescence are pointed as a solution of the classic evaluation methods, allowing to assess several components at the same time, without the sample destruction. This study aimed to use the spectroscopy Vis/NIR and the chlorophyll fluorescence as non destructive methods to evaluate quality parameters in peaches, mangos and apples. In peaches it was used the NIR-Case equipment to establish models of calibration for estimating parameters of soluble solids (SS) and flesh firmness for the cultivars Chimarrita, Maciel, Eldorado and Jubileu for two years in a row, being in the second year, it was also evaluated the effect of harvesting time on the calibration models. From the obtained results it can be infer that the attribute soluble solids the calibrations models presented coefficient of determination values acceptable and appropriate to predict the future behavior of the samples in two consecutive years. For flesh firmness only the models developed for the cultivars Jubileu and Eldorado were considered satisfactory, requiring for the others cultivars, new setting for future harvests. The calibration models presented different results over the harvest dates, being the best fits occur in the end of the harvest, fact observed in all peaches cultivars. In mangoes of the cultivar Tommy Atkins and in peaches of the cultivars Eldorado and Jubileu the use of this technique for the separation of fruits in categories according to their maturation stage and monitoring directly from the field using a portable spectrophotometer (DA-meter®) that emits two

light signals of wavelength 570 and 720 nm and provides an indes (DA), which correlates with the content of chlorophyll in the peel of the fruit. Through these studies it was conclude that, with the index DA it is possible to separate the mangoes fruits in categories according the maturation degree as well monitor the maturation of the peaches directly from the field, and the relations between these index and quality parameters determinate through the coefficients of determination (R^2) were satisfactory. In apples of the cultivars Fuji, Granny Smith and Golden Delicious it was used a sensor based on the technique of chlorophyll fluorescence for the estimation of chlorophyll, anthocyanins and flavonoids present in the skin of the fruit. In general, sides with greater sunlight exposure have higher rates of anthocyanins and flavonois and lower chlorophyll. The correlations between the non-destructive index and the real content of these pigments in the apple skin show the existence of significant correlations the two methods proposed. A negative correlation was found between soluble solids in apples and the chlorophyll fluorescence (CHL) in the far red spectrum. The results also indicate that a single multiparameter sensor of a fluorescence base can provide quality and maturity indices of apples in a non-destructively way. Thus, after the execution of the study, it can be conclude that different methods and technologies have potential for non-destructive evaluation of fruit quality parameters.

Keywords: Spectroscopy VIS/NIR, Near Infrared, Fluorescence, Parameters of quality.

LISTA DE FIGURAS

Experimento 01

Figura 1 - Espectrofotômetro portátil Nir-Case utilizado para análise não destrutiva de pêssegos. 91

Experimento 02

Figura 1- Espectrofotômetro portátil DA-meter utilizado para maturação de mangas em diferentes partes da fruta (Turoni/itália). 109

Figura 2- Diferentes categoria formadas de acordo com o índice da obtidos em mangas ‘Tommy Atkins’..... 111

Figura 3- Média dos valores do índice DA obtido dentro das classes formadas com mangas ‘Tommy Atkins’ nos tempos 0h (zero) e 48h de avaliação. 112

Figura 4- Correlação existente entre o índice-DA e a firmeza de polpa, em newtons (a), sólidos solúveis, em ºBrix (b), coloração, em °hue (c) e acidez titulável, em meq de NaOH/100ml (d) em mangas ‘Tommy Atkins’ 114

Experimento 03

Figura 1- Sensor multiparamétrico multiplex 2 (MX) (Force-A, orsay, França) utilizado leitura em maçãs. 124

Figura 2- Amostras (dois lados) de maçãs ‘Fuji’ mensuradas (a) pelo sensor multiplex. Índices não destrutivos de antocianinas (b), flavonóis (c) e clorofilas (d) calculados pelo fluorímetro multiplex correspondentes aos lados de maior e menor exposição ao sol. 128

Figura 3- Amostras de maçãs ‘Granny Smith’ (n=10) mensuradas através do sensor multiplex (a). índices não destrutivos de antocianinas (b), flavonóides (c) e clorofilas (d) calculados pelo fluorímetro multiplex correspondentes aos lados de maior e menor exposição ao sol. 129

Figura 4- Amostras de maçãs ‘Golden Delicious’ mensuradas através do sensor multiplex sensor (a). índices não destrutivos de antocianinas (b), flavonóides (c) e clorofilas (d) calculados pelo fluorímetro multiplex correspondentes aos lados de maior e menor exposição ao sol. 130

Figura 5- Relação entre o ínidice de flavonóides obtido pelo multiplex (flav), e a concentração de flavonóides mensurados de forma não destrutiva na epiderme de maçãs ‘Fuji’. linhas sólidas indicam o ajuste linear (y=0.333x+1.48, r^2=0.85) e linhas pontilhadas indicam os limites de confiança de 95%. 133

Figura 6 - Relação entre a clorofila mensurada pelo multiplex (chl), e a concentração de clorofilas (*a*+*b*) mensuradas de forma destrutiva na epiderme de maçãs. Linhas sólidas indicam o ajuste linear (y = 0.593 x + 0.309, r^2=0.872) e linhas pontilhadas indicam o limite de confiança a 95%. 134

Figura 7- Relação entre o índice de absorbância obtido pelo DA-meter e a concentração de clorofilas (*a*+*b*) presentes nas epiderme das frutas obtidas de forma destrutiva. Linhas sólidas indicam ajuste exponencial (y = 1.88 (1-exp(-0.35 x), r^2 =0.615) e linhas pontilhadas indicam os limites de confiança a 95%. 137

Figura 8- Relação entre a fluorescência da clorofila na banda de espectro do vermelho distante, FRF_{red}, e os sólidos solúveis medidos em sucos de maçãs. Linhas sólidas indicam ajuste exponencial (y = 0.92 + 68 exp(-0.28 x), R^2 =0.676), e linhas pontilhadas indicam limites de confiança de 95%. 138

Experimento 04

Figura 1- Índice DA ao longo das datas de avaliação do crescimento e maturação de pêssegos ‘Jubileu’ ($y=-0,022x^2+0,149x+1,927$ $R^2=0,98$) e ‘Eldorado’ ($y=-0,029x^2+0,157x+2,062$ $R^2=0,95$) 151

Figura 2- Índice DA e clorofila-*a* (mg cm^{-2}) presente na epiderme de pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’ ao longo da colheita..... 151

Figura 3 - Índice DA e firmeza de polpa (newtons) de pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’ ao longo das datas de colheita.. 154

Figura 4 - Índice DA e sólidos solúveis (°Brix) de pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’ ao longo das datas de colheita. 155

Figura 5- Índice DA e da coloração da epiderme (ângulo °hue) de pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’ ao longo das datas de colheita.. 156

Figura 6 - Índice DA e da acidez titulável de pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’ ao longo das datas de colheita. 157

LISTA DE TABELAS

Experimento 01

Tabela 1- Características de qualidade (°Brix e kgf), valores médios, coeficiente de correlação linear múltiplo (MR) e erro padrão de calibração (SEC) para as curvas de calibração geradas pelo software NIR-Case sacmi® (NCS) para pêssegos 'Chimarrita', 'Maciel', 'Eldorado' e 'Jubileu' para o ano de 2009. 93

Tabela 2 – Parâmetros estatísticos R^2(coeficiente de determinação), RMSEP (erro médio quadrático dos valores previstos, em °Brix e kgf), SEP (erro padrão dos valores preditos, em °Brix e kgf) e a equação da reta para o modelo de regressão linear (y = ax+b) relativos as validações das calibrações, para a determinação de sólidos solúveis e firmeza de polpa em pêssegos 'Chimarrita', 'Maciel', 'Eldorado' e 'Jubileu'. 94

Tabela 3 - Caracterização das amostras de frutas utilizadas para a validação das calibrações realizadas no ano de 2009 em pêssegos, nos parâmetros sólidos solúveis e firmeza de polpa. 95

Tabela 4 – Datas de colheita, valores máximos e mínimos (°Brix e kgf), coeficiente de correlação linear múltiplo (MR) e erro padrão de calibração (SEC) para as curvas de calibração geradas pelo software NCS para pêssegos 'Chimarrita', 'Maciel', 'Eldorado' e 'Jubileu' para o ano de 2010. 97

Tabela 5 – Parâmetros estatísticos R^2(coeficiente de determinação), SEP (erro padrão dos valores preditos) e a equação da reta para o modelo de regressão linear (y= ax+b) relativos às validações das calibrações, realizadas em diferentes datas para a determinação de sólidos solúveis e firmeza de polpa em pêssegos 'Chimarrita', 'Maciel', 'Eldorado' e 'Jubileu'..... 100

Tabela 6 - Caracterização das amostras de frutas utilizados para a validação das calibrações realizadas no ano de 2010 em pêssegos de diferentes cultivares, nos parâmetros sólidos solúveis e firmeza de polpa. 101

Experimento 02

Tabela 1- Médias dos valores encontrados para coloração (ângulo hue), sólidos solúveis (°Brix), firmeza de polpa (N) e acidez titulável (meq de NaOH/100ml) das frutas dentro das diferentes classes formadas. 112

Experimento 03

Tabela 1- Valores médios e desvio padrão (± DV) do conteúdo de sólidos solúveis (ss), firmeza de polpa (FP) e conteúdo de clorofila em maçãs obtidos através de métodos destrutivos 127

Tabela 2 – Valores médios e desvio padrão (±DV, n = 20) dos índices não destrutivos obtidos com o equipamento Multiplex em maçãs. 130

Tabela 3 – Correlação de Person entre a firmeza de polpa (FP), o conteúdo de sólidos solúveis (SS) e os sinais da fluorescência ($RF_{vermelho}$, $FIR_{vermelho}$ e chl= FRFred/RFred), n=60, em maçãs. 137

Experimento 04

Tabela 1 – Valores médios dos parâmetros índice DA, firmeza de polpa (FP), em newtons, clorofila-*a* (cl-a), expressa em µg cm^{-2}, sólidos solúveis (SS), em °Brix, coloração, expresso em °hue, e acidez titulável (at), em meq NaOH/100ml, em pêssegos ‘Jubileu’ e ‘Eldorado’ em diferentes datas de colheita. 152

Tabela 2 – Valores do coeficiente de determinação (R^2) obtido entre os valores médios dos parâmetros de qualidade de pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’ e os valores médios dos índices DA ao longo das datas de colheita.. 152

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL 19

PROJETO DE PESQUISA..... 23

1. Título 23

2. Antecedentes e Justificativas 23

2.1. Revisão Bibliográfica..... 26

2.1.1 Influência do porta-enxerto sobre a qualidade das frutas 26

2.1.2 A influência dos fatores ambientais na qualidade das frutas. 30

2.1.3. Compostos físico-químicos e fitoquímicos presentes em frutas 31

2.1.4. Vis/NIR - “Near infrared/visible spectroscopy 36

2.1.5. Caracterização das cultivares copa. 38

2.1.6 Caracterização dos porta-enxertos.....39

3. Hipóteses 41

4. Objetivos 42

4.1. Objetivo Geral.....42

4. 2. Objetivos Específicos 42

5. Metas 42

6. Material e métodos 43

6.1) Experimento 01: Avaliação das características físico-químicas e fitoquimicas de frutas de pessegueiro sobre diferentes porta-enxertos nas cidades de Pelotas, Porto-Alegre e Bento Gonçalves: 44

6.2) Experimento 02 : Avaliação do comportamento fitoquimico da cultivar Chimarrita em frutas com diferentes porcentagens de recobrimento de coloração vermelha nas diferentes regiões. 46

6.3) Experimento 03: Análise das Variáveis físico-químicas da região de Pelotas por métodos não destrutíveis:.....47

7. Cronograma de Atividades de Pesquisa 50

8. Previsão Orçamentária: 51

8.1. Material de Consumo.....51

8.2. Material Permanente 51

8.3. Serviços de terceiros 52

8.4. Custos Totais.....52

9. Bibliografia 52

JUSTIFICATIVA DO PROJETO EXECUTADO E RELATÓRIO DE ATIVIDADES 60

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 62

1. Espectroscopia do infravermelho próximo (*Near infrared*- NIR)..... 62

1.1. Vantagens e Limitações do uso da espectroscopia 66

1.2. Calibrações.....67

1.3. Validação.....69

2. Utilização da espectroscopia em frutas..... 71

2.1 Infravermelho próximo (NIR) 71

2.2 Fluorescência da clorofila.....73

2.3 Índice DA (DA-meter) 74

3. Hipóteses 76

4. Objetivos 76

4.1. Objetivo geral 76

4.2. Objetivos específicos 76

5. Referências 77

Artigo 1 UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA VIS/NIR PARA ESTIMAR SÓLIDOS SOLÚVEIS E FIRMEZA DA POLPA DURANTE A MATURAÇÃO DE PÊSSEGOS 86

Resumo 86

Abstract 87

Introdução 88

Materiais e Métodos 90

Resultados e discussão 92

Conclusões 102

Referências 102

Artigo 2 ESPECTROSCOPIA DO VISÍVEL E INFRAVERMELHO PRÓXIMO (VIS/NIR), NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MANGAS TOMMY ATKINS.106

Resumo 106

Abstract 106

1. Introdução 107

2. Materiais e métodos 109

3. Resultados e discussão 111

4. Conclusão 115

5. Referências 115

Artigo 3 AVALIAÇÃO NÃO-DESTRUTIVA DAS CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE EM MAÇÃS USANDO UM SENSOR MULTIPARAMÉTRICO DE FLUORESCÊNCIA 118

Resumo..... 118

Abstract..... 119

1. Introdução 120

2. Material e métodos 123

3. Resultados e discussão..... 127

4. Considerações Finais 139

5. Referências 139

Artigo 4 DETERMINAÇÃO DA MATURAÇÃO DE PÊSSEGOS ATRAVÉS DE ÍNDICE NÃO DESTRUTIVO BASEADO NA ESPECTROSCOPIA VIS/NIR. 145

Resumo..... 145

Abstract..... 146

Introdução 146

Materiais e métodos..... 148

Resultados e Discussão..... 150

Conclusão 157

Referências..... 157

Conclusões Gerais..... 160

Anexos 161

INTRODUÇÃO GERAL

A percepção de qualidade pela indústria de frutas e hortaliças se baseou por muitos anos apenas nos atributos externos como cor e aparência deixando outros atributos mais importantes como sabor, textura e defeitos internos a serem avaliados pelo consumidor. Com a evolução, este setor, começou a considerar estes atributos internos em todas as etapas da produção como um critério integrado de controle de qualidade, tratando de dar resposta as altas exigências de um mercado altamente competitivo como o das frutas e hortaliças frescas (BRUHN, 2007).

O mercado consumidor de frutas também está mudando, há uma tendência de despender um maior valor para produtos de qualidade ou para os que apresentem marcas e selos de confiança, rejeitando produtos com origem suspeita e de qualidade inferior (LIN; YING, 2009). Ao mesmo tempo, o processo produtivo deixa de focar somente nos aspectos quantitativos de produção, mas também nos aspectos qualitativos, surgindo assim ações para incrementar e ou assegurar a qualidade dos produtos ao longo do seu processo produtivo e comercial (TREVISAN et al., 2010).

Para garantir o fornecimento de frutas de alta qualidade é importante realizar análises de controle, além de conhecer as características da espécie no momento da maturação. Cor, tamanho, firmeza de polpa, teor de sólidos solúveis e acidez titulável, são os parâmetros comumente utilizados para avaliar a maturação e a qualidade das frutas. Estas análises são simples e nem sempre realizadas com rapidez, e como se tratam de parâmetros destrutivos, podem ser mensurados sobre um número limitado, muitas vezes não representativos da variabilidade presente nas plantas ou em uma partida comercial, não fornecendo toda informação necessária para identificar acuradamente o estádio de maturação das frutas, especialmente se considerado individualmente (COSTA et al., 2006).

Outros parâmetros fisiológicos, bioquímicos ou biomoleculares, tal como emissão de compostos voláteis aromáticos e etileno, respiração, pectinas solúveis, clorofila, teor de carotenóides e/ou de flavonóides, e níveis de mRNA de genes

relacionados com maturação, podem aprimorar as informações disponíveis, pois elas estão estritamente relacionadas a maturação. Contudo, essas análises não podem ser rotineiramente realizadas, pois são complexas, de alto custo e não fornecem a informação em tempo real necessária para a prática agronômica (CARRARI et al., 2006).

Vários ensaios têm sido feitos para substituir as análises sensoriais e/ou instrumentais por tecnologias mecânicas, ópticas e eletromagnéticas. Particularmente, entre as técnicas de utilização eletromagnética, destaca-se a espectroscopia no visível (Vis) e no infravermelho próximo (“Near-Infrared”-NIR).

A espectroscopia na região do infravermelho próximo explora as propriedades da luz, medindo a energia gerada pela interação com as moléculas da amostra em um espectro de comprimento de onda entre 780 e 2500nm (OSBORNE, 2000). A utilização desta técnica na avaliação dos parâmetros físico-químicos oferece inúmeras vantagens como a possibilidade de realizar medidas em um grande número de amostras, assim como, repetir a análise em tempo real sobre a mesma amostra para acompanhar a sua evolução fisiológica (NICOLAI et al., 2007), além de não gerar resíduos e podem ser adaptada nas linhas de classificação das frutas.

Uma das limitações da utilização da espectroscopia do infravermelho próximo, em análise de qualidade de frutas, deve-se ao fato que as instrumentações utilizadas requerem calibrações específicas para cada parâmetro e para cada cultivar (NOFERINI et al., 2009).

Segundo Nicolai et al. (2007), os modelos de calibrações devem ser baseados em um amplo conjunto de dados considerando as diferentes condições operacionais que englobam a cultura utilizada, assim como a espécie e as condições climáticas e agronômicas na qual estão submetidas.

Um modelo é construído e validado pela utilização de vários conjuntos de amostras. O primeiro é o conjunto de calibração usado para estabelecer o modelo. O segundo conjunto de amostras é o conjunto de validação usado para avaliar a capacidade do modelo para estimar amostras desconhecidas, o conjunto de calibração e de validação são independentes e devem consistir amostras de lotes distintos (ROGGO et al., 2007).

Entretanto, na prática, estipular as frutas que irão compor as amostras para o procedimento de calibração não é uma tarefa fácil, pois a maturação em frutas,

principalmente nas climatéricas, normalmente é concentrada em poucas semanas tornado difícil contemplar todas as classes de maturação em um mesmo período.

Trabalhos de calibrações envolvendo a época de colheita já foram testados por Guthrie et al. (1998), onde os autores constataram que calibrações realizadas em diferentes épocas de colheita apresentaram baixos coeficientes de determinação em culturas como melões e abacaxis. McGlone e Kawano (1998), obtiveram erros significativos na validação de kiwis quando a variabilidade no tamanho, na origem e na firmeza não foram incorporados aos modelos de calibração NIR para os parâmetros firmeza de polpa, teor de matéria seca e sólidos solúveis.

Bobelyn et al. (2010) avaliou o efeito da época de colheita, da cultivar, da origem das frutas na precisão dos modelos de calibração utilizando NIR para sólidos solúveis e firmeza de polpa em maçãs. Os autores concluíram, através da validação, que um modelo de calibração confiável requer grandes conjuntos de dados, variabilidade e devem ser suficientemente representativos para haver sucesso na avaliação de amostras futuras.

Ainda dentro deste contexto, a espectroscopia nas regiões do visível e do infravermelho (Vis/NIR) foi utilizada para o desenvolvimento de um índice de maturação (Índice-DA), calculado com base na diferença de absorbância entre dois comprimentos de onda perto do pico de absorção da clorofila-a, este método apresenta-se como uma evolução do sistema acima citado, propondo detectar um valor sem o requerimento de calibrações (COSTA et al., 2008). Segundo Cen e He (2007), os métodos ópticos são úteis comparados com as técnicas destrutivas, entretanto necessitam de uma complexa elaboração estatística dos dados e, para alguns parâmetros não fornece resultados satisfatórios. Devido a estes motivos e aliado ao elevado custo da instrumentação atualmente disponível no mercado, o índice DA demonstra ser uma opção simples, econômica e confiável para estabelecer rapidamente e precisamente o estádio de maturação das frutas seja no campo, quanto nos centros de distribuição (NOFERINI et al., 2009).

O índice DA é capaz de caracterizar as modificações fisiológicas e físico-químicas que ocorrem durante a maturação das frutas, principalmente aqueles que apresentam características de comportamento climatérico (TRAINOTTI et al., 2006), no qual se caracterizam por apresentar um aumento rápido e acentuado na atividade respiratória, com amadurecimento imediato (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Em pêssegos o índice DA foi correlacionado positivamente com as fases de maturação, sendo estas relacionadas com a emissão de etileno e com a degradação das clorofilas do mesocarpo das frutas (ZIOSI et al., 2008). Autores como Costa et al. (2008), caracterizaram a evolução da maturação de diversas espécies como pêssego, nectarina, damasco e maçã assim como estabeleceram a época ideal de colheita em damasco, utilizando a técnica do índice DA.

Na mangicultura, a qualidade das frutas para o consumo e sua capacidade de conservação pós-colheita depende, principalmente, do estádio de desenvolvimento desta no momento da colheita. Assim, frutas que não completaram a fase de desenvolvimento fisiológico no campo, podem conservar-se por um longo período de tempo, porém jamais alcançarão a qualidade ideal para o consumo (GUARINONI, 2000). Segundo Botton (1992), o estádio inadequado de maturação fisiológica é uma das maiores causas de perdas, ou baixa qualidade de mangas brasileiras que chegam à Europa por via marítima.

Devido a estes fatores, definir o ponto de colheita apenas por métodos subjetivos como mudança na coloração da epiderme e consistência das frutas pode ser uma prática arriscada principalmente naquelas destinadas ao consumo in natura e correlacionar este índice com as fases de maturação das frutas poderá ser uma alternativa mais segura e confiável para esta decisão.

Ainda dentro deste contexto, os processos de maturação envolvem também mudanças no conteúdo e composição dos pigmentos presentes na epiderme das frutas (SOLOVCHENKO et al., 2006), como por exemplo, a degradação da estrutura dos cloroplastos e perda do conteúdo de clorofila e, em cultivares que apresentam coloração vermelha o acúmulo de antocianinas na epiderme das frutas, e o conhecimento destes eventos também pode ser utilizado como indicador do estádio em que esta fruta se encontra bem como a qualidade que apresenta (MERZLYAK et al., 2002).

É possível demonstrar que um método óptico desenvolvido para avaliar polifenóis foliares pode ser aplicado para a avaliação não-destrutiva *in situ* de antocianinas (ANT), em bagas de uva (AGATI et al., 2007). O método é baseado na medição da fluorescência da clorofila. Quanto maior a concentração das antocianinas, menor o sinal de fluorescência da clorofila. A utilização desta técnica

pode ser um instrumento promissor na quantificação ou acompanhamento dos parâmetros envolvidos no amadurecimento das frutas (LAI et al., 2007).

Nos últimos anos aumentou o interesse por estes métodos não destrutivos encontrando-se atualmente diversas publicações com diferentes aplicações. No entanto, o problema consiste em saber como explorar estes métodos na prática e que dificuldades existem na sua implementação. Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho utilizar as técnicas da espectroscopia do Visível/infravermelho próximo (Vis/NIR) e fluorescência da clorofila para determinar parâmetros de maturação e qualidade em pêssego, manga e maçã.

PROJETO DE PESQUISA

1. Título

Caracterização físico-química e fitoquímica de frutas de pessegueiros sobre diferentes porta-enxertos.

2. Antecedentes e Justificativas

O Pêssego é o oitava fruta mais produzida no mundo e um dos mais consumidos *in natura*. A produção mundial em 2007 foi de 17.439.531 toneladas em uma área de 1.486.114 hectares, com a produtividade média de 11,7 toneladas por hectare (tha^{-1}). Para o mesmo período no Brasil, os dados de produção para pêssegos e nectarinas foram de 186.000 toneladas distribuídas em uma área de 22.398 hectares, alcançando assim a média de 8.3 ton ha^{-1} (FAO, 2009). O Rio Grande do Sul conta com uma área colhida de 14.857 hectares e produção de 94.044 toneladas apresentando uma produtividade de apenas 6,33 ton ha^{-1} (IBGE, 2007). Estes valores demonstram como a produção brasileira é insuficiente para o abastecimento interno, devido principalmente à sazonalidade da produção, à baixa produtividade, problemas de logística e a alta perecibilidade das frutas.

A importação brasileira de pêssegos, no ano 2008, foi de 8.289.204 kg, sendo a sétima fruta mais importada (IBRAF, 2008). Esta condição é devido aos diversos fatores referidos anteriormente, por isso é necessário executar medidas como: aumento da produtividade das áreas em produção e melhorar a logística e a qualidade das frutas, objetivando melhorar o abastecimento interno.

Atualmente, os pomares comerciais de pessegueiro são constituídos por porta-enxertos cujas mudas são obtidas por meio de sementes provenientes das indústrias de conserva. Em sua grande maioria, estes porta-enxertos são compostos por misturas varietais de cultivares tardias, que não atendem às exigências mínimas de qualidade para certificação de mudas e uniformidade dos pomares (FACHINELLO, 2000; ROCHA, 2006).

A influência dos porta-enxertos sobre as características vegeto- produtivas é tema de inúmeras pesquisas nas principais regiões produtoras mundiais, e seus resultados servem de base para a definição das linhas de pesquisa dos programas de melhoramento de porta-enxertos e de recomendação segura para produtores e viveiristas (ROSSI et al., 2004). Porém, Giorgi et al. (2005), observam que geralmente as pesquisas são realizadas sobre o efeito da fisiologia da cultivar copa e essencialmente centrada na capacidade de adaptação, tamanho da planta e na frutificação**,** não verificando outros possíveis efeitos, muitas vezes desejáveis, proporcionados pelo porta-enxerto, como a influência na qualidade das frutas.

No pêssego, a maior fonte da capacidade antioxidante é representada pelos compostos fenólicos, estes constituem a maior categoria de fitoquímicos em vegetais, são de grande interesse para a saúde humana, pois agem como antioxidantes naturais, e também para a fisiologia pós-colheita, devido ao desenvolvimento da coloração e do ´flavor` nas frutas (DE ANGELIS, 2001; CHITARRA; CHITARRA, 2005). Dentre os fitoquimicos, o conhecimento dos teores de compostos fenólicos nas frutas é de grande importância, pois algumas fisiopatias dependem da quantidade destes compostos e do nível de enzimas como a polifenoloxidade (PPO) e a peroxidase (POD), estas referidas enzimas, na presença de oxigênio desencadeiam o fenômeno chamado escurecimento enzimático (CANTILLANO, 1998).

As características pós–colheita das frutas estão intimamente ligadas à escolha do porta–enxerto, da cultivar copa e do manejo adotado na implantação e

na condução do pomar. De acordo com pesquisas recentes, o porta–enxerto exerce influência tanto sobre aspectos físicos quanto na composição química das frutas avaliadas após a colheita, promovendo alterações no diâmetro, coloração, teores de sólidos solúveis, acidez titulável das frutas (FORNER–GINER et al., 2003; AL–JALEEL et al., 2005) e fitoquímicos (TAVARINI et al., 2007; REMORINI et al., 2008).

As análises de pós-colheita são de fundamental importância para garantir o fornecimento de frutas de qualidade. Os parâmetros: cor, tamanho, firmeza de polpa, teor de sólidos solúveis (SS) e acidez titulável (AT), são comumente usados, por serem de simples e rápida avaliação. A coloração é um importante atributo de qualidade tanto nos produtos *in natura* como nos processados, os produtos de cor forte, com maior recobrimento de cor vermelha são os preferidos, e correspondem a um dos principais critérios de julgamento para identificação do amadurecimento das frutas. (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A coloração da maioria das frutas é resultante das clorofilas, carotenóides e pigmentos fenólicos (antocianinas e proantocianinas) onde estão presentes principalmente na epiderme das frutas. As antocianinas são metabólicos pertencentes à classe dos flavonóides (WALON et al., 2006), são largamente encontradas na natureza e responsáveis pela maioria da coloração azul, violeta e vermelha das frutas (MALACRIDA; MOTA, 2005).

A quantificação destes compostos de acordo com a intensidade de recobrimento poderá prover uma melhor forma indicadora dos atributos nutracêuticos destas cultivares, servindo também, de impulso para o consumo de partes comumente rejeitadas como as cascas já que é nelas que se encontram a maioria das antocianinas, cujo principal emprego biológico atribuído é atividade antioxidante (SUN et al., 2002; MEYERS et al., 2003).

As análises convencionais envolvem reagentes, pessoal treinado, tempo despedido, além disso, todas as análises citadas acima requerem destruição dos frutos e são geralmente carreadas em amostras pequenas não totalmente representativas da variabilidade presente na planta ou num lote de frutos. Vários ensaios têm sido feitos para substituir análises sensoriais e/ou instrumentais por avaliações analíticas não destrutivas.

Nos últimos anos, tem sido extensa a investigação sobre o desenvolvimento de técnicas não destrutivas de avaliação na fase de amadurecimento das frutas.

Estes métodos oferecem uma série de vantagens, como a possibilidade de aumentar as medições a um número elevado ou mesmo para todas as frutas, e para repetir a análise sobre as mesmas amostras, controlando as suas alterações fisiológicas (NICOLA et al., 2007). Como exemplo de técnica de avaliação não destrutiva, encontra-se disponível a espectroscopia Visível/infravermelho próximo (Vis/NIR - “Near infrared/Visible spectroscopy”).

O NIR é uma ferramenta útil para avaliar os componentes de produtos orgânicos, por sua grande potencialidade e aplicação. Comparado com outras técnicas não destrutivas, esta técnica não necessita de preparo de amostras e não geram resíduos. Além de a análise ser simples, rápida e de melhor repetibilidade em comparação ao método tradicional, permite que vários constituintes sejam analisados simultaneamente. O NIR integra as áreas da espectroscopia, quimiometria (estatística) e computação de dados.

Portanto, com base no que foi exposto objetiva-se com este projeto avaliar às características físico-químicas de pêssegos ‘Maciel’ e ‘Chimarrita’ sobre diferentes porta-enxertos, utilizando métodos convencionais e métodos não destrutivos (NIR) e pela determinação das características fitoquímicas dos mesmos em frutas com diferentes porcentagens de recobrimento de coloração vermelha.

2.1. Revisão Bibliográfica

2.1.1 Influência do porta-enxerto sobre a qualidade das frutas

Um dos principais problemas que a cultura do pessegueiro apresenta no Brasil é a falta de homogeneidade das plantas, decorrente da propagação sexuada dos porta-enxertos. Plantas provenientes de sementes apresentam grandes variações no desenvolvimento, fato que dificulta a formação de um lote uniforme. Essa situação é agravada na região Sul do País, onde são utilizados caroços provenientes de diversas cultivares-copa de maturação tardia, obtidas junto às indústrias que processam pêssego, aumentando ainda mais a variabilidade genética e o vigor dos porta-enxertos (PEREIRA; MAYER, 2005).

Nas principais regiões produtoras de pêssego, são usados diferentes porta-enxertos em razão de condições específicas de clima e solo (FINARDI, 2003). É indispensável o conhecimento das características bioagronômicas dos porta-enxertos atualmente disponíveis no mercado, para que se faça a escolha apropriada (LORETI, 2008).

A avaliação precisa das respostas dos porta-enxertos, e a identificação da melhor combinação do enxerto com o porta-enxerto são importantes para se obterem produções de qualidade (RATO et al., 2008).

O conhecimento da interação cultivar, copa e porta-enxerto é um importante instrumento para promover a renovação da produção frutícola, assegurando o controle do tamanho e ou vigor da planta, possibilidade de antecipar a frutificação e o melhoramento quantitativo da produção (CARUSO et al., 1996; LORETI; MASSAI, 1999; BARDEN; MARINI, 1999) porém, não perdendo de vista a importância da qualidade, propriedades físico-químicas e o valor nutracêutico das frutas (WANG et al., 1996).

Segundo Giorgi et al. (2005), a chave para a expansão comercial da produção de pêssegos é a promoção e manutenção dos padrões de qualidade, envolvendo a avaliação rigorosa do genótipo dos porta-enxertos, respostas para o crescimento e identificação das melhores combinações.

A escolha do porta-enxerto oferece possibilidades de aumentar a adaptabilidade das espécies frutícolas a diversas condições e sistemas de cultivo. Isto implica a necessidade de aprofundar e conhecer as respostas agronômicas e produtivas dos porta-enxertos disponíveis para as diversas espécies, levando em conta também as características qualitativas e nutracêuticas das frutas (SCALZO et al., 2006). Os aspectos que favorecem a melhoria da qualidade das frutas, sem comprometer a produtividade, são considerados de elevada importância, pois permitem uma melhor perspectiva de valorização da produção. Além dos efeitos sobre as características vegeto-produtivas da planta, o porta-enxerto exerce influência sobre as características de qualidade das frutas como conteúdo de açúcares, ácidos, sais minerais (CARUSO et al., 1996) e atividade antioxidante (Di VAIO et al., 2001; GIORGI et al., 2005; SCALZO et al., 2005).

Vários estudos permitiram caracterização da qualidade das frutas e seus atributos nutricionais em diferentes seleções de pessegueiros, bem como suas

relações com os porta-enxertos. Rocha et al. (2007) avaliou o comportamento da cultivar ‘Chimarrita’ sobre os porta-enxertos ‘Aldrigui’, ‘Okinawa 1’, ‘Tsukuba’, ‘Capdeboscq’ e ‘GF 305’, na região de Pelotas. Como resposta os porta-enxertos Capdeboscq, Okinawa 1 e Tsukuba induziram a um incremento na massa e no diâmetro dos frutos da cultivar Chimarrita. Picolloto et al. (2009) determinaram as características físico-quimicas da cultivar Chimarrita sob a influência destes mesmos porta-enxertos e concluiram que a qualidade das frutas quanto à relação sólidos solúveis/acidez titulável, tonalidade de cor, firmeza de polpa e teor de fenóis totais foi alterada pelos porta enxertos ‘Capdeboscq’, ‘Tsukuba’ e ‘Okinawa’.

Montes et al., (2008) trabalhando na região de Presidente Prudente (SP) analisou o comportamento das cultivares Talismã, Aurora 1, Dourado 2, Doçura 2, Aurora 2 e Tropical sobre os porta-enxertos Okinawa e Umezeiro. O porta-enxerto Okinawa proporcionou maiores valores de sólidos solúveis totais (SST) para as cultivares Talismã e Tropical (14,55 e 13,13 ºBrix respectivamente) e para a acidez titulável (AT) a cultivar Tropical apresentou frutas menos ácidas comparadas com os demais tratamentos. No porta-enxerto Umezeiro as cultivares não diferiram nos valores de sólidos solúveis, porém, a acidez foi menor nas cultivares Tropical, Aurora 1 e Aurora 2. A cv. Tropical apresentou a melhor relação SS/AT, com frutas de maior *ratio*, para os dois porta-enxertos.

Mathias et al. (2008), avaliando a qualidade pós–colheita de pêssegos da cultivar 'Aurora–1' enxertada sobre quatro porta–enxertos: 'Okinawa' propagado por sementes e por estacas herbáceas, Clone 15 e cv. Rigitano de umezeiro propagados por estacas herbáceas. O uso do Clone 15 de umezeiro como porta–enxerto induziu à produção de frutas com maior teor de sólidos solúveis, em relação ao 'Okinawa' propagado por estacas herbáceas. Os porta–enxertos estudados não influenciaram na coloração externa, no ângulo de cor e na luminosidade do mesocarpo, na firmeza e na acidez dos pêssegos 'Aurora–1'. Além disto, Gil et al. (2002) em um estudo de composição antioxidante em uma cultivar de pêssegos, mostraram que os compostos fenólicos foram a principal fonte de antioxidantes e atribuiu aos porta-enxertos o fator determinante na qualidade da fruta. Os valores variaram provavelmente em função da capacidade de captação de água e nutrientes disponíveis no solo de cada porta-enxerto e à eficiência de conversão dos assimilados às frutas, como por exemplo, o uso de porta-enxerto anão tem a

capacidade de deslocar mais nutrientes para as frutas, pois é menor a concorrência por nutriente fornecida pelo crescimento vegetativo (CHALMERS; MITCHELL; VAN HEEF, 1981).

Remorini et al. (2008), verificaram a influência de quatro porta-enxertos, 'Ishtara', 'Mr. S 2/5', 'GF 677' e 'Barreira 1', sobre a qualidade e valor nutricional (casca e polpa) de frutas de pessegueiros 'Flavorcrest', analisando também vitamina C (ácido ascórbico), fenóis, carotenóides (β-caroteno) e atividade antioxidante, nos períodos de início, meio e fim da colheita. Como resultado as frutas provenientes dos porta-enxertos 'Mr. S 2/5' e 'Barrier 1'. 'Mr. S 2/5' e 'Barrier 1' apresentaram maior atividade antioxidante e superior conteúdo fitoquímico, apesar das frutas 'Mr. S 2/5' apresentarem-se menos firmes quando coletados no meio e no final da colheita. Na determinação dos fenóis, ácido ascórbico e β-caroteno na casca e na polpa, observaram-se que a remoção da casca do pêssego resulta em uma perda significativa da atividade antioxidante total. O teor de fenóis na casca foi mais elevado em Mr. S 2/5 na fase final da colheita, sendo superior ao encontrado na polpa dos frutos. O teor de ácido ascórbico foi maior na fase final da colheita para o porta-enxerto 'Barrier 1'. Em 'Ishtara', 'Mr. S 2/5' e em 'Barrier 1', observaram-se os maiores teores de β-caroteno e enquanto na epiderme das frutas, o valor mais elevado foi observado no 'Mr. S 2/5' na fase final da colheita.

Tavarini et al. (2008), mostrou que o genótipo da cultivar também desempenha papel importante na determinação da capacidade antioxidante em frutas de pêssegos. Drogoudi e Tsipouridis (2007), determinando a variabilidade das características física e da capacidade antioxidante na epiderme e na polpa de frutas de cultivares de pêssegos 'Andross', 'Catherina', 'Everts', 'Fortuna', 'Loade', 'Romea', seleções PI-A37, PI E-45 e PI-IB 42, enxertados em três porta-enxertos sendo eles: GF 677, PT 204 e KID1. Os autores observaram um pequeno efeito do porta-enxerto sobre o conteúdo antioxidante, e um pronunciado efeito da cultivar sobre esta característica, sendo mais atribuída a origem genética. A cultivar Everts e o genótipo PI-E45 podem ser considerados uma boa fonte de antioxidantes, sendo os maiores valores encontrados na casca. As cultivares PI-E45, PI-IB42 e PI-A37 apresentaram bom tamanho e qualidade de frutas.

2.1.2 A influência dos fatores ambientais na qualidade das frutas.

O clima possui forte influência sobre a cultura do pessegueiro, sendo importante na definição das potencialidades de cultivo das regiões. Ele interage com os demais componentes do meio natural, em particular com o solo, a variedade e as técnicas de cultivo aplicadas à cultura.

Os fatores ambientais englobam temperatura, luz, umidade relativa, vento, altitude, pluviosidade e textura do solo e exercem papel fundamental na qualidade das frutas em termos de sabor, aroma, textura, espessura da epiderme ou potencial de armazenamento (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Segundo Hertel et al. (2003), a temperatura do ar apresenta diferentes efeitos sobre a cultura do pessegueiro e ocorre variações em função das diferentes fases do ciclo vegetativo. As temperaturas de inverno são importantes para a fase de repouso do pessegueiro conhecido como dormência. Na fase de pré-colheita, temperaturas relativamente altas, sem serem excessivas combinadas com temperaturas amenas no período da noite, conferem melhores padrões de qualidade de pêssegos (concentração de açúcar e coloração adequada).

A insolação e a radiação solar são fatores climáticos importantes nos processos de desenvolvimento e maturação das frutas, ambos os fatores são maiores no período de verão, pelo fato dos dias serem mais longos e pela menor freqüência de chuvas e menor número de dias encobertos. A insolação também está atrelada às coordenadas geográficas, pois em latitudes maiores, os dias de verão são maiores e, consequentemente, maior o período de radiação solar e maior o potencial de insolação.

O pessegueiro é uma frutífera de clima temperado, portanto os mais importantes centros de produção comercial situam-se em latitudes de 25ºN e 45ºS. Em latitudes maiores, a temperatura mínima de inverno e as geadas são normalmente os fatores limitantes, portanto em cotas elevadas, o cultivo pode estender-se a regiões tropicais (SCALOPPI, 2006).

Dentre os índices de qualidade de fruta influenciados por luz, destacam-se o tamanho da fruta, a firmeza, a concentração de sólidos solúveis, a acidez e a coloração da epiderme. Normalmente a quantidade de luz interceptada pela fruta está em função da posição desta na copa. O tamanho das árvores, espaçamento,

orientação da fila, forma da copa e tipo de sistema adotado influencia na distribuição da luz no interior das plantas. Frutas que recebem pouca luz desenvolvem maior intensidade de cor amarela, diminuindo assim a cor vermelha. Aumentando a exposição da fruta ao sol, há um aumento da absorbância da luz, podendo aumentar a coloração vermelha dos frutos (HERTEL et al., 2003).

Outros fatores que afetam a qualidade das frutas são os ventos, as precipitações e a ocorrência de geadas. O nível de umidade é um fator crítico, pois o estresse hídrico pode diminuir tanto o rendimento da produção como o tamanho das frutas, aumentando a perda de massa, e também deprecia a aparência devido à descoloração (CHITARRA ; CHITARRA, 2005).

A região de Pelotas, Porto Alegre e Bento Gonçalves, faz parte, segundo a classificação de Köppen, da região do Brasil que é de clima mesotérmico úmido (Cf). Esta classificação determina que a temperatura média do mês mais frio situe-se entre 18 e –3°C (C), que no mês mais seco a precipitação seja maior do que 60 mm (Cf).

O clima predominante Cfb (clima temperado úmido com verão temperado) é encontrado em Pelotas e Bento Gonçalves. Apesar da região de Pelotas apresentar elevada probabilidade de ocorrência de deficiência hídrica durante os meses de dezembro, janeiro e fevereiro, no restante do ano esta é bastante reduzida, principalmente durante os meses de inverno, sendo também, comum a ocorrência de geadas e de granizo (REISSER JUNIOR et al., 2008). Na região de Porto Alegre o clima predominante é cfa subtropical húmido, com verões quentes.

2.1.3. Compostos físico-químicos e fitoquímicos presentes em frutas

O grau de excelência de um produto, bem como a sua aceitação pelo consumidor, está relacionado aos seus atributos de qualidade que, em frutas e hortaliças *in natura*, engloba a aparência, os atributos sensoriais, o valor nutritivo, os constituintes químicos e as propriedades funcionais (KADER, 2002).

Em pêssegos, com o início da maturação, ocorre um aumento acentuado na produção de etileno que leva a alteração na cor, textura, sabor e aroma das frutas, que contribuem para os níveis de qualidade (TRAINOTTI et al., 2006).

A avaliação dos compostos químicos responsáveis pelo sabor é normalmente realizada por métodos objetivos comuns (físico-químicos). O teor de sólidos solúveis totais (SS) é utilizado como uma medida indireta de açúcares, uma vez que aumenta de valor à medida que esses teores vão se acumulando nas frutas. A sua medição não representa o teor exato de açúcares, pois outras substâncias também se encontram dissolvidas na seiva vacuolar (vitaminas, fenólicos, pectinas, ácidos orgânicos e outros), no entanto entre essas, os açúcares são as mais representativas, chegando a constituir 85% a 90% dos SS. Os teores variam com a espécie, cultivares, estádios de maturação e clima.

A acidez é atribuída principalmente aos ácidos orgânicos que se encontram dissolvidos nos vacúolos das células. Estes ácidos são translocados das raízes ou das folhas para as frutas, sendo que, durante o processo de maturação os teores diminuem, em decorrência do seu uso como substrato no processo respiratório ou de sua conversão de açúcares. Em pêssegos ocorre a predominância dos ácidos cítrico e málico (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A textura é ditada pela maciez ou pela firmeza de polpa e a perda progressiva destas características ocorre como conseqüência do amadurecimento normal. O sabor e o aroma são apreciados em conjunto e designados como “flavor” que, na realidade, é a percepção sutil e complexa da combinação entre sabor (doce, ácido, adstringente, amargo), odor (substâncias voláteis) e textura (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A coloração é o atributo de qualidade mais atrativo para o consumidor, e corresponde a um dos principais critérios de julgamento para identificação do amadurecimento, além disto, é utilizada como parâmetro para a seleção de muitos produtos em classes e categorias comercias. A modificação na coloração das frutas ocorre devido tanto a processos degradativos, como processos de síntese. A diferença de coloração entre as cultivares deve-se ás diferenças na concentração e proporção entre os pigmentos.

Os alimentos caracterizam-se como funcionais pela presença de uma ou mais substâncias com ação antioxidante capazes de atuar no metabolismo ou na fisiologia do organismo humano, retardando o envelhecimento e prevenindo certas doenças, como câncer, obesidade e problemas cardíacos (DIPLOCK et al., 1999; BRASIL, 2008).

O crescente interesse pelos antioxidantes naturais de extratos de plantas é devido à sua baixa toxicidade em relação aos antioxidantes sintéticos. Extratos de frutas, vegetais, cereais e seus subprodutos industriais são ricos em antioxidantes como: ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides e compostos fenólicos e têm demonstrado eficaz atividade antioxidante (WOLFE; WU; LIU, 2003; MANACH et al., 2004).

Várias fontes de antioxidantes naturais são conhecidas e algumas são amplamente encontradas no reino vegetal sendo esta característica atribuída ao seu conteúdo de compostos fenólicos (WETTASINGHE et al., 1999).

Os compostos fenólicos são formados no metabolismo secundário dos vegetais e possuem funções de defesa contra o ataque de pragas, estado de estresse e outros. Já em animais e humanos tem-se observado que são capazes de reagir com radicais livres, formando radicais estáveis. Esse poder de neutralização das estruturas dos compostos fenólicos é devido à sua estrutura química formada por pelo menos um anel aromático com grupamentos hidroxilas (GIADA; MANCINI-FILHO, 2006).

Os fenólicos, em plantas, são essenciais no crescimento e reprodução dos vegetais, além de atuarem como agente antipatogênico e contribuírem na pigmentação (SHAHIDI; NACZK, 1995). Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma (PELEG et al., 1998) e estabilidade oxidativa (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Quimicamente, os fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (LEE et al., 2005). Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (ANGELLO; JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos são biossintetizados por diferentes rotas, razão pela qual constituem um grupo bastante heterogêneo do ponto de vista metabólico. Duas rotas metabólicas básicas estão envolvidas na síntese dos compostos fenólicos: a rota do ácido chiquimico e a rota do ácido malônico. A rota do acido chiquimico participa na biossíntese da maioria dos fenólicos vegetais, converte precursores de carboidratos derivados da glicólise e é sintetizada por três aminoácidos aromáticos –

fenilalanina, tirosina e triptofano. A rota do ácido malônico é menos significativa nas plantas superiores.

As classes mais abundantes de compostos fenólicos em plantas são derivadas da fenilalanina, por meio da eliminação de uma molécula de amônia para formar o acido cinâmico. Esta reação é catalisada pela fenilalanina amônia liase (PAL phenylalanine ammonia lyase), uma das enzimas mais estudadas no metabolismo secundário vegetal. A PAL está situada em um ponto de ramificação entre o metabolismo secundário e primário, de modo que a reação que ela catalisa é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos. A quantidade da enzima PAL é aumentada por fatores ambientais, tais como baixos níveis de nutrientes, luz (pelo seu efeito no fitocromo) e infecção por fungos, o que estimula a síntese de compostos fenólicos (TAIZ; ZEIGER 2006). O teor dos compostos fenólicos em frutas varia largamente com a espécie, cultivar, local de cultivo e estação do ano (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Carotenóides são substâncias coloridas, amplamente distribuídas na natureza, principalmente em plantas, as quais se encontram nos cloroplastos, sempre acompanhando as clorofilas (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). São insolúveis em água e, usualmente, encontram-se nos tecidos vegetais em pequenas proporções, resultando na gama de coloração característica de cada espécie e ou cultivar. Com a degradação da clorofila, os carotenóides previamente presentes nos tecidos, tornam-se visíveis, ou também podem ser sintetizados com o avanço da maturação das frutas.

Estes compostos são corantes naturais das frutas e vão do amarelo ao vermelho despertando a atenção devido a sua relevante contribuição para a capacidade antioxidante (LIMA et al., 2005). Porém sua importância também está relacionada a funções ou ações biológicas nos seres humanos, como pró-vitamína A, fortalecimento do sistema imunológico, diminuição do risco de doenças degenerativas como câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular e catarata. A composição qualitativa e quantitativa dos carotenóides é influenciada por muitos fatores, incluindo o genótipo, o estádio da maturidade, as condições climáticas, a parte da fruta, as condições de manipulação pós-colheita, no armazenamento e no processamento (RODRIGUEZ-AMAYA, 1993; REMORINI et al., 2008).

Ao contrário das frutas tropicais, muitas das quais ricas em carotenóides, as frutas de clima temperado são normalmente ricas em antocianinas e pobres em carotenóides e os pêssegos que apresentam polpa amarela são exceções, pois apresentam quantidade satisfatória de carotenóides (SENTANIN; AMAYA, 2007).

As antocianinas são pigmentos solúveis em água, pertencentes à família dos flavonóides (WINKEL-SHIRLEY, 2001) e encontram-se principalmente nos vacúolos das células dos frutos. Em plantas, podem ser encontrados em flores, frutos, folhas, caules e sementes, tendo como funções: a atração de polinizadores, a dispersão de sementes, a proteção contra danos provocados pela luz UV e contra o ataque de patógenos (WINKEL-SHIRLEY, 2001). As antocianinas apresentam grande importância na dieta humana, podendo ser consideradas como agentes terapêuticos, por possuírem capacidade protetora contra o estresse oxidativo, pela sua capacidade de inativar radicais livres (ROSS; KASUM, 2002). Quanto à estabilidade, as antocianinas são estruturas estáveis em relação ao tempo de armazenamento a frio, o processo de congelamento não exerce influência nos teores antocianos diferentemente dos processos de fermentação e aquecimento onde ocorre a degradação da estrutura das antocianinas (KUSKOSKI et al., 2006).

Estes pigmentos são amplamente encontrados nas frutas de várias espécies, principalmente as popularmente conhecidas como frutas vermelhas, sendo o principal responsável pela coloração característica (MANHITA et al., 2006; MATTIVI et al., 2006; PAWLOWSA et al., 2006). Entretanto há relatos da presença de antocianinas em maçãs, acerolas, pêssegos, abacaxis, limões, laranjas, peras, pomelos e bananas (PAZMIÑO-DURÁN et al., 2001; HONDA et al., 2002; LIMA et al., 2002a; SUN et al., 2002; VENDRAMINI; TRUGO, 2004). Segundo Rababah et al., (2005) a concentração de antocianinas em morango apresentou-se na média de 138mg kg-^{1} de fruto, enquanto maçãs e pêssegos apresentaram, 18,9 e 11,00mg kg^{-1} de fruta respectivamente.

Em pessegueiro, quando submetidos a determinadas intervenções, como podas de verão e inverno, nutrição (FALLAHI e MOHAN, 2000), reguladores de crescimento (MILLER, 1998), porta-enxertos (PICOLLOTO et al., 2009), uso de materiais refletivos (LAYNE et al., 2002), além do efeito sobre o crescimento, floração e outros, a coloração das frutas também se intensifica (BIBLE; SINGHA, 1993). Segundo Ju et al., (1999), este incremento na coloração é conseqüência do

aumento na luminosidade, a luz estimula a síntese das antocianinas , as quais aceleram a expressão do gene para a enzima flavonóide-3-o-glicosil transferase, enzima esta que é responsável pela pigmentação vermelha.

As cascas das frutas assim como dos vegetais são comumente rejeitadas devido à idéia de serem indigestas ou então pela possibilidade de contaminação química ou microbiana. Porém muitos autores relatam a presença de um alto conteúdo de compostos fenólicos e antioxidantes nas cascas das frutas como maçãs (WOLFE, WU; LIU, 2003), assim como para tomates onde os níveis de licopeno são maiores na casca do que na polpa e sementes (TOOR; SAVAGE, 2005). Em pêssegos isto também é verdade, sendo a casca favorecida com quantidades relevantes de antioxidantes, incluindo conteúdo de compostos fenólicos (TOMAS-BARBERAM et al., 2001), carotenóides, acido ascórbico, antocianinas (GIL et al., 2002), comparados com a polpa, além de seus caracteres potenciais para a saúde, alguns destes compostos são responsáveis pela cor atraente das frutas (LAVELLI et al., 2009).

2.1.4. Vis/NIR - “Near infrared/visible spectroscopy

A segurança dos alimentos é uma questão importante no mundo todo e é diretamente relacionada com a saúde de uma população e o progresso social. Os consumidores estão gradualmente à procura de alimentos com selo de qualidade e este fator sublima o desenvolvimento de técnicas confiáveis e rápidas para avaliar a qualidade dos alimentos (HAIYAN ;CEN; HE, 2007).

Neste contexto surge a espectroscopia Visível/infravermelho próximo (Vis/NIR - “Near infrared/visible spectroscopy”) que se apresenta como uma ferramenta útil não-destrutível para avaliar os componentes de produtos orgânicos, por sua grande potencialidade e aplicação. Comparado com outras técnicas não-destrutivas, está técnica não necessita do preparo da amostra. Além de a análise ser simples, rápida e de melhor repetibilidade em comparação ao método tradicional de análises químicas, esta técnica permite que vários constituintes sejam analisados simultaneamente. Indústrias alimentícias e de bebidas vêm tradicionalmente usando

essa tecnologia de avaliação no controle da qualidade e do processo (WORKMAN et al., 1999).

A radiação do infravermelho próximo foi descoberta por Friedrich Wilhelm Herschel em 1800 (DAVIES, 2000). A absorção de radiação eletromagnética tem comprimento de onda que varia entre 780-2500 nm. A intensidade de radiação, que é refletida da superfície da amostra e analisada como uma função de comprimento de onda e, usualmente apresentada como espectro de absorbância. As mudanças no espectro devido às mudanças na composição química (C–H, O–H, e N–H) podem ser quantificadas e são de utilidade técnica (POPE, 1995; OSBORNE, 2000). Ou seja, a técnica se baseia no fato de que as ligações covalentes das substâncias orgânicas absorvem essa energia eletromagnética, usando-se essa absorção para estimar o número e tipo de ligações moleculares nas amostras. A absorção de luz então é medida por diferenças entre a quantidade de luz emitida pelo NIR e a quantidade de luz refletida pela amostra e a ocorrência relativa de cada fenômeno depende da constituição química e dos parâmetros físicos da amostra (VAN KEMPEM; JACKSON, 1996).

A técnica é baseada na dispersão e absorção seletiva da radiação Vis/NIR dependendo da estrutura e composição química do produto. O dado espectroscópico sobre a qualidade interna de um produto é obtido avaliando-se a absorção da luz Vis/NIR por grupos funcionais a um especifico comprimento de onda (BANWELL, 1983).

O procedimento típico é obter uma série de amostras de calibração e avaliar os dados espectrais, como também as características qualitativas de interesse, determinada por um (normalmente destrutível) método referencial. Através de técnicas de calibração multivariadas, um modelo de calibração é então estabelecido para descrever a propriedade de interesse como função do dado espectral avaliado (PEIRS et al., 2003).

A espectroscopia NIR foi pela primeira vez usada na agricultura por Norris (1964) para avaliar umidade em grãos (NICOLAI et al., 2007). Desde então, tem sido empregado para análise rápida de umidade, teores de proteínas e de gordura, em uma ampla variedade de produtos alimentícios e agrícolas (DAVIES; GRANT, 1987; GUNASEKARAN; IRUDAYARAJ, 2001). As primeiras aplicações na horticultura foram sobre índices de matéria seca em cebolas (BIRTH et al., 1985), teor de

sólidos solúveis (SST) em maçãs (BELLON-MAUREL, 1992) e o teor de água em cogumelos (ROY et al., 1993). Como a propagação da radiação NIR em tecidos de frutas e legumes varia em relação à microestrutura do produto, descobriu-se que a espectroscopia NIR poderia também ser usada para medir atributos relacionados a tal, como por exemplo, firmeza (LAMMERTYN et al., 1998), danos internos (CLARK et al, 2003), e mesmo atributos sensoriais (MEHINAGIC et al., 2004).

Harker et al. (2008), visando melhoria no sistema de avaliação da qualidade em maçãs, compararam métodos destrutíveis (normalmente utilizados – firmeza, SS, acidez (AT) e pH com métodos não destrutíveis (avaliação da textura por um sensor acústico de firmeza – AFS ou pelo aparelho Sinclair (SIQ-FT), juntamente com espectroscopia NIR para avaliar SS) junto a analises sensoriais, e verificou forte correlação dos mesmos segundo preferência do consumidor. Diferentemente, Mehinagic et al. (2004), ao investigarem a possibilidade de prever a percepção sensorial da textura de maçãs por parâmetros instrumentais, mostrou que os testes de penetração pareciam ser os mais adequados para predizerem parâmetros sensoriais que medem a qualidade da fruta após a colheita. Miyamoto e Kitano (1995) e Kawano (1994), publicaram uma abordagem sobre prognóstico do teor de SS em citros usando a tecnologia NIR e analise de regressão por mínimos quadrados parciais para calibração.

A importância crescente da espectroscopia NIR na tecnologia pós-colheita de frutos é evidente a partir do recente aumento do número de publicações, bem como o fato de linhas de classificadores de frutas já utilizam o sistema NIR para medir diversos atributos de qualidade (NICOLA¨I et al., 2007).

2.1.5. Caracterização das cultivares copa.

Para o desenvolvimento do projeto, serão utilizadas duas cultivares copa, Chimarrita e Maciel.

A planta da cultivar Chimarrita é de vigor médio, de forma aberta e altamente produtiva. Produz muito bem em anos onde o acúmulo de frio hibernal atinge 200 horas. Geralmente a plena floração ocorre em meados de agosto e a maturação inicia-se ao final de novembro ou na primeira semana de dezembro. Apresenta

suscetibilidade a doenças foliares após a colheita, requerendo o adequado manejo fitossanitário para evitar a queda antecipada das folhas antes da dormência. A forma da fruta é redonda, sem ponta, com sutura muito levemente desenvolvida. A fruta apresenta tamanho grande, com peso médio, normalmente, superior a 100 g. A polpa é branca, fundente, firme, semi-aderente. O sabor é doce, sendo o conteúdo de sólidos solúveis variável entre 12 a 15° Brix e a produtividade em torno de 50 kg/planta tendo o seu destino para o consumo *in natura* (MEDEIROS; RASEIRA, 1998).

A cultivar Maciel apresenta vigor médio e forma aberta, é moderadamente suscetível à bacteriose. Adapta-se a regiões onde o acúmulo de frio hibernal esteja entre 200 a 300 horas, podendo produzir até 50 kg planta^{-1}. As frutas são de forma redondo-cônica e de tamanho grande, com peso médio próximo a 120 g. A película é amarelo-ouro, com até 20% de vermelho, a polpa é amarela, firme, não-fundente e aderente ao caroço, o sabor é doce-ácido, com leve adstringência, com teor de sólidos solúveis entre 11 e 16° Brix. Destaca-se pela produtividade, tamanho, aparência e resistência ao transporte. As frutas são de ótima qualidade após a industrialização, mas poderão, também, ter boa aceitação no mercado de consumo *in natura* (MEDEIROS; RASEIRA, 1998).

2.1.6 Caracterização dos porta-enxertos

O porta-enxerto ‘Aldrighi’ é uma cultivar selecionada por produtor na região de Pelotas, Rio Grande do Sul, provavelmente oriunda de lote de sementes de pêssego para conserva que havia sido introduzido da Argentina para ser industrializado naquela cidade. É uma fruta de polpa amarela, não fundente, adaptado a regiões com acúmulo de 250 a 350 horas de frio hibernal. É uma planta de floração precoce e maturação tardia (ROCHA, 2006). Na década de 50 foi a cultivar mais utilizada na indústria de conservas da região pela facilidade de se conseguirem caroços para porta-enxertos (FINARDI, 1998). O porta-enxerto Aldrighi apresenta boa afinidade com a maioria das cultivares empregadas no Sul do Brasil, induz médio vigor e média produção. Possui baixa resistência à asfixia, parece ser tolerante a

Criconemella xenoplax e é resistente a *M. incognita e M. javanica* (FACHINELLO et al., 2000).

'Capdeboscq' é uma cultivar originária do Programa de Melhoramento de Pessegueiro da Estação Experimental de Pelotas, atual CPACT, tendo sido obtida por polinização livre de um cruzamento entre 'Lake City' e uma seleção local chamada `Intermediária`. A cultivar é altamente produtiva e suas frutas são do tipo conserva. As sementes apresentam elevada porcentagem de germinação (MEDEIROS; RASEIRA, 1998). Segundo Finardi (1998), 'Capdeboscq' é um porta-enxerto de crescimento rápido, de pouco esladroamento antes da enxertia e de pouca ramificação nos primeiros 20 cm acima do colo da planta. É uma cultivar adaptada à regiões com cerca de 300 horas de frio. Esta cultivar apresenta baixo nível de resistência ao gênero *Meloidogyne* spp. (FACHINELLO et al., 2000).

O porta-enxerto 'Okinawa' é derivado de sementes coletadas na Ilha de Okinawa, Japão. A folha do 'Okinawa' tem coloração verde, florescimento precoce e não é exigente em frio. As plantas enxertadas sobre este porta-enxerto são vigorosas. Recomendado para a parte Sul do Japão, porque é pouco exigente em frio (100 horas de frio), a brotação ocorre no início da primavera (ROCHA, 2006). A cultivar Okinawa apresenta frutas de tamanho médio, oblongos com sutura bastante saliente, caroço solto, polpa branca de sabor ácido, com cerca de 20% dos caroços contendo duas amêndoas, devido à ocorrência do fenômeno chamado de falsa poliembrionia (ROCHA, 2006). Segundo Finardi (1998), a maturação das frutas ocorre aproximadamente 120 dias após a floração. Apresenta resistência aos nematóides *Meloidogyne incognita, M. javanica e M. e à podridão de raízes (*FACHINELLO et al., 2000; ROCHA, 2006) cita que Okinawa é resistente à *M. incognita* e não permite o desenvolvimento de larva após a introdução do patógeno nas raízes do porta-enxerto.

O porta-enxerto 'Nemaguard' selecionado da Califórnia (USA) é, supostamente híbrido de um pessegueiro chinês silvestre (*Prunus davidiana*) e alguma cultivar de pessegueiro cultivado. Como porta-enxerto, induz à cultivar bom vigor, com entrada rápida em frutificação. Em regiões quentes, sai do repouso antes do que outros francos, adiantando um pouco a maturação e aumentando o calibre dos frutos das cultivares-copa precoces. A principal característica é a tolerância aos nematóides *Meloidogyne javanica*, *M. arenaria*, como também a *Agrobacterium*. É

sensível ao nematóide *Pratylenchus* e aos fungos *Armilaria*, *Verticilium* e *Phytophthora*. A maior utilidade deste porta-enxerto é para plantio em solos ácidos ou neutros, com problemas de nematóide do gênero *Meloidogyne.* É vigoroso, homogêneo e compatível com as cultivares de pessegueiro (MEDEIROS e RASEIRA, 1998).

'Flordaguard' é um porta-enxerto híbrido de *P. persica* x *P. davidiana,* obtido na Flórida, em 1991. É propagado por semente, induz na cultivar copa médio vigor e produção, apresenta boa afinidade de enxerto e é resistente a *M. incognita e javanica* raças 1 e 3 (ROSSI et al., 2004). A necessidade de frio é estimada em torno de 300 horas. Tem folhas avermelhadas e ramos com hábito de crescimento tipo chorão. As sementes de 'Flordaguard' mostraram-se uniformemente resistentes a *Meloidogyne javanica e M. incógnita*, raças 1 e 3. Apresenta suscetibilidade à deficiência de ferro em solos alcalinos (MEDEIROS; RASEIRA, 1998).

O 'Umezeiro' (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) é uma frutífera de folhas caducas da família Rosaceae e nativa da China, é típica de clima temperado. No Japão, as primeiras cultivares foram introduzidas há 2.000 anos e adquiriram significativa expressão na alimentação e nos costumes orientais. A introdução desta espécie no Brasil deu-se, provavelmente, através dos imigrantes japoneses, que obtiveram produções satisfatórias somente a partir de 1970, em Botucatu-São Paulo, após inúmeros fracassos em função da utilização de materiais muito exigentes em frio (MAYER et al., 2004). Na persicultura o damasqueiro japonês apresenta perspectivas de utilização como porta-enxerto para formação de mudas de pessegueiro, dando origem a plantas de pequeno porte, em função do seu efeito ananizante (MIRANDA et al., 2003).

3. Hipóteses

O porta-enxerto e o clima interferem nas características físico-químicas e fitoquimicas das frutas.

Existe uma correlação positiva entre as análises de físico químicas determinadas por método não destrutivo (Nir) e métodos destrutivos (métodos convencionais);

4. Objetivos

4.1. Objetivo Geral

Avaliar as características físico-químicas de pêssegos ‘Maciel’ e ‘Chimarrita’ sobre diferentes porta-enxertos, utilizando métodos convencionais e métodos não destrutivos (NIR) e pela determinação das características fitoquímicas dos mesmos em frutas com diferentes porcentagens de recobrimento de coloração vermelha.

4. 2. Objetivos Específicos

- Avaliar o comportamento físico-químico e fitoquimico de frutas das cultivares Maciel e Chimarrita enxertadas sobre diferentes porta-enxertos;
- Avaliar este comportamento em três regiões distintas (Pelotas, Porto Alegre e Bento Gonçalves);
- Correlacionar às avaliações de sólidos solúveis, acidez e firmeza de polpa através de métodos convencionais e o método não destrutível (NIR), com as cultivares Maciel e Chimarrita enxertadas em diferentes porta-enxertos.
- Avaliar a influência da cor de recobrimento no conteúdo fitoquimico das cultivares Maciel e Chimarrita em diferentes condições de clima.

5. Metas

- Indicar o (s) porta-enxerto (s) que afeta (m) significativamente as característica físico-quimicas e fitoquimicas das frutas de ‘Maciel’ e ‘Chimarrita’, para cada região proposta;
- Determinar um coeficiente de correlação entre os métodos destrutivos e não destrutivos para as análises físico-químicas nas cultivares Maciel e Chimarrita;
- Publicar, pelo menos, dois artigos científicos sobre o assunto.

6. Material e métodos

As frutas a serem utilizados para as análises do presente estudo serão obtidos de pomares com as cultivares Chimarrita e Maciel. Estas cultivares foram enxertadas sobre diferentes porta-enxertos sendo eles: Umezeiro, Aldrighi, Capdeboscq, Flordaguard, Okinawa, Nemaguard, implantados no Centro Agropecuário da Palma (UFPel) - Pelotas, na Estação Experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Porto Alegre e na Embrapa Uva e Vinho - Bento Gonçalves. Para os três locais, as mudas dos porta-enxertos foram obtidas de sementes no período 2005/2006 e plantadas no campo em julho de 2006. As características climáticas dos locais em estudos estão demonstradas na Tabela 1.

Tabela 1. Características climáticas dos locais de estudo.

Locais	Características Climáticas
Pelotas	Clima mesotérmico úmido com verões amenos (cfb). Faz parte da região da encosta de sudeste altitude abaixo de 30 m. Possui temperatura média anual de 17,5°C, precipitação média anual 1379mm.
Porto Alegre	Clima mesotérmico úmido com verões quentes (cfa). O relevo é levemente ondulado, altitude inferior a 100m. Com precipitação de 1600 mm, temperatura média anual de 19,4ºC.
Bento Gonçalves	Clima mesotérmico úmido com verões amenos (cfb). Faz parte da região da encosta superior do nordeste, o relevo é montanhoso. Possui temperatura média anual de 17,2ºC e precipitação de 1736 mm.

O plantio foi realizado no espaçamento de 5,0 x 1,5 metros, a área aproximada dos pomares é de 0,2ha. As plantas são conduzidas na forma de "V", sendo as práticas culturais e o manejo fitossanitário adotado de acordo com as normas técnicas preconizadas pelo sistema de produção integrada de frutas (PIF). O solo antes do plantio foi corrigido de acordo com a análise do solo e as mudas foram rebaixadas até a altura de 50 cm em relação ao nível do solo. As práticas de manejo

do pomar, principalmente podas e raleio, são realizadas no mesmo período para todos os tratamentos e locais instalados, seguindo as indicações técnicas para a cultura.

Portanto, apenas as frutas das cultivares Chimarrita e Maciel, enxertadas sobre diferentes porta-enxertos, nos diferentes locais de plantio serão avaliadas. Deste modo, o trabalho será dividido em três experimentos conforme descritos abaixo.

6.1) Experimento 01**: Avaliação das características físico-químicas e fitoquimicas de frutas de pessegueiro sobre diferentes porta-enxertos nas cidades de Pelotas, Porto-Alegre e Bento Gonçalves:**

Para a análise das variáveis físico-químicas e fitoquímicas serão colhidos, separadamente em cada local, 15 frutas por bloco, durante as safras de 2009/10, 2010/2011 e 2011/2012. As amostras serão colhidas manualmente e aleatoriamente em diversas posições e orientações da planta. As frutas serão mantidas em câmara fria até o momento das análises. As frutas provenientes de Porto Alegre e Bento Gonçalves deverão ser transportadas em caixas térmicas para que se mantenha a temperatura o mais próximo da câmara fria. As análises serão feitas no Departamento de Fitotecnia e nos Laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da UFPel, Município de Capão do Leão.

Variáveis físico-químicas

a) Coloração da epiderme, mensurada com colorímetro eletrônico, marca Minolta 300, com iluminante D65, e abertura de 8mm, no sistema registrado pela *Commission Internationale de I'Eclairage* L*, a* e b* (*CIE-Lab*) utilizando-se as coordenadas espaciais de cor. Neste sistema de representação de cor, os valores L*, a* e b * descrevem a uniformidade da cor no espaço tridimensional, onde o valor L* corresponde a escuro-brilhoso (0, preto; 100, branco) e representa a leveza relativa da cor. Os valores de a* correspondem à escala do verde ao vermelho (a* negativo = verde; a* positivo = vermelho) e os valores de b* correspondem à escala do azul ao amarelo (b* negativo = azul; b* positivo = amarelo). A partir destes, serão

calculados os valores da tonalidade da cor (ângulo hº), expressos em graus, pela fórmula $h^o = \tan^{-1} b^*/a^*$. Serão realizadas duas leituras em lados opostos de cada fruta.

b) Firmeza da polpa, com penetrômetro digital, marca TR TURONI-Italy, modelo 53205 com ponteira de 8 mm de diâmetro. Em cada pêssego, serão realizadas duas leituras na seção equatorial após remoção da epiderme e em lados diametralmente opostos, sendo calculada a média para cada fruta. Os valores serão expressos em Newtons (N).

c) Sólidos solúveis (SS), diretamente no suco, usando-se um refratômetro digital marca RTD-45 com compensação de temperatura automática. Os resultados serão expressos em ºBrix;

d) Acidez titulável (AT), através da diluição de 10mL de suco de 15 frutas homogeneizada em 90mL de água destilada e posterior titulação com solução de NaOH 0,1N. Utilizar-se-á pHmetro digital (modelo pH5), até pH 8,10 (ponto de viragem), sendo os resultados expressos em % ácido málico;

e) pH, em pHmetro digital modelo pH5 e compensação automática de temperatura;

f) Relação SST/AT, obtida através do quociente entre as duas variáveis.

Variáveis fitoquímicas:

Para a análise das variáveis fitoquímicas serão colhidos separadamente em cada local, 15 frutas por bloco, durante as safras de 2009/10, 2010/2011, 2011/2012. As amostras serão separadas em casca e polpa, congeladas com nitrogênio líquido e armazenadas em ultra-frezer (-80ºC) ou freezer doméstico (-20°C).

a) **capacidade antioxidante**: determinada através do método do seqüestro de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) adaptado de Brand-Williams et al. (1995). Este método baseia-se na remoção do radical estável DPPH do meio de reação pela ação dos antioxidantes presentes na amostra. As leituras serão realizadas após 30min e 24 horas de reação a 23°C em espectrofotômetro na absorbância a 517nm. Será preparada uma curva padrão com Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) e os resultados serão expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) (µg TEAC g^{-1} de amostra);

b) **carotenóides totais**: será determinada a quantificação de carotenóides apenas para a cultivar Maciel que apresenta polpa amarela. A extração será efetuada pelo método descrito por Rodriguez-Amaya (1999). A absorbância será determinada a 450nm e os resultados expressos em micrograma de carotenóides totais por grama de amostra;

c) **compostos fenólicos totais:** serão quantificados utilizando-se uma adaptação do método de Folin-Ciocalteau (SINGLETON; ROSSI, 1965). A absorbância será determinada a 725nm. Utilizando-se ácido gálico para a elaboração da curva padrão e os resultados serão expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (mg GAE) por 100g de amostra.

6.1.1) Delineamento estatístico:

O delineamento experimental utilizado para cada local, ano e cultivar será o de blocos ao acaso, nos seguintes esquemas fatoriais:

Variáveis físico-químicas: esquema unifatorial (6 porta-enxerto) com 3 blocos (15 frutas por bloco);

Variáveis fitoquimicas: esquema fatorial de 6X2 (6 porta-enxertos e 2 partes da fruta (casca e polpa)), sendo as análise feitas em triplicata, para cada cultivar copa;

Os dados obtidos serão submetidos à análise da variância e comparação de médias pelo teste Tukey. Será realizada a análise de Correlação de Pearson para as variáveis fitoquimicas, através do Programa estatístico WinStat (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2002).

6.2) Experimento 02 **: Avaliação do comportamento fitoquimico da cultivar Chimarrita em frutas com diferentes porcentagens de recobrimento de coloração vermelha nas diferentes regiões.**

As frutas serão obtidas de pomares implantados no Centro Agropecuário da Palma (UFPel) - Pelotas, na Estação Experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Porto Alegre e na Embrapa Uva e Vinho - Bento

Gonçalves. As frutas serão inicialmente agrupadas por uma escala visual de recobrimento da cor vermelha (método subjetivo).

Serão escolhidas 5 pessoas aleatoriamente e estas serão instruídas a selecionar visualmente e subjetivamente as 3 categorias de recobrimento de cor vermelha, sendo elas T1(0%- 25% de recobrimento vermelho), T2 (25%-50%) e T3 (50%-75%). A partir desta avaliação será fixado o percentual de recobrimento de cor vermelha para as determinações posteriores.

Estes frutas serão separados em casca e polpa e congelados com nitrogênio liquido e acondicionados em ultra-freezer (-80°C) ou freezer doméstico (-20°C) até o momento das análises.

As análises fitoquimicas realizadas serão:

- compostos fenólicos totais**:** serão quantificados utilizando-se uma adaptação do método de Folin-Ciocalteau (SINGLETON e ROSSI, 1965).

- capacidade antioxidante: determinada através do método do seqüestro de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) adaptado de Brand-Williams et al. (1995)

- antocianinas: será determinado segundo a metodologia de Lee e Francis, (1972).

6.2.1) Delineamento estatístico:

O delineamento utilizado para cada local é o completamente casualizado utilizando um fatorial 3X2 (3 porcentagens de recobrimento de cor e 2 partes do fruto). As amostras serão de 15 frutas por tratamento e as análises serão realizadas em triplicata.

Os dados obtidos serão submetidos à análise da variância e de comparação de médias pelo teste tukey através do Programa estatístico WinStat (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2002).

6.3) Experimento 03**: Análise das Variáveis físico-químicas da região de Pelotas por métodos não destrutíveis:**

Para as análises não destrutivas será utilizado o equipamento Vis/Nir-Case.

Os espectros NIR serão registrados utilizando um espectrofotômetro modelo NIR-case no intervalo de comprimento de onda de 600 a 1000 nm e armazenados com a utilização do software SACMI.

As frutas serão provenientes do pomar didático da Universidade Federal de Pelotas, sendo colhidos separadamente nas cultivares Maciel e Chimarrita enxertadas sobre os porta-enxertos: Okinawa, Aldrighi, Umezeiro, Flordaguard Nemaguard, Capdeboscq.

Para a análise no espectro Nir-case, as frutas serão numeradas e os espectros coletados de cada lado da fruta, totalizando duas medidas espectrais por fruta sendo utilizado o valor da média dos espectros. O software SACMI fornece os valores de sólidos solúveis, acidez e firmeza de polpa diretamente.

Estas mesmas frutas, que foram previamente numeradas, serão avaliadas individualmente por avaliações convencionais destrutivas, sendo elas:

- sólidos solúveis (SS), diretamente no suco, usando-se um refratômetro digital marca RTD-45 com compensação de temperatura automática. Os resultados serão expressos em ºBrix;

- firmeza da polpa, com penetrômetro digital, marca TR TURONI-Italy, modelo 53205 com ponteira de 8 mm de diâmetro. Em cada pêssego, serão realizadas duas leituras na seção equatorial após remoção da epiderme e em lados diametralmente opostos, sendo calculada a média para cada fruto. Os valores serão expressos em quilograma força (kgf).

- acidez titulável (AT), através da diluição de 10 mL de suco de 15 frutas homogeneizada em 90mL de água destilada e posterior titulação com solução de NaOH 0,1N. Utilizar-se-á pHmetro digital (modelo pH5), até pH 8,10 (ponto de viragem), sendo os resultados expressos em meq NaOH/100mL.

6.3.1) Delineamento estatístico:

Os dados de firmeza de polpa, acidez titulável e sólidos solúveis serão estimadas por modelos de regressão linear e não lineares, de modo a relacionar matematicamente os valores obtidos pelo espectrofotômetro Nir-Case e interpretados pelo software SACMI com os valores reais obtidos pela análise

destrutiva. A significância das equações de regressão será testada através do teste F a 1% de probabilidade de erro e a escolha das melhores equações será efetuada com base nos coeficientes de determinação (R^2) obtidos e nos quadrados médios do resíduo de cada equação. Para a realização deste estudo serão avaliados 80 frutas de amostra aleatória para cada porta enxerto, contendo frutas com diferenciadas propriedades físico-químicas. Será utilizado o programa estatístico Sigmaplot 8.0 para a estimação dos modelos de regressão.

7. Cronograma de Atividades de Pesquisa

Atividades	2010												2011												2012												2013	
	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F
Revisão Bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Elaboração do Projeto	X	X	X																																			
Colheita	X										X	X	X										X	X	X													
Execução do experimento 01	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				X	X	X	X	X	X	X	X	X				X	X	X	X	X	X	X	X	X				
Execução do experimento 02											X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X																
Execução do experimento 03	X										X	X	X										X	X	X													
Seleção das frutas	X										X	X	X										X	X	X													
Análises Físico-químicas	X										X	X	X										X	X	X													
Análise físico-quimicas NIR	X										X	X	X										X	X	X													
Preparo das Amostras	X										X	X	X										X	X	X													
Análises fitoquímicas		X	X	X	X	X	X	X	X	X				X	X	X	X	X	X	X	X	X				X	X	X	X	X	X	X	X	X				
Análise estatistica														X	X	X	X	X																	X	X	X	
Defesa																																						X
Publicação																																						X

8. Previsão Orçamentária:

8.1. Material de Consumo

Material de Consumo	R$
Vidraria de laboratório	950,00
Reagentes para as análises físico-químicas e fitoquímicas	5.000,00
Adubos e defensivos	4.500,00
Embalagens (acondicionamento das amostras)	1.200,00
Nitrogênio Líquido	250,00
Material de Laboratório (luvas, filtros, algodão e outros)	450,00
Etiquetas	50,00
Folhas A4, CDs e outros	150,00
	12.550,00

8.2. Material Permanente

Equipamento e materiais permanentes	Valor (R$)
*Espectrofotômetro UV/VIS T60	25.000,00
*Destilador de Água, cap. de 2 L/h, Mod.Q341-22	1.149,00
*Botijão Criogênico, Mod. BT-40	5.690,00
*Dispensador 0,05 ml a 50 ml, Mod.Minilab 201	1.064,00
*Penetrômetro digital Marca TURONI-Italy, modelo 53205	3.000,00
*Medidor de pH de Bancada, Mod. mPA 210	645,00
*Colorímetro Minolta, modelo CR 400	25.000,00
*Refratômetro digital portátil de bancada	1.500,00
*Centrífuga	1.500,00
*Espectofotômetro- NIR-case(Sacmi)	36.000,00
TOTAL	**100.548,00**

*Material já existente nos Departamentos de Fitotecnia e Ciência e Tecnologia dos Alimentos.

8.3. Serviços de terceiros

Serviços de terceiros	Valor (R$)
Consultoria estatística	1.000,00
Impressão de banner	150,00
Encadernações	400,00
Inscrições em eventos	800,00
Diárias e passagens aéreas	3.500,00
Manutenção de laboratórios e equipamentos	6.800,00
Manutenção da área experimental	3.800,00
Total	**16.450,00**

8.4. Custos Totais

Custos Totais	Valor (R$)
Material de Consumo	12.550,00
Material Permanente	100.548,00
Outros Serviços	16.450,00
Total	**129.548,00**

9. Bibliografia

AL–JALEEL, A.; ZEKRI, M.; HAMMAM, Y. Yield, fruit quality, and tree health of 'Allen Eureka' lemon on seven rootstocks in Saudi Arabia. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.105, p.457–465, 2005.

ANGELO PM, JORGE N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 66(1): 232-240, 2007.

ARAYA, C.A.G. **Efecto de diferentes portainjertos de Cerezo sobre el comportamiento fenológico de los cultivares Lapins, Bing y Sweetheart, en San Francisco de Mostazal (VI Región)**. 105p. Tese (Mestrado) - Escuela de Agronomía Pontifi Cia Universidad Católica de Valparaíso,Valparaíso. 2004.

BANWELL, C.N. **Fundamentals of molecular spectroscopy**. 3rd ed. London, UK, McGraw-Hill. 1983.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol.**, v.28, p.25-30, 1995.

BRASIL. **Resolução n° 19 de 30 de abril de 1999.** Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. Diário Oficial da União. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/search.php> Acesso em: 17 de junho de 2009.

CANTILLANO, R.F.F. **Estudio del efecto de las atmosferas modificadas durante el almacenamento y comercializacion de algunas frutas y hortalizas**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universida Politécnica de Valencia, 276f. 1998.

CARUSO, T., GIOVANNINI, D., INGLESE, P., TURCI, E. Rootstock influence on dry matter and nutrient above-ground content and partitioning in Maravilha peach trees. In: **Proceedings of the Second International Symposium on Diagnosis of Nutritional Status of Deciduous Fruit Orchards**, San Michele all'Adige (Tn), September, pp. 13–17. 1993b.

COSTA, G.; NOFERINI, M.; FIORI, G.; ZIOSI, V. Internal fruit quality: how to influence it, how to define it. **Acta Horticulture**. 712, 339–346, 2006.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B**. Pós-colheita de frutos e hortaliças:** fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL/FAEPE, 735 p. 2005.

DAVIES, A.M.C., **William Herschel and the discovery of near infrared Spectrosc**. Eur. 12, 10–16. 2000.

DIPLOCK, A.T; AGGETT, P.J; ASHWELL, M; BORNET, F.; FERN, E.B.; ROBERFROID, M.B. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. **British Journal of Nutrition**, v.88, p.1-27, 1999

DI VAIO, C., BUCCHERI, M., GRAZIANI, G., RITIENI, A., SCALFI, L. Attivita` antiossidante di frutti di pesco (cv. Maycrest). **Rivista di Frutticoltura e di Ortofloricoltura**, vol. 7–8. Edagricole, Bologna, pp. 83–86. 2001.

ECCHER ZERBINI, P., SPADA, G.L., LIVERANI, C. Selection and experimental use of colour charts as a maturity index for harvesting peaches and nectarines. **Horticulture Sciense**. 8, 107–113, 1994.

ETIENNE, C., MOING, A., DIRLEWANGER, E., RAYMOND, P., MONET, R., ROTHAN, C. Isolation and characterization of six peach cDNAs encoding key proteins in organic acid metabolism and solute accumulation: involvement in regulating peach fruit acidity. **Physiology Plant**. 114, 259–270, 2002.

FORNER–GINER, M.A.; ALCAIDE, A.; PRIMO–MILLO, E.; FORNER, J.B. Performance of 'Navelina' orange on 14 rootstocks in Northern Valencia (Spain). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.98, p.223–232, 2003

FACHINELLO, J.C. Problemática das mudas de plantas frutíferas de caroço. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE FRUTAS DE CAROÇO: PÊSSEGOS, NECTARINAS E AMEIXAS, 1., 2000, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre: UFRGS, p.25-40,2000.

FAO-STAT- Food and Agriculture Organization of the United Nations acessado em **:** http://faostat.fao.org/site/567/.

FINARDI, N. L. Método de propagação e descrição de porta-enxertos. In: MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. C. B. (Ed.). **A cultura do pessegueiro**. Pelotas: EMBRAPA/CPACT, 1998. p. 100-128.

FINARDI, N.L. Descrição e método de propagação de porta-enxerto.In: RASEIRA, M. do C.B.; CENTELLAS-QUEZADA, A. (Ed.). **Pêssego**: produção. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p.60-70.

GIL, M.; TOMAS-BARBERAN, A.T.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A.A. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids and vitamin C content of nectarine and plum cultivars from California. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.4976–4982, 2002

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Publicatio *UEPG* Ciencias Biologicas e da *Saude***, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006

GIORGI, M.; CAPOCASA, F.; SCALZO, J.; MURRI, G.; BATTINO, M.; MEZZETTI, B. The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach (cv. 'Suncrest') **Scientia Horticulturae**, , Amsterdam, n. 107, p. 36–42, 2005.

GIL, M.; TOMAS-BARBERAN, A.T.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A.A. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids and vitamin C content of nectarine and plum cultivars from California. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.4976–4982, 2002

HAERTEL, F.G.; TONIETO, J.; WREGE, M. **Sistema de Produção de Pêssego de Mesa na Região da Serra Gaúcha.Embrapa Uva e Vinho**, Sistema de Produção ,3. ISSN 1678-8761 Versão Eletrônica Jan/ 2003. acessado em 31/09/2009

HARKER, F.R., et al. Eating quality standards for apples based on consumer preferences, **Postharvest Biology Technology**. (2008).

HARKER, F.R.; GUNSON, F.A., JAEGER, S.R. The case for fruit quality: an interpretive review of consumer attitudes, and preferences for apples. **Postharvest Biology Technology**. 28, p. 333–347,2003.

CEN, H. HE, Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. **Trendin Food Science & Technology** v.18 , p.72-83, 2007.

HONDA, C.; KOTODA, N.; WADA, M.; KONDO, S.; KOBAYASHI, S.; SOEKIMA, J.; ZHANG, Z.; TSUDA, T.; MORIGUCHI, .The protective effectof resveratrols on ischaemia-

reperfusion injuries of rats hearts is correlated with antioxidants efficacy, **British Journal of Pharmacology**, Londres, v.135, n. 7,p. 1627-1633, 2002.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatistica. Disponível em < www.ibge.gov.br> acesso em 23 de julho de 2009.

IBRAF – Instituto Brasileiro de Frutas. Disponível em <http://www.ibraf.org.br >acesso em 23 de julho de 2009.

KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops.** California: University of California, 2002. 3° edição. 535p

KAWANO, S. 1994. **Non-destructive NIR quality evaluation of fruits and vegetables in Japan**. NIR News, 5, 10–12.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; MORALES, M.T.; FETT, R.Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. Ciência Rural, Santa Maria, v.36, n.4, p.1283-1287, 2006.

LAVELLI, V., POMPEI, C., CASADEI, M. A., Quality of nectarine and peach nectars as affected by lye-peeling and storage. **Food Chemistry** 115 1291–1298 (2009) .

LEE, S.K.; KADER, A.A. Pre-harvest and post-harvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v.20, p.207–220, 2000.

LEE SJ, UMANO K, SHIBAMOTO T, LEE KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry** 2005; 91(1): 131-7.

LEE, D.H., FRANCIS, F.J. Standardezation of pigment analyses in wanberries. **Hortscience**, v.7, n.1, p. 83-84, 1972

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; PRAZERES, F.G.; MUSSER, R.S.; LIMA, D.E.S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes
harvested at three ripening stages. **Science direct;** p.565-568; 2005

LIMA, V.L.A.G.; MELO, E.A.; LIMA, L.S.; LIMA, D.E.S. Polpa congelada de acerola: efeito da temperatura sobre os teores de antocianinas e flavonóides totais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.3, p.669-670, 2002.

LORETI, F. Porta-enxertos para a cultura do pessegueiro do terceiro milênio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.274-284, 2008.

MALACRIDA, A.C.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em sucos de uva. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p. 659-664, 2005.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability**. American Journal of Clinical Nutrition,** v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MANHITA, A.C.; TEIXEIRA, D.M.; COSTA, C.T. Application of sample disruption methods in the extraction of anthocyanins from solido r semi-solid vegetable samples. **Journal of Cromatography** A, Amsterdam, v.1129, n.1, pp.14-20, 2006.

MATTIVI, F.; GUZZON, R. VRHOVSEK, U. Metabolite profiling of grape: Flavonols and anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.54, n.20, p.7692-7702, 2006.

MATHIAS,C., MAYER,N.A., MATTIUZ,B.H., PEREIRA, F.M., Efeito de porta–enxertos e espaçamentos entre plantas na qualidade de pêssegos 'Aurora–1'.**Revista Brasileira de Fruticultura**. vol.30 n.1 Jaboticabal, Março 2008.

MAYER, N. A., PEREIRA, F.M., BARBOSA, J. C. Pegamento e crescimento inicial de enxertos do pessegueiro 'Aurora-1' em clones de umezeiro (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) e 'Okinawa' [*Prunus persica* (L.) Batsch] propagados por estacas herbáceas. **Revista Brasileira Fruticultura,** Jaboticabal, v.27 n.1. 2005

MEDEIROS, C.A.B.; RASEIRA, M.C.B. **A cultura do pessegueiro**. Brasília: EmbrapaSPI, 1998. 350p.

MEYERS, K.J.; WATKINS, C.B.; PRITTS, M.P.; LIU, R.H. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. **Journal of Agricultural and Food chemistry, Los Angeles,** v. 51, n. 23, p. 6887-6892, 2003.

MIRANDA, C.S.; CHALFUN, N.N.J.; DUTRA, L.F.; HOFFMANN, A; COELHO, G.V.A. Enraizamento de estacas lenhosas de porta-enxertos para pessegueiro. e. umezeiro **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 3, p. 229-232, 2003

MIYAMOTO, J.; KITANO, Y. 1995. Non-destructive determination of sugar content in satsuma mandarin fruit by near infrared transmittance spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**,3, 227–237.

MONTES, S.M., BOLIANI, A.C.,RAGA,A., SANTOS, P.C., CORRÊA, L.S., FERRARI, J.T. Características produtivas, físicas e químicas de frutos de cultivares de pessegueiros sobre dois porta-enxertos no oeste do estado de São Paulo**. Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 4, p. 1065-1070, Dezembro 2008

NACZK M, SHAHIDI F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal Chromatografy** A 2004; 1054 (1/2): 95-111.

NICOLA¨I, B.M., BEULLENS, K., BOBELYN, E., PEIRS, A., SAEYS, W., THERON, K.I.,LAMMERTYN, J., 2007. Nondestructive measurements of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: a review. **Postharvest Biol. Technol**.46, 99–118.

OSBORNE, B.G., 2000. **Near infrared spectroscopy in food analysis**. BRI Australia Lt

PAWLOWSKA, A.M.; DE LEO, M.; BRACA, A. Phenolic of Arbutus unedo L. (Ericaceae) fruits: Indentification of anthocyanins and gallic acid derivatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v. 54, n.26, p.10234-10238, 2006.

PAZMINÕ-DURÁN, E.A.; GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E.; GLÓRIA, B.A. Anthocyanins from banana bracts (Musa X paradisiacal) as potential food colorants. **Food Chemistry**, Whiteknights, v.73, n.3, p.327-332,2001.

PELEG H, BODINE KK, NOBLE AC. The influence of acid on adstringency of alum and phenolic compounds. **Chemistry Senses** 1998; 23 (3): 371-8.

PEREIRA, F.M.; MAYER, N.A. **Pessegueiro: tecnologias para a produção de mudas.** Jaboticabal: Funep, 2005. 65p.

PEIRS. A.; TIRRY, J.; VERLINDEN, B.; DARIUS, P.; NICOLAI, B.M. 2003. Effect of biological variability on the robustness of NIR models for soluble solids content of apples. **Postharvest Biology and Technology** 28(2): 269–280

PICOLOTTO, L. Avaliação bioagronômica de diferentes porta-enxertos para pessegueiro (*Prunus pérsica* (L.) Bastsch). 2009. 114p. **Tese** (Doutorado em Fruticultura de clima Temperado) Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas.

Pope, J. M. Near-infrared spectroscopy of wood products. In: CONNERS, T. E.; BANERJEE, S. (Ed.). Surface analysis of paper. Boca Raton: CRC Press, 1995. p. 142-151.

RABABAH, T.M.; EREIFEJ, K. I. ; HOWARD, L. Effect of ascorbic acid and dehydration on concentration of total phenolic, antioxidant capacity, and color in fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v. 53, n.11, p. 4444-4447, 2005.

REMORINI, D.; TAVARINI,S.; DEGL'INNOCENTI, E.; LORETI, F.; MASSAI, R.; GUIDI, L. Effect of rootstocks and harvesting time on the nutritional quality of peel and flesh of peach fruits. **Food Chemistry**, London, v.110, p.361–367, 2008.

REISSER JUNIOR, C.; TIMM, L.C.; TAVARES, V.E.M. Características do cultivo de pêssegos da região de Pelotas-RS, relacionadas à disponibilidade de água para as plantas.Documentos 240, Embrapa Clima Temperado-Pelotas, RS *ISSN 1806-9193 Dezembro, 2008. Versão eletrônica. Disponível em:* http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/documentos/documento_240.pdf. Acesso em:15/05/09.

RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E.A.G. **Química de alimentos**. 1ª edição; p. 157; SP; 2004

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **Shelf life studies of foods and beverages. Chemical, biological, physical and nutritional aspects.** Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1993. p.547–589.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoids analysis in foods.** Washington: ILSI Press, 1999. 64p.

ROCHA, M.D.S. **Comportamento fenológico e produtivo das cultivares de pessegueiro Chimarrita e Granada em diferentes porta-enxertos, nos três primeiros**

anos de implantação. 2006. 168p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas

ROSS, J.A.; KASUM,C.M. Dietary flavonoid: bioavailability, metabolic effects and safety. **Annual Review of Nu**trition, Palo Alto, n.22,p.19-34, 2002.

ROSSI, A; FACHINELLO, J. C.; RUFATO, L.; PARISOTO, E.; PICOLOTTO, L. KRUGER, L. R. Comportamento do pessegueiro 'Granada' sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 446-449, 2004.

SCALOPPI, E.M. **A Cultura do Pessegueiro: Evolução da cultura do pessegueiro no Brasil.** Site Toda Fruta. 2006. Disponível em: http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=11655
Acesso em:16/08/09.

SCALZO, J., POLITI, A., PELLEGRINI, N., MEZZETTI, B., BATTINO, M., 2005. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic content in fruit. **Nutrition** 21 (2), 207–213.

SENTANIN, M.A.; AMAYA, D.R. Teores de carotenóides em mamão e pêssego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. Ciência **e Tecnologia de Alimentos**; v. 27; p.13-19; 2007

SHAHIDI F, NACZK M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: Technomic; 1995

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J.A. JR. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

SUN, J.; CHU, Y.; WU, X.; LIU, R.H.; Antioxidant and antiproliferative activies of common fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Los Angeles, v. 50, n.25, p.7449-7454, 2002.

TAVARINI, S.; DEGL'INNOCENTI, E.; REMORINI, D.; MASSAI, R.; GUIDI L. Preliminary characterisation of peach cultivars for their antioxidant capacity. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.810–815, 2008.
TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** Tradução de Eliane Romanato Santarém [et al.] - 3 ed. - Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p

TRAINOTTI, L., BONGHI, C., ZILIOTTO, F., ZANIN, D., RASORI, A., CASADORO, G., RAMINA,A., TONUTTI, P., 2006. The use of microarray _PEACH1.0 to investigate transcriptome changes during transition from pre-climacteric to climactericphase in peach fruit. **Plant Sciense**. 170, 606–613.

TRAINOTTI, L., ZANIN, D., CASADORO, G., 2003. A cell-oriented genomic approach reveals a new and unexpected complexity of the softening in peaches. **Journal Botanic**. 54, 1821–1832.

TOOR, R. K., & SAVAGE, G. P. 2005**.** Antioxidant activity in different fractions of tomatoes**. Food Research International**, 38, 487–494.
VAN KEMPEN, T. AND JACKSON, D. 1996. **NIRS may provide rapid evaluation of amino acids.*Feedstuffs***, 68, 12-15

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L.C.; Phenolic compounds in Acerola fruit (Malpighia punicifolia L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 15, n. 5, p. 664-668, 2004.

VIZZOTTO, G., PINTON, R., VARANINI, Z., COSTA, G., 1996. Sucrose accumulation in developing peach fruit. **Physiology in Plant**. 96, 225–230.

VISAI, C., VANOLI, M., 1997. Volatile compound production during growth and ripening of peaches and nectarines. **Scientia Horticulture**. 70, 15–24.

WALTON,M.C.; LENTLE, R.G.; REYNOLDS,G.W.; KRUGER, M.C.; MCGHIE, T.K. Anthocyanins absorption and antioxidant status in pigs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.54, n.20, p. 7940-7946, 2006.

WETTASINGLE, M. Antioxidant and free radical-scavenging properties or ethanolic extracts of defatted borage (borago offcinalis L.) seeds. Food Chemistrry 67:399-414, 1999.

WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis, a colourful model for genetics biochemistry, cell biology and biotechnology. **Plant Physiology**, Minneapolis, n.126, p.485-493, 2001.

WORKMAN, J.J., VELTKAMP, D.J., DOHERTY, S., ANDERSON, B.B., CREASY, K.E., KOCH, M., TATERA, J.F., ROBINSON, A.L., BOND, L., BURGESS, L.W., BOKERMAN, G.N., ULLMAN, A.H., DARSEY, G.P., MOZAYENI, F., BAMBERGER, J.A., GREENWOOD, M.S., 1999. **Process analytical Chemistry**. **Analytical Chemistry** 71, 121–180.

WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 609-614, 2003.

JUSTIFICATIVA DO PROJETO EXECUTADO E RELATÓRIO DE ATIVIDADES

O objetivo inicial do projeto de doutorado foi “Avaliar às características físico-químicas de frutas de pêssegos ‘Maciel’ e ‘Chimarrita’ sobre diferentes porta-enxertos, utilizando métodos convencionais e métodos não destrutivos (NIR) e pela determinação das características fitoquímicas dos mesmos em frutas com diferentes porcentagens de recobrimento de coloração vermelha”. Ao longo do tempo e, com os testes e análises realizadas, algumas ações no projeto foram alteradas e outras foram incluídas.

As atividades propostas para o pessegueiro envolvendo os métodos não destrutivos foram plenamente realizadas e estão resumidas num dos artigos que fazem parte do corpo da tese, intitulado “Utilização da espectroscopia Vis/NIR para estimar sólidos solúveis e firmeza da polpa durante a maturação de pêssegos”.

Com a disponibilização de novos equipamentos e recursos o método não destrutivo foi utilizado para avaliar características de maturação e qualidade em outras espécies frutíferas, entre elas, a manga e macieira, cujos artigos resultantes foram incluídos na tese.

Durante o curso surgiu à possibilidade de realizar o doutorado sanduíche na Universidade de Pisa-Itália, no período de maio a outubro de 2011. As atividades na Itália fazem parte de um convênio entre a Universidade Federal de Pelotas e a Universidade de Pisa. Durante o período foi possível aprofundar os conhecimentos sobre o uso das técnicas não destrutivas para acompanhar e avaliar a maturação e a qualidade de frutas e realizar atividades de pesquisa com diferentes seleções de damasco, cultivares de pessegueiro, maçãs e peras.

Verifica-se que as metas iniciais propostas no projeto foram alteradas devido a possibilidade de desenvolvimento de trabalhos nesta nova área de conhecimento ainda pouco explorada no Brasil, assim como as espécies trabalhadas foram ampliadas proporcionando uma maior amplitude dos conhecimentos da doutoranda.

As atividades durante o curso de doutorado englobaram também a realização de práticas de manejo nos pomares, tais como poda, raleio, colheita, processamento dos dados, elaboração de artigos científicos, organização de eventos e apresentação de

trabalhos em eventos. As primeiras atividades foram iniciadas na safra de 2009/2010 no qual foram realizadas as primeiras calibrações, contemplando as quatro cultivares implantadas no Pomar Didático da Palma-UFPel, que são Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu. Em 2010, foi realizado um curso sobre “técnicas não destrutivas para avaliação da maturação de frutas” no qual propiciou a vinda de professores e pesquisadores italianos pertencentes a ‘Università di Pisa’ e do ‘Centro Nazionale di Ricerca-CNR/Firenze’ que desenvolvem trabalhos de pesquisa nesta área de conhecimento. A partir deste encontro foi possível conhecer, desenvolver trabalho com maçãs envolvendo equipamentos que utilizam a técnica da fluorescência da clorofila para estimar compostos fitoquimicos em frutas. Este equipamento não se encontra disponível no Brasil, os demais trabalhos envolvendo esta técnica foram realizados somente na Itália, durante o período PDDE (Programa de Doutorado no País com Estágio no Exterior).

Outro equipamento que foi adquirido pelo setor de Fruticultura do Departamento de Fitotecnia, durante o ano de 2010, foi o espectrofotômetro portátil DA-meter, que utiliza a técnica da espectroscopia, porém com aplicações mais práticas quer no campo ou em centros de distribuição. Com esta tecnologia foram realizados ensaios com pêssegos, mangas e goiabas sendo que destes resultaram os artigos intitulados “Espectroscopia do visível e infravermelho próximo (VIS/NIR), na avaliação da qualidade de mangas ‘Tommy Atkins’” e “Acompanhamento da maturação de pêssegos por índice não destrutivo baseado na espectroscopia Vis/Nir.”

Para a safra de 2010/2011, foi proposto refazer as calibrações de pêssegos, considerando o efeito da época de colheita nos modelos de calibração, utilizando as mesmas cultivares trabalhadas no ano de 2009. Destes dois anos de avaliações foi possível disponibilizar diferentes modelos de calibração para as cultivares em questão para futuras estimações de parâmetros de qualidades em pêssegos.

No ano de 2011, foi encaminhado um projeto de PDEE através da CAPES no qual foi aprovado e propiciou a realização deste estágio na Universidade de Pisa sob a orientação do Professor Rossano Massai, onde foram desenvolvidos trabalhos envolvendo espectroscopia e fluorescência com diversas espécies frutíferas.

Cabe salientar ainda que todas as atividades de laboratório foram desenvolvidas nas dependências do Lab-Agro FAEM/UFPel, tendo como auxílio os bolsistas de graduação que desenvolvem projetos de iniciação científica na área da Fruticultura de Clima Temperado e durante o doutorado sanduiche na Itália junto ao Dipartimento di

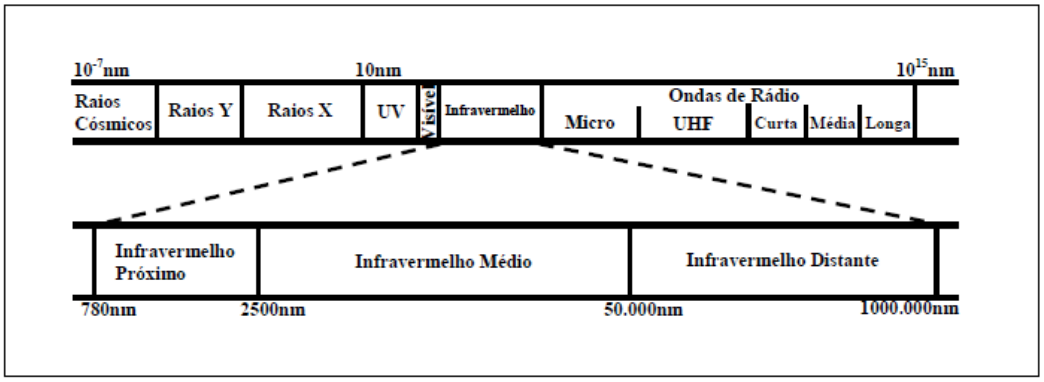
Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose “G. Scaramuzzi” - Via del Borghetto, 80 56124 Pisa.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A fruticultura está presente em todos os estados brasileiros e, como atividade econômica, envolve mais de cinco milhões de pessoas, direta e indiretamente. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com colheita em torno de 40 milhões de toneladas ao ano, mas participa com apenas 2 % do comércio global do setor. O grande mercado para a fruticultura brasileira ainda é o próprio país, onde ocorrem aproximadamente 98 % do consumo de frutas *in natura* e industrializadas. O crescimento atual da fruticultura brasileira é de 5 % para frutas *in natura* e de 15 % na forma de polpa e sucos. A área plantada com plantas frutíferas no Brasil é de aproximadamente 1,9 milhões de hectares distribuídos em 672.906 ha com frutas tropicais, 1.079.918 ha com frutas subtropicais e com apenas 143.834 ha com espécies de clima temperado. As frutas que mais contribuem no volume total da produção brasileira são a Laranja, a Banana, o Abacaxi, a Melancia e o Mamão, que juntas somam aproximadamente 30 milhões de toneladas (FAO, 2011).

1. Espectroscopia do infravermelho próximo (*Near infrared*- NIR)

A radiação do infravermelho próximo (Near Infrared/NIR) foi descoberta por Friedrich Wilhelm Herschel em 1800 (Davies, 2000) e abrange por definição o comprimento de onda compreendido entre 780-2500 nanômetros (Figura 1).



Davies, 2000.

Figura 1: Espectro Eletromagnético, com a localização da região do infravermelho próximo.

A região do infravermelho próximo foi a primeira faixa do espectro não-visível a ser descoberta, porém sua utilização como ferramenta analítica só ocorreu muito tempo depois. As primeiras aplicações analíticas apareceram na década de 50, com o aparecimento dos primeiros espectrofotômetros comerciais baseados em detectores fotoelétricos. O grande impulso dessa técnica ocorreu na década de 60 quando Karl Norris, chefe de um grupo de pesquisa da USDA (United States Department of Agriculture), passou a utilizá-la na análise de produtos agroalimentares. A partir de então, o interesse pela espectroscopia cresceu notavelmente (NUNES, 2008).

Esta radiação é uma das ferramentas disponíveis mais importantes para identificar compostos orgânicos e inorgânicos puros, porque com exceção de algumas moléculas homonucleares como o O_2, N_2 e Cl_2, todas as espécies moleculares absorvem radiação infravermelha (SKOOG et al., 1996).

A intensidade de radiação, que é refletida da superfície da amostra e analisada em função de um comprimento de onda e, é usualmente apresentada como espectro de absorbância. As mudanças no espectro, devido às mudanças na composição química (C–H, O–H, e N–H) podem ser quantificadas (POPE, 1995; OSBORNE, 2000). Ou seja, a técnica se baseia no fato de que as ligações covalentes das substâncias orgânicas absorvem essa energia eletromagnética, usando-se essa absorção para estimar o número e tipo de ligações moleculares nas amostras. A absorção de luz então é medida por diferenças entre a quantidade de luz emitida pelo espectrofotômetro (infravermelho) e a quantidade de luz refletida pela amostra (VAN KEMPEM; JACKSON, 1996).

As moléculas estão sujeitas a três tipos de transições quando excitadas por radiação ultravioleta, visível ou infravermelha: transição eletrônica, transição vibracional e transição rotacional (SKOOG et al., 1996). Assim a energia total (E) associada a uma molécula é dada então por:

$$\mathbf{E = E_{eletrônica} + E_{vibracional} + E_{rotacional}}$$

onde, $\mathbf{E_{eletrônica}}$ é a energia associada aos elétrons em seus vários orbitais exteriores da molécula, $\mathbf{E_{vibracional}}$ é a energia da molécula como um todo devido às vibrações interatômicas e $\mathbf{E_{rotacional}}$ quantifica a energia associada à rotação da molécula em torno do seu centro de gravidade. A radiação do infravermelho geralmente não é

suficientemente energética para provocar transições eletrônicas mas pode induzir transições nos estados vibracionais e rotacionais associados ao estado eletrônico fundamental da molécula (SKOOG et al., 1996; COSTA et al., 2001).

Quando a radiação atinge a fruta, a radiação incidente pode ser refletida, absorvida ou transmitida e, a contribuição relativa de cada fenômeno depende da constituição química e dos parâmetros físicos da amostra (NICOLAÏ et al., 2007). Enquanto a radiação penetra na fruta, as suas características espectrais mudam através de comprimento de onda dependentes dos processos de reflexão, dispersão e absorção. Esta mudança depende da composição da fruta incluindo o conteúdo em açúcar e ácidos, bem como das suas propriedades de dispersão da luz, as quais estão relacionadas com a microestrutura e, de certa forma com a textura do produto (NICOLAÏ et al., 2005).

Segundo a lei da conservação da energia, a radiação total incidente (R_0) em uma amostra deve ser igual à soma da radiação absorvida (R_a), transmitida (R_t) e refletida (R_r), segundo a relação:

$$\mathbf{R_0 = R_a + R_t + R_r}$$

Não sendo possível medir diretamente a energia absorvida pela amostra, esta pode ser medida através da radiação transmitida e refletida (NICOLAÏ et al., 2007). Devido a este fato são encontrados diferentes modos ou configurações das medições na faixa do espectro do infravermelho, permitindo assim diversas aplicações (SANTOS, 2009), sendo os principais a refletância, a transmitância e a interactância (Figura 2).

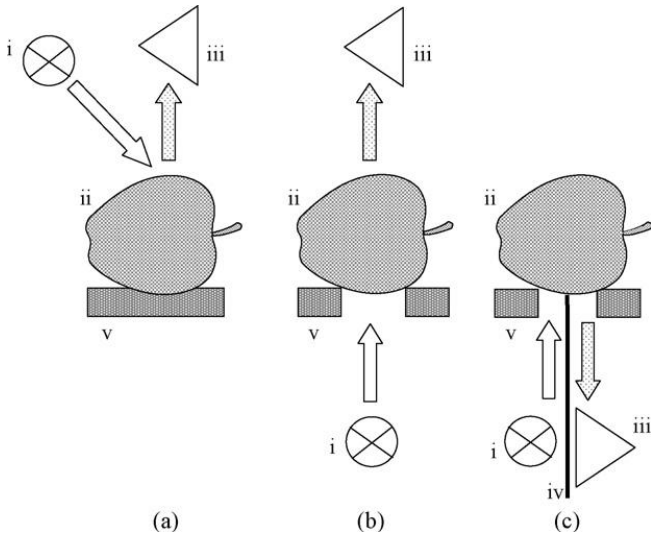


Figura 2 - Representação para a aquisição dos espectros de (a) refletância, (b) transmitância e (c) interactância, com (i) fonte de luz, (ii) fruto, (iii) detector, (iv) barreira de luz e (v) suporte para o fruto. Fonte: Nicolai et al., 2007

A localização dos detectores em relação à amostra determina se um equipamento trabalha em transmitância, refletância ou combinações (SHENK; WESTERHAUS, 1995). Na forma de transmitância, a radiação atravessa a amostra interagindo com as moléculas que o compõem, sendo uma parte absorvidos por elas. A energia que não é absorvida passa sendo medidas pelos detectores localizados atrás da amostra. Esta técnica é mais comumente utilizada para análise de sólidos com baixa densidade, semi-líquidos e amostras de líquidos.

Na refletância, o feixe de luz é difundido pela amostra irradiada, a radiação penetra (geralmente em poucos milímetros), interagindo com as partículas. A energia não é absorvida e sim refletida onde através dos detectores posicionados no mesmo plano que a amostra, consegue detectar esta radiação. Este sistema é mais utilizado em amostras sólidas e semi-sólidas, que formam uma barreira difícil de trabalhar em transmitância (SHENK; WESTERHAUS, 1995).

A interactância foi desenvolvida por Karl Norris para estudar as plantas vivas e tecidos humanos (KAWANO, 2002). O modo de ação consiste em sondas de fibra ótica as quais estão dispostas de forma concêntricas de modo que o lugar onde ilumina a amostra é o mesmo que capta a energia refletida pelo fruto. Para a coleta destes espectros, a sonda tem que estar em contato com a amostra (KAWANO, 2004; TSUCHIKAWA, 2007). Esta forma de obtenção dos espectros tem permitido o desenvolvimento de estudos em amostras intactas com diferentes volumes, de modo que minimiza ou elimina o tempo de preparação da amostra (SHENK; WESTERHAUS, 1995).

Até 1950, espectroscopias vibracionais, como a do Infravermelho Próximo (NIR), foram muito pouco utilizadas devido à complexidade dos espectros que, por apresentarem bandas largas resultantes de sobreposições de picos individuais, tornavam os espectros difíceis de serem interpretados através de métodos estatísticos univariados. O desenvolvimento das técnicas matemáticas e estatísticas (Quimiometria), a disponibilidade de softwares e o desenvolvimento de novas tecnologias instrumentais, que vêm ocorrendo desde as duas últimas décadas estão tornando a tecnologia NIR uma das técnicas mais promissoras no campo das análises precisas e confiáveis, compatíveis com as técnicas clássicas de referência (MOREIRA, 2007).

Entretanto, estas absorções não são muito fortes, e muitas vezes são sobrepostas, havendo assim a necessidade da aplicação de métodos de calibração multivariável para as determinações quantitativas. Dentre esses métodos, os mais utilizados são a Análise

de componentes principais (PCA, do inglês "*Principal Component Analysis*") e o método dos Mínimos Quadrados Parciais (PLS, do inglês "*Partial Least Squares*"). Através destes modelos, são estabelecidos os coeficientes que irão descrever a propriedade de interesse como função do dado espectral avaliado (PEIRS et al., 2003).

O procedimento típico é obter uma série de amostras de calibração e avaliar os dados espectrais, como também as características qualitativas de interesse, determinada por um (normalmente destrutível) método referencial.

De acordo com Peirs et al. (2003), quando se trabalha com análise de frutas, para cada espécie e variedade é necessário um novo modelo de calibração. Estes modelos devem ser baseados em grandes conjuntos de dados, incluindo frutas de diferentes pomares, épocas de colheita, sistemas de produção, entre outros.

As amostras necessárias para produzir um modelo de calibração robusto devem incluir a variabilidade natural da concentração, ou propriedade de interesse e o número de amostras distribuídas mais ou menos uniformemente, entre os valores extremos, a fim de formar um banco de espectros com a maior representatividade possível (PASQUINI, 2003).

Os fatores que afetam os espectros NIR devem ser representados no conjunto de amostras, e o número de amostras depende da sua complexidade (PASQUINI, 2003). No caso das frutas, as maiores influências devem-se à variedade, à região, à época de colheita e às condições de conservação (REITA et al., 2008).

A validade dos modelos de calibração para futuras predições depende do modo como o conjunto de calibração representa a composição das novas amostras (PEIRS et al., 2003).

O grande número de metodologias analíticas desenvolvidas com base na técnica NIR firma-se na capacidade e na habilidade desta em realizar análises rápidas e não-invasivas em diversas áreas, como exemplos, podem-se mencionar as indústrias petroquímica, têxtil, de carvão, farmacêutica, de polímeros, de tintas, alimentar, entre outras.

1.1. Vantagens e Limitações do uso da espectroscopia

A utilização da técnica Vis/Nir, é relativamente fácil de ser utilizada, podendo ser empregada seja no campo com instrumentos portáteis (HEROLD et al., 2005) ou em linhas de classificação. Permite uma rápida execução das medições, não necessita de

qualquer preparação a amostra, tem potencial para estimar vários atributos de qualidade simultaneamente e permitir a repetição das medições na mesma amostra (HUANG et al., 2008). Outra vantagem é a não utilização de reagentes, o que é importante do ponto de vista ambiental.

A espectroscopia pode também ser peça fundamental na agricultura de precisão. A eficiência dos métodos destrutíveis aplicados casualmente não direciona adequadamente as ações ligadas ao manejo da colheita, uma vez que as frutas não amadurecem homogeneamente nos sítios de produção devido às diferenças ambientais. O sensoriamento não-destrutível das propriedades das frutas poderiam ajudar a determinar a distribuição espacial de frutas prontas para colheita, e indicar onde as frutas de melhor qualidade estariam disponíveis dentro do local de produção (ZUDE et al., 2008).

A maior limitação da espectroscopia NIR, na análise de frutas, é a sua dependência por métodos de referência pouco precisos (OSBORNE, 2000). A incapacidade de um modelo desenvolvido num instrumento ser diretamente utilizado em outro, mesmo entre aparelhos do mesmo tipo, é outra limitação significativa desta técnica (ALAMAR et al., 2007). Outras desvantagens são a relativa complexidade dos métodos de construção e manutenção das calibrações (como ex. métodos de regressão e classificação multivariável de dados) e por fim o custo elevado dos equipamentos.

1.2. Calibrações

Modelos de calibração desempenham um papel importante quando se trabalha com espectroscopia do infravermelho, pois, é através do modelo utilizado que se determina o comportamento do sistema como um todo (LIN; YING, 2009). Segundo Santos (2009), a calibração é o processo de cálculo das equações, que relacionam o resultado espectral com a concentração de uma dada substância ou o valor de determinada característica.

Em um conjunto de calibrações, as amostras que o compõem devem seguir alguns critérios como: o número de amostras, o intervalo de concentrações coberto pelas amostras e a distribuição dentro desse intervalo (WIEDEMANN et al., 1998). Na literatura não existem padrões numéricos definidos de quantos elementos devem compor o conjunto de calibração, entretanto a variabilidade dos dados analíticos para estas amostras deve ser tal que cubra tanto quanto possível o intervalo de variação das

amostras que se pretende analisar futuramente, ou seja, as amostras de calibração devem ser representativas das amostras a analisar no futuro (SANTOS, 2009).

A escolha dos componentes que irão compor as amostras é de extrema importância, pois é necessário incluir no modelo espectros de absorbância eletromagnética correspondente a frutos extremamente heterogêneos nos valores dos diversos parâmetros de maturação avaliados (COSTA et al., 1999).

O processo de calibração consiste em submeter o conjunto de amostras à análise em um espectrofotômetro que compreenda a faixa do infravermelho próximo e assim obter os dados espectrais e, nestas mesmas amostras são efetuadas medições laboratoriais com os métodos de referência (métodos destrutivos e ou tradicionais) para se obter informação relativa ao constituinte ou à característica que se pretende prever. Depois de obtidos os dados, relacionam-se os valores espectrais com os dados analíticos dos métodos de referência, utilizando um algoritmo de regressão, obtendo-se a equação de calibração, com a qual se torna possível prever a concentração ou o valor da característica considerada a partir do espectro do infravermelho próximo da amostra (PEREIRA, 2000).

Existem várias técnicas disponíveis para os tratamentos dos dados espectrais, sendo impossível definir uma regra universal para qualquer estudo de calibração envolvendo dados de espectrofotometria na região do infravermelho próximo. Dentre as técnicas mais conhecidas destacam-se MLR (Multiple Linear Regression), PCA (Principal Component Analysis), PCR (Principal Component Regression), CLS (Classic Least Squares), PLS (Partial Least Squares), dentre outras (GY et al., 1998; FERREIRA et al., 1999; REBOUÇAS; BARROS NETO, 2001; SANTOS et al., 2005).

Para que as equações de calibração sejam calculadas com êxito, é fundamental que a repetibilidade e a reprodutibilidade das determinações analíticas de referência sejam elevadas, pois sendo um método correlativo, a precisão da análise NIRS depende essencialmente da precisão das análises de referência (WIEDEMANN et al.,1998). Outro fator importante é que os modelos de calibração são específicos para cada parâmetro em estudo assim como para cada espécie, variedades, posição geográfica e ainda devem ser atualizados com periodicidade (NOFERINI et al., 2009).

1.3. Validação

Uma vez determinado o modelo que será utilizado como calibração é necessário que se valide sua capacidade de predição. Este procedimento é especialmente relevante para a verificação do nível de ajuste do modelo no momento da previsão de novas amostras (BEEBE et al., 1998).

Segundo Santos (2009), se esta equação demonstrar-se adequada, pode ser utilizada para estimar o mesmo atributo em medições futuras. Caso contrário, não poderá ser utilizada, pois os valores estimados poderão afastam-se substancialmente dos valores obtidos pelo método de referência. No entanto, pode voltar-se sempre à fase inicial, ou seja, tentar obter uma nova calibração.

Vários parâmetros estatísticos são utilizados para estimar a capacidade de utilização das equações de calibração sendo os mais frequentes: o coeficiente de determinação (R^2), o erro quadrático médio dos valores previstos (RMSEP - Root Mean Square Error of Prediction), o enviesamento (b - bias) o erro padrão dos valores previstos (SEP - Standard Error of Prediction).

- **coeficiente de determinação (R^2)** : demonstra a proporção da variabilidade de y que é explicada pela regressão, isto é pondo em relevo em que medida o conhecimento de x serve para através de $y = a + bx$ estimar ou explicar a variação de y. Este parâmetro trata-se então de uma medida de precisão da reta de regressão e o seu valor varia entre 0 e 1, sendo a reta de regressão um modelo perfeito quando $R^2 = 1$ (SANTOS, 2009).

- **erro de previsão do modelo**: é definido como a raiz do erro médio quadrático dos valores previstos (RMSEP – Root mean square error of prediction) (Nicolaï et al, 2007a). Este parâmetro vem expresso em unidades do parâmetro que se quer estimar e determina-se da seguinte forma:

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=p}^{np}(yi - y)^2}{np}}$$

Sendo:

yi = valor estimado pelo modelo (equação de regressão) a i-ésima amostra (média das duas observações por amostra) e para o atributo em estudo; ***y*** = valor medido pelo método de referência para a i-ésima amostra (média das duas observações por amostra) e para o atributo em estudo; n_p número de amostras no conjunto de validação.

- **enviesamento** (*b*- bias): É a diferença sistemática entre os valores medidos e os valores estimados pelo modelo (MCGLONE et al., 2007), e pode ser calculado segunda a fórmula:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^{np}(y1 - y)}{np}$$

b= viés; *y1*= valor estimado pelo modelo (equação de regressão) a i-ésima amostra (média das duas observações por amostra) e para o atributo em estudo; *y* = valor medido pelo método de referência para a i-ésima amostra (média das duas observações por amostra) e para o atributo em estudo; *np* = número de amostras no conjunto de validação.

- **erro padrão dos valores previstos**: o erro padrão pode ser apresentado como alternativa ao erro médio quadrático (NICOLAÏ et al, 2007). O erro padrão dos valores previstos (SEP – Standard error of prediction) é dado por:

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{np}(yi - y - b)^2}{np}}$$

Sendo: *b*= viés (enviesamento do modelo); *y1* = valor estimado pelo modelo (equação de regressão) para a i-ésima amostra (média das duas observações por amostra) e para o atributo em estudo; *y* = valor medido pelo método de referência para a i-ésima amostra (média das duas observações por amostra) e para o atributo em estudo; np= número de amostras no conjunto de validação.

O SEP vem expresso em unidades do parâmetro que se quer estimar e é reportado, de preferência em relação ao RMSEP, quando é obtido um viés significativo nos resultados de validação (MCGLONE et al., 2007).

O RMSEP e o SEP permitem a comparação com outras equações de calibração para a estimativa de um mesmo componente (SANTOS, 2009). A adequabilidade de um modelo de predição pode ser avaliada de acordo com os seguintes critérios (ROGGO et al., 2007): baixo SEP, baixo RMSEP, alto Coeficiente de determinação (R^2) entre os valores estimados e os valores medidos.

2. Utilização da espectroscopia em frutas

2.1 Infravermelho próximo (NIR)

As técnicas de determinação de qualidade não destrutivas, se bem utilizadas podem fornecer garantia que as frutas colocadas no mercado atendam um nível mínimo de aceitação por parte dos consumidores e controla esta qualidade em um grande número de amostras em tempo real, além disto, a melhoria da sustentabilidade ambiental e das atividades humanas são pontos que devem ser enfatizados, uma vez que a utilização desta técnica não exige reagentes químicos ou solventes e resíduos não são gerados na determinação destes parâmetros (CAYUELAA; WEILANDB, 2010).

Padrões legais de qualidade (Grade Standards) já são regras nos principais centros produtores das principais frutas; e geralmente estabelecem um ajuste mínimo numérico de firmeza da fruta, teor de sólidos solúveis ou teor de amido e acidez (Washington Grade Standards for Apples, 1999). As indústrias de maçãs, por exemplo, vêm desenvolvendo uma série de padronizações de qualidade da fruta para identificar qual fruta é superior e melhor aceitável no mercado. Dentre os quais, métodos destrutíveis de firmeza e teor de sólidos solúveis vinculados a testes sensoriais são os mais utilizados para a definição de padrão, porém são complexos e onerosos.

Harker et al. (2008) visando melhoria no sistema de avaliação da qualidade em maçãs, compararam métodos destrutíveis (normalmente utilizados – firmeza, SST, acidez (AT) e pH) com métodos não destrutíveis (avaliação da textura por um sensor acústico de firmeza – AFS ou pelo aparelho Sinclair (SIQ-FT), juntamente com espectroscopia NIR para avaliar SST) junto a analises sensoriais, e verificou forte correlação dos mesmos segundo preferência do consumidor. Diferentemente, Mehinagic et al. (2004) ao investigarem a possibilidade de prever a percepção sensorial da textura de maçãs por parâmetros instrumentais, mostrou que os testes de penetração pareciam ser os mais adequados para predizerem parâmetros sensoriais que medem a qualidade da fruta após a colheita.

Sun et al. (2008) compararam duas técnicas de transmissão de espectroscopia visível (Vis)/ infravermelho próximo (NIR) para medir o teor de sólidos solúveis em pêra. Uma transmissão foi chamada de semi-transmissão a qual o ângulo detector de luz foi posicionado em 120°; e a outra foi transmissão integral com ângulo em 180°. Os

resultados indicaram viabilidade no uso da técnica, sendo o modo de semi-transmissão melhor para avaliação interna de qualidade.

Atualmente, significativas pesquisas com espectroscopia Vis/NIR têm provado o sucesso de modelos de calibração para características qualitativas das frutas. Schmilovitch et al. (2000) estabeleceram relações entre medidas espectrais NIR não destrutivas (1200-2400 nm) e as mais importantes propriedades fisiológicas e índices de qualidade de mangas, tal como SST, acidez, firmeza e potencial de armazenamento. Lu (2001) avaliou o potencial do espectro de refletância NIR (800-1700 nm) para avaliações de firmeza e teor de açúcar para cerejas 'Hedelfingenr' e 'Sam'. Lu e Ariana (2002) buscando uma técnica de sensoriamento NIR (900-1500 nm) encontraram pelo método de interactância rápida obtenção do espectro na avaliação do teor de açúcar em maçãs; no entanto, Park et al. (2003) trabalharam com técnicas de espectroscopia NIR (800-1100 nm) com análises de regressão de componentes principais (PCR) para determinar SST e firmeza da polpa também em maçãs.

Ortiz et al. (2001) utilizou a espectroscopia do infravermelho próximo associada a sensores de impacto para predizer frutos de pêssegos com problemas de lanosidade. Os autores concluíram que apenas sensores de impacto não fornecem informações do estado de suculência das frutas, entretanto, quando utilizada à técnica da espectroscopia Nir, a percentagem de identificação de frutas com lanosidade foi de 80%.

A aplicação da espectroscopia NIR para análise de frutas pode apresentar algumas limitações devido ao alto teor de umidade das frutas, seu grande tamanho e forma altamente irregular e o fato de que algumas frutas apresentam como característica uma casca dura e que não é facilmente penetrável. Estes pontos fazem com que ocorra sempre uma adaptação a instrumentação utilizada de acordo com as amostras em estudo (PÉREZ-MARÍN et al., 2009).

Nos últimos anos, porém, os equipamentos NIRS sofreram alterações sendo a nova geração de aparelhos e acessórios são dotados de transmissão de fibra óptica, sondas de interactância mais adequadas para análise de produtos intactos. A literatura contém numerosos estudos sobre a aplicabilidade da tecnologia NIR para a análise de várias espécies de frutas e produtos hortícolas tais como: cereja (GUYER ; YANG, 2000), kiwi (CLARK et al., 2004), pêssego (COSTA et al., 2002; CARLOMAGNO et al., 2004;), citrus (FRASER et al., 2003), manga (SARANWONG et al., 2004; VALENTE et al., 2009), nectarina (PÉREZ-MARÍN et al., 2009), pêra (HAN et al., 2006; FU et al., 2007), maçã

(HARKER et al., 2008; FAN et al., 2009), mirtilo (SINELLI et al., 2008), uva (CYNKAR et al., 2009), damasco (CAMPS; CHRISTEN, 2009). A grande maioria dos trabalhos trata, especialmente, na predição da composição química (teor de açúcar) e os parâmetros de estrutura, para identificar variedades e ou outros parâmetros de medição relacionados com a maturação e qualidade das frutas.

2.2 Fluorescência da clorofila

Métodos não destrutivos são rápidos, podem permitir a análise de um maior número de amostras, medidas repetidas nas mesmas amostras durante os estádios de maturação, bem como na pós-colheita, e podem ser utilizados em linhas de classificação de frutas e controle de qualidade. Métodos não invasivos baseados na espectroscopia de refletância para a determinação de clorofilas (ZUDE-SASSE, 2003), antocianinas (MERZLYAK et al., 2003) e flavonóides (MERZLYAK et al., 2005) têm sido propostos.

Nos organismos fotossintetizantes, o maior composto fluorescente é representado pela clorofila *a*. Esta absorve a radiação eletromagnética em um grande intervalo espectral que compreende do ultravioleta ao infravermelho, e emite a fluorescência em torno de 680 namômetros e na região do NIR. Deste modo permite medir a fluorescência da clorofila também em frutas com a casca muito pigmentada, escolhendo o comprimento de onda de excitação que melhor penetram no extrato superficial (AGATI et al., 2005).

A maior parte da luz absorvida pela clorofila é utilizada para os processos fotossintéticos, enquanto uma pequena quantidade (1-2%) é dissipada como fluorescência, que é re-emitia dentro de um tempo muito curto (aproximadamente 09 a 10 segundos) e em um comprimento de onda maior do que o envolvido nos processos de absorção (685-750 nm) (GUIDETTI et al., 1998).

As técnicas de fluorescência têm sido indicadas como ferramenta para avaliar a qualidade dos frutos (DeEll et al., 1999). Elas baseiam-se principalmente na avaliação da atividade fotossintética das frutas em condições de estresse através da medição da cinética de indução da fluorescência, que ocorrem durante a transição de escuro para a luz (efeito Kautsky). É medida através de fluorímetros de amplitude modulada (PAM) e este requer uma adaptação ao escuro das amostras limitando a sua utilidade prática, especialmente para aplicações de campo. A medição da fluorescência no estado escuro (F0), foi sugerido avaliar a acumulação não-invasiva de açúcar nas bagas de uva durante a maturação (KOLB et al., 2006). Aplicações de medições de fluorescência-cinética da

clorofila envolveram trabalhos de monitoramento de maçãs frigoconservadas (SONG et al., 1997;. MIR et al., 1998; PRANGE et al., 2003), avaliação das condições de stress (SOLOVCHENKO; SCHMITZ-EIBERGER, 2003) e amadurecimento das frutas (SONG et al., 1997).

A técnica de medições da fluorescência também foi empregada em um estudo para a detecção de alterações na firmeza, conteúdo de clorofila e grau de maturidade durante a vida de prateleira de maçãs 'Jonagold' e 'Golden Delicious' (KUCKENBERG et al., 2008). Técnica de imagens de fluorescência foi aplicado por Ariana et al. (2006) para detectar defeitos de maçã.

A técnica de excitação de fluorescência da clorofila, desenvolvida para avaliar a absorção de luz ultra-violeta (UV) por compostos na epiderme das folhas (BILGER et al., 1997; CEROVIC et al. 2002), foi recentemente aplicada à detecção não-destrutiva de antocianinas em azeitonas (AGATI et al., 2005), bagas de uvas (AGATI et al., 2007) e flavonóides em maçãs (HAGEN et al. 2006). O método é baseado na seleção de comprimentos de onda de excitação selecionados por compostos localizados nas camadas externas das frutas. Ela representa, portanto, um modo de utilização diferente da fluorescência clorofila em relação à técnica PAM, pois não necessita submeter a amostra a um período no escuro para o procedimento da leitura.

A disponibilidade de um adequado sensor óptico portátil permitiu a aplicação da técnica diretamente no campo para o monitoramento da maturação de uvas para vinho (BEN GOZLEN et al., 2010;. TUCCIO et al., 2011).

O princípio básico é que, durante o processo de amadurecimento ocorre uma redução gradual do conteúdo de clorofila, assume-se essa redução para o grau de fluorescência da clorofila e utiliza-se este como um indicador do nível de maturação do fruto (GUIDETTI et al., 1998).

2.3 Índice DA (DA-meter)

Os consumidores se tornam insatisfeitos quando adquirem produtos que não correspondem as suas expectativas, pois normalmente, nos centros de distribuição estão presentes lotes de frutas com graus de maturação heterogêneos. Devido a esta situação, o consumidor não é capaz de avaliar o melhor momento para o consumo nem por quanto tempo estas frutas manterão inalteradas as suas características (BREGOLI et al, 2002, TORRIGIANI et al., 2004).

Além disto, embora seja conhecido que o nível de maturação alcançado pelas frutas na colheita condiciona a qualidade oferecida aos consumidores como também ao tempo de vida de prateleira, as frutas são colhidos precocemente normalmente para apresentarem maior firmeza e resistência as etapas de transporte e classificação, não desenvolvendo assim características de aroma e sabor (BREGOLI et al, 2002, TORRIGIANI et al., 2004).

Segundo Noferini et al. (2009a) as seleções realizadas nas frutas depois da colheita se baseiam principalmente nos parâmetros cor , tamanho e a presença ou ausência de defeitos, não sendo capaz de agrupar as frutas em relação a seu grau de maturação e, quando se determina parâmetros de qualidade, que podem responder ao real estado das frutas, estes ficam limitados ao conteúdo de sólidos solúveis, a firmeza de polpa e aos teores de acidez, sempre realizados sobre uma amostra da partida ou lote em questão.

O índice DA é obtido através do espectrofotômetro portátil DA-meter marca Turoni-Itália. Os feixes de luz são emitidos nos comprimentos de onda de 670 nanômetros (visível) e 720 namômetros (infra-vermelho), no qual o equipamento obtém os sinais de interactância (I) e absorbância (A) dos frutos e o cálculo dos índices é baseado, segundo Noferini et al., (2009), na lei de Lambert Beer (A = log10 I-10) sendo calculado como:

$$IDA = A670 - A720$$

Onde, A670 e A720, foram os valores da absorbância das frutas nos comprimentos de onda de 670 e 720 namômetros, respectivamente. O índice DA é uma patente pertencente a Universidade de Bologna/Itália (2005). O equipamento é constituido de uma fonte luminosa composta de seis LEDs de diodo, posicionados ao redor de um fotodiodo. Três LEDs de diodo emitem comprimentos de onda de 670nm e outros três em comprimento de 720nm. As frutas são submetidos a iluminação de curta duração com as duas fontes monocromáticas e no âmbito de cada um deles, a quantidade de luz reemitida a partir da fruta é captada e medida pelo fotodiodo central. A luz recebida é então convertida e elaborada por um micro-controlador para o calculo do índice DA (COSTA et al., 2010).

Esta instrumentação apresenta uma série de vantagens como a pequena dimensão do aparelho tornando-o portátil, podendo ser utilizado quer no campo analisando as frutas como em centrais de distribuição e varejo em geral. Acrescenta-se ainda, um custo acessível, a não influência da temperatura das frutas e, sobretudo não requer

praticamente nenhuma calibração, podendo ser aplicado sobre frutas de diversas cultivares e espécies. Uma vez determinado o valor do índice DA, típico de cada cultivar, este permanece constante a cada ano independente das condições climáticas (ZIOSI et al., 2008).

Trabalhos de avaliação da eficiência do equipamento foram conduzidos com as cultivares de pêssegos Royal Glory e Fayette onde permitiram acompanhar a maturação das frutas e assim estabelecer a época de colheita com a utilização, investigar as alterações na pós-colheita, demonstrando a relação entre o estádio de maturação e a emissão do etileno, juntamente com a eficácia do uso do 1-MCP(metilciclopropeno). Com damascos e nectarinas foi possível separa as frutas em categorias assim como testar a preferência do consumidor (NOFERINI et al., 2009b).

3. Hipóteses

- A utilização da espectroscopia do visível (Vis), infravermelho próximo (NIR) e da fluorescência da clorofila, podem ser utilizados como métodos não destrutivos para avaliação dos parâmetros de maturação e qualidade das frutas.
- Amostragens em diferentes épocas de maturação influenciam nos modelos de calibração das frutas pela utilização da espectroscopia do infravermelho próximo (NIR).

4. Objetivos

4.1. Objetivo geral

Utilizar a espectroscopia do visível, do infravermelho próximo (Vis/NIR) e da fluorescência da clorofila como métodos não destrutivos para avaliar parâmetros de qualidade de pêssegos, mangas e maçãs.

4.2. Objetivos específicos

- Estabelecer modelo de calibração confiável com uso da espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) para avaliar os parâmetros de qualidade sólidos

solúveis e firmeza de polpa de pêssegos das cultivares Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu;

- Avaliar a influência da época de colheita sobre os modelos de calibração realizados com o NIR-Case em pêssegos;

- Avaliar a eficiência da utilização da fluorescência da clofofila, através do equipamento não destrutível Multiplex (Mx) (Force-A, Orsay, França), na estimação do conteúdo de clorofila, antocianinas e flavonóides em maçãs das cultivares Fuji, Granny Smith e Golden Delicious;

- Avaliar a potencialidade do uso da espectroscopia Vis/Nir, na separação dos frutas em categorias de maturação e as relações existentes entre os índice DA, obtido com o equipamento DA-meter® e os parâmetros de maturação utilizados em manga da cultivar Tommy Atkins;

- Acompanhar a maturação de pêssegos das cultivares Eldorado e Jubileu com o uso da espectroscopia Vis/Nir através da utilização do índice DA, obtido com o equipamento DA-meter®, e avaliar as relações entre este índice e os parâmetros de maturação usados em pêssegos.

5. Referências

AGATI, G., PINELLI, P., CORTÉS EBNER, S., ROMANI, A., CARTELAT, A., CEROVIC, Z.G. Non-Destructive evaluation of anthocyanins in olive (Olea europaea) fruits by in situ chlorophyll fluorescence Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, 1354-1363. 2005.

AGATI, G., MEYER S., MATTEINI P. e CEROVIC, Z. G. Assessment of anthocyanins in grape (Vitis vinifera L.) berries using a non-invasive chlorophyll fluorescence method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, 1053-1061. 2007.

ALAMAR, M. C., BOBELYN, E., LAMMERTYN, J., NICOLAÏ, B. M. & MOLTÓ, E. Calibration transfer between NIR diode array and FT-NIR spectrophotometers for measuring the soluble solids contents of apple. **Postharvest Biology and Technology** 45: 38-45. 2007.

ARIANA, D., GUYER, D. E., e SHRESTHA, B. Integrating multispectral reflectance and fluorescence imaging for defect detection on apples. ***Computers and Electronics in Agriculture**, 50*, 2006.

BEEBE, K.R., PELL, R.J., SEASHOLTZ, M.B. **Chemometrics: a Pratical Guide**; John Wiley & Sons; New York, H.M. (Eds.). Wiley-VCH, Weinheim, Germany. pp. 115-124. 1998.

BEN GHOZLEN, N., CEROVIC, Z. G., GERMAIN, C., TOUTAIN, S., e LATOUCHE, G. Non-destructive optical monitoring of grape maturation by proximal sensing. **Sensors**, 10, 10040-10068. 2010.

BILGER, W., VEIT, M., SCHREIBER, L., & SCHREIBER, U. Measurement of leaf epidermal transmittance of UV radiation by chlorophyll fluorescence. **Physiologia Plantarum**, 101, 754-763. 1997.

BOBELYN, E., SERBAN, A.S., NICU, M.,LAMMERTYN, J., NICOLAI, M.B., SAEYS, W. Postharvest quality of apple predicted by NIR-spectroscopy: Study of the effect of biological variability on spectra and model performance. **Postharvest Biology and Technology,** 55, 133–143, 2010.

BOTTON, C. G. de. Avaliação da qualidade de mangas transportadas por via marítima chegando na Europa pelo porto de Roterdã, Holanda. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.14, n.2, p.121-125, 1992.

BREGOLI, A.M., SCARAMAGLI, S., COSTA, G., SABATINI, E., BIONDI, S., ZIOSI, V., TORRIGIANI, P. Peach (Prunus persica L.) fruit ripening: aminoethoxyvinylglycine (AVG) and exogenous polyamines affect ethylene emission and flesh firmness. **Physiology Plant**. V.114:p. 472-48. 2002.

BRUHN, C.M. Aspectos de calidad y seguridad alimentaria de interés para El consumidor. In: **Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas**. 3ª edición. 2007.

CAYUELAA, J. A., WEILAND, C. Intact orange quality prediction with two portable NIR spectrometers, **Postharvest Biology and Technology** 58, 113–120, 2010.

CAMPS, C., CHRISTEN, D. Non-destructive assessment of apricot fruit quality by portable visible-near infrared spectroscopy. **Food Science and Technology** 42, 1125–1131, 2009.

CARLOMAGNO G, CAPOZZO L, ATTOLICO G AND DISTANTE A.. Non-destructive grading of peaches by near infrared spectrometry. **Infrared Physic & Technology** 46, 23-29, 2004

CARRARI, F.; BAXTER, C.; USADEL, B.; URBANCZYK-WOCHNIAK, E.; ZANOR, M.-I.; NUNES-NESI, A.; NIKIFOROVA, V.; CENTERO, D.; RATZKA, A.; PAULY, M.; SWEETLOVE, L.J.; FERNIE, A.R. Integrated analysis of metabolite and transcript levels reveals the metabolic shifts that underlie tomato fruit development and highlights regulatory aspects of metabolic network behaviour. **Plant Physiology**. 142, 1380–1396. 2006.

CEN, H., HE, Y., Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. **Trends Food Science Thechnology**. 18, 72-83, 2007.

CEROVIC, Z. G., OUNIS, A., CARTELAT, A., LATOUCHE, G., GOULAS, Y., MEYER, S. The use of chlorophyll fluorescence excitation spectra for the non destructive in situ assessment of UV-absorbing compounds in leaves. **Plant, Cell and Environment**, 25, 1663-1676, 2002.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 735 p. 2005.

CLARK, C.J., MCGLONE, V.A., DE SILVA, H.N., MANNING, M.A., BURDON, J. e MOWAT, A.D. Prediction of storage disorders of kiwifruit (Actinidia chinensis) based on visible-NIR spectral characteristics at harvest. **Postharvest Biology and Technology** 32: 147-158. 2004.

COSTA, G., ANDREOTTI C., MISEROCCHI O., NOFERINI M. E SMITH G. S., - Near-Infrared (NIR) methods to determine kiwifruit field harvest date and maturity parameters in cool-store. IVth Int. Symposium. on kiwifruit, Santiago (Chile), January 11-14. **Acta Horticulturae** 498:231-37, 1999.

COSTA, P. F., ALVES, T. P. & MENEZES, J. C., Monitorização at-line de Bioprocessos Industriais com FT-NIR. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Biotecnologia**, 69: 11-16. 2001.

COSTA, G., NOFERINI, M., FIORI, G., MISEROCCHI, O., BREGOLI, A.M. NIRS Evaluation of Peach and Nectarine Fruit /quality un Pre- and Post-Haverst Conditions. Proc. 5th on Peach. Eds. R.S. Johnson & C.H. Chisostos. **Acta Horticulture** 592, ISHS, 2002.

COSTA, G.; NOFERINI, M.; FIORI, G.; ZIOSI, V. Internal fruit quality: how to influence it, how to define it. **Acta Horticulture**, n. 712, p. 339–346, 2006.

COSTA G., NOFERINI M., FIORI G., TADIELLO A., TRAINOTTI L., CASADORO G., ZIOSI. V. A non desctrutive index (Iad)to characterize ripening evolution in fruit species. **ASHS** Annual Conferece, Orlando, Florida, July 2008.

COSTA G., NOFERINI, M., BONORA, E. **Metodi innovativi di gestione dei frutti nella fase post-raccolta - Metodi non distruttivi per valutare la qualità dei frutti.** Edito da Regione Emilia-Romagna Servizio Sviluppo del Sistema Agroalimentare Assessorato Agricoltura. p.17-38- Bologna/Italia, 2010.

CYNKAR, W., COZZOLINO, D. e DAMBERGS, R.G. The effect of sample storage and homogenisation techniques on the chemical composition and near infrared spectra of white grapes. **Food Research International** 42: 653–658. 2009.

DAVIES, A.M.C., William Herschel and the discovery of near infrared. **Spectroscopy**. Eur. 12, 10–16. 2000.

DEELL, J. R., VAN KOOTEN, O., PRANGE, R. K., & MURR, D. P. Applications of chlorophyll fluorescence techniques in postharvest physiology. **Horticultural Reviews**, 23, 69-107. (1999).

FAN, G., ZHA, J., DUB, R. GAO, L. Determination of soluble solids and firmness of apples by Vis/NIR transmittance. **Journal Food Engenier**. 93: 416–420. 2009.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPEY, P. L. O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial, **Química Nova**, 22(5), 1999.

FRASER, D.G, JORDAN, R.B, KÜNNEMEYER, R. MCGLONE, V.A. Light distribution inside mandarin fruit during internal quality assessment by NIR spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology** 27: 185-196. 2003.

FU X, YING Y, LU H AND XU H. Comparison of diffuse reflectance and transmission mode of visible-near infrared spectroscopy for detecting brown heart of pear. **Journal Food Eng**. 83: 317–323. 2007.

GUARINONI, A. Efecto del estado de madurez de los frutos a la cosecha sobre su conservación. In: CONGRESO IBEROAMERICANO DE TECNOLOGÍA POSTCOSECHA Y AGROEXPORTACIONES, 2., 2000, Bogotá, Colombia. Simposio: Control de fisiopatías en frutas durante el almacenamiento en frío, Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 2000. v.1 p.29-38

GUIDETTI R., MIGNANI I., OBERTI R., Analisi dell'immagine per la valutazione della qualità dei frutti: misura dell'intensità di fluorescenza come indicatore del grado di maturazione. **Italus Hortus**, Numero Speciale:23-6, 1998.

GUYER, D. e YANG, X. Use of genetic artificial neural networks and spectral imaging for defect detection on cherries. **Computers Electronics Agriculture** 29: 179–194. 2000.

GUTHRIE, J.A., WEDDING, B., WALSH, K.B., 1998. Robustness of NIR calibrations for soluble solids in intact melon and pineapple. **J. Near Infrared Spectrosc**. 6, 259–265.

GY, B.; Z., OVÁDI; A, SALGÓ Prediction of Gasoline Properties with Near Infrared Spectroscopy. J. **Near Infrared Spectroscopy**, 6: p.341–348, 1998.

HAGEN, S. F., SOLHAUG, K. A., BENGTSSON, G. B., BORGE, G. I. A., & BILGER, W. Chlorophyll fluorescence as a tool for non-destructive estimation of anthocyanins and total flavonoids in apples. **Postharvest Biology and Technology**, 41, 156-163. (2006).

HAN D, TU R, LU C, LIU X AND WEN Z. Nondestructive detection of brown core in the Chinese pear 'Yali' by transmission visible–NIR spectroscopy. **Food Control** 17: 604–608. 2006.

HARKER, F.R., et al. Eating quality standards for apples based on consumer preferences, **Postharvest Biol. Technol**. (2008),

HEROLD, B., TRUPPEL, I., ZUDE, M. & GEYER, M., Portable sensor equipment for fruit maturity monitoring in apple orchard. Information and Technology for Sustainable Fruit and Vegetable Production. **FRUTIC** 05: 347-354. 2005.

HERNÁNDEZ-GÓMEZ, A., HE, Y., GARCÍA-PEREIRA, A., Non destructive measurements of acidity, soluble solids and firmness of Satsuma mandarin using Vis/NIR-spectroscopy techniques. **Journal Food Engeneering**. 77, 313–319. 2006.

HUANG, H., YU, H., XU, H. & YING, Y., Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of 2008. quality in foods and beverages: A review. **Journal of Food Engineering**, 87: 303-313.

FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Database. **Crops database**. Disponível em: <http:// faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. Online. Acesso em: 06 fev. 2011.

KAWANO, S. 1994. Non-destructive NIR quality evaluation of fruits and vegetables in Japan. **NIR News**, 5, 10–12

KAWANO, S. 2004. **Sampling and sample presentation**. In Near-Infrared Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications. Siesler, H.W., Ozaki, Y., Kawata, S., Heise, H.M. (Eds.). Wiley-VCH, Weinheim, Germany, pp. 115-124.

KOLB, C. A., WIRTH, E., KAISER, W. M., MEISTER, A., RIEDERER, M., e PFÜNDEL, E. E. (2006). Noninvasive evaluation of the degree of ripeness in grape berries (Vitisvinifera L. cv. Bacchus and Silvaner) by chlorophyll fluorescence. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, 299-305.

KUCKENBERG, J., TARTACHNYK, I., & NOGA, G. Evaluation of fluorescence and remission techniques for monitoring changes in peel chlorophyll and internal fruit characteristics in sunlit and shaded sides of apple fruit during shelf-life. **Postharvest Biology and Technology**, 48, 231-241. (2008).

LAI, A.; SANTANGELO E.;SORESSI, G.P.; FANTONI, R.; Analysis of the main secondary metabolites produced in tomato (Lycopersicon esculentum, Mill.) epicarp tissue during fruit ripening using fluorescence techniques. **Postharvest Biology and Technology**, v. 43.p.335–342. 2007.

LIN, Y e YING,Y. Theory and application of near infrared spectroscopy in assessment of fruit quality: a review **Sensor & Instrument Food Quality**. V. 3, p.130–141.(2009)

LU, R. 2001. Predicting firmness and sugar content of sweet cherries using near-infrared diffuse reflectance spectroscopy. **Transactions of the ASAE**, 44, 1265 e1271.

LU, R., & ARIANA, D. 2002. A near-infrared sensing technique for measuring internal quality of apple fruit. **Applied Engineering in Agriculture**, 18, 585 e 590.

MCGLONE, V.A., KAWANO, S., Firmness, dry-matter and soluble-solids assessment of postharvest kiwifruit by NIR-spectroscopy. **Postharvest Biology Technology** 13, p. 131-141. 1998.

MCGLONE, V. A., JORDAN, R.B., MARTINSEN, P.J., Vis/NIR estimation at harvest of pre-and post storage quality indices fr 'Royal Gala' apple. **Postharvest Biology and Technology** v.25, p.135-144, 2002.

MERZLYAK, M.N., SOLOVCHENKO, A.E., CHIVKUNOVA, O.B., Patterns of pigment changes in apple fruit during adaptation to high sunlight and sunscald development. **Plant Physiology Biochemistry**.v. 40, p. 679–684. 2002.

MERZLYAK, M. N., SOLOVCHENKO, A. E., & GITELSON, A. A. Reflectance spectral features and non-destructive estimation of chlorophyll, carotenoid and anthocyanin content in apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, 27, 197-211. 2003.

MERZLYAK, M. N., SOLOVCHENKO, A. E., SMAGIN, A. I., E GITELSON, A. A. Apple flavonols during fruit adaptation to solar radiation: spectral features and technique for non-destructive assessment. **Journal of Plant Physiology**, 162, 151-160. 2005.

MEHINAGIC, E., ROYER, G., SYMONEAUX, R., BERTRAND, D., JOURJON, F., 2004. Prediction of the sensory quality of apples by physical measurements. **Postharvest Biology Technology** 34, 257–269.

MIYAMOTO, J.; KITANO, Y. Non-destructive determination of sugar content in satsuma mandarin fruit by near infrared transmittance spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**,3, 227–237. 1995.

MIR, N., WENDORF, M., PEREZ, R., e BEAUDRY, R. M. Chlorophyll fluorescence in relation to superficial scald development in apple. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 123, 887-892. 1998.

MOREIRA, E. D. T. **Classificação de Cigarros Usando Espectrometria NIRR e Métodos Quimiométricos de Análise**, Universidade Federal da Paraíba – CCEN/DQ-João Pessoa/PB – março/2007.

NICOLAÏ, B., LAMMERTYN, J., VERAVERBEKE, E. A. & JANCSÓK, P., 2005. Non-Destructive Techniques for Measuring Quality of Fruit and Vegetables. Proceedings of 5th International Postharvest Symposium. Mencarelli, F. & Tonutti (eds.) **Acta Horticulturae** – ISHS 682 (2), Verona, Itália, 1333- 1339.

NICOLAÏ, B. M., BEULLENS, K, BOBELYN, E., PEIRS, A., SAEYS, W., THERON, K. I. & LAMMERTYN, J., Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. **Postharvest Biology and Technology 46**: 99-118. 2007.

NOFERINI, M., FIORI, G., COSTA, G. Um nuovo indice di maturazione per stabilire la raccolta ed orientare Il consumatore verso la qualità. **Revista Frutticoltura,** n° 7/8, p-30-37, 2009a

NOFERINI, M. FIORI, G., ZIOSI, V., GOTTARDI, F., BRASINA, M., MAZZINI, C., COSTA, G. DA-meter, piu facile Il controllo della qualità dei frutti dal campo alla distribuzione – **Revista Frutticoltura,** n° 4, 2009b

NUNES, P. G. A. Uma nova técnica para seleção de variáveis em calibração multivariada aplicada às espectrometrias UV-VIS e NIR/ Pedro Germano Antonino Nunes – João Pessoa, 2008. 106p. **Tese** (Doutorado) – UFPB/CCEN.

ORTIZ, C., BARREIRO, P., CORREA, E., RIQUELME, M., RUIZ-ALTISENT, M. Non-destructive Identi"cation of Woolly Peaches using Impact Response and Near-Infrared Spectroscopy. **Journal of Agricultural Engineering Research** 78 (3), 281-289, (2001)

OSBORNE, B.G., 2000. **Near infrared spectroscopy in food analysis**. BRI Australia Ltd, North Ryde, Australia. Copyright 2000 Wiley, New York, pp. 1–14 (Chapter 1).

PARK B, ABBOTT JA, LEE KJ, CHOI CH, CHOI KH 2003. Near-infrared diffuse reflectance for quantitative and quantitative measurement of soluble solids and firmness of delicious and gala apples. **Transactions of the ASAE** 46(6): 1721–1731.

PASQUINI, C., Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Pratical Aspects and Analytical Applications – Review. **Journal Brazil Chemical**. Soc. **14** (2): 198-219. 2003.

PÉREZ-MARÍN, D., SÁNCHEZ, M.T., PAZ,P., SORIANO,M.A., GUERRERO, J.E., VARO, A. Non-destructive determination of quality parameters in nectarines during on-tree ripening and postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology** v.52 p. 180–188,2009.

PEIRS. A.; TIRRY, J.; VERLINDEN, B.; DARIUS, P.; NICOLAI, B.M. Effect of biological variability on the robustness of NIR models for soluble solids content of apples. **Postharvest Biology and Technology** 28(2): 269–280. 2003.

PEREIRA, I. F. J. M., 2000. Aplicação da espectroscopia NIRS (Near Infrared Spectroscopy) na avaliação da qualidade da carne de vitelo. **Relatório** de Fim de Curso em Engenharia Agronómica. ISA, UTL, Lisboa.

PRANGE, R. K., DELONG, J. M., HARRISON, P. A., LEYTE, J. C., & MCLEAN, S. D. Oxygen concentration affects chlorophyll fluorescence in chlorophyll-containing fruit and vegetables. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 128, 603-607. (2003).

POPE, J. M. **Near-infrared spectroscopy of wood products.** In: CONNERS, T. E.; BANERJEE, S. (Ed.). Surface analysis of paper. Boca Raton: CRC Press, 1995. p. 142-151.

REBOUÇAS, M.V.; BARROS NETO, B. Near infrared spectroscopic prediction of physical properties of aromatic-rich hydrocarbon mixtures. **J. Near Infrared Spectroscopy**, 9: p.263-273, 2001.

REITA, J., PEANO, C., SARANWONG, S. & KAWANO, S., 2008. An evaluating technique for variety compatibility of fruit applied to a near infrared Brix calibration system: a case study using Brix calibration for nectarines. **Journal of Near Infrared Spectroscopy 16**: 83-89.

ROGGO, Y., CHALUS, P., MAURER, L., LEMA-MARTINEZ, C., EDMOND, A. & JENT, N., 2007. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical Technologies – Review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** 44: 683–700.

SANTOS, P. **Aplicação da espectroscopia de infravermelho próximo na avaliação de alguns atributos de qualidade em pêra 'Rocha' e maçã 'Gala'** Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agronómica – Hortofruticultura e Viticultura. Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa – Lisboa 2009.

SANTOS, A.F.; SILVA, F.M.; LENZI, M.K.; PINTO, J.C. Monitoring And Control of Polymerization Reactors Using NIRS, **Polymer-Plastics Technology And Engineering**, 44, p.1–61, 2005.

SARANWONG, S., SORNSRIVICHAI, J., KAWANO, S. Prediction of ripe-stage eating quality of mango fruit from its harvest quality measured nondestructively by near infrared spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**. 31, 137–145, 2004.

SCHMILOVITCH, Z., MIZRACH, A., HOFFMAN, A., EGOZI, H., & FUCHS, Y. 2000. Determination of mango physiological indices by near-infrared spectrometry. **Postharvest Biology and Technology**, 19, 245e252.

SOLOVCHENKO, A. E., e SCHMITZ-EIBERGER, M. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. **Journal of Experimental Botany**, 54, 1977- 1984. (2003).

SONG, J., DENG, W. M., BEAUDRY, R. M., e ARMSTRONG, P. R. Changes in chlorophyll fluorescence of apple fruit during maturation, ripening, and senescence. **Hortscience**, 32, 891-896. (1997).

SHENK J.S. e M.O. WESTERHAUS,. Reference methods. m: Analysis of Agriculture and Feed Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. MONOGRAPH, by: Infrasoft International, 1995. 124 p.

SKOOG, D. A., WEST, D. M. & HOLLER F. J., 1996. **Fundamentals of Analytical Chemistry.** 7th edition. Thomson Learning Brooks / Cole, United States of America 870 pp.

SINELLI N, SPINARDI A, EGIDIO VD, MIGNANI I AND CASIRAGHI, E.. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near and mid-infrared spectroscopy. **Postharvest Biology Technology** 50: 31–36. 2008

SUN, T.; YING, Y., XU, H. On-line measurement of soluble solid content in pears using visible/near infrared transmission technique. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, St. Joseph, Michigan. Providence, Rhode Island, June 29 – July 2, 2008.

TEWARI, J.C., DIXIT, V., CHO B.K., MALIK, K.A. Determination of origin and sugars of citrus fruits using genetic algorithm, correspondence analysis and partial least square combined with fiber optic NIR spectroscopy. **Spectrochim. Acta**, Part A 71 (3): 1119-1127. (2008).

TORRIGIANI P. , BREGOLI A. M. , ZIOSI V. , SCARAMAGLI S., CIRIACI T. , RASORI A. , BIONDI S., COSTA G. Pre-harvest polyamine and aminoethoxyvinylglycine (AVG) applications modulate fruit ripening in Stark Red Gold nectarines (Prunus persica L. Batsch). **Postharvest Biology and Technology**. vol 33, pp. 293-308, (2004).

TRAINOTTI, L., BONGHI, C., ZILIOTTO, F., ZANIN, D., RASORI,A., CASADORO, G., RAMINA, A., TONUTTI, P. The use of microarray µPEACH1.0 to investigate transcriptome changes during transition from pre-climateric to climateric phase in peach fruit. **Plant Siensce** 170, p606-613, 2006.

TREVISAN, R.; PIANA, C.F.B; TREPTOW, R.O.; GONÇALVES, E.D.; ANTUNES, L.E.C. Perfil e preferências do consumidor de pêssego (Prunus persica) em diferentes regiões produtoras no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.1, p. 090-100. 2010.

TSUCHIKAWA, S. A review of recent near infrared research for wood and paper. **Appl. Spectrosc. Rev**. 42, 43-71. (2007).

TUCCIO, L., REMORINI, D., PINELLI, P., FIERINI, E., TONUTTI, P., SCALABRELLI, G. ET AL. A rapid and non destructive method to assess in the vineyard grape berry anthocyanins under different seasonal and water conditions. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, 17, 181-189. (2011).

VALENTE M, LEARDI R, SELF G, LUCIANO G AND PAIN JP. Multivariate calibration of mango firmness using vis/NIR spectroscopy and acoustic impulse method. **Journal Food Eng**. 94: 7–13. 2009.

VAN KEMPEN, T. AND JACKSON, D. NIRS may provide rapid evaluation of amino acids.*Feedstuffs*, 68, 12-15. 1996.

WIEDEMANN, S. C. C. C., HANSEN, W. G., SNIEDER, M. & WORTEL, V. A. L., 1998. NIR calibration in practice. **Analusis Magazine 26** (4): M38-M43.

ZERBINI, P. E., 2006. Emerging technologies for non-destructive quality evaluation of fruit. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, 14 (2): 13-23.

ZUDE, M. Comparison of indices and multivariate models to non-destructively predict the fruit chlorophyll by means of visible spectrometry in apple fruit. **Analytica Chimica Acta**, 481, 119-126. (2003).

ZUDE, M.; PFLANZ, M.; KAPRIELIAN, C.; AIVAZIAN, B.L. 2008. NIRS as a Tool for Precision Horticulture in the Citrus Industry. **Journal Biosystems Engineering** 99 (3): 455-459.

ZIOSI, V., NOFERINI, M., FIORI, G., TADIELLO, A., TRAINOTTI, L., CASADORO, G., COSTA, G., 2008. A new index based on vis spectroscopy to characterize the progression of ripening in peach fruit. **Postharvest Biology and Technology** 49 319–329.

Artigo 1

UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA VIS/NIR PARA ESTIMAR SÓLIDOS SOLÚVEIS E FIRMEZA DA POLPA DURANTE A MATURAÇÃO DE PÊSSEGOS[1]

Débora Leitzke Betemps, José Carlos Fachinello,Rossano Massai,
Damiano Remorini, Giovanni Agati, Simone Galarça

Resumo- Este trabalho objetivou estabelecer modelos de calibração e o efeito da época de colheita das frutas nestes modelos para a estimação dos sólidos solúveis e firmeza de polpa de forma não destrutiva, em pêssegos das cultivares Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu, pertencentes à região de Pelotas/RS. Para a execução do trabalho foi utilizado o espectrofotômetro de interactância Nir-Case(SACMI, Imola, Itália) com comprimento de onda entre 600-1000nm. Para a determinação dos atributos de qualidade de pêssegos foram estabelecidas as equações de calibração para cada cultivar em estudo a partir das avaliações por método não destrutivo (NIR-Case) e destrutivo (método de referência) e, posteriormente, testou-se o desempenho destas (validação) através do coeficiente de determinação (R^2) e erro padrão dos valores previstos (SEP). Para o primeiro ano de avaliação foram estabelecidos e validados apenas os modelos de calibração para as cultivares e no segundo ano observou-se o efeito da época de colheita sobre os modelos de calibração, para isto foram estipulados diferentes datas de colheita ao longo do

[1] Trabalho submetido à Revista Ciência Rural – Santa Maria /RS.

período de maturação das frutas. De acordo com os resultados obtidos pode-se inferir que os modelos desenvolvidos para avaliação de qualidade das frutas foram satisfatórios para predizer o teor de sólidos solúveis nas cultivares em estudo, o mesmo não ocorreu em relação à firmeza de polpa no primeiro ano de avaliação. Para o segundo ano observou-se que os valores dos parâmetros estatísticos se alteram ao longo das diferentes épocas de colheita, mas com valores de R^2 e SEP aceitáveis para a mensuração dos sólidos solúveis, em todas as cultivares e para a firmeza de polpa apenas para as cultivares Eldorado e Jubileu os valores foram considerados satisfatórios.

Termos para indexação: *Prunus persica*, avaliação da qualidade, métodos não destrutivos.

Using spectroscopy Vis / NIR to estimate soluble solids and firmness of peaches during maturation.

Abstract – The objective of this study was to establish models of calibration and the effect of the ripening season in these models for estimation of soluble solids and firmness in a non-destructive way, in peaches of the cultivars Chimarrita, Maciel, Eldorado and Jubileu, belonging to the region of Pelotas/RS. For the execution of the work it was the spectrophotometer interactance Nir-Case (SACMI, Imola, Italy) with a wavelength between 600-1000nm. To determine the quality attributes of peaches were established calibration equations for each cultivar under study from the assessments by non-destructive methods (NIR-Case) and destructive (reference method) and then tested the performance of these (validation) through the coefficient of determination (R^2) and standard error of predicted values (SEP). For the first year of evaluation were established and validated calibration models only and for the second year it was observed the effect of harvest time on the calibration models for different dates that were set during the harvest period maturation of fruits. According to the results obtained can be inferred that the models developed to assess fruit quality was satisfactory to predict soluble solids content in the cultivars under study, this did not occur in relation to firmness in the first year of assessment. For the second year it was observed that the values of statistical parameters change during different times of harvest, but with R^2 values of SEP and acceptable for the measurement

of soluble solids in all cultivars and the firmness only Eldorado and Jubileu cultivars the values were considered satisfactory.

Index terms: Prunus persica, quality assessment, non-destructive methods.

Introdução

Para pêssegos (*Prunus persica* L. Batsch), a qualidade de consumo e a vida de prateleira das frutas está diretamente relacionadas com o estádio de maturação no momento da colheita (NOFERINI et al., 2008). Segundo Eccher Zerbini et al. (1994), a colheita é normalmente realizada com base na cor da epiderme e no tamanho da fruta. Porém, tais avaliações visuais não fornecem uma informação plenamente confiável do estádio de maturação (COSTA et al., 2006). A firmeza da polpa (FP) e o conteúdo de sólidos solúveis (SS) são comumente utilizados para avaliar a maturação e a qualidade, entretanto estas análises requerem a destruição das frutas e utilização de um número limitado de amostras, podendo não fornecer todas as informações necessárias para identificar com precisão o estádio de maturação e a qualidade destas frutas (COSTA et al., 2006; NOFERINI et al. 2008).

Recentemente, técnicas não destrutivas como a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) tem sido utilizada para avaliar características representativas de qualidade. Dentre as vantagens dessa técnica, há a possibilidade de determinar mais de uma característica de qualidade simultaneamente, aumentar o número de medições de amostras e repetir a análise das mesmas amostras monitorando as alterações fisiológicas que ocorrem nas frutas (NICOLAI et al., 2007; GABIOUD et al., 2008).

Através da espectroscopia e quimiometria, foi impulsionado o desenvolvimento de técnicas de rápida detecção de componentes químicos, sejam em frutas, alimentos e materiais em geral. A região do infravermelho próximo (NIR) contém informações sobre a proporção relativa das bandas C-N, N-H e O-H, que são as estruturas primárias das moléculas orgânicas, além de poder detectar e medir simultaneamente diferentes composições químicas de materiais biológicos com base na absorção da radiação do infravermelho pelas ligações existentes entre os átomos (COZZOLINO et al., 2004).

Em comparação com as técnicas da química clássica e métodos físicos, as vantagens da espectroscopia NIR são a medição precisa em um pequeno espaço de tempo sem o requerimento de processamento prévio das amostras e a não destruição

desta permitindo o seu acompanhamento futuro (CHEN et al., 2004; LORENZO et al., 2009).

Segundo Ruiz-Altisent et al. (2010), as técnicas não destrutivas são rápidas e fáceis de implementar, e em frutas permitem avaliação simultânea de parâmetros como firmeza e teor de sólidos solúveis. No entanto, esta técnica depende de modelos de calibração para prever os parâmetros e desempenham um papel importante nos trabalhos com espectroscopia do infravermelho, pois, é através do modelo utilizado que se determina o comportamento do sistema como um todo (LIN; YING, 2009).

Segundo Nicolai et al. (2007), os modelos de calibrações devem ser baseados em um amplo conjunto de dados considerando as diferentes condições operacionais que englobam a cultura utilizada, assim como a espécie e as condições climáticas e agronômicas na qual estão submetidas.

Uma vez determinado o modelo que será utilizado como calibração é necessário que se valide sua capacidade de predição. Este procedimento é especialmente relevante para a verificação do nível de ajuste do modelo no momento da previsão de novas amostras (BEEBE et al., 1998). Um modelo é construído e validado pela utilização de vários conjuntos de amostras. O primeiro é o conjunto de calibração usado para estabelecer o modelo. O segundo conjunto caracteriza a validação, usado para avaliar a capacidade do modelo para estimar amostras desconhecidas. O conjunto de calibração e de validação são independentes e devem consistir amostras de lotes distintos (ROGGO et al., 2007).

Entretanto, na prática, estipular as frutas que irão compor a amostra para a calibração não é uma tarefa fácil, pois a maturação, principalmente nas frutas climatéricos como é o caso de pêssegos, normalmente é concentrada em poucas semanas tornado difícil contemplar todas as classes de maturação em um mesmo período. Trabalhos de calibrações envolvendo diferentes cultivares e época de colheita já foram testados em culturas como melões e abacaxis (GUTHRIE et al., 1998), maçãs (MCGLONE; KAWANO, 1998) e quivis (BOBELYN et al., 2010) onde os autores constataram que calibrações realizadas em diferentes épocas de colheita apresentaram baixos coeficientes de determinação quando a variabilidade das frutas não são incorporadas aos modelos de calibração NIR para os parâmetros firmeza, teor de matéria seca e sólidos solúveis.

No Brasil, existem poucos estudos de pesquisa sobre a aplicação da espectroscopia do infravermelho em análises de qualidade de frutas. Como se trata de um

método rápido e que não gera nenhum tipo de resíduo torna-se importante a execução de trabalhos que possibilitem estabelecer as potencialidades e os pontos críticos da utilização desta técnica na avaliação da qualidade. Deste modo objetivou-se com este trabalho validar modelos de calibração para os atributos sólidos solúveis e firmeza de polpa e demonstrando o efeito de diferentes épocas de colheita sobre estes modelos para as cultivares Chimarrita, Maciel, Jubileu e Eldorado, pertencentes a região Sul do Brasil.

Materiais e Métodos

As frutas utilizadas nos modelos de calibração foram provenientes do pomar didático do Centro Agropecuário da Palma/FAEM- UFPel de duas safras agrícolas (2009 e 2010), e foram utilizadas as cultivares Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu, localizados no município de Capão do Leão/RS (Latitude 31º 52’ 00" S; Longitude 52º 21’ 24" W Greenwich; Altitude: 13,24 m.).

No **primeiro ano** foi realizada a calibração com espectrofotômetro no infravermelho próximo (NIR) em frutas colhidas na safra agrícola 2009, obtidas de diferentes plantas e com diferentes estádios de maturação. O número de amostras destinadas a calibração do equipamento foram diferentes para cada cultivar sendo 120 frutas para ‘Chimarrita’, 40 para a cultivar Maciel e 20 frutas para Eldorado e Jubileu. Para a predição as amostras constaram de 20 frutas para a cv. ‘Chimarrita’ e 50 frutas para as demais cultivares.

As avaliações não destrutivas (NIR) e destrutivas (referência) foram realizadas na porção equatorial (lados opostos A e B) das frutas e constituíram as análises físico-químicas: firmeza da polpa (FP) e sólidos solúveis (SS).

O instrumento utilizado para determinar a qualidade das frutas de forma não destrutiva foi o espectrofotômetro NIR CASE (SACMI Imola, Itália) (Figura 1). Este equipamento efetua as medições através dos princípios da interactância da luz. A fonte de luz é constituída por oito lâmpadas de halógeno e o comprimento de onda varia entre os 600 e os 1000 nanômetros (nm). O tempo de medição varia entre os 6 mili-segundos e 2 segundos. Antes de se efetuar as medições na zona equatorial da fruta efetuou-se o procedimento de configuração e calibração do aparelho (luz branca e negra).

Após as leituras das variáveis realizadas pelo NIR-Case em ambos os lados de cada fruta, foram realizadas as avaliações destrutivas (de referência) separadamente considerando os mesmos lados das frutas. A firmeza da polpa (FP) foi realizada com um penetrômetro digital com ponteira de 8 mm de diâmetro (modelo 53205, TR, Forli, Italy),

removendo a casca, sendo os resultados foram expressos em Kgf e o conteúdo de sólidos solúveis (SS) foi realizado com refratômetro digital (Atago PR32) nos mesmos pontos das frutas onde se avaliou a firmeza, sendo os resultados expressos em ºBrix.

Foto: Débora Betemps, 2009

Figura 1 - Espectrofotômetro portátil NIR-Case utilizado para análise não destrutiva de pêssegos. FAEM/UFPel, 2009.

Os espectros gerados pelo NIR-Case e os valores obtidos pelo método de referência das amostras foram utilizados para a obtenção das calibrações, as quais foram calculadas utilizando o software NCS (NIR CALIBRATION SOFTWARE) Vers. 3.0 R C 1. As análises matemáticas (análise multivariada dos dados) de calibração são partes do software que vem junto com o equipamento, deste software foi gerado um arquivo de calibração. As equações para calibração foram confrontadas através de parâmetros estatísticos: coeficiente de regressão múltipla (MR), erro standard de calibração (SEC- "Standard Error of Calibration").

Um novo conjunto de amostras (predição), com as frutas devidamente identificadas foi submetido ao NIR-Case, (utilizando a calibração realizada na descrição anterior), onde se obteve os valores preditos pelo equipamento para estas frutas e, que foram confrontados com os valores reais, obtidos através de métodos de referência (destrutíveis).

A precisão das equações de calibração foram confrontadas através dos parâmetros estatísticos coeficiente de determinação (R^2), erro médio quadrático dos valores previstos (RMSEP- "Root mean square error of prediction") e o erro padrão dos valores previstos

(SEP – “Standard Error of Prediction”), com o auxílio do programa estatístico Sigmapolt 10.0.

No **segundo ano,** safra 2010/11, foi avaliada a influência da data de colheita no processo de calibração. Para tanto, utilizaram-se as equações de calibração geradas no ano anterior. Para cada cultivar foram estipuladas três datas de colheita com intervalos de 3 a 4 dias para as cultivares Chimarrita e Maciel e quatro datas compreendidas em 5 a 7 dias para Eldorado e Jubileu. Para a cultivar Chimarrita as colheitas foram realizadas nos dias 7, 10 e 14 de dezembro de 2010 e as amostras eram compostas de 230 frutas em cada data. As amostras da cultivar Maciel foram coletadas nos dias 20, 23 e 27 de dezembro e, assim como ‘Chimarrita’ compuseram 230 frutas de amostragem. Para as cultivares Eldorado e Jubileu foram realizadas colheitas nos dias 19-24-28-de dezembro de 2010 e 05 de janeiro de 2011, contabilizando quatro datas com amostas de 40 frutas para cada data e cada cultivar.

Em cada data de colheita, e para cada cultivar foram coletados frutas de diferentes plantas e com estádios de maturação variados. As metodologias para as análises de qualidade tanto pelo NIR-Case como pelos métodos destrutivos foram as mesmas realizadas no primeiro ano, assim como as equações de calibração.

Para testar a precisão das equações de calibração em cada data de colheita, foram utilizadas amostras de predição de 100 frutas para cada cultivar em estudo, sendo estipulado a colheita destes frutos depois de dois dias da última data de colheita. Os valores preditos pelo equipamento e os valores de referência foram confrontados através dos parâmetros estatísticos anteriormente descritos.

Resultados e discussão

1. Resultados do primeiro ano de avaliação.

Os valores obtidos para a calibração das cultivares Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu originados a partir de regressão múltipla (Tabela 1) apresentam variações importantes, entre as cultivares e os parâmetros de qualidade avaliados. Segundo Workman et al. 1996, diversos métodos estatísticos podem ser usados para relacionar os espectros infravermelho com as propriedades presentes nas amostras como por exemplo regressão de componentes principais (PCR), mínimo quadrados parciais (PLS), regressão linear múltipla (MLR) e rede neural artificial (RNA). Trabalho desenvolvido por Xiaobo et

al. (2007) também estudaram a influência dos modelos de regressão utilizados e observaram que os valores de SEP e RMSEP podem sofrer mudança conforme o modelo matemático utilizado. Neste trabalho os modelos de calibração gerados apresentaram coeficientes correlativos aceitáveis (acima de 0,85) e valores baixos SEC para os parâmetros avaliados nas diferentes cultivares avaliadas.

Tabela 1- Características de qualidade (°Brix e kgf), valores médios, coeficiente de correlação linear múltiplo (MR) e erro padrão de calibração (SEC) para as curvas de calibração geradas pelo software Nir-Case Sacmi® (NCS) para pêssegos das cultivares Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu para o ano de 2009.

Cultivar	Parâmetro	Valores médios	MR	SEC
Chimarrita	Sólidos solúveis	9,90	0,85	0,48
	Firmeza de polpa	3,29	0,90	0,48
Maciel	Sólidos solúveis	10,85	0,94	0,35
	Firmeza de polpa	3,18	0,95	0,38
Eldorado	Sólidos solúveis	12,65	0,95	0,42
	Firmeza de polpa	3,12	0,87	0,79
Jubileu	Sólidos solúveis	11,09	0,91	0,55
	Firmeza de polpa	2,26	0,86	0,40

A capacidade destes modelos de calibração prever resultados em amostras de pêssegos foi possível com a validação dos modelos de calibração e de acordo com as respostas obtidas no primeiro ano de execução do trabalho, para o parâmetro sólido solúvel, pode-se observar que as calibrações foram válidas e que os parâmetros estatísticos: coeficiente de determinação (R^2), erro quadrático médio dos valores previstos (RMSEP) e erro padrão dos valores previstos (SEP) (Tabela 2) apresentam comportamentos distintos de acordo com a cultivar. Para a predição das calibrações foram determinados os coeficientes de determinação de 0,82 para a cultivar Chimarrita, 0,84 para Maciel, 0,78 para Eldorado e 0,69 para a cultivar Jubileu. Segundo Scaritporn et al. (2008), coeficiente correlativos inferiores a 0,70 não são considerados satisfatórios, neste trabalho, para o primeiro ano de avaliação e para este parâmetro todos os valores ou se aproximaram ou foram superiores a este valor, demonstrando assim que as respostas obtidas pelo método não destrutivo são confiáveis.

Observou-se os menores valores de RMSEP e SEP (Tabela 2) para a cultivar Jubileu, sendo de 0,69 e 0,82°Brix, respectivamente, e os maiores valores para a cultivar Maciel com 5,73 e 2,36 °Brix, respectivamente. Estes parâmetros permitem a comparação

com outras equações de calibração para a estimativa de um mesmo componente, e a adequabilidade de um modelo de predição pode ser avaliada quando se obtém baixos valores de RMSEP e SEP e altos valores de R^2 (DE MELO- ABREU et al., 2004; ROGGO et al., 2007)

Para o parâmetro firmeza de polpa, não foram observados bons coeficientes de determinação para as cultivares analisadas no primeiro ano, sendo os coeficientes de determinação de 0,40 para a cultivar Chimarrita, 0,16 para a cultivar Maciel e 0,63 para as cultivares Eldorado e Jubileu (Tabela 2). Embora estas duas últimas cultivares apresentem um maior valor para este coeficiente, os altos valores de RMSEP e SEP determinados, sugerem que o modelo pode não ser adequado para análises futuras, principalmente para a cultivar Eldorado que foi observado os valores de 11,10 e 3,34 kgf.

Tabela 2 – Parâmetros estatísticos R^2 (coeficiente de determinação), RMSEP (erro médio quadrático dos valores previstos, em °Brix e kgf), SEP (erro padrão dos valores preditos, em °brix e kgf) e a equação da reta para o modelo de regressão linear (y= ax+b) relativos as validações das calibrações, para a determinação de sólidos solúveis e firmeza de polpa em pêssegos Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu.

Parâmetros estatísticos					
Sólidos solúveis					
Cultivar	**Colheita**	**R^2**	**RMSEP**	**SEP**	**Equação**
Chimarrita	2009	0,82*	0,76	0,85	y=0,75 x + 2,42
Maciel	2009	0,84	5,73	2,36	y=1,16 x - 3,66
Eldorado	2009	0,78	0,85	0,92	y=1,07 x - 1,16
Jubileu	2009	0,69	0,69	0,82	y=0,78 x + 2,85
Firmeza de polpa					
Cultivar	**Colheita**	**R^2**	**RMSEP**	**SEP**	**Equação**
Chimarrita	2009	0,40*	2,64	1,61	y=0,59 x+2,92
Maciel	2009	0,16	1,52	1,23	y=0,40 x+1,51
Eldorado	2009	0,63	11,10	3,34	y=0,79 x+3,21
Jubileu	2009	0,63	4,63	2,18	y=0,85 x+1,72

**p=0,001*

A caracterização dos valores para sólidos solúveis e firmeza de polpa de pêssegos que foram utilizados para a validação das calibrações das cultivares avaliadas e obtidas pelo software da SACMI são apresentados na Tabela 3. Verifica-se que os sólidos solúveis obtidos para a validação das calibrações apresentaram uma variação entre 10,0 e 15,1ºBrix, 10,0 e 15,7ºBrix e 9,7 e 15,4ºBrix e 9,3 e 13,9 ºBrix para as cv. Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu, respectivamente.

Quando se compara valores de mínimo, máximo e a média dos dois métodos de determinação de sólidos solúveis (NIR-Case e de referência), os valores são relativamente próximos, indicando que estas calibrações poderiam ser utilizadas para a estimação de conteúdo de açúcar de amostras futuras.

Para a firmeza de polpa a variação dos valores foi de 0,14 e 6,99 kgf, 1,55 e 6,56 kgf, 1,78 e 10,48 kgf e 0,31 e 6,91kgf para as cultivares Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu respectivamente. Os valores para este parâmetro se encontram em intervalos diferentes quando se compara os valores máximos e mínimos, com exceção das médias determinadas na cultivar Maciel que são semelhantes, reforçando a afirmativa que estas equações não são adequadas para prever este parâmetro.

Tabela 3 - Caracterização das amostras de frutas utilizadas para a validação das calibrações realizadas no ano de 2009 em pêssegos, nos parâmetros sólidos solúveis e firmeza de polpa.

Cultivar	Parâmetro		Mínimos	Máximos	Média	Des.Padrão
Chimarrita	**Sólidos solúveis**	**Preditos**	9,77	13,37	11,93	0,99
		Referência	10,0	15,10	12,64	1,21
	Firmeza polpa	**Preditos**	2,06	7,00	5,33	1,17
		Referência	0,14	6,99	4,07	1,27
Maciel	**Sólidos solúveis**	**Preditos**	8,03	15,8	11,36	1,66
		Referência	10,0	15,7	12,86	1,26
	Firmeza polpa	**Preditos**	1,47	4,53	2,88	0,71
		Referência	1,55	6,56	2,97	0,84
Eldorado	**Sólidos solúveis**	**Preditos**	8,24	15,50	11,65	1,25
		Referência	9,70	15,40	11,95	1,03
	Firmeza polpa	**Preditos**	2,78	11,52	7,58	1,73
		Referência	1,78	10,48	5,49	1,73
Jubileu	**Sólidos solúveis**	**Preditos**	10.11	14.08	12.13	0.86
		Referência	9.30	13.90	11.85	0.92
	Firmeza polpa	**Preditos**	1.69	7.91	4.37	1.36
		Referência	0.31	6.91	3.09	1.27

Os dados observados para o parâmetro sólidos solúveis, no primeiro ano, concordam com os autores Shao,Bao e He (2009), que determinaram o conteúdo de açúcares em duas variedades de pêssegos “Milu e Hongxianjiu” utilizando um

equipamento Vis/Nir (400-1000nm) e processamento dos dados através de mínimos quadrados parciais, obtiveram R^2 de 0,94 e RMSEP 0,50°Brix. Autores como Costa et al. (2002a), obtiveram valores de correlações para a predição das calibrações de 0,94 para sólidos solúveis e 0,91 para firmeza da polpa de pêssegos 'Redhaven' utilizando NIR (650-1200nm) e MLR para o processamento dos dados. Pérez-Marín et al. (2009), utilizaram um espectrofotômetro com comprimento de onda entre 400-1700 nm e obtiveram boas correlações para os parâmetros sólidos solúveis e firmeza de polpa sendo os valores de R^2 0,89 e 0,84 e SEP de 0,75°Brix e 11,6 N (1,18 kgf), respectivamente em nectarinas. Por outro lado, Golic e Walsh (2006) obtiveram calibração para sólidos solúveis, através de PSL, em frutas de caroços (pêssegos, nectarinas e ameixas), com valores de coeficiente de determinação de 0,80, para as três variedades juntas utilizando espectros entre 735 e 932nm. Ying et al. (2005), utilizando um transformador "Fourier" (FT-NIR) com espectros de 800 a 2500 nm, obtiveram R^2 de 0,91 e SEP de 0,12°Brix para o conteúdo de açúcares através de PLS para o processamento dos dados com duas cultivares de pêssegos (Honey e Sweet).

Entretanto, os resultados encontrados neste trabalho discordam dos resultados estipulados por Fu et al. (2008), onde os autores utilizando espectros entre 800-2500nm, obtidos de diferentes latitudes e longitudes das frutas, afirmam que a espectroscopia pode ser uma técnica confiável para avaliar a firmeza de pêssegos de polpa branca com coeficientes de determinação de 0,864 e RMSEP de 6,71N (0,68 kgf).

A previsão de um parâmetro de natureza física, como a firmeza de polpa está relacionada à perda das estruturas da parede celular, como pectinas, celulose e hemicelulose (SARANWONG; KAWANO, 2007) e estes compostos possuem diferentes picos de absorção influenciando os espectros gerados (PAZ et al., 2008).

Associado a isto, um dos grandes pontos críticos existentes nos modelos de calibrações para o parâmetro firmeza de polpa em frutas é a obtenção dos métodos de referência seguros, nos quais são pouco precisos. Trabalho realizado por Harker et al. (1996), demonstraram que diferenças entre operadores podem ser o problema significativo quando aparelhos de operação manual são utilizados. Neste caso, Nicolai et al. (2006), sugerem o uso de métodos não destrutivos de impacto ou de vibração para a determinação desta característica em processos de calibração. Entretanto em trabalho de Bobelyn et al. (2010) os autores relatam que no desenvolvimento de modelos de

calibração devem ser adotados procedimentos simples para futuras adaptações deste durante a prática de uso.

2. Resultados do segundo ano de avaliação

Os resultados das calibrações realizadas no segundo ano utilizando diferentes datas de colheita apresentaram valores de coeficientes de correlação inferiores ao reportados no primeiro ano de avaliação (Tabela 4). Observa-se que para as amostras que compuseram as equações de calibração, os valores médios foram maiores para os parâmetros sólidos solúveis e firmeza de polpa, do que os reportados no ano anterior, este fato pode ser atribuído à menor ocorrência de precipitação na época da colheita da safra de 2010 em relação à 2009. Entretanto, como foi utilizada a calibração do ano anterior para a geração dos novos espectros, esta não possuía um intervalo que abrangesse os novos valores que compuseram as amostras do ano de 2010 podendo ser esta uma das causas dos baixos valores comparados ao ano anterior.

Os melhores valores foram identificados na cultivar jubileu na qual foram determinados coeficientes de regressão múltipla (MR) satisfatórios entre 0,83 a 0,95 para sólidos solúveis e 0,65 a 0,93 para a firmeza de polpa, em todas as datas de colheita. A influência do fator ano em calibrações já foi relatada em trabalho de Peirs et al. (1998), onde os autores estudaram o efeito do ano e da cultivar sobre os modelos de calibração usando a espectroscopia em comprimentos de onda compreendidos entre 800-1500nm para a análise de sólidos solúveis em pêssegos, os autores descrevem que a combinação de diferentes anos e diferentes cultivares na mesma calibração apresenta valores de correlação que variam de 0,92 a 0,97 dependendo da combinação utilizada e SEC de 0,4 a 1,63° Brix concordando com os valores encontrados neste trabalho.

Peirs et al. (2005), ainda estudaram o efeito da localização do pomar, do ano agrícola e da cultivar na robustez dos modelos de calibração Nir para a estimativa do teor de sólidos solúveis em maçãs, e os autores concluíram que a cultivar e o ano agrícola possuem mais influência nos espectros do que o fator localização.

Tabela 4 – Datas de colheita, valores máximos e mínimos (°Brix e kgf), coeficiente de correlação linear múltiplo (MR) e erro padrão de calibração (SEC) para as curvas de

calibração geradas pelo software NCS para pêssegos das cultivares Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu para o ano de 2010.

		Parâmetros estatísticos									
		Sólidos solúveis					Firmeza de polpa				
Cultivar	**Datas**	**Máx.**	**Mín.**	**Med.**	**MR**	**SEC**	**Máx**	**Mín**	**Me**	**MR**	**SEC**
Chimarrita	07/12/10	18,0	8,0	12,5	0,6	1,0	10,6	0,1	3,5	0,4	1,6
	10/12/10	18,8	9,4	12,9	0,6	0,9	8,0	0,3	4,6	0,7	0,8
	14/12/10	18,7	9,2	13,1	0,6	1,0	7,5	0,2	3,2	0,8	1,0
Maciel	20/12/10	17,7	9,1	13,1	0,7	0,8	7,3	0,5	2,7	0,6	0,8
	23/12/10	18,1	9,4	13,5	0,9	0,6	5,6	0,1	2,7	0,4	0,8
	27/12/10	18,3	9,3	13,2	0,8	0,6	6,5	1,0	2,6	0,2	0,6
Eldorado	19/12/10	15,4	9,7	11,5	0,6	0,8	10,4	1,7	5,2	0,3	1,2
	24/12/10	15,2	9,9	12,3	0,5	1,0	8,9	1,2	4,6	0,4	1,2
	28/12/10	16,9	9,9	12,6	0,6	0,7	7,0	1,5	3,7	0,6	1,0
	05/01/11	17,1	10,6	13,6	0,6	0,9	4,6	0,2	1,3	0,5	0,9
Jubileu	19/12/10	13,9	7,3	11,7	0,9	0,4	6,9	0,3	3,1	0,9	0,5
	24/12/10	14,3	9,1	12,0	0,9	0,3	3,8	0,6	1,8	0,7	0,4
	28/12/10	14,3	9,0	12,0	0,8	0,6	2,6	0,4	1,3	0,6	0,3
	05/01/11	15,9	10,1	12,8	0,9	0,5	4,5	0,6	1,6	0,9	0,2

Outro fator que deve ser abordado é que embora os valores do coeficiente de correlação (MR) não apresentaram bons valores, foram determinados baixo valor de SEC oriundos dos modelos de calibração, segundo Liu et al. (2008) é desejável que os modelos de calibração tenham menores valores para SEC, valores altos podem indicar que informações irrelevantes podem também serem modeladas induzindo a calibrações instáveis e não confiáveis. Este fato pode ser explicado pelo número considerável de amostras utilizadas para compor os modelos de calibração. Segundo Wiedemann et al. (1998) o número de amostras, o intervalo de concentrações coberto pelas amostras e a distribuição dentro desse intervalo é de extrema importância para a aquisição de boas calibrações. O número de amostras utilizadas neste trabalho é considerado satisfatório quando comparados a outras bibliografias onde se pode encontrar amostras compostas por 340 (VENTURA et al., 1998), 200 (COSTA et al., 2002b), 420 frutas (NICOLAI et al., 2008), 40 frutas (GABIOUD et al., 2008) e 80 (LIU et al., 2008). Alamar et al. (2007), cita que as principais causas que devem ser consideradas na calibração dos equipamentos são: mudanças nos comportamentos físicos das amostras (composição química de

acordo com as variedades), mudança na resposta instrumental (referentes aos equipamentos), assim como a precisão das análises de referência.

Em cada calibração gerada, nas diferentes datas de colheita, foi realizada a validação das calibrações para o ano de 2010 e os resultados obtidos estão demonstrados na tabela 5. Na cultivar Chimarrita os valores dos coeficientes de determinação (R^2) variaram de 0,64 a 0,74 e SEP de 0,74 e 0,46 °Brix para sólidos solúveis e 0,54 a 0,62 para a firmeza da polpa com SEP de 1,98 a 0,97 kgf, em comparação ao primeiro ano as equações de calibração para sólidos solúveis diminuíram a sua capacidade de prever resultados, entretanto, para o parâmetro firmeza de polpa a situação foi diferente. Para a cultivar Maciel os valores das calibrações para sólidos solúveis se mantiveram eficientes nas três datas de colheita utilizadas com valores de R^2 variando de 0,83 a 0,86 e SEP 0,92 a 1,18° Brix, para o parâmetro firmeza de polpa os valores dos coeficientes de determinação variam de 0,17 a 0,51 com SEP de 0,98 a 0,62 kgf, no qual são considerados baixos e não satisfatórios para a análise de amostras futuras.

Os valores obtidos para as validações das calibrações com as cultivares Eldorado e Jubileu apresentaram resultados que variaram de R^2 0,72 a 0,85 e 0,65 a 0,82, respectivamente para o parâmetro sólidos solúveis. Para o parâmetro firmeza de polpa foram observados resultados de 0,68 para a cultivar Eldorado e 0,72 para a cultivar jubileu, nestas duas cultivares os valores de SEP para os dois parâmetros são considerados aceitáveis se comparados com demais autores já citados anteriormente (Tabela 5).

De acordo com os dados expostos na tabela 5, embora os coeficientes de determinação não sejam elevados para a firmeza da polpa, há uma tendência de melhores capacidades de previsão nas últimas datas de colheita, fato este observado em todas as cultivares em estudo, este resultado pode ser explicado pela maior heterogeneidade das frutas no final da colheita, apresentando frutas extremamente maduras como frutas ainda verdes contemplando todas as classes de maturação, um dos requisitos principais para o sucesso no desenvolvimento de calibrações. A perda de firmeza é um processo fisiológico que acontece durante a maturação das frutas (ABBOTT, 1999), assim como o aumento dos teores de sólidos solúveis devido à biossíntese ou à degradação de polissacarídeos (FACHINELLO; NACHTIGAL, 2010) e as transformações destes parâmetros ao longo da maturação precisam ser incorporadas aos modelos.

Autores como Mcglone e Kawano (1998) confirmam este resultado em trabalho onde reuniram kiwis de diferentes tamanhos, diferentes origens e idade e conservaram-nos sob várias condições. Quando a variabilidade na origem, tamanho e dureza não eram consideradas no conjunto de calibração, obtinham-se erros de validação significativos. Assim como Bobelyn et al. (2010) analisaram mais de 6.000 espectros oriundos de frutas de maçã englobando diferentes cultivares, origens, estações e tempo de exposição a vida de prateleira e concluíram, através de análise de variância, que os efeitos da cultivar, a origem das frutas e do tempo de exposição são significativos sobre o comportamento dos espectros NIR.

Tabela 5 – Parâmetros estatísticos R^2(coeficiente de determinação), SEP (erro padrão dos valores preditos) e a equação da reta para o modelo de regressão linear (y= ax+b) relativos às validações das calibrações, realizadas em diferentes datas para a determinação de sólidos solúveis e firmeza de polpa em pêssegos Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu.

	Parâmetros estatísticos						
		Sólidos solúveis			**Firmeza de polpa**		
Cultivar	**Datas**	**R^2**	**SEP**	**Equação**	**R^2**	**SEP**	**Equação**
Chimarrita	07/12/10	0,66*	0,74	y=0,67x+3,54	0,56*	1,98	y=0,61x+0,07
	10/12/10	0,64	0,67	y=0,74x+2,75	0,54	1,47	y=0,48x+1,21
	14/12/10	0,74	0,46	y=0,76x+2,77	0,62	0,97	y=0,59x+1,90
Maciel	20/12/10	0,86	1,18	y=0,88x+2,45	0,17	0,98	y=0,24x+1,64
	23/12/10	0,83	1,32	y=0,81x+3,48	0,34	0,69	y=0,38x+1,62
	27/12/10	0,85	0,92	y=0,71x+4,15	0,51	0,62	y=0,53x+1,04
Eldorado	19/12/10	0,72	0,82	y=0,78x+2,44	0,54	0,92	y=0,64x+1,31
	24/12/10	0,72	0,94	y=0,74x+4,07	0,57	0,99	y=0,57x+0,55
	28/12/10	0,76	0,86	y=0,76x+2,61	0,56	0,93	y=0,94x+0,35
	05/01/11	0,85	0,57	y=0,72x+3,79	0,68	1,03	y=0,84x-0,34
Jubileu	19/12/10	0,65	0,57	y=0,68x+4,48	0,34	1,23	y=0,49x+2,16
	24/12/10	0,82	0,48	y=0,68x+4,20	0,41	0,79	y=0,29x+2,03
	28/12/10	0,70	0,58	y=0,72x+3,50	0,19	0,83	y=0,20x+1,20
	05/01/11	0,77	0,70	y=0,76x+3,53	0,72	0,63	y=0,94x-0,26

**p=0,001.*

Na Tabela 6 são apresentados os valores de referência (valores reais) das amostras utilizadas para a predição dos modelos de calibração e os valores preditos pelo equipamento NIR-Case utilizando os modelos de calibração oriundos das datas de colheita. Para sólidos solúveis, nas quatro cultivares em estudo, observa-se que a média dos valores de referência é semelhante as média dos valores preditos, demonstrando desta forma a eficiência de predição das calibrações testadas. Entretanto para a firmeza de polpa os valores preditos se aproximam dos valores reais, mas não são semelhantes pois, os valores de correlação existente para este atributo de qualidade são considerados apenas satisfatórios. Para a cultivar Maciel observa-se a fraca capacidade de predição dos modelos definidos, fato este já confirmado pelos baixos valores do coeficiente de determinação calculados no processo de predição.

Tabela 6 - Caracterização das amostras de frutas utilizada para a validação das calibrações realizadas no ano de 2010 em pêssegos de diferentes cultivares, nos parâmetros sólidos solúveis e firmeza de polpa.

Cultivar	Valores	Sólidos Solúveis			Firmeza		
		Mín.	Máx.	Média	Mín.	Máx.	Média
Chimarrita	**Referência**	**10,9**	**15,6**	**12,7**	**0,4**	**8,2**	**4,5**
	Preditos 07/12/10	12,0	15,0	12,1	0,09	6,1	2,8
	Preditos 10/12/10	10,4	14,7	12,0	0,5	6,0	3,3
	Preditos 14/12/10	10,7	14,6	12,3	1,0	8,0	4,5
Maciel	**Referência**	**7,6**	**18,2**	**12,6**	**1,3**	**3,0**	**6,4**
	Preditos 20/12/10	9,4	18,0	13,6	1,4	3,8	2,4
	Preditos 23/12/10	10,2	18,6	13,7	1,4	4,3	2,8
	Preditos 27/12/10	9,0	16,6	13,3	0,4	4,9	2,4
Eldorado	**Referência**	**8,3**	**17,6**	**13,3**	**0,4**	**6,3**	**2,5**
	Preditos 19/12/10	8,5	16,0	12,9	0,8	6,0	3,0
	Preditos 24/12/10	10	16,5	14,0	0,5	5,0	2,0
	Preditos 28/12/10	9,23	16,0	12,7	0,4	6,0	3,2
	Preditos 05/01/11	9,27	16	13,4	0,1	5,5	1,6
Jubileu	**Referência**	**8,7**	**17,4**	**12,5**	**0,6**	**6,8**	**1,7**
	Preditos 19/12/10	9,0	17,1	13,0	0,4	5,5	3,0
	Preditos 24/12/10	9,8	15,9	12,8	1,7	3,9	2,5
	Preditos 28/12/10	8,9	18,2	12,6	0,4	3,0	1,5
	Preditos 05/01/11	9,9	18,8	13,2	0,09	6,2	1,2

Conclusões

A validação das calibrações para sólidos solúveis em pêssegos das cultivares Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu, possibilitou a obtenção de coeficientes de correlação satisfatórios nos dois anos de estudo, sendo possível estimar esta característica de qualidade de forma precisa utilizando espectroscopia Vis/NIR.

Para a firmeza de polpa, não foram obtidos modelos confiáveis para a estimação deste parâmetro por métodos não destrutivos no primeiro ano de avaliação. Para o segundo ano, apenas os modelos desenvolvidos para as cultivares Jubileu e Eldorado foram considerados satisfatórios, necessitando para as demais cultivares, novos ajustes para safras futuras.

A época de colheita dos frutos influencia modelos de calibração gerados para sólidos solúveis e firmeza de polpa. Os modelos de calibração apresentam resultados diferentes ao longo das datas de colheita, observando melhores ajustes ao final da safra, fato observado em todas as cultivares presentes no trabalho.

De uma maneira geral, a espectroscopia Vis/NIR pode ser usada como uma ferramenta na avaliação não destrutiva dos atributos de qualidade em pêssegos.

Referências

ABBOTT, J.A. Quality measurement of fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology,** v. 15, p. 207–225. 1999.

ALAMAR, M. C.; BOBELYN, E.; LAMMERTYN, J.; NICOLAÏ, B. M . MOLTÓ, E. Calibration transfer between NIR diode array and FT-NIR spectrophotometers for measuring the soluble solids contents of apple. **Postharvest Biology and Technology**-, v.45, p. 38-45, 2007.

BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: a practical guide**. New York: J. Wiley, p. 46-47. 1998.

BOBELYN, E.; SERBAN, A.S.; NICU, M.;LAMMERTYN, J.; NICOLAI, M.B.; SAEYS, W. Postharvest quality of apple predicted by NIR-spectroscopy: Study of the effect of biological variability on spectra and model performance. **Postharvest Biology and Technology,** v.55, p.133–143, 2010.

CHEN, J.; ARNOLD, M. A.; SMALL, G. W. Comparison of combination and first overtone spectral regions of near-infrared calibration models for glucose and other biomolecules in aqueous solutions. **Analytical Chemistry**, v.76, p.5405−5413. 2004.

COSTA, G.; NOFERINI, M.; FIORI, G.; MISEROCCHI, O.; BREGOLI, A.M. NIRS Evaluation of Peach and Nectarine Fruit /quality un Pre- and Post-Haverst Conditions. Proc. 5th on Peach. Eds. R.S. Johnson & C.H. Chisostos. **Acta Horticulture** 592, ISHS, 2002a.

COSTA G.; NOFERINI M.; ANDREOTTI C. Non-destructive determination of internal quality in intact pears by near infrared spectroscopy. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PEAR, 8, Bologna Proceedings…, Bologna: **Acta Horticulture,** 596, p. 821-825. 2002b.

COSTA, G.; NOFERINI, M.; FIORI, G.; ZIOSI, V. Internal fruit quality: how to influence it, how to define it. **Acta Horticulture**, n. 712, p. 339–346, 2006.

COZZOLINO, D.; KWIATKOWSKI, M. J.; PARKER, M.; CYNKAR, W. U.; DAMBERGS, R. G.; GISHEN, M., Prediction of phenolic compounds in red wine fermentations by visible and near infrared spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v.1, p. 73−80. 2004.

DE MELO-ABREU, J. P.; BARRANCO, D.; CORDEIRO, A. M.,; TOUS, J., ROGADO, B. M. e VILLALOBOS, F. J., Modelling olive flowering date using chilling for dormancy release and thermal time. **Agricultural and Forest Meteorology** v.125, p. 117-127. 2004.

ECCHER ZERBINI, P.; SPADA, G. L.; LIVERANI, C. Selection and experimental use of colour charts as a maturity index for harvesting peaches and nectarines. **Advance Horticulture Science**, v. 8, p. 107-113, 1994.

FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. **Fruticultura: fundamentos e práticas**. Pelotas: Livro eletrônico, Embrapa 2010. Disponível em: http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/livro/fruticultura_fundamentos_pratica/ Acesso em: 28/01/2011.

FU,X.; YING, Y.; ZHOU, Y.; XIE, L.; XU, H. Application of NIR spectroscopy for firmness evaluation of peaches. **Journal of Zhejiang University SCIENCE**, v. 9(7) p.552-557-2008.

GABIOUD, S; BAUMGARTNER, D.; GASSER, F.; KNEUBÜHLER, Y; LATTMANN S.; HOHN, E. Non destructive quality measurements on apples. **Acta Horticulture**, n. 796, p. 217-224, 2008.

GOLIC, M.; WALSH KB. Robustness of calibration models based on near infrared spectroscopy for the in-line grading of stonefruit for total soluble solids content. **Anal Chim Acta.** V. 555, p. 286–291. 2006.

GUTHRIE, J.A.; WEDDING, B.; WALSH, K.B. Robustness of NIR calibrations for soluble solids in intact melon and pineapple. **Journal Near Infrared Spectroscopy**. 6, 259–265. 1998.

HARKER, F. R.; MAINDONALD, J. H.; JACKSON, P. J. Penetrometer measurement of apple and kiwifruit firmness: operator and instrument differences. **Journal of the American Society for Horticulturae Science** 121 (5): p.927-935. 1996.

LIN, Y ; YING,Y. Theory and application of near infrared spectroscopy in assessment of fruit quality: a review Sensor & Instrument Food Quality. V. 3, p.130–141.2009.

LIU, Y; CHEN,W.; OUYANG, A.; Nondestructive determination of pear internal quality indices by visible and near-infrared spectrometry - **Food Science and Technology** . 2008.

LORENZO, C.; GARDE-CERDÁN, T.; PEDROZA, M. A.; ALONSO, G. L.; SALINAS, M. R. Determination of fermentative volatile compounds in aged red wines by near infrared spectroscopy. **Food Research International**, v.42, p.1281−1286, 2009.

MCGLONE, V.A.; KAWANO, S. Firmness, dry-matter and soluble-solids assessment of postharvest kiwifruit by NIR spectroscopy. **Postharvest Biology Technology,** v.13, p. 131–141. 1998.

MCGLONE, V.A.; JORDAN, R.B.; MARTINSEN, P.J. Vis/NIR estimation at harvest of pre and post-storage quality indices for 'Royal Gala' apple. **Postharvest Biology Technology**. 25, 135–144. 2002.

NICOLAÏ B.M.; BEULLENS, K.; BOBELYN, E.; HERTOG M.; SCHENK, A.; VERMEIR, S.; LAMMERTYN, J. Systems to characterize internal quality of fruit and vegetables. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MANAGING QUALITY IN CHAINS – THE INTEGRATED VIEW ON FRUITS AND VEGETABLES QUALITY, 4, Bangkok Proceedings…, Bangkok: **Acta Horticulture**, p. 59-65. 2006.

NICOLA¨I, B.M.; BEULLENS, K.; BOBELYN, E.; PEIRS, A.; SAEYS, W.; THERON, K.I.; LAMMERTYN, J. Nondestructive measurements of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: a review. **Postharvest Biology Technology,** v.46, p. 99–118. 2007

NICOLAÏ B.M.; VERLINDEN, B.E.; DESMET, M.; SAEVELS, S.; SAEYS, W.; THERON, K.; CUBEDDU, R.; PIFFERI, A.; TORRICELLI, A.; Time-resolved and continuous wave NIR reflectance spectroscopy to predict soluble solids content and firmness of pear. **Postharvest Biology Tecnology** v.47, p. 68-74. 2008.

NOFERINI, M.; FIORI, G.; ZIOSI, V.; COSTA, G. L'indice DA, un nuovo parametro non distruttivo per stabilire l'epoca di raccolta e la qualità del frutto di pesco. **Frutticoltura**, n. 7-8, p. 26-29, 2008.

PAZ, P., SÁNCHEZ, M.T., PÉREZ-MARÍN, D., GUERRERO, J.E., GARRIDO-VARO, A., Nondestructive determination of total soluble solids content and firmness in plums using near-infrared reflectance spectroscopy. **Journal Agriculture Food Chemistry**. 56, 2565–2570. 2008.

PEIRS, K.H.S., DELL, G.G., LEFFLER, R.G., KAY, S.J. Near Infrared Spectrometric Method for nondestructive determination of Soluble Solids Content of Peaches. **Journal American Society Hort. Science**. 123(5): 808-905, 1998.

PEIRS, A., SCHENK, A., NICOLAÏ, B.M. Effect of natural variability among apples on the accuracy of VIS-NIR calibration models for optimal harvest date predictions. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, p. 1–13, 2005.

PÉREZ-MARÍN, D., SÁNCHEZ, M.T., PAZ,P., SORIANO,M.A., GUERRERO, J.E., VARO, A. Non-destructive determination of quality parameters in nectarines during on-tree ripening and postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology** v.52 p. 180–188,2009.

ROGGO, Y., CHALUS, P., MAURER, L., LEMA-MARTINEZ, C., EDMOND, A. & JENT, N., A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical Technologies – Review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** 44: 683–700. 2007.

RUIZ-ALTISENTA, M.; RUIZ-GARCIA, L.; MOREDA, G.P.; LU, R.; HERNANDEZ-SANCHEZA, N.; CORREA, E.C.; DIEZMA, B.; NICOLAI, B.; GARCIA-RAMOS, J - Sensors for product characterization and quality of specialty crops—A review. V.74, p. 176–194. (2010). **Computers and Electronics in Agriculture** v. 74, p. 176–194. (2010).

SARANWONG, S.; KAWANO, S. Applications to agricultural and marine products: Fruits and vegetables. In **Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology**; Ozaki, Y., McClure, W. F., Christy, A. A., Eds.; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, 2007; pp 219–242.

SARITPORN V., ZHAO, J.,CHEN, Q., RACHATA, C., Application of FT-NIR spectroscopy to the measurement of fruit firmness of “Fuji” apples. **International Journal of Science and Technology** 02 (1), p. 13-23. 2008.

SHAO, Y., BAO, Y.,HE, Y. Visible/Near-Infrared Spectra for Linear and Nonlinear Calibrations: A Case to Predict Soluble Solids Contents and pH Value in Peach. **Food Bioprocess Technology**. DOI 10.1007/s11947-009-0227-6- Published online: 09 july, 2009.

VENTURA, M., JAGER, A., PUTTER, H. e ROELOFS, F.P.M.M.. Non-destructive determination of soluble solids in apple fruit by near infrared spectroscopy (NIRS). **Postharvest Biology Tecnology** 14: 21–27. 1998.

WIEDEMANN, S. C. C. C., HANSEN, W. G., SNIEDER, M. e WORTEL, V. A. L., NIR calibration in practice. **Analysis Magazine**, v. 26 (4), p. 38-43. 1998.

WORKMAN, J. R. J. J., MOBLEY, P. R., KOWALSKI, B. R., e BRO, R. **Review of chemometrics applied to spectroscopy**: 1985– 98, Part 1. Applied Spectroscopy Reviews, 31, 73–124. (1996).

XIAOBO, Y., BINJIE, X., BACIU, G. e JINLIAN, H. ‘Fourier-Analysis Based Satin Fabric Density and Weaving Pattern Extraction’, **Research Journal of Textile and Apparel**, vol. 11, no. 1, pp. 71-80. 2007.

YING, Y.B., LIU, Y.D., WANG, J.P., FU, X. P., LI, Y.B., Fourier Transform Near-Infrared determination of soluble solids and available acid in intact peach. **Americam Society of Agricultural and Biological Engineers**. v. 48, p. 229-234. 2005.

Artigo 2

ESPECTROSCOPIA DO VISÍVEL E INFRAVERMELHO PRÓXIMO (VIS/NIR), NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MANGAS TOMMY ATKINS[2].

Débora Leitzke Betemps, José Carlos Fachinello, Simone Padilha Galarça

Resumo- A espectroscopia na região do visível (VIS) e do infravermelho próximo (NIR) apresenta-se como uma promissora e rápida tecnologia de avaliação das características internas de várias espécies de frutas. A diferença de absorbância, provenientes das frutas, ao serem submetidas a um espectro emitido entre dois comprimentos de onda próximos ao do pico de absorção da clorofila-a, foi utilizada para o desenvolvimento de um índice (Índice DA) obtido com o equipamento DA-meter® que se correlaciona com o estádio de maturação das frutas. Neste trabalho objetivou-se avaliar as relações existentes entre os índices DA e os parâmetros físico-químicos de maturação utilizados em mangas da cultivar Tommy Atkins, na separação das frutas em categorias distintas. Para isto foram utilizadas frutas pertencentes a um mesmo lote comercial e adquiridas em um centro de distribuição na cidade de Pelotas/RS. Com os resultados obtidos, através do índice DA foi possível separar as frutas em categorias de acordo com o grau de maturação, demonstrando a grande heterogeneidade em que as frutas são oferecidas ao consumidor, as relações entre os valores dos índices IDA e os parâmetros de qualidade, determinadas através dos coeficientes de determinação (R^2), para coloração, firmeza e acidez, os valores foram significativos.

Termos para indexação: *Mangifera indica*, qualidade, técnicas não destrutiva.

VISIBLE SPECTROSCOPY AND NEAR INFRARED (VIS/NIR), IN ASSESSING THE QUALITY OF MANGOES TOMMY ATKINS.

Abstract – Visible spectroscopy (Vis) and near infrared (NIR) is presented as a promising and fast technology in the evaluation of internal characteristics of several fruits. The distinction in absorbance, from the fruits, when subjected to a spectrum emitted between two wavelength next to the absorption peak of chlorophyll-a, was used for the development of an index (DA), which correlates with the stage of maturation. This work

[2] Trabalho submetido para a Revista Brasileira de Fruticultura.

aimed to evaluate the relationship between in the index (DA), obtained by the equipment DA-meter® and the physicochemical parameters of ripening used in mangoes from the cultivar Tommy Atkins, the separation of the fruits in distinct categories. For this, was used fruits belonging to the same lot and purchased in a local distribution center in the city of Pelotas, RS. With the obtained results, through the DA index, it was able to divide the fruits in categories according with the ripening stage, showing the big heterogeneity that the fruits are offered to consumers and the coefficients of determination (R^2) obtained through the DA index and the quality parameters were significant for the attributes studied.
Index therms: Mangifera indica, quality, non destructive techniques.

1. Introdução

A produção de mangas é uma das principais atividades do agronegócio frutícola do Brasil, apresentando desempenho crescente nos últimos anos, alcançando a posição de sexto maior produtor mundial em 2008 (FAOSTAT, 2011).

O sucesso da participação brasileira no mercado externo está aliado ao nível tecnológico adotado, que permite o atendimento aos padrões internacionais de qualidade, e à colheita ainda nos estádios iniciais de maturação das frutas. Isso permite que ela atinja boa qualidade para consumo e resista aos procedimentos de manuseio e transporte (LIMA et al., 2009).

Na manga, a identificação da maturação é baseada, principalmente, na observação da rugosidade e brilho da casca, do enchimento ou formação de "ombro" na região do pedúnculo, da firmeza da polpa, da coloração, tanto da casca quanto da polpa, sólidos solúveis (ºBrix), ratio e outros. Porém, reconhece-se que esses elementos são passíveis de erro e não têm sido usado com sucesso em algumas cultivares (SUBEDI et al., 2007).

Um dos principais problemas encontrados em mangas destinadas ao consumo *in natura* ou ao processamento é a desuniformidade de amadurecimento das frutas em um mesmo lote. Embora numerosos e objetivos índices de maturação estejam disponíveis, quase nenhum deles é utilizado na prática porque eles são, em sua maioria, destrutivos e de difícil realização no campo (SIGRIST et al., 2004).

De acordo com Xavier et al., (2009), as mangas oferecidas aos consumidores são pouco atrativas e perdem valor, pois não apresentam boa aparência, são comercializadas com desuniformidade de estádios de maturação, ficando próximas de outros tipos de frutas, além de serem armazenadas sem nenhum tipo de refrigeração em locais poucos

estratégicos dos super-mercados, atingindo temperaturas relativamente altas, reduzindo a vida útil das frutas.

Técnicas não destrutivas de frutas estão sendo pesquisadas e dentre estas, a espectroscopia na região do visível (VIS) e do infravermelho (NIR) apresenta-se como uma promissora e rápida tecnologia de avaliação das características internas de várias espécies de frutas. A espectroscopia explora as propriedades da luz, medindo a energia gerada pela interação com as moléculas da amostra em um espectro de comprimento variável (OSBORNE, 2000). Trabalhos envolvendo a aplicação do infra-vermelho para avaliar a maturação em mangas são reportados pela literatura (SARANWONG et al., 2004; SUBEDI et al., 2007), entretanto estas abordagem requerem sempre um processamento complexo de dados para construir modelos de calibração e predição (CEN; HEN, 2007).

O desenvolvimento de um índice (DA) que caracteriza as mudanças de maturação das frutas calculado com base na diferença de absorbância entre dois comprimentos de onda emitidos próximos ao do pico de absorção da clorofila-a (chl-a), foi relatado no estudo de Ziosi et al. (2008) sendo caracterizado como uma evolução do sistema acima citado, propondo detectar um valor sem o requerimento de calibrações.

Em frutas climatéricas, a diferença de absorbância obtida entre dois comprimentos de onda próximos do pico da chl-a (índice da diferença de absorbância, DA) foi relacionadas com o real teor de clorofila no mesocarpo das frutas. Esta relação foi verificada através dos níveis de emissão de etileno, características de qualidade e transcrição de gens relacionados com o amadurecimento tanto na colheita quanto nos processos que ocorrem na vida de prateleira das frutas (ZIOSI et al., 2008).

Estimando o conteúdo de clorofila presente no interior das frutas, e sendo este um indicativo do ponto de maturação, o índice DA pode permitir o conhecimento do estado de maturação destas frutas de um modo independente ao andamento climático, no qual influencia outros parâmetros tradicionalmente utilizados. O índice DA apresenta uma escala que varia de 0 (frutas muito maduros) a 5 (frutas extremamente verdes) e este índice permite monitorar as alterações fisiológicas que ocorrem durante a maturação. Cada tipologia de fruta tem um índice específico assim como cada fase de maturação (NOFERINI, 2009).

A partir do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar as potencialidades da espectroscopia, através da separação das frutas em categorias de acordo com a

maturação e as relações existentes entre os índice DA, obtido com o equipamento DA-meter® e os parâmetros de maturação utilizados em mangas da cultivar Tommy Atkins.

2. Materiais e métodos

Mangas da cultivar Tommy Atkins que apresentavam diferentes graus de maturação foram adquiridos no centro de distribuição de frutas da cidade de Pelotas/RS.

Foram utilizados um total de 120 frutas (três caixas pertencentes a um mesmo lote), de cada fruta foi obtidos o índice IDA através da utilização do espectrofotômetro portátil DA meter® (Turony/Itália). As leituras foram realizadas de forma padronizada (totalizando 4 leituras por fruta) nas bases ventrais e dorsais das mangas (Figura 1) na qual através da média obtida entre as leituras, as mangas foram agrupadas em quatro categorias sendo estas :

CAT01 –Índice DA >2

CAT02 - Índice DA entre 1,1 e 2,0

CAT03 - Índice DA entre 0,6 e 1,0

CAT04 - Índice DA < 0,5

Figura 1- Espectrofotômetro portátil DA-meter® utilizado para avaliar a maturação de mangas (Turoni/Itália).

O índice DA foi obtido no momento da separação das mangas em categorias (0h) e 48h após a primeira leitura, com a finalidade de acompanhar a evolução da maturação das frutas em condições de temperatura ambiente (+/- 25°C).

Após o período de 48 horas, além do índice DA, foram obtidos os parâmetros físico-químicos (métodos destrutivos) das frutas de forma individualmente e colorimetria com a finalidade de caracterizar as categorias e correlacionar estes valores com os índices DA obtidos. As análises foram: Coloração da epiderme - realizado com o colorímetro Minolta 450, com iluminante D65, e abertura de 8 mm, no sistema registrado pela Commission Internationale de l'Eclairage L*, a* e b* (CIE-Lab), expressos em graus, pela fórmula hº = tan-1 b*/a*; firmeza da polpa (FP) com um penetrômetro digital com ponteira de 8mm de diâmetro (modelo 53205, TR, Forli, Italy), , sendo os resultados expressos em Newtons (N); conteúdo de sólidos solúveis (SS) com refratômetro digital (Atago PR32), os resultados expressos em ºBrix; para avaliação da acidez titulável das frutas, o método foi baseado na neutralização dos ácidos presentes no suco das frutas com uma solução base (NaOH 0,1N) e os valores de acidez titulável foram expressos em meq NaOH/100mL. Todas as análises físico-químicas foram realizadas nas regiões basais e dorsais das frutas com exceção da acidez titulável na qual foi realizada a extração de todo o suco da fruta.

Índice DA

Os índices DA são obtidos através do espectrofotômetro portátil DA-meter (figura 1). Os feixes de luz são emitidos nos comprimentos de onda de 670 nanômetros (visível) e 720 nanômetros (infra-vermelho), no qual o equipamento obtém os sinais de interactância (I) e absorbância (A) das frutas e o cálculo dos índices é baseado, segundo Noferini et al. (2009), na lei de Lambert Beer ($A = \log 10\ I^{-10}$) sendo calculado como:

$$IDA = A_{670} - A_{720}$$

A_{670} and A_{720}, foram os valores da Absorbância das frutas nos comprimentos de onda de 670 e 720 nanômetros, respectivamente. O equipamento é constituído de uma fonte luminosa composta de seis LEDs de diodo, posicionados ao redor de um fotodiodo. Três LEDs de diodo emitem comprimentos de onda de 670nm e outros três em comprimento de 720nm. As frutas são submetidos a iluminação de curta duração com as duas fontes monocromáticas e no âmbito de cada um deles, a quantidade de luz reemitida apartir da fruta é captada e medida pelo fotodiodo central (COSTA et al., 2010).

O delineamento do experimento consistiu em um mono fatorial (classes) com três repetições de 10 frutas por cada classe, para análise dos resultados foi usado teste de comparação de médias (Tukey, $P<0,05$). A análise estatística dos dados constitui

também, na construção regressões polinomiais entre as médias dos parâmetros destrutivos (físico-químicos) e os índices DA obtidos, através do uso do programa WinStat ver. 2.0 (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2002).

3. Resultados e discussão

Com as médias do índice DA obtidas das frutas, estas foram distribuídas em quatro categorias de acordo com o estádio de maturação que apresentavam conforme demostrado na figura 2. Estudos realizados em pêssegos (ZIOSI et al., 2008), maçãs (MCGLONE et al., 2002) também reportaram a separação de frutas baseadas nos índices apresentando diferenças nos parâmetros de qualidade tanto no momento da colheita, quanto na vida de prateleira.

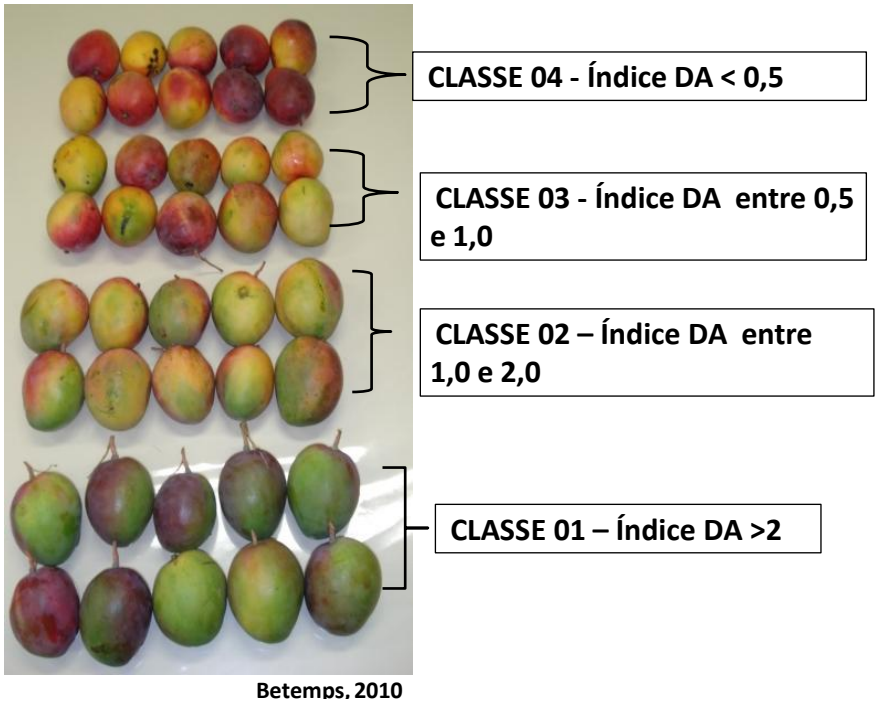


Figura 2- Diferentes categoria formadas de acordo com o índice DA obtidos em mangas ‘Tommy Atkins”.

A mensuração do Índice DA com intervalo de 48 horas, demonstrou que os valores variaram de forma significativa e observou-se um decréscimo deste índice em todas as categorias avaliadas (Figura 3). O índice DA é obtido atráves da resposta emitida pela fruta à emissão de luz em comprimentos de onda próximos ao pico da clorofila-a, com isto a sua correlação com a concentração de clorofila presente na epiderme das frutas é alta (Ziosi et al., 2008). Este resultado concorda com trabalhos anteriores de Noferini et al.

(2009), Infante et al., (2011) no qual trabalhando com damascos, pêssegos, nectarinas e ameixas caracterizaram a diminuição do índice DA durante o processo de amadurecimento das frutas como reflexo à degradação da clorofila no mesocarpo das mesmas.

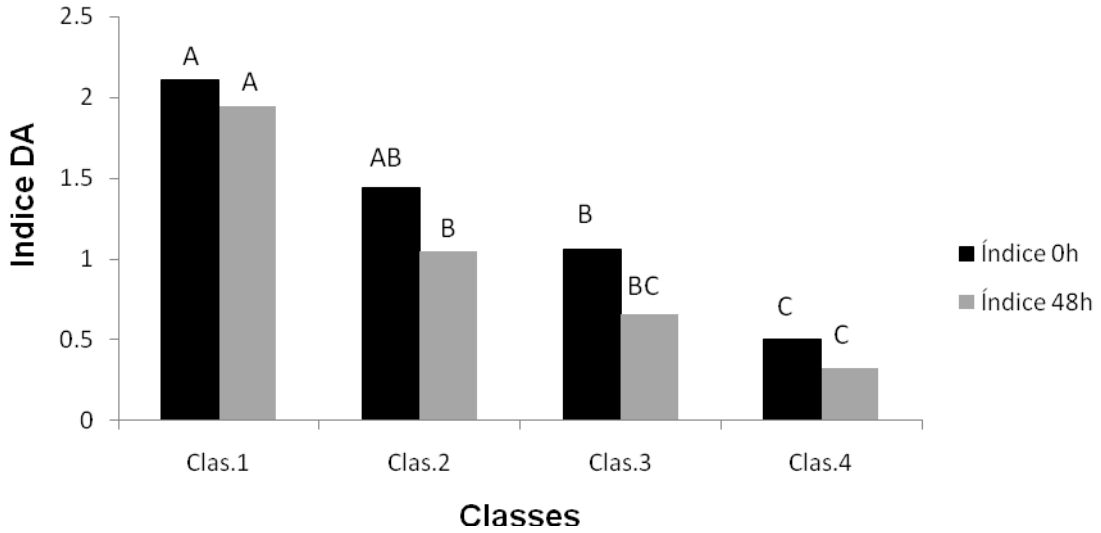


Figura 3- Média dos valores do Índice DA obtido dentro das classes formadas com mangas “Tommy Atkins” nos tempos 0h (Zero) e 48h de avaliação.

A decomposição estrutural deste pigmento ocorre em decorrência de vários fatores que atuam isoladamente ou em conjunto durante o processo de amadurecimento, entre eles podem ser citados as mudanças no potencial hidrogeniônico (pH) causadas principalmente pelo acúmulo de ácidos orgânicos e outros compostos nos vacúolos; ativação da enzima clorofilase e a presença de sistemas oxidantes (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Na caracterização físico-química das classes formadas, foi observado diferença significantiva para os parâmetros de maturação estudados (tabela 1).

Tabela 1- Médias dos valores encontrados para coloração (ângulo hue), sólidos solúveis (°Brix), firmeza de polpa (N) e acidez titulável (meq de NaOH/100ml) das frutas de manga dentro das diferentes classes formadas.

Categorias	° Hue	Sólidos solúveis	Firmeza de polpa	Acidez Titulável

Class 1	88,89 a*	11,25 b	57,74 a	13,21 a
Class 2	71,57 b	12,37 ab	50,66 b	6,34 b
Class 3	66,62 c	12,21 ab	12,35 c	4,04 c
Class 4	50,00 d	13,13 a	4,34 c	3,76 c
CV	**2,39**	**4,79**	**8,95**	**10,10**

* Médias seguidas de mesma letra, em colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Para a coloração da epiderme, as observações visuais foram confirmadas pelo sistema CIEL*a*b*, através do cálculo do ângulo hue (tabela 1). Na categoria de maior índice DA (>2,0)(classe 1), foi observado um ângulo de 88,89° (próximo ao verde), enquanto na categoria de menor índice (<0,50)(Classe 4) o valor encontrado foi de 50°(amarelo). Mudanças no ângulo hue asseguram diferenças de coloração em frutas imaturas e maturas, principalmente quando confirmados com altos coeficientes de determinação (JAI et al., 2006).

Comportamento semelhante foi observado para os parâmetros firmeza de polpa e acidez titulável, onde nas frutas classificadas como classe 4 (menores índices DA) apresentavam diferença significativa comparado com as demais classes, caracterizando frutas menos firmes e menos ácidas. O decréscimo dos valores da acidez está associado ao amadurecimento e a maturação, em decorrência do consumo dos ácidos no processo respiratório (MORAIS et al., 2002) ou nas rotas de conversão em componentes do aroma. Segundo Jerônimo et al. (2007), A perda da acidez é desejável em grande parte das frutas e marcante no processo de amadurecimento.

Lucena et al. (2007), estudando a caracterização físico-química da manga, cv. Tommy Atkins, em diferentes estádios de maturação, constataram que a firmeza média das frutas é decrescente com o avanço da maturação, fato este confirmado neste trabalho. As alterações na firmeza durante o amadurecimento resultam, predominantemente, da desestruturação da parede celular (TUCKER, 1993), envolvendo uma interação complexa das atividades das enzimas amilásicas, pécticas e galactosidases com mudanças físico-químicas na parede (JERÔNIMO et al., 2007) provocando deste modo o amolecimento das frutas.

Na literatura, Medlicott e Reynolds (1988), recomendam a colheita de mangas com a firmeza variando de 107,84 a 127,45 N. Os valores encontrados neste trabalho se encontram abaixo do reportado, este fato é justificado pelas frutas pertencerem a um centro de distribuição.

Com relação ao teor de sólidos solúveis, observa-se que embora a Classe 4 (DA <0,5) apresente a maior média, esta não diferiu das demais classes formadas. Os teores de sólidos solúveis são dependentes do estádio de maturação da colheita dos frutos, e geralmente aumentam durante o amadurecimento, devido à biossíntese ou degradação de polissacarídeos de reserva (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Através da análise de regressão linear, foi possível observar que o índice DA possui boa relação com os parâmetros de qualidade cor (R^2 0,80), firmeza de polpa (R^2 0,71), sólidos solúveis (R^2 0,50) e acidez titulável (R^2 0,68) (figura 4), sendo estes normalmente utilizados para definir o ponto de colheita em mangas. Estes resultados concordam com trabalho desenvolvido por Infante et al. (2011) no qual determinaram coeficientes de determinação entre os atributos de qualidade e o índice DA em ameixas 'Angeleno' e 'Autumn beaut' encontrando resultados semelhantes.

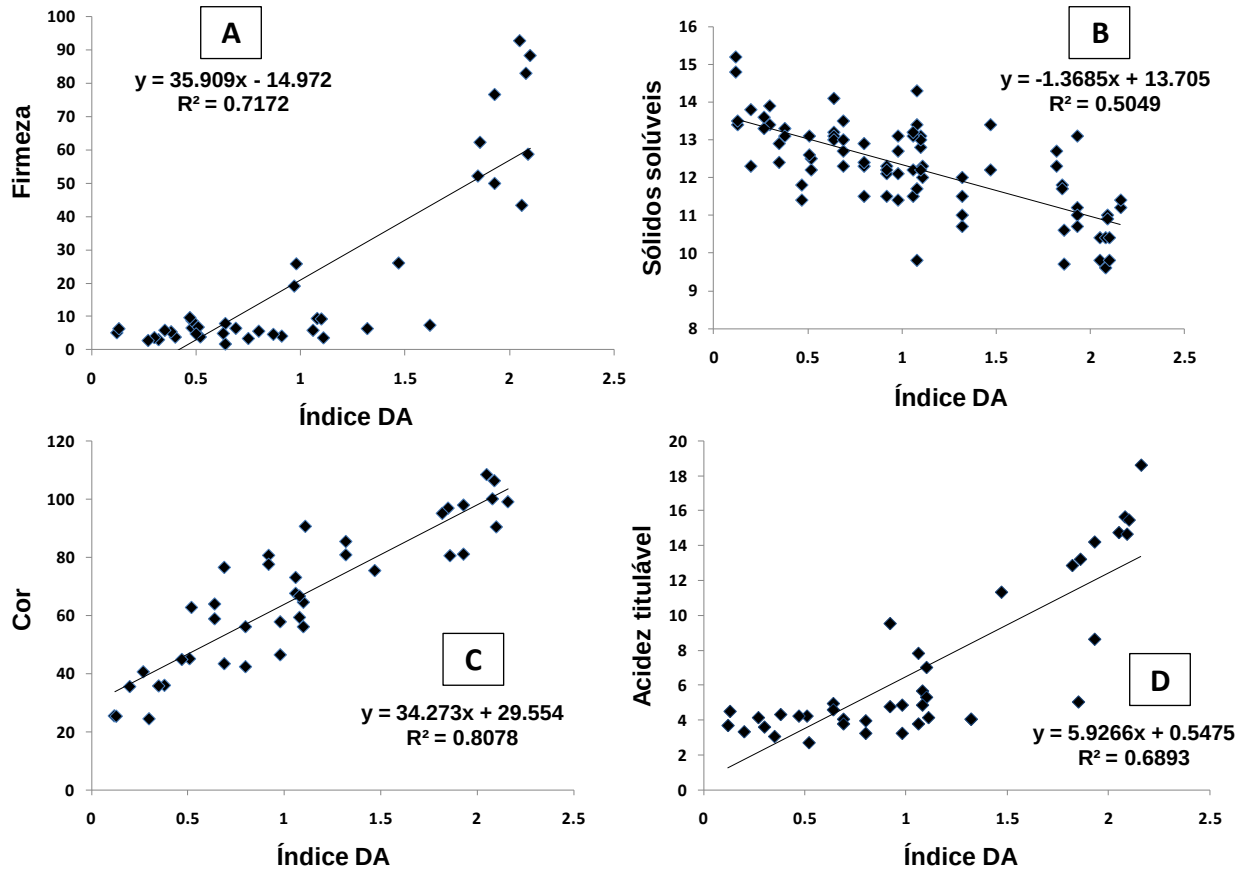


Figura 4- Correlação existente entre o índice-DA e a firmeza de polpa, em newtons (A), sólidos solúveis, em ºBrix (B), Cor, em °hue (C) e acidez titulável, em meq de NaOH/100ml (D) em mangas cv. 'Tommy Atkins'.

As frutas das diferentes classes não são somente uniformizadas de acordo com as características qualitativas, mas segundo trabalho desenvolvido por Ziosi et al. (2008), em pêssegos e nectarinas das cultivares ‘Stark Red Gold’, ‘Laura’ e ‘Fayette’ em dois anos consecutivos, observou que a emissão de etileno também tem alta relação com o índice IDA, podendo indicar indiretamente a evolução da emissão de etileno nas frutas que apresentam comportamento climatérico. Com isto, os valores dos coeficientes de determinação encontrados podem ser explicados pelo comportamento de emissão de etileno no qual as mangas apresentam.

Correlações entre o índice DA com parâmetros de qualidade dependem do atributo estudado e da espécie em estudo (DERKX et al., 2010), devido a cultura da manga tratar-se de uma cultura tropical, dados de utilização do índice DA com os chamados índices de colheita são incipientes, entretanto com culturas como maçãs (DERKX et al., 2010), diferentes cultivares de pêssegos e nectarinas (ZIOSI et al., 2008), kiwi (NOFERINI et al., 2009), ameixas (INFANTE et al., 2011), são relatados na literatura, com eficiente aplicação desta técnica.

Segundo Sigrist et al. (2004), caso o ponto de colheita seja determinado através do uso de algum instrumento ou equipamento, recomenda-se que sejam calibrados periodicamente, entretanto esta tecnologia não sofre interferência da temperatura das frutas, não requer praticamente nenhuma calibração e pode ser utilizada sobre frutas de diversas culturas e espécies e uma vez determinado os valores dos índices DA, típicos de cada cultivar, estes permanecem constantes a cada ano independente dos valores dos parâmetros de qualidade, no qual são normalmente empregados e que se modificam todos os anos em respostas as condições climáticas (ZIOSI et al., 2008).

4. Conclusão

O índice DA possibilita a separação das mangas em diferentes categorias de maturação. Os valores do índice DA estão correlacionados de forma satisfatória com os atributos de qualidade coloração e firmeza de polpa e acidez.

5. Referências

CEN, H., HE, Y., Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. **Trends in Foods Science & Technology** v. 18, p. 72–83. 2007.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 735 p. 2005.

COSTA G., NOFERINI, M., BONORA, E. **Metodi innovativi di gestione dei frutti nella fase post-raccolta - Metodi non distruttivi per valutare la qualità dei frutti.** Edito da Regione Emilia-Romagna Servizio Sviluppo del Sistema Agroalimentare Assessorato Agricoltura. 200p. p.17-38- Bologna/Italia, 2010.

DERKX, R., BAUMGARTNER, D. BOZZI NISING, A. COSTA, G., GABIOUD REBEAUD, S. KONOPACKI, P.J. LINDHARD PEDERSEN, H., NOFERINI, M., RUTKOSKI, K., VAN SCHAIK, A., ZANELLA, A. **Non- destrucitve fruit quality assessment in Apple by I_{AD}-index: practical perspectives**. 28thInternacional Horticultural Congress, Portugual, Lisboa, 2010.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations Statical Databases.** Disponível em: http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor Acesso em 20 Jan. 2011

JERONIMO, E.M.; BRUNINI, M.A.; ARRUDA, M.C,; CRUZ, J.C.S; FISCHER, I.H.; GAVA, G.J.C., Conservação pós-colheita de mangas 'Tommy Atkins' armazenadas sob atmosfera modificada **Semina**: Ciências Agrárias, Londrina, v. 28, n. 3, p. 417-426. 2007.

INFANTE, R., CONTADOR, L., RUBIO, P., MESA, K., MENESES, C. Non-destructive monitoring of flesh softening in the black-skinned Japanese plums 'Angeleno' and 'Autumn beaut' on-tree and postharvest. **Postharvest Biology and Technology,** v. 61, p. 35–40. 2011.

LIMA, M. A. C. D.; SILVA, A. L. S.; AZEVEDO, S. S. N., Evolução de indicadores do ponto de colheita em manga'Tommy Atkins' durante o crescimento e a maturação, nas condições do Vale do São Francisco, Brasil, **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 432-439, 2009.

LUCENA, E. M. P. de; ASSIS, J. S. de; ALVES, R. E.; SILVA, V. C. M. da; ENÉAS FILHO, J. Alterações físicas e químicas durante o desenvolvimento de mangas 'Tommy Atkins' no Vale do São Francisco, Petrolina-PE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 96-101, 2007.

MACHADO, A.; CONCEIÇÃO, A. R. Programa estatístico WinStat Sistema de Análise Estatístico para Windows. Versão 2.0. Pelotas: UFPel, 2002.

MCGLONE, V.A., JORDAN, R.B., MARTINSEN, P.J., Vis/Nir estimation at harvest of pre and post-storage quality indices for 'Royal Gala' apple. **Postharvest Biology and Tecnology** 25, p. 135-144. 2002.

MEDLICOTT A.P., REYNOLDS S.B., New s.w. and Thompson A.K. Harvest maturity effects on mango fruit ripening. **Tropical Agriculture**. 65 p. (1988).

MORAIS, P.L.D.; FILGUEIRAS, H.A.C. ; DE PINHO, J.L.N.; ALVES, R.E. Ponto De Colheita Ideal De Mangas 'TOMMY ATKINS' Destinadas ao Mercado Europeu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 3, p. 671-675, 2002.

NOFERINI M.; FIORI G.; ZIOSI V.; COSTA G. L'indice DA: un nuovo parametro non distrutti- vo per stabilire l'epoca di raccolta e la qualità del frutto di pesco. **Frutticoltura**, 7/8, p. 26-29. 2008.

NOFERINI, M., FIORI, G., COSTA, G. Un nuovo índice di maturazione per stabilire la raccolta Ed orientare Il consumatore verso la qualità. **Revista Frutticoltura** n.7/8 -p.30-37, 2009.

OSBORNE, B.G., 2000. **Near infrared spectrocospy in food analysis**. BRI Australia Ltd, North Ryde, Australia. Copryright. Wiley, New York, pp.1-14 Chapter 1. 2000.

SARANWONG, S.; SORNSRIVICHAI, J.; KAWANO, S. Prediction of ripe-stage eating quality of mango fruit from its harvest quality measured nondestructively by near infrared spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**. 31, 137–145, 2004.

SIGRIST, J.M.M. - TECNOLOGIA PÓS-COLHEITA PARA A COMERCIALIZAÇÃO DE MANGA IN NATURA- Manga- produção integrada, industrialização e comercialização / Editores: Danilo Eduardo Rozane... [et al.]. 2004 – Viçosa : UFV, 2004. 604p. 553-570.

SUBEDI, P. P.; WALSH, K. B.; OWENS, G., Prediction of mango eating quality at harvest using short-wave near infrared spectrometry. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 43, n. 3, p. 326-334. 2007.

TUCKER, G. A. Introduction. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, p.1-51. 1993.

ZIOSI, V., NOFERINI, M., FIORI, G., TADIELLO, A., TRAINOTTI, L., CASADORO, G., COSTA, G., A new index based on vis spectroscopy to characterize the progression of ripening in peach fruit. **Postharvest Biology and Technology** 49 319–329. 2008.

XAVIER, E.F., LEITE, G. A., MEDEIROS, E.V.D.,MORAIS, P.L.D., LIMA, L.M. L., Qualidade pós-colheita da manga 'Tommy Atkins' comercializada em diferentes estabelecimentos comerciais no município de Mossoró-RN. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.22, n.4, p.7-13, 2009.

Artigo 3

AVALIAÇÃO NÃO-DESTRUTIVA DAS CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE EM MAÇÃS USANDO UM SENSOR MULTIPARAMÉTRICO DE FLUORESCÊNCIA[3]

Débora Leitzke Betemps, José Carlos Fachinello,Rossano Massai,
Damiano Remorini, Giovanni Agati, Simone Galarça

Resumo - O objetivo deste trabalho foi definir novos índices ópticos não destrutivos para avaliar a qualidade de maçãs. Para tanto foram utilizados os indices não destrutíveis de clorofila (CHL), antocianinas (ANTH) e flavonóides (FLAV) em maçãs com o uso de sensor com base na fluorescência. Maçãs das cultivares Fuji, Golden Delicious e Granny Smith pertecentes a uma propriedade privada localizada na cidade de Caxias do Sul/RS foram colhidas observando a disposição destas frutas com respeito aos lados de maior e menor exposição à luz solar, sendo estas frutas analisadas com un sensor multiparamétrico de fluorescência. Para 'Fuji', o índice não destrutivo de antocianinas (ANTH) foi maior no lado da fruta exposto ao sol, comparando-se ao outro lado. O mesmo resultado foi observado em maçãs 'Granny Smith' e 'Golden Delicious', no qual apresentaram uma acumulação menor de antocianinas na face virada para o sol, comparado com a cultivar Fuji. Para todas as cultivares, os índices não destrutíveis de flavonóides (FLAV) foram maiores na face ensolarada do que na face que permaneceu na sombra. A correlação linear (R^2 = 0.85) foi determinada entre os índices de FLAV e a concentração flavonóides determinada de modo destrutivo nas cascas de maçã 'Fuji'. Os valores médios do índice não destrutivo de clorofilas (CHL) para os lados não expostos ao sol de 'Granny Smith' e 'Golden Delicious' foram significantemente maiores do que aqueles do lado ensolarado, enquanto para Fuji, nenhuma mudança no índice de clorofila (CHL) foi observada. Pela regressão linear (R^2 = 0,87) foi encontrada boa relação entre índice de clorofila (CHL) determinado pelo sensor e a concentração clorofilas presente nas cascas das frutas, determinadas destrutivamente na casca de maçãs. Uma correlação negativa (R= -0,77) foi encontrada entre o teor de sólidos solúveis em maçãs e a fluorescência da clorofila (CHL) no espectro do vermelho distante ('far-red spectral'). Os resultados indicam que o sensor multiparamético de base fluorescente pode fornecer índices de maturação e qualidade de maçãs de um modo não destrutivo.

[3] Trabalho publicado no "Journal of the Science of Food and Agriculture" – JSFA 11-1498 .

Palavras chaves: *Malus domestica*, antocianina, clorofila, flavonóides, maturação, análise não destrutiva.

NON-DESTRUCTIVE EVALUATION OF RIPENING AND QUALITY TRAITS IN APPLES USING A MULTIPARAMETRIC FLUORESCENCE SENSOR

Abstract - The purpose of this study was the definition of new non-destructive optical indices of apple quality. Non-destructive indices of chlorophyll (CHL), anthocyanins (ANTH) and flavonols (FLAV) in apples were obtained by using a fluorescence-based sensor. The most and least sun-exposed sides of fruits of the Fuji, Golden Delicious and Granny Smith cultivars harvested at commercial maturity were measured by the sensor. For cv Fuji, the non-destructive Anth index (ANTH) was higher in the sunexposed fruit side with respect to the least-exposed one. The same result was observed for the few Granny Smith and Golden Delicious apples which showed a weak Anth accumulation on the sunny face. For all cvs, the non-destructive Flav index (FLAV) was higher in the sunny fruit face as compared with the shady face. A good linear regression (R^2 = 0.85) was found between FLAV and the Flav concentration determined destructively on Fuji apple peel extracts. The mean values of the nondestructive Chl index (CHL) for the shady sides of Granny Smith and Golden Delicious were significantly higher than those for the sunny sides, while for the Fuji no difference in CHL was observed. A good linear regression (R^2 = 0.872) was found between CHL and the Chl concentration determined destructively on the apple peel extracts. A fine negative correlation (R = -0.77) was found between the apple sugar content (total soluble solids) and the Chl fluorescence in the far-red spectral band. Our results indicate that a single multiparametric fluorescence-based sensor can provide valuable non-destructive indices of ripening and quality in apples.

Keywords – *Malus domestica,* anthocyanin, chlorophyll, flavonol, fluorescence, non-destructive indices.

1. Introdução

Do ponto de vista do consumidor, a qualidade da fruta é diretamente relacionada à aparência, textura e sabor. Entretanto, uma atenção especial e crescente também esta se levando a considerar frutas como alimentos funcionais e nutracêuticos. Em adição aos fatores básicos nutricionais tradicionalmente considerados, como vitaminas, minerais e fibras, as frutas oferecem outras moléculas, derivadas do metabolismo secundário da planta, que são potencialmente benéficos para a saúde humana (BOYER; LIU, 2004; ROBLES-SARDIN et al., 2010).

O baixo risco de câncer e doenças cardiovasculares tem sido associado com uma dieta rica em maçã, sendo uma fonte considerável de compostos oxidantes (EBERHARDT et al., 2004). Já que estas moléculas estão localizadas principalmente na epiderme das frutas, o consumo da fruta inteira está sendo estimulado.

As maçãs possuem uma grande quantidade de compostos bio-ativos como flavonóides, que incluem flavonóis (Flav) e antocianinas (Anth), e ácidos fenólicos (AWAD et al., 2000). As antocianinas presentes no vacúolo de células epidérmicas e hipodérmicas da casca determinam a coloração avermelhada destas em diferentes cultivares de maçãs. Elas são vitais para atrair polinizadores e assim, garantir a dispersão de sementes. Como este pigmento absorve parte da luz do espectro do visível, acredita-se também que as antocianinas são protetores do aparato fotossintético aos altos níveis de incidência de luz (MERZLYAK; CHIVKUNOVA, 2000). O papel antioxidante da antocianina tanto em folhas quanto em frutos também tem sido sugerido (GOULD et al., 2008). Flavonóides são pigmentos incolores localizados na epiderme das maçãs (HAGEN et al., 2006), estes absorvem radiação ultravioleta (UV) e podem proteger os tecidos subjacentes contra os danos induzidos pelos raios UV (SOLOVCHENKO; SCHMITZ-EIBERGER, 2003). As funções adicionais dos flavonóides incluem estabilização da cor da casca das frutas (LANCASTER et al., 1994), defesa contra ataques patogênicos (TREUTTER, 2006) e como catalizadores de espécies reativas de oxigênio (AGATI; TATTINI, 2010).

Em maçãs, a concentração de clorofila presente na epiderme é conhecida por diminuir durante o amadurecimento (ZUDE-SASSE et al.,2002; SOLOVCHENKO et al., 2006), e o monitoramento tem sido recomendado como um indicador da maturidade da fruta (MERZLYAK et al., 1999; ZUDE, 2003). Por causa das propriedades benéficas à

saúde dos flavonóides (ROBLES-SARDIN et al., 2010), informações sobre o conteúdo na fruta podem representar um importante valor adicional para a qualidade da mesma.

A composição de polifenóis é geralmente obtida por meio de cromatografia líquida de alta performance em extratos de solvente de amostras de maçã (VRHOVSEK et al., 2004; TSAO et al., 2003; LATA et al., 2009;). Quantidades totais de flavonóides e clorofila podem ser avaliadas espectrofotometricamente (SOLOVCHENKO et al., 2001). Entretanto estes métodos são demorados e podem produzir resultados conflitantes devido à instabilidade destes pigmentos e a perda de material. Além disso, a amostragem de frutas para análises destrutivas deve ser suficientemente extensa e precisa cobrir a alta variabilidade na quantidade e distribuição de compostos devido a muitos fatores, como a disponibilidade de nutrientes, a exposição à luz, temperatura, estado de maturação, antecedentes genéticos (SAURE, 1990; TREUTTER, 2001), e variabilidade sazonal (BEN-YEHUDAH et al., 2005).

Devido a essa grande variabilidade, métodos não destrutivos para avaliar compostos nas superfícies das frutas *in situ* poderiam ser de fundamental importância para os produtores de maçã.

Métodos não destrutivos são rápidos, é possível analisar uma grande quantidade de amostras, repetir medidas nas mesmas durante o período de amadurecimento e também na pós-colheita, fornecer ferramentas comerciais para a classificação da fruta e o controle de qualidade. A utlização de espectroscopia de reflectância baseada em métodos para a determinação não invasiva de clorofila (ZUDE-SASSE et al., 2002; MERZLYAK et al., 2003; ZUDE, 2003), antocianinas, (MERZLYAK et al., 2003) flavonóides, (MERZLYAK et al., 2005) tem sido propostos.

Além da avaliação de clorofila e flavonóides, métodos ópticos, com o auxilio da quimiometria, podem prever firmeza e o teor de sólidos solúveis por meio de comprimento de onda dependente de imagens de retro-espalhamento de luz (LU, 2004; QING et al., 2008) e espectroscopia do infravermelho-próximo (NICOLAI et al., 2007). Análises de reflectância no visível e no infravermelho próximo também foram propostos na detecção de manchas e lesões em maçãs Jonagold (XING et al., 2005).

Técnicas de fluorescência têm sido indicadas como ferramentas para avaliar a qualidade das frutas (DEELL et al., 1999; DE LONG et al., 2004), estas baseiam-se principalmente na avaliação da atividade fotossintética das frutas em condições de estresse avaliado através da medição cinética de indução da fluorescência que ocorrem

durante a transição do escuro para a luz (também conhecido como efeito Kautsky). Esta referida medição cinética é obtida usando-se um fluorimetro de pulso modulado (PAM), e requer uma adaptação ao escuro das amostras, o que limita a sua utilidade prática, especialmente aplicações em campo. A mensuração deste estado-escuro de fluorescência tem sido sugerida para avaliar o acúmulo de açúcar em bagas de uvas de forma não invasiva durante o amadurecimento (KOLB et al., 2006).

Aplicações de fluorescência cinética das clorofilas em maçãs envolvem o monitoramento das frutas em conservação (SONG et al., 1997; MIR et al., 1998; PRANGE et al., 2003), a avaliação das condições de estresse (SOLOVCHENKO; SCHMITZ-EIBERGER, 2003) e maturação (SONG et al.,1997).

Um estado-estável e máximo de fluorescência da clorofila sob luz natural foi utilizado para acompanhar o desenvolvimento de frutas durante o período vegetativo de maçãs (GREER, 2005). A técnica a laser induzida por fluorescência foi empregada na vida de prateleira para a detecção de alterações no conteúdo de clorofilas, firmeza das frutas e grau de maturidade em “Jonagold” e “Golden Delicious” (KUCKENBERG et al., 2008). Assim como uma técnica de imagem multiespectral de reflectância integrada e fluorescência foi aplicada pelos autores Ariana, Guyer e Shrestha, (2006), para detectar defeitos nas maçãs.

A técnica de excitação de fluorescência da clorofila, que foi desenvolvido, a fim de avaliar compostos que absorvem a luz Ultra-Violeta na epiderme das folhas (BILGER et al., 1997; CEROVIC et al., 2002), foi recentemente aplicada a detecção não destrutiva de antocianinas em azeitonas (BILGER et al., 1997; CEROVIC et al., 2002), em uvas (AGATI et al., 2007) e também em flavonóides de maçãs (HAGEN et al., 2006).

O método se baseia na seleção de excitação da fluorescência da clorofila pelos compostos presentes nas camadas exteriores das cascas das frutas, que reduzem o sinal da fluorescência da clorofila proporcionalmente à concentração do referido composto. Ela representa, portanto um uso diferente de mensuração da fluorescência da clorofila comparado com a técnica PAM.

A disponibilidade de adequados sensores ópticos portáteis tornou possível a aplicação da técnica diretamente no campo, como ficou provado no acompanhamento da maturação de uvas destinadas a produção de vinho (BEN GHOLZLEN et al., 2010; TUCCIO et al., 2011).

Neste estudo, os autores aplicaram a técnica da fluorescência de excitação da clorofila, usando um único sensor óptico portátil multiparamétrico, a fim de determinar de forma não invasiva o conteúdo de clorofilas, de antocianinas e de flavonóis em maçãs das cultivares Fuji, Granny Smith e Golden Delicious. Uma vez que a acumulação destes compostos é diferente em função da exposição à luz, analisamos as frutas, observando o comportamento destas tanto para o lado exposto como para o não exposto ao sol. Correlações entre os diferentes sinais de fluorescência e os parâmetros de qualidade interna também foram investigados. Por meio desta investigação, objetiva-se introduzir novos índices e novos métodos para a avaliação não-destrutiva da qualidade das frutas.

2. Material e métodos

2.1. Amostras de frutas

Maçãs (*Malus domestica*) das cultivares Fuji, Golden Delicious e Granny Smith provenientes de um pomar comercial na cidade de Caxias do Sul, RS-Brasil (29º 22"S, 50º50"W), foram colhidas no dia 26 de fevereiro de 2010. Todos as frutas foram provenientes do mesmo local e submetidas as mesmas condições atmosféricas de luz e temperatura até o momento das avaliações. As frutas foram coletadas de ambos os lados interno e externo da copa, a fim de aumentar a variabilidade no conteúdo de pigmentos na epiderme das amostras. Para cada cultivar, foram coletados 100 frutos provenientes de cinco plantas e destes foram selecionados 20 frutos sadios e sem danos.

Para ‘Fuji’ (Figura 2A), o lado mais exposto ao sol pode ser facilmente identificado com relação ao com menor exposição devido a intensa coloração vermelha presente na casca das frutas. Para ‘Granny Smith (Figura 3A) e ‘Golden Delicious’ (Figura 4A), a atribuição de maior ou menor exposição à luz foi baseada na coloração amarelo-esverdeado da epiderme das frutas, uma vez que apenas poucas frutas apresentaram recobrimento da coloração vermelha.

2.2. Equipamento de Fluorescência

Ambos os lados das frutas foram submetidos a leituras por meio do sensor Multiplex 2 (Mx) (Force-A, Orsay, França) (Figura 1). Este sensor, que é descrito em detalhes em trabalho publicado por Ben Gozlen et al. (2010), consiste em um fluorímetro portátil, com bateria acoplada, com quatro fontes de emissores de luz de diodos (LED)

emitindo nas regiões espectrais do UV-A (370nm), do azul (460nm), verde (515nm) e vermelho (637nm) e 3 canais detectores de fotodiodo nas regiões espectrais do azul-verde, vermelho e infravermelho próximo. As duas últimas bandas de 680-690 nm e 730-780 nm, respectivamente, correspondentes à emissão de dois picos da clorofila. A combinação dos diferentes sinais da fluorescência no azul-verde, vermelho (FR) e do infravermelho próximo (FIR) com as diferentes bandas de excitação foram usados para a obtenção dos índices de compostos como os flavonóides (FLAV), antocianinas (ANTH) e clorofila (CHL). Neste trabalho, o índice de antocianinas fornecido pelo Multiplex foram calculados segundo as fórmulas:

$$ANTH = \log(FIR_{vermelho}/FIR_{verde}) \quad (1)$$

$$FLAV = \log(FIR_{vermelho}/FIR_{UV}), \quad (2)$$

$$CHL = FIR_{vermelho}/RF_{vermelho}. \quad (3)$$

A base teórica destas fórmulas é relatada em trabalhos de Agati et al. (2007) e Ben Gholzen et al. (2010). A intensidade da fluorescência da clorofila é relacionada com a quantidade de luz necessária para provocar esta excitação nas moléculas de clorofila presentes na casca das maçãs. Os compostos presentes nas camadas da epiderme das frutas como antocianinas e flavonóides funcionam como uma tela ao efeito da excitação da luz, reduzindo assim o sinal da fluorescência da clorofila proporcionalmente à sua concentração.

Figura 1- Sensor multiparamétrico Multiplex 2 (Mx) (Force-A, Orsay, França) utilizado leitura em maçãs.

As máximas atenuações ocorrem para a radiação no verde (em torno de 520nm) e no UV (em torno de 360nm), correspondente aos valores máximos de absorbância das antocianinas e dos flavonóides. Portanto, a excitação que ocorre no vermelho é usada como sinal de referência para a mensuração da fluorescência da clorofila. O indice de

ANTH que é reportado na equação 1 representa um diferencial de medição de absorção (no qual é explicado de acordo com a lei de “Beer-Lambert”, que é proporcional ao contéudo de antocianinas).

Analogamente, o índice de FLAV dada na equação 2 representa uma medição do diferencial de absorção, que é proporcional ao conteúdo de flavonoides.

O indice de CHL (equação 3) é baseado na parcial re-absorção do sinal da fluorescência no FR pela própria clorofila (BUSCHMANN, 2007), que depende da concentração do pigmentos enquanto a banda do FIR não é absorvida. Consequentemente o indice CHL aumenta com o aumento da concentração de clorofila.

Cada medida foi realizada mantendo as frutas em contato com os sensores através de um orifício com 4cm de diâmetro e a uma distância de 0,1m das fontes e detectores, com um tempo de ação de cerca de 1s. Os dados são armazenados em um cartão SD (security card).

As maçãs permaneceram em temperatura ambiente (20°C) por 24 horas e adaptadas à luz de lâmpadas fluorecentes brancas, usando densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de cerca de 100mmol $m^{-2}s^{-1}$ afim de minimizar a indução de fluorescência da clorofila cinética. Todas as medições foram realizadas um dia após a colheita.

2.3. Medições da absorbância da clorofila

O índice de absorção da clorofila (DA) em frutas inteiras foi obtido com o espectrofotômetro portátil DA-meter (Sinteleia, Bologna Itália), que se baseia na interactância das medições em 670 e 720 nm (ZIOSI et al., 2008; INFANTE et al., 2011). A medição do índice DA foi realizada utilizando o mesmo conceito de lado com maior e menor recebimento de luz.

2.4 Extração e determinação de clorofilas

Amostras da epiderme, no qual consistiam de discos de 1.5 cm de diâmetro, de cada lado das frutas foram retiradas e armazenadas em ultra-frezer (-81ºC) para a quantificação das clorofilas, segundo metodologia descrita por Porra (2002). As amostras foram maceradas com o auxílio de nitrogênio líquido e nestas, acrescentou-se 3 mL de metanol para a extração, as amostras foram agitadas em agitador de bancada por 30 minutos e depois centrifugadas por 20 minutos em 4000 rpm para a clarificação da

amostra. Do sobrenadante, foi realizada leitura em espectrofotômetro compreendendo os comprimentos de onda de 652,0 e 665,2 nm, sendo o cálculo realizado conforme a equação (Porra 2002).

$$[\text{Chl } a] = 16.29\ E^{665.2} - 8.54E^{652.0}$$

$$[\text{Chl } b] = 30.66\ E^{652.0} - 13.58E^{665.2}$$

$$[\text{Chl } a+b] = 22.12\ E^{652.0} - 2.71E^{665.2}$$

Onde a letra E representa o valor da absorbância.

2.5 Extração e avaliação dos flavonóides

Discos de 1,5cm de diâmetro das epidermes das maçãs 'Fuji' foram removidos com um descascador manual, congelados com nitrogênio liquido e armazenados em Ultra-freezer (-81°C) até o momento das extrações. As amostras congeladas foram maceradas e colocadas em tubos de vidro com 4 mL de MeOH/H_2O/HCl (50:49:1, v/v/v), sob condições de agitação por 30 minutos no escuro à temperatura ambiente. Após 20 minutos de centrifugação a 4.000 rpm, foram feitas leituras do sobrenadante em espectros de absorbância, diluído 1:4 v/v com o mesmo solvente, as leituras foram feitas em comprimento de onda de 200 a 800nm utilizando o espectrofotômetro T80. Os resíduos desta extração foram re-extraidos e analizados utilizando o mesmo procedimento. Os flavonóis foram calculados com base na superfície de epiderme e foram expressos em equivalente de quercetina 3-O-rutinoside (rutina).

2.6. Sólidos solúveis e firmeza de polpa

A firmeza de polpa foi medida manualmente utilizando um penetrômetro digital (modelo 53205, Turoni, Forli/Itália) equipado com ponteira de 11 mm de diâmetro. As medidas foram realizadas nas regiões equatoriais das frutas sem a presença da casca e expressa em kgf. O teor de sólidos solúveis foi obtido através do suco das frutas utilizando um refratômetro digital com compensação automática de temperatura (modelo P-32, Atago Co. Ltda. Tóquio/Japão), e expresso em %.

2.7. Análise estatística

A análise dos dados foi feita através do programa SigmaPlot (Systat Software Inc., London UK). Os valores médios e os desvios-padrão para o teor de clorofila foram relatados na tabela 1 e foram calculados para 10 repetições, enquanto que para todos os

outros parâmetros relatados nas Tabelas 1 e 2, 20 repetições foram utilizadas. A comparação entre os valores médios dos dois grupos foi realizada utilizando o Teste t, sendo a probabilidade de 95% utilizada para indicar diferenças significativas. Regressões lineares e curvas exponenciais foram usadas para adequar as relações entre os índices não destrutivos e os valores das análises destrutivas relatadas nas Figuras 5 e 8, assim como correlação de Pearson com valor de $p<0,05$ foi determinado.

3. Resultados e discussão

Os valores médios dos teores de sólidos solúveis, firmeza de polpa e conteúdo de clorofilas (a+b) medidos por métodos destrutivos nas faces com maior ou menor exposição de luz, são relatados na tabela 1. Diferenças não significativas ($p<0,05$) nos parâmetros foram observadas entre as faces com maior e menor exposição, além do maior valor dos sólidos solúveis para a cultivar Fuji, comparada com as demais cultivares. Estes resultados indicam a ausência de um efeito marcante da exposição do sol sobre o grau de maturação das frutas no momento da colheita.

Tabela 1- Valores médios e desvio padrão (± DV) do conteúdo de sólidos solúveis (SS), firmeza de polpa (FP) e conteúdo de clorofila (Chl) em maçãs obtidos através de métodos destrutivos .

parâmetro/fruto	Fuji		Granny Smith		Golden Delicious	
	sol	sombra	sol	sombra	sol	sombra
SS (°Brix)*	12.1±1.0^{a}	11.5±0.7^{b}	10.8±0.5^{c}	10.6±0.5^{c}	11.2±1.1^{bc}	10.9±0.6^{c}
FP (kgf)*	7.9±1.1^{b}	7.5±0.8^{b}	9.2±1.3^{a}	9.0±1.4^{a}	6.8±1.0^{c}	6.6±0.9^{c}
Chl (μg cm^{-2})**	2.8±0.8^{b}	2.7±0.8^{b}	6.3±0.7^{a}	6.4±1.7^{a}	2.6±1.2^{b}	3.0±0.9^{b}

* Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (5%).* número de amostras, n = 20, ** n = 10.

Considerando os valores médios calculados sobre todas as faces das amostras por cultivar, independentemente da exposição ao sol, 'Granny Smith' apresentou a maior firmeza de polpa (9,2 kgf), 1,2 e 1,3 vezes maior do que a 'Fuji' e a 'Golden Delicious', respectivamente. A concentração de clorofilas das maçãs 'Fuji' não foi significativamente diferente da cv. Golden Delicious, e foi cerca de 2,3 vezes menor do que a 'Granny Smith' (6,4 µg cm^{-2}). O teor de sólidos solúveis foi superior em 'Fuji' (12,1º Brix), em seguido por 'Golden Delicious' (11,2° Brix) e 'Granny Smith' (10,8° Brix).

Os índices não destrutivos de ANTH, FLAV e CHL medidos através da fluorescência com o equipamento Multiplex nos lados das frutas expostas a maior ou menor incidência de luz, são relatados nas Figuras 2,3 e 4 para a cultivar Fuji, Granny Smith e Golden Delicious respectivamente. Na Tabela 2, são demonstrados os valores médios e o desvio padrão dos diferentes índices por face e por cultivar.

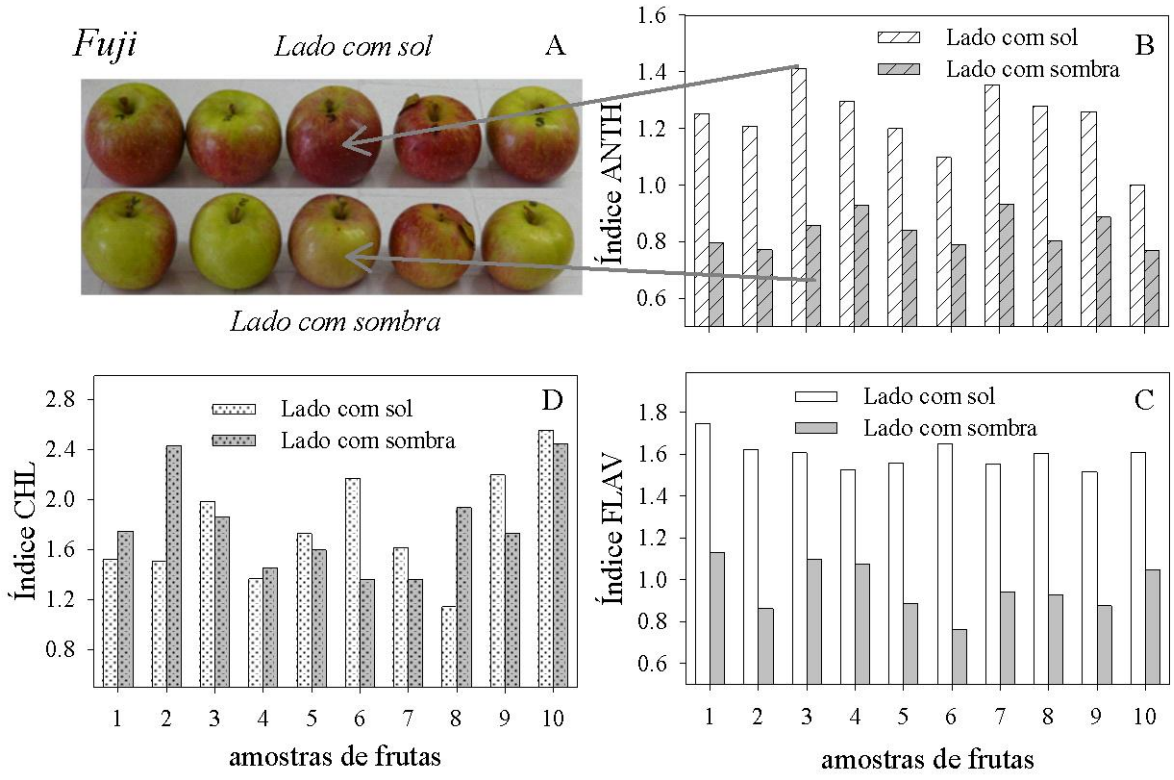


Figura 2 - Cinco amostras (dois lados) de maçãs 'Fuji' mensuradas (A) pelo sensor Multiplex. Índices não destrutivos de antocianinas (B), flavonóis (C) e clorofilas (D) calculados pelo fluorímetro Multiplex correspondentes aos lados de maior e menor exposição ao sol.

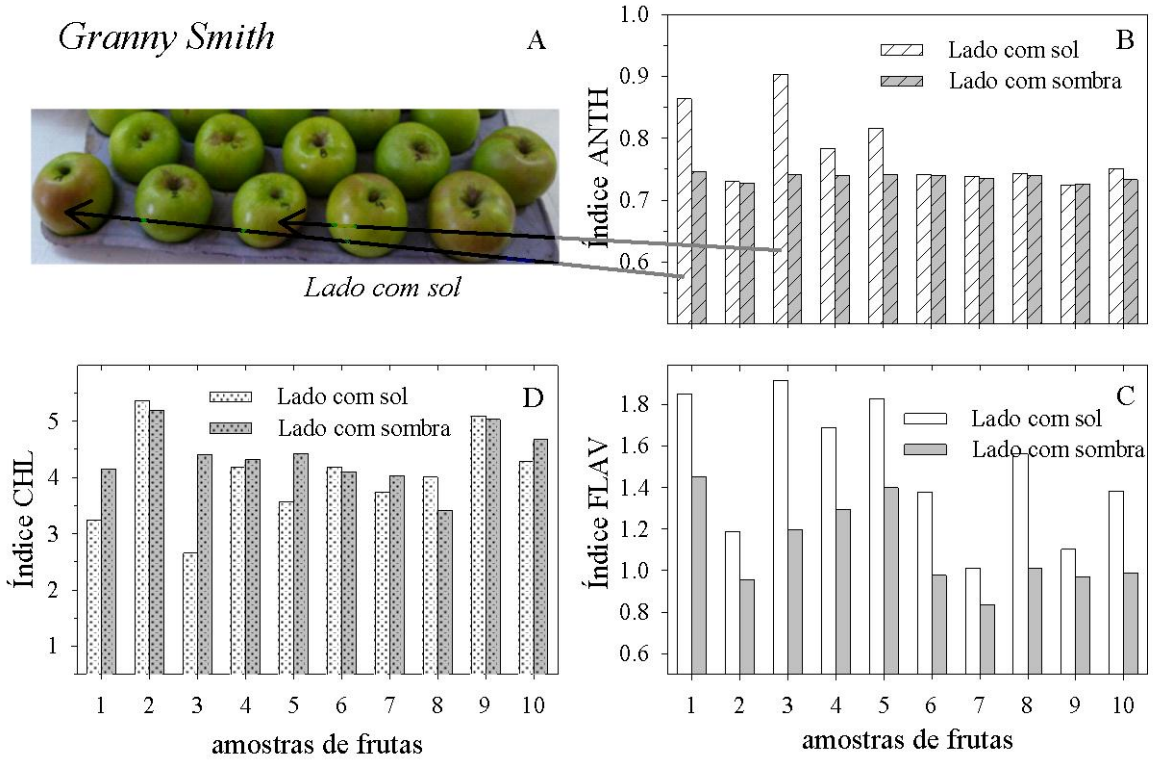


Figura 3 - Amostras de maçãs ‘Granny Smith’ (n=10) mensuradas através do sensor Multiplex (A). Índices não destrutivos de antocianinas (B), flavonóides (C) e clorofilas (D) calculados pelo fluorímetro Multiplex correspondentes aos lados de maior e menor exposição ao sol.

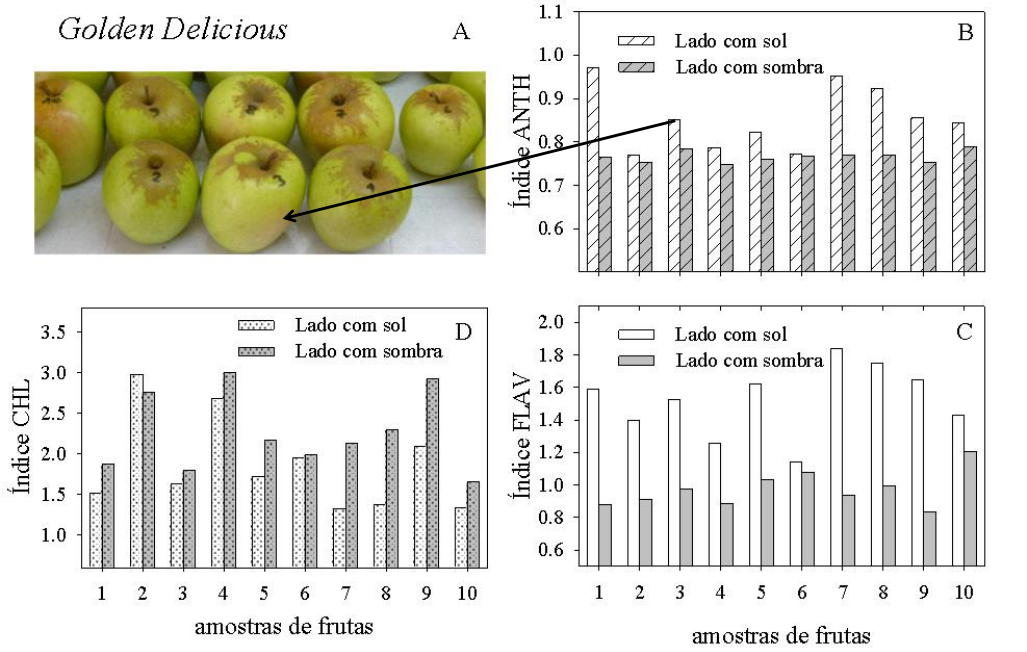


Figura 4 - Amostras de maçãs 'Golden Delicious' mensuradas através do sensor Multiplex sensor (A). Índices não destrutivos de antocianinas (B), flavonóides (C) e clorofilas (D) calculados pelo fluorímetro Multiplex correspondentes aos lados de maior e menor exposição ao sol.

Tabela 2 – Valores médios e desvio padrão (±DV, n = 20) dos índices não destrutivos ob equipamento Multiplex em maçãs.

Índice/fruto	Fuji		Granny Smith		Golden Delicious	
	sol	sombra	sol	sombra	sol	sombra
ANTH	1.17±0.12^{a}	0.83±0.05^{b}	0.77±0.06^{c}	0.73±0.01^{d}	0.84±0.07^{b}	0.77±0.01^{c}
FLAV	1.58±0.13^{a}	1.01±0.16^{c}	1.47±0.32^{a}	1.12±0.16^{b}	1.50±0.20^{a}	0.98±0.10^{d}
CHL	1.92±0.45^{cd}	1.92±0.43^{cd}	4.15±0.74^{b}	4.58±0.55^{a}	1.77±0.41^{d}	2.20±0.45^{c}

* Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (5%).* número de amostras

3.1 Antocianinas

Para a cultivar Fuji os mais altos valores de antocianinas acumuláveis, foram observados nas faces expostas ao sol comparado à face menos exposta, apresentando assim os maiores índices de ANTH (Figura 2B). Este resultado era previsível observando a coloração no qual os frutos apresentavam (Figura 2A). Além disto, este resultado poderia ser esperado em função do rastreamento previamente observado nos espectros

de antocianinas provenientes da excitação da fluorescência da clorofila das frutas de maçãs (MERZLYAK et al., 2008). Com uma concentração crescente de antocianinas, a excitação da luz verde foi atenuada muito mais do que a excitação do vermelho. Portanto, de acordo com a sua definição (Equação 1), o índice de ANTH aumentou proporcionalmente com o conteúdo de antocianinas. Por outro lado, a localização das antocianinas é nas células da hipoderme da epiderme das maçãs (BAE et al., 2006; LANCASTER et al., 1994) e quando a radiação emitida no comprimento de onda respectivo a região do verde atinge as moléculas mais internas hipodérmicas, as antocianinas funcionam como um filtro, e esta característica anatômica torna possível quantificar as antocianinas presentes na epiderme dos frutos por meio de medições da fluorescência da clorofila.

Exposições à luz induzem a uma coordenada transcrição de genes necessários para a síntese de flavonóides e antocianinas (TAKOS et al., 2006b). A acumulação fotoelétrica de antocianinas em epiderme de maçã é um processo amplamente documentado (SIEGELMAN; HENDRICKS, 1958; SÁURE, 1990; AWAD et al., 2000; 2001; MERZLYAK et al., 2002) e, neste trabalho foi empregada a fim de testar o potencial do sensor de Multiplex para detecção não destrutiva de antocianinas.

Poucas amostras de frutos de maçãs das cultivares Granny Smith (Figura 3C) e Golden Delicious apresentaram pequeno acúmulo de antocianinas no lado que maior incidência de luz solar (Figuras 3A e 4A, respectivamente). Para essas amostras, o indice de ANTH foi ligeiramente superior em comparação com os outros (Figuras 3B e 4B), mas tinha valores que eram significativamente inferiores alcançados na cultivar Fuji (Figura 2B, Tabela 2).

3.2. Flavonóides

Foram encontrados valores significativamente superiores para os índices de FLAV determinados pelo Multiplex nas faces mais expostas a luz solar comparado com as faces menos expostas, em maças da cv. Fuji (Figura 2C). A mesma observação foi feita para as cultivares Granny Smith (Figura 3C) e Golden Delicious (Figura 4C). Estes resultados concordam com trabalhos relatados anteriormente (AWAD et al., 2000; MERZLYAK et al.,2002; MERZLYAK et al., 2005). Portanto, os valores de FLAV, podem ser propostos com adequados indicadores quantitativos do efeito da exposição de maçãs ao sol, comparado com a coloração da casca que é apenas subjetivo.

O maior acúmulo de flavonóides nas faces mais expostas à luz solar, em comparação com as faces sem exposição pode ser explicado pelos múltiplos papeis desempenhados por estes compostos na fotoproteção, como o sugerido para as folhas (AGATI; TATTINI, 2010), os flavonóides protegem os tecidos internos, não apenas pela seleção de uma parte da radiação UV solar, mas também funcionam como compostos antioxidantes induzido por este estresse oxidativo. Em maçãs a quercetina-3-glicosídeos, que possui fortes propriedades antioxidantes, representa a classe de compostos que aumenta acentuadamente em resposta à irradiação, enquanto as catequinas e os ácidos fenólicos não apresentam uma correlação distinta para as condições de radiação solar (AWAD et al.,2000; 2001), juntamente com a ausência de flavonas e flavonóis monohidroxidos, que são eficientes na seleção da radiação UV, mas pobres na catálise de espécies reativas de oxigênio. Esta evidencia apóia o importante papel antioxidante dos flavonóides em resposta aos excessos de radiação solar.

Os índices médios de FLAV para os lados expostos ao sol, não se observou diferença significativa entre as cultivares, deste modo o conteúdo relativo de flavonóides nas amostras foi semelhante. Nos lados não expostos ao sol, os valores indicados para o índice de FLAV demonstram um maior acúmulo de flavonóides para Granny Smith, seguido pelas cultivares Fuji e Golden Delicious (Tabela 2).

Conteúdo similar de flavonóides foram encontrados entre as cultivares, considerando os valores médios de flavonóides por fruta, ou seja, a média das duas faces. Outros estudos de polifenólicos realizados por meio de análises de HPLC em extratos de cascas de maçãs relataram diferentes conteúdos de flavonóis totais nas cultivares Fuji, Golden Delicious e Granny Smith (LATA et al., 2009; VRHOVSEK et al., 2004).

No entanto, comparações sobre o conteúdo de compostos fenólicos em maçãs nos diferentes estudos é difícil devido a alta variabilidade induzida pelas condições ambientais, diferentes locais, períodos de crescimento das frutas assim como as diversidades genéticas.

Lata et al. (2009) determinaram que em Granny Smith o acúmulo na casca é em maior quantidade de compostos como a rutina, seguido por Fuji e Golden Delicious com valores semelhantes. Em Vrhovsek et al. (2004), o flavonóis totais apresentaram valores mais elevados em ‘Golden Delicious’ comparado com ‘Granny Smith’ e ‘Fuji’, enquanto que Takos et al. (2006b) os teores de flavonóis foram equivalentes em ‘Granny Smith’ e

‘Golden Delicious’. Devido a esta grande variabilidade, um índice de flavonóis de forma rápida e não destrutiva seria uma ferramenta particularmente útil para a realização destas análises aliado ao fato destes métodos ópticos serem particularmente adequados na mensuração destes índices de flavonóis nas cascas de maçãs, uma vez que estes compostos se localizam na casca destes frutos (AWAD et al., 2000; TSAO et al.,2003; LATA et al.,2009).

A Figura 5 mostra a relação existente entre o índice de FLAV e a concentração de flavonóis determinada de forma destrutiva. Uma regressão linear positiva (R^2 =0,85) foi encontrada, confirmando assim a precisão do sensor Multiplex (Mx) na determinação do conteúdo de flavonóis nas superfícies de maçãs. Um método óptico não destrutivo para estimar flavonóis em maçãs com base em espectros de reflectância, foi sugerido por Merzlyak et al. (2005). No entanto estas abordagens não conseguiram encontrar uma correlação entre o índice de refletância e a concentração entre o índice de reflectância e os flavonóis em maçãs da cultivar Aroma (HAGEN et al., 2006).

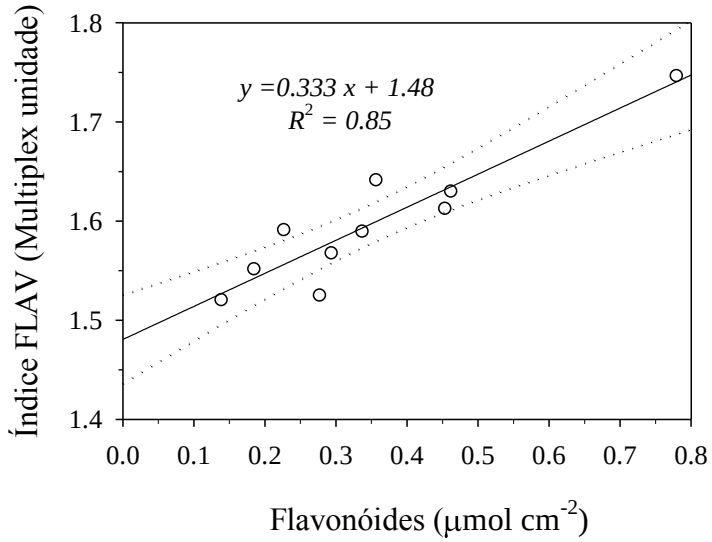


Figura 5 - Relação entre o índice de flavonóides obtido pelo Multiplex (FLAV), e a concentração de flavonóides mensurados de forma não destrutiva nos extratos da epiderme de maçãs ‘Fuji’. Linhas sólidas indicam o ajuste linear (y=0.333x+1.48, R^2=0.85) e linhas pontilhadas indicam os limites de confiança de 95%.

O uso da espectroscopia de reflectância no UV, na epiderme de maçãs, é considerado um trabalho complicado por certos autores pelo baixo nível dos sinais, fruto da contribuição que muitos compostos produzem ao absorver e dispersar energia

(SOLOVCHENKO; SCHMITZ-EIBERGER, 2003). Portanto, a técnica da fluorescência da clorofila aqui proposta poderia ser vantajosa em relação a espectroscopia de reflectância para avaliar o conteúdo de flavonóides. Hagen et al. (2006) demonstraram que os flavonóides localizados na epiderme e nas células das cascas de maçãs podem, parcialmente atenuar a radiação do UV antes de chegar ao cloroplasto nas células do parênquima, tornando assim a técnica de fluorescência da clorofila adequada para a quantificação de flavonóides na epiderme.

3.2. Clorofilas

A relação entre os índices não destrutivos de clorofila (CHL) e os valores correspondentes de concentração determinados nos extratos das epidermes de maçãs de forma destrutiva, é relatada na Figura 6. Uma regressão linear, com coeficiente de determinação de 0,872 foi encontrado sugerindo que o sensor Multiplex pode ser usado como uma ferramenta para a determinar o conteúdo de clorofilas.

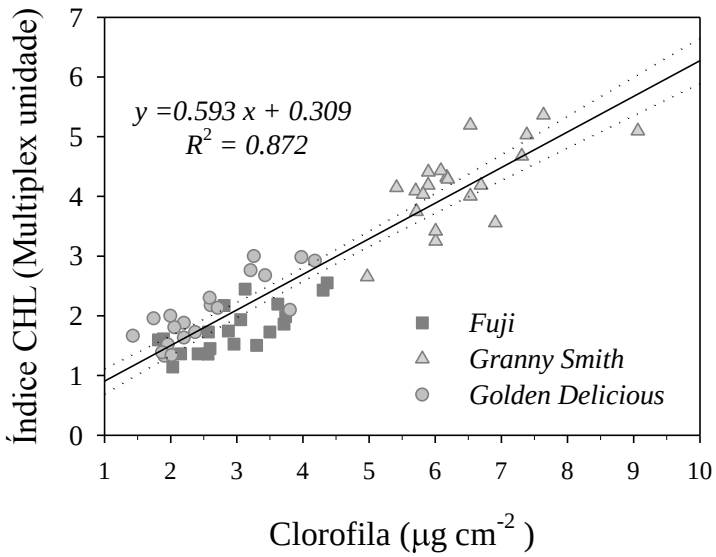


Figura 6 - Relação entre a clorofila mensurada pelo Multiplex (CHL), e a concentração de clorofilas (*a*+*b*) mensuradas de forma destrutiva em extratos da epiderme de maçãs. Linhas sólidas indicam o ajuste linear (y = 0.593 x + 0.309, R^2=0.872), e linhas pontilhadas indicam o limite de confiança a 95%.

Dado que o espectro de absorção da clorofila é parcialmente sobreposto sobre o espectro da fluorescência no comprimento de onda do vermelho, o sinal da fluorescência no vermelho (FR) emitido a 680nm atinge as camadas internas da epiderme e sofre

parcial re-absorção pela clorofila antes de chegar ao detector (RAMOS; LAGORIO, 2006). A extensão de re-absorção, ou seja, a diminuição deste sinal está diretamente relacionada com a concentração deste pigmento. O sinal de fluorescência no infravermelho (FRF), ao contrário, não é afetado pela re-absorção. Consequentemente, o índice CHL (FRF/FR) aumenta com o aumento da concentração de clorofilas. Na literatura, pode-se encontrar a relação inversa expressa em RF/FRF sendo frequentemente usada para demonstrar uma relação inversa com o conteúdo de clorofila (BUSCHMANN, 2007).

Para as maças da cv. Fuji, o índice de CHL sugeriu uma distribuição uniforme no conteúdo de clorofila entre a face ensolarada e sombreada, como pode ser observado na Figura 2D e os valores médios na Tabela 2. Pelo contrário, uma tendência a valores mais elevados de CHL nas faces sombreadas, em comparação a face exposta ao sol foi observada nas frutas das cultivares Granny Smith e Golden Delicious (Figuras 3D e 4D). Os valores médios de CHL para as faces das frutas nos lados sem exposição a luz solar de 'Granny Smith' e 'Golden Delicious' foram significativamente superiores àqueles determinados para as faces expostas ao sol (Tabela 2).

A comparação de dados com outros estudos é difícil por causa da alta variabilidade das condições ambientais e manejo dos pomares, é importante salientar que para a cv. Golden Delicious foi previamente observado em trabalho de Kuckemberg et al. (2008) que a face exposta a luz apresentava um teor que variava de 15-40% mais baixo de clorofilas comparado com a face sombreada, enquanto que a relação entre a fluorescência F690/F730 nm, foi maior nas faces expostas ao sol, em comparação com os lados sombreados, estando estes de acordo com nosso estudo. Maiores teores de clorofilas em faces protegidas da radiação solar ou desenvolvidas na sombra, foram determinadas em epidermes de 'Granny Smith' (MERZLYAK et al., 2002; SOLOVCHENKO; SCHMITZ-EIBERGER, 2003).

Este efeito é devido a uma aceleração nas mudanças associadas aos processos de amadurecimento, como a desagregação das clorofilas e a síntese dos carotenóides, que ocorrem quando os frutos são submetidos a exposição à luz solar (SOLOVCHENKO et al., 2008). A fotodegradação das clorofilas atenua-se pela síntese das antocianinas, principalmente nas cultivares de maçãs com grande recobrimento de vermelho e nestes casos, a diferença no conteúdo de clorofilas entre os lados ensolarado e com sombra deixa de existir, como para a cultivar Fuji em nosso estudo, ou pode ser invertido como

observado em maçãs ‘Jonagold’ (KUCKENBERG et al., 2008) ou ‘Braeburn’ (SOLOVCHENKO; SCHMITZ-EIBERGER, 2003). Em maçã ‘Zhigulevskoe’ que acumulam grandes quantidades de antocianinas, o conteúdo de clorofila em faces expostas e não expostas à radiação solar, foram encontrados valores similares de clorofilas nos frutos. Em contraste, conteúdo de clorofila consideravelmente menor foi estimado em lados não expostos a radiação solar, em comparação a lados sombreados em maçãs ‘Antonoika’, que apresentam baixo potencial de formação de antocianinas (MERZLYAK; CHIVKUNOVA, 2000).

Considerando os valores médios calculados sobre as faces das amostras por cultivar, independente da exposição ao sol, o índice CHL das maçãs Fuji não foi significativamente diferente do conteúdo presente na cultivar Golden Delicious e cerca de 2,2 vezes maior do que na ‘Granny Smith’ (4,3 ± 0,7). Na comparação entre as cultivares, o índice não destrutivo de CHL estava de acordo com os resultados das concentrações de clorofilas observados nas análises destrutivas (Tabela 1).

A relação entre o índice não destrutivo de absorbância (índice DA) e o conteúdo de clorofilas nas cascas das maçãs, é mostrado na figura 7, considerando as três cultivares juntas. A melhor curva de ajuste foi a exponencial (R^2 = 0,615) com uma dispersão significativa para os baixos teores de clorofila determinados.

Foi observado que o índice DA foi dependente da cultivar, já que para concentrações similares de clorofila, os valores do índice DA para a cv. Fuji foram tendencialmente inferiores aos de Golden Delicious. Além disto, um efeito de saturação do índice DA foi observado para o conteúdo de clorofila acima de 6 µg/cm^2 . A análise dos dados que consideraram as cultivares em separado não apresentaram boas correlações (dados não demonstrados), provavelmente por causa do número limitado de amostras por cultivar. Embora mais investigações serão necessárias para ter uma comparação adequada dos diferentes índices de clorofilas ópticos, os dados indicam desempenho superior por parte do índice Mx (Multiplex), em comparação com o índice DA.

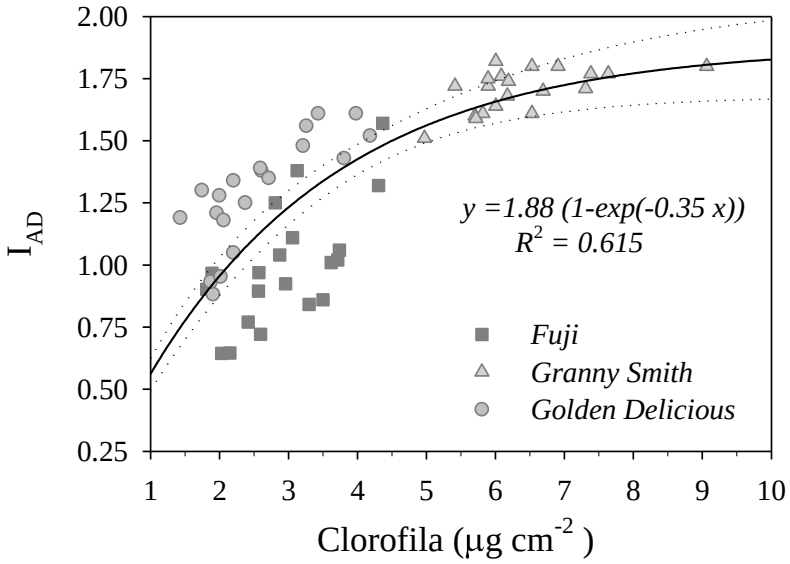


Figura 7 - Relação entre o índice de absorbância obtido pelo DA-meter, IAD, e a concentração de clorofilas (*a+b*) presentes nas epidermes das frutas obtidas de forma destrutiva. Linhas sólidas indicam ajuste exponencial (y = 1.88 (1-exp(-0.35 x), R^2 =0.615), e linhas pontilhadas indicam os limites de confiança a 95%.

3.3 Parâmetros de qualidade interna dos frutos

A relação existente entre os sinais de fluorescência da CHL medida pelo sensor Multiplex e os parâmetros de qualidade interna das frutas foi avaliada por uma análise de correlação de Pearson. Uma vez que não houve diferença significativa na firmeza de polpa (FP) e no teor de sólidos solúveis (SS) entre as faces ensolaradas e sombreadas das maçãs, os valores dos diferentes parâmetros foram tomados para cada fruta utilizando a média de ambos os lados. Os resultados da análise de correlação entre FF ou SS e os índices de CHL (Mx) ou utilizando somente os sinais de fluorescência no $FRF_{vermelho}$ e $FR_{vermelho}$ são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Correlação de Person entre a firmeza de polpa (FP), o conteúdo de sólidos solúveis (SS) e os sinais da fluorescência ($RF_{vermelho}$, $FIR_{vermelho}$ e CHL= FRFred/RFred), n=60, em maçãs.

Parâmetro	Firmeza de polpa	Sólidos solúveis
CHL = FRFred/RFred	0,674	- 0,699
RFred	- 0,623	0,597

FRFred	0,582	-0,770

* A análise de correlação foi realizada sobre os parâmetros médios de cada fruta em ambos os lados, considerando todas as três cultivares. As correlações foram significativas para p<0,01.

Moderadas correlações foram encontradas (-0,7<r<0,7) entre FP e cada um dos sinais de fluorescência. Este resultado é semelhante ao observado por Kuckemberg et al. (2008), mesmo possuindo um modelo experimental diferente, monitorando a vida útil em duas cultivares separadas, enquanto que neste trabalho foram observadas as qualidades internas de diferentes cultivares no momento da colheita. Boas correlações negativas foram encontradas entre sólidos solúvies e $FRF_{Vermelho}$ (R= - 0,77) e entre sólidos solúveis e CHL (R=- 0,7). Na Figura 8, o gráfico de dispersão dos $FRF_{Vermelho}$ em função dos valores correspondentes a SS por fruto é relatado. Os dados foram ajustados usando uma função exponencial (R^2= 0,676), e a observação sobre a relação entre a fluorescência da clorofila e o conteúdo de açúcar total no fruto foi semelhante ao relatado anteriormente para uvas brancas (Vitis vinifera L. Cv. Bacchus e Cv. Silvaner), em diferentes sinais de fluorescência da clorofila (KOLBET et al., 2006).

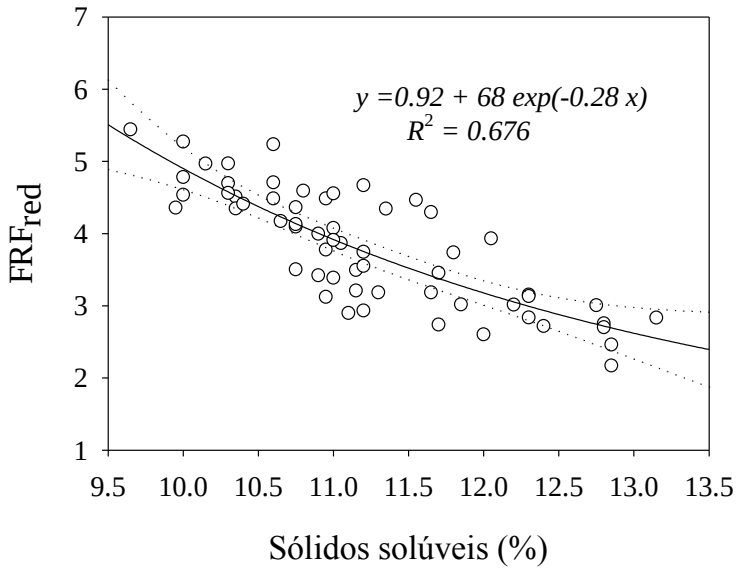


Figura 8. Relação entre a fluorescência da clorofila na banda de espectro do vermelho distante, FRF_{red}, e os sólidos solúvies medidos em sucos de maçãs. Linhas sólidas indicam ajuste exponencial (y = 0.92 + 68 exp(-0.28 x), R^2 =0.676), e linhas pontilhadas indicam limites de confiança de 95%.

4. Considerações Finais

Os resultados indicam que a fluorescência da clorofila pode ser uma técnica promissora para a avaliação não destrutiva de compostos como flavonóides, antocianinas e clorofilas em maçãs. Informações sobre esses compostos podem ser colocados juntos de modo a acompanhar o processo de amadurecimento das frutas e controlar as características de qualidade antioxidante em maçãs. O índice CHL(Mx) baseado na fluorescência da clorofila apresenta-se como mais confiável na previsão de conteúdos de clorofila em maçãs comparado aos índices baseados em medições de interactância.

As antocianinas são os pigmentos responsáveis pela coloração vermelha da casca de algumas cultivares de maçã, que é um dos principais aspectos que influenciam o mercado desta espécie. Determinação de antocianinas utilizando o sensor Multiplex pode, portanto, representar uma medida correta da coloração, que é uma alternativa para a comparação subjetiva e visual normalmente feita com o uso de cartas ou colorímetros. Em cascas de maçãs, os métodos colorimétricos são complexos, devido ao envolvimento de três classes de pigmentos: clorofilas, antocianinas e carotenóides.

Além da relação direta entre os índices do Multiplex e os compostos presente nas epidermes de maçãs, informações indiretas sobre alguns parâmetro de qualidade interna como o teor de açúcares podem ser obtidos.

Agradecimentos

Este trabalho de pesquisa foi apoiada pela Universidade de Pisa “Azioni di sostegno alla cooperazione accademica internazionale”.

5. Referências

Agati, G., Meyer, S., Matteini, P., & Cerovic, Z. G. (2007). Assessment of anthocyanins in grape (*Vitis vinifera* L.) berries using a non-invasive chlorophyll fluorescence method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 55*, 1053-1061.

Agati, G., & Tattini, M. (2010). Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. **New Phytologist***, 186*, 786-793.

Agati, G., Traversi, M. L., & Cerovic, Z. G. (2008). Chlorophyll fluorescence imaging for the non-invasive assessment of anthocyanins in whole grape (*Vitis viníferas* L.) bunches. **Photochemistry and Photobi*ology****, 84*, 1431-1434.

Ariana, D.; Guyer, D. E.; Shrestha, B. Integrating multispectral reflectance and fluorescence imaging for defect detection on apples. **Computers and Electronics in Agriculture***, 50*, 148-161. 2006. doi:10.1016/j.compag.2005.10.002

Awad, M. A.; De Jager, A.; Westing, L. M. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. **Scientia Horticulturae**, 83, 249-263. 2000.

Awad, M. A.; Wagenmakers, P. De Jager, A. Effects of light on flavonoid and chlorogenic acid levels in the skin of 'Jonagold' apples. **Scientia Horticulturae**, 88, 289-298. 2001.

Bae, R. N., Kim, K. W., Kim, T. C., & Lee, S. K. (2006). Anatomical observations of anthocyanin rich cells in apple skins. **Hortscience**, 41, 733-736.

Ben-Yehudah, G., Korchinsky, R., Redel, G., Ovadya, R., Oren-Shamir, M., & Cohen, Y. (2005). Colour accumulation patterns and the anthocyanin biosynthetic pathway in 'Red Delicious' apple variants. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, 80, 187-192.

Ben Ghozlen, N., Cerovic, Z. G., Germain, C., Toutain, S., & Latouche, G. (2010). Non-destructive optical monitoring of grape maturation by proximal sensing. **Sensors**, 10, 10040-10068.

Bilger, W., Veit, M., Schreiber, L., & Schreiber, U. (1997). Measurement of leaf epidermal transmittance of UV radiation by chlorophyll fluorescence. **Physiologia Plantarum**, 101, 754-763.

Boyer, J., & Liu, R. H. Apple phytochemicals and their health benefits - Review. **Nutrition Journal**, v. 3, n. 5. P.1-15. (2004).

Buschmann, C. (2007). Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves. **Photosynthesis Research**, 92, 261-271. doi:10.1007/s11120-007-9187-8

Cerovic, Z. G., Ounis, A., Cartelat, A., Latouche, G., Goulas, Y., Meyer, S. et al. (2002). The use of chlorophyll fluorescence excitation spectra for the non destructive in situ assessment of UV-absorbing compounds in leaves. **Plant, Cell and Environment,** 25, 1663-1676.

DeEll, J. R., van Kooten, O., Prange, R. K., & Murr, D. P. (1999). Applications of chlorophyll fluorescence techniques in postharvest physiology. **Horticultural Reviews**, 23, 69-107.

DeLong, J. M., Prange, R. K., Leyte, J. C., & Harrison, P. A. (2004). A new technology that determines low-oxygen thresholds in controlled-atmosphere-stored apples. **HortTechnology,** 14, 262-266.

Eberhardt, M. V., Lee, C. Y., & Liu, R. H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, 405, 903-904.

Gould, K., Davies, K., & Winefield, C. (Eds) (2008). **Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, and Applications**. New York: Springer.

Greer, D. H. (2005). Non-destructive chlorophyll fluorescence and colour measurements of 'Braeburn' and 'Royal Gala' apple (Malus domestica) fruit development throughout the growing season. New Zealand. **Journal of Crop and Horticultural Science**, 33, 413-421.

Hagen, S. F., Solhaug, K. A., Bengtsson, G. B., Borge, G. I. A., & Bilger, W. (2006). Chlorophyll fluorescence as a tool for non-destructive estimation of anthocyanins and total flavonoids in apples. **Postharvest Biology and Technology**, 41, 156-163.

Infante, R., Contador, L., Rubio, R., Mesa, K., & Meneses, C. (2011). Non-destructive monitoring of flesh softening in the black-skinned Japanese plums „Angeleno" and „Autumn beaut" on-tree and postharvest. **Postharvest Biology and Technology**, 61, 35-40.

Kolb, C. A., Wirth, E., Kaiser, W. M., Meister, A., Riederer, M., & Pfündel, E. E. (2006). Noninvasive evaluation of the degree of ripeness in grape berries (Vitisvinifera L. cv. Bacchus and Silvaner) by chlorophyll fluorescence. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, 299-305.

Kuckenberg, J., Tartachnyk, I., & Noga, G. (2008). Evaluation of fluorescence and remission techniques for monitoring changes in peel chlorophyll and internal fruit characteristics in sunlit and shaded sides of apple fruit during shelf-life. **Postharvest Biology and Technology**, 48, 231-241.

Lancaster, J. E., Grant, J. E., Lister, C. E., & Taylor, M. C. (1994). Skin color in apples - Influence of copigmentation and plastid pigments on shade and darkness of red color in five genotypes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 119, 63-69.

Lancaster, J. E., Lister, C. E., Reay, P. F., & Triggs, C. M. (1997). Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruit and vegetables. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 122, 594-598.

Lata, B., Trampczynska, A., & Paczesna, J. (2009). Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. **Scientia Horticulturae**, 121, 176-181. doi:10.1016/j.scienta.2009.01.038

Lu, R. F. (2004). Multispectral imaging for predicting firmness and soluble solids content of apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, 31, 147-157. doi:10.1016/j.postharvbio.2003.08.006

Merzlyak, M. N., & Chivkunova, O. B. (2000). Light-stress-induced pigment changes and evidence for anthocyanin photoprotection in apples. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 55, 155–163.

Merzlyak, M. N., Gitelson, A. A., Chivkunova, O. B., & Rakitin, V. Y. (1999). Non destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, 106, 135-141.

Merzlyak, M. N., Solovchenko, A. E., & Chivkunova, O. B. (2002). Patterns of pigment changes in apple fruits during adaptation to high sunlight and sunscald development. **Plant Physiology and Biochemistry**, 40, 679-684.

Merzlyak, M. N., Solovchenko, A. E., & Gitelson, A. A. (2003). Reflectance spectral features and non-destructive estimation of chlorophyll, carotenoid and anthocyanin content in apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, 27, 197-211.

Merzlyak, M. N., Solovchenko, A. E., Smagin, A. I., & Gitelson, A. A. (2005). Apple flavonols during fruit adaptation to solar radiation: spectral features and technique for non-destructive assessment. **Journal of Plant Physiology**, 162, 151-160. doi:10.1016/j.jplph.2004.07.002

Merzlyak, M. N., M elo, T. B., & Naqvi, K. R. (2008). Effect of anthocyanins, carotenoids, and flavonols on chlorophyll fluorescence excitation spectra in apple fruit: signature analysis, assessment, modelling, and relevance to photoprotection. **Journal of Experimental Botany**, 59, 349-359. doi:10.1093/jxb/erm316

Mir, N., Wendorf, M., Perez, R., & Beaudry, R. M. (1998). Chlorophyll fluorescence in relation to superficial scald development in apple. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 123, 887-892.

Nicolai, B. M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K. I. et al. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. **Postharvest Biology and Technology,** 46, 99-118. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.06.024

Porra, R. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b- Minireview. **Photosynthesis Research**, 73, 149-156.

Prange, R. K., DeLong, J. M., Harrison, P. A., Leyte, J. C., & McLean, S. D. (2003). Oxygen concentration affects chlorophyll fluorescence in chlorophyll-containing fruit and vegetables. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 128, 603-607.

Qing, Z. S., Ji, B. P., & Zude, M. (2008). Non-destructive analyses of apple quality parameters by means of laser-induced light backscattering imaging. **Postharvest Biology and Technology**, 48, 215-222. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.10.004

Ramos, M. E., & Lagorio, M. G. (2006). A model considering light reabsorption processes to correct in vivo chlorophyll fluorescence spectra in apples. **Photochemical & Photobiological Sciences**, 5, 508-512. doi:10.1039/b514248b

Robles-Sardin, A. E., Bolaños-Villar, A. V., González-Aguilar, G. A., & de la Rosa, L. A. (2010). Flavonoids and their relation to human health. In L. A. de la Rosa, E. Alvarez-Parrilla, & G. A. González-Aguilar (Eds), Fruit and Vegetable **Phytochemicals** (pp 155-175). Singapore: Wiley-Blackwell.

Saure, M. C. (1990). External control of anthocyanin formation in apple **Scientia Horticulturae**, 42, 181-218.

Siegelman, H. W., & Hendricks, S. B. (1958). Photocontrol of anthocyanin synthesis in apple skin. **Plant Physiology**, 33, 185-190.

Solovchenko, A. E., Avertcheva, O. V., & Merzlyak, M. N. (2006). Elevated sunlight promotes ripening-associated pigment changes in apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, 40, 183-189. doi:10.1016/j.postharvbio.2006.01.013

Solovchenko, A. E.; Chivkunova, O. B.; Merzlyak, M. N.; Reshetnikova, I. V. A spectrophotometric analysis of pigments in apples. Russian **Journal of Plant Physiology**, 48, 693-700. 2001.

Solovchenko, A. E., & Schmitz-Eiberger, M. (2003). Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. **Journal of Experimental Botany**, 54, 1977- 1984. doi:10.1093/jxb/erg199

Song, J., Deng, W. M., Beaudry, R. M., & Armstrong, P. R. Changes in chlorophyll fluorescence of apple fruit during maturation, ripening, and senescence. **Hortscience**, v. 32, p. 891-896,1997.

Takos, A. M.; Jaffe, F. W.; Jacob, S. R.; Bogs, J.; Robinson, S. P.; Walker, A. R. Light-induced expression of a MYB gene regulates anthocyanin biosynthesis in red apples. **Plant Physiology**, 142, 1216-1232. 2006a. doi:10.1104/pp.106.088104

Takos, A. M., Robinson, S. P., & Walker, A. R.. Transcriptional regulation of the flavonoid pathway in the skin of dark-grown 'Cripps' Red' apples in response to sunlight. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, 81, 735-744, 2006b.

Treutter, D. Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. **Plant Growth Regulation**, v.34, p. 71-89. 2001.

Treutter, D. Significance of flavonoids in plant resistance: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 4, p. 147-157. 2006. doi:10.1007/s10311-006-0068-8

Tsao, R., Yang, R., Christopher, J., Zhu, Y., & Zhu, H. H. (2003). Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 6347-6353. doi:10.1021/jf0346298

Tuccio, L.; Remorini, D.; Pinelli, P.; Fierini, E.; Tonutti, P.; Scalabrelli, G. A rapid and non destructive method to assess in the vineyard grape berry anthocyanins under different seasonal and water conditions. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, 17, 181-189. 2011.

Vrhovsek, U.; Rigo, A.; Tonon, D.; Mattivi, F. Quantitation of polyphenols in different apple varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 6532-6538. 2004. doi:10.1021/jf049317z

Xing, J.; Van Linden, V.; Vanzeebroeck, M.; De Baerdemaeker, J. Bruise detection on Jonagold apples by visible and near-infrared spectroscopy. **Food Control**, v. 16, p. 357-361. (2005)doi:10.1016/j.foodcont.2004.03.016

Ziosi, V.; Noferini, M.; Fiori, G.; Tadiello, A.; Trainotti, L.; Casadoro, G. A new index based on vis spectroscopy to characterize the progression of ripening in peach fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, p. 319-329. 2008. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.01.017

Zude-Sasse, M.; Truppel, I.; Herold, B. An approach to non-destructive apple fruit chlorophyll determination. **Postharvest Biology and Technology**, 25, 123-133, 2002.

Zude, M. Comparison of indices and multivariate models to non-destructively predict the fruit chlorophyll by means of visible spectrometry in apple fruit. **Analytica Chimica Acta**, v. 481, p. 119-126. 2003.doi:10.1016/s0003-2670(03)00070-9

Artigo 4

DETERMINAÇÃO DA MATURAÇÃO DE PÊSSEGOS ATRAVÉS DE ÍNDICE NÃO DESTRUTIVO BASEADO NA ESPECTROSCOPIA VIS/NIR

Débora Leitzke Betemps, José Carlos Fachinello

Resumo- Em pêssegos o potencial de vida na prateleira e a qualidade de consumo estão estritamente relacionados com o estádio de maturação destas frutas na colheita. Normalmente a colheita é baseada na cor, na firmeza, teores de açúcares e ácidos que as frutas apresentam, entretanto estas determinações são realizadas através de métodos destrutivos e em um número limitado de amostras. A técnica da espectroscopia do Vis/NIR foi utilizada para o desenvolvimento de um índice, não destrutivo, baseado na diferença de absorbância (DA) entre dois comprimentos de ondas próximos ao pico de absorção da clorofila-*a*, e permite o monitoramento das alterações dos processos de maturação diretamente no campo. Neste trabalho objetivou-se acompanhar as mudanças na qualidade que ocorrem ao longo da maturação de pêssegos das cultivares Eldorado e Jubileu e sua relação com os índices não destrutivos obtidos com o equipamento DA-Meter®. O experimento foi conduzido no pomar didático do Centro Agropecuário da Palma/FAEM- UFPel, e as frutas foram monitoradas quanto a evolução do índice DA semanalmente nos meses de outubro a Dezembro diretamente no campo, na safra agrícola 2010/2011. O índice DA apresentou comportamento semelhante entre as cultivares durante a fase de crescimento das frutas, porém na maturação os valores para a cultivar Jubileu diminuíram de forma importante quando comparados com a cultivar Eldorado. O índice DA apresenta correlações lineares significativas com os parâmetros de qualidade ao longo do período de colheita de pêssegos, sendo um índice promissor para avaliação da evolução da maturação e da qualidade de pêssegos diretamente no campo.

Palavras chaves- pêssego, clorofila, ponto de colheita, infravermelho.

Determination of the ripening of peaches through index-based spectroscopy nondestructive Vis / Nir

Abstract- In peaches the potential shelf life and quality of consumption are closely related to the maturation stage of these fruits at harvest. Usually the crop is based on color, firmness, sugar content and fruit acids that show, although these determinations are carried out through destructive methods and a limited number of samples. The technique of spectroscopy Vis/NIR was used for the development of an index, not destructive, based on the difference absorbance (DA) between two wavelengths near the absorption peak of chlorophyll-a, and allows monitoring of changes in maturation processes directly in the field. The objective was to track changes in quality that occur along the peach ripening cultivars Jubileu and Eldorado and its relationship with the non-destructive indices obtained with DA-Meter. The experiment was conducted in the orchard of the Agricultural Center Teaching Palma/FAEM- UFPel, and fruits were monitored for the evolution of the IDA weekly from October to December in the field directly in the 2010/2011 harvest. The index DA showed similar behavior among cultivars during the growth phase in the maturation of fruits but the values for the cultivar Jubileu decreased significantly compared with the cultivar Eldorado. The index DA presents significant linear correlation with the quality parameters throughout the period of harvest of peaches, being a promising index to assess the evolution of aging and quality of fruit directly in the field.

Key words- peach, chlorophyll, harvest point, infrared.

Introdução

Considerando que a qualidade das frutas no momento de consumo é correlacionada com o estádio de maturação as quais possuem no momento da colheita, é extremamente importante determinar com precisão o momento correto de realização desta prática (NOFERINI et al., 2009). Em frutas de caroço como os pêssegos, o índice de colheita mais adequado para ser utilizado no campo é a coloração de fundo da epiderme das frutas (KADER, 1999; INFANTE et al., 2011). Entretanto autores como Crisosto e Costa (2008) consideram que nas cultivares em que o desenvolvimento da cor ocorre precocemente, a escolha do momento da colheita apenas por método subjetivo, pode ser um procedimento arriscado e resultar na baixa qualidade das frutas.

Segundo Nunes et al. (2009) para cada cultivar, parâmetros específicos de maturidade precisam ser definidos e adaptados de acordo com o destino a ser dado às frutas depois da colheita. O ponto de colheita, em pêssegos, é determinado por métodos físicos, químicos, fisiológicos ou combinações entre eles, os quais permitem monitorar o progresso da maturação. Os parâmetros mais usados em pêssegos são: Cor, firmeza de polpa, sólidos solúveis e acidez titulável e para a mensuração destes, exige-se técnicas destrutivas, complexas e sempre restritas a uma amostra, nem sempre representativa da real variabilidade existente no campo.

Nos últimos anos uma extensa pesquisa foi focada no desenvolvimento de técnicas não destrutivas para a avaliação da qualidade das frutas (NICOLA¨I et al., 2007) na qual exploram as propriedades mecânicas, eletromagnéticas, eletroquímicas. Dentre as eletromagnéticas, as propriedades ópticas são as mais difundidas e, neste âmbito a espectroscopia do Visível (Vis) e do Infravermelho próximo (Near infrared-Nir) é a mais utilizada no desenvolvimento de instrumentações para aplicações práticas (NICOLA¨I et al., 2007). No entanto, mesmo quando estas técnicas mostram simultaneamente altas correlações com os parâmetros fisiológicos relacionados ao amadurecimento das frutas, a maioria só pode ser usada em laboratório e não são apropriadas para o monitoramento *in situ*, ou seja, diretamente no pomar (INFANTE et al.,2011).

Neste sentindo a espectroscopia na região do visível e do infravermelho (Vis/NIR) foi utilizada para o desenvolvimento de um índice de maturação (Índice-DA), calculado com base na entre dois comprimentos de onda próximos ao pico de absorção da diferença de absorbância clorofila-a, este método foi descrito em trabalho desenvolvido por Ziosi et al. (2008) sendo capaz de caracterizar as modificações fisiológicas e físico-químicas que ocorrem durante a maturação das frutas, principalmente aqueles que apresentam características de comportamento climatérico (TRAINOTTI et al., 2006).

O índice DA é obtido através do espectrofotômetro portátil DA-meter® (Sinteleia, Bologna Itália). Os feixes de luz são emitidos nos comprimentos de onda de 670 nanômetros (visível) e 720 nanômetros (infra-vermelho), nos quais o equipamento obtém os sinais de interactância (I) e absorbância (A) das frutas e o cálculo do índice é baseado, segundo Noferini et al. (2009), na lei de Lambert Beer (A = log10 I-10) sendo calculado como: IDA= A670 – A720. O equipamento é constituído de uma fonte luminosa composta de seis LEDs de diodo, posicionados ao redor de um fotodiodo. Três LEDs de diodo emitem comprimentos de onda de 670nm e outros três em comprimento de 720nm. As

frutas são submetidos a iluminação de curta duração com as duas fontes monocromáticas e no âmbito de cada um deles, a quantidade de luz reemitida a partir da fruta é captada e medida pelo fotodiodo central. A luz recebida é então convertida em um “Adc conver- ter” (“analog to digital con- verter”) e elaborada por um micro-controlador para o cálculo do índice DA (COSTA et al., 2010).

Em pêssegos o índice DA foi correlacionado positivamente com as fases de maturação, sendo estas relacionadas com a emissão de etileno e com a degradação das clorofilas do mesocarpo das frutas (ZIOSI et al., 2008). Autores como Costa et al. (2008) caracterizaram a evolução da maturação de diversas frutas como pêssego, nectarina, damasco e maçã assim como estabeleceram a época ideal de colheita em damasco, utilizando a técnica do índice DA.

Com esta técnica pode-se estimar o conteúdo de clorofila presente nas frutas, e sendo este um indicativo do ponto de maturação, o índice DA pode permitir o conhecimento do estádio de maturação destas de um modo independente ao andamento climático, no qual influencia outros parâmetros tradicionalmente utilizados. O índice DA apresenta uma escala que varia de 0 (frutas muito maduras) a 5 (frutas extremamente verdes) e este índice permite monitorar as alterações fisiológicas que ocorrem durante a maturação (NOFERINI et al., 2009).

Definir o ponto de colheita apenas por métodos subjetivos como mudança na coloração da epiderme e consistência das frutas pode ser uma prática arriscada principalmente naquelas destinadas ao consumo *in natura* e correlacionar este índice com as fases de maturação das frutas poderá ser uma alternativa segura para esta decisão. Sendo assim, objetivou-se com este trabalho acompanhar as mudanças na qualidade que ocorrem ao longo da maturação de pêssegos das cultivares Eldorado e Jubileu e sua relação com os índices não destrutivos obtidos com DA-Meter.

Materiais e métodos

As frutas utilizadas para o acompanhamento e determinação do ponto de colheita e qualidade foram obtidas de plantas das cultivares Eldorado e Jubileu localizadas no Centro Agropecuário da Palma/FAEM- UFPel, safra agrícola de 2010/2011, localizadas no município de Capão do Leão/RS (Latitude 31º 52’ 00" S; Longitude 52º 21’ 24" W Greenwich; Altitude: 13,24 m.).

Ambas as cultivares estão enxertadas sobre o porta-enxerto Capdeboscq, possuem polpa amarela, sendo a cultivar Jubileu para aproveitamento industrial e a cultivar Eldorado de dupla finalidade – mesa e indústria. O plantio foi realizado em 2000, a condução é no sistema vaso e as plantas estão dispostas, na mesma área, em um delineamento com blocos casualizados com espaçamentos de 5,5 X 1,5 metros. As práticas culturais e o manejo fitossanitário foram adotados de acordo com as normas técnicas preconizadas pelo sistema de Produção Integrada de Pêssegos (PIP).

Para obtenção do **índice de diferença de absorbância** IDA no campo foi utilizado o equipamento portátil DA-metter®. As leitura iniciaram após a prática do raleio das frutas, para tanto foram escolhidas três plantas por bloco de cada cultivar e foram marcadas 10 frutas de cada planta, totalizando 30 frutas por unidade experimental. Em cada fruto foi mensurado o índice IDA, obtendo-se duas leituras por fruta na posição equatorial. As avaliações iniciaram 65 dias após a plena floração (DAPF) para a cultivar Eldorado e 60 para o Jubileu, em intervalos de sete dias até a data final da colheita, totalizando 11 datas de avaliação para o Jubileu e 12 para o Eldorado.

Para o acompanhamento da maturação, foram estipuladas quatro datas de colheita (20, 24, 28, 30/12 de 2010) para a cultivar Jubileu e cinco datas (20, 24, 28 e 30/12 de 2010 e 05/01/2011) para a cultivar Eldorado. Para a realização deste ensaio experimental, do mesmo pomar e para cada cultivar, foram coletadas três repetições de 15 frutas em cada data de colheita e procederam-se as seguintes avaliações: - **Coloração da epiderme**: realizado com o colorímetro Minolta 450, com iluminante D65, e abertura de 8 mm, no sistema registrado pela Commission Internationale de l'Eclairage L*, a* e b* (CIE-Lab), expressos em graus, pela fórmula hº = tan-1 b*/a* ; - **firmeza da polpa** (FP) com um penetrômetro digital com ponteira de 8mm de diâmetro (modelo 53205, TR, Forli, Italy), os resultados expressos em Newtons; o **conteúdo de sólidos solúveis** (SS) com refratômetro digital (Atago PR32), os resultados expressos em ºBrix; **acidez titulável**, sendo o método baseado na neutralização dos ácidos presentes no suco das frutas com uma solução base (NaOH 0,1N) e os valores expressos em meq NaOH/100mL; **Conteúdo de clorofila da epiderme:** no qual consistiam de discos de 1,5 cm de diâmetro, de cada lado das frutas foram retiradas, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer (-18ºC) para a quantificação das clorofilas, segundo metodologia descrita por Porra (2002). As amostras foram maceradas com o auxílio de nitrogênio líquido e a estas, foi adicionado 3 ml de metanol para a extração, as amostras foram

agitadas em agitador de bancada por 30 minutos e depois centrifugadas por 20 minutos em 4000 rpm para a clarificação da amostra. Do sobrenadante, foi realizada leitura em espectrofotômetro compreendendo os comprimentos de onda de 652,0 e 665,2 nm, sendo o cálculo conforme a equação:

$[Chl\ a] = 16.29\ E_{665.2} - 8.54E_{652.0}$

$[Chl\ b] = 30.66\ E_{652.0} - 13.58E_{665.2}$

$[Chl\ a+b] = 22.12\ E_{652.0} - 2.71E_{665.2}$

Onde a letra E representa o valor da absorbância, e o resultado expresso em mg/cm^2.

Para o delineamento do experimento do ensaio de acompanhamento do índice IDA no campo, foram utilizadas três repetições de 30 frutas, para cada cultivar. E para o acompanhamento da maturação foi utilizada três repetições de 15 frutas por cultivar. Foram efetuadas as análise de regressão polinomial para os fatores quantitativos datas de avaliação e datas de colheita, usando como critério de escolha do modelo a significância ($p<0,05$) e o coeficiente de determinação. As análises foram realizadas através do Programa estatístico WinStat.

Resultados e Discussão

Os valores dos índices DA obtidos em pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’ foram semelhantes ao longo das datas de avaliação até a data de 11 de dezembro, que corresponde a 108 e 103 após a DAPF, respectivamente (Figura 1).

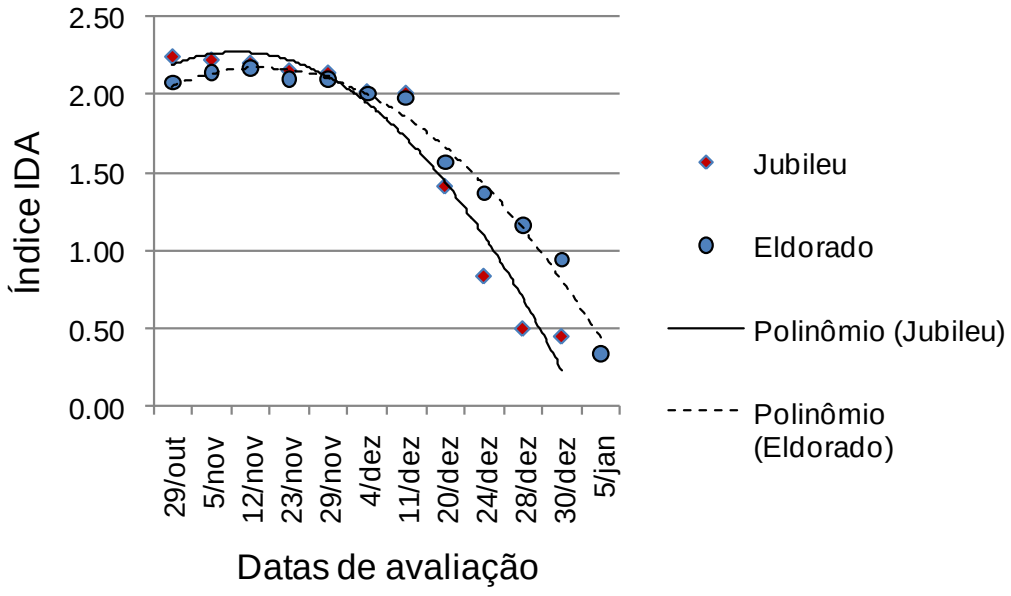


Figura 1- Índice DA ao longo das datas de avaliação do crescimento e maturação de pêssegos das cv. Jubileu ($y=-0,022x^2+0,149x+1,927$, $R^2=0,98$) e Eldorado ($y=-0,029x^2+0,157x+2,062$, $R^2=0,95$).

A partir desta data (11 de dezembro), observa-se uma queda nos índices DA para as duas cultivares. Para a cultivar Jubileu, o índice apresentou uma queda mais drástica em relação à cultivar Eldorado. Segundo Medeiros e Raseira (1998), na cultivar Eldorado, a floração ocorre na primeira semana de agosto e a maturação ocorre na última semana de dezembro com ciclo médio de 143 dias, enquanto que a cultivar Jubileu o ciclo médio é de 128 dias e, este fato explicaria o decréscimo mais proeminente do índice DA para a cultivar Jubileu, assim como a colheita com uma semana de antecedência.

O índice DA é calculado como a diferença de absorbância entre um comprimento de onda próximo ao pico de absorção da clorofila-*a* (670nm) (CUBEDDU et al., 2001) e um fundo de espectro (720nm), e o decréscimo do índice durante o amadurecimento das frutas é reflexo da degradação da clorofila presente no mesocarpo (ZIOSI et al., 2008). Este fato pode ser confirmado quando se observa os valores de clorofila-*a* presentes nas epidermes das frutas ao longo das datas de colheita avaliadas (Figura 2). Observa-se um decréscimo deste pigmento conforme avançam os processo de maturação dos pêssegos.

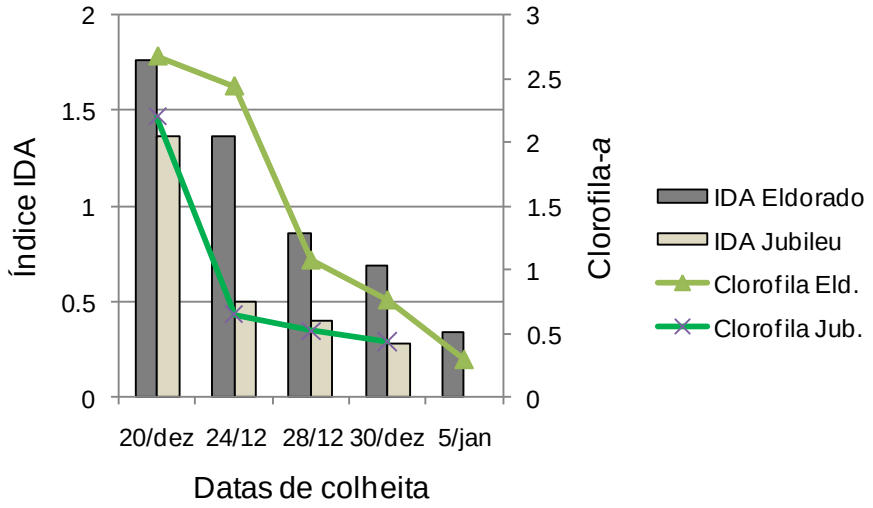


Figura 2- Índice DA e da clorofila-*a* (mg/cm^2) presente na casca de pêssegos Eldorado e Jubileu ao longo da colheita.

Nas diferentes datas de colheita foi possível correlacionar o índice DA com os parâmetros de qualidade normalmente utilizados para definir o ponto de colheita (Tabela

1), onde se constatou que, com excessão dos sólidos solúveis, os demais parâmetros de qualidade decrescem a medida que avança o processo de maturação, o mesmo ocorrendo com o índice DA obtido com o DA-Meter em pêssegos da cultivar Jubileu e Maciel.

Tabela 1 – Valores médios dos parâmetros índice DA, firmeza de polpa (FP), em Newtons, Clorofila-*a* (Cl-a), expressa em µg/cm^2, sólidos solúveis (SS), em °Brix, Coloração, expresso em ° Hue, e Acidez titulável (AT), em meq NaOH/100mL, em pêssegos cultivares Jubileu e Eldorado em diferentes datas de colheita.

			Jubileu			
Datas	**DA**	**FP**	**Cl-a**	**SS**	**Cor**	**AT**
20/12	1,38	31,06	2,20	11,71	99,09	16,8
24/12	0,67	16,52	0,64	12,05	86,25	14,7
28/12	0,54	15,87	0,51	12,55	86,21	12,5
30/12	0,39	13,03	0,43	12,84	84,79	12,0
			Eldorado			
20/12	1,38	54,09	2,67	11,69	103,0	14,1
24/12	1,12	46,84	2,44	12,55	93,25	13,5
28/12	1,03	36,76	1,07	12,62	85,32	13,0
30/12	0,82	32,34	0,76	12,98	79,48	13,0
05/01	0,26	11,07	0,29	13,6	72,10	11,0

Tabela 2 – Valores do coeficiente de determinação (R^2) obtido entre os valores médios dos parâmetros de qualidade de pêssegos Eldorado e Jubileu e os valores médios dos índices DA ao longo das datas de colheita.

	Índice DA - Eldorado		Índice DA - Jubileu	
Parâmetro	R^2	Reta	R^2	Reta
Sólidos solúveis	0,76*	y=-1,41x+14,183	0,77*	y=-1,074x+13,194
Firmeza de polpa	0,77	y=3,00x+0,275	0,95	y= 1,780x+0,6454
Acidez titulável	0,70	y=2,83x+10,827	0,80	y=4,275x+10,734
Clorofila-*a*	0,82	y=1,861x-0,433	0,89	y=1,47x - 0,01
°Hue	0,69	y=31,54x+46,88	0,87	y=12,89x+80,09

**p=0,05.*

Na primeira data de avaliação, os pêssegos apresentavam firmeza média de 54,09 N para a cultivar Eldorado e 31,06 N para Jubileu. Segundo trabalho de Torrales et al. (2008), pêssegos das cultivares Jubileu apresentaram valores de 27,5 a 39 N de firmeza e 43,3 a 52,1N para a cultivar Eldorado no momento da colheita, com isto se poderia inferir que os pêssegos da cultivar Jubileu avaliados neste trabalho, já estariam prontos para a colheita na primeira data de avaliação e para a cultivar Eldorado esta condição

seria alcançada na segunda data de colheita. Segundo García-Ramos et al. (2005), a firmeza da polpa é uma medida indireta da maturação e sua avaliação precisa permite estabelecer bases para as ações de armazenamento e transporte apropriados às frutas. Assim, ao avaliar o comportamento do índice DA em pêssegos e comparar com a firmeza real é de extrema importância para estabelecer o momento mais apropriado de colheita.

O índice DA para a primeira data nas duas cultivares foi de 1,38. Neste índice a cultivar Jubileu já apresentava firmeza e teores de sólidos solúveis aceitáveis para a realização da colheita. Na cultivar Eldorado, com este mesmo valor de índice, os frutos ainda não estavam aptos para serem colhidos. Segundo Noferini et al. (2009) cada tipologia de fruta têm um índice específico assim como cada fase de maturação.

De acordo com a figura 3, o índice DA decresce de forma semelhante ao da firmeza de polpa, isto pode ser confirmado através do valor do coeficiente de determinação obtido entre a firmeza de polpa e os índices DA ao longo das datas de colheita, no qual para a cultivar Eldorado foi de 0,77 e para a cultivar jubileu foi de 0,95 (tabela 1), demonstrando a excelente relação entre estes dois parâmetros. Trabalhos envolvendo correlações entre o índice DA com os parâmetros de maturação já foram desenvolvidos em nectarinas (ZIOSI et al., 2008), pêssegos (NOFERINI et al., 2009) e ameixas (INFANTE et al., 2011) demonstrando resultados semelhantes aos reportados neste trabalho.

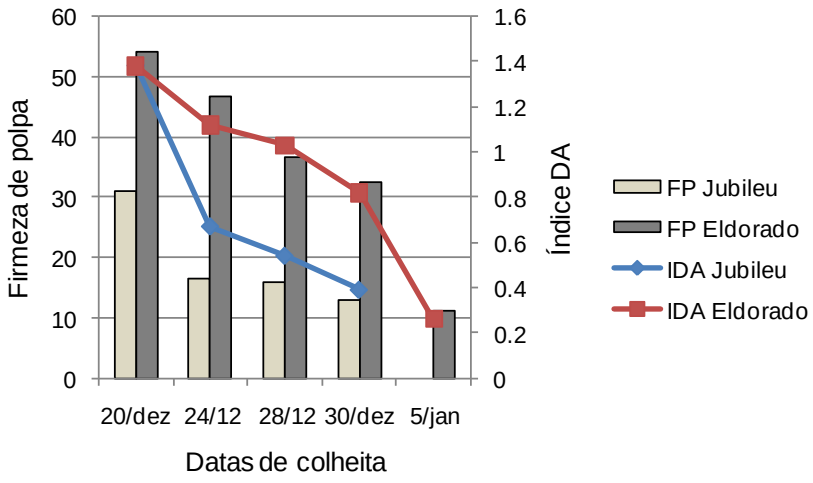


Figura 3 - Índice DA e da firmeza de polpa (Newtons) de pêssegos “Eldorado” e “Jubileu” ao longo das datas de colheita.

Para os pêssegos das cultivares em estudo o limite de frutas imaturas estaria com índice DA acima de 2,0 e frutos sobre-maduros abaixo de 0,5. Entretanto para a colheita de frutas com resistência e transporte ou maior permanência no mercado, e parâmetros adequados de sólidos solúveis e acidez, os índices DA ideais seriam no intervalo de 1,5 a 0,8 para a cultivar Eldorado e para cultivar Jubileu estes índices poderiam ser entre 2,0 e 1,0 dado que esta cultivar apresenta uma floração e maturação antecipada comparado com a cultivar Eldorado. Trabalhos de acompanhamento da maturação e definição de época de colheita foram conduzidos em pêssegos cultivares Royal Glory e Fayette onde os valores médios dos índices DA eram de 0,7 para “Royal Glory” e 1,0 para “Fayette” (NOFERINI et al., 2009). Segundo Costa et al. (2008) tais valores de índices DA permanecem válidos também para anos sucessivos como evidenciados em provas conduzidas em damascos e pêssegos.

Infante et al. (2011), trabalhando com ameixas japonesas “Angeleno” e “Autum beaut”, sugerem que não é possível considerar um único valor para o índice DA como índice de colheita para diferentes genótipos, mesmo quando mostram coloração similar como é o caso das cultivares Eldorado e Jubileu. Determinar valores de índice DA diferentes e em intervalos é uma medida mais segura para avaliação e utilização deste índice na verificação do ponto de colheita das frutas.

Para o parâmetro sólido solúveis (Figura 4) a relação é inversa, comparado com o parâmetro firmeza de polpa, à medida que os estádios de maturação avançam, os teores de sólidos solúveis tendem a aumentar devido a biossíntese ou à degradação de polissacarídeos (CHITARRA; CHITARRA, 2005) enquanto o índice DA diminui. Para frutas de caroços, o conteúdo de sólidos solúveis é altamente associado com a qualidade sensorial e aceitação das frutas pelo consumidor (DI MICELI et al., 2010).

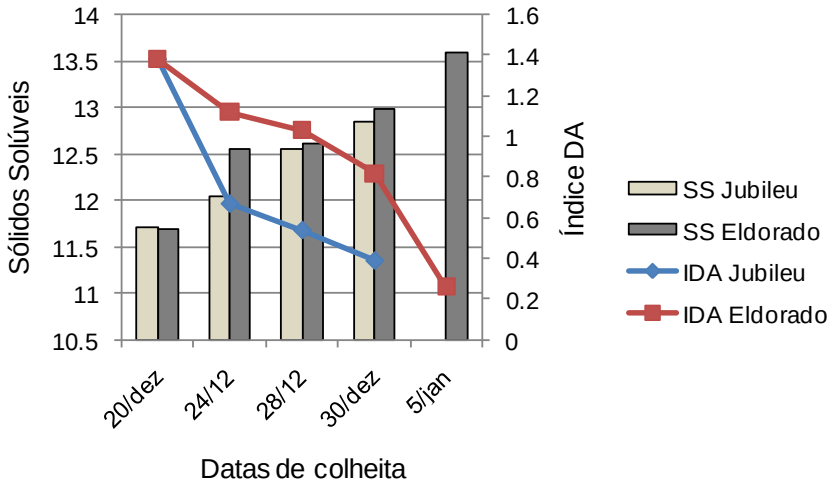


Figura 4 - Índice DA e dos sólidos solúveis (°Brix) de pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’ ao longo das datas de colheita.

Cantin et al. (2009) sugerem que a variação dos teores de açúcares em pêssegos é explicada pelas diferenças no clima e na carga das culturas. Em contraste, a taxa de amolecimento dos frutos de caroços é um parâmetro que se mostra de baixa variabilidade de um ano para outro, comportando-se muito semelhante em diferentes anos de avaliação (ECCHER ZERBINI et al., 2006).

Para a variável coloração (Figura 5), expressa neste trabalho como ângulo hue, houve a redução do ângulo com a evolução da maturação. Este fato é uma decorrência do amadurecimento, no qual as frutas perdem a coloração verde da casca, devido à degradação da clorofila e, simultânea ou posteriormente a este fenômeno, ocorre a síntese e acréscimo na concentração de carotenóides, que são os pigmentos predominantes em pêssegos maduros de coloração amarela (EREZ; FLORE,1986). Na primeira data de colheita (20 de dezembro) os pêssegos apresentavam valores de °hue de 103°e 99,09º para as cultivares Eldorado e Jubileu respectivamente e nas últimas datas os valores foram de 72° e 84°. Toralles et al. (2006) caracterizando estas cultivares para a região de Pelotas determinaram valores de ângulo hue de 75,31°para frutas de ‘Eldorado’ e 83,44° para ‘Jubileu’, concordando com os valores apresentados neste trabalho.

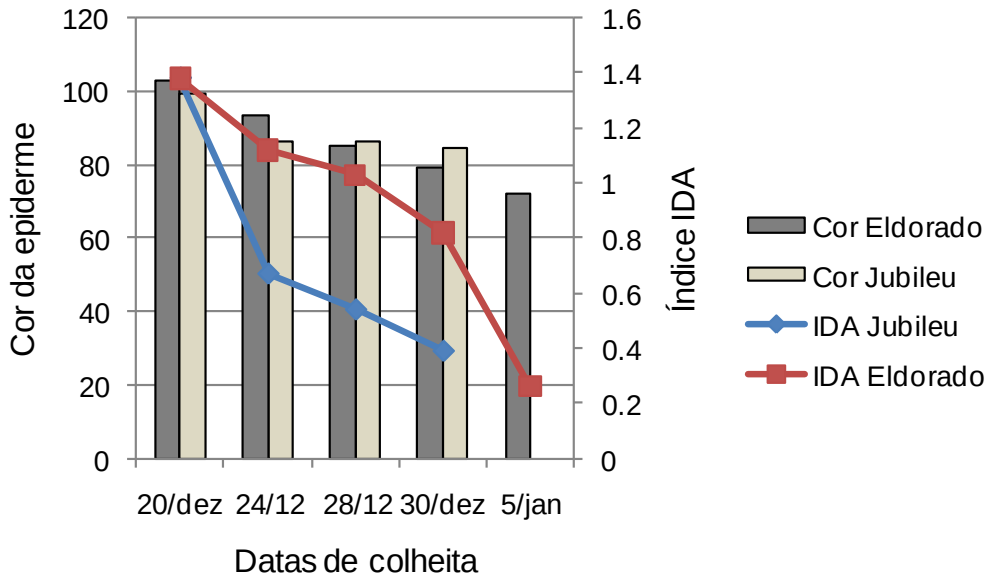


Figura 5- Índice DA e da coloração da epiderme (ângulo °Hue) de pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’ ao longo das datas de colheita.

O teor de acidez das frutas diminui durante o processo de maturação, e, de acordo com a Figura 6, esta diminuição da acidez ocorre de uma forma mais lenta do que a diminuição do índice DA. Este processo já era esperado em decorrência da diminuição deste parâmetro ser em função da utilização dos ácidos como substratos no processo respiratório ou na conversão de açúcares (CHITARRA; CHITARRA, 2005), enquanto o índice DA é relacionado à degradação da clorofila. Este parâmetro é somente verificado em laboratório, entretanto suas concentrações adequadas são imprescindíveis ao “flavor” e, por conseguinte, à qualidade das frutas.

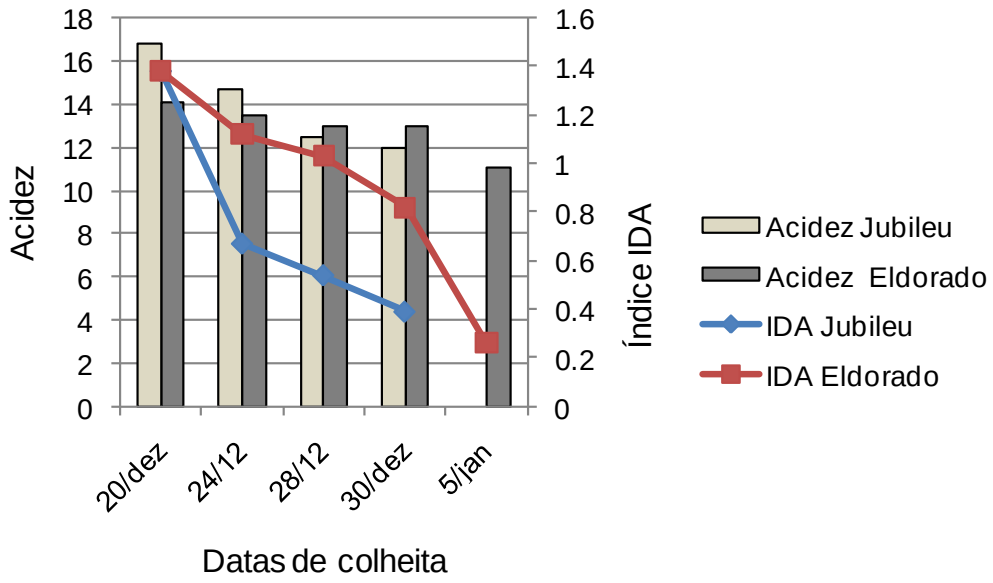


Figura 6 - Índice DA e da acidez titulável de pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’ ao longo das datas de colheita.

Com base nos índices obtidos com o DA-Meter® durante o acompanhamento da maturação de pêssegos constatou-se que os teores de clorofila nas cascas das frutas tem uma alta correlação com o maturação das mesmas, e deste modo indica que o equipamento pode ser utilizado como uma ferramenta auxiliar para decidir o momento de colheita das frutas para o consumo imediato ou para o armazenamento.

Conclusão

O índice DA é capaz de acompanhar as modificações fisiológicas que se verificam durante a maturação de pêssegos ‘Eldorado’ e ‘Jubileu’. Este índice tem correlação com as modificações dos principais parâmetros de qualidade destas cultivares, apresentando potencialidade aplicativa para monitorar, de maneira não destrutiva, a evolução da maturação e qualidade de pêssegos diretamente na planta.

Referências

CANTIN, C.M.; GOGORCENA, Y.; MORENO, M.A. Analysis of phenotypic variation of sugar profile in different peach and nectarine [Prunus persica (L.) Batsch breeding progenies. **Journal Sciences Food Agriculture, v.** 89, p. 1909−1917, 2009.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B**. Pós-colheita de frutos e hortaliças:** fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL/FAEPE, 735 p. 2005.

COSTA G.; NOFERINI M.; FIORI G.; TADIELLO A.; TRAINOTTI L.; CASADORO G.; ZIOSI. V. **A non desctrutive index (lad)to characterize ripening evolution in fruit species**. ASHS Annual Conferece, Orlando, Florida, July 2008

COSTA G.; NOFERINI, M.; BONORA, E. **Metodi innovativi di gestione dei frutti nella fase post-raccolta - Metodi non distruttivi per valutare la qualità dei frutti.** Edito da Regione Emilia-Romagna Servizio Sviluppo del Sistema Agroalimentare Assessorato Agricoltura. 200p. p.17-38- Bologna/Italia, 2010

CRISOSTO ,C.H; COSTA,G. Pre-harvest factors affecting peach quality. In: D.R. Layne, e D. Bassi Eds. **The peach: Botany, production and uses**, CABI, USA pp. 536-546. 2008.

CUBEDDU, R.; D'ANDREA, C.; PIFFERI, A.; TARONI, P.; TORRICELLI, A.; VALENTINI, G.; RUIZ-ALTISENT, M.; VALERO, C.; ORTIZ, C.; DOVER, C.; JOHNSON, D. Time-Resolved reflectance Spectroscopy applied to the non-destructive monitoring of the internal optical properties in apple. **Applied Spectroscopy** v.55, p.1368-1374. 2001.

DI MICELI, C.; INFANTE, R.; INGLESE, P. Instrumental and sensory evaluation of eating quality of peaches and nectarines. **European Journal Horticultural Science**, v.75, p. 97−102. 2010.

ECCHER ZERBINI, P.; VANOLI, M.; GRASSI, M.; RIZZOLO, A.; FIBIANI, M.; CUBEDDU, R.; PIFFERI, A.; SPINELLI, L.; TORRICELLI, A. A model for the softening of nectarines based on sorting fruit at harvest by time-resolved reflectance spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**. V.39, p.223−232. 2006.

EREZ, A.; FLORE, J.A. The quantitative effect of solar radiation on 'Redhaven' peach fruit skin color. **HortScience**, v.21, n.6, p.1424-6, 1986.

GARCÍA-RAMOS, F. J.; VALERO, C.; HOMER, I.; ORTIZ-CAÑAVATE, J.; RUIZ-ALTISEN M. Non-destructive fruit firmness sensors: a review. **Spanish Journal of Agricultural Research.** v.3(1), p.61-73. 2005.

INFANTE, R.; CONTADOR, L.; RUBIO, P.; MESA, K.; MENESES, C. Non-destructive monitoring of flesh softening in the black-skinned Japanese plums 'Angeleno' and 'Autumn beaut' on-tree and postharvest. **Postharvest Biology and Technology** v. 61, p. 35–40. 2011.

KADER, A.A. Fruit maturity, ripening, and quality relationships. **Acta Horticulture**. 485, 203–208. 1999.

MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. C. B. **A cultura do pessegueiro**. Embrapa CPACT, Pelotas, 1998. 350 p. il.

NICOLAI, B. M.; BEULLENS, K.; BOBELYN, E.; PEIRS, A.; SAEYS, W.; THERON, K. I. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR

spectroscopy: A review. **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, p.99-118. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.06.024. 2007.

NOFERINI, M.; FIORI, G.; COSTA, G. Um nuovo indice di maturazione per stabilire la raccolta ed orientare Il consumatore verso la qualità. **Revista Frutticoltura**, n° 7/8, p-30-37, 2009.

NUNES, C.; RATO, A.E.; BARROS, A.S.; SARAIVA, J.A.; COIMBRA, M.A. Search for suitable maturation parameters to define the harvest maturity of plums (Prunus domestica L.): a case study of candied plums. **Food Chemistry**. v.112, p.570–574. 2009.

PORRA, R. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b- Minireview. **Photosynthesis Research**, 73, 149-156. (2002).

TORALLES,R.P., MALGARIM,M.B., VENDRUSCOLO,J.L., CANTILLANO, R.F.F., TREPTOW, R.O. Um estudo para compreender a preferência e aceitação de consumidores de purês de pêssegos Brasileiros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 3, p. 397-401, Dezembro 2006

TORALLES, R., VENDRUSCOLO, J.L., MALGARIM, B. M. CANTILHANO, R. F., SCHUNEMANN, A. P. P. ANTUNES, P. L. Características físicas e químicas de cutivares Brasileiras de pêssegos em duas safras. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.14, n.2, p.327-338, 2008.

TRAINOTTI, L., BONGHI, C., ZILIOTTO, F., ZANIN, D., RASORI,A., CASADORO, G., RAMINA, A., TONUTTI, P. The use of microarray μPEACH1.0 to investigate transcriptome changes during transition from pre-climateric to climateric phase in peach fruit. **Plant Science** 170, p606-613, 2006.

ZIOSI, V., NOFERINI, M., FIORI, G., TADIELLO, A., TRAINOTTI, L., CASADORO, G. A new index based on vis spectroscopy to characterize the progression of ripening in peach fruit. **Postharvest Biology and Technology**, 49, 319-329, 2008.

Conclusões Gerais

- O parâmetro de qualidade sólido solúveis pode ser estimado de forma satisfatória utilizando a técnica da espectroscopia Vis/NIR, em dois anos de avaliações consecutivas para as cultivares de pêssegos Chimarrita, Maciel, Eldorado e Jubileu na localidade de Pelotas, RS;
- O parâmetro de qualidade firmeza de polpa pode ser estimado de forma satisfatória, através da técnica da espectroscopia Vis/NIR, apenas para as cultivares Eldorado e Jubileu, necessitando para as demais cultivares novos ajustes futuros;
- Os modelos de calibração, utilizados para prever avaliações futuras, apresentam resultados diferentes ao longo das datas de colheita, observando melhores ajustes ao final da safra, fato observado em todas as cultivares de pêssegos presentes no trabalho;
- O índice DA, obtido com equipamento DA-Meter®, possibilita a separação de frutas de manga, cultivar Tommy Atkins em categorias distintas de maturação e os valores deste índice se correlaciona de forma satisfatória com os atributos de qualidade usados para estimar a maturação desta espécie;
- O índice DA é capaz de mensurar as modificações fisiológicas que se verificam durante a maturação de pêssegos Eldorado e Jubileu.
- A fluorescência da clorofila pode ser uma técnica promissora para a avaliação não destrutiva de compostos como flavonóides, antocianinas e clorofilas em maçãs das cultivares Fuji, Golden Deliciuos e Granny Smith.

Anexos

Experimento 1

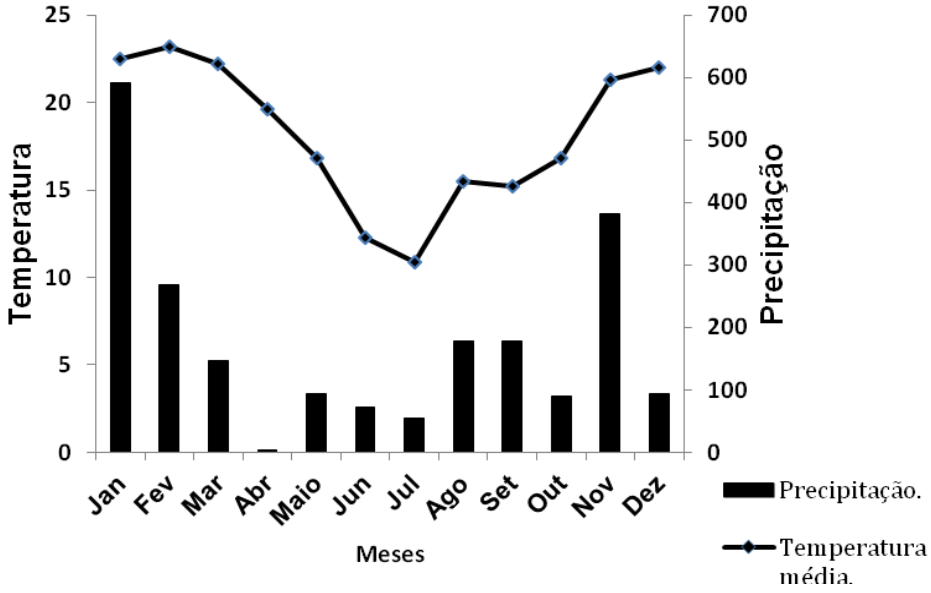


Figura 1- Médias mensais para temperatura e precipitação ocorridas em Pelotas no período de janeiro a dezembro de 2009. FAEM/UFPel, Pelotas-RS, 2009 (Fonte: Estação Climática Embrapa/2009).

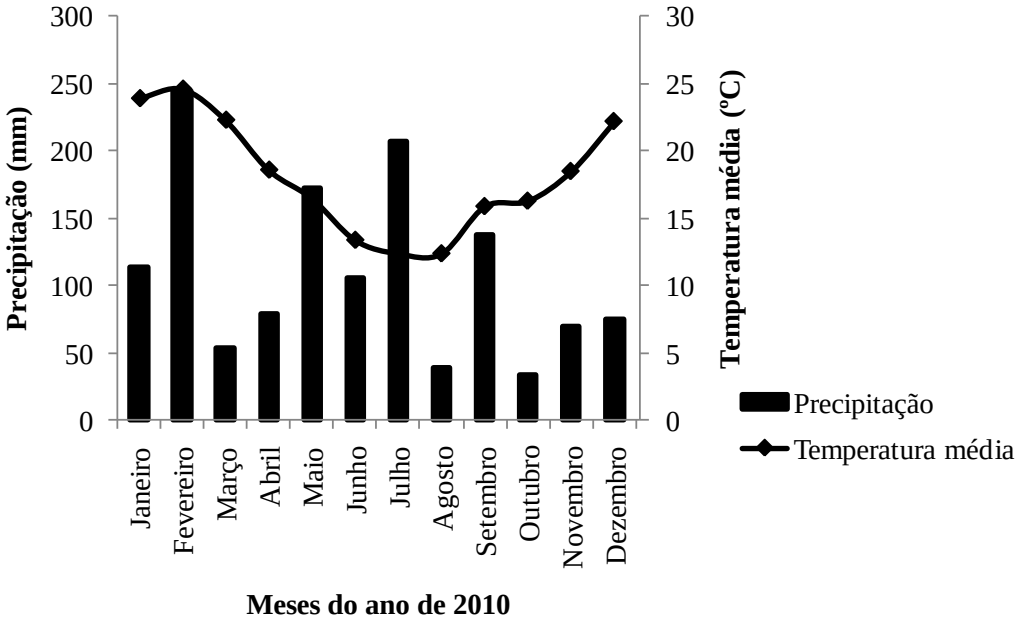


Figura 2- Médias mensais para temperatura e precipitação no período de janeiro a dezembro de 2010, da Região de Pelotas. FAEM/UFPel, Pelotas-RS, 2010 (Fonte: Estação Climática da Embrapa/2010).

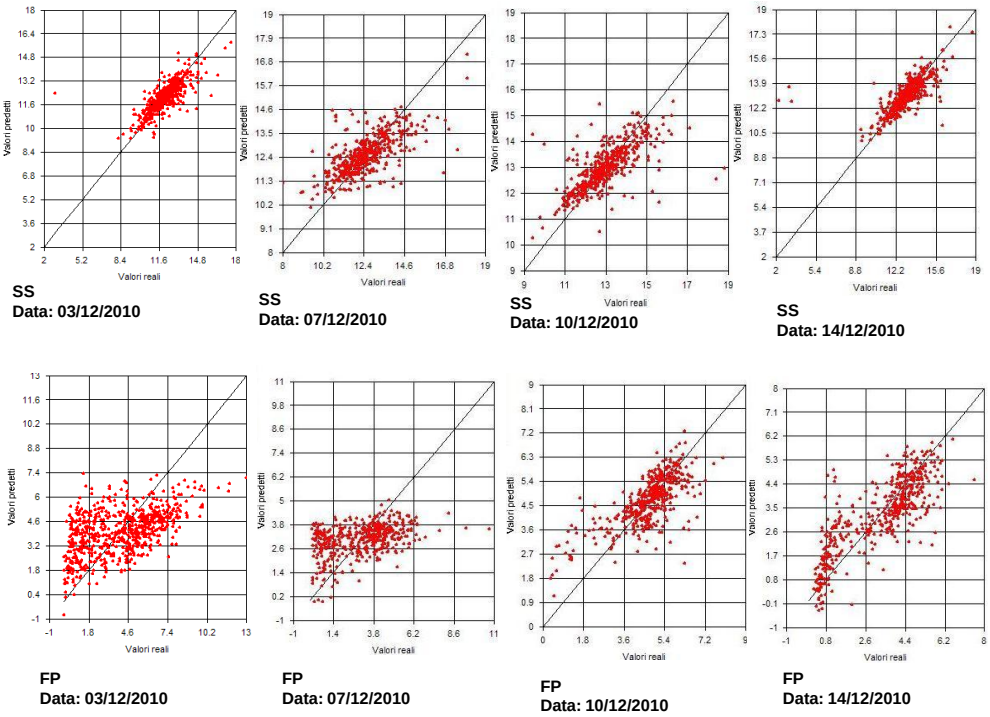


Figura 3- Diagrama de dispersão dos valores que compõe as curvas de calibração para firmeza da polpa (FP) e sólidos solúveis (SS) de pêssegos ‘Chimarrita’ obtidas com o NIR-Case- 2010. UFPel - Pelotas, 2011.

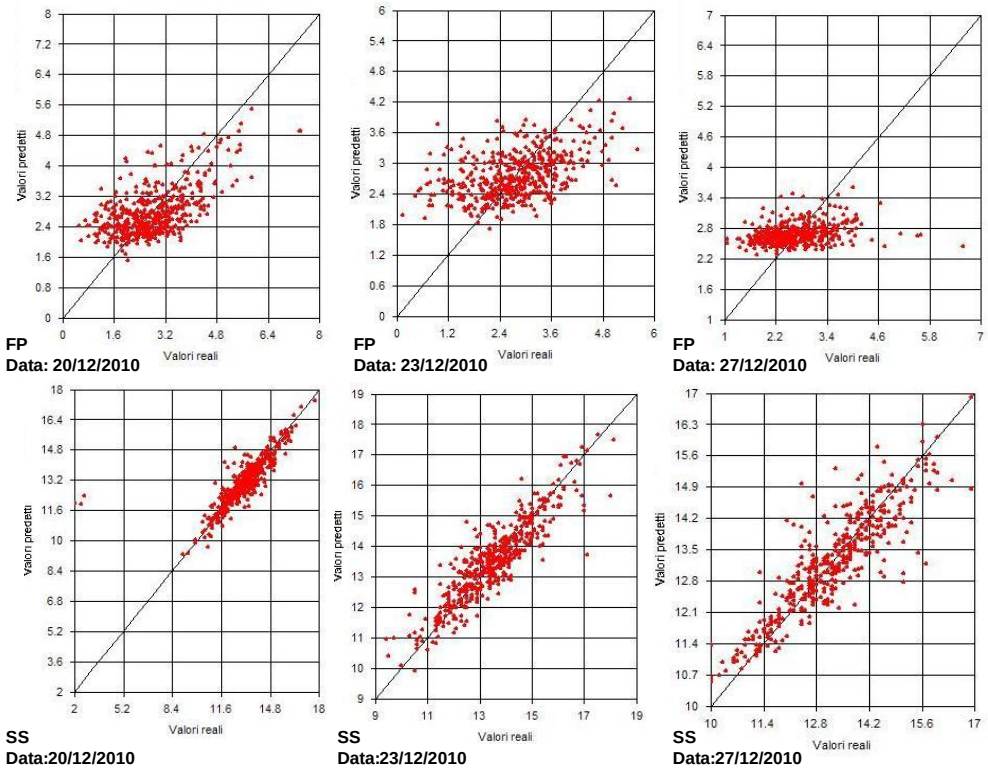


Figura 4- Diagrama de dispersão dos valores que compõe as curvas de calibração para firmeza da polpa (FP) e sólidos solúveis (SS) de pêssegos ‘Maciel’ obtidas com o NIR-Case.

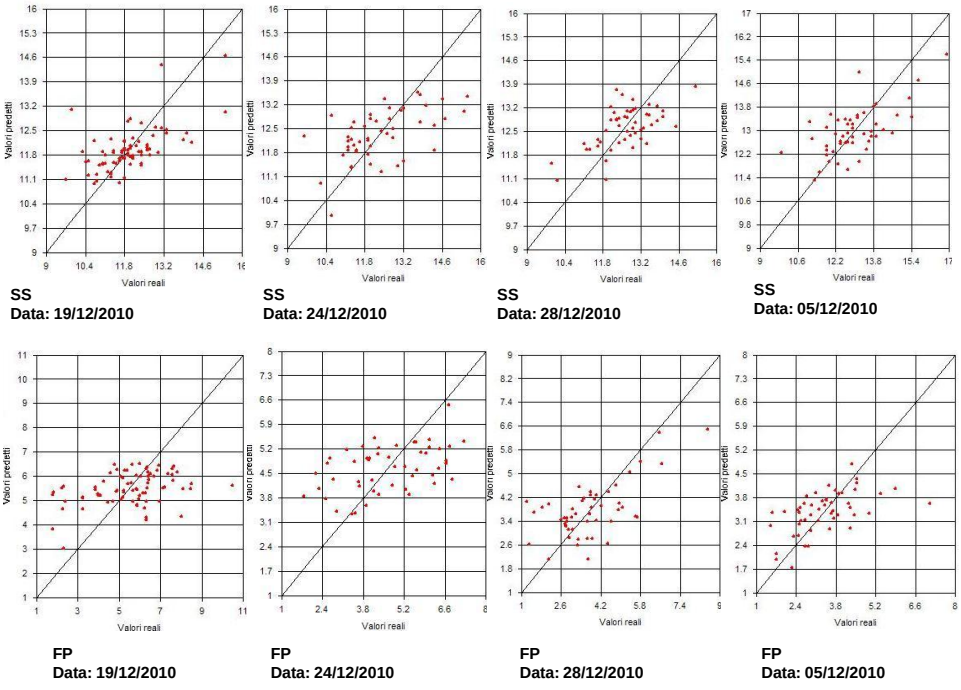


Figura 5- Diagrama de dispersão dos valores que compõe as curvas de calibração para firmeza da polpa (FP) e sólidos solúveis (SS) de pêssegos ‘Eldorado’ obtidas com o NIR-Case. UFPel, 2010

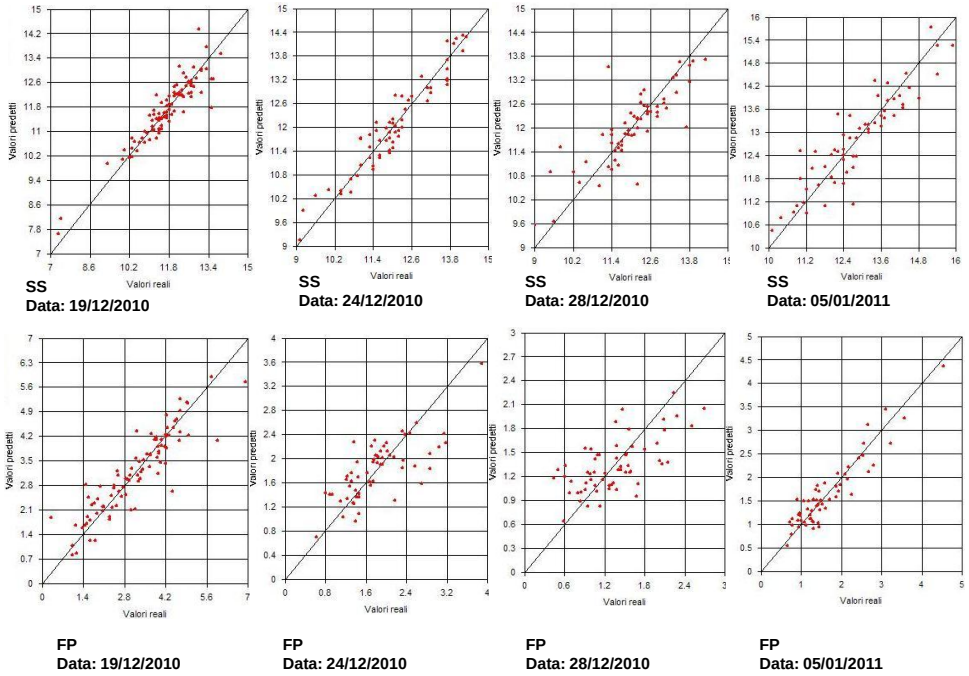


Figura 7- Diagrama de dispersão dos valores que compõe as curvas de calibração para firmeza da polpa (FP) e sólidos solúveis (SS) de pêssegos ‘Jubileu’ obtidas com o NIR-Case.

Anexos Experimento 4

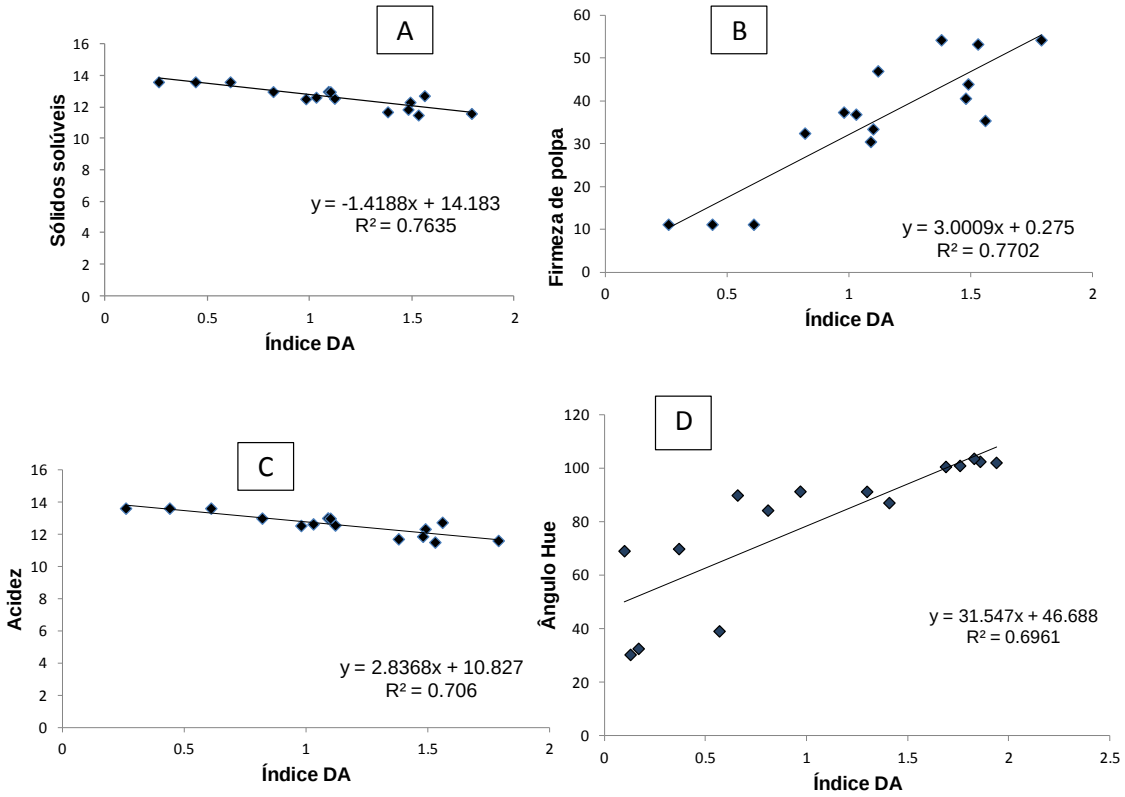


Figura 1- Reta de regressão existente entre o índice-DA e os sólidos solúveis , em ºBrix (A), firmeza de polpa, em newtons (B), acidez titulável, em meq de NaOH/100ml (C) e cor em °hue (D) em pêssegos da cv. 'Eldorado'.

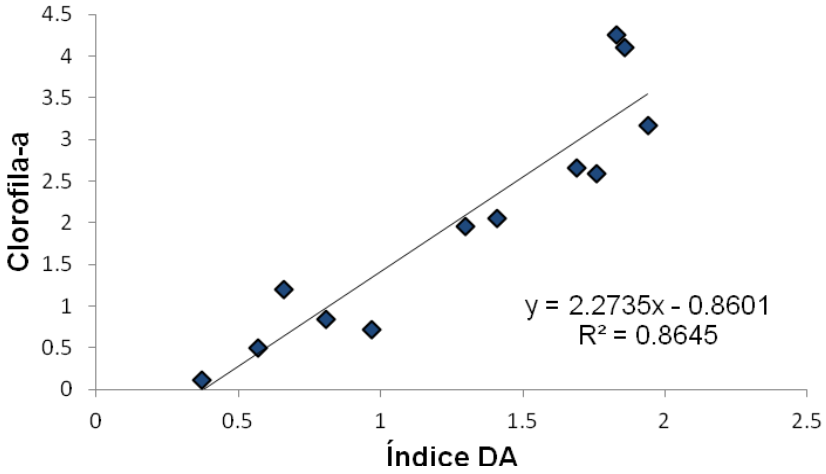


Figura 2- Reta de regressão existente entre o índice-DA e a clorofila-a (em µg/cm^2 em pêssegos da cv. 'Eldorado'

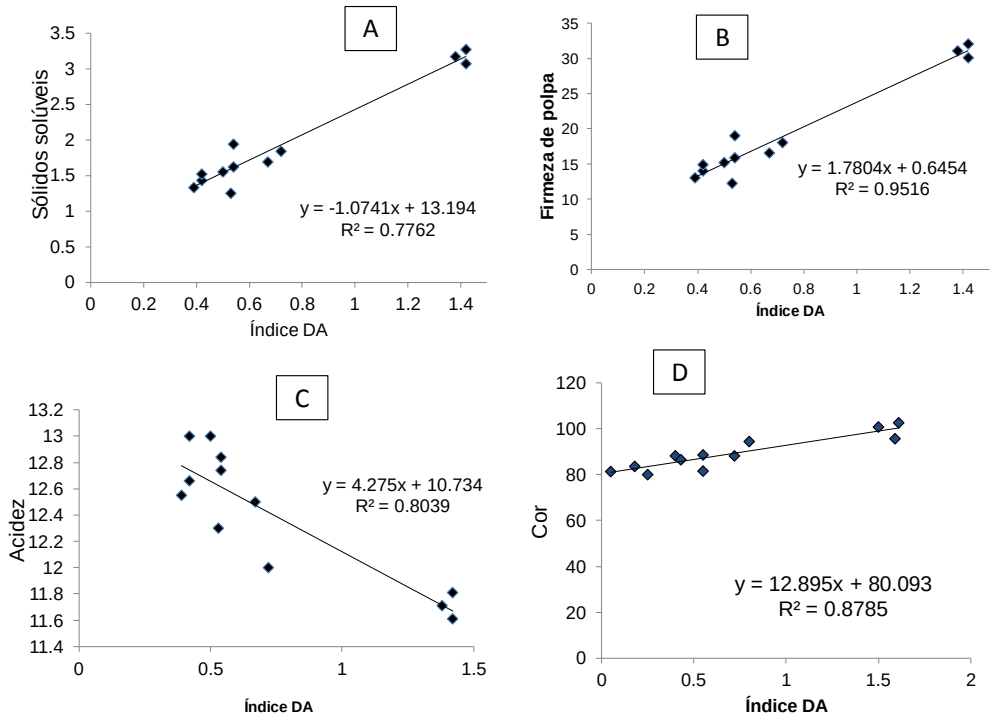
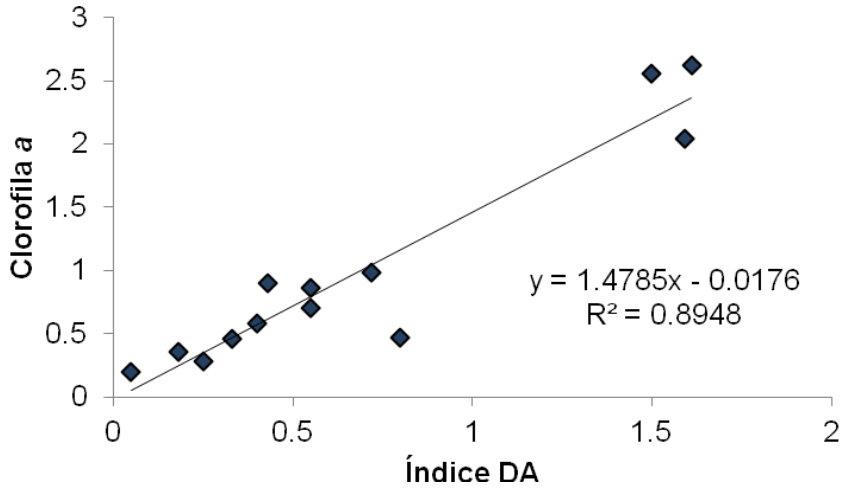


Figura 3- Reta de regressão existente entre o índice-DA e os sólidos solúveis, em ºBrix (A), firmeza de polpa, em newtons (B), acidez titulável, em meq de NaOH/100ml (C) e cor em °hue (D) em pêssegos da cv. 'Jubileu' – Pelotas/RS- 2010.



igura 4- Reta de regressão existente entre o índice-DA e a clorofila-a (em mg/cm^2 em pêssegos da cv. 'Jubileu'.