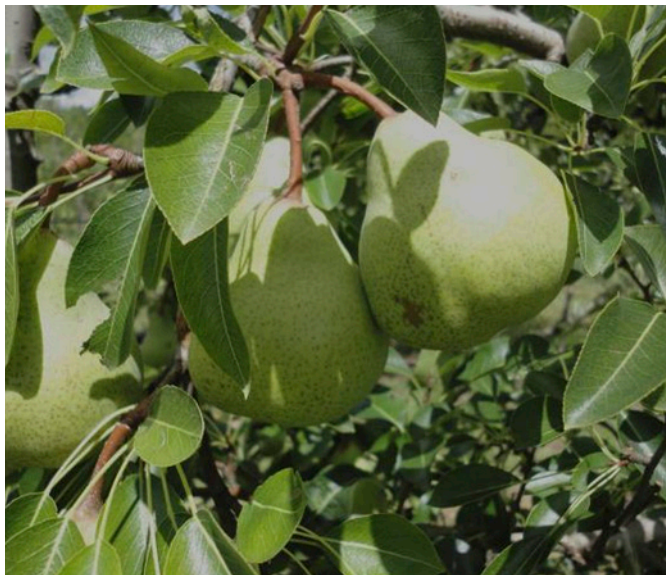


Foto: Lucimara R. Antonioli.



Metodologia para Evidenciar Danos Mecânicos Gerados por Atrito em Peras

Lucimara Rogéria Antonioli¹
Josiane Pasini²
Renar João Bender³

Introdução

Os danos mecânicos são responsáveis por grande parte das perdas de qualidade em pós-colheita de frutos. Podem ocorrer durante a colheita, transporte, beneficiamento e expedição e são causados, basicamente, por movimentos de impacto, vibração e compressão. As peras (*Pyrus communis* L.) são muito suscetíveis aos danos mecânicos, especialmente aqueles decorrentes da vibração. A movimentação tangencial dos frutos, no interior da embalagem, é um dos principais efeitos da vibração, causando atrito entre os frutos e entre esses e as paredes da embalagem (VIGNEAULT et al., 2002). Como consequência, tem-se a descoloração da epiderme, que pode se estender, dependendo da severidade do dano, às células subepidérmicas. O escurecimento observado no local da lesão é causado pela oxidação dos compostos fenólicos pela ação da enzima polifenoloxidase, como resultado da combinação

entre o estresse físico e as reações bioquímicas (WANG; MELLENTHIN, 1973, 1974).

As alterações fisiológicas nos tecidos vegetais podem ser causadas por lesões visíveis ou não. Segundo Amiri e Bompeix (2005), a proporção de lesões visualmente imperceptíveis pode variar entre 10 e 50% do número total de lesões que ocorrem na colheita de maçãs e peras. Embora não sejam detectadas visualmente, as lesões com diâmetro inferior a 100 μm podem contribuir para a aceleração da deterioração durante o período pós-colheita (AMIRI; BOMPEIX, 2005). Existem métodos bastante eficientes para evidenciar lesões em tecidos vegetais, como a microscopia confocal de varredura à laser (VERAVERBEKE et al., 2001), a microscopia eletrônica de varredura (MONTERO et al., 2009) e a espectroscopia de impedância elétrica

¹ Eng. Agrôn., Dra., Pesquisadora, Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, CEP 95700-000, Bento Gonçalves, RS. E-mail: lucimara.antonioli@embrapa.br.

² Tecn. Alim., Mestre em Fitotecnia, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS. E-mail: jospasini@yahoo.com.br.

³ Eng. Agrôn., Dr., Professor Adjunto PPG Fitotecnia, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS. E-mail: rjbe@ufgrs.br.

(JACKSON; HARKER, 2000). A utilização desses métodos, entretanto, é limitada pelo alto custo dos equipamentos e dificuldades de manuseio.

Dada a importância dos danos mecânicos por atrito na qualidade de peras, este Comunicado Técnico tem por objetivo propor métodos capazes de evidenciar as lesões por atrito e estabelecer escalas de severidade para fins de avaliação desse tipo de dano nos procedimentos de colheita e pós-colheita de peras.

Coleta da amostra

Qualquer procedimento de colheita e pós-colheita de peras pode ser avaliado por um dos métodos descritos a seguir e, para tanto, é necessário que se garanta a integridade da epiderme dos frutos nos procedimentos anteriores e posteriores àquele que se deseja avaliar. Para a validação dos métodos para evidenciar lesões e a elaboração das escalas de severidade, foi necessária a indução, em condições laboratoriais controladas, dos danos mecânicos por atrito. Para tanto, os frutos foram cuidadosamente manipulados durante as operações de colheita e transporte, a fim de que estivessem isentos de qualquer tipo de injúria mecânica até o momento da realização intencional do dano.

Obtenção de frutos com dano mecânico por atrito

Em condições laboratoriais, as peras foram separadas por calibre e dispostas em caixas plásticas do tipo “meia caixa” (55,0 x 18,0 x 36,0 cm) (Figura 1A). O

dano mecânico foi realizado utilizando-se um agitador orbital (Fanem 255B) (Figura 1B). A caixa contendo os frutos foi colocada sobre o agitador orbital e submetida às rotações crescentes de 70, 140 ou 210 rpm durante 20 minutos.

Os frutos controle não foram submetidos a nenhum nível de rotação.

Métodos para evidenciar os danos mecânicos por atrito

1. Acondicionamento em embalagem de polietileno

O acondicionamento de maçãs em embalagens plásticas devidamente fechadas e sua exposição ao sol possibilita a aceleração da manifestação dos danos mecânicos (YURI et al., 2005). Esse método consiste no acondicionamento individual dos frutos em embalagens de polietileno de baixa densidade (PEBD) imediatamente após a ocorrência do dano mecânico. A elevação da temperatura no interior da embalagem e o consequente aumento na atividade metabólica dos frutos aceleram a oxidação dos compostos fenólicos presentes nas células danificadas da epiderme e, eventualmente, da polpa, com consequente escurecimento da região lesionada em um curto período de tempo.

Procedimento para evidenciar as lesões

Para a realização desse método, utiliza-se embalagem de PEBD com espessura de 8 μm e fecho hermético (Zip lock) (Figura 2). As peras são mantidas na embalagem fechada por 24 horas, em condição de temperatura ambiente simulada (30 \pm

Fotos: Lucimara R. Antonioli.

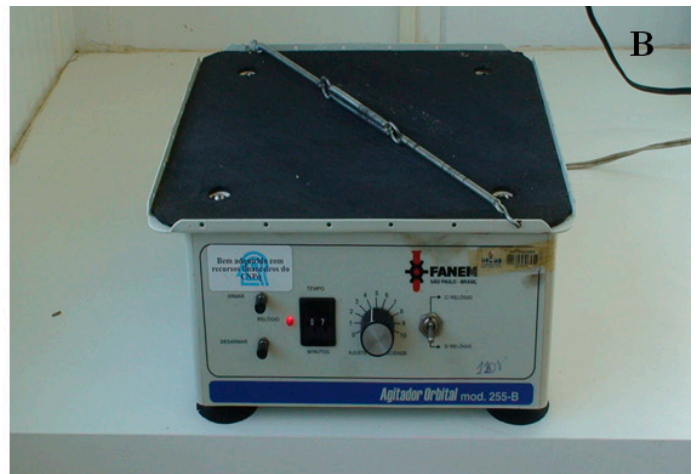


Fig. 1. Caixas plásticas do tipo “meia caixa” contendo peras para aplicação de rotação (A) em agitador orbital (Fanem 255B) (B).

Fotos: Josiane Pasini.



Fig. 2. Peras acondicionadas individualmente em embalagem de PEBD com espessura de 8 μm e fecho hermético (Zip lock).

2°C). A quantificação das lesões pode ser realizada imediatamente após a abertura das embalagens plásticas.

2. Imersão em solução de 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio (TCT)

Esse método para evidenciar lesões, também conhecido como teste do tetrazólio, é amplamente utilizado na detecção de danos mecânicos em sementes de milho (OLIVEIRA et al., 1998), soja (FRANÇA NETO et al., 1998; MARCONDES, et al., 2005; LOPES et al., 2011) e abobrinha (BARROS et al., 2005). O teste baseia-se na atividade das enzimas desidrogenase, as quais catalizam as reações respiratórias nas mitocôndrias durante a glicólise e o ciclo de Krebs. Essas enzimas, particularmente a desidrogenase do ácido málico, reduzem o sal de tetrazólio nos tecidos vivos. A imersão de sementes em solução incolor de TCT promove a difusão e a redução desse sal nos tecidos vivos, o que resulta na formação de um composto vermelho, estável e não-difusível, denominado trifenílformazan. A formação desse composto indica a existência de atividade respiratória nas mitocôndrias (FRANÇA NETO et al., 1998).

Solução de TCT 0,1% (p/v)

Em um balão volumétrico (1L), adicionar 1,0 g de TCT e completar o volume para 1000 mL com água destilada. Homogeneizar e transferir para um frasco de vidro de cor âmbar devidamente identificado. O armazenamento deve ser realizado em local escuro e, preferencialmente, sob refrigeração. A solução

pode ser reutilizada, desde que armazenada adequadamente.

Procedimento para evidenciar as lesões

Imediatamente após a ocorrência do dano mecânico por atrito, seja realizado em laboratório ou por meio da coleta de amostras após a passagem por determinadas etapas das operações de colheita e pós-colheita, os frutos devem ser cuidadosamente lavados com detergente neutro e esponja macia. Posteriormente, devem ser acondicionados em redes plásticas e submetidos a três lavagens consecutivas em água destilada esterilizada (Figura 3A). Esse procedimento é necessário para a eliminação da microbiota superficial, uma vez que o TCT detecta a viabilidade de células eucarióticas e procarióticas (FREIRES, 2010).

Em seguida, os frutos devem ser imersos na solução de TCT 0,1% e mantidos durante 20 horas em condição de temperatura ambiente simulada ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) e ausência de luz (Figura 3B). Transcorrido esse período, as peras são retiradas da solução e mantidas em repouso até a completa secagem para posterior quantificação das lesões.

3. Fumigação com dióxido de enxofre (SO_2)

Esse método para evidenciar danos mecânicos, proposto por Amiri e Bompeix (2005), baseia-se na propriedade do dióxido de enxofre de se difundir através do tecido vegetal e formar áreas esbranquiçadas circundadas por halo de coloração marrom ao redor de aberturas naturais, como

Fotos: Josiane Pasini.



Fig. 3. Peras submetidas a três lavagens consecutivas em água destilada esterilizada após cuidadosa lavagem (A) e peras imersas em solução de TCT 0,1% (p/v) (B).

lenticelas em maçãs (BOMPEIX, 1968). Quando aplicado em peras e maçãs com algum tipo de lesão, a dose de 2 mL.L^{-1} , durante duas horas de exposição, é capaz de evidenciar micro lesões com diâmetro entre 0,1 e 5 mm (AMIRI; BOMPEIX, 2005).

Procedimento para evidenciar as lesões

Para a aplicação do gás, deve ser utilizada uma caixa retangular de acrílico (40 L de volume interno) com tampa. A existência de válvulas na tampa possibilita a retirada parcial do ar do interior da caixa, por meio da utilização de uma bomba de vácuo, resultando na perfeita vedação da tampa. A homogeneização do SO_2 pode ser conseguida com a adaptação de um mini ventilador no fundo da caixa (Figura 4). As peras são dispostas, lado a lado, sobre um estrado plástico modular (2,5 x 25,0 x 25,0 cm) e o gás

é injetado com uma seringa por meio de uma das válvulas da tampa, vedada com septo de silicone. O volume de gás é calculado em mL.L^{-1} de volume interno livre da caixa, na dose de 2 mL.L^{-1} . Os frutos devem ser mantidos sob a ação do gás durante duas horas. Transcorrido esse período, a caixa é aberta e os frutos são mantidos em repouso por 24 horas para a posterior quantificação das lesões.

Reação ocasionada no local da lesão para cada método

1. Acondicionamento em embalagem de polietileno

Os frutos acondicionados em embalagem de PEBD apresentam rápido escurecimento da epiderme (Figura 5), que é o sinal mais evidente da ocorrência

Fotos: Josiane Pasini.



Fig. 4. Caixa de acrílico fechada, conectada a uma bomba de vácuo e provida de mini ventilador, contendo peras dispostas sobre estrado plástico modular.

dos danos mecânicos por atrito. Após a ocorrência da lesão, o local danificado escurece em decorrência da descompartimentação celular, o que permite o contato entre o substrato e as oxidases. Na presença de oxigênio, os compostos fenólicos sofrem ação de enzimas oxidativas, como a fenolase e a polifenoloxidase, formando quinonas e água. As quinonas polimerizam-se naturalmente a compostos de coloração escura, que caracterizam a região lesionada (KNEE; MILLER, 2002).

2. Imersão em solução de 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio (TCT)

As áreas lesionadas dos frutos submetidos ao método para evidenciar lesões com solução de TCT 0,1% apresentam ausência de coloração na porção central e bordas vermelho intenso (Figura 6). De acordo com França Neto et al. (1998), a redução do sal não ocorre nos tecidos não viáveis ou mortos, e, conseqüentemente, não há formação do trifenilformazan, permanecendo, portanto, sem coloração. Havendo atividade respiratória, haverá

a formação de um vermelho carmim claro; porém, se o tecido estiver em processo de deterioração haverá a formação de um vermelho mais intenso como resultado da maior intensidade de difusão da solução de TCT através das membranas danificadas. Diversos autores demonstraram que após a ocorrência do dano mecânico há um incremento na taxa respiratória de peras (AGAR; MITCHAM, 2000), maçãs (MONTERO, 2010) e abacates (SANCHES et al., 2008). Segundo Chitarra e Chitarra (2005), quando o produto vegetal sofre algum tipo de lesão, ocorre um aumento marcante na liberação de CO_2 e na captação de O_2 , sendo que as células mais próximas ao local da lesão, que não foram mortas no processo, respiram muito mais intensamente. Isso explica a aparência da área lesionada nas peras, onde a porção da epiderme que sofreu maior intensidade de dano, inclusive com rompimento celular, permaneceu descolorida e as células circundantes apresentaram coloração vermelha intensa, indicando elevada atividade respiratória e, possivelmente, algum dano celular.

Fotos: Josiane Pasini.



Fig. 5. Peras com danos mecânicos por atrito submetidas ao método para evidenciar lesões com SO_2 2 mL.L⁻¹ durante duas horas.

3. Fumigação com dióxido de enxofre (SO_2)

A fumigação com SO_2 causa a necrose da região lesionada, normalmente circundada por halo de coloração marrom. As lenticelas são igualmente evidenciadas (Figura 7). A coloração mais escura se deve à oxidação e à polimerização dos compostos fenólicos, devido à ação da enzima polifenoloxidase (UNDERHILL; CRITCHLEY, 1992), enquanto que a região mais clara resulta da simples necrose do tecido vegetal (BANKS, 1985). De acordo com

Fotos: Josiane Pasini.



Fig. 6. Peras com danos mecânicos por atrito submetidas ao método para evidenciar lesões com solução de TCT 0,1% (p/v) durante vinte horas, em condição de temperatura ambiente simulada ($30 \pm 2^\circ\text{C}$).

Amiri e Bompeix (2005), o dióxido de enxofre difunde-se lateralmente através dos espaços livres do tecido vegetal, causando a morte celular, o que resulta na área necrótica esbranquiçada.

Avaliação dos danos mecânicos

A avaliação dos danos mecânicos é realizada por meio da análise visual dos frutos, utilizando-se uma

Fotos: Josiane Pasini.



Fig. 7. Peras com danos mecânicos por atrito submetidas ao método para evidenciar lesões com SO_2 2 mL.L⁻¹ durante duas horas.

escala de notas adaptada de Slaughter et al. (1993), onde: 0 = sem dano; 1 = dano muito leve; 2 = dano leve; 3 = dano moderado; 4 = dano severo; e 5 = dano muito severo.

Escalas de severidade

A escala de severidade para cada um dos métodos testados foi elaborada com as peras submetidas aos diferentes níveis de rotação em agitador orbital. A nota zero indica ausência de danos mecânicos, enquanto que a nota cinco indica a maior área e severidade de lesão por atrito (Figuras 8, 9 e 10).

1. Acondicionamento em embalagem de polietileno

Fotos: Josiane Pasini.



Fig. 8. Escala crescente de severidade do dano mecânico por atrito em peras submetidas ao método para evidenciar lesões em embalagem de PEBD (8 μm). Escala de notas: 0 = sem dano; 1 = dano muito leve; 2 = dano leve; 3 = dano moderado; 4 = dano severo; e 5 = dano muito severo.

2. Imersão em solução de 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio (TCT)

Fotos: Josiane Pasini.

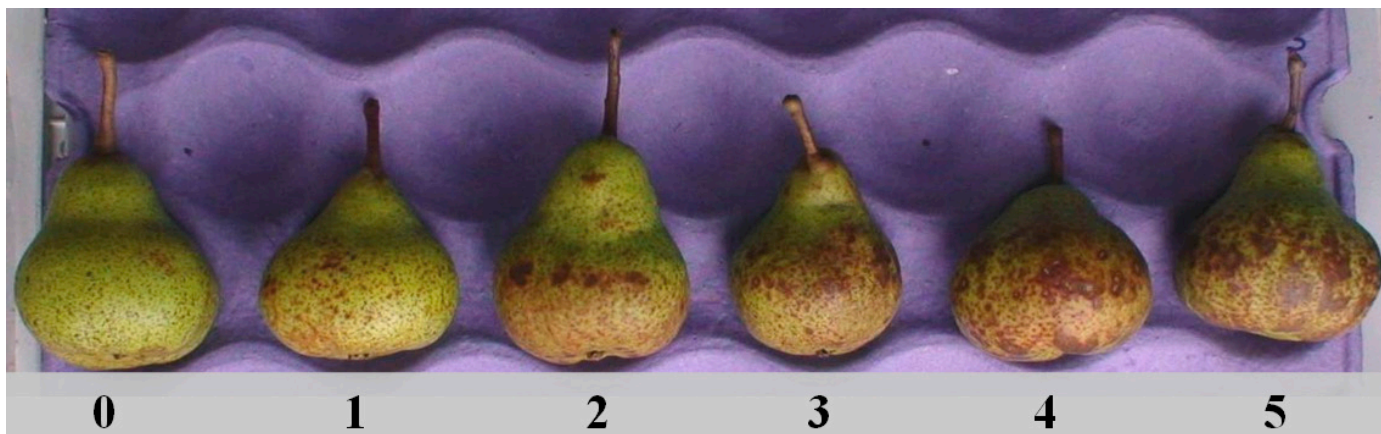


Fig. 9. Escala crescente de severidade do dano mecânico por atrito em peras submetidas ao método para evidenciar lesões com solução de TCT 0,1% (p/v). Escala de notas: 0 = sem dano; 1 = dano muito leve; 2 = dano leve; 3 = dano moderado; 4 = dano severo; e 5 = dano muito severo.

3. Fumigação com dióxido de enxofre (SO₂)

Fotos: Josiane Pasini.



Fig. 10. Escala crescente de severidade do dano mecânico por atrito em peras submetidas ao método para evidenciar lesões com SO₂ 2 mL.L⁻¹. Escala de notas: 0=sem dano; 1=dano muito leve; 2=dano leve; 3=dano moderado; 4=dano severo; e 5=dano muito severo.

Referências

AGAR, I. T.; MITCHAM, E. J. Commercial handling influences quality and ripening of Bartlett pears. **California Agriculture**, Berkley, v. 54, n. 3, p. 34-37, 2000.

AMIRI, A.; BOMPEIX, G. Micro-wound detection on apple and pear fruit surfaces using sulfur dioxide. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 36, n. 1, p. 51-59, 2005.

BANKS, N. H. Estimating skin resistance to gas diffusion in apples and potatoes. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 36, n. 12, p. 1842-1850, 1985.

BARROS, D. I.; DIAS, D. C. F. S.; BHERING, M. C.; DIAS, L. A. S.; ARAÚJO, E. F. Uso do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de abobrinha. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. 165-171, 2005.

BOMPEIX, G. Perméabilité lenticellaire des pommes et susceptibilité aux attaques fongiques. **Bulletin de la Societe Botanique de France**, Cedex, v. 115, n. 1, p. 75-81, 1968.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 783 p.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **The tetrazolium test for soybean seeds**. Londrina: EMBRAPA-CNPQ, 1998. 71 p.

FREIRES, I. A. Atividades antibacteriana e antiaderente in vitro de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. **Odontologia Clínica Científica**, Recife, v. 9, n. 2, p. 139-143, 2010.

JACKSON, P. J.; HARKER, F. R. Apple bruise detection by electrical impedance measurement. **HortScience**, Alexandria, v. 35, n. 1, p. 104-107, 2000.

KNEE, M.; MILLER, R. Mechanical injury. In: KNEE, M. (Ed.). **Fruit quality and its biological basis**. Florida: CRC, 2002. p. 157-179.

LOPES, M. M.; PRADO, M. O. D.; SADER, R.; BARBOSA, R. M. Efeitos dos danos mecânicos e fisiológicos na colheita e beneficiamento de sementes de soja. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 2, p. 230-238, 2011.

MARCONDES, M. C.; MIGLIORANZA, E.; FONSECA, I. C. B. Danos mecânicos e qualidade fisiológica de semente de soja colhida pelo sistema convencional e axial. **Revista Brasileira de Sementes**, Uberlândia, v. 27, n. 2, p. 125-129, 2005.

MONTERO, C. R. S. **Alterações fisiológicas e anatômicas causadas por danos mecânicos durante o beneficiamento de maçãs e frutos cítricos.** 2010. 142 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MONTERO, C. R. S.; ANTES, R. B.; SANTOS, R. P.; SHWARZ, L. L.; SANTOS, L. C.; ANDREAZZA, C. S.; BENDER, R. J. Efeitos da escovação em máquina classificadora na cutícula de maçãs cultivares Fuji e Gala. **Biotemas**, Florianópolis, v. 22, n. 2, p. 9-17, 2009.

OLIVEIRA, J. A.; CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C.; SILVA, E. P. A. Utilização de corantes na verificação de incidência de danos mecânicos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Uberlândia, v. 20, n. 2, p. 125-128, 1998.

SANCHES, J.; DURIGAN, J. F.; DURIGAN, M. F. B. Aplicação de danos mecânicos em abacates e seus efeitos na qualidade dos frutos. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 164-175, 2008.

SLAUGHTER, D. C.; HINSCH, R. T.; THOMPSON, J. F. Assessment of vibration injury to Bartlett pear. **Transactions of the ASAE**, Saint Joseph, v. 36, n. 4, p. 1043-1047, 1993.

UNDERHILL, S. J. R.; CRITCHLEY, C. The physiology and anatomy of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.)

pericarp during fruit development. **Journal Horticultural Science**, Ashford, v. 67, n. 4, p. 437-444, 1992.

VERAVERBEKE, E. A.; VAN BRUAENE, N.; VAN OOSTVELDT, P.; NICOLAÏ, B. M. Non destructive analysis of the wax layer of apple (*Malus domestica* Borkh.) by means of confocal laser scanning microscopy. **Planta**, Berlin, v. 213, n. 4, p. 525-533, 2001.

VIGNEAULT, C.; BORDINT, M. R.; ABRAHÃO, R. F. Embalagem para frutas e hortaliças. In: CORTEZ, L. A. B.; HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L. (Ed.). **Resfriamento de frutas e hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p. 96-121.

WANG, C. Y.; MELLENTHIN, W. M. Inhibition of friction discoloration on 'd'Anjou' pears by 2-mercaptobenzothiazole. **HortScience**, Alexandria, v. 9, n. 3, p. 196, 1974.

WANG, C. Y.; MELLENTHIN, W. M. Relationship of friction discoloration to phenolic compounds in 'd'Anjou' pears. **HortScience**, Alexandria, v. 8, n. 4, p. 321-323, 1973.

YURI, J. A.; VÁSQUEZ, J. L.; MOGGIA, C.; DÍAZ, R. Manejo de la fruta para lograr bajo riesgo de machucón durante el embalaje. **Revista Frutícola**, Curico, v. 26, n. 1, p. 13-24, 2005.

Comunicado Técnico, 127

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Uva e Vinho
Rua Livramento, 515 - Caixa Postal 130
95700-000 Bento Gonçalves, RS
Fone: (0xx) 54 3455-8000
Fax: (0xx) 54 3451-2792
<http://www.cnpuv.embrapa.br>

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



1ª edição

1ª impressão (2012): 500 exemplares

Comitê de Publicações

Presidente: Mauro Celso Zanus
Secretária-Executiva: Sandra de Souza Sebben
Membros: Alexandre Hoffmann, César Luís Girardi, Flávio Bello Fialho, Henrique Pessoa dos Santos, Kátia Midori Hiwatashi, Thor Vinícius Martins Fajardo e Viviane Maria Zanella Bello Fialho

Expediente

Editoração gráfica: Alessandra Russi
Normalização bibliográfica: Kátia Midori Hiwatashi