

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Tese

**Atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das
clorofilas: avaliação da qualidade e perfil de compostos voláteis durante o
armazenamento de maçãs 'Royal Gala'**

Jardel Araujo Ribeiro

Pelotas/RS, 2022

Jardel Araujo Ribeiro

**Atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das
clorofilas: avaliação da qualidade e perfil de compostos voláteis durante o
armazenamento refrigerado de maçãs 'Royal Gala'**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Professor Ph. D. Leonardo Nora

Coorientador: Pesquisador Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano

Pelotas/RS, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

R484a Ribeiro, Jardel Araujo

Atmosfera Controlada Dinâmica Monitorada pela
Fluorescência das Clorofilas: Avaliação da Qualidade e
Perfil de Compostos Voláteis Durante o Armazenamento
Refrigerado de Maças 'Royal Gala' / Jardel Araujo Ribeiro ;
Leonardo Nora, orientador ; Rufino Fernando Flores
Cantillano, coorientador. — Pelotas, 2022.

127 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de
Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas,
2022.

1. *Malus domestica* Borkh. 2. Etileno. 3. Metabolismo
anaeróbico. 4. Aroma. 5. Compostos fenólicos. I. Nora,
Leonardo, orient. II. Cantillano, Rufino Fernando Flores,
coorient. III. Título.

CDD : 664

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Jardel Araujo Ribeiro

**Atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das
clorofilas: avaliação da qualidade e perfil de compostos voláteis durante o
armazenamento refrigerado de maçãs 'Royal Gala'**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em
Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade
Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 14/03/2022

Banca examinadora:

Prof. PhD. Leonardo Nora - Presidente/Orientador - PPGCTA/UFPel

Pesq. Dr. Rufino F. F. Cantillano - Coorientador - Embrapa Clima Temperado

Prof^a. Dr^a. Elessandra da Rosa Zavareze - PPGCTA/UFPel

Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi - PPGCTA/UFPel

Dr^a. Helen Cristina dos Santos Hackbart - PPGCTA/UFPel

Agradecimentos

À Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) pela oportunidade de realização do mestrado e doutorado;

À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado;

À Embrapa Clima Temperado, pela disponibilidade da infraestrutura, ao Dr. Ricardo Alexandre Valgas pelo apoio estatístico e a equipe de funcionários do Núcleo de Alimentos/Fisiologia Pós-Colheita, pela amizade e disposição em auxiliar e atender as necessidades.

À minha banca de orientação, composta pelo pesquisador Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano e professor Ph. D. Leonardo Nora, pelas conversas, ensinamentos, paciência, incentivos, oportunidades, apoio e confiança depositada;

Aos meus queridos pais Julio e Cleusa pelo apoio e incentivo incondicional durante toda a minha vida;

As queridos colegas e amigos Elisa, Chirle, Marjana, Helen, Fernanda, Taiane, Alex, Maurício, Isabel, Claudia, Guilherme, Carol, Débora e Carolina pelo apoio, incentivo e ajuda na condução e avaliação dos experimentos;

Ao querido professor Dr. Pedro Sanches pela grande ajuda, confiança, incentivo, cordialidade e risadas nos mais diversos momentos;

À querida Dra. Helen Hackbart pela cordialidade, presteza, compreensão, paciência, carinho e grandes ensinamentos;

Ao querido Francys Gigliotti pelo apoio, compreensão, carinho, paciência e incentivo nos mais diversos momentos;

A todos os meus amigos e colegas, que sempre torceram por mim, me incentivaram e me apoiaram;

Agradecer é o reconhecimento da necessidade que temos do outro; é quando admitimos que sozinhos não teríamos chegado onde chegamos.

Gratidão

substantivo feminino

Reconhecimento por um benefício recebido; agradecimento: dar provas de gratidão.

[Popular] Reconhecimento de um benefício ou demonstração de agradecimento a alguém por algo bom que essa pessoa tenha feito; obrigado.

Etimologia

Do latim *gratitūdo*, *īnis*"

Resumo

RIBEIRO, Jardel Araujo. **Atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas: avaliação da qualidade e perfil dos compostos voláteis durante o armazenamento refrigerado de maçãs 'Royal Gala'**. 2022. 127f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Atualmente, uma das técnicas mais utilizadas no armazenamento de maçãs é a atmosfera controlada (AC), que além da diminuição da temperatura, permite a redução na pressão parcial do O_2 e aumento do CO_2 . No entanto, mesmo sob AC ocorrem perdas durante o armazenamento prolongado, especialmente com a ocorrência de distúrbios fisiológicos, podridões e alterações do sabor/odor provocados principalmente pelo decréscimo de compostos voláteis. Desta forma, técnicas auxiliares à AC são implementadas para manter a qualidade dos frutos durante o armazenamento. Dentre estas técnicas, se destaca a aplicação do 1-metilciclopropeno (1-MCP). Embora estas técnicas associadas sejam eficientes para manter a qualidade dos frutos, não conseguem ter a mesma eficiência na manutenção dos compostos aromáticos da maçã. Não aplicar o 1-MCP seria uma alternativa para reduzir a perda de compostos voláteis ao longo do armazenamento. No entanto, isto implicaria em acentuada perda de qualidade. Reduzir o O_2 a níveis inferiores aos utilizados na AC seria uma boa opção, pois quanto menor for a disponibilidade de O_2 para os frutos, menor será o seu metabolismo. Mas para reduzir a pressão parcial de O_2 de maneira segura durante o armazenamento, seria necessário o monitoramento do limite mínimo de O_2 em tempo real para adequar a pressão parcial de O_2 ao metabolismo dos frutos e impedir o metabolismo anaeróbico. Esse sistema de armazenamento é conhecido como atmosfera controlada dinâmica (ACD). Neste experimento foi utilizado o sistema ACD baseado na fluorescência de clorofilas (ACD-FC), que é o mais utilizado na atualidade. Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar maçãs 'Royal Gala' armazenadas em ACD-FC, em comparação a maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC, em ambos os casos com e sem aplicação de 1-MCP permitindo definir a condição de armazenamento com menor índice de perda de qualidade. As condições de armazenamento avaliadas foram: **(AC)** armazenamento em atmosfera controlada com 1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2 ; **(AC + 1-MCP)** armazenamento em atmosfera controlada com 1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2 + 1-MCP; **(ACD-FC)** atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas com 0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2 e **(ACD-FC + 1-MCP)** atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas com 0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2 + 1-MCP. Nessas condições, os frutos foram armazenados durante 0, 90, 180 e 270 dias mais sete dias a 20 °C e umidade relativa de 70 % simulando a vida de prateleira. As análises de qualidade realizadas foram: acidez titulável, firmeza da polpa, atividade antioxidante, compostos fenólicos totais, enzimas polifenoloxidase e peroxidase, produção de etileno etanol e acetaldeído, compostos voláteis e distúrbios fisiológicos. Nas avaliações físico-químicas, identificou-se que independente do sistema de armazenamento, houve decréscimo na acidez dos frutos. A firmeza da polpa e epiderme foi superior nos frutos em que o 1-MCP

foi aplicado. Os compostos fenólicos e atividade antioxidante foram superiores nos frutos armazenados em AC + 1-MCP, ACD-FC e ACD-FC + 1-MCP. Quanto as enzimas peroxidase e polifenoloxidase, a ACD-FC apresentou comportamento satisfatório, pois preservou a atividade enzimática durante os 270 dias de armazenamento. As maçãs tratadas com 1-MCP foram as que menos produziram etileno. A produção de etanol e acetaldeído ficaram abaixo das concentrações prejudiciais aos frutos. Embora com concentração reduzida de compostos voláteis, a aplicação do 1-MCP se mostrou bastante eficiente na manutenção de frutos saudáveis ao longo dos 270 dias de experimento, implicando em perdas inferiores a 20 %. De forma geral, os compostos voláteis apresentaram elevadas concentrações no início do armazenamento e redução significativa a partir de 90 dias. Apenas dois alcoóis (2-Phenyl-2-propanol e 2-methyl-1-butanol) aumentaram a sua concentração ao longo de 270 dias de armazenamento. Nas maçãs onde não houve aplicação de 1-MCP, a produção de compostos aromáticos sempre foi superior aos frutos tratados com 1-MCP, especialmente nas duas primeiras avaliações. A ACD-FC manteve a produção de compostos voláteis superior aos frutos tratados com 1-MCP, mas inferior a AC. A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, consideramos que a qualidade das maçãs armazenadas em ACD-FC foi inferior à dos frutos acondicionados em AC + 1-MCP.

Palavras-chave: *Malus domestica* Borkh, Etileno, Metabolismo anaeróbico, Aroma, Compostos fenólicos

Abstract

RIBEIRO, Jardel Araujo. **Dynamic controlled atmosphere monitored by chlorophyll fluorescence: assessment of quality and profile of volatile compounds during refrigerated storage of 'Royal Gala' apples**. 2022. 127f. Thesis (Doctorate) - Postgraduate Program in Food Science and Technology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

Currently, one of the most used techniques in the storage of apples is the controlled atmosphere (CA), which, in addition to reducing the temperature, allows a reduction in the partial pressure of O₂ and an increase in CO₂. However, even under CA, losses occur during prolonged storage, especially with the occurrence of physiological disorders, rotting and decrease of volatile compounds, causing undesirable changes in taste and odor. In this way, auxiliary techniques to CA are implemented to maintain fruit quality during storage. Among these techniques, the application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) stands out. Although these associated techniques are efficient to maintain the quality of the fruit, they cannot have the same efficiency in the maintenance of the aromatic compounds of the apple. Not applying 1-MCP would be an alternative to reduce the loss of volatile compounds during storage. However, this would imply a marked loss of quality. Reducing O₂ to levels below those used in CA would be a good option, because the lower the availability of O₂ for the fruits, the lower their metabolism. But to safely reduce the O₂ partial pressure during storage, it would be necessary to monitor the O₂ minimum threshold in real time to adjust the O₂ partial pressure to the fruit metabolism and prevent anaerobic metabolism. This storage system is known as dynamic controlled atmosphere (DCA). In this experiment, the DCA system based on chlorophyll fluorescence (DCA-CF) was used, which is currently the most used. Thus, the objective of this research was to characterize 'Royal Gala' apples stored in DCA-CF, compared to 'Royal Gala' apples stored in CA, in both cases with and without application of 1-MCP, allowing to define the storage condition with lower rate of quality loss. The storage conditions evaluated were: **CA**: controlled atmosphere with 1.1-1.3 kPa O₂ + 1.5-1.7 kPa CO₂; **CA + 1-MCP**: controlled atmosphere storage with 1.1-1.3 kPa O₂ + 1.5-1.7 kPa CO₂ + 1-MCP; **DCA-CF**: dynamic controlled atmosphere monitored by chlorophylls fluorescence with 0.35-0.45 kPa O₂ + 1.1-1.2 kPa CO₂ and **DCA-CF + 1-MCP**: dynamic controlled atmosphere monitored by chlorophylls fluorescence with 0.35-0.45 kPa O₂ + 1.1-1.2 kPa CO₂ + 1-MCP. Under these conditions, the fruits were stored for 0 d, 90 d, 180 d and 270 d plus 7 d at 20 °C and relative humidity of 70 %, simulating the shelf life. The quality analyzes performed were: titratable acidity, pulp firmness, antioxidant activity, total phenolic compounds, polyphenoloxidase and peroxidase enzymes, ethylene, ethanol and acetaldehyde production, volatile compounds and physiological disorders. In the physicochemical evaluations, it was identified that, regardless of the storage system, there was a decrease in the acidity of the fruits. The firmness of the pulp and epidermis was superior in the fruits in which 1-MCP was applied. Phenolic compounds and antioxidant activity were higher in fruits stored in CA + 1-MCP, DCA-CF and DCA-CF + 1-MCP. As for the peroxidase and polyphenoloxidase enzymes, the DCA-CF showed satisfactory effect, as it preserved the enzymatic activity during the 270 days of

storage. The apples treated with 1-MCP produced the least amount of ethylene. The production of ethanol and acetaldehyde were below the concentrations harmful to the fruits. Although with a reduced concentration of volatile compounds, the application of 1-MCP proved to be quite efficient in maintaining healthy fruits throughout the 270 days of the experiment, resulting in losses of less than 20 %. In general, the volatile compounds showed high concentrations at the beginning of storage and a significant reduction after 90 days. Only two alcohols (2-phenyl-2-propanol and 2-methyl-1-butanol) increased their concentration over 270 days of storage. In apples where there was no application of 1-MCP, the production of aromatic compounds was always superior to the fruits treated with 1-MCP, especially in the first two evaluations. The DCA-CF maintained the production of volatile compounds higher than the fruits treated with 1-MCP, but lower than the CA. Based on the results obtained in the present work, we consider that the quality of apples stored in DCA-CF was inferior to that of fruits stored in CA + 1-MCP.

Keywords: *Malus domestica* Borkh, Ethylene, Anaerobic metabolism, Aroma, Phenolic compounds

Lista de Figuras

- Figura 1: Vista esquemática do sistema de detecção da fluorescência da clorofila de amostras de maçã.....35
- Figura 2: Efeito da concentração de oxigênio ($\diamond$) na fluorescência da clorofila (linha sólida) em maçãs ao longo do armazenamento em ACD-FC35
- Figura 3. Disposição dos tratamentos ao longo de 0 (a), 90 (b), 180 (c) e 270 (d) dias de armazenamento de maçãs 'Royal Gala' em AC, AC + 1-MCP, ACD-FC e ACD-FC + 1-MCP. Após o armazenamento nas câmaras frias, os frutos foram submetidos a mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.50
- Figura 4. Acidez Titulável de maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.56
- Figura 5. Firmeza da epiderme (a) e polpa (b) de maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.58
- Figura 6. Compostos fenólicos totais (a), atividade antioxidante (b), peroxidase (c) e polifenoloxidase (d) de maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera

controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira62

Figura 7. Produção de etileno nas microcâmaras de armazenamento das maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.65

Figura 8. Produção de etileno (a), etanol (b) e acetaldeído (c) das maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira..68

Figura 9. Apodrecimento (a), degenerescência senescente (b) e frutos saudáveis (c) de maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira73

Figura 10. Alcoóis (a, b, c, d, e, f, g, h) identificados em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) +

1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.78

Figura 11. Ésteres (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j), hidrocarbonetos (k, l, m, n, o, p), ácido carboxílico (q), monoterpénóide (r), cetona (s) e tiazol (t) identificados em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.83

Figura 12. Aldeídos (a, b, c) e hidrocarbonetos monoterpénos (d, e, f) identificados em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.87

Figura 13. Eixo y. Representação gráfica dos autovalores (eigenvalues) da análise fatorial do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC (atmosfera controlada) AC + 1-MCP, ACD-FC (atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas) e ACD-FC + 1-MCP por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.....92

Figura 14. Representação gráfica das correlações das variáveis do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC (atmosfera controlada) AC + 1-MCP, ACD-FC (atmosfera controlada dinâmica monitorada

pela fluorescência das clorofilas) e ACD-FC + 1-MCP por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira92

Figura 15. Eixo y. Representação gráfica dos tratamentos de sistemas de armazenamento do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC (atmosfera controlada) AC + 1-MCP, ACD-FC (atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas) e ACD-FC + 1-MCP por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira93

Figura 16. Eixo y. Representação gráfica do tratamento de aplicação de 1-MCP em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC (atmosfera controlada) AC + 1-MCP, ACD-FC (atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas) e ACD-FC + 1-MCP por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira94

Figura 17. Eixo y. Representação gráfica do tratamento períodos de armazenamento do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC (atmosfera controlada) AC + 1-MCP, ACD-FC (atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas) e ACD-FC + 1-MCP por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira94

Figura 18. Eixo y. Representação gráfica do tratamento de períodos de armazenamento do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC (atmosfera controlada) AC + 1-MCP, ACD-FC (atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas) e ACD-FC + 1-MCP por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira95

Lista de Tabelas

Tabela 1. Índices de retenção e íons de referência dos compostos voláteis identificados nas maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC (atmosfera controlada) AC + 1-MCP, ACD-FC (atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas) e ACD-FC + 1-MCP por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira ----- 75

Tabela 2. Eixo x. Autovalores, variância de cada fator e variância acumulada dos quatro fatores principais, do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC (atmosfera controlada) AC + 1-MCP, ACD-FC (atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas) e ACD-FC + 1-MCP por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. ----- 91

Tabela 3. Eixo x. Principais saturações fatoriais das variáveis de qualidade, do experimento com maçã 'Royal Gala' em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC (atmosfera controlada) AC + 1-MCP, ACD-FC (atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas) e ACD-FC + 1-MCP por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira----- 93

Sumário

1. Introdução e Justificativa.....	20
2. Hipóteses	23
3. Objetivos.....	23
3.1. Objetivo geral	23
3.2. Objetivos específicos	23
4. Revisão da Literatura	24
4.1. Armazenamento das maçãs.....	24
4.2. Temperatura e umidade	24
4.3. Armazenamento Refrigerado	27
4.4. Atmosfera Controlada	28
4.5. Atmosfera Controlada Dinâmica (ACD)	30
4.6. Atmosfera Controlada Dinâmica Monitorada pela Fluorescência das Clorofilas (ACD-FC): Mecanismo Fisiológico e Identificação do limite mínimo de oxigênio (LMO).....	32
4.7. Metabolismo fermentativo	36
4.8. Etileno	39
4.9. Aplicação de 1-metilciclopropeno (1-MCP)	41
4.10. Compostos voláteis relacionados ao aroma	43
5. Materiais e Métodos.....	48
5.1. Material vegetal	48
5.2. Aplicação de 1-Metilciclopropeno	48
5.3 Condições de armazenamento e tratamentos avaliados.....	49
5.4. Implementação e monitoramento da AC e ACD-FC.....	50
5.5. Preparação de amostra	51
5.6. Análises de qualidade de frutas.....	51
5.6.1. Sólidos solúveis totais (SST).....	51
5.6.2. Acidez titulável (AT)	51
5.6.3. Firmeza da polpa (FP).....	52
5.6.4. Atividade antioxidante total (DPPH*)	52
5.6.5. Compostos fenólicos totais	52
5.6.6. Enzima polifenoloxidase (PPO).....	53
5.6.7. Enzima peroxidase (POD).....	53
5.6.8. Produção de etileno	53
5.6.9. Produção de acetaldeído e etanol.....	54
5.6.10. Análise dos compostos voláteis	54
5.6.11. Distúrbios fisiológicos	55
5.6.12. Análise estatística	55
6. Resultados e Discussão.....	55
6.1. Parâmetros físico-químicos	55
6.2. Compostos bioativos e atividade enzimática	59
6.3. Produção de etileno e metabolismo anaeróbico.....	66

6.4. Avaliação de distúrbios fisiológicos	71
6.5. Avaliação dos compostos voláteis	74
6.6. Análise Fatorial	90
7. Conclusão.....	96
8. Referências.....	97

Lista de Abreviaturas e Siglas

1-MCP	1-Metilciclopropeno
AC	Atmosfera Controlada
ACD	Atmosfera Controlada Dinâmica
ACD-FC	Atmosfera Controlada Dinâmica - Fluorescência da Clorofila
ADH	Álcool Desidrogenase
ATP	Adenosina Trifosfato
ATT	Álcool acetil transferase
AVG	Aminoetoxivinilglicina
CFT	Compostos Fenólicos Totais
C ₂ H ₄	Fórmula molecular do Etileno
CO ₂	Dióxido de Carbono (gás carbônico)
CoA	Coenzima A
CR	Câmara Refrigerada
cv.	Cultivar
CVs	Compostos Voláteis
CE	Câmaras experimentais
d	Dias
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
FF	Fruta Fresca
FIRM	<i>Fluorescence Interactive Response Monitor</i>
Fo	Fluorescência Mínima
GC	Cromatógrafo a gás
GC-FID	Cromatógrafo a gás com detector por ionização por chama
GC-MS	Cromatógrafo a gás acoplado à espectrômetro de massa
h	Horas
Kcal	Quilo caloria (mil calorias)
Kg	Quilo grama (mil gramas)
kPa	Quilo Pascal (mil Pascais)
L	Litro
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
LMO	Limite Mínimo de Oxigênio
m ³	Metro cúbico
mL	Mililitro (um milésimo de um litro)

mm	Milímetro (um milésimo de um metro)
N	Newton
N ₂	Nitrogênio
NAD ⁺	Dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado
NADH	Dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido
O ₂	Oxigênio
OUB	Oxigênio Ultra Baixo
PCA	Ponto de Compensação Anaeróbico
POD	Peroxidase
PPO	Polifenoloxidase
%	Percentual
pO ₂	Pressão parcial de oxigênio
pCO ₂	Pressão parcial de gás carbônico
µg kg ⁻¹	Micrograma por Quilograma
µg L ⁻¹	Micrograma por Litro
RS	Rio Grande do Sul, Brasil
t	Toneladas
°C	Graus Celsius
UR	Umidade Relativa

1. Introdução e Justificativa

A produção brasileira de maçã (*Malus domestica* Borkh) na safra 2019/2020 foi de aproximadamente 938.665 t (ABH&F, 2021). Nesse período houve a importação de 107.342 t e exportação de 62.574 t (ABH&F, 2021). Estes números indicam que praticamente toda produção nacional é comercializada/consumida no mercado interno. A exportação de 6,66 % da produção nacional, majoritariamente ocorre no período de entressafra no hemisfério norte, sendo feita principalmente para Bangladesh, Irlanda, Portugal, Reino Unido e França (ABM, 2018). As principais cultivares de maçãs produzidas no Brasil são a Gala e a Fuji, e seus respectivos clones (LANDAU *et al.*, 2020). A coloração vermelha da epiderme, a boa conservação pós-colheita e, principalmente, as características organolépticas que agradam plenamente o paladar do consumidor brasileiro, foram fatores decisivos para o crescimento da produção e substituição da maçã importada (FIORAVANÇO, 2009).

A atmosfera controlada (AC) é uma tecnologia que já está bem estabelecida para o armazenamento de maçãs, visando longos períodos. O armazenamento neste sistema, além do manejo da temperatura e umidade relativa, consiste em baixar a pressão parcial de oxigênio (O_2) e elevar a pressão parcial de dióxido de carbono (CO_2) (MAZZURANA *et al.*, 2016). De acordo com AGAPOMI, (2017) [Associação Gaúcha de Produtores de Maçã], em torno de 66 % das maçãs produzidas no RS foram armazenadas em atmosfera controlada no ano de 2017. Este tipo de armazenamento reduz a respiração, a produção e a ação do etileno, retarda o amadurecimento, senescência e o desenvolvimento de vários distúrbios, especialmente aqueles relacionados a senescência, danos por frio (como a escaldadura) e o desenvolvimento de fungos patogênicos (BRACKMANN *et al.*, 2012), prolongando a vida pós-colheita das maçãs (BOTH *et al.*, 2014; DILLEY, 2010). Entretanto, quando o nível de O_2 é muito baixo, os frutos podem desenvolver distúrbios como ausência de sabor/odor (*off-flavour*) e escurecimento dos tecidos (KE *et al.*, 1993; WRIGHT *et al.*, 2015), como resultado do baixo suprimento de energia para as células (SAQUET *et al.*, 2000) ou danos por fermentação (WEBER *et al.*, 2015).

Além de concentrações adequadas de gases, temperatura e umidade, o manejo adequado do etileno é crucial para a obtenção de maçãs com qualidade durante todo o ano (BRACKMANN *et al.*, 2010). Diante disto, a aplicação pós-colheita do fitorregulador sintético 1-metilciclopropeno (1-MCP) é uma prática comum, visando a inibição da ação do etileno e desta forma, ajudando a manter a qualidade de diversas cultivares de maçã. O uso deste fitorregulador tem aumentado constantemente nos últimos anos (STREIF *et al.*, 2010). Isso ocorre, porque além de inibir a ação do etileno, também tem efeito sobre a expressão de genes relacionados às enzimas precursoras do etileno, como a ACC oxidase, ACC sintase e receptores de etileno (WAKASA *et al.*, 2006; TATSUKI *et al.*, 2007). No entanto, mesmo este fitormônio apresentando uma série de benefícios, seu uso é proibido em diversos países, bem como, sua aplicação em produtos orgânicos de acordo com a *National List of Allowed and Prohibited Substances* dos Estados Unidos (TRIVITTAYASIL *et al.*, 2018). Diante disto, pesquisas estão sendo desenvolvidas e aperfeiçoadas para acompanhar o metabolismo dos frutos durante o armazenamento e, assim, estabelecer níveis adequados de O₂ e/ou CO₂ durante o armazenamento visando reduzir a incidência de distúrbios, sem a aplicação de 1-MCP. Este sistema é denominado atmosfera controlada dinâmica (ACD). A detecção do ponto de compensação anaeróbico (ou processo fermentativo) em tempo real, que é o diferencial da ACD, pode ser feita de quatro formas: *i*) fluorescência da clorofila, *ii*) produtos da respiração anaeróbia (etanol), *iii*) quociente respiratório (WEBER *et al.*, 2017) e *iv*) produção de dióxido de carbono (THEWES., *et al.*, 2020d). Embora existam essas quatro tecnologias, a atmosfera controlada dinâmica baseada na fluorescência da clorofila (ACD-FC) é a mais amplamente estudada e utilizada no mundo pois pode ser aplicada a qualquer produto contendo clorofila. A ACD-FC consiste em um sistema de monitoramento não destrutivo da fluorescência das clorofilas, permitindo a detecção de estresse pela baixa concentração de O₂ antes do desenvolvimento de distúrbios fisiológicos das frutas armazenadas neste sistema (DeLL *et al.*, 1999; PRANGE *et al.*, 2003; RAFFO *et al.*, 2009; BOTH *et al.*, 2018). O armazenamento em ACD-FC, permite verificar quando a fruta está sob estresse devido às baixas concentrações de O₂ e a adaptação dinâmica na composição deste gás na câmara de armazenamento a níveis inferiores aos estabelecidos no sistema de armazenamento em oxigênio ultra baixo (OUB), mas ainda tolerados pelos frutos;

desta forma, torna-se possível otimizar os benefícios do OUB sem produzir efeitos prejudiciais devido a respiração anaeróbica (PRANGE *et al.*, 2003; GASSER *et al.*, 2008). A questão crucial para o armazenamento de frutos em ACD-FC é encontrar um nível de O₂ em que o metabolismo seja mínimo, mas o suficiente para produzir energia necessária para o funcionamento normal das células e reparo dos tecidos. Aliado a isso, é necessário a sinterização satisfatória de compostos voláteis no fruto para obtenção do aroma característico da maçã sem que ocorra o processo fermentativo. Os produtos do metabolismo fermentativo, quando em altas concentrações são relacionados ao *off-flavor* (ZANELLA *et al.*, 2005; RAFFO *et al.*, 2009; WRIGHT *et al.*, 2015), mas quando em baixas concentrações são importantes para a síntese de aroma (WRIGHT *et al.*, 2015).

Além de atributos de qualidade como aparência, firmeza e sabor (ESPINO-DÍAZ *et al.*, 2016), atributos sensoriais são importantes para conseguir maior aceitação dos consumidores de maçã (BONANY *et al.*, 2013). O sabor é uma das características mais importantes e distintivas deste fruto, sendo determinado principalmente pela relação entre açúcares e ácidos orgânicos, já o aroma é uma mistura complexa de muitos compostos voláteis cuja composição é específica para a espécie e para a variedade (PÉREZ; SANZ, 2008; ESPINO-DÍAZ *et al.*, 2016). O aroma depende dos compostos voláteis produzidos durante o armazenamento e/ou vida de prateleira. Condições de armazenamento com baixo O₂ que inibem a produção de etileno, prejudicam a síntese de voláteis (BANGERTH *et al.*, 2012; MATTHEIS *et al.*, 2005) mas tem pouco efeito sobre a biossíntese de ésteres ramificados (ARGENTA *et al.*, 2007; BOTH *et al.*, 2014). Por outro lado, altas concentrações de CO₂ suprimem a produção de compostos aromáticos com cadeias de carbono ramificadas e não ramificadas, então, o alto CO₂ provavelmente afeta o metabolismo de aminoácidos e ácidos graxos. O ciclo do ácido tricarboxílico, do qual a maioria dos precursores de aminoácidos é derivado, é inibido por CO₂ elevado (FRENKEL; PATTERSON, 1973). Assim, o CO₂ influencia na produção de voláteis através da supressão do metabolismo de aminoácidos (BRACKMANN *et al.*, 1993). A redução na produção de aromas também pode ser devida a uma baixa taxa respiratória em maçãs sob atmosfera controlada, o que pode esgotar os metabólitos energéticos armazenados, como ATP e NADPH, necessários para a biossíntese e catálise de ácidos graxos (SAQUET *et al.*, 2003). No entanto, o baixo O₂ não é o

único fator responsável pela menor produção de compostos voláteis durante o armazenamento (BANGERTH *et al.*, 2012), pois a aplicação de 1-MCP reduz ainda mais produção destes compostos. Diante disto, definir condições adequadas de armazenamento em ACD-FC para as principais cultivares brasileiras de maçã, sem a aplicação do 1-MCP, é importante para diminuir custos, aumentar a qualidade sensorial e atender à demanda por maçã orgânica com boa qualidade de consumo.

2. Hipóteses

Maçãs 'Royal Gala' armazenadas em atmosfera controlada dinâmica, monitorada pela fluorescência das clorofilas sem aplicação de 1-MCP quando comparadas a maçãs 'Royal Gala' tratadas com 1-MCP e armazenadas em atmosfera controlada, terão:

- 1) menor atividade metabólica ao longo do armazenamento;
- 2) melhores características físico-químicas;
- 3) maior produção de compostos voláteis e aroma característico mais acentuado;
- 4) menor incidência de distúrbios fisiológicos.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Caracterizar maçãs 'Royal Gala' armazenadas em atmosfera controlada dinâmica, monitorada pela fluorescência das clorofilas (ACD-FC), em comparação a maçãs 'Royal Gala' tratadas com 1-MCP e armazenadas em atmosfera controlada, permitindo definir a condição de armazenamento com menor índice de perda de qualidade.

3.2. Objetivos específicos

Avaliar o padrão de compostos voláteis aromáticos de maçãs armazenadas em AC convencional e ACD-FC com e sem 1-MCP após 0 d, 90 d, 180 d e 270 d de armazenamento mais 7 dias de simulação da vida de prateleira a 20 °C;

Avaliar a qualidade físico-química, bioquímicas e distúrbios fisiológicos de maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC e ACD-FC com e sem 1-MCP após 0 d, 90 d, 180 d e 270 dias de armazenamento, mais 7 dias de vida de prateleira a 20 °C;

Quantificar a produção de etileno, etanol e acetaldeído após a simulação da vida de prateleira de cada período de armazenamento;

Identificar o tipo de atmosfera com o menor índice de distúrbios fisiológicos após os armazenamentos de 0 d, 90 d, 180 d e 270 dias, mais 7 dias de vida de prateleira a 20 °C.

4. Revisão da Literatura

4.1. Armazenamento das maçãs

No Rio Grande do Sul (RS), na safra 2020/2021 foram produzidas 630.010 t de maçã (AGAPOMI, 2022), sendo a maior parte dos frutos comercializados *in natura* no mercado interno. Para armazenar adequadamente estes frutos, o RS conta com a capacidade de armazenamento de 159.230 t em câmaras refrigeradas (CR) convencionais e 309.990 t em atmosfera controlada (AC) (AGAPOMI, 2019). O armazenamento destes frutos deve ser adequado para que no mercado interno haja oferta de maçã com boa qualidade de consumo ao longo do ano (VITALIJS; JUHNEVICA-RADENKOVA, 2018). Isso se faz necessário porque o amadurecimento de frutos é um processo geneticamente programado, que nos frutos climatérios ocorre também após o seu desligamento da planta (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

4.2. Temperatura e umidade

A temperatura é um dos fatores mais importante durante o armazenamento para a manutenção da qualidade de maçãs (BRACKMANN *et al.*, 2010). Tanto no Brasil, como no exterior, já está definida, para as principais cultivares de maçã uma temperatura fixa de armazenamento, que permite obter por um longo período frutos com qualidade (BRACKMANN *et al.*, 2010). O armazenamento em AC retarda a produção autocatalítica de etileno (MARTIN *et al.*, 2015), ajudando na redução da deterioração da cor, firmeza de polpa, sabor e valor nutricional (BRACKMANN *et al.*, 2008). No entanto, mesmo sob baixa temperatura em AC, ocorrem perdas durante o armazenamento prolongado (WATKINS, 2010), porque os limites mínimos de oxigênio (O₂) devem ser respeitados a fim de evitar danos aos frutos, como a perda de aromas (ECHEVERRIA *et al.*, 2002; GRAELL *et al.*, 2008). Além disso, quando não se consegue um controle eficiente das temperaturas ideais de armazenamento,

que estão próximas do limite mínimo tolerado pelos frutos, danos também podem ocorrer (BRACKMANN *et al.*, 2010). Embora a baixa temperatura de armazenamento reduza a taxa respiratória e o metabolismo, algumas reações são sensíveis e cessam completamente quando abaixo de uma temperatura crítica (BRACKMANN *et al.*, 2010). Dessa forma, a exposição dos frutos à temperatura abaixo da ideal pode promover um desequilíbrio no metabolismo, levando ao colapso das células e à manifestação de distúrbios fisiológicos. A degenerescência interna da polpa, um dos principais distúrbios fisiológicos de maçãs, é causada por temperaturas abaixo do nível crítico. Conforme Gran; Beaudry (1993), esse distúrbio inicia seu desenvolvimento na parte mediana da polpa e, frequentemente, se estende numa faixa contínua. As áreas afetadas apresentam uma coloração marrom-clara e são separadas da epiderme por uma camada de tecido sadio. Geralmente não aparecem sintomas externos, porém o fruto parece ser levemente esponjoso ao ser comprimido (BRACKMANN *et al.*, 2010).

A recomendação de temperatura para o armazenamento de maçãs 'Gala' e suas mutantes, ficava na faixa de 0 °C a 0,5 °C. No entanto, alguns pesquisadores verificaram que o armazenamento entre 1 °C e 1,5 °C apresentaram melhores resultados quando comparado com armazenamento sob temperaturas inferiores (WEBER *et al.*, 2011a; WEBER *et al.*, 2013; BOTH *et al.*, 2015). Os bons resultados obtidos com temperaturas mais altas durante o armazenamento de maçãs podem ser atribuídos à redução da respiração em função da baixa concentração de O₂ dentro em AC. Saquet *et al.*, (1997) obtiveram melhor manutenção da qualidade quando as maçãs 'Gala' foram armazenadas a 1 °C do que 0 °C. Para as cultivares 'Royal Gala', 'Galaxy' e 'Brookfield', Brackmann *et al.* (2009) recomendam armazenamento a 0,5 °C. Essas variações nas recomendações da temperatura ideal de armazenamento, possivelmente estão ligadas às condições edafoclimáticas de cultivo e ponto de maturação no momento da colheita. A concentração de oxigênio na câmara de armazenamento também possui relação com a temperatura ideal de armazenamento. Isso se deve à menor solubilidade do oxigênio nas células de maçã em temperaturas maiores, causando um incremento no limite mínimo de O₂ com o aumento da temperatura (WRIGHT *et al.*, 2010). Estes autores monitoraram através da fluorescência das clorofilas (FC) o estresse em maçãs, pela exposição à baixa pressão parcial de O₂, nas temperaturas de 20,0 °C, 10,0 °C, 3,5 °C e 0,0 °C e

obtiveram a ocorrência de pico de fluorescência (estresse) em 0,72 kPa de O₂, 0,33 kPa de O₂, 0,22 kPa de O₂ e 0,08 kPa de O₂, respectivamente. Segundo Wright *et al.*, (2010), estes resultados indicam o cuidado que se deve ter com a uniformidade da temperatura dentro das câmaras frias durante o armazenamento. Isso porque a temperatura dos frutos onde estão os sensores de fluorescência de clorofila pode ser diferente do centro da câmara fria. A redução da temperatura de maçãs armazenadas em grande quantidade em câmara fria, pode demorar vários dias e ser desuniforme, especialmente se temperatura inicial destas maçãs ("calor de campo") for muito elevada (WRIGHT *et al.*, 2010). Nesta condição a medição de valores de limite mínimo de oxigênio (LMO) acaba sendo desuniforme, provocando metabolismo anaeróbico nos frutos com temperatura mais elevada. Este problema permanece até que a temperatura dos frutos seja uniforme (WRIGHT *et al.*, 2010).

Atualmente há pesquisas voltadas para a combinação de AC com outras técnicas que reduzem o metabolismo para possibilitar o aumento na temperatura de armazenamento. Isso representaria um menor custo durante o armazenamento de maçãs. McCormick *et al.*, (2012) observaram que, com a aplicação de 1-MCP, foi possível elevar a temperatura de armazenamento em 2,4 °C acima da recomendada, sem prejuízo na qualidade dos frutos e economia de energia, de 30 % em média, para as cultivares de maçã 'Jonagold' e 'Gala' durante 6 meses de armazenamento. Kitemann *et al.*, (2015) ao trabalharem com as maçãs 'Golden Delicious', 'Jonagold' e 'Pinova' também observaram que o emprego de 1-MCP ou de ACD-FC, têm o potencial de compensar aspectos negativos decorrentes de aumento na temperatura de armazenamento, possibilitando redução no consumo de energia quando comparado ao armazenamento convencional em atmosfera com oxigênio ultra baixo (OUB).

A umidade relativa (UR) também tem grande importância durante o armazenamento de frutas e hortaliças. Quando excessivamente alta, proporciona condições para o desenvolvimento de doenças fúngicas e desordens fisiológicas e quando excessivamente baixa, resulta elevada perda de massa e murchamento (SCHWARZ, 1994; VERAVERBEKE *et al.*, 2003; BRACKMANN *et al.*, 2005; ANESE *et al.*, 2016). A maioria dos produtos horto frutícolas são constituídos por quantidades elevadas de água, e a manutenção dos níveis da UR durante o armazenamento permite evitar as perdas de água dos frutos, reduzindo as suas

perdas quantitativas (perda de massa) e qualitativas (plasmólise) (NGUYEN, *et al.*, 2007). Anese *et al.*, (2016) hipotetizam que a baixa UR em salas de armazenamento induz a liberação de água intracelular e celular para a câmara de armazenamento, fato que pode aumentar o espaço intercelular e a taxa de difusão gasosa, melhorando as trocas gasosas. A difusão de gases é muito importante para o metabolismo dos frutos, porque durante a respiração ocorre a captação de O₂ e a liberação de CO₂, que precisa ser difundida através da polpa da fruta (HO *et al.*, 2013). Segundo Brackmann *et al.*, (2004) as condições ideais de umidade para o armazenamento refrigerado de maçã 'Gala' oscilam entre 94 % e 96 % e maçã 'Fuji' de 92 % a 96 % de UR. O tempo de armazenamento é determinado pelo potencial genético da cultivar, pelo estágio de maturação das maçãs no momento da colheita, e pelas condições de armazenamento.

4.3. Armazenamento Refrigerado

O armazenamento refrigerado (AR) visa à manutenção da qualidade, controlando-se basicamente a temperatura, que diminui a velocidade com que ocorrem as reações bioquímicas na célula, dentre elas a respiração e a síntese de etileno, bem como o desenvolvimento de microrganismos (ASIF *et al.*, 2009; MOSTAFAVI *et al.*, 2013). Isso contribui para manter as características físico-químicas, qualidade sensorial e sanidade dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005; BRACKMANN, 2011). O tempo de armazenamento é determinado pelo potencial genético da cultivar, pelo estágio de maturação das maçãs no momento da colheita e pelas condições de armazenamento. Dentre as tecnologias comumente utilizadas que prolongam o período de oferta deste fruto estão a refrigeração convencional, a atmosfera modificada ou controlada associadas à aplicação de inibidores da ação do etileno como o 1-metilciclopropeno (1-MCP) (FAWBUSH *et al.*, 2009; HOANG *et al.*, 2011; WEBER *et al.*, 2013; BOTH *et al.*, 2014). O AR é comumente utilizado para prolongar a vida útil de frutas de clima temperado, ao combinar as baixas temperaturas, geralmente de -1 °C a 4 °C, com umidade relativa geralmente superior a 85 % (FACHINELLO, 1996; WATKINS *et al.*, 2004; CHONG *et al.*, 2013; MAZZURANA *et al.*, 2016). Esse sistema de armazenamento não permite um período de conservação muito longo devido ao rápido amadurecimento, a alta incidência de podridões e aos distúrbios fisiológicos dos frutos (BRACKMANN *et al.*,

2005; RUDELL *et al.*, 2011; BULENS *et al.*, 2012). Por isso, o armazenamento em AR vem sendo substituído pelo armazenamento em atmosfera controlada, sistema mais eficiente na redução da respiração e da produção de etileno, e consequentemente do amadurecimento (ECHEVERRÍA *et al.*, 2004; GWANPUA *et al.*, 2012; BOTH *et al.*, 2014; MAZZURANA *et al.*, 2016).

4.4. Atmosfera Controlada

No armazenamento comercial de maçãs, a tecnologia bem estabelecida de armazenamento em atmosfera controlada (AC) é amplamente utilizada para diminuir a incidência de distúrbios fisiológicos durante o armazenamento e manter a qualidade dos frutos a longo prazo (RAFFO *et al.*, 2009). O armazenamento neste sistema, além do manejo da temperatura e umidade relativa, consiste em baixar a pressão parcial de oxigênio (O_2) e elevar a pressão parcial de dióxido de carbono (CO_2) (MAZZURANA *et al.*, 2016). De acordo com a AGAPOMI, (2017), em torno de 66 % das maçãs produzidas no RS foram armazenadas em atmosfera controlada no ano de 2017. Este tipo de armazenamento reduz a respiração, produção e a ação do etileno, retarda o amadurecimento, senescência e o desenvolvimento de vários distúrbios, especialmente aqueles relacionados a senescência, danos por frio (como a escaldadura) e o desenvolvimento de fungos patogênicos (BRACKMANN *et al.*, 2012), prolongando a vida pós-colheita das maçãs (BOTH *et al.*, 2014; DILLEY, 2010). Esses processos são reduzidos devido à redução no metabolismo (CERETTA *et al.*, 2010) e produção de etileno das frutas, como resposta às baixas temperaturas. A redução na concentração de oxigênio no armazenamento em AC reduz o metabolismo dos frutos pela redução da respiração, uma vez que o O_2 é o aceptor final de elétrons na atividade da enzima citocromo oxidase, da membrana mitocondrial, durante a respiração aeróbica (WRIGHT *et al.*, 2015). A baixa concentração de oxigênio também pode atuar de forma indireta pela redução na produção de etileno (LELIÈVRE *et al.*, 1997). O etileno é um dos fitormônios mais importantes na regulação de quase todas as fases do crescimento e desenvolvimento das plantas (JOHNSON; ECKER, 1998). Além disso, está envolvido no amadurecimento de frutos climatéricos, que apresentam nesta fase um drástico aumento na sua produção (GE *et al.*, 2017). O sinal de etileno desencadeia várias mudanças que levam à conversão de amido em açúcar livre, produção de

aroma, degradação de clorofila, acúmulo de carotenoides e degradação de componentes da parede celular (GRAY *et al.*, 1992).

A exemplo da redução na concentração de O₂, o aumento na concentração de CO₂ na AC também auxilia na redução do metabolismo, pela menor respiração ou diminuição da produção de etileno (KUBO *et al.*, 1990; LIU *et al.*, 2004). Isso ocorre devido a inibição de várias enzimas da rota glicolítica e do ciclo dos ácidos tricarboxílicos, mais especificamente na fosfofrutoquinase, succinato desidrogenase e isocitrato desidrogenase (KE *et al.*, 1995; LIU *et al.*, 2004). Elevada concentração de CO₂ também tem efeito na biossíntese de etileno, reduzindo a atividade da enzima ACC sintase e competindo com o etileno pelos receptores de etileno (MATHOOKO, 1996). A pressão parcial de um gás em uma mistura é a pressão que exerceria se os outros gases não estivessem presentes. Por exemplo, no ar ambiente a uma pressão de 100 kPa (atmosfera típica), as pressões parciais do oxigênio (21,0 %) e do dióxido de carbono (0,4 %), são de 21 kPa e 0,4 kPa, respectivamente. As pressões parciais de gases recomendadas para o armazenamento de maçã da cv. 'Gala', e suas mutantes, visando o prolongamento do armazenamento através da redução do metabolismo e produção de fitormônios são de 1,0 kPa a 1,2 kPa de O₂ e 2,0 kPa a 2,5 kPa de CO₂ (BRACKMANN *et al.*, 2010). No entanto, além das variações entre as espécies, a concentração ótima de gases pode variar em função de peculiaridades genéticas de diferentes mutantes, ainda que originados de uma única cultivar (BRACKMANN *et al.*, 2009; WEBER *et al.*, 2013). A 'Galaxy' por exemplo, apresentou melhor qualidade quando os frutos foram armazenados com pressões parciais de O₂ variando de 0,8 kPa a 1,0 kPa e não ultrapassando 2,5 kPa de CO₂ (BRACKMANN *et al.*, 2009). É necessário cuidado na definição das pressões parciais de gases, pois quando as condições de AC utilizadas durante o armazenamento são inadequadas para determinada cultivar, podem ocorrer perdas significativas em função de distúrbios fisiológicos (HO *et al.*, 2013; WEBER *et al.*, 2013). Esses distúrbios são ocasionados tanto por pressões parciais de CO₂ acima do limite tolerado pela cultivar (LUMPKIN *et al.*, 2015; CORRÊA *et al.*, 2010) quanto por pressões parciais de O₂ muito abaixo do limite mínimo necessário para a produção de ATP (HO *et al.*, 2013; FRANCK *et al.*, 2007).

Pressão parcial de O₂ abaixo do mínimo tolerado pelo fruto também provoca danos (THEWES *et al.*, 2015), como o metabolismo anaeróbico, resultando no

acúmulo de acetaldeído, etanol, e acetato de etila, que, em altas concentrações, podem causar distúrbios fisiológicos (SAQUET, STREIF, 2008; WRIGHT *et al.*, 2015). As pressões parciais adequadas são utilizadas durante todo o período de armazenamento, que pode ser de até nove meses. No entanto, normalmente a concentração de oxigênio recomendada para este tipo de armazenamento mantém uma margem de segurança acima do ponto de compensação anaeróbico (PCA) ou seja, o nível de O₂ onde a produção de CO₂ é mínima (BESSEMANS *et al.*, 2016). Abaixo do PCA, a fermentação, e não a respiração, dominará o metabolismo dos frutos (FONSECA; TESTIN, 2004; THEWES *et al.*, 2015; BESSEMANS *et al.*, 2016), podendo levar a produção de sabores e aromas anormais e distúrbios de armazenamento (FRANCK *et al.*, 2007; PRANGE, 2005; BESSEMANS *et al.*, 2016). Quando o PCA fica muito acima dos valores ideais, a taxa de respiração aumenta desencadeando a senescência (BESSEMANS *et al.*, 2016) e por consequência uma maior perda de qualidade dos frutos. Cabe salientar que a PCA pode variar com a estação, origem, cultivar e a data de colheita da maçã (TRAN *et al.*, 2015), obrigando o armazenamento dos frutos com uma concentração de oxigênio acima da PCA, como margem de segurança. Isso evita a fermentação, no entanto, resulta em mais perdas de qualidade. Portanto, uma abordagem alternativa, chamada atmosfera controlada dinâmica (ACD) foi desenvolvida, visando reduzir estas perdas e o armazenamento de produtos cultivados no sistema orgânico.

4.5. Atmosfera Controlada Dinâmica (ACD)

A ACD consiste em um sistema de monitoramento não destrutivo da fluorescência das clorofilas, permitindo a detecção de estresse pela baixa concentração de O₂ antes do desenvolvimento de distúrbios fisiológicos dos frutos armazenados neste sistema (DeLL *et al.*, 1999; PRANGE *et al.*, 2003; RAFFO *et al.*, 2009; BOTH *et al.*, 2018). O armazenamento em ACD, permite verificar quando a fruta está sob estresse devido às baixas concentrações de O₂ e a adaptação dinâmica na composição deste gás na câmara de armazenamento a níveis inferiores aos estabelecidos no armazenamento em oxigênio ultra baixo (OUB), mas ainda tolerados pelos frutos; desta forma, torna-se possível otimizar os maiores benefícios do UBO sem produzir efeitos prejudiciais devido a respiração anaeróbica (PRANGE *et al.*, 2003; GASSER *et al.*, 2008). O interesse por essa tecnologia também está

relacionado à sua potencial aplicação a crescente produção de maçãs orgânicas, onde o uso de produtos químicos na pós-colheita para controlar distúrbios e perda de qualidade geralmente é proibido (PRANGE *et al.*, 2006). Semelhante ao 1-MCP, a ACD reduz a produção de etileno, respiração, perda de firmeza, perda de acidez e mudança de cor (ZANELLA *et al.*, 2005; HENNECKE *et al.*, 2008; GASSER *et al.*, 2010).

Neste tipo de armazenamento, o PCA é monitorado em tempo real, permitindo detectar quando inicia o processo fermentativo devido as baixas concentrações parciais de oxigênio. No entanto, como a tolerância das espécies e cultivares de frutas varia, para que nenhuma produção de etanol ocorra, (LIDSTER *et al.*, 1985; LAU, 1989; KE *et al.*, 1991) diretrizes empíricas ainda são necessárias (WRIGHT *et al.*, 2012). Na maçã, após a detecção da fermentação, é injetado entre 0,2 kPa e 0,3 kPa de O₂ na câmara de armazenamento, e desta forma, a respiração anaeróbica é reduzida, não permitindo a ocorrência de danos ao fruto (GASSER *et al.*, 2008; WRIGHT *et al.*, 2012). A detecção do PCA (ou processo fermentativo), pode ser feita de quatro formas: (1) através da quantificação de etanol (SCHOUTEN *et al.*, 1998), (2) quociente respiratório (BESSEMANS *et al.*, 2016), (3) fluorescência das clorofilas (THEWES *et al.*, 2017) e (4) produção de dióxido de carbono (THEWES, *et al.*, 2020d). Embora existam essas quatro tecnologias para detectar o início do metabolismo anaeróbico, a atmosfera controlada dinâmica baseada na fluorescência da clorofila (ACD-FC) é a mais amplamente estudada (THEWES *et al.*, 2017; ZANELLA; STÜRZ, 2015; AUBERT *et al.*, 2015; TRAN *et al.*, 2015) e utilizada no mundo pois pode ser aplicada a qualquer produto contendo clorofila. Segundo Prange *et al.*, (2013), até a safra de 2012/2013, este sistema de armazenamento estava sendo utilizado comercialmente para maçãs e peras em mais de 15 países e em mais de 1.200 câmaras de armazenamento. No Brasil, a empresa RASIP, de Vacaria - RS, foi a primeira a utilizar a ACD-FC, no ano de 2010. Posteriormente, outras empresas brasileiras adotaram a técnica, visto que há vantagens na conservação da qualidade comparado à AC convencional.

4.6. Atmosfera Controlada Dinâmica Monitorada pela Fluorescência das Clorofilas (ACD-FC): Mecanismo Fisiológico e Identificação do limite mínimo de oxigênio (LMO)

No início do século 21, um grupo de pesquisa liderado por Robert Prange, no Canadá, propuseram uma nova forma de monitoramento e variação de O₂, a ACD baseada na fluorescência de clorofilas (PRANGE *et al.*, 2003; PRANGE *et al.*, 2005). Esta tecnologia baseou-se no princípio de que quando o fruto está sob estresse por baixo O₂, a emissão de fluorescência pelas clorofilas, quando estas recebem energia luminosa, sofre alteração. Essa tecnologia foi patenteada com o nome de HarvestWatch™ (PRANGE *et al.*, 2007) e comercializada pela empresa Italiana Isolcell. Em seguida surgiram pesquisas testando e comprovando a eficiência desta tecnologia em diversos frutos, principalmente em maçãs (DEUCHANDE *et al.*, 2016; BURDON *et al.*, 2008; LALLU; BURDON, 2006; THEWES *et al.*, 2015; GASSER *et al.*, 2009; BRIZZOLARA *et al.*, 2017; DeLONG *et al.*, 2006).

Segundo Maxwell; Johnson, (2000) o princípio básico da análise da fluorescência da clorofila é relativamente simples. A energia luminosa absorvida pelas moléculas de clorofila pode seguir um dos três destinos: *i*) ser usada para conduzir a fotossíntese (fotoquímica); *ii*) o excesso de energia pode ser dissipado como calor ou *iii*) pode ser reemitido como luz (fluorescência da clorofila). Esses três processos ocorrem em competição, de modo que qualquer aumento na eficiência de um resultará em uma diminuição no rendimento dos outros dois (MAXWELL; JOHNSON, 2000). O aumento súbito de fluorescência ocorre devido a incapacidade da transferência da energia luminosa captada pelas clorofilas para os centros ativos de reação (USTIN *et al.*, 2009). O estresse que provoca esses 'picos', pode advir de natureza ambiental (USTIN *et al.*, 2009), como seca, exposição a herbicidas, excesso de luz, temperatura ou redução excessiva de oxigênio (DeELL *et al.*, 1999; PRANGE *et al.*, 2007). Até o presente, não se tem clareza sobre o mecanismo fisiológico que faz a clorofila emitir fluorescência quando está sob pressão parcial de O₂ insuficiente para a respiração aeróbica (WRIGHT *et al.*, 2011). No entanto, há algumas hipóteses sobre esse mecanismo: *i*) temperatura de armazenamento quando o O₂ está abaixo do LMO (WRIGHT *et al.*, 2010). As baixas temperaturas, típicas durante o armazenamento a frio induzem acidose citoplasmática no tecido da planta (YOSHIDA, 1994, YOSHIDA *et al.*, 1999), aumentando a fluorescência das

clorofilas; *ii*) Prange *et al.* (2005b) sugeriram que a acidose citoplasmática, induzida por baixas concentrações de O₂, também pode provocar o aumento súbito de fluorescência em frutas e hortaliças. O estresse provocado pelo baixo teor de O₂ é conhecido por induzir acidose citoplasmática em plantas, inclusive em frutas e hortaliças (ROBERTS *et al.*, 1984; BERTL; FELLE, 1985; GOUT *et al.*, 2001; de SOUSA; SODEK, 2002). A sensibilidade da fluorescência ao pH citosólico poderia explicar os picos mais baixos em maçãs armazenadas em temperaturas mais baixas e por que a intensidade de fluorescência, independentemente do estresse, parece ter um limite. Não é sabido se os desvios da linha de base de fluorescência induzida pela temperatura refletem mudanças fisiológicas no fruto e se estão relacionados a mudanças induzidas pelo oxigênio (WRIGHT *et al.*, 2010); *iii*) outro possível motivo pode estar ligado ao ciclo das xantofilas, atualmente reconhecido como um dos principais reguladores metabólicos e também pelo mecanismo fotoprotetor encontrado nas plantas (WRIGHT *et al.*, 2011). Este ciclo possui um papel importante na regulação da dissipação da energia luminosa nos cloroplastos (MA; CHENG, 2003; MURCHIE; LAWSON, 2013). A acidificação do estroma, reduz a interconversão da xantofila em anteroxantina e, posteriormente em zeaxantina, pela inibição da enzima zeaxantina epoxidase (WRIGHT *et al.*, 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013). A conversão da xantofila em zeaxantina é importante para dissipar o excesso de energia na forma de calor, quando há excesso de compostos reduzidos (MA; CHENG, 2003). Quando este processo é inibido, ocorre a emissão de fluorescência de clorofila para dissipar o excesso de energia. Através da determinação da fluorescência dos cloroplastos, é possível verificar o nível de estresse provocado pelas baixas concentrações de oxigênio e identificar o LMO seguro dentro das câmaras de armazenamento. Para isso, são alocados de seis a oito frutos dentro de uma caixa plástica, equipada com um sensor de fluorescência (WRIGHT *et al.*, 2015) FIRM (*Fluorescence Interactive Response Monitor*). Esta caixa permanece no escuro, alocada dentro da câmara comercial a ser monitorada. Ao redor do FIRM, estão localizados quatro LEDs (*Light Emitting Diode*) de baixa intensidade (Figura 1), utilizados para estimular os fotossistemas da fruta que será avaliada (TRAN *et al.*, 2015).

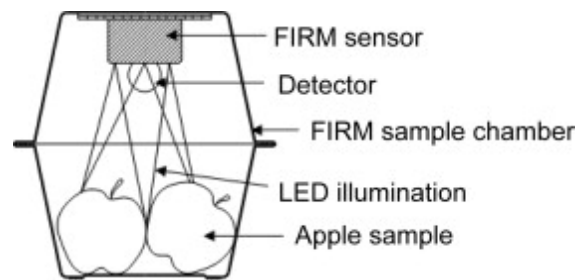


Figura 1: Vista esquemática do sistema de detecção da fluorescência da clorofila de amostras de maçã (TRAN *et al.*, 2015).

Quando os frutos estão sob estresse por exposição a baixas pressões parciais de O_2 , a clorofila presente na epiderme dos frutos responde à luz vermelha emitida pelos LEDs, emitindo fluorescência. Essa fluorescência é detectada pelo sensor FIRM, e transformada em um gráfico (Figura 2) através de um *software* (PRANGE *et al.*, 2007).

O parâmetro medido durante o armazenamento é o F_a , uma estimativa de fluorescência mínima (F_o) da fluorescência das clorofilas (PRANGE *et al.*, 2003; WRIGHT *et al.*, 2008). O F_a aumenta de acordo com o estresse gerado pelas baixas concentrações de O_2 , gerando um 'pico' (PRANGE *et al.*, 2007) e evidenciando o alto nível de estresse do fruto. A partir da geração desse 'pico', a pressão parcial de O_2 devem ser ajustada entre 0,2 kPa e 0,3 kPa acima do LMO (WRIGHT *et al.*, 2012).

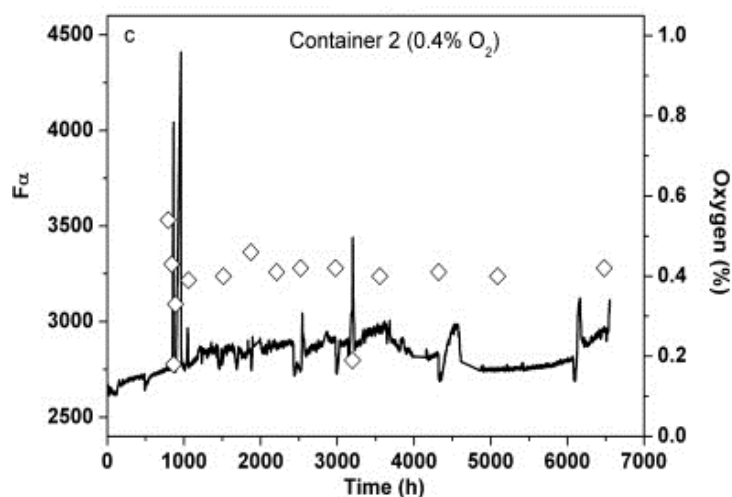


Figura 2: Efeito da concentração de oxigênio ($\diamond$) na fluorescência da clorofila (linha sólida) em maçãs ao longo do armazenamento em ACD-FC (TRAN *et al.*, 2015).

Para obtenção de um monitoramento representativo, são necessárias várias caixas com sensores dentro de uma única câmara (WRIGHT *et al.*, 2015). Além disso, a magnitude de F_a pode variar entre uma amostra e outra. Isso pode ocorrer devido a diferença no tamanho dos frutos alocados nas caixas com sensores, afetando a distância entre a epiderme e o sensor, mudando assim a intensidade do sinal (TRAN *et al.*, 2015). A utilização desta técnica, permite ao operador verificar em tempo real as mudanças provocadas pelas baixas pressões de O_2 e o monitoramento de hora em hora, durante todo o período de armazenamento dos frutos (TRAN *et al.*, 2015). Abaixo descrevemos algumas vantagens e desvantagens do armazenamento em ACD-FC.

Desvantagens:

- 1) Requer câmaras frias com vedação perfeita, permitindo a redução de custos na manutenção de baixas concentrações de O_2 (WATKINS, 2016);
- 2) Maior investimento inicial, especialmente em sensores, equipamentos eletrônicos e softwares (WATKINS, 2016);
- 3) Requer a seleção de frutos uniformes e que representem o conteúdo de toda a câmara de armazenamento (WATKINS, 2016);
- 4) Requer mão de obra qualificada para interpretar as mudanças nas respostas dos frutos às baixas concentrações de O_2 (WATKINS, 2016). Além disso, o operador deve saber que ação tomar após identificar as alterações;
- 5) Custo elevado (WATKINS, 2016);
- 6) Maior potencial de perda na qualidade após a remoção do armazenamento (WATKINS, 2016).

Vantagens:

- 1) Fácil instalação desde que as câmaras apresentem alta qualidade e estanqueidade (PRANGE *et al.*, 2012);
- 2) Não inibe o amadurecimento dos frutos, apenas atrasa (WRIGHT *et al.*, 2015);
- 3) Permite a realização de análises não destrutivas em frutas e vegetais que contenham clorofila (PRANGE *et al.*, 2012);

- 4) O monitoramento é rápido e frequente, tanto presencial quanto remoto, permitindo o arquivamento dos dados para conferência (PRANGE *et al.*, 2012);
- 5) Desnecessário calibrar durante a operação (PRANGE *et al.*, 2012);
- 6) Detecta alterações provocadas pela senescência, distúrbios e/ou condições inadequadas de armazenamento (PRANGE *et al.*, 2012);
- 7) Permite a redução na utilização de produtos químicos, bem como o armazenamento de produtos orgânicos (PRANGE *et al.*, 2012);
- 8) O equipamento se paga entre 2 e 3 anos em comparação com as despesas anuais com métodos baseados em produtos químicos (PRANGE *et al.*, 2012);
- 9) Redução de distúrbios e manutenção da qualidade durante o armazenamento (WRIGHT *et al.*, 2015).
- 10) A tecnologia fica sob o domínio da empresa que adquire o sistema.

4.7. Metabolismo fermentativo

A respiração aeróbica é a degradação oxidativa de moléculas complexas de substrato normalmente presentes em células vegetais, como amidos, açúcares e ácidos orgânicos, para moléculas mais simples, como CO₂ e H₂O (GROSS *et al.*, 2016). Já a respiração anaeróbica ou metabolismo fermentativo, ocorre quando a concentração de O₂ cai abaixo de um nível crítico, reduzindo a qualidade dos frutos. Saltveit (2002) e Gross *et al.*, (2016) descrevem o processo da seguinte forma: metabolismo fermentativo ou respiração anaeróbica envolve a conversão de açúcares hexose em álcool e CO₂ na ausência de O₂. O piruvato produzido através da glicólise por uma série de reações em que O₂ não é necessário, pode ser convertido em ácido láctico, ácido málico, acetil-CoA ou acetaldeído (GROSS *et al.*, 2016). O tipo de conversão depende do pH celular, do estresse e das necessidades metabólicas da célula (KADER; YAHIA, 2011). A acidificação do citoplasma aumenta a atividade da descarboxilase pirúvica, que então desvia o piruvato para formar CO₂ e acetaldeído. O acetaldeído é convertido pela enzima álcool desidrogenase em etanol com a recuperação de NAD⁺ (GROSS *et al.*, 2016). Duas moléculas de Adenosina Trifosfato (ATP) e 21 Kcal de energia térmica são produzidas na respiração anaeróbica (fermentação alcoólica) de cada molécula de glicose (KADER; YAHIA, 2011). Para manter o suprimento de ATP na taxa aeróbica, seriam

necessárias 19 vezes mais moléculas de glicose, e a glicólise aumentaria em 19 vezes. No entanto, uma vez que apenas duas moléculas de CO₂ são produzidas durante a glicólise, em vez de seis durante a respiração aeróbica, a taxa de produção de CO₂ não aumentaria em 19 vezes, mas apenas em 6,3 vezes (isto é, $19 \div 3$). Concomitantemente, haveria substancial acúmulo de etanol e menores quantidades de acetaldeído (GROSS *et al.*, 2016). O acetaldeído é um composto tóxico para as células pela sua capacidade de inativar enzimas (CHERVIN *et al.*, 1996).

A concentração de oxigênio na qual ocorre uma mudança de respiração predominantemente aeróbica para predominantemente anaeróbica é conhecida como ponto de compensação anaeróbico (PCA) (SALTVEIT, 2002). Essa mudança depende do estágio de maturação da fruta (características de difusão do gás), temperatura e duração da exposição a concentrações indutivas ao estresse. No entanto, como a concentração de oxigênio varia em determinados pontos de um fruto, as taxas de difusão e respiração também podem variar, tornando algumas regiões aeróbicas enquanto outras permanecem anaeróbicas (SALTVEIT, 2002; KADER; YAHIA, 2011; GROSS *et al.*, 2016).

O armazenamento de frutas em atmosfera controlada ajuda a manter vários atributos de qualidade, como firmeza da polpa, ácidos orgânicos, vitaminas e açúcares, quando comparado ao armazenamento refrigerado (STREIF, 2002; SAQUET *et al.*, 2008; BUTKEVICIUTE *et al.*, 2021). Além disso, auxilia no controle de insetos, doenças (KE *et al.* 1995; BUTKEVICIUTE *et al.*, 2021) e desordens fisiológicas (SAQUET *et al.*, 2008). No entanto, algumas alterações fisiológicas indesejáveis também podem ocorrer nos tecidos vegetais submetidos as baixas pressões parciais de O₂ e/ou pressões parciais elevadas de CO₂. Podemos destacar como alterações fisiológicas o metabolismo fermentativo, acúmulo de succinato e/ou alanina (PERATA; ALPI, 1993), diminuição no pH celular (LANGE; KADER, 1997) e diminuição nos níveis de ATP citoplasmáticos (SAQUET *et al.* 2003), reduzindo a atividade da piruvato desidrogenase (KADER; YAHIA, 2011). A via mais ativa do metabolismo fermentativo em vegetais resulta no acúmulo de acetaldeído e etanol, catalisados respectivamente pelas enzimas piruvato descarboxilase e álcool desidrogenase (KE *et al.*, 1994a). No entanto, o acúmulo de produtos fermentativos (isto é, etanol, acetaldeído e acetato de etila) associados à respiração anaeróbica

deve ser evitado durante o armazenamento, pois podem produzir aromas anormais e reduzir a qualidade dos frutos (WRIGHT *et al.*, 2010). O acetato de etila é um composto volátil intimamente relacionado ao metabolismo fermentativo e ao desenvolvimento de sabor residual durante o armazenamento (WRIGHT *et al.*, 2015). A principal função do metabolismo fermentativo é usar o NADH e o piruvato quando o transporte de elétrons e a fosforilação oxidativa são inibidos, de modo que a glicólise possa prosseguir (SAQUET *et al.*, 2008). Isto permite a produção de ATP através da fosforilação do substrato, o que permite que os tecidos vegetais sobrevivam (DAVIES, 1980; SAQUET *et al.*, 2008). No entanto, o processo fermentativo produz apenas 2 mols de ATP por mol de glicose em comparação com 36 mols através da respiração aeróbica, sendo, portanto, muito menos eficiente (FRANK *et al.*, 2007). Essa menor quantidade de energia disponível pode causar distúrbios fisiológicos como o escurecimento dos tecidos (FRANK *et al.*, 2007). Diante disto, grande parte dos distúrbios fisiológicos que ocorrem devido ao armazenamento em O₂ excessivamente baixo pode resultar, em parte, de um suprimento inadequado de energia para as células nesta situação (SAQUET *et al.*, 2000).

O processo fermentativo também pode ser um fenômeno muito local que ocorre mesmo em pressões parciais de O₂ moderadas, dependendo do tamanho e da permeabilidade do tecido da fruta (FRANK *et al.*, 2007). E não fica restrito a baixas pressões parciais de O₂, porque foram encontrados metabólitos típicos de fermentação, como etanol e acetaldeído, em peras 'Packham's Triumph' mesmo as frutas estando armazenadas sob pressão parcial de O₂ atmosférico (CHERVIN *et al.*, 1999). Por outro lado, o baixo nível de oxigênio, quando manejado de forma adequada, é responsável pela manutenção da qualidade dos frutos, pois limita as atividades de enzimas responsáveis pela produção de etileno e promove a produção de compostos da fermentação que estão associados com a redução da síntese de etileno (PESIS, 2005).

A questão crucial para o armazenamento de frutos é encontrar um nível de O₂ em que o metabolismo seja mínimo, mas o suficiente para produzir energia necessária para o funcionamento normal das células e reparo dos tecidos. Os produtos do metabolismo fermentativo, quando em altas concentrações são relacionados ao *off-flavor* (ZANELLA *et al.*, 2005; RAFFO *et al.*, 2009; WRIGHT *et*

al., 2015). Porém, quando em baixos níveis são importantes para a síntese de aroma (WRIGHT *et al.*, 2015). Em melões, a aplicação de etanol aumentou os níveis de açúcares, especialmente a sacarose, após quatro dias de armazenamento a 24 °C (LIU *et al.*, 2012). Por outro lado, o suprimento de etanol nas uvas 'Red Globe' não teve efeito sobre os níveis de açúcar (USTUN *et al.*, 2012). Já a aplicação de etanol (0,5 mL Kg⁻¹ maçãs mês⁻¹) ou acetaldeído (0,25 mL Kg⁻¹ maçãs mês⁻¹), durante o armazenamento, teve um efeito negativo sobre a qualidade pós-armazenamento de maçãs 'Royal Gala' armazenadas durante oito meses sob atmosfera controlada. No entanto, o fornecimento de 0,3 mL de etanol Kg⁻¹ de maçãs no mês⁻¹ associado a baixa unidade relativa, melhorou a qualidade pós-colheita (WEBER *et al.*, 2016).

4.8. Etileno

O etileno (C₂H₄) é um fitormônio vegetal que foi descoberto no início do século vinte (LACEY; BINDER, 2014). Está envolvido na maioria dos processos de desenvolvimento das plantas, incluindo germinação de sementes, alongamento de raízes, desenvolvimento de flores, amadurecimento de frutos, através da coordenação e expressão de muitos genes responsáveis pela degradação da clorofila, síntese de carotenoides, bem como a senescência e abscisão (BAN *et al.*, 2010; JU; CHANG, 2015; EL-MAAROUF-BOUTEAU *et al.*, 2015). Nas frutas, regula vários processos associados ao amadurecimento, incluindo amolecimento, mudança de cor, acúmulo de açúcar, produção de ácidos orgânicos, bem como o acúmulo de metabólitos secundários (CHERIAN *et al.*, 2015). Este hormônio vegetal gasoso, apresenta efeitos benéficos e prejudiciais durante o armazenamento pós-colheita de frutas e vegetais (PATHAK *et al.*, 2017). Os efeitos benéficos incluem o desenvolvimento de cor, e sabor característicos. Por outro lado, pode induzir efeitos prejudiciais, como a senescência, levando à descoloração, diminuição na firmeza, aumento da suscetibilidade ao apodrecimento e diminuição da vida de armazenamento (PATHAK *et al.*, 2017). Portanto, desacelerar o amadurecimento é de suma importância no manejo pós-colheita (BAPAT *et al.*, 2010) pois aumenta a vida útil durante o armazenamento, ajudando a manter a qualidade por períodos prolongados e reduzindo perdas (BLANKE, 2014; WILLS; GOLDING, 2015; PATHAK *et al.*, 2017). Durante o armazenamento, as frutas e vegetais são expostas ao etileno

endógeno, ou seja, sintetizadas através de processos metabólicos, bem como ao etileno exógeno (SALTVEIT, 1999).

A via de biossíntese do etileno compreende a conversão da S-adenosilmetionina em ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), sob a ação da ACC sintase e a conversão do ACC em etileno, pela ação da enzima formadora do etileno ou ACC oxidase (CIARDI *et al.*, 2001; KLEE, 2002; GOLDEN *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2018). Esta rota requer ATP, oxigênio e a expressão de genes para a síntese de enzimas chave como a ACC sintase e ACC oxidase. Estas enzimas constituem famílias multigênicas nas mais variadas espécies vegetais, apresentando diferente regulação em respostas a estímulos ambientais (CERVANTES, 2002). Wills (2015) sugeriu que, em geral, o etileno poderia induzir respostas fisiológicas em concentrações abaixo de $0,001 \mu\text{L L}^{-1}$. O aumento na produção autocatalítica de etileno ocorre especialmente durante o amadurecimento para permitir que as reações fisiológicas da fruta aconteçam (SALTVEIT, 2016; QBAL *et al.*, 2017), especialmente a transformação de amido em açúcares, aumento de ácidos, diminuição de taninos e hemicelulose e amolecimento dos tecidos da casca e da polpa (GOLDEN *et al.*, 2014; QBAL *et al.*, 2017).

A maçã é classificada como fruto climatérico, que apresenta elevadas taxas respiratórias durante a maturação e o amadurecimento. Esse aumento da respiração está associado ao acréscimo das concentrações internas de CO_2 e etileno, que pode variar muito entre diferentes cultivares (WATKINS *et al.*, 2016c). Em geral, as variedades do início da estação têm altas taxas de produção de etileno e amadurecem rapidamente, enquanto as do final da estação têm baixas taxas de produção de etileno e amadurecem mais lentamente (WATKINS *et al.*, 2016c). A rapidez com que corre a maturação é influenciada pela exposição ao etileno. Tanaka *et al.*, (2015) reportaram que ao realizar análise sensorial em maçãs “Fuji” cultivadas organicamente, os sabores foram descritos como pouco doces e florais, indicando menores teores de ésteres e açúcares do que as maçãs cultivadas convencionalmente. Estes autores atribuem estes resultados a deficiência na maturação ou produção insuficiente de etileno nos frutos.

A exposição ao etileno deve ser cuidadosamente balanceada para não ocorrer distúrbios pela falta ou excesso de etileno. Diante disto, uma estratégia para aumentar o período de armazenamento dos frutos com qualidade, é retardar a

produção de etileno ou diminuir a exposição dos frutos a este fitormônio (WATKINS *et al.*, 2016c), desde que a níveis adequados. Isso é obtido principalmente pelo uso de baixas temperaturas de armazenamento, aplicação de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e acondicionamento em AC (WATKINS, 2003d). A baixa pressão parcial de O₂ e alta de CO₂, usadas no armazenamento em AC, reduzem a produção de etileno e respiração (GORNY; KADER, 1996; GUPTA *et al.*, 2009). Em consequência disso, reduzem-se também outros processos dependentes do etileno e da respiração, como por exemplo, a perda da firmeza da polpa, o consumo de ácidos e a mudança na coloração. O armazenamento de maçãs em ACD também diminui significativamente a atividade da enzima ACC oxidase e produção de etileno, mantendo a firmeza da polpa e diminuindo a incidência de desordens fisiológicas (WEBER *et al.*, 2015). No entanto, até o momento existem poucos relatos sobre o efeito da ACD no perfil volátil em comparação com a AC (WEBER *et al.*, 2015).

4.9. Aplicação de 1-metilciclopropeno (1-MCP)

A comercialização de maçãs com qualidade durante todo o ano é o resultado de técnicas adequadas de armazenamento e manejo do etileno (BRACKMANN *et al.*, 2010). Diante disto, a aplicação pós-colheita do fitorregulador 1-Metilciclopropeno (1-MCP - C₄H₆), visa inibir a ação do etileno (C₂H₄), ajudando a manter a qualidade de diversas cultivares de maçã, dentre elas podemos destacar a 'Cripps Pink' (HOANG *et al.*, 2011), 'McIntosh' e 'Empire' (NOCK; WATKINS, 2013), 'Gala' (MAZZURANA *et al.*, 2016) e 'Golden Delicious' (GAGO *et al.*, 2016), dentre outras. Diante disto, o uso deste fitorregulador tem aumentado constantemente nos últimos anos (STREIF *et al.*, 2010). Isso ocorre, porque além de inibir a ação do etileno, também tem efeito sobre a expressão de genes relacionados às enzimas precursoras do etileno, como a ACC oxidase, ACC sintase e receptores de etileno (WAKASA *et al.*, 2006; TATSUKI *et al.*, 2007).

O 1-MCP por possuir uma composição química semelhante ao etileno, liga-se irreversivelmente aos seus receptores de forma competitiva, no entanto não transmite o sinal característico deste fitormônio e, deste modo, bloqueia sua ação nas células dos frutos, retardando o amadurecimento (SISLER; SEREK, 1997; BLANKENSHIP; DOLE, 2003; WATKINS, 2006) e prolongando a qualidade pós-colheita por longos períodos. Segundo Blankenship; Dole, (2003), a afinidade do

1-MCP pelos receptores é aproximadamente 10 vezes maior que do próprio etileno, sendo ativo em concentrações muito menores. Desde a sua aprovação em 1996 (SISLER; BLANKENSHIP, 1996), o uso de 1-MCP tem atraído interesse de muitos produtores de frutas e hortaliças e já foi aprovado para uso em mais de 40 países até 2011 (VALERO *et al.*, 2016). Uma das aplicações mais bem sucedidas como tratamento pós-colheita, foi na indústria da maçã, pois foi relatado que o 1-MCP previne a perda da firmeza e acidez (PRE-AYMARD *et al.*, 2005; KÖPCKE, 2015) e reduz os distúrbios de armazenamento, como a senescência e a escaldadura superficial em maçãs (WATKINS, 2009; DIEREND, 2012). Também reduz a incidência de manchas avermelhadas na alface e acúmulo de isocumarina em cenouras (FAN; MATTHEIS, 2000a), lignificação de aspargos (LIU; JIANG, 2006), senescência em peras (EKMAN *et al.* 2004) e perda na firmeza de brócolis (FAN; MATTHEIS, 2000b). Uma grande vantagem no uso do 1-MCP é o seu efeito duradouro mesmo durante o armazenamento (STREIF *et al.*, 2010), pois os frutos permanecem mais firmes e frescos quando comparados aos não tratados (FAN *et al.*, 1999; BARITELLE *et al.*, 2001; YOUNES; STREIF, 2005). A acidez titulável e o teor de clorofila também são preservados (FAN; MATTHEIS, 2001). Já a influência no teor de sólidos solúveis é pequena (DeELL *et al.*, 2002). Uma desvantagem no uso do 1-MCP pode ser a redução na síntese de compostos aromáticos (XUAN; STREIF, 2005), especialmente para os frutos colhidos no início da safra. Saquet *et al.* (2003) demonstraram que a disponibilidade de compostos ricos em energia para a biossíntese de ácidos graxos e aromas voláteis é limitada sob condições de armazenamento em AC, e inferiram que 1-MCP produz resultados semelhantes pela redução da disponibilidade de energia e substrato para a produção de compostos aromáticos (McCORMICK *et al.*, 2012; STREIF *et al.*, 2010; BANGERTH *et al.*, 2012; KITTEMANN *et al.*, 2015).

O armazenamento em AC pode prolongar o efeito do 1-MCP sobre as características físicas e sensoriais de maçã e estas duas tecnologias geralmente são mais eficientes quando combinadas (WATKINS *et al.*, 2000). No entanto, as respostas à aplicação do 1-MCP variam em função da espécie, cultivar, região e condição de armazenamento. A temperatura e o tempo de exposição ao produto também afetam a eficiência do mesmo (DeELL *et al.*, 2002; WATKINS, 2016b). Segundo Köpcke, (2015) a aplicação de 1-MCP isoladamente aumenta alguns

distúrbios fisiológicos em maçãs 'Elstar' e o escurecimento interno em outras diversas cultivares, mas a combinação do 1-MCP com a ACD mantém a qualidade dos frutos e reduz alguns distúrbios fisiológicos associados à senescência em comparação com um dos tratamentos isolado. Isso proporcionaria maior segurança aos produtores pois a ação do 1-MCP pode não ser satisfatória quando a colheita e a aplicação do 1-MCP são tardias. Mesmo com todos os benefícios acima citados, o uso do 1-MCP não é permitido em produtos orgânicos de acordo com a *National List of Allowed and Prohibited Substances* dos Estados Unidos (TRIVITTAYASIL *et al.*, 2018). Além disso, apesar dos benefícios da aplicação de 1-MCP na maçã, a combinação com outros fatores pós-colheita (temperatura, tipo de atmosfera, umidade) podem provocar efeitos adversos durante o armazenamento. Em alguns casos aumenta a incidência de podridões, possivelmente pela redução do mecanismo de defesa do fruto contra o ataque de patógenos (JANISIEWICZ *et al.*, 2003), uma vez que este mecanismo de defesa necessita de etileno para a sua ativação. O 1-MCP também é responsável por reduzir a produção de compostos voláteis (principalmente ésteres), uma vez que o etileno está diretamente envolvido nesta síntese (TOMIC *et al.*, 2016; MATTHEIS *et al.*, 2005). Os compostos voláteis emitidos pela maçã possuem fundamental importância na comercialização dos frutos, pois o aroma é um atributo de qualidade. A redução no desenvolvimento de moléculas orgânicas voláteis como ésteres, aldeídos, álcoois e terpenos, compromete o perfil volátil característico da maçã, e por consequência, o seu complexo aromático e sabor. Estes compostos possuem uma correlação positiva com a produção de etileno (LURIE *et al.*, 2002; BANGERTH; SONG; STREIF, 2012; DeFILIPPI *et al.*, 2005), tão logo o 1-MCP possui um efeito direto no perfil volátil dos frutos tratados. Devido a redução dos compostos voláteis nas maçãs submetidas a aplicação do 1-MCP, a ACD-FC surge como uma alternativa a este fitormônio pois o armazenamento em ACD é considerada uma técnica "limpa", de baixo custo a longo prazo e compatível com o armazenamento de produtos orgânicos.

4.10. Compostos voláteis relacionados ao aroma

A qualidade da maçã é determinada por atributos de qualidade como aparência, firmeza e sabor, bem como pela ausência de distúrbios fisiológicos e patológicos (ESPINO-DÍAZ *et al.*, 2016). No entanto, o conceito de qualidade em

frutas evoluiu, e atualmente atributos sensoriais são importantes para conseguir maior aceitação dos consumidores (BONANY *et al.*, 2013). O sabor é uma das características mais importantes e distintivas das maçãs, sendo determinado principalmente pelo balanço entre açúcares e ácidos orgânicos, já o aroma é uma mistura complexa de muitos compostos voláteis cuja composição é específica para cada espécie e variedade (PÉREZ; SANZ, 2008; ESPINO-DÍAZ *et al.*, 2016). Os compostos voláteis da maçã são estudados há mais de 50 anos. Neste período, mais de 400 compostos foram identificados (FORNEY *et al.*, 2009; SALAS SALAZAR; OLIVAS OROZCO, 2011), sendo todos estes compostos voláteis de grande importância para o perfil de aroma característico das maçãs, porém, a sua composição e concentração diferem entre as variedades (HOLLAND *et al.*, 2005; LÓPEZ *et al.*, 1998). Além disso, a percepção do aroma é fortemente influenciada não apenas pela abundância de compostos aromáticos, mas também pela interação dos compostos voláteis presentes em uma fruta específica (APREA *et al.*, 2012). A produção também pode ser afetada por vários fatores; antes, durante e após a colheita (ESPINO-DÍAZ *et al.*, 2016). No Brasil, é uma prática comum estender o tempo de armazenamento da maçã sob AC por até 8 meses ou 9 meses (BRACKMANN *et al.*, 2013; WEBER *et al.*, 2013). Esse longo período de armazenamento se deve ao fato de que o Brasil não costuma importar maçãs durante a entressafra. Como consequência desse longo período de armazenamento a emissão de compostos voláteis da maçã pode ser afetada (BOTH *et al.*, 2014). Além disso, está se tornando uma prática comum nas câmaras de armazenamento reduzir as pressões parciais de O₂ abaixo daquelas utilizadas convencionalmente (BOTH *et al.*, 2014).

Os compostos voláteis já quantificados em maçã são principalmente ésteres (78 % - 92 % dos voláteis), álcoois (6 % - 16 % do total de voláteis), aldeídos, cetonas e éteres (SALAS SALAZAR; OLIVAS OROZCO, 2011; RITA *et al.*, 2011). Em maçãs 'Royal Gala' os principais voláteis são o acetato de 2-metil butila, acetato de butila, acetato de hexila e butanol (YOUNG *et al.*, 1996). Os aldeídos predominam em maçãs imaturas (PAILLARD, 1990; MATTHEIS *et al.*, 1991), mas seu conteúdo diminui à medida que o fruto amadurece, período em que a concentração de álcoois e ésteres aumenta, sendo estes últimos os principais compostos voláteis em maçãs maduras (FELLMAN *et al.*, 2000). Com relação aos

álcoois, a sua biossíntese envolve enzimas como álcool desidrogenase e lipoxigenase (DEFILIPPI *et al.*, 2005; ECHEVERRIA *et al.*, 2004a). A disponibilidade de álcoois é um fator limitante para a biossíntese de ésteres (BERGER; DRAWERT, 1984; DEFILIPPI *et al.*, 2005), pois estes são derivados de uma reação catalisada por álcool aciltransferase envolvendo esterificação de álcoois e acil-CoA (SANZ *et al.*, 1997). A produção de compostos de fermentação, como acetaldeído, etanol e acetato de etila, que ocorre em frutas durante o armazenamento em atmosfera com O₂ excessivamente baixo, não são desejáveis em quantidades excessivas e contribuem para *off-flavours* (FORNEY *et al.*, 2000; WRIGHT *et al.*, 2015), mas na presença em pequenas quantidades pode potencializar o aroma e *flavour* de maçãs. Os ésteres, associados a sabores "frutados" (AHARONI *et al.*, 2000) são qualitativa e quantitativamente predominantes na maioria das maçãs (LÓPEZ *et al.*, 1998), atingindo grandes percentagens do total de compostos voláteis. Por exemplo, em maçãs 'Golden Delicious' elas ocupam 80 % (LÓPEZ *et al.*, 1998a), em 'Granny Smith' 88 % (LAVILLA *et al.*, 1999), em Fuji 90 % (ECHEVERRÍA *et al.*, 2004) e em maçãs 'Starking Delicious' atingem até 98 % (LÓPEZ *et al.*, 1998b). Ésteres são derivados de aminoácidos e ácidos graxos (BAN *et al.*, 2010) sintetizados a partir de álcoois e acetil-CoAs através da ação do álcool acetil transferase (ATTs) (LUCCHETTA *et al.*, 2007). A enzima álcool desidrogenase (ADH) também participa na formação de ésteres por liberar substrato (álcoois) para a formação de compostos voláteis (DEFILIPPI *et al.*, 2005). Juntamente com os ésteres, o α -farneseno é um dos compostos voláteis mais característicos e abundantes emitidos pelas maçãs (APREA *et al.*, 2012) e foi proposto para a classificação de cultivares (Lo SCALZO *et al.*, 2001). Este terpenóide é normalmente encontrado em maçãs armazenadas (ROWAN *et al.*, 2009), e espera-se que aumente significativamente com o amadurecimento pós-colheita, a partir dos primeiros dias (FARNETI *et al.*, 2015).

Apesar das maçãs serem armazenadas com sucesso sob atmosfera refrigerada ou controlada por vários meses (YOUNG *et al.*, 2004), as condições de armazenamento podem reduzir a biossíntese de compostos voláteis (YOUNG *et al.*, 2004; ARGENTA *et al.*, 2004) dependendo do tipo de atmosfera empregada e o período de armazenamento (BRACKMANN *et al.*, 1993). As exigências para o armazenamento em AC são específicas para cada cultivar de maçã, pois o

armazenamento sob condições de baixo O₂ e alto CO₂ visa retardar a produção autocatalítica de etileno e redução na sua taxa de produção. Isso diminui a deterioração da cor, bem como a firmeza de polpa, o sabor e o valor nutricional (ARGENTA, 2002; BRACKMANN *et al.*, 2008) do fruto. No entanto, mesmo em AC ocorrem perdas durante um armazenamento prolongado (WATKINS, 2010) porque os limites mínimos de O₂ devem ser respeitados a fim de evitar danos ao fruto, como a perda de aromas (ECHEVERRIA *et al.*, 2002; GRAELL *et al.*, 2008). Atmosferas controladas, especialmente aquelas com ultrabaixo oxigênio (pO₂ < 1 kPa), causam uma redução na biossíntese de voláteis de cadeia linear devido a uma redução na concentração de alcoóis e seus ésteres (HARB *et al.*, 2000), exceto para o etanol e seus derivados, que são produzidos em maçã sob condições anaeróbias (ARGENTA *et al.*, 2004). A síntese e degradação de ácidos graxos também diminuem (ROWAN *et al.*, 1996) devido à redução da β -oxidação, atividade da lipoxigenase e biossíntese de etileno (BOTH *et al.*, 2014). No entanto, a disponibilidade de substratos, mais do que a falta de atividade enzimática, é o fator mais importante na supressão de compostos voláteis durante e após o armazenamento sob atmosfera controlada (ECHEVERRÍA *et al.*, 2008; LARA *et al.*, 2007).

A baixa concentração de oxigênio durante o armazenamento tem pouco efeito sobre a biossíntese de ésteres ramificados (ARGENTA *et al.*, 2007; BOTH *et al.*, 2014). Por outro lado, altas concentrações de CO₂ suprimem a produção de compostos aromáticos com cadeias de carbono ramificadas e não ramificadas, então, o alto CO₂ provavelmente afeta o metabolismo de aminoácidos e ácidos graxos. O ciclo do ácido tricarbóxico, do qual a maioria dos precursores de aminoácidos é derivado, é inibido por CO₂ elevado (FRENKEL; PATTERSON, 1973). Assim, o CO₂ influencia na produção de voláteis através da supressão do metabolismo de aminoácidos (BRACKMANN *et al.*, 1993). A redução na produção de aromas também pode ser devida a uma baixa taxa respiratória em maçãs sob atmosfera controlada, o que pode esgotar os metabólitos energéticos armazenados, como ATP e NADPH, necessários para a biossíntese e desnaturação de ácidos graxos (SAQUET *et al.*, 2003). No entanto, o baixo O₂ não é o único fator responsável pela menor produção de compostos voláteis durante o armazenamento (BANGERTH *et al.*, 2012). O etileno também desempenha um papel primordial na produção volátil tanto na colheita como durante/após o armazenamento, bem como,

após longos períodos de armazenamento sob UBO (DEFILIPPI *et al.*, 2005, FAN *et al.*, 1998, KONDO *et al.*, 2005, XUAN; STREIF, 2005; IQBAL *et al.*, 2017). Isso ocorre porque a atividade da AAT e sua transcrição são controladas pelo etileno (DEFILIPPI *et al.*, 2005).

Segundo Iqbal *et al.*, (2017), a inibição da biossíntese de etileno reduz a produção de compostos voláteis (CVs) e aroma das frutas. De acordo com estes mesmo autores, foi descoberto que maçãs transgênicas que expressam genes "*antisense*" para o 1-aminociclopropano-1-carboxilato sintase ou ACC oxidase reduziram consideravelmente a produção de CVs, especialmente os ésteres (IQBAL *et al.*, 2017). O mesmo comportamento foi observado no melão, com genes "*antisense*" para a ACC oxidase, com redução nos ésteres variando entre 60-85% (BAUCHOT *et al.*, 1998; FLORES *et al.*, 2002; IQBAL *et al.*, 2017). No entanto, a aplicação exógena de etileno reconverteu a evolução dos CVs, indicando que o etileno inibe as principais etapas da biossíntese de voláteis (IQBAL *et al.*, 2017). Um estudo com a aplicação de 1-MCP e aminoethoxyvinylglycine (AVG) demonstrou que o etileno regula a biossíntese de CVs diretamente pela via de biossíntese de voláteis e indiretamente pela percepção do etileno (IQBAL *et al.*, 2017). Em damascos tratados com AVG (inibidor da biossíntese do etileno), houve acentuada redução na biossíntese de CVs, enquanto que os frutos tratados com 1-MCP (inibidor da ação do etileno) foram estimulados a desenvolver aldeídos (VALDES *et al.*, 2009; IQBAL *et al.*, 2017).

A aplicação de AVG e/ou 1-MCP bem como o armazenamento por longos períodos em OUB também diminuem gradualmente a responsividade do fruto ao etileno, resultando na baixa produção de compostos voláteis (BANGERTH *et al.*, 2012). Atualmente, existem poucas ideias sobre como superar essa deficiência na qualidade dos frutos de macieira (BANGERTH *et al.*, 2012) mas a ACD surge como uma alternativa viável. No entanto, há poucos trabalhos avaliando o efeito do armazenamento em ACD sobre a produção de compostos voláteis. Entretanto, Raffo *et al.*, (2009) observaram que o armazenamento de maçãs 'Pinova' em ACD-FC tem potencial de preservar melhor os compostos aromáticos durante longos períodos de armazenamento, enquanto em um experimento anterior, usando 1-MCP + OUB (ultra baixo oxigênio) foi mais eficaz em retardar a degradação de ácidos orgânicos (ZANELLA *et al.*, 2005). Em virtude disso, o armazenamento em ACD-FC,

diferentemente do 1-MCP + ULO, pode encontrar um campo de aplicação específico no armazenamento a longo prazo de maçãs orgânicas (RAFFO *et al.*, 2009), pois a utilização desta tecnologia não envolve nenhum tratamento químico. Além disso, acredita-se que este sistema pode reduzir e/ou impedir o decréscimo de CVs durante o armazenamento por elevados períodos. Também deve ser destacado que diferentemente do 1-MCP, a ACD-FC quando adquirida pelas empresas de armazenamento fica sob o domínio da empresa que a adquiriu, sem a necessidade de pagamentos adicionais. O mesmo não ocorre com o 1-MCP, em que os custos pelo seu uso ocorrem a cada aplicação.

5. Materiais e Métodos

5.1. Material vegetal

As maçãs da cultivar 'Royal Gala' (safra 2016/2017) foram colhidas em um pomar comercial localizado no município de Vacaria (28° 30' 44" S; 50° 56' 02" W), Rio Grande do Sul (RS), Brasil e os experimentos conduzidos no laboratório de Fisiologia Pós-colheita da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil. Na colheita, os frutos apresentaram firmeza da casca e polpa de 12.71 e 2.59 N respectivamente, sólidos solúveis (SS) de 12.26 °Brix, acidez total titulável (AT) de 0.3 % de ácido málico 100⁻¹ de fruta fresca (FF) e índice de iodo amido 6.18 (escala de 1–10, onde 1 = verde e 10 = maduro). Os frutos foram selecionados, excluindo aqueles que apresentavam qualquer tipo de lesão visível ou defeito e as amostras então foram homogeneizadas.

5.2. Aplicação de 1-Metilciclopropeno

Antes do início do experimento, as maçãs foram tratadas com 1-MCP (SmartFresh®, 0,14 % do ingrediente ativo). Para isso, os frutos foram acondicionados em pequenas câmaras experimentais (0,11 m³ e 2,0 ± 0,1 °C) junto com a solução de 1-MCP (concentração de 0,625 µL L⁻¹ dentro da câmara experimental) preparada de acordo com as instruções da embalagem. A solução foi colocada em placas de Petri dentro da câmara, hermeticamente fechada e o ar dentro circulado durante 24 h por um ventilador.

5.3 Condições de armazenamento e tratamentos avaliados

Quatro repetições analíticas com 18 frutos cada foram alocadas em cabines experimentais (40 x 40 x 69 cm) sob diferentes condições de armazenamento. As câmaras experimentais (CE) foram acondicionadas no interior das câmaras frias com temperatura de 0,5 °C ($\pm 0,5$ °C) e umidade relativa de 90 - 95 % durante todo o experimento. A temperatura foi controlada por termostato eletrônico e monitorada diariamente por termômetros de mercúrio inseridos na polpa dos frutos. O software Elipse instalado pela empresa Garten fez o monitoramento e controle automático da temperatura e umidade relativa realizando seis leituras por segundo em três pontos diferentes de cada câmara fria, durante as 24 horas do dia durante todo o período do experimento. Os tratamentos (Figura 1) avaliados com 0 (a), 90 (b), 180 (c) e 270 (d) dias foram: **(i)** armazenamento em atmosfera controlada com 1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂ (AC); **(ii)** armazenamento em atmosfera controlada com 1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂ + 1-MCP (AC + 1-MCP); **(iii)** atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas com 0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂ (ACD-FC) e **(iv)** atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas com 0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂ + 1-MCP (ACD-FC + 1-MCP).

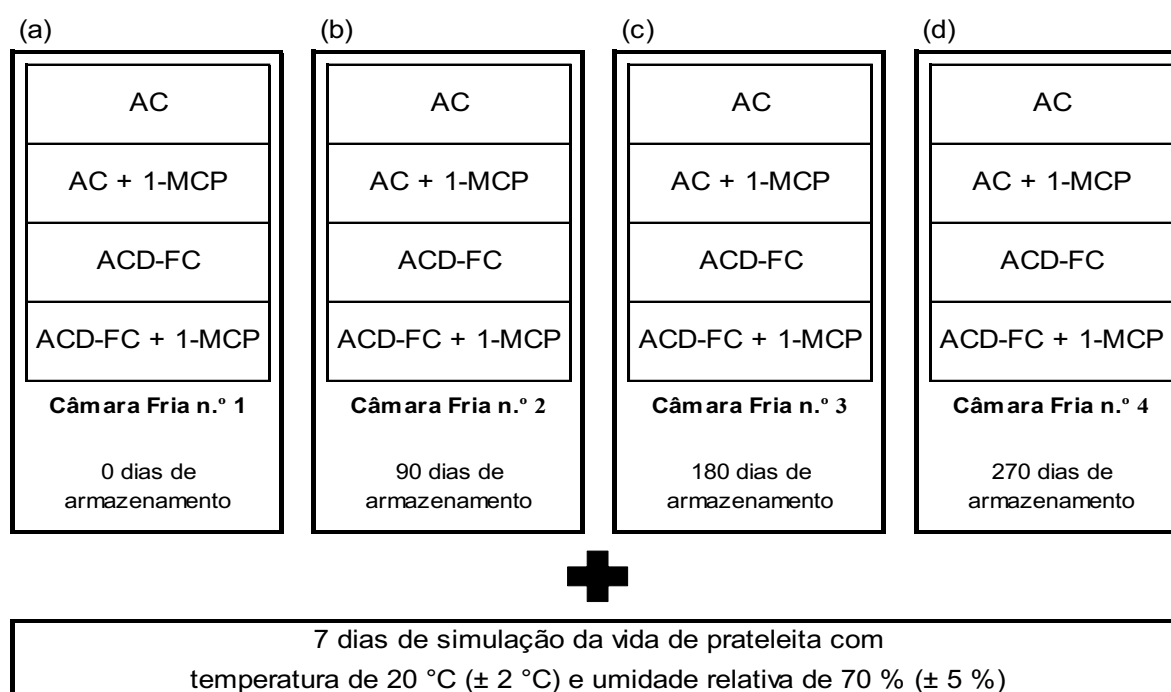


Figura 3. Disposição dos tratamentos (*i*, *ii*, *iii* e *iv*) ao longo de 0 (a), 90 (b), 180 (c) e 270 (d) dias de armazenamento de maçãs 'Royal Gala' em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC

[atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP]. Após o armazenamento nas câmaras frias, os frutos foram submetidos a mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.

5.4. Implementação e monitoramento da AC e ACD-FC

Todas as maçãs foram mantidas a 5 °C no primeiro dia e a temperatura baixada para 0,5 °C ao longo dos 5 dias seguintes. Posteriormente, as condições de armazenamento foram estabelecidas nas CE individuais. As pressões parciais de O₂ e CO₂ foram obtidas com o auxílio do analisador de gases Multiplex® (Isolcell, Italia), que usa uma célula eletroquímica ou paramagnética para análise de O₂, enquanto utiliza uma célula infravermelha para analisar o CO₂. O software Isolcell do equipamento permitia analisar e ajustar em tempo real as concentrações de gases graças aos cilindros de O₂, CO₂, N₂ e adsorvedor de CO₂ acoplados ao sistema. O monitoramento da fluorescência das clorofilas ocorreu através do sistema HarvestWatch™ (Satlantic Inc. Halifax, Nova Scotia, Canadá) que também era atrelado ao Multiplex®.

A implementação da AC ocorreu com a redução do O₂ até a pressão parcial desejada (1,1-1,3 kPa) com a injeção de nitrogênio (N₂). O CO₂ (1,5-1,7 kPa) foi ajustado injetando e/ou adsorvendo CO₂ quando necessário. O Multiplex® analisava periodicamente as pressões parciais de gases em cada CE, e quando necessário, fazia a adequação dos gases automaticamente.

A implementação da ACD ocorreu através do monitoramento da fluorescência das clorofilas pelo sistema HarvestWatch™ (Satlantic Inc. Halifax, Nova Scotia, Canadá) que consiste em alocar seis maçãs dentro de um recipiente plástico (com as laterais perfuradas) com um sensor FIRM (*Fluorescence Interactive Response Monitor*) instalado na parte superior do recipiente. Foi colocado um recipiente com o sensor e as maçãs dentro de cada uma das CE e suas respectivas tampas de vidro cobertas com plástico preto para proteger o sistema da luz. A ACD-FC foi estabelecida de acordo com Prange *et al.*, (2007), Mditshwa *et al.*, (2017) e o manual do equipamento. Após a ativação do sistema de monitoramento de fluorescência, a pO₂ foi reduzida à 1 kPa com a injeção de N₂. Posteriormente, o processo respiratório reduziu a pO₂ até que uma mudança na fluorescência fosse detectada. O ajuste da menor concentração de O₂ tolerada pelo fruto foi determinada

pela identificação da pO_2 , onde uma inflexão no sinal de fluorescência foi detectada e, em seguida, aumentando a pO_2 em 0,2 kPa como um fator de segurança. O oxigênio dentro das CE de ACD variaram de 0,01 a 0,5 kPa. A pCO_2 foi mantida entre 1,1-1,3 kPa, obtida através do processo respiratório dos frutos, e quando necessário algum ajuste, o software adsorvia ou injetava CO_2 automaticamente. A fluorescência das clorofilas foi monitorada a cada sessenta minutos durante todo o período de armazenamento do experimento. Ao final de cada período de armazenamento (0, 90, 180 e 270 dias), os frutos foram mantidos a 20 °C (± 10 %) e umidade relativa entre de 60 (± 10 %) por sete dias, para simular a vida de prateleira (Figura 1.).

5.5. Preparação de amostra

As maçãs foram armazenadas por até 9 meses nas condições acima mencionadas e as avaliações da produção de compostos voláteis e físico-químicas foram realizadas após cada período de armazenamento. Uma fatia transversal da parte equatorial foi retirada dos frutos previamente resfriados a 0 - 5 °C (temperatura da polpa), descartando o endocarpo e as sementes. Todo procedimento foi realizado a baixa temperatura (5 - 15 °C), para evitar a oxidação química e enzimática das amostras. As amostras (cubos com casca e polpa), bem como os sucos (casca e polpa moídos e filtrados acondicionados em frascos de vidro âmbar) foram imediatamente congelados a -30 °C.

5.6. Análises de qualidade de frutas

5.6.1. Sólidos solúveis totais (SST)

Avaliado por refratometria com 1 mL de suco obtido das 18 maçãs de cada repetição. Foi utilizado o refratômetro digital marca ATAGO modelo PAL1 com compensação automática da temperatura. Os resultados foram expressos em °Brix.

5.6.2. Acidez titulável (AT)

Realizada pela titulação de 10 mL do suco da polpa diluída em 90 mL de água destilada, com solução de NaOH 0,1 M até o pH atingir 8,1. Os resultados foram expressos gramas (g) de ácido málico 100 g^{-1} de FF.

5.6.3. Firmeza da polpa (FP)

Determinada de acordo com a metodologia adaptada de Melo; Boas; Justo (2009) com o auxílio de um analisador de textura (TA-XT plus 40855, Stable Microsystems, England). As leituras foram realizadas na porção intermediária dos frutos com ponteira de 2 mm de diâmetro, profundidade de penetração de 5 mm, velocidade de pré-teste de $1,0 \text{ mm s}^{-1}$, teste de $2,0 \text{ mm s}^{-1}$, pós-teste de $10,0 \text{ mm s}^{-1}$ e força de 5 kg. Os resultados foram expressos em Newton (N).

5.6.4. Atividade antioxidante total (DPPH*)

Avaliada pelo método descrito por Brand-Williams *et al.*, (1995) com algumas adaptações. Os extratos para quantificar o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e os compostos fenólicos totais foram obtidos através da adição de 10 mL de metanol em 2,5 g de maçã fresca (polpa e casca) e homogeneizados (homogeneizador ultraturrax, IKA, Artur Nogueira, SP) durante 1 min. As soluções resultantes foram centrifugadas (Eppendorf-Centrifuge 5810 R) à 3050 g por 30 min a $1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$. O sobrenadante foi coletado e armazenado a $-18 \text{ }^{\circ}\text{C}$ até a análise. Extrato de maçã ($100 \text{ }\mu\text{L}$) foi adicionado a $3900 \text{ }\mu\text{L}$ de solução DPPH (em metanol) e a mistura de reação foi mantida no escuro por 24 h. Após esse período, as absorbâncias foram lidas espectrofotometricamente a 515 nm e os resultados expressos em mg de Trolox equivalente. 100 g^{-1} de FF.

5.6.5. Compostos fenólicos totais

Quantificado de acordo com a metodologia adaptada de Swain and Hillis (1959). Resumidamente, uma alíquota de $250 \text{ }\mu\text{L}$ de extrato (obtido da forma descrita na metodologia do DPPH*) foi combinada com $250 \text{ }\mu\text{L}$ de reagente Folin-Ciocalteu $0,25 \text{ M}$ e $4000 \text{ }\mu\text{L}$ de água ultrapura. Após 3 min de reação, $500 \text{ }\mu\text{L}$ de Na_2CO_3 $0,5 \text{ M}$ foram adicionados para incubação por 2 h em temperatura ambiente e leitura de absorbância em 725 nm . Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido clorogênico. 100 g^{-1} de FF. Foi usada a curva padrão de ácido clorogênico ($0,0 \text{ mg mL}^{-1}$ a $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$).

5.6.6. Enzima polifenoloxidase (PPO)

Determinada de acordo com a metodologia adaptada para micro quantidades descrita por Cano *et al.*, (1997), com base no aumento da taxa de absorbância (420 nm) a 25 °C. Os extratos de maçã foram obtidos da seguinte forma: 10 mL de tampão de fosfato (0,2 M, pH 7), contendo 0,2 g de polivinilpirrolidona foram adicionados a 5 g de maçã (casca e polpa) e homogeneizados por 1 min (homogeneizador ultra-turrax, IKA), filtrado e centrifugado a 16000 g, por 15 min a 4 °C. Uma alíquota de 18,3 µL do sobrenadante foi então misturada com 110 µL de catecol 0,2M e 146 µL de tampão fosfato 0,05 M, pH 7,0. A atividade enzimática foi monitorada espectrofotometricamente a 420 nm por 3 min. Os resultados foram expressos como $\Delta A_{420} \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de fruta fresca.

5.6.7. Enzima peroxidase (POD)

Determinada de acordo com a metodologia adaptada para micro quantidades descrita por Cano *et al.*, (1997), com base no aumento da absorbância (485 nm) a 25 °C, utilizando o mesmo extrato obtido para análise da polifenoloxidase. Uma alíquota de 55 µL de extrato de maçã foi misturado com 82,5 µL de tampão de fosfato (0,05 M, pH 7,0), 55 µL de peróxido de hidrogênio (1,5%, v v⁻¹) e 27,5 µL de guaiacol. A atividade enzimática foi calculada com base em o aumento da absorbância em 485 nm em função do tempo (3 min). Os resultados são expressos como $\Delta A_{485} \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de fruta fresca.

5.6.8. Produção de etileno

Aproximadamente 1,5 kg de maçã ficaram acondicionados por aproximadamente 2 h em frascos de 5 L hermeticamente fechados. Após, quatro repetições analíticas por tratamento foram realizadas, injetando em cromatógrafo a gás (CG) 50 µL do *headspace* de cada frasco. O CG-430-FID da marca Varian® estava equipado com coluna capilar CP-SIL-8CB para determinar a concentração de etileno no espaço superior de cada recipiente. A temperatura do injetor, coluna e detector eram: 125, 60 e 225 °C, respectivamente. A concentração de etileno foi quantificada positivamente pela injeção de gás padrão. Os resultados foram expressos como ng kg⁻¹ s⁻¹.

5.6.9. Produção de acetaldeído e etanol

Quantificados de acordo com Saquet and Streif (2008) pela técnica do *headspace*. O suco das amostras (10 mL) foram acondicionados em frascos-ampola de 20 mL, hermeticamente fechados e alocados em banho-maria (65 °C) durante 60 min. Após, 100 µL do *headspace* foi injetado em um CG CBGC-430-FID, equipado com coluna capilar CP-FFAP a 175 °C e detector de ionização a 200 °C. Os compostos foram identificados e quantificados a partir de curva padrão das soluções padrão do acetaldeído e etanol, com resultados expressos em µL L⁻¹.

5.6.10. Análise dos compostos voláteis

Realizada conforme protocolo descrito por (BOTH *et al.*, 2014) com pequenas modificações. Um dia antes de avaliar os compostos voláteis, as amostras ficaram acondicionadas à 5 °C por 24 h para descongelarem. Após, uma alíquota de 10 mL foi acondicionada em um frasco de 50 mL. Neste frasco, acrescentou-se 3 g de NaCl, 10 µL de solução padrão de 3-octanol (82,2 µg mL⁻¹) e em seguida os frascos foram selados com tampa de silicone revestidos com PTFE. Para extrair os compostos voláteis do *headspace*, as amostras foram submetidas à microextração em fase sólida (HS-SPME). Uma fibra de divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, 50/30 µm × 20 mm) foi pré-condicionada seguindo o protocolo do fabricante. Os frascos contendo as amostras foram submersos em banho-maria a 35 °C por 5 min. Posteriormente, a fibra foi exposta ao *headspace* de cada amostra por 60 min sob agitação constante.

Os compostos voláteis foram quantificados em um CG Shimadzu QP2010 UltraPlus (Shimadzu Japão) equipado com um detector de massas (CG-MS). A fibra foi dessorvida termicamente na porta de injeção a uma temperatura de 250 °C por 10 min, em um modo splitless. Os compostos foram separados em uma coluna capilar OV-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm). O hélio foi usado como gás de arraste na taxa de fluxo (3 mL min⁻¹). A temperatura inicial da coluna foi ajustada para 35 °C e mantida por 8 min. Em seguida, um gradiente de temperatura foi iniciado em 2 °C min⁻¹ até 140 °C, mantendo esta temperatura por 2 min, seguido com uma rampa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ até 260 °C, e mantido em condições isotérmicas por 5 min. A temperatura no detector foi mantida a 230 °C.

A análise qualitativa foi realizada por cromatografia gasosa Shimadzu QP2010 Plus acoplada a espectrometria de massa (GC/MS; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). Para essas análises, foram utilizadas as mesmas condições cromatográficas descritas acima e o hélio foi o gás portador da coluna. O detector foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons com energia de ionização de +70 eV e uma faixa de massa de varredura de 35 a 350 m/z. Os analitos foram identificados a partir da comparação dos índices de similaridade e espectro de massas com o banco de dados do sistema do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST11), índice de retenção e índice de retenção calculado a partir de uma série homóloga de hidrocarbonetos C8-C40 de acordo com Van den Dol e Kratz (1963). A análise quantitativa foi determinada por padronização interna de acordo com os métodos descritos por Ban *et al.* (2010) e Qin *et al.* (2012).

5.6.11. Distúrbios fisiológicos

A incidência de podridão, degenerescência senescente, rachaduras na epiderme e polpa, polpa farinácea, bem como qualquer outro distúrbio fisiológico foi determinado pela presença ou ausência de lesões que impossibilitassem o consumo/comercialização das maçãs. As frutas saudáveis foram determinadas pela contagem de maçãs que não apresentavam nenhum tipo de doença ou distúrbio fisiológico. Os dados foram expressos em porcentagem.

5.6.12. Análise estatística

Após a análise de variância dos dados ($p < 0,05$), as médias de tratamento foram submetidas ao teste da Diferença Mínima Significativa (DMS) ($p < 0,05$). Essas análises foram realizadas por meio do software estatístico Statistica.

6. Resultados e Discussão

6.1. Parâmetros físico-químicos

Segundo Harker *et al.*, (2008) a firmeza é o atributo dominante na aceitação da maçã pelo consumidor, mas os teores de sólidos solúveis e acidez também desempenham um papel importante na definição de qualidade. É importante considerar estes atributos, pois ofertar frutos com qualidade pode levar a um aumento na demanda, elevando o lucro e/ou volume de negócios (HARKER *et al.*,

2008). No entanto, a má qualidade pode reduzir a demanda, prejudicando o retorno financeiro das empresas (HARKER *et al.*, 2008; SADAR *et al.*, 2016). Segundo Batt; Sadler (1998), a resposta dos consumidores à compra de maçãs de baixa qualidade varia, podendo ocasionar a redução do retorno à compra de maçã, troca de cultivar e/ou substituição de maçã por outra espécie de fruta. Argenta *et al.*, (2015) reporta uma pesquisa da Confederação Nacional da Agricultura evidenciando que aproximadamente 60 % dos consumidores brasileiros se dispõem a substituir o consumo de frutas por outros alimentos, tais como laticínios, produtos de padaria e guloseimas quando a qualidade e/ou os preços se distanciam de suas expectativas. Diante da importância de manter a qualidade dos frutos ofertados ao consumidor, a avaliação dos sólidos solúveis (dados não apresentados) não identificou diferenças estatísticas entre o sistema de armazenamento e/ou aplicação de 1-MCP, ficando com valor médio de 12,58 °Brix. Isso pode ser explicado porque a baixa temperatura e os baixos níveis de oxigênio nos ambientes de armazenamento inibiram efetivamente a taxa de reações biológicas (TRAN *et al.*, 2015). Por outro lado, uma parte do açúcar utilizado para a atividade respiratória pode ter sido compensada pelo açúcar produzido a partir da conversão do amido (TRAN *et al.*, 2015). Este resultado está de acordo com os reportados em outros estudos (BOTH *et al.*, 2014, WEBER *et al.*, 2017 e ANESE *et al.*, 2019) sobre maçãs armazenadas em atmosfera controlada estática e dinâmica.

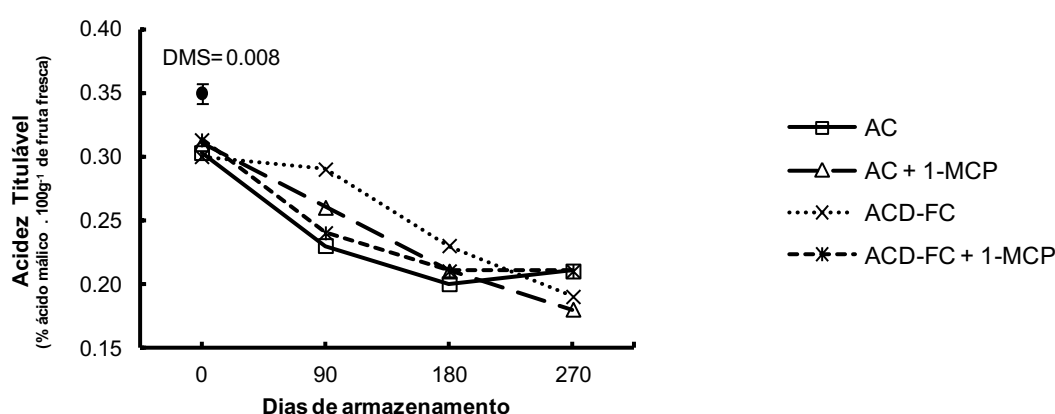


Figura 4. Acidez Titulável de maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7

dias de simulação da vida de prateleira. Barra vertical indica a diferença mínima significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

Quanto a acidez titulável (Figura 1), de forma geral, houve um decréscimo de 35 % ao longo dos 270 dias de armazenamento em todos os tratamentos. Nos frutos armazenados sob ACD-FC, o decréscimo na acidez foi menos acentuado do que nas demais formas de armazenamento em 90 e 180 dias, mas não diferindo em 270 dias. Segundo Tran *et al.* (2015), a diminuição da acidez se deve à atividade respiratória celular, onde os ácidos orgânicos servem como substratos que entram no ciclo de Krebs para obter pequenas quantidades de energia nos processos de reparação celular (TAIZ; ZEIGER, 2002). Normalmente observa-se maior decréscimo na acidez em frutos armazenados em AC do que em ACD. Isso ocorre devido à taxa respiratória mais elevada em frutos armazenados em AC, decorrente de concentrações de oxigênio ($1,1 \text{ kPa O}_2$ - $1,3 \text{ kPa O}_2$) mais elevadas durante o armazenamento (THEWES *et al.*, 2017). Utilizando temperatura de armazenamento diferente da utilizada neste experimento ($0,5 \text{ }^\circ\text{C}$), Both *et al.* (2018), ao trabalharem com maçãs 'Galaxy' armazenadas a $1 \text{ }^\circ\text{C}$ e $1,5 \text{ }^\circ\text{C}$, sem a aplicação de 1-MCP, não identificaram diferenças na acidez titulável entre as frutas armazenadas em AC ou ACD monitorada pelo Quociente Respiratório (ACD-RQ). No entanto, a $2,0 \text{ }^\circ\text{C}$, o armazenamento em ACD-RQ manteve o conteúdo de ácidos significativamente mais alto, confirmando que $2,0 \text{ }^\circ\text{C}$ pode ser uma boa temperatura para o armazenamento de maçã 'Galaxy' em DCA-RQ, mas não em AC. Normalmente trabalhos com maçã armazenadas em AC e ACD não apresentam diferenças estatísticas entre os tratamentos e ao longo do armazenamento (BOTH *et al.*, 2014; BRIZZOLARA *et al.*, 2017; THEWES *et al.*, 2015). No entanto, nossos resultados estão de acordo com os reportados por Weber *et al.*, (2020) ao trabalhar com maçãs Braeburn. Alguns autores reportam que a queda na acidez ocorre nos sete dias de simulação da vida de prateleira, pois a temperatura de armazenamento elevada acelera o metabolismo dos frutos.

Como destacado anteriormente, a manutenção da firmeza da polpa da maçã é um ponto crítico após o armazenamento a longo prazo, pois afeta a preferência dos consumidores pela sensação de textura crocante e de suculência (BOTH *et al.*, 2018). Nossos resultados mostraram efeito significativo na firmeza da epiderme e polpa (Figura 5a e 5b) através da combinação entre condição e tempo de

armazenamento. Após 9 meses de armazenamento mais 7 dias simulando a vida de prateleira esperava-se que as maçãs acondicionadas em AC sem aplicação de 1-MCP fossem menos firmes que do que as tratadas com 1-MCP. Esta expectativa resultou da constatação da recorrente utilização de 1-MCP pelo setor produtivo no intuito de melhor preservar a qualidade da maçã, inclusive sua textura, ao longo do armazenamento (KLEIN *et al.*, 2021). Além disto, a aplicação deste fitormônio reduz a ação/produção de etileno e as taxas de respiração, especialmente após armazenamento prolongado (KLEIN *et al.*, 2021; LU, Xingang *et al.*, 2018). A perda de firmeza está relacionada à solubilização da pectina da parede celular e da lamela média pela atividade de enzimas modificadoras da parede celular, como β -galactosidase, α -L-arabinofuranosidase e pectato liase, que são desencadeadas pelo etileno (BOTH *et al.*, 2018). Como os frutos armazenados em AC sem 1-MCP estão sob o efeito de concentrações elevadas de etileno, a diminuição da firmeza ocorre mais significativamente.

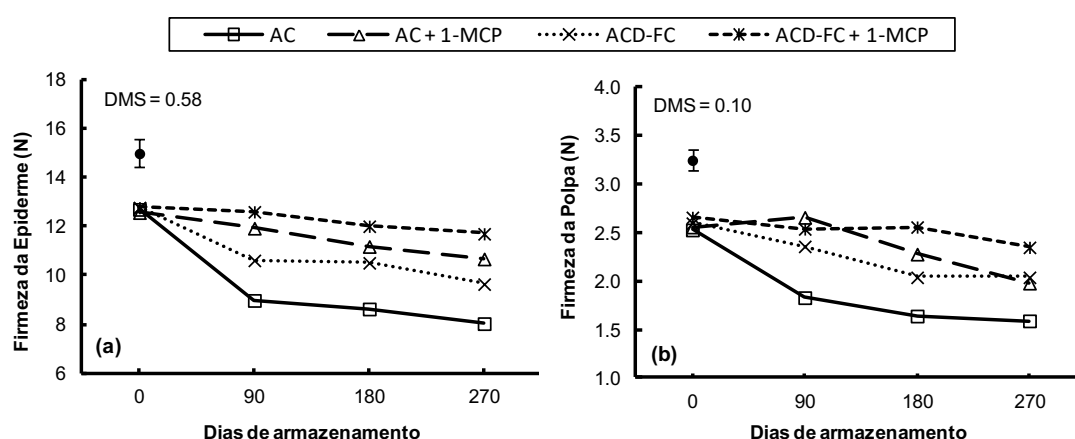


Figura 5. Firmeza da epiderme (a) e polpa (b) de maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. Barra vertical indica a diferença mínima significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

Nos frutos em que o etileno foi inibido (Figura 5a e 5b), a queda na firmeza foi quase inexpressiva, independente da forma de armazenamento (AC ou ACD). Isso corrobora a eficácia do 1-MCP na inibição da ação do etileno (SISLER; SEREK, 1997). Aliado a isto, a baixa concentração de O₂ aparentemente foi outro fator preponderante (BOTH *et al.*, 2018), pois a ACD-FC + 1-MCP foi o tratamento onde a

firmeza praticamente não mudou ao longo de 9 meses de armazenamento. Temperaturas de armazenamento mais elevadas (1,0 °C, 1,2 °C 1,5 °C e 2,0 °C) também teriam a capacidade de auxiliar na manutenção da firmeza da polpa ao longo do armazenamento (ANESE *et al.*, 2019; BOTH *et al.*, 2018; MAZZURANA *et al.*, 2016). Nas maçãs armazenadas sob ACD-FC a diminuição da firmeza se manteve ligeiramente inferior a dos frutos onde o 1-MCP foi aplicado (AC + 1-MCP e ACD-FC + 1-MCP). Isso demonstra que o armazenamento de maçãs sob baixas concentrações de oxigênio reduz a perda de firmeza devido a redução da produção e a ação do etileno (ORTIZ; GRAELL; LARA, 2011). Por outro lado, as maçãs armazenadas sob pO₂ superior e sem 1-MCP (AC) apresentaram maior perda de firmeza de polpa. Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os obtidos em maçãs 'Galaxy' (THEWES *et al.*, 2020), 'Golden Delicious', 'Braeburn', 'Cripps Pink' (ZANELLA; ROSSI, 2015), 'Granny Smith' (MDITSHWA *et al.*, 2017b) e 'Gala' (WEBER *et al.*, 2015).

6.2. Compostos bioativos e atividade enzimática

Os compostos fenólicos desempenham um papel essencial ao estender o período de armazenamento e a vida de prateleira da maçã (MDITSHWA *et al.*, 2017a). Segundo Mditshwa *et al.*, (2017a) há pesquisas demonstrando que maçãs ('Cortland' e 'Empire') resistentes a distúrbios fisiológicos, geralmente apresentam maiores teores de fenólicos quando comparadas com cultivares suscetíveis. As mudanças nas concentrações de compostos fenólicos totais (CFT) são mostradas na figura 6a. Nos primeiros 90 dias os CFT aumentaram 7,58 %. Este aumento ocorreu em todas as formas de armazenamento e sem diferença estatística entre elas. Segundo Leja; Mareczek; Ben, (2003) o aumento nos CFT, observado nos primeiros 90 dias seguido da simulação da vida de prateleira, pode ser atribuído ao etileno. Este hormônio estimularia a atividade da fenilalanina amônia-liase, uma enzima chave na biossíntese de compostos fenólicos e acúmulo de constituintes fenólicos (LEJA; MARECZEK; BEN, 2003; RITENOUR; AHRENS; SALTVEIT, 1995). Após os primeiros 90 dias, os fenólicos diminuíram gradativamente. As maçãs acondicionadas sob ACD-FC + 1-MCP foram as que apresentaram a maior estabilidade com queda de apenas 9,62 % no teor de fenólicos ao longo de 270 dias de armazenamento. No acondicionamento em ACD-FC, mesmo sem a adição de

nenhum composto químico, a queda no teor de fenólicos foi de 17,96 %. A degradação fenólicos das maçãs durante o armazenamento pode ser resultado do ataque por espécies reativas de oxigênio ou polimerização dos compostos fenólicos monoméricos (MA *et al.*, 2019; PIRETTI; GALLERANI; BRODNIK, 1996). Stanger *et al.*, (2018) avaliaram os CFT em maçãs 'Galaxy' armazenadas por 270 dias em ACD e AC e não identificaram diferença estatística na casca. Na polpa, as maiores concentrações dos CFT foram obtidas na ACD. Leja; Mareczek; Ben, (2003) relataram aumento nos fenólicos de maçãs 'Jonagold' e 'S'ampion'. Há na literatura diversas tendências no comportamento de fenólicos com uma grande variedades de maçãs (KAWHENA; FAWOLE; OPARA, 2021). Segundo Mditshwa *et al.*, (2017a), avaliar os efeitos do armazenamento em ACD nos compostos fenólicos individuais e nas suas vias metabólicas também deve ser considerado (MDITSHWA *et al.*, 2017a). Isso poderia ser útil para melhorar a tecnologia ACD (MDITSHWA *et al.*, 2017a).

Diversos fatores interferem nos tipos e concentrações de fenólicos na maçã (JAKOBEK; GARCÍA-VILLALBA; TOMÁS-BARBERÁN, 2013; MDITSHWA *et al.*, 2017a), mas cinco classes se destacam: procianidinas, a classe mais abundante (40 % - 89 %), seguida por ácidos hidroxicinâmicos, dihidrocalconas, flavonóis, antocianinas e flavan-3-ols (ZIELIŃSKA; TUREMKO, 2020). As antocianinas que contribuem para a cor vermelha dos frutos da maçã são encontradas exclusivamente na casca e representam menos de 8 % dos fenólicos totais (WOJDYŁO; OSZMIAŃSKI, 2020; ZIELIŃSKA; TUREMKO, 2020). A estes compostos são atribuídos os efeitos benéficos à saúde encontrados na maçã (ZIELIŃSKA; TUREMKO, 2020). Dentre eles destacam-se a prevenção de doenças cardiovasculares, asma e outras disfunções pulmonares, diabetes, obesidade e câncer, bem como neurodegeneração relacionada à idade (DURALIJA *et al.*, 2021; ZIELIŃSKA; TUREMKO, 2020). Além disso, o conteúdo e a composição dos polifenóis presentes nas maçãs são importantes devido à sua contribuição para a qualidade sensorial da fruta fresca e dos produtos processados de maçã (SUN *et al.*, 2002). Assim, o armazenamento de maçãs em ACD associado ou não ao 1-MCP pode levar a uma dieta com maior teor de compostos bioativos, refletindo em benefícios à saúde dos consumidores (STANGER *et al.*, 2018) e diminuindo a queda na qualidade dos frutos ao longo do armazenamento.

Nas frutas e hortaliças, dentre outros vegetais, a capacidade antioxidante é responsável pela eliminação das espécies reativas de oxigênio (ROS) durante o armazenamento, implicando na melhora na qualidade pós-colheita (MDITSHWA *et al.*, 2017a). Na maçã, o armazenamento apropriado geralmente está associado à preservação da capacidade antioxidante (ADYANTHAYA *et al.*, 2009). Portanto, as condições de armazenamento pós-colheita e os tratamentos devem manter ou melhorar o sistema antioxidante na maçã (MDITSHWA *et al.*, 2017a). Segundo Adyanthaya *et al.*, (2009), a atividade antioxidante está diretamente ligada aos fenólicos presentes no fruto, sendo lógico supor que os frutos com maior quantidade de fenólicos são melhor preservados devido a seus sistemas aprimorados de resposta antioxidante ligados à eliminação de radicais livres. Porém, neste estudo, a atividade antioxidante (Figura 6b) aumentou em todos os tratamentos ao longo do armazenamento de forma concomitante à significativa redução na concentração de compostos fenólicos totais nos referidos tratamentos (Figura 6a). Entretanto, frutos com maior quantidade de fenólicos ao longo do armazenamento também apresentaram maior atividade antioxidante. Mas a tendência dos fenólicos foi inversa a da atividade antioxidante. Os frutos que foram acondicionados em AC + 1-MCP, ACD-FC e ACD-FC + 1-MCP não diferiram estatisticamente nos 0 d, 90 d e 270 d de armazenamento. Em 180 d, a maior atividade antioxidante foi obtida na ACD-FC + 1-MCP. Leja; Mareczek; Ben, (2003) identificaram comportamento semelhante em maçãs 'Jonagold' e 'S'ampion' armazenadas em AC por 120 d mais 7 d de simulação de vida de prateleira. Estes autores atribuíram este comportamento a composição dos fenólicos sintetizados pela casca (JU; BRAMLAGE, 1999). Também destacaram que a separação dos fenólicos parece ser necessária em futuras investigações. Já Floegel *et al.*, (2011) relataram que o método ABTS é considerado mais preciso do que o método DPPH para a quantificação da atividade antioxidante por refletir melhor a atividade antioxidante em alimentos ricos em compostos hidrossolúveis e lipossolúveis e na pigmentação. Stanger *et al.*, (2018) armazenaram maçãs 'Galaxy' em AC e ACD e não identificaram efeitos na atividade antioxidante na polpa da fruta. Eles atribuíram isto ao fato de que em amostras complexas, como a fruta, a atividade antioxidante é o resultado da presença de várias moléculas diferentes que apresentam efeitos sinérgicos (STANGER *et al.*, 2018). Assim, a atividade antioxidante na polpa não está relacionada a uma única classe de compostos,

devido aos efeitos sinérgicos e aditivos (BOLLING; CHEN; CHEN, 2013; STANGER *et al.*, 2018). Há poucos trabalhos avaliando a atividade antioxidante (Figura 6b) de maçãs armazenadas em ACD. Dentre eles se destacam as variedades 'Pero de Cehegín' (ABRIL; RODRÍGUEZ-VERÁSTEGUI; ARTÉS, 2018) e 'Granny Smith' (KAWHENA; FAWOLE; OPARA, 2021; MDITSHWA *et al.*, 2017a).

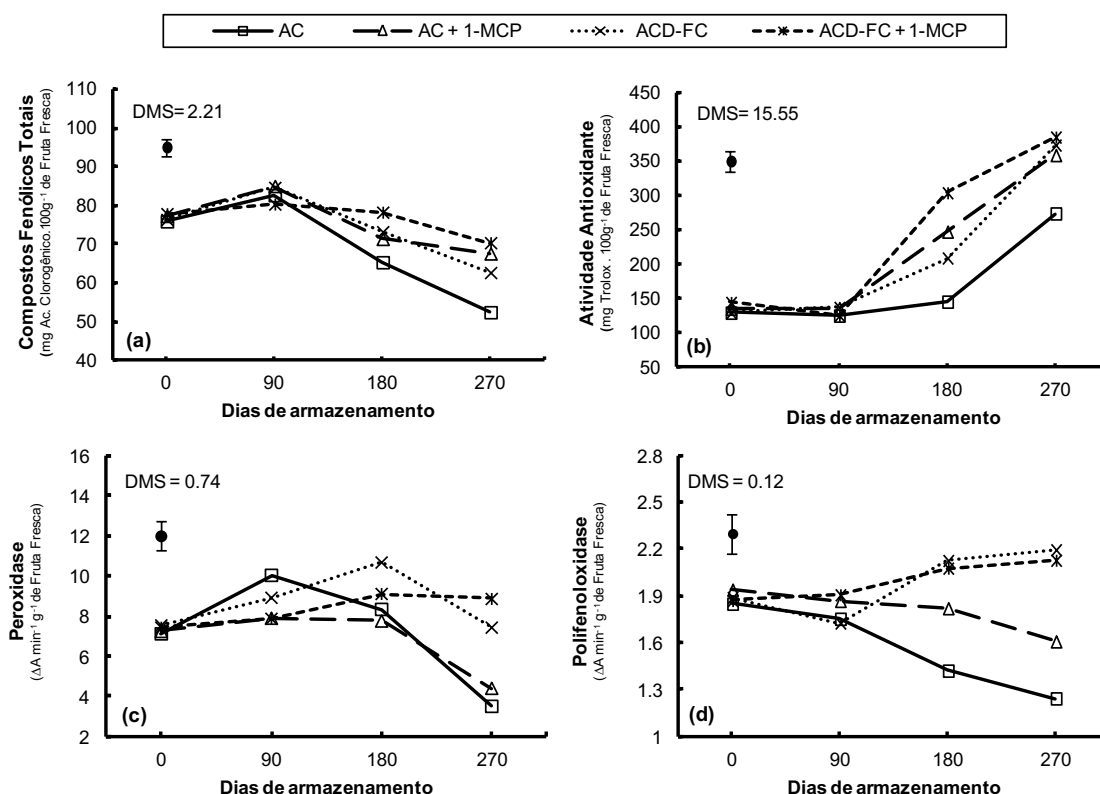


Figura 6. Compostos fenólicos totais (a), atividade antioxidante (b), peroxidase (c) e polifenoloxidase (d) de maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. Barra vertical indica a diferença mínima significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

O escurecimento enzimático é uma das reações mais importantes que ocorrem em frutas e vegetais (TANG *et al.*, 2020). Este processo é uma consequência da enzima polifenoloxidase (PPO) catalisando a oxidação de compostos fenólicos em ortoquinonas (DEUTCH, 2018). Em células vegetais normais, os compostos fenólicos estão localizados no vacúolo e a PPO nos plastídios (TANG *et al.*, 2020). Porém, danos nos tecidos vegetais provocam a ruptura dos plastídios e vacúolos, permitindo o contato da enzima com os compostos

fenólicos, e assim desencadeando o escurecimento enzimático (TANG *et al.*, 2020). A enzima peroxidase (POD) também tem ação de PPO (JUNG; WATKINS, 2011). Ainda que o seu papel no escurecimento enzimático esteja sob debate devido às baixas concentrações internas de H_2O_2 que limitariam a atividade da POD, seria possível a sua atividade estar envolvida em processos lentos, como escurecimento interno (JUNG; WATKINS, 2011; TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001). Além disso, a PPO e a POD poderiam agir sinergicamente (JUNG; WATKINS, 2011). Até onde sabemos, não há na literatura trabalhos avaliando a POD e PPO de maçãs 'Royal Gala' armazenadas em ACD. De acordo com a avaliação da POD (Figura 6c), os resultados deste trabalho permitem inferir que o armazenamento de maçãs em ACD-FC, associado ou não ao 1-MCP, afeta muito pouco a atividade da POD ao longo de 270 d, sendo que esta observação se torna mais evidente aos 270 d de armazenamento. A preservação da atividade da POD é desejável pois a mesma protege as células de danos ao remover o excesso de radicais livres (TANG *et al.*, 2020). Ademais, a atividade da POD está associada ao amadurecimento (INGHAM; PARKER; WALDRON, 1998; LEE; MATTHEIS; RUDELL, 2019), bem como ao controle do escurecimento interno da maçã (LEE; MATTHEIS; RUDELL, 2019; RICHARD-FORGET; GAUILLARD, 1997). Assim, preservar a atividade enzimática ao longo do armazenamento pode ser um indicativo de manutenção da qualidade, inibição do escurecimento interno bem como a postergação da senescência. Em maçãs da variedade 'Gala', os tecidos do córtex provenientes da extremidade do caule podem ser mais suscetíveis à degradação da polpa quando comparados com os tecidos do córtex provenientes da extremidade do cálice, pois o amadurecimento destas maçãs tendem a começar no caule e terminar no cálice (LEE; MATTHEIS; RUDELL, 2019; OPARA; STUDMAN; BANKS, 1997). Essa característica provocaria o escurecimento mais elevado nas regiões da extremidade do caule do que nas regiões da extremidade do cálice (LEE; MATTHEIS; RUDELL, 2019; OPARA; STUDMAN; BANKS, 1997). Diante disto, o acondicionamento adequado seria determinante para manter a qualidade e a cor dos frutos. Nos frutos acondicionados em ACD-FC + 1-MCP a atividade da POD (Figura 6c) aumentou ao longo do armazenamento, com valores médios de 7,44 no início do armazenamento (0 d) e 8,87 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de FF no final (270 d). Já os frutos armazenados em ACD-FC apresentaram tendência semelhante nos primeiros 180 d e queda nos últimos 90 d

de armazenamento. Cabe destacar, que nesta forma de armazenamento (ACD-FC), não houve diferença estatística na atividade da POD entre o início e o final do armazenamento (0 d e 270 d), inferindo ação efetiva do acondicionamento sob ACD. Nas maçãs acondicionadas em AC ocorreu aumento na atividade da POD até 90 d, já as acondicionadas em AC + 1-MCP a mesma se manteve estável. Entre 0 d e 180 d praticamente não houve alteração nestes tratamentos (AC e AC + 1-MCP). Entre 180 d e 270 d percebeu-se queda acentuada na atividade enzimática.

Na figura 6d observa-se as variações da PPO. Nos primeiros 90 d de armazenamento não houve diferença estatística entre os tratamentos. No entanto, ao considerarmos o início (0 d) e o final do experimento (270 d) percebemos que nas maçãs acondicionadas em ACD-FC e ACD-FC + 1-MCP ocorreu aumento na atividade da PPO em 13,93 % e 12,16 % respectivamente. Os frutos acondicionados em AC + 1-MCP apresentaram queda intermediária na atividade da PPO e os acondicionados em AC apresentaram uma queda mais acentuada ao considerar todo o período de armazenamento. Estes resultados estão de acordo com os reportados por Jung; Watkins, (2011) pois em seu experimento com maçãs 'Empire' (armazenamento em AC por até 10,5 meses), a atividade da PPO foi maior em frutas tratadas com 1-MCP do que em frutas não tratadas. Yuan *et al.*, (2021) reportam que o bom resultado observado na ACD-FC + 1-MCP pode ser atribuído ao tratamento com o 1-MCP e às concentrações adequadas de O₂ e CO₂ às quais as maçãs foram submetidas. Isso diminuiria a atividade fisiológica das maçãs ao restringir a respiração e a geração de etileno. Também deixaria as células semidormientes, proporcionando mais resistência a estresses adversos (FERNÁNDEZ-TRUJILLO; NOCK; WATKINS, 1999; YUAN *et al.*, 2021). Como os frutos acondicionados apenas em ACD-FC (sem aplicação de 1-MCP) tiveram comportamento semelhante aos tratados com 1-MCP infere-se que a aplicação de 1-MCP nestas situações seria dispensável. Não aplicar 1-MCP permitiria reduzir os custos, bem como permitir armazenar maçãs cultivadas no sistema orgânico. Embora a atividade da PPO esteja correlacionada com o escurecimento da polpa (HAN *et al.*, 2020; JUNG; WATKINS, 2011; KOUSHESH SABA; WATKINS, 2020; TANG *et al.*, 2020), é satisfatório observar a atividade enzimática ativa ao longo do armazenamento, o que permite deduzir que as condições de armazenamento utilizadas neste experimento foram adequadas.

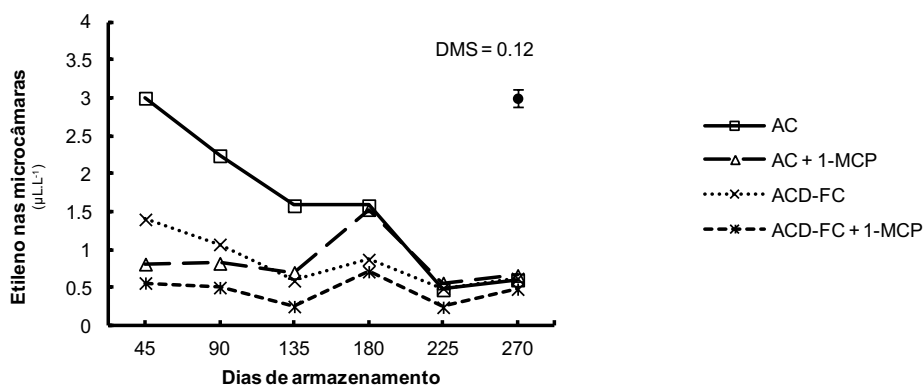


Figura 7. Produção de etileno nas microcâmaras de armazenamento das maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. Barra vertical indica a diferença mínima significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

É bem conhecido que o etileno influencia amplamente a qualidade dos frutos, especialmente a diminuição da firmeza, por controlar a quantidade e a atividade das enzimas degradadoras da pectina (HARB *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2017; TOIVONEN; BRUMMELL, 2008; WEBER *et al.*, 2020). Com o intuito de reduzir a ação do etileno, utiliza-se o 1-MCP, que bloqueia os receptores de etileno localizados majoritariamente no retículo endoplasmático da membrana celular, inibindo a ligação do etileno aos seus receptores e, conseqüentemente, reduzindo seus efeitos fisiológicos (ANESE *et al.*, 2019; LACEY; BINDER, 2014; SISLER; SEREK, 1997). Na figura 7, aos 45 d de armazenamento, visualizamos facilmente a ação do 1-MCP nas maçãs, pois nas câmaras experimentais (CE) onde estavam os frutos não tratados (AC e ACD-FC), a produção de etileno foi bastante superior a aquelas onde os frutos foram tratados (AC + 1-MCP e ACD-FC + 1-MCP) com o 1-metilciclopropeno. Cabe destacar que embora não estivessem sob a ação do 1-MCP, as maçãs acondicionadas em ACD-FC tinham uma concentração de etileno 53,3 % inferior aos frutos tratados e acondicionados em AC. A microcâmara com a menor concentração de etileno ao longo de todo o armazenamento foi a ACD-FC + 1-MCP, com valores médios de 0,45 µL L⁻¹. Como descrito anteriormente, os frutos não tratados tinham elevada concentração de etileno aos 45 d. Posteriormente nestas CE houve queda na concentração, terminando com valores médios de

0,59 $\mu\text{L L}^{-1}$. Os frutos tratados mantiveram as suas concentrações com poucas alterações. É importante destacar que para adequar/manter as concentrações de O_2 e CO_2 nas CE, sempre que necessário o Multiplex® adsorvia e/ou injetava os gases necessários e durante estas trocas gasosas controladas, o etileno presente neste espaço possivelmente era eliminado. Aliado a isto, a ação do 1-MCP e as baixas pressões parciais de O_2 e CO_2 poderia explicar as baixas concentrações de etileno nas CE. Segundo Brackmann *et al.*, (2000) quanto mais baixa a concentração de etileno durante o armazenamento de maçãs cultivar 'Royal Gala', maior é a retenção da firmeza de polpa, sendo que, para os demais atributos de qualidade, concentrações inferiores a 1,0 $\mu\text{L L}^{-1}$ apresentam efeito semelhante. A remoção, bem como a manutenção do etileno no ambiente de armazenamento melhora ainda mais a conservação e a qualidade da maçã 'Gala', aumentando o tempo de armazenamento da fruta (BRACKMANN *et al.*, 2003; BRACKMANN; SAQUET, 1999). Estima-se um aumento no tempo de armazenamento variando de 30 d a 45 d com a remoção do etileno (BRACKMANN *et al.*, 2003). A respiração e a taxa de produção de etileno podem ser reduzidas efetivamente alterando a concentração da composição do gás circundante, enfraquecendo assim o efeito do etileno, atrasando a maturação e senescência e controlando o crescimento de patógenos e insetos (HU *et al.*, 2019; QI *et al.*, 2021). Contudo, o armazenamento em atmosfera controlada é baseado em um sistema atmosférico estático; portanto, o acúmulo de etileno é inevitável (QI *et al.*, 2021). Por esse motivo, muitos métodos foram desenvolvidos recentemente para a remoção do etileno que se acumula no ambiente de armazenamento e transporte (QI *et al.*, 2021). QI *et al.*, (2021) destacaram o inibidor de etileno (1-MCP), adsorção, oxidação direta, oxidação catalítica de baixa temperatura, oxidação fotocatalítica e oxidação catalítica de plasma. Embora existam todos estes métodos, é importante avaliar o custo de implementação destes sistemas e o retorno financeiro que estes proporcionaram para o setor atacadista.

6.3. Produção de etileno e metabolismo anaeróbico

O 1-MCP afetou fortemente a produção de etileno (Figura 8a), não importando o sistema de armazenamento. Onde ele foi aplicado (AC + 1-MCP e ACD-FC + 1-MCP), as concentrações de etileno produzidas foram baixíssimas e decrescentes, com médias que começaram em 1,80 $\text{ng kg}^{-1}\text{s}^{-1}$ e terminaram em

0.68 ng Kg⁻¹s⁻¹, correspondendo à uma redução média de 62 % no período. Nas maçãs em que não ocorreu a aplicação do 1-MCP, os frutos armazenados em AC apresentaram elevada produção de etileno (C₂H₄), com concentrações médias começado em 5,48 ng kg⁻¹s⁻¹ e terminando em 3,51 ng kg⁻¹s⁻¹. Na ACD-FC a resposta ao armazenamento foi semelhante a AC, com concentrações médias de 5,28 ng Kg⁻¹s⁻¹ no início do armazenamento e 4,50 ng Kg⁻¹s⁻¹ no final. É interessante observar que nos frutos acondicionados em ACD-FC a produção de etileno foi levemente superior a dos frutos armazenados em AC a partir dos 90 dias de armazenamento. De acordo com Both *et al.*, (2018) o efeito do 1-MCP na redução da produção de etileno em maçãs armazenadas em câmaras refrigeradas (GAGO *et al.*, 2015) ou AC (WATKINS; NOCK, 2012) é bem conhecido. A ACD também reduz satisfatoriamente a produção de etileno, mesmo sem aplicação de 1-MCP (BOTH *et al.*, 2017; BRACKMANN; WEBER; BOTH, 2015; STANGER *et al.*, 2018; THEWES *et al.*, 2020; THEWES, *et al.*, 2017). No entanto, não identificamos este benefício em nosso experimento. Dentre os diversos fatores que provocam redução na produção de etileno (Figura 8a) em maçãs armazenadas em ACD, consta a elevada produção de etanol (PESIS, 2005; THEWES *et al.*, 2020; THEWES, *et al.*, 2015; WEBER *et al.*, 2020). No entanto, a quantidade de etanol identificada (Figura 8b) foi elevada apenas aos 90 d de armazenamento. Este poderia ser um dos motivos para não ter ocorrido redução na produção de etileno nas maçãs armazenadas em ACD. Outra possível explicação pode ser atribuída à quantificação do etileno que ocorreu somente ao final da simulação de cada vida prateleira (7 d a 20 °C), quando a concentração de etanol na maçã já teria reduzido para valores iniciais (DIXON; HEWETT, 2000). Também deve-se considerar que embora a quantidade de etileno produzida pelos frutos armazenados em ACD-FC seja alta na simulação da vida de prateleira, nas CE as concentrações de etileno foram sempre inferiores à 1,4 µL L⁻¹ (Figura 7).

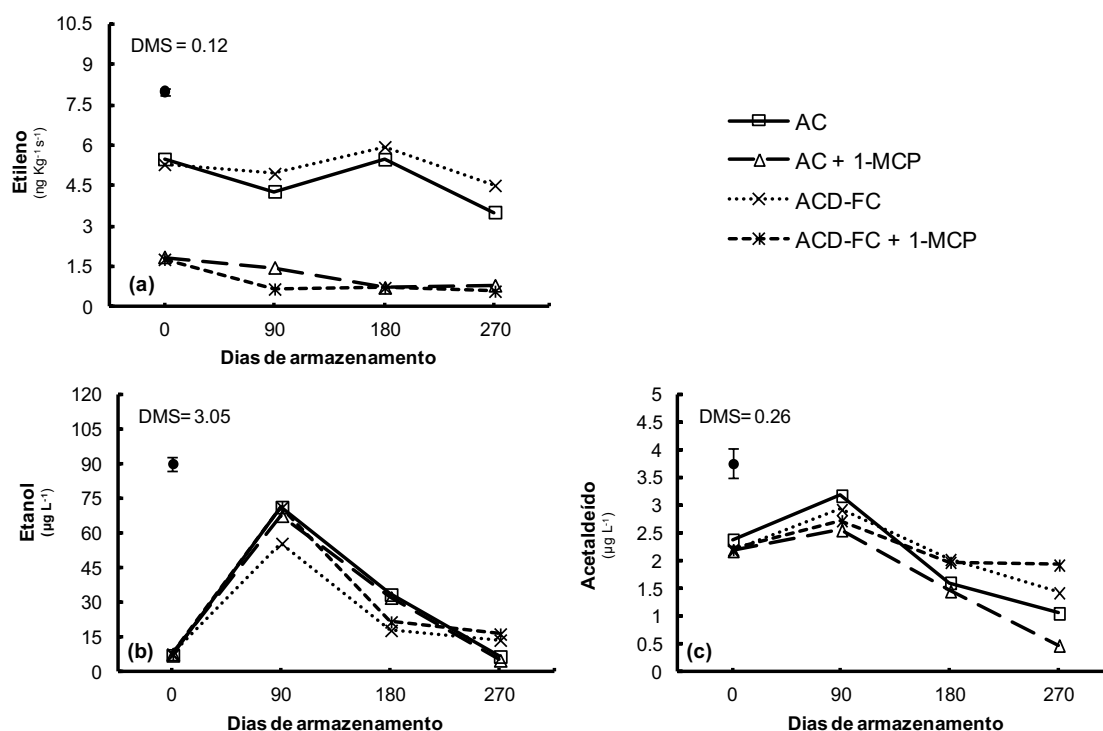


Figura 8. Produção de etileno (a), etanol (b) e acetaldeído (c) das maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. Barra vertical indica a diferença mínima significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

O acetaldeído, etanol e acetato de etila, são metabólitos de respiração anaeróbia produzidos pelas maçãs mesmo em condições aeróbias e constituem os primeiros indicadores de metabolismo anaeróbico (PESIS, 2005). Dentre estes, o mais nocivo é o acetaldeído, pois é rapidamente transformado em etanol pela enzima álcool desidrogenase (LEE *et al.*, 2012; PESIS, 2005). Na quantificação de etanol (Figura 8b), realizada após a simulação da vida de prateleira, não houve diferença estatística entre os tratamentos, os quais apresentaram concentração inicial média de 7,34 µg L⁻¹. Aos 90 d, ocorreu a produção máxima de etanol (média de 69,91 µg L⁻¹) nos frutos acondicionados sob AC, AC + 1-MCP e ACD-FC + 1-MCP. Nas maçãs acondicionadas em ACD-FC a concentração de etanol (55,45 µg L⁻¹) foi levemente inferior à dos demais tratamentos. Após o pico de metabolismo anaeróbico ocorrido aos 90 dias, ocorreu declínio na concentração de etanol em todas as formas de armazenamento. Após 180 d, os frutos acondicionados em ACD

novamente acumularam um pouco menos de etanol do que aqueles acondicionados em AC.

O acetaldeído (Figura 8c) apresentou comportamento semelhante ao etanol, mas com diferenças mais claras entre os sistemas de armazenamento, sendo que na fase inicial (0 d) a concentração média foi de $2,23 \mu\text{L L}^{-1}$. Entre 0 d e 90 d houve o aumento mais proeminente durante o armazenamento, seguido de queda aos 180 d e 270 d. As diferenças mais claras são identificadas aos 270 d, com as maçãs que foram acondicionadas em ACD-FC + 1-MCP apresentando as maiores concentrações de acetaldeído e as acondicionadas em AC + 1-MCP as menores concentrações. Cabe salientar que à exceção dos 90 d de armazenamento, as demais detecções de acetaldeído foram inferiores a detecção inicial. Wood *et al.*, (2022) reportaram concentrações desprezíveis de etanol ($\leq 18,7 \mu\text{L L}^{-1}$) e de acetaldeído ($\leq 2,1 \mu\text{L L}^{-1}$) para as variedades de maçã 'Golden Delicious', 'Jonagold' e 'Kanzi' armazenadas por 84 d em AC e submetidas à anoxia (0 d - 3 d) no início do armazenamento. Em 7 d de anoxia, as maiores concentrações de etanol identificadas foram de $112 \mu\text{L L}^{-1}$, $460 \mu\text{L L}^{-1}$ e $178 \mu\text{L L}^{-1}$ nas variedades 'Golden Delicious', 'Jonagold' e 'Kanzi', respectivamente. Nossos resultados são consistentes com as baixas concentrações de etanol (Figura 8b) e acetaldeído (Figura 8c) obtidos em pesquisas anteriores (WOOD *et al.*, 2022). Desconsiderando possíveis distúrbios fisiológicos provocados pelo etanol, sensorialmente as concentrações quantificadas são consideradas aceitáveis (KE; RODRIGUEZ-SINOBAS; KADER, 1991; WOOD *et al.*, 2022). Junto às agroindústrias da Alemanha do setor de maçã, considera-se que o sabor é prejudicado quando as concentrações de etanol são superiores a $50 \mu\text{L L}^{-1}$ (FELLNER, 2010; WOOD *et al.*, 2022). Ke; Rodriguez-Sinobas; Kader (1991) após a realização de análise sensorial relataram a identificação de um ligeiro sabor estranho provocado pelo de etanol, em concentrações $> 200 \mu\text{L L}^{-1}$, em peras do 'Século 20'. Também destacaram a grande variação que ocorre nas frutas e o limiar de identificação. Concluíram exemplificando um ligeiro sabor estranho apenas com concentrações $> 1000 \mu\text{L L}^{-1}$ e $> 2000 \mu\text{L L}^{-1}$ em maçãs 'Yellow Newtown' e ameixas 'Angeleno' respectivamente (KE; RODRIGUEZ-SINOBAS; KADER, 1991). Ao considerar possíveis distúrbios provocados pela produção de acetaldeído, que é convertido em etanol, é possível observar a elevada resistência que a variedade 'Royal Gala' apresenta a concentrações extremamente baixas de O_2 durante o

armazenamento (BOTH *et al.*, 2014). Segundo Pesis, (2005), o acetaldeído e etanol estão envolvidos na vida pós-colheita dos frutos, especialmente durante a fase de desenvolvimento dos voláteis ligados ao aroma e ainda não há um consenso quanto ao acúmulo de acetaldeído e a deterioração fisiológica do fruto. O que se sabe é que em pequenas quantidades, esses metabólitos têm efeitos benéficos na fruta, enquanto em grandes quantidades também ocorrem efeitos negativos, como o desenvolvimento de sabores estranhos (PESIS, 2005). A fermentação não é necessariamente prejudicial às funções celulares normais, desde que os níveis de energia sejam adequados para uma atividade metabólica mínima e o acúmulo de voláteis não se torne excessivo (WRIGHT *et al.*, 2015). Isso não quer dizer que o estresse provocado pelo baixo teor de oxigênio e a via de fermentação sejam estritamente benéficos (WRIGHT *et al.*, 2015). Vegetais que apresentam baixos níveis de atividade álcool desidrogenase, com capacidades de fermentação mais baixas, normalmente têm taxas mais baixas de sobrevivência sob estresse de baixo oxigênio (ISMOND *et al.*, 2003; ROBERTS *et al.*, 1984; WRIGHT *et al.*, 2015). Segundo Wright *et al.*, (2015), ao controlar as concentrações de piruvato (substrato inicial para a fermentação e respiração mitocondrial), a fermentação pode regular a taxa de respiração mitocondrial, conservando assim níveis limitados de O₂ (ZABALZA *et al.*, 2009). A regulação do metabolismo celular também pode ser alcançada por meio de alterações na taxa de glicólise (WRIGHT *et al.*, 2015). Wright *et al.*, (2015), observaram que a taxa de glicólise diminui sob condições de hipóxia, uma resposta que conserva o consumo de oxigênio, mas aumenta quando a anoxia é alcançada, para aumentar a produção de energia do metabolismo de fermentação pouco eficiente (GEIGENBERGER *et al.*, 2000). O oxigênio é o receptor de elétrons no complexo citocromo oxidase terminal da mitocôndria durante a respiração aeróbia (WRIGHT *et al.*, 2015). Se os níveis de O₂ nos tecidos se tornam limitantes, as células vegetais recorrem ao processo de fermentação, o qual é menos eficiente na produção energia e que pode levar a um acúmulo de voláteis de fermentação e consequente distúrbios fisiológicos nos frutos durante o armazenamento (WRIGHT *et al.*, 2015). No entanto, os benefícios do armazenamento de maçã sob baixas concentrações de O₂ incluem redução na respiração e na síntese de etileno, taxa mais lenta de maturação e de senescência e redução em alguns distúrbios de armazenamento (WRIGHT *et al.*, 2015)

6.4. Avaliação de distúrbios fisiológicos

Os distúrbios fisiológicos são problemas desafiadores enfrentados no armazenamento da maçã, por isso sua redução é importante para evitar a perda dos frutos e oferecer ao mercado produtos de alta qualidade. A maior incidência de podridão (Figura 9a) foi observada a partir dos 180 d de armazenamento das maçãs armazenadas em AC sem aplicação de 1-MCP. Nos frutos armazenados sob ACD-FC e nos que foram submetidos à aplicação de 1-MCP (AC + 1-MCP e ACD + 1-MCP) a incidência de podridão ficou abaixo de 12,5 % nos 270 d de armazenamento. Esta porcentagem de podridão é compatível com a obtida por Both *et al.*, (2018) ao trabalhar com maçãs 'Galaxy'. Como há relatos de que a aplicação externa de etanol em algumas espécies de frutas reduz a incidência de apodrecimento (PESIS, 2005), era esperado que o armazenamento em ACD-FC pudesse reduzir a apodrecimento com base na maior produção de etanol nesses frutos (BOTH *et al.*, 2018). A disponibilidade reduzida de O₂ e elevada de CO₂ neste sistema de armazenamento pode ser outro fator preponderante, pois a produção de etanol nos sistemas de armazenamento praticamente não mudou ao longo do experimento.

Segundo Brackmann; Argenta; Mazaro, (1996) o período de comercialização da maçã 'Gala' é limitado ao primeiro semestre do ano devido a rápida perda de qualidade, relacionada com a diminuição da firmeza da polpa e ocorrência de distúrbios fisiológicos durante o armazenamento. Os frutos armazenados por longos períodos apresentam rachaduras na epiderme e na polpa, além disso, podem apresentar polpa seca, farinhenta e deficiente sabor (BRACKMANN; ARGENTA; MAZARO, 1996; STÜRZ; ROSSI; ZANELLA, 2018). O índice de rachaduras na polpa provocados pela degenerescência senescente (Figura 9b) ficou abaixo de 10 % nas maçãs onde o 1-MCP foi aplicado, mostrando a eficiência deste fitormônio no controle deste distúrbio. Nos frutos acondicionados em ACD-FC esse distúrbio se mostrou crescente a partir dos primeiros 90 d de armazenamento, com perdas de 18,1 % e 36,1 %, aos 180 d e 270 d respectivamente. A umidade relativa elevada (> 95 %) utilizada neste experimento pode ser sido a causa desse distúrbio. Quando excessivamente alta, proporciona condições para o desenvolvimento de doenças fúngicas e distúrbios fisiológicos e, quando excessivamente baixa, causa grande perda de massa e murchamento (BRACKMANN *et al.*, 2005; SCHWARZ, 1994;

THEWES *et al.*, 2017; VERAVERBEKE *et al.*, 2003). No entanto, Anese *et al.*, (2016) verificaram que a perda de massa induzida por baixa umidade relativa aumentou a taxa de difusão gasosa na polpa da maçã 'Royal Gala' e 'Galaxy', reduzindo os distúrbios do tipo *pulp cracking*, *flesh breakdown* e polpa farinácea após o armazenamento em atmosfera controlada. A difusão gasosa é muito importante para o metabolismo da fruta, pois durante a respiração ocorre a captação de O₂ e a liberação de CO₂, que precisa ser difundido através da polpa da fruta (HO *et al.*, 2013). CO₂ excessivamente alto, ou baixo O₂, causa distúrbios fisiológicos (ANESE *et al.*, 2016; DE CASTRO *et al.*, 2008; HERREMANS *et al.*, 2013; HO *et al.*, 2013). O O₂ baixo, além de produzir compostos de fermentação, também reduz a produção de energia (ATP), portanto, a capacidade de reparação da membrana celular é diminuída, induzindo o colapso da célula (ANESE *et al.*, 2016; HO *et al.*, 2013; SAQUET; STREIF; BANGERTH, 2000) o que é demonstrado pela quebra interna (FRANCK *et al.*, 2007). Alto CO₂ pode causar estresse oxidativo e formação de espécies reativas de oxigênio, o que leva a danos celulares e escurecimento (DE CASTRO *et al.*, 2008; HERREMANS *et al.*, 2013). Segundo Anese *et al.*, (2016), se a indução da perda de massa, causada por baixos níveis de UR, melhorar a taxa de difusão do gás, a pressão parcial de CO₂ possivelmente pode ser aumentada durante o armazenamento da maçã, sem causar danos aos tecidos pelo acúmulo de CO₂ na célula. Assim, alguns benefícios podem ocorrer, tais como: redução da frequência respiratória; baixos níveis de produção de etileno; manutenção na qualidade; e, principalmente, redução no consumo de energia através da eliminação de CO₂ na câmara, visto que quanto maior a pressão parcial de CO₂, maior a eficiência na adsorção do gás (ANESE *et al.*, 2016).

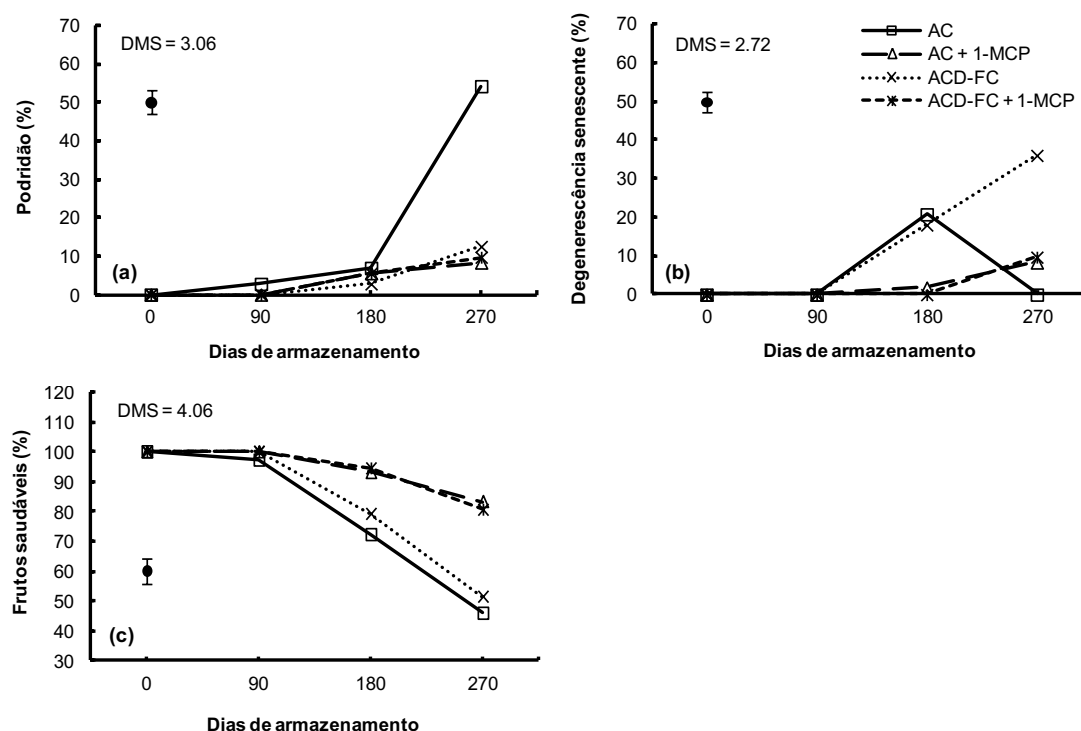


Figura 9. Apodrecimento (a), degenerescência senescente (b) e frutos saudáveis (c) de maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. Barra vertical indica a diferença mínima significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

Frutos saudáveis são aqueles que podem ser comercializados, ou seja, sem podridão, distúrbios externos ou internos, como polpa farinácea e quebra da polpa. Foram considerados nestas porcentagens apenas os frutos aptos para serem consumidos após os períodos de armazenamento mais os sete dias de simulação da vida de prateleira. Os resultados (Figura 9c) destacaram que a utilização de 1-MCP foi determinante na manutenção da qualidade dos frutos. Onde ele foi utilizado, houve manutenção na qualidade das maçãs acima de 80 %, mesmo após 270 d de armazenamento. Onde o 1-MCP não foi utilizado, na ACD-FC verificou-se um resultado levemente superior a AC. As porcentagens de perda dos frutos acondicionados em ACD-FC foram de 20,83 % e 48,61 % aos 180 d e 270 d, respectivamente. Na AC as perdas começaram mais cedo, aos 90 d de armazenamento (2,78 %). Aos 180 d e 270 d as perdas foram de 27,78 % e 54,17 % respectivamente. A elevada perda de qualidade dos frutos armazenados em AC normalmente está relacionada à maior produção de etileno, elevada taxa

respiratória, maior grau de maturação na colheita, bem como temperatura e umidade de armazenamento inadequadas. Para a ACD-FC uma possível explicação pode ser atribuída ao metabolismo anaeróbico durante a implementação da ACD, bem como às baixas concentrações de O₂ (0,35 kPa - 0,45 kPa) ao longo do armazenamento. O metabolismo anaeróbico resulta na produção insuficiente de ATP para manter a integridade celular, desencadeando a incidência de degradação da polpa (HO *et al.*, 2013; PEDRESCHI *et al.*, 2009). Outro fator que pode interferir na manutenção da integralidade dos frutos no armazenamento é o seu ponto de maturação na colheita. Maçãs colhidas precocemente são mais suscetíveis à escaldadura superficial, apresentam menor coloração vermelha na casca e menor acúmulo de açúcar (LU; MA; LIU, 2012; THEWES *et al.*, 2017). Por outro lado, maçãs colhidas tardiamente são mais suscetíveis à incidência de podridões, distúrbios fisiológicos e apresentam maior biossíntese de compostos voláteis (THEWES; BRACKMANN; ANESE; *et al.*, 2017). Os resultados pouco promissores obtidos no armazenamento em ACD-FC estão em desacordo com diversos trabalhos (MDITSHWA; FAWOLE; OPARA, 2018; THEWES; BOTH; BRACKMANN; WEBER; *et al.*, 2015; TRAN *et al.*, 2015; WEBER *et al.*, 2015) que utilizaram este mesmo sistema de armazenamento.

6.5. Avaliação dos compostos voláteis

O perfil volátil de maçã é composto por uma complexa mistura de compostos orgânicos, como ésteres, alcoóis, aldeídos, dentre outros (BOTH *et al.*, 2017). Esses compostos voláteis (CV) são muito dinâmicos e podem variar de acordo com o estágio de maturação, a cultivar, a aplicação de 1-MCP, as condições de armazenamento, dentre outros fatores (BOTH *et al.*, 2017). Através da análise de compostos voláteis por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (GC/MS) foi possível identificar e quantificar 35 CV (Tabela 1). Nas amostras foram identificados alcoóis (9), ésteres (10), aldeídos (3), hidrocarbonetos monoterpênicos (3), hidrocarbonetos (6), ácido orgânico (1), monoterpênóide (1), cetona (1) e tiazol (1). Esses compostos foram detectados em todas as amostras, independentemente do nível de O₂ utilizado durante o armazenamento, embora a condição de armazenamento tenha influenciado a concentração de muitos deles.

Tabela 1. Índices de retenção e íons de referência dos compostos voláteis identificados nas maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.

Composto	IRL	IRL exp	IS	MW	Reference Ions (RI)	Reference Ions Experimental (RIE)
<i>Alcool</i>						
Ethanol	463	-	93	46.07	31(100)45(49.6)46(18.2)	45(100)46(35.66)43(29.85)
1-Butanol	662	-	97	74.12	31(100)56(78.11)41(69.46)	56.05(100)41(85.44)43(59.05)
1-Hexanol	860	872,6	97	102.17	56(100)55(53.16)43(49.25)	56.05(100)43(54.25)55(51.76)
1-Heptanol	960	974,3	95	116.2	70(100)41(99.90)56(85.34)	41(100)70.05(87.35)56.05(84.91)
2-Octenol	1067	982,5	86	128.21	57(100)41(44.52)55(38.53)	57(100)43(45.34)41(36.83)
3-Octanol	979	998,8	96	130.229	59(100)55(68.61)83(62.24)	59(100)55(70.66)83.05(60.05)
2-Ethyl-1-hexanol	995	1032,2	96	130.229	57(100)41(40.24)43(38.13)	57.05(100)41(53.66)43(32.75)
2-Phenyl-2-propanol	1084	1083,2	88	136.19	43(100)121(71.72)118(28.57)	43 (100)121.05(40.25)77(17.36)
2-methyl-1-butanol	697	-	97	88.15	41(100)57(77.96)56(71.85)	41(100)57.05(81.69)56.05(78.13)
<i>Éster</i>						
Isobutyl acetate	721	-	88	116.16	43(100)56(23.02)15(15.01)	43(100)41(25.01)42(23.73)
Butyl acetate	785	817,4	98	116.16	43(100)56(37.13)41(18.92)	43(100)56.05(41.20)41(18.44)
Pentyl acetate	884	918,2	96	130.18	43(100)70(30.43)42(20.82)	43(100)70.05(32.32)42(26)
5-Hexenyl acetate	974	1008,4	96	142.2	43(100)67(57.79)54(51.20)	43(100)67.05(49.06)54(46.52)
Hexyl acetate	984	1019,8	97	144.21	43(100)56(57.40)55(29.29)	43(100)56.05(53.70)61(26.23)
Butyl 2-Methylbutanoate	1019	1044,8	92	158.24	57(100)103(63.01)29(53.71)	57.05(100)41(66.60)103.05(55.66)
Heptyl acetate	1083	1115,5	91	158.24	43(100)56(38.13)70(29.03)	43(100)56.05(38.02)70(37.02)
2- Hethylhexyl acetate	1153,5	1118,0	95	172.26	43(100)70(60,36)57(38,43)	42,95(100)70,05(54,72)55(34,32)
Hexyl butanoate	1194,0	1183	97	172.26	43(100)71(72,97)89(47,73)	43(100)71(68,02)56,05(34,02)
2-Phenylethyl acetate	1255,6	1259	90	164.2	104(100)43(84,01)91(22,88)	104,05(100)43(86,79)91,05(23,65)
<i>Aldeído</i>						
Hexanal	806	802,0	89	100.16	44(100)56(82)41(69.10)	43(100)41(88.06)43.95(74.77)
2-Hexenal	806	851,9	89	98.14	41(100)39(63.20)27(60.45)	43(100)41(88.06)43.95(74.77)

Continua

Continuação

Composto	IRL	IRL exp	IS	MW	Reference Ions (RI)	Reference Ions Experimental (RIE)
3,6-nonadienal	1120	1105,8	87	138.21	67(100)41(59.56)55(46.54)	67.05(100)41(65.10)95.05(50.35)
Hidrocarboneto Monoterpeno						
Limonene	1018	1027,3	92	136.23	68(100)67(63.73)93(60.38)	68.05(100)67.05(93.45)93.05(82.59)
γ-Terpinene	998	1057,5	86	136,23	93(100)91(56.55)77(41.55)	93.05(100)91.05(70.01)77(46.34)
2,3-Dimethyldodecane	1260,2	1285	91	198.39	43.00(100)57(85.76)71(73.90)	43(100)57.05(71,96)71,05(70,81)
Hidrocarboneto						
Undecane	1115	1101,6	93	156.31	57(100)43(93.44)71(45.37)	57.05(100)43(89.71)41(47.88)
Dodecane	1201,6	1214	90	170.33	57(100)43(94,63)71(60,00)	57,05(100)43(89,11)71,05(54,34)
2-Methyldodecane	1265,8	1249	94	184.36	43(100)57(93,81)71(51,21)	43(100)57,05(87,16)71,05(53,98)
3-Methyldodecane	1272,1	1249	93	184.36	57(100)43(58,08)71(36,75)	57,05(100)43(59,27)41(52,69)
2-Methyltridecane	1265,4	1349	94	198.39	57(100)43(98,92)71(52,42)	43,05(100)57,05(95,12)41(57,33)
Tridecane	1401,0	1313	95	184.36	57(100)43(82,30)71(54,80)	57(100)43(81,58)71,05(58,83)
Ácido Carboxílico						
2-Ethylhexanoic Acid	1109	1128,7	79	144.21	73(100)88(96.90)41(75.00)	73(100)88(77.97)41(64.50)
Monotepernóide						
α-Terpineol	1188,0	1143	94	154,25	59(100)93(90,94)121(55,54)	59(100)93.05(91,36)67(50,11)
Cetona						
3-Octanone	952	988,0	91	128.21	43(100)57(88.09)29(72.38)	43(100)57(57.30)71.05(36.27)
Tiazol						
Benzothiazole	1216,0	1208	85	135.19	135(100)108(34,54)69(23,09)	135(100)108(45,93)68,95(39,42)

IRL: Index of Retention from Literature (NIST11). IRL exp: Index of Retention from Literature on experimental basis (base on homologous series n-alkane C8-C21). IS: Index of Similarity from Literature (NIST11). MW: Molecular Weight. Reference Ions (relative intensity, base peak = 100 %) from literature (NIST11). RIE: Reference Ions Experimental.

Na tabela 1 são apresentados os compostos identificados a partir da comparação dos índices de similaridade e espectro de massas com o banco de dados do sistema do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST11), índice de retenção e índice de retenção calculado a partir de uma série homóloga de hidrocarbonetos (C8-C40) de acordo com Van Den Dool; Kratz, (1963).

Segundo Both *et al.*, (2017) são poucos os relatos na literatura que levam em consideração a quantificação de alcoóis após o armazenamento de maçãs em ACD. Ao identificar e quantificar cromatograficamente estes compostos (Figura 10), foi constatado que apenas dois destes tiveram suas concentrações aumentadas ao longo do armazenamento, o 2-phenyl-2-propanol (Figura 10g) e o 2-methyl-1-butano (Figura 10h). E outros dois, o 1-heptanol (Figura 10d) e o 2-methyl-1-butanol (Figura 10h) foram os alcoóis que aparentemente mais sofreram a ação do 1-MCP. O etanol, 1-butanol, 1-hexanol, 1-heptanol, 2-octenol, 3-octanol e 2-ethyl-1-hexanol apresentaram elevadas concentrações no início do armazenamento (0 d), com acentuada queda a partir dos 90 d, mantendo esta tendência aos 180 d e 270 d. O etanol (Figura 10a) foi único álcool relacionado à fermentação identificado, mas com o limite de odor muito inferior ao citado na literatura ($100.000 \mu\text{g kg}^{-1}$) (LEFFINGWELL; LEFFINGWELL, 1991). O que nos causou estranheza foi o fato das maiores concentrações deste composto serem identificadas apenas nas maçãs onde o 1-MCP não foi aplicado e apenas na caracterização dos frutos (ao final da simulação de sete dias da vida de prateleira. A partir dos 90 d de armazenamento, independente de receber ou não aplicação de 1-MCP e de serem armazenadas em AC ou ACD, não houve diferenciação na quantificação de etanol. A tendência observada a partir de 90 d era esperada, porque as concentrações de oxigênio utilizadas no experimento ficaram na faixa de 0,35 kPa - 0,45 kPa, sugerindo que não ocorreu respiração anaeróbica.

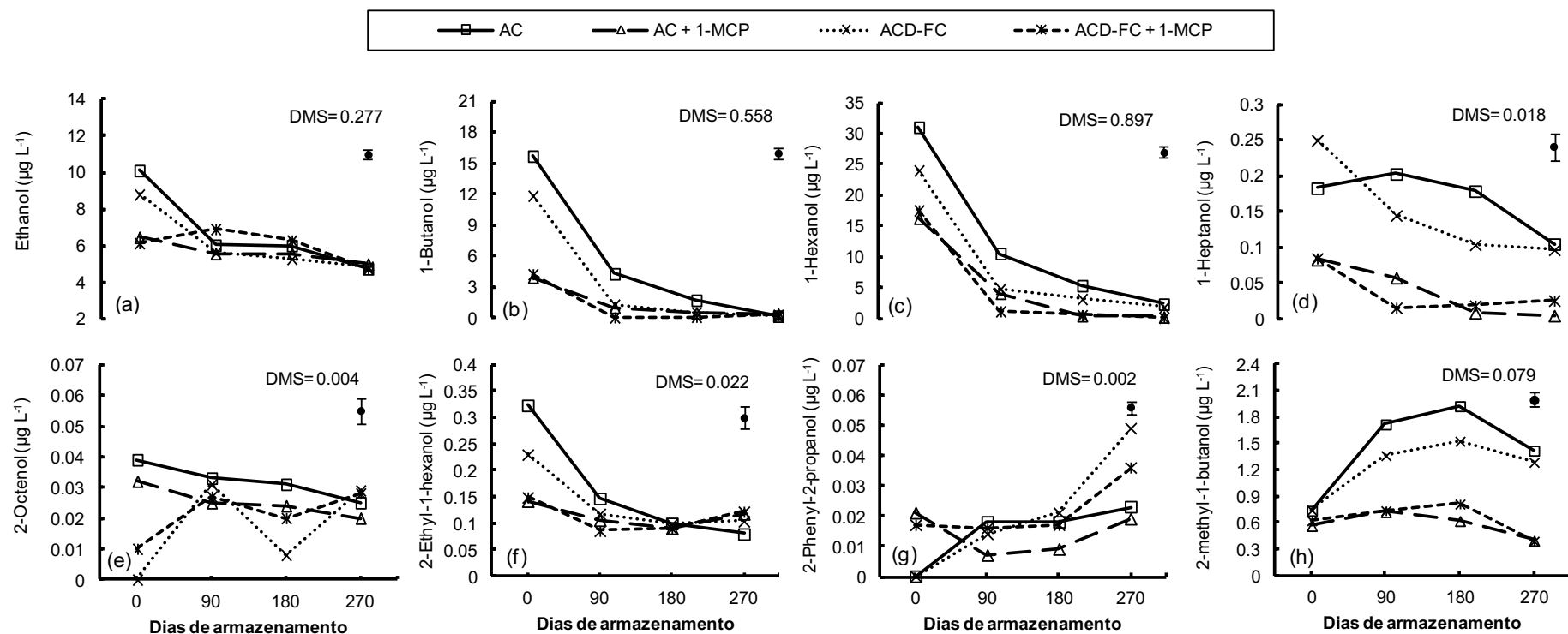


Figura 10. Alcoóis (a, b, c, d, e, f, g, h) identificados em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. Barra vertical indica a diferença mínima significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

As concentrações de 1-hexanol (Figura 10c) e o 1-butanol (Figura 10d) também decresceram ao longo do armazenamento. Os maiores volumes destes compostos foram identificados nos frutos armazenados sob AC. A ACD obteve concentração intermediária, e a aplicação de 1-MCP reduziu esses compostos às menores concentrações verificadas nas duas condições de armazenamento (AC + 1-MCP e ACD-FC + 1-MCP). Segundo Anese *et al.*, (2020), a redução do 1-hexanol e 1-butanol foi resultado da inibição da álcool desidrogenase provocada pelo 1-MCP, pois o etileno é necessário para produzir e ativar esta enzima. Esses alcoóis são precursores de ésteres importantes, como acetato de hexila de 1-hexanol e acetato de butila e de 1-butanol (ANESE; BRACKMANN; *et al.*, 2020). Em relação aos alcoóis de cadeia linear (ethanol, 1-butanol, 1-hexanol, 1-heptanol e 2-octenol) produzidos por β -oxidação, geralmente há maior concentração nas frutas armazenadas sob AC em relação às armazenadas sob ACD (Figura 10a, 10b, 10c, 10d, 10e).

Isso é resultado da maior pressão parcial de oxigênio durante o armazenamento, permitindo a β -oxidação dos ácidos graxos, resultando no acúmulo de alcoóis nessas frutas (BOTH *et al.*, 2017). Os compostos gerados pela β -oxidação são importantes precursores de ésteres de cadeia linear (BRACKMANN; STREIF; BANGERTH, 1993; SONG; BANGERTH, 2003) e pressões parciais de oxigênio extremamente baixas podem inibir a síntese destes substratos (BOTH *et al.*, 2014, 2017). Talvez por utilizar pressões parciais de oxigênio não tão baixas (0,35 kPa - 0,45 kPa) na ACD-FC neste experimento, a síntese de compostos voláteis ocorreu. Estes resultados estão de acordo com os relatados por Both *et al.*, (2017) que também trabalharam com maçãs 'Royal Gala' acondicionadas em ACD-QR (p0,13 kPa O₂) e também observaram síntese de compostos voláteis. Estes mesmos autores atribuíram a síntese de substratos para a produção de ésteres à variação do oxigênio de acordo com o metabolismo do fruto durante o armazenamento e a indução do metabolismo anaeróbico, que poderia ter fornecido alcoóis para a produção de compostos voláteis (BOTH *et al.*, 2017).

Os ésteres (Figura 11) são compostos que notavelmente contribuem para a qualidade sensorial da maçã, sendo responsáveis por mais de 80 % do total de voláteis emitidos por estes frutos (FERENCZI; SUGIMOTO; BEAUDRY, 2021; SUGIMOTO *et al.*, 2021). Nas maçãs do grupo 'Gala' os ésteres mais importantes são acetato de hexila, acetato de butila e acetato de 2-metilbutila (BOTH *et al.*, 2017; THEWES *et al.*, 2017) que conferem o aroma típico destes frutos, percebidos como “frutados” e “florais” (SUGIMOTO

et al., 2021). Diante da importância destes compostos, é necessário mantê-los pelo maior tempo possível ao longo do armazenamento até que chegue à mesa do consumidor. Dos ésteres que foram identificados, o único que aumentou ao longo do armazenamento foi o isobutyl acetate (Figura 11a). O aumento nas concentrações deste composto foi verificado ao longo dos 270 d nos frutos onde o 1-MCP não foi aplicado (AC e ACD-FC) e nos primeiros 90 d de armazenamento onde aplicou-se 1-MCP (AC + 1-MCP e ACD-FC + 1-MCP). Este éster foi identificado e quantificado em diversos trabalhos com maçã, mas com poucas referências a ele ao longo das discussões (LIU *et al.*, 2021; RUX *et al.*, 2021; THEWES *et al.*, 2017; YI *et al.*, 2017). Segundo Xu *et al.*, (2017) o isobutyl acetate é um éster raramente estudado, que confere sabor frutado, floral em cerejas (XU *et al.*, 2017) e doce, de maçã, de banana ao vinho de amora (BUTKHUP *et al.*, 2011). Diante destas características e da possibilidade do isobutyl acetate ser um odorizante potente para maçãs ‘Fuji’ (KOMTHONG *et al.*, 2006) estima-se que seja importante preservá-lo ao longo do armazenamento.

Os outros ésteres identificados, butyl acetate, pentyl acetate, 5-hexenyl acetate, hexyl acetate, butyl 2-methylbutanoate, heptyl acetate, 2-ethylhexyl acetate, hexyl butanoate e 2-phenylethyl acetate (Figura 11a, 11b, 11c, 11d, 11e, 11f, 11g, 11h, 11i, 11j) sempre apresentaram o mesmo comportamento, elevadas concentrações na primeira avaliação e queda nas posteriores, aos 90 d, 180 d e 270 d e com valores mais elevados quando não aplicado 1-MCP, independente do sistema de armazenamento utilizado. Esta queda acentuada nestes ésteres ao longo do armazenamento está de acordo com os resultados obtidos por Both *et al.*, (2017) ao trabalhar com maçãs ‘Royal Gala’ armazenadas em AC e ACD. Nas maçãs armazenadas em AC e ACD-FC, sem utilização de 1-MCP, a concentração de butyl acetate (Figura 11b) no início do armazenamento foi de 196.24 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e onde aplicou-se 1-MCP (AC + 1-MCP e ACD-FC + 1-MCP) a concentração média foi de 45.96 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Considerando que o limiar de odor do butyl acetate é de 66 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (LÓPEZ *et al.*, 2007), percebe-se o quanto o 1-MCP afetou a produção deste composto e prejudicou a qualidade sensorial das maçãs. Mas mesmo com concentrações altas no início (onde não se aplicou C_4H_6), os sistemas de armazenamento não conseguiram preservar o butyl acetate por muito tempo. Apenas aqueles frutos sob AC mantiveram as concentrações do butyl acetate acima do limiar sensorial aos 90 d. Embora o decréscimo identificado seja alto, nossos resultados estão de acordo com a literatura, pois Both *et al.*, (2017) identificou 2.053 $\mu\text{g kg}^{-1}$ do butyl

acetate na colheita de maçãs 'Royal Gala', mas após 270 d, obteve concentrações semelhantes às que identificamos, $45,0 \mu\text{g kg}^{-1}$, $6,2 \mu\text{g kg}^{-1}$, $14,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $52,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ em AC, ACD-FC, ACD-QR 1.5 e ACD-QR 2.0, respectivamente. Estes mesmos autores também propuseram que a redução na produção do butyl acetate seja resultado da menor concentração do seu precursor, o 1-butanol (BOTH *et al.*, 2017). Esta proposição parece relevante, pois o comportamento destes dois compostos foi bastante semelhante. Outro estudo anterior também relatou que a principal preocupação na elevação da produção de compostos voláteis não é a atividade da enzima, mas a concentração do precursor (BOTH *et al.*, 2017; ECHEVERRÍA *et al.*, 2004). Além disso, como a biossíntese do aroma da maçã está correlacionada com a síntese de etileno (FERENCZI; SUGIMOTO; BEAUDRY, 2021), a presença exógena ou autocatalítica deste composto durante o armazenamento e/ou produção dos compostos voláteis deve ser considerada. No entanto, o espectro completo de voláteis e suas concentrações em função do desenvolvimento ainda não estão bem descritos, bem como a sua ligação com eventos concomitantes, como o aumento da fase climatérica na respiração (FELLMAN; MILLER; MATTINSON, 2000; FERENCZI; SUGIMOTO; BEAUDRY, 2021) e sua influência nos sistemas de armazenamento.

O hexyl acetate (Figura 11e), composto com limiar de odor de $2 \mu\text{g kg}^{-1}$ (LÓPEZ *et al.*, 2007) e que confere à maçã odor adocicado, frutado de pera (DJOJOPUTRO; ISMADJI, 2005) e frutado de maçã (LARSEN; POLL, 1992) foi o éster que apresentou a maior concentração dentre todos os identificados. A AC, além de preservar pelo maior período, proporcionou às maçãs a maior concentração de hexyl acetate, a ACD-FC concentração intermediária e a AC + 1-MCP e ACD-FC + 1-MCP as menores concentrações. Diante das baixas concentrações do hexyl acetate onde o 1-MCP foi aplicado, parece sensato inferir que este fitormônio interfere substancialmente na rota de produção deste éster. Both *et al.*, (2017) atribuem o declínio do hexyl acetate ao também declínio do 1-hexanol. Estes autores acreditam que haja um problema na conversão do hexanal em 1-hexanol, pela enzima álcool desidrogenase (BOTH *et al.*, 2017; SCHAFFER *et al.*, 2007), porque não há redução na concentração do hexanal (Figura 12a) ao longo do armazenamento (BOTH *et al.*, 2017). Corroborando o observado neste experimento, outros estudos também verificaram menor concentração de hexyl acetate ao comparar ACD-FC com AC (BOTH *et al.*, 2017; RAFFO *et al.*, 2009). Como pode ser observado, diversos fatores influenciam diretamente a biossíntese de ésteres e seus precursores

durante o amadurecimento, armazenamento e senescência (FERENCZI; SUGIMOTO; BEAUDRY, 2021) tornando cada meio de cultivo e condições experimentais único. Segundo Ferenczi; Sugimoto; Beaudry, (2021), devido a esta diversidade de fatores que influenciam a biossíntese de ésteres e seus precursores durante o amadurecimento, armazenamento e senescência, pouco se sabe sobre a formação dos ésteres e sua influência na percepção de sabor nas frutas.

Seis hidrocarbonetos (Figura 11) foram identificados: Undecane, Dodecane, 2-Methyldodecane, 3-Methyldodecane, 2-Methyltridecane e Tridecane. Todos os hidrocarbonetos identificados são de cadeia acíclica e não aromática, o que reduz seu limiar de odor e sabor. Apesar das baixas concentrações iniciais, verificou-se ainda que os frutos sem 1-MCP apresentaram maiores concentrações, com diminuição ao longo do armazenamento. Nas maçãs onde o 1-MCP foi aplicado houve uma estabilidade na concentração destes compostos durante os 270 d de armazenamento.

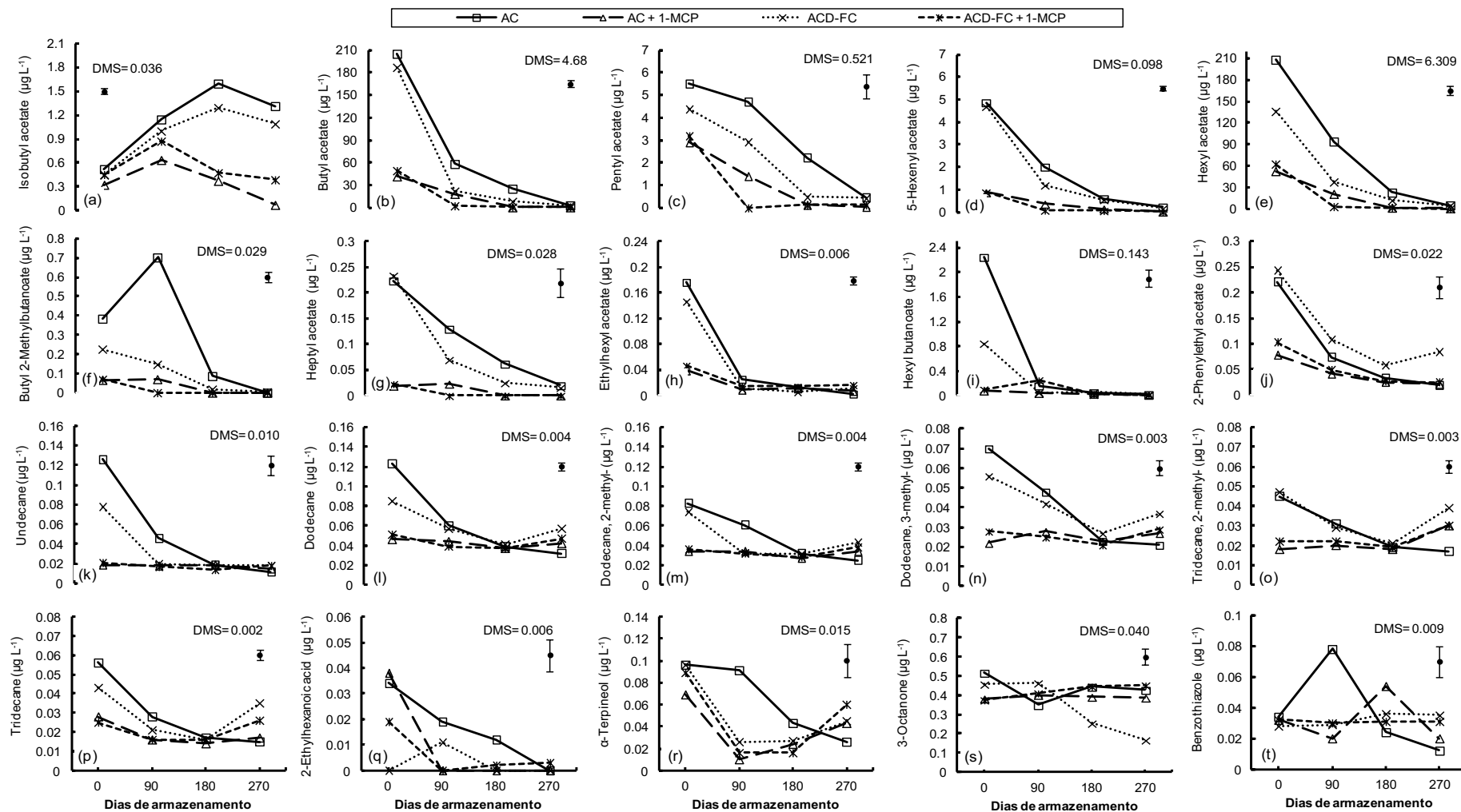


Figura 11. Ésteres (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j), hidrocarbonetos (k, l, m, n, o, p), ácido carboxílico (q), monoterpénioide (r), cetona (s) e tiazol (t) identificados em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. A barra vertical indica a diferença mínima significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

O 2-Ethylhexanoic Acid (Figura 11q), um ácido saturado C8 com estrutura química ramificada, apresentou quase a mesma tendência de outros diversos compostos voláteis já discutidos, concentrações elevadas na primeira avaliação, com posterior decréscimo. Os frutos acondicionados em AC foram os que mantiveram este composto pelo maior período. Este resultado está de acordo Both *et al.*, (2017) que também trabalhou com maçã 'Royal Gala' armazenada em AC e ACD. As concentrações do 2-Ethylhexanoic Acid identificadas por estes autores também foram proporcionalmente baixas, comparando o 2-Ethylhexanoic Acid com os outros voláteis por eles identificados (BOTH *et al.*, 2017). Embora o 2-Ethylhexanoic Acid tenha sido o único volátil da classe ácida identificado, outros compostos desta classe (acetic, 2-Methylbutanoic acid, pentanoic, phosphorodithioic, hexanoic, heptanoic, octanoic nonanoic, decanoic) já foram identificados em maçã após o armazenamento em ACD (ANESE *et al.*, 2020; BOTH *et al.*, 2017; THEWES *et al.*, 2017) e AC (THEWES *et al.*, 2015).

Os terpineóis são reconhecidos como um conjunto de quatro isômeros: α -, β -, γ - e δ -terpineol, sendo o primeiro deles o α -Terpineol, composto amplamente encontrado em vegetais (SALES; FELIPE; BICAS, 2020). O α -Terpineol tem limite de detecção de odor e sabor variando entre $280 \mu\text{g kg}^{-1}$ – $350 \mu\text{g kg}^{-1}$ e 2 g kg^{-1} – 25 g kg^{-1} , respectivamente (SALES; FELIPE; BICAS, 2020) e notas sensoriais perfumadas, lilases, pungentes (SIEGMUND; PÖLLINGER-ZIERLER, 2007), de limão refrescante e floral seco (SALES; FELIPE; BICAS, 2020). Além disso, apresenta propriedades terapêuticas e antimicrobianas (SALES; FELIPE; BICAS, 2020). Na maçã, as quantidades identificadas de α -Terpineol (Figura 11r) foram baixíssimas e a tendência observada deste composto não fugiu muito dos demais, ou seja, elevadas concentrações na primeira avaliação com declínio acentuado a partir dos 90 d de armazenamento. É interessante destacar que novamente os frutos com a produção de etileno suprimida pelo efeito do 1-MCP ou acondicionados em ACD-FC novamente apresentaram menores concentrações de voláteis.

O 3-octanone (Figura 11s) se manteve estável nos primeiros 90 d de armazenamento em todos os tratamentos, com concentrações médias de $0,41 \mu\text{g kg}^{-1}$. A partir deste período, apenas os frutos acondicionados em ACD-FC apresentaram decréscimo. Esta cetona pertence a uma classe de compostos de oito carbonos que possuem bioatividade em bactérias, fungos e plantas. Apresenta descrições sensoriais de rançoso, mofado, velho, ligeiramente frutado, doce, parecido com pera, parecido com

doce e "cozido" e limiar olfativo de $57 \mu\text{g L}^{-1}$ (SIEGMUND; PÖLLINGER-ZIERLER, 2006). Embora as notas sensoriais do 3-octanone tenham sido descritas acima, é pouco provável que elas tenham interferido no sabor da maçã, pois o limiar sensorial dos frutos ficou abaixo do perceptível. O 3-octanone (Figura 11s) também foi identificado por Both *et al.*, (2014) ao trabalharem com baixas concentrações de O_2 (1,0 kPa, 0,8 kPa, 0,7 kPa e 0,5 kPa) em maçãs 'Royal Gala' e decresceu com a redução nas concentrações de O_2 . Já Kim *et al.*, (2018) identificaram este composto em maçãs 'Fuji' ao avaliarem compostos emitidos durante a deterioração da maçã por fungos (*Penicillium expansum*, *Botryosphaeria dothidea* e *Alternaria alternata*) e atribuíram a presença do 3-octanone a compostos voláteis de origem microbiana. Eles sugerem que o 3-octanone poderia ser derivado da oxidação aeróbia dos ácidos linoleico e linolênico, ácidos graxos insaturados de cadeia longa em maçãs, pela lipoxigenase de fungos (KIM *et al.*, 2018). No entanto, provavelmente, esta não seja a melhor explicação para a presença deste composto na maçã, pois os frutos utilizados para quantificar os compostos voláteis não tinham nenhum sinal da presença de fungos, tanto no início, quanto no final do experimento.

Os benzotiazóis são um grupo de metabólitos xenobióticos heterocíclicos que contêm um anel benzeno fundido com um anel tiazol (BELLAVIA *et al.*, 2000; KERI *et al.*, 2015). Raramente ocorrem naturalmente nos produtos, mas fazem parte da estrutura molecular de um grande número de produtos naturais, biocidas, drogas, saborizantes de alimentos e produtos químicos industriais (BELLAVIA *et al.*, 2000; KERI *et al.*, 2015). Apesar de raro, identificamos pequenas quantidades de bezothiazole (Figura 11t) na maçã. Embora diversos fatores possam contribuir para a presença deste composto nos frutos, a sua produção a partir da ação de *Bacillus velezensis* deve ser considerada (GAO *et al.*, 2018; GAO *et al.*, 2017). *Bacillus velezensis* é uma bactéria aeróbia Gram-positiva, formadora de endosporos que promovem o crescimento de plantas, reconhecida por suprimir o crescimento de patógenos microbianos, incluindo bactérias, fungos e nematóides (RABBEE; BAEK, 2020; RABBEE *et al.*, 2019). Por isso, segundo Rabbee *et al.*, (2019), o *B. velezensis* é utilizado na formulação do fungicida Botrybel (Agricaldes, Spain), com atividade contra mofo o cinzento (*Botrytis cinerea*), que infecta mais de 200 espécies de plantas em todo o mundo (RABBEE *et al.*, 2019), dentre elas a maçã (BANANI *et al.*, 2018; MA *et al.*, 2018; TESTEMPASIS *et al.*, 2021; WEI *et al.*, 2021; ZHAO *et al.*, 2010). Considerando a possível aplicação deste fungicida ou outro tipo de contato desta bactéria com as maçãs e havendo condições para a permanência do

Bacillus velezensis nos frutos, é possível ocorrer a produção do benzotiazole nas maçãs. Esta hipótese pode ser considerada plausível por que o benzotiazole foi identificado desde o início do armazenamento das maçãs e não apenas quando os distúrbios decorrentes da podridão começaram a acontecer (Figura 9). Além disso, deve ser considerado que o *Bacillus velezensis* é uma bactéria aeróbia e a ocorrência de picos de produção do benzotiazole ocorreram apenas nas AC, onde as concentrações de O₂ são mais elevadas. As condições de armazenamento, como a baixa temperatura e alta umidade das câmaras frias são outros fatores que devem ser considerados, pois são condições geralmente favoráveis para ao desenvolvimento e disseminação *Bacillus velezensis*.

Em relação aos aldeídos, os compostos detectados em maior abundância foram o hexanal (Figura 12a) e o (E)-2-hexenal (Figura 12b). Segundo Donadel *et al.*, (2019), o início da formação destes compostos ocorre através da enzima lipoxigenase. Esta enzima é a primeira enzima chave a catalisar os ácidos linoléico e linolênico para formar isômeros hidroperóxidos, que aos serem clivados pela hidroperóxido liase dão origem a aldeídos C6 (DONADEL *et al.*, 2019). Os aldeídos podem ser catalisados pela álcool desidrogenase para produzir álcoois C6 por meio da remoção do hidrogênio (CAI *et al.*, 2019; DONADEL *et al.*, 2019). Assim, a oxidação do ácido linoleico (18:2n6) pela LOX na posição 13 (13-LOX) leva à formação do hexanal (DONADEL *et al.*, 2019). Já a oxidação do ácido linolênico (18:3n3) pelo 13-LOX produz (E)-3-hexenal, que por sua vez pode ser isomerizado em (E)-2-hexenal (CONTRERAS; BEAUDRY, 2013; DONADEL *et al.*, 2019). Observou-se que a concentração de hexanal (Figura 12a), composto com limiar de odor de 4.5 µg kg⁻¹ - 5 µg kg⁻¹ (LEFFINGWELL; LEFFINGWELL, 1991; LÓPEZ *et al.*, 2007) e que confere a maçã odores de grama verde e maçã verde (ESPINO-DÍAZ *et al.*, 2016), oscilou ao longo do armazenamento. Embora tenham ocorrido oscilações, este aldeído sempre ficou abaixo do limiar olfativo, não ficando evidenciado efeitos de tratamentos nas referidas oscilações na sua concentração. Na literatura, são relatados diversos resultados, como quantidades bem superiores na caracterização de maçãs 'Royal Gala' (BOTH *et al.*, 2017) e 'Fuji Suprema' (THEWES *et al.*, 2017). Também superiores após 9 meses de armazenamento em ACD-FC de maçãs 'Fuji Kiko' (DONADEL *et al.*, 2019) e 'Braeburn' (SCHMIDT *et al.*, 2020). E, finalmente, inferiores na caracterização da variedade 'Galaxy' (ANESE; BRACKMANN; *et al.*, 2020).

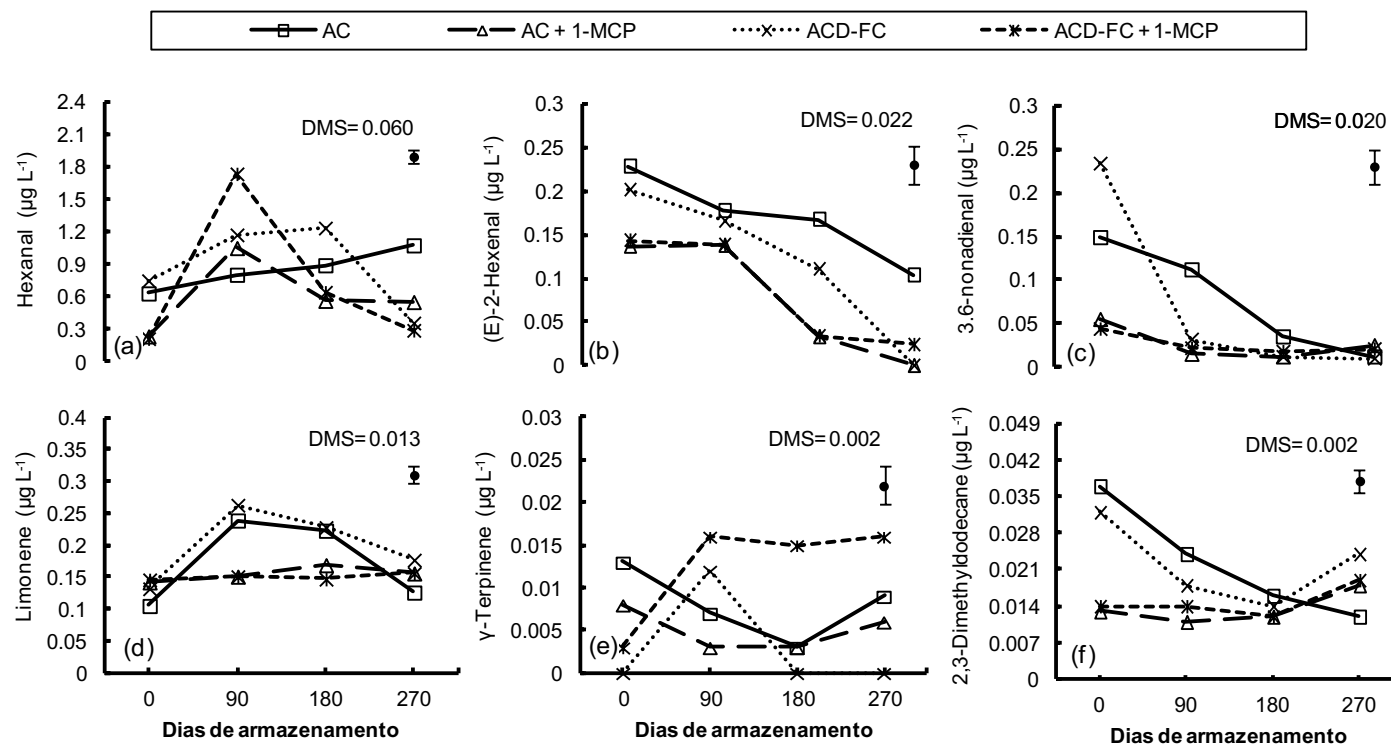


Figura 12. Aldeídos (a, b, c) e hidrocarbonetos monoterpênicos (d, e, f) identificados em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O_2 + 1,5-1,7 kPa CO_2) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O_2 + 1,1-1,2 kPa CO_2) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. A barra vertical indica a diferença mínima significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

Quanto ao (E)-2-Hexenal (Figura 12b), além de ficar abaixo do limiar de odor perceptível (LEFFINGWELL; LEFFINGWELL, 1991) em todos os tratamentos, houve decréscimo deste aldeído ao longo do armazenamento. Também houve diferenciação clara entre os frutos que sofreram ou não a aplicação de 1-MCP. Na figura 8a, observa-se que os frutos sob a ação do 1-MCP tiveram uma supressão considerável de etileno. Como o etileno possivelmente regula as enzimas lipoxigenase e/ou hidroperóxido liase (DANDEKAR *et al.*, 2004), enzimas chave para a produção deste aldeído, este pode ser um dos motivos que provocou a diferença entre os frutos tratados e aqueles não tratados com 1-MCP. Além disso, o presente estudo confirma que nos frutos armazenados em AC, a concentração de (E)-2-hexenal foi estatisticamente superior às observadas nas demais condições de armazenamento. Este resultado é corroborado por Donadel *et al.*, (2019) e Both *et al.*, (2017) que trabalharam com maçãs 'Fuji Kiku' e 'Royal Gala' respectivamente em diferentes condições de armazenamento. O 3.6-Nonadienal (Figura 12c), composto que confere odor de “melancia recém-cortada (BEAULIEU; LEA, 2006) e melão fresco também ficou abaixo do seu limiar de odor (LIU *et al.*, 2018). Embora abaixo do limiar, a AC foi o sistema de armazenamento que preservou por mais tempo o 3.6-Nonadienal, sugerindo a sensibilidade deste aldeído às baixas concentrações de oxigênio e/ou ao 1-MCP aplicado na maçã.

Três hidrocarbonetos monoterpenos foram identificados: limonene, γ -terpinene e 2,3-dimethyldodecane (Figura 12d, 12e, 12f). Semelhante a vários outros compostos analisados, as concentrações de monoterpenos também ficaram abaixo de seus limiares de odor (LEFFINGWELL; LEFFINGWELL, 1991).

O limonene (Figura 12d), comumente encontrado em frutas cítricas, também foi identificado por Reis *et al.*, (2009) em maçãs 'Bravo de Esmolfe'. Este composto não é frequentemente descrito na maçã, no entanto, ele é precursor de uma série de terpenos, assim, a utilização de fibras de extração adequadas poderia permitir maior eficiência na extração de alguns compostos, dentre eles o limoneno (REIS *et al.*, 2009). Além disso, a sua baixa concentração em outras cultivares de maçã poderia dificultar a sua identificação.

Quanto ao γ -terpinene (Figura 12e), um terpeno pré-aromático amplamente encontrado em óleos essenciais (GUO *et al.*, 2021), sofreu oscilações ao longo do armazenamento, não ficando claro os possíveis efeitos dos sistemas de

armazenamento e/ou aplicação do 1-MCP. A identificação de diminutas concentrações de monoterpenos, pode ser atribuída à baixa eficiência de extração, à facilidade de degradação e ao fato destes compostos estarem presentes em concentrações traço em maçãs. Quanto à degradação, Nguyen *et al.*, (2009) propõe que tanto o limoneno quanto o γ -terpinene são compostos que se degradam facilmente por luz UV, presença de oxigênio, bem como sob temperaturas elevadas.

Como foi observado neste experimento, são diversos os fatores que influenciam a qualidade físico-química e sensorial da maçã. O etileno, ao mesmo tempo em que aparentemente atua como vilão na manutenção da qualidade dos frutos armazenados por longos períodos, pelas análises realizadas neste experimento verificasse que a sua atuação e/ou presença é indispensável para manter os frutos sensorialmente atrativos. O aparente 'limbo' exposto, descrito e discutido ao longo da tese me parece ser sabiamente descrito pelo autor a seguir. Segundo Song; Bangerth, (2003), para as maçãs produzirem os compostos voláteis relacionados ao aroma precisam de etileno autocatalítico. No entanto, o armazenamento em AC reduz a respiração dos frutos e consequentemente a produção deste etileno (SONG; BANGERTH, 2003). Essa deficiência poderia ser superada com a aplicação de altas concentrações de etileno exógeno (BANGERTH; SONG; STREIF, 2012; SONG; BANGERTH, 2003). No entanto, frutos armazenados por períodos superiores a 5 meses e sob baixas concentrações de oxigênio não são responsivos a este etileno e por consequência aos benefícios que este fitormônio poderia proporcionar (BANGERTH; SONG; STREIF, 2012; SONG; BANGERTH, 2003). Então, a aplicação exógena de etileno poderia ser uma opção para melhorar a produção de aroma volátil no pré-climatério, mas não em frutas armazenadas por longos períodos sob baixo oxigênio (SONG; BANGERTH, 2003). Assim, a biossíntese de novos ácidos graxos, que além de desempenharem funções estruturais também servem como precursores de importantes substâncias regulatórias e aromáticas, representa a etapa limitante na produção de aroma na maçã (SONG; BANGERTH, 2003).

Neste trabalho foram identificados 35 compostos voláteis. Entretanto, vários outros CV já foram identificados em maçãs armazenadas em ACD (ANESE *et al.*, 2020e; ANESE *et al.*, 2020f; LUMPKIN *et al.*, 2015; SCHMIDT *et al.*, 2020; THEWES *et al.*, 2017). Acredita-se que as condições edafoclimáticas e de cultivo na produção

da maçã, estágio de maturação na colheita, delineamento experimental e metodologia utilizada na extração e quantificação de CV, foram determinantes nos resultados obtidos. Também devem ser consideradas as elevadas concentrações de etileno nas câmaras experimentais (CE) (Figura 7), especialmente a de ACD-FC nos primeiros 90 d de armazenamento. Isso possivelmente acelerou consideravelmente o metabolismo dos frutos, implicando em perda de qualidade e perda de compostos voláteis logo no início do armazenamento, tornando a sua recuperação irreparável. Estima-se que este seja um fator importante a ser considerado porque quanto mais baixa a concentração de etileno durante o armazenamento de maçãs cultivar 'Royal Gala', maior é a retenção da firmeza de polpa, sendo que, para os demais atributos de qualidade, concentrações inferiores a $1,0 \mu\text{L L}^{-1}$ apresentam efeito semelhante (BRACKMANN *et al.*, 2000). A suspeita de que a elevada concentração inicial de etileno nas CEs prejudicou a qualidade dos frutos fica mais forte quando considera-se que sua remoção, bem como a manutenção do etileno no ambiente de armazenamento, melhora ainda mais a conservação e a qualidade da maçã 'Gala', aumentando o tempo de armazenamento da fruta (BRACKMANN *et al.*, 2003; BRACKMANN; SAQUET, 1999). Diante disto, pode-se considerar que este cuidado, se tivesse sido observado da montagem do experimento, muito provavelmente teria proporcionado resultados mais promissores quanto à qualidade geral dos frutos e quanto à presença de mais CV e/ou em concentrações mais elevadas de CV.

6.6. Análise Fatorial

A análise fatorial é uma técnica que consiste em resumir a informação contida numa matriz de dados com diversas variáveis. Cada fator se expressa como uma combinação linear de fatores não diretamente observáveis. Por isso, identifica-se um reduzido número de fatores (inferior ao número de variáveis) que representem as variáveis originais e que possam descrever o fenômeno observado de forma simplificada, com uma perda mínima de informação. Neste experimento, a análise fatorial de correlações permitiu identificar os fatores mais importantes na qualidade da maçã submetidas a tratamentos de sistemas de armazenamento, aplicação do 1-MCP e armazenamento por diversos períodos. Com os dados obtidos foi realizada uma análise para determinar a significância dos fatores. De acordo com o critério de

Kaiser, os fatores que apresentam autovalores superiores a 1 foram considerados significativos. Seguindo essa metodologia foram identificados quatro fatores (Figura 13).

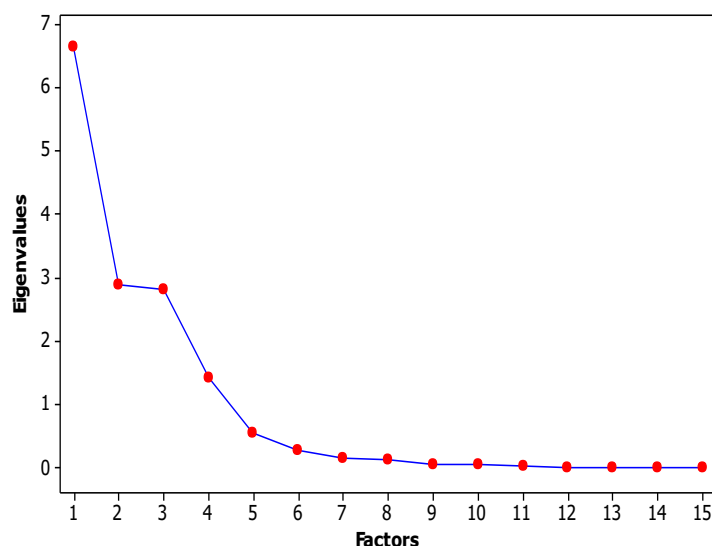


Figura 13. Eixo y. Representação gráfica dos autovalores (eigenvalues) da análise fatorial do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.

Os quatro fatores selecionados representaram 91,88 % da variabilidade total do experimento sendo o primeiro fator o mais importante explicando a maior parte da variabilidade do conjunto de dados, com mais do dobro do valor quando comparado com o segundo fator (Tabela 2).

Tabela 2. Eixo x. Autovalores, variância de cada fator e variância acumulada dos quatro fatores principais, do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2022.

Fatores	Autovalores	Variância de cada fator (%)	Variância acumulada (%)
1	6,6574	44,383	44,383
2	2,8963	19,309	63,692
3	2,8128	18,752	82,444
4	1,4155	9,437	91,881

A correlação entre as variáveis apresentou variações. Pode ser observada uma correlação mais forte das variáveis firmeza, etileno, compostos voláteis, acidez titulável e sólidos solúveis totais e, uma fraca correlação da variável etanol (Figura 14).

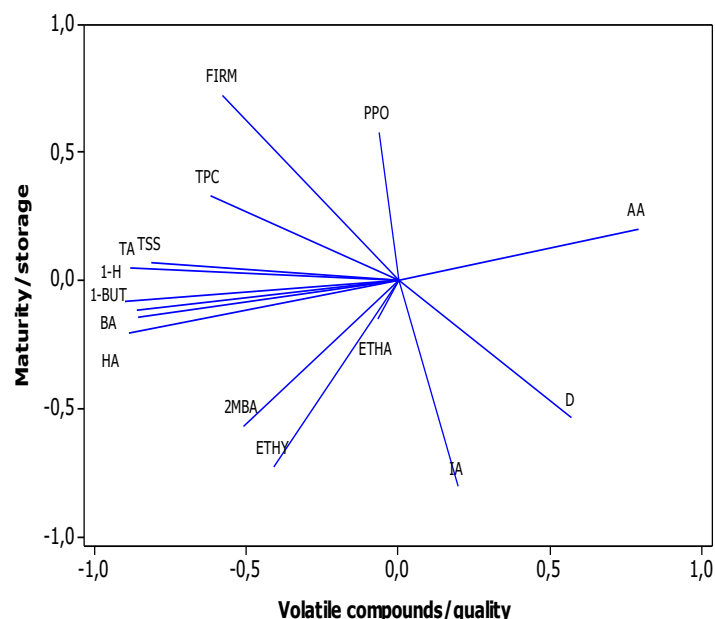


Figura 14. Eixo y. Representação gráfica das correlações das variáveis do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. **Legenda das abreviações:** FIRM: Firmeza da Polpa; PPO: Polifenoloxidase; ETHA: Etanol; ETHY: Etileno; TA: Acidez Titulável; D: Podridões; TPC: Compostos Fenólicos Totais; AA: Atividade Antioxidante; 1-BUT: 1-Butanol; 1-H: 1-Hexanol; IA: Isobutil Acetato; BA: Butil Acetato; 2-MBA: 2-Metil Butil Acetato; HA: Hexil Acetato; TSS: Sólidos Solúveis Totais.

As principais saturações fatoriais das variáveis de qualidade nos fatores podem ser observadas na tabela 3. O primeiro fator, que explica 44,38 % da variabilidade total do experimento com maçãs 'Royal Gala' com e sem aplicação do 1-MCP e armazenadas em dois sistemas diferentes até 270 dias, apresentou altos coeficientes de correlação com variáveis vinculadas aos compostos voláteis, acidez titulável e sólidos solúveis vinculadas ao aroma e sabor, fatores importantes na qualidade da fruta. Todas elas estavam localizadas no eixo negativo (Tabela 3). Este fator foi denominado compostos voláteis/qualidade. O segundo fator, que explica 19,31 % da variabilidade total, foi caracterizado pela alta correlação com as variáveis firmeza da polpa, localizada no eixo positivo e etileno e isobutil acetato ambas localizadas no eixo negativo (Tabela 3). Este fator foi denominado maturação/conservação.

Tabela 3. Eixo x. Principais saturações fatoriais das variáveis de qualidade, do experimento com maçã 'Royal Gala' em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2022.

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3
Acidez titulável	- 0,884	0,049	- 0,043
1-Butanol	- 0,860	- 0,111	0,447
1-Hexanol	- 0,901	- 0,083	0,397
Butil acetato	- 0,858	- 0,142	0,419
Hexyl acetato	- 0,886	- 0,204	0,327
Sólidos solúveis totais	- 0,813	0,074	- 0,031
Firmeza da polpa	- 0,577	0,722	- 0,120
Etileno	- 0,409	- 0,724	0,094
Isobutil acetato	0,198	- 0,803	- 0,379
Etanol	- 0,069	- 0,150	- 0,910

Com relação aos sistemas de armazenamentos AC e ACD, observa-se a ACD tem maior importância até o final do período de armazenamento (270 dias) (quadrantes I e IV) (Figura 15). Isso pode ser explicado pela maior retenção da firmeza e acidez, variáveis importantes nos fatores 1 e 2, no sistema ACD que AC.

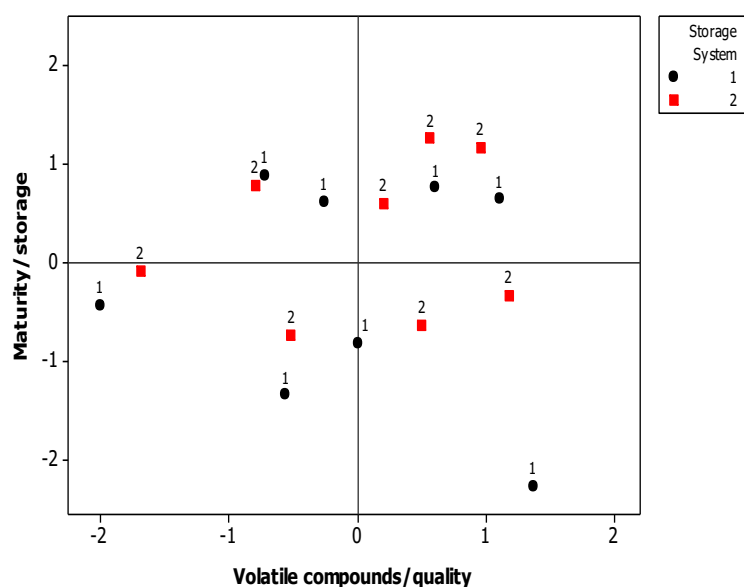


Figura 15. Eixo y. Representação gráfica dos tratamentos de sistemas de armazenamento do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. **Legenda:** 1 = AC; 2 = ACD.

Também pode ser observada uma clara separação dos tratamentos com aplicação do 1-MCP, devido a importância das variáveis etileno e firmeza no fator 2 (Figura 16). O produto 1-MCP inibe significativamente o etileno e mantém a firmeza

da polpa de maçãs durante o armazenamento por longos períodos, o que confirma os resultados previamente analisados de forma univariada neste experimento.

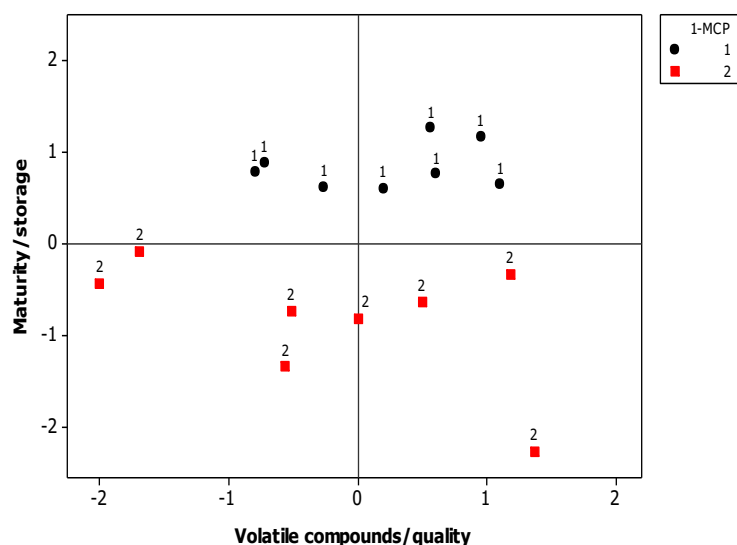


Figura 16. Eixo y. Representação gráfica do tratamento de aplicação de 1-MCP em maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2022. **Legenda:** 1 = Com aplicação de 1-MCP; 2 = Sem aplicação de 1-MCP.

Pode ser observada uma clara separação dos tratamentos em função dos períodos de armazenamento, sendo localizados as frutas com menos tempo de armazenamento nos quadrantes II e III e com maior tempo de armazenamento nos quadrantes I e IV (Figura 17). Evidentemente o comportamento das variáveis mais importantes dentro dos fatores 1 e 2, com relação ao aumento do período de armazenamento, como acidez titulável, compostos voláteis, firmeza da polpa e etileno, já discutidas anteriormente na análise univariada, tiveram um papel importante nesta segregação.

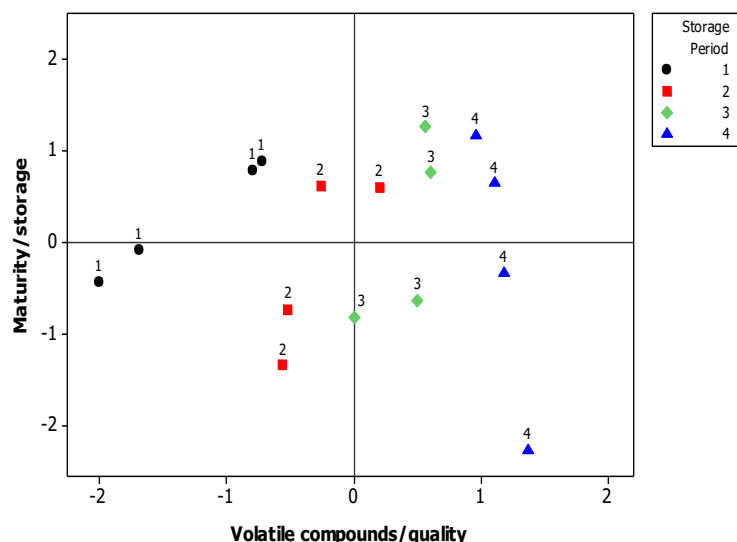


Figura 17. Eixo y. Representação gráfica do tratamento períodos de armazenamento do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2022. **Legenda:** Períodos de armazenamento (storage period): 1= 0 d; 2= 90 d; 3= 180 d e 4= 270 d.

Na análise dos fatores combinados pode ser observada, no fator 1 (eixo x), uma clara separação dos tratamentos em função dos períodos de avaliação (0 d, 90 d, 180 d e 270 d) sendo que com 0 dias (quadrante I e II), como era esperado, os tratamentos apresentaram maior teor de compostos voláteis (vinculados ao aroma) e maior acidez titulável os quais diminuem na medida que o período de armazenamento avança (quadrante III e IV) (Figura 18). Em relação ao fator 2 (eixo y), pode ser observada a importância da firmeza da polpa e da remoção do etileno pela aplicação do 1-MCP, fatores importantes na evolução da maturação e conservação refrigerada de maçãs por períodos prolongados.

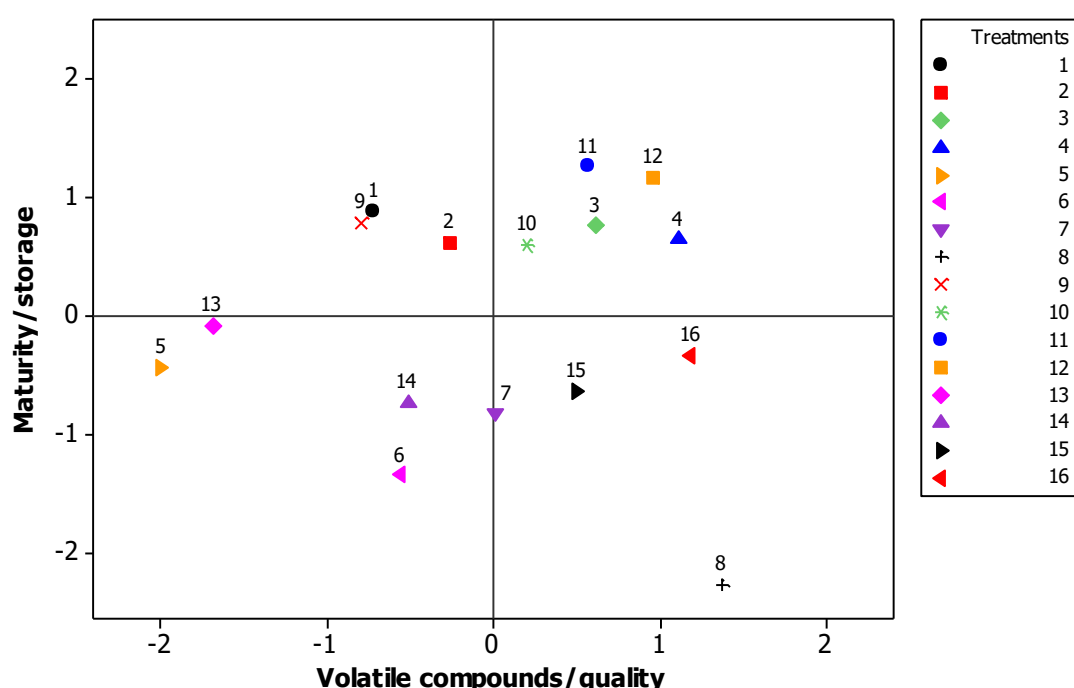


Figura 18. Eixo y. Representação gráfica do tratamento de períodos de armazenamento do experimento com maçãs 'Royal Gala' armazenadas em AC [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂)], AC + 1-MCP [atmosfera controlada (1,1-1,3 kPa O₂ + 1,5-1,7 kPa CO₂) + 1-MCP], ACD-FC [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) e ACD-FC + 1-MCP [atmosfera controlada dinâmica monitorada pela fluorescência das clorofilas (0,35-0,45 kPa O₂ + 1,1-1,2 kPa CO₂) + 1-MCP] por até 9 meses mais 7 dias de simulação da vida de prateleira.

Legenda dos tratamentos:

- | | |
|-------------------------|---------------------------|
| 1. AC; com 1-MCP; 0 d | 9. ACD; com 1-MCP; 0 d |
| 2. AC; com 1-MCP; 90 d | 10. ACD; com 1-MCP; 90 d |
| 3. AC; com 1-MCP; 180 d | 11. ACD; com 1-MCP; 180 d |
| 4. AC; com 1-MCP; 270 d | 12. ACD; com 1-MCP; 270 d |
| 5. AC; sem 1-MCP; 0 d | 13. ACD; sem 1-MCP; 0 d |
| 6. AC; sem 1-MCP; 90 d | 14. ACD; sem 1-MCP; 90 d |
| 7. AC; sem 1-MCP; 180 d | 15. ACD; sem 1-MCP; 180 d |
| 8. AC; sem 1-MCP; 270 d | 16. ACD; sem 1-MCP; 270 d |

Estas análises permitiram identificar as variáveis mais importantes durante todo o período do experimento e confirmam os resultados da análise univariada realizada anteriormente, além de possibilitar a escolha das variáveis mais importantes dentre todas as estudadas. Assim, as variáveis de voláteis e acidez titulável apareceram com destaque na análise fatorial, da mesma forma que os sólidos solúveis totais, embora esta última não apresente valores significativos na análise univariada. Isso aconteceu porque na análise multivariada considera-se todas as variáveis simultaneamente, enquanto que na análise univariada os efeitos das variáveis são analisados individualmente. A análise fatorial também permitiu observar que as variáveis vinculadas a firmeza e etileno apareceram com destaque, dada a importância da aplicação do produto 1-MCP e os sistemas de armazenamento ACD sobre essas variáveis, influenciando a qualidade final das maçãs armazenadas por longos períodos. Ressalta-se, ainda, a importância de aprimorar as técnicas de conservação que permitam conservar as frutas com alta qualidade e dessa forma poder entregar ao consumidor um produto fresco, higienizado e de boa qualidade, o que permitirá a consolidação e ampliação da maçã nacional no mercado interno e externo.

7. Conclusão

Nas avaliações físico-químicas, identificou-se que independente do sistema de armazenamento, houve decréscimo na acidez dos frutos. A firmeza da polpa e da epiderme foi superior nos frutos tratados com 1-MCP. Os compostos fenólicos e a atividade antioxidante foram superiores nos frutos armazenados em AC + 1-MCP, ACD-FC e ACD-FC + 1-MCP. Quanto às enzimas peroxidase e polifenoloxidase, a ACD-FC apresentou comportamento satisfatório, pois preservou a atividade enzimática durante os 270 d de armazenamento.

Nos primeiros 90 d de armazenamento, as maçãs acondicionadas em ACD-FC produziram mais etileno do que as maçãs tratadas com 1-MCP (AC + 1-MCP e ACD + 1-MCP) e menos do que maçãs armazenadas em AC (sem 1-MCP).

A produção de etanol e acetaldeído ficou abaixo das concentrações prejudiciais aos frutos.

O 1-MCP, apesar de ter causado redução na concentração compostos voláteis, se mostrou bastante eficiente na manutenção de frutos saudáveis ao longo dos 270 d de armazenamento, com perda de frutas inferior a 20 %.

De forma geral, as concentrações de compostos voláteis foram elevadas no início do armazenamento e sofreram acentuadas quedas a partir de 90 d de armazenamento. Apenas dois alcoóis (2-Phenyl-2-propanol e 2-methyl-1-butanol) tiveram sua concentração aumentada ao longo de 270 dias de armazenamento. Nas maçãs onde não houve aplicação de 1-MCP, a produção de compostos aromáticos sempre foi superior à dos frutos tratados com 1-MCP, especialmente nas duas primeiras avaliações. A ACD-FC manteve a produção de compostos voláteis superior aos frutos tratados com 1-MCP, mas inferior a AC.

Considerando a qualidade físico-química da maçã e sua produção de compostos voláteis, verificou-se que o armazenamento de maçãs sob AC + 1-MCP proporcionou melhores resultados do que sob ACD-FC.

8. Referências

Bloco 1.

(compreende as referências desde a **Introdução** até **Compostos voláteis relacionados ao aroma**).

ABM-**ANUARIO BRASILEIRO DA MAÇÃ**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta. Santa Cruz, 2018. 56p.

ABH&F - **Anuário brasileiro de Horti & Fruti** - Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2021. 104 p.: il. Disponível em: <https://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2021/04/HORTIFRUTI_2021.pdf> Acesso em 17 de ago. 2021.

AGAPOMI - **Associação Gaúcha de Produtores De Maçã**. Vacaria, 2022. v.332. 12p. Disponível: <<https://www.flipbookpdf.net/web/files/uploads/429e8886c342af73115d38c9a617380873b6a6d2202112.pdf>> Acesso em: 14 jan. 2022.

AGAPOMI - **Associação Gaúcha de Produtores De Maçã**. Vacaria, 2019. 1p. Disponível: <http://agapomi.com.br/wp-content/uploads/2019/10/capacidade-de-armazenagem-out-19.pdf> Acesso em: 14 jan. 2022.

AHARONI, A., KEIZER, L. C. P., BOUWMEESTER, H. J., SUN, Z. K., ALVAREZ-HUERTA, M., VERHOEVEN, H. A., *et al.* Identification of the SAAT gene involved in strawberry flavor biogenesis by use of DNA microarrays. **Plant Cell**, v.12, n.5, p.647–661, 2000.

ANESE, R. de O, BRACKMANN, A., THEWES, F. R., SCHULTZ, E. E., de GASPERIN, A. R. Mass loss by low relative humidity increases gas diffusion rates in apple flesh and allows the use of high CO₂ partial pressures during ultralow O₂ storage. **Scientia horticultruae**, v.198, p.414-423, 2016.

APREA E, COROLLARO ML, BETTA E, ENDRIZZI I, DEMATTÈ ML, BIASIOLI F, GASPERI F. Sensory and instrumental profiling of 18 apple cultivars to investigate the relation between perceived quality and odour and flavor. **Food Res Int** v. 49, p. 677–686, 2012.

ARGENTA, L. C. Fisiologia pós-colheita: maturação, colheita e armazenagem dos frutos. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**, Florianópolis, p. 691-732, 2002.

ARGENTA, L.C., MATTHEIS, J.P., FAN, X., FINGER, F.L. Production of volatile compounds by Fuji apples following exposure to high CO₂ or low O₂. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 19, p. 5957-5963, 2004.

ASIF, M. H.; PATHAK, N.; SOLOMOS, T.; TRIVEDI, P. K. Effect of low oxygen, temperature and 1-methylcyclopropene on the expression of genes regulating ethylene biosynthesis and perception during ripening in apple. **South African Journal of Botany**, v. 75, n. 1, p. 137-144, 2009.

AUBERT, C., MATHIEU-HURTIGER, V., VAYSSE, P. Effects of dynamic atmosphere on volatile compounds, polyphenolic content, overall fruit quality, and sensory evaluation of pink lady® apples. **Acta Hort**, v. 1071, p. 275-280, 2015.

BAUCHOT, A. D., Mottram, D. S., Dodson, A. T., John, P. Effect of aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase antisense gene on the formation of volatile esters in Cantaloupe Charentais melon (cv. *Védrantais*). **J. Agric. Food Chem.** v.46, p.4787–4792, 1998. doi: 10.1021/jf980692z

BAN, Y.; OYAMA-OKUBO, N.; HONDA, C.; NAKAYAMA, M.; MORIGUCHI, T. Emitted and endogenous volatiles in ‘Tsugaru’ apple: The mechanism of ester and (*E,E*)- α -farnesene accumulation. **Food Chemistry**, v. 118, p. 272–277, 2010.

BANGERTH, F.K.; SONG, J.; STREIF, J. Physiological impacts of fruit ripening and storage conditions on aroma volatile formation in apple and strawberry fruit: A review. **HortScience**, v. 47, n. 1, p. 4-10, 2012.

BAPAT, V. A., TRIVEDI, P. K., GHOSH, A., SANE, V. A., GANAPATHI, T. R., NATH, P. Ripening of fleshy fruit: molecular insight and the role of ethylene. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 1, p. 94–107, 2010.

BARITELLE, A.L., HYDE, G.M., FELLMAN, J.K., VARITH, J. Using 1-MCP to inhibit the influence of ripening on impact properties of pear and apple tissue. **Postharvest Biol. Technol.** v. 23, p. 153–160, 2001.

BERGER, R.G.; DRAWERT, F. (1984) Changes in the composition of volatiles by post-harvest application of alcohols to ‘Red Delicious’ apples. **Journal of the Science of Food and Agriculture** v. 35, p. 1318- 1325.

BERTL, A., FELLE, H. Cytoplasmic pH of root hair cells of *Sinapis alba* recorded by a pH-sensitive micro-electrode. Does fusicoccin stimulate the proton pump by cytoplasmic acidification? **J. Exp. Bot.** v. 36, p. 1142–1149, 1985.

BESSEMANS, N., VERBOVEN, P., VERLINDEN, B. E., NICOLAÏ, B. M. A novel type of dynamic controlled atmosphere storage based on the respiratory quotient (RQ-DCA). **Postharvest Biology and technology**, v. 115, p. 91-102, 2016.

BLANKE, M. M. Reducing ethylene levels along the food supply chain: a key to reducing food waste? **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 12, p. 2357–2361, 2014.

BLANKENSHIP, S. M.; DOLE, J.M. 1-Methylcyclopropene: a review. **Postharvest biology and technology**, v. 28, n. 1, p. 1-25, 2003.

BONANY, J., BUEHLER, A., CARBÓ, J., CODARIN, S., DONATI, F., ECHEVERRIA, G., ... & IGLESIAS, I. Consumer eating quality acceptance of new apple varieties in different European countries. **Food Quality and Preference**, v. 30, n. 2, p. 250-259, 2013.

BOTH, V., BRACKMANN, A., THEWES, F. R., WEBER, A., SCHULTZ, E. E., LUDWIG, V. The influence of temperature and 1-MCP on quality attributes of 'Galaxy' apples stored in controlled atmosphere and dynamic controlled atmosphere. **Food packaging and shelf life**, v. 16, p. 168-177, 2018.

BOTH, V.; BRACKMANN, A.; THEWES, F. R.; FERREIRA, D. F.; WAGNER, R. Effect of storage under extremely low oxygen on the volatile composition of 'Royal Gala' apples. **Food Chemistry**, London, v. 156, p. 50-57, 2014.

BRACKMANN A, STREIF J, BANGERTH F. Relationship between a reduced aroma production and lipid metabolism of apples after long-term controlled-atmosphere storage. **J Am Soc Hort Sci.** v. 118, p. 243–247, 1993.

BRACKMANN, A. *et al.* Manutenção da qualidade pós-colheita de maçãs 'Royal Gala' e 'Galaxy' sob armazenamento em atmosfera controlada. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, p. 2478-2484, 2008.

BRACKMANN, A., ANESE, R. D. O., PINTO, J. A. V., BOTH, V., VENTURINI, T. L., SCHORR, M. R. W. Aplicação de 1-metilciclopropeno e absorção de etileno em maçã da cultivar 'Royal Gala' colhida tardiamente. **Ciência Rural**, v. 40, n. 10, p. 2074-2080, 2010.

BRACKMANN, A., CERETTA, M., PINTO, J. A. V., VENTURINI, T. L., LUCIO, A. D. C. Tolerância de maçã 'Gala' a baixas temperaturas durante o armazenamento. **Ciência Rural**, v. 40, n. 9, p. 1909-1915, 2010.

BRACKMANN, A., WEBER, A., PAVANELLO, E. P., BOTH, V., SESTARI, I. Armazenamento em atmosfera controlada de maçãs mutantes da cultivar Gala. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.34, n.2, p.136-143, 2009.

BRACKMANN, A.; ANESE, R.D.O.; PINTO, J.A.V.; BOTH, V.; VENTURINI, T.L.; SCHORR, M.R.W. Aplicação de 1-metilciclopropeno e absorção de etileno em maçã da cultivar 'Royal Gala' colhida tardiamente. **Ciência Rural**, v. 40, n. 10, p. 2074-2080, 2010.

BRACKMANN, A., ANESE, R. O., WEBER, A., BOTH, V., GASPERIN, A. R., PAVANELLO, E. P. Efeito do estresse inicial por baixo O₂ combinado com 1- metilciclopropeno na conservação de maçãs 'Royal Gala' armazenadas com ultrabaixo O₂. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, p. 1185–1194, 2013.

BRACKMANN, A.; BOTH, V.; WEBER, A.; PAVANELLO, E.P.; SCHORR, M.R.W.; SANTOS, J.R.A. Variação da temperatura, oxigênio e CO₂ durante o armazenamento em atmosfera controlada de maçãs 'Royal Gala'. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v.33, n.6, p.2247-2256, 2012.

BRACKMANN, A.; CERETTA, M.; DAL'COL LÚCIO, A.; PINTO, J. A. V.; ANESE, R. O. Tolerância da maçã 'Fuji' a baixas temperaturas durante o armazenamento em atmosfera controlada. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1489-1496, 2011.

BRACKMANN, A.; GIRARDI, C. L.; BENDER, R. J.; CARON FILHO, O. R. Armazenamento refrigerado. In: César Luis Girardi. (Org.). Pós-colheita de maçãs. 1ed. Brasília-DF: **Embrapa Informação Tecnológica**. v. 3, p. 58-6, 2004.

BRACKMANN, A.; PINTO, J. A. V.; NEUWALD, D. A.; GIEHL, R. F. H.; SESTARI, I. Temperatura e otimização da atmosfera controlada para o armazenamento de maçã 'Gala'. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 4, p. 505-508, 2005.

BRACKMANN, A., SAQUET, A.A. Armazenamento de maçã cv. Gala em atmosfera controlada. **Rev. Bras. de Agroc.** v. 1, n. 2, p. 55–60, 1995.

BRACKMANN, A.; STREIF, J.; BANGERTH, F. Relationship between a reduced aroma production and lipid metabolism of apples after long-term controlled-atmosphere storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 118, n. 2, p. 243-247, 1993.

BRIZZOLARA, S., SANTUCCI, C., TENORI, L., HERTOOG, M., NICOLAI, B., STÜRZ, S., ... TONUTTI, P. A metabolomics approach to elucidate apple fruit responses to static and dynamic controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 127, p. 76-87, 2017.

BULENS, I.; VAN DE POEL, B.; HERTOOG, M. L. A. T. M.; DE PROFT, M. P.; GEERAERD, A. H.; NICOLAI, B. M. Influence of harvest time and 1-MCP application on postharvest ripening and ethylene biosynthesis of 'Jonagold' apple. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 72, p. 11–19, 2012.

BURDON, J., LALLU, N., HAYNES, G., MCDERMOTT, K., BILLING, D. The effect of delays in establishment of a static or dynamic controlled atmosphere on the quality of 'Hass' avocado fruit. **Postharvest biology and technology**, v. 49, n. 1, p. 61-68, 2008.

BUTKEVICIUTE, Aurita *et al.* Changes in the Biochemical Composition and Physicochemical Properties of Apples Stored in Controlled Atmosphere Conditions. **Applied Sciences**, v. 11, n. 13, p. 6215, 2021.

CERETTA, M.; BRACKMANN, A.; PINTO, J.A.V.; LÚCIO, A.D.; ANESE, R.O. Tolerância da maçã 'Gala' a pressões parciais extremas de O₂ e CO₂ durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.35, p.60-69, 2010.

CERVANTES, E. Ethylene: new interactions still ripening. **Trends in Plant Science**, London, v.7, n.2, p. 1-2, 2002.

CHEN, Y., GRIMPLET, J., DAVID, K., CASTELLARIN, S. D., TEROL, J., WONG, D. C., ... GAMBETTA, G. A. Ethylene receptors and related proteins in climacteric and non-climacteric fruits. **Plant Science**, v. 276, p. 63-72, 2018.

CHERIAN, S.; FIGUEROA, C.R.; NAIR, H. 'Movers and shakers' in the regulation of fruit ripening: a cross-dissection of climacteric versus non-climacteric fruit. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 17, p. 4705-4722, 2014.

CHERVIN, C., BRADY, C. J., PATTERSON, B. D., FARAGHER, J. D. Could studies on cell responses to low oxygen levels provide improved options for fruit storage and disinfestation? **Postharvest Biology and Technology**, v. 7, n. 4, p. 289-299, 1996.

CHERVIN, C.; TRUETT, J. K.; SPEIRS, J. Alcohol dehydrogenase expression and alcohol production during pear ripening. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 124, n. 1, p. 71-75, 1999.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. atual. e ampl. v. 1, 783 p. UFLA, Lavras. 2005.

CHONG, K. L.; PENG, N.; YIN, H.; LIPSCOM, G. G.; CHUNG, T-S. Food sustainability by designing and modelling a membrane controlled atmosphere storage system. **Journal of Food Engineering**, v. 114, n. 3, p. 361-374, 2013.

CIARDI, J.A.; TIEMAN, D.M.; JONES, J.B.; KLEE, H.J. Reduced expression of the tomato ethylene receptor gene LeETR4 enhances the hypersensitive response to *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria. **Mol Plant Microbe Interact**, v. 14, p. 487-95, 2001.

CORRÊA, T. R., STEFFENS, C. A., DO AMARANTE, C. V. T., BRACKMANN, A., SILVEIRA, J. P. G., TANAKA, H., BOTH, V. Qualidade de maçãs 'Fuji' armazenadas em atmosfera controlada e influência do clima na degenerescência da polpa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 6, p. 531-538, 2011.

DAVIES, D.D. Anaerobic metabolism and the production of organic acids. In: DAVIES, D.D. (ed.): **The Biochemistry of Plants**. Vol. 2. Academic Press, London, UK, p. 581-611, 1980.

de SOUSA, C.A.F., SODEK, L. The metabolic response of plants to oxygen deficiency. **Braz. J. Plant Physiol.** v. 14, p. 83-94, 2002.

DEELL, J.R., MURR, D.P., PORTEOUS, M.D., RUPASINGHE, H V. Influence of temperature and duration of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on apple quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, n. 3, p. 349-353, 2002.

DeELL, J.R.; KOOTEN, O.; PRANGE, R.K.; MURR, D.P. Applications of chlorophyll fluorescence techniques in postharvest physiology. **Hort. Rev.**, v. 23, p. 69-107, 1999.

DEFILIPPI, B.G.; DANDEKAR, A.; KADER, A.A. Relationship of ethylene biosynthesis to volatile production, related enzyme, and precursor availability in apple peel and flesh tissues. **J. Agr. Food Chem.** v. 53, p. 3133-3141, 2005.

DEFILIPPI, B. G.; KADER, A.A.; DANDEKAR, A.M. Apple aroma: alcohol acyltransferase, a rate limiting step for ester biosynthesis, is regulated by ethylene. **Plant Science**, v. 168, n. 5, p. 1199-1210, 2005.

DEFILIPPI, G.B.; DANDEKAR, A. M.; KADER, A.A. Relationship of ethylene biosynthesis to volatile production, related enzymes, and precursor availability in apple peel and flesh tissues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3133-3141, 2005.

DeLONG, J.M., HARRISON, P.A., PRANGE, R. K. Chlorophyll Fluorescence-Based Low-O₂ Ca Storage Of Organic 'cortland' and 'delicious' apples. In: **I International Symposium on Organic Apple and Pear 737**, p. 31-37, 2006.

DEUCHANDE, T., CARVALHO, S. M., GUTERRES, U., FIDALGO, F., ISIDORO, N., LARRIGAUDIÈRE, C., VASCONCELOS, M. W. Dynamic controlled atmosphere for prevention of internal browning disorders in 'Rocha'pear. **LWT-Food Science and Technology**, v. 65, p. 725-730, 2016.

DIEREND, W. Erhöhung der Temperatur bei der Apfellagerung durch Einsatz von 1-MCP. **Erwerbs-Obstbau**, v. 54, n. 1, p. 31-41, 2012.

DILLEY, D.R., Controlled atmosphere storage-chronology and technology. In: **IX International Controlled Atmosphere Research Conference 857**, p. 493-502, 2005.

ECHEVERRÍA G, GRAELL J, LARA I, LÓPEZ ML. Physicochemical measurements in 'Mondial Gala®' apples stored at different atmospheres: influence on consumer acceptability. **Postharv Biol Technol.** v. 50, p. 135–144, 2008.

ECHEVERRÍA G., GRAELL, J., LARA, I., LÓPEZ, M.L., LARA, I. Volatile production, quality and aroma-related enzyme activities during maturation of 'Fuji' apples. **Postharvest Biology and Technology** v. 31, p. 217-227, 2004a.

ECHEVERRIA, G., FUENTES, T., GRAELL, J., LARA, I., & LÓPEZ, M. L. Aroma volatile compounds of 'Fuji' apples in relation to harvest date and cold storage technology: A comparison of two seasons. **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, n. 1, p. 29-44, 2004.

ECHEVERRIA, G.; GRAELL, J.; LÓPEZ, M. L. Effect of harvest date and storage conditions on quality and aroma production of "Fuji" apples. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 6, p. 351-360, 2002.

EKMAN, J.H.; CLAYTON, M.; BIASI, W.V.; MITCHAM, E.J. Interactions between 1-MCP concentration, treatment interval and storage time for 'Bartlett' pears. **Postharv. Biol. Technol.** v. 31, p. 127-136, 2004.

EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.A.Y.A.T.; SAJJAD, Y.; BAZIN, J.; LANGLADE, N.; CRISTESCU, S. M.; BALZERGUE, S.; ... BAILLY, C. Reactive oxygen species, abscisic acid and ethylene interact to regulate sunflower seed germination. **Plant, cell & environment**, v. 38, n. 2, p. 364-374, 2015.

ESPINO-DÍAZ, M., SEPÚLVEDA, D.R, GONZÁLEZ-AGUILAR, G., OLIVAS, GI. Biochemistry of apple aroma: A review. **Food technology and biotechnology**, v. 54, n. 4, p. 375-394, 2016.

FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. **Fruticultura: fundamentos e práticas**. Pelotas: Editora UFPel, 311p. 1996.

FAN, X., MATTHEIS, J.P., BLANKENSHIP, S. Development of apple superficial scald, soft scald, core flush, and greasiness is reduced by 1-MCP. **J. Agri. Food Chem.** v.47, p.3063–3068, 1999.

FAN, X.; MATTHEIS, J.P. 1-Methylcyclopropene and storage temperature influence responses of 'Gala' apple fruit to gamma irradiation. **Postharvest Biol. Technol.** v.23, p.143–151, 2001.

FAN, X.T.; MATTHEIS, J.P. Reduction of ethylene-induced physiological disorders of carrots and iceberg lettuce by 1-methylcyclopropene. **HortScience** v.35, p.1312- 1314, 2000a.

FAN, X.T.; MATTHEIS, J.P. Yellowing of broccoli in storage is reduced by 1-methylcyclopropene. **HortScience** v.35, p.885-887, 2000b.

FAN, X.T.; MATTHEIS, J.P., BUCHANAN, D. Continuous requirement of ethylene for apple fruit volatile synthesis. **J. Agr. Food Chem.** v.46, p.1959–1963, 1998.

FARNETI B, BUSATTO N, KHOMENKO I, CAPPELLIN L, GUTIERREZ S, SPINELLI F, VELASCO R, BIASIOLI F, COSTA G, COSTA F. Untargeted metabolomics investigation of volatile compounds involved in the development of apple superficial scald by PTRToF–MS. **Metabolomics** v.11, p.341–349, 2015.

FAWBUSH, F.; NOCK, J. F.; WATKIN, C. B. Antioxidant contents and activity of 1-methylcyclopropene (1-MCP) - treated 'Empire' apples in air and controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, n. 1, p. 30-37, 2009.

FELLMAN, J.K., MILLER, T.W., MATTINSON, D.S., MATTHEIS, J.P. Factors that influence biosynthesis of volatile flavor compounds in apple fruits. **Hort Sci.** v.35, p.1026–33, 2000.

FIORAVANÇO, J.C. Maçã brasileira: da importação à autossuficiência e exportação - a tecnologia como fator determinante. **Informações econômicas**, v. 39, n. 3, 2009.

FLORES, F., El Yahyaoui, F., De Billerbeck, G., Romojaro, F., Latché, A., Bouzayen, M., *et al.* Role of ethylene in the biosynthetic pathway of aliphatic ester aroma volatiles in Charentais Cantaloupe melons. **J. Exp. Bot.** v.53, p.201–206, 2002. doi: 10.1093/jexbot/53.367.201

FONSECA, J.M.; RUSHING, J.W.; TESTIN, R.F. The anaerobic compensation point for fresh-cut watermelon and implications for post process handling. **Hort Science**, v. 39, n. 3, p. 562-566, 2004.

FORNEY, C.F., MATTHEIS, J.P., BALDWIN, A.E. Effects on flavor. En YAHIA, E.M. (Ed) **Modified and Controlled Atmospheres for the Storage, Transportation, and Packaging of Horticultural Commodities**. CRC. Boca Ratón, FL, EEUU. p.119-159, 2009.

FORNEY, C.F.; KALT, W.; JORDAN, M. A. The composition of strawberry aroma is influenced by cultivar, maturity, and storage. **HortScience**, v. 35, n. 6, p. 1022-1026, 2000.

FRANCK, C., LAMMERTYN, J., HO, Q. T., VERBOVEN, P., VERLINDEN, B., NICOLAÏ, B. M. Browning disorders in pear fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 43, n. 1, p. 1-13, 2007.

GABIOUD, S.; BOZZI NISING, A.; GASSER, F.; EPPLER, T.; NAUNHEIM, W. Dynamic CA storage of apples: monitoring of the critical oxygen concentration and adjustment of optimum conditions during oxygen reduction. In: **X International Controlled and Modified Atmosphere Research Conference 876**. p. 39-46, 2009

GAGO, C.M., GUERREIRO, A.C., MIGUEL, G., PANAGOPOULOS, T., DA SILVA, M.M. ANTUNES, M.D. Effect of Calcium chloride and 1-MCP (Smartfresh™) postharvest treatment on 'Golden Delicious' apple cold storage physiological disorders. **Scientia Horticulturae**, v. 211, p. 440-448, 2016.

GASSER, F.; EPPLER, T.; NAUNHEIM, W.; GABIOUD, S.; HÖHN, E. Control of the critical oxygen level during dynamic CA storage of apples by monitoring respiration as well as chlorophyll fluorescence. **Acta Hort**, v. 7, n. 96, p. 69–76, 2008.

GE, Y., HU, K. D., WANG, S. S., HU, L. Y., CHEN, X. Y., LI, Y. H., ... & ZHANG, H. Hydrogen sulfide alleviates postharvest ripening and senescence of banana by antagonizing the effect of ethylene. **PloS one**, v. 12, n. 6, p. e0180113, 2017.

GOLDEN, K.D.; WILLIAMS, O.J.; DUNKLEY, H.M. Ethylene in Postharvest Technology: A Review. **Asian Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 4, p. 135-143, 2014.

GORNY, J. R.; KADER, A. A. Controlled atmosphere suppression of ACC synthase and ACC oxidase in 'Golden Delicious' apples during long-term cold storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 121, n. 4, p. 751-755, 1996.

GOUT, E., BOISSON, A., AUBERT, S., DOUCE, R., BLIGNY, R. Origin of cytoplasmic pH changes during anaerobic stress in higher plant cells. Carbon-13 and phosphorous 31 nuclear magnetic resonance studies. **Plant Physiol.** v.125, p.912–925, 2001.

GRAELL, J.; LÓPEZ M.L.; FUENTES, G.; ECHEVERRÍA, G.; LARA, I. Quality and volatile emission changes of 'Mondial Gala' apples during pre-harvest period and posterior storage in air or controlled atmosphere. **Food Science and Technology International**, v.14, p.285-294, 2008.

GRAN, C.D.; BEAUDRY R.M. Determination of the low oxygen limit for several commercial apple cultivars by respiratory quotient breakpoint. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.3, p.259-267, 1993.

GRAY, J.; PICTON, S.; SHABEER, J.; SCHUCH, W.; GRIERSON, D. Molecular biology of fruit ripening and its manipulation with antisense genes. **Plant Mol Biol.** v.19, p.69–87, 1992.

GROSS, K. C., CHIEN, Y. W., MIKAL, S. eds. 2016. The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. Agriculture Handbook 66, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC.

GUPTA, K. J.; ZABALZA, A.; VAN DONGEN, J. T. Regulation of respiration when the oxygen availability changes. **Physiologia Plantarum**, v. 137, n. 4, p. 383-391, 2009.

GWANPUA, S. G.; VERLINDEN, B. E.; HERTOOG, M. L. A. T. M.; BULENS, I.; VAN DE POEL, B.; VAN IMPE, J.; NICOLAÏ, B. M.; GEERAERD, A. H. Kinetic modeling of firmness breakdown in 'Braeburn' apples stored under different controlled atmosphere conditions. **Postharvest Biology and Technology**, v. 67, p. 68-74, 2012.

HARB, J., STREIF, J., BANGERTH, F. Response of controlled atmosphere (CA) stored "Golden Delicious" apples to the treatments with alcohols and aldehydes as aroma precursors. **Gartenbauwissenschaft** . v. 65, n.4, p. 154–61, 2000.

HO, Q. T., VERBOVEN, P., VERLINDEN, B. E., SCHENK, A., NICOLAÏ, B. M. Controlled atmosphere storage may lead to local ATP deficiency in apple. **Postharvest biology and technology**, v. 78, p. 103-112, 2013.

HOANG, N. T. T., GOLDING J. B.; WILKES M. A. The effect of postharvest 1-MCP treatment and storage atmosphere on 'Cripps Pink' apple phenolics and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 127, n. 3, p. 1249-1256, 2011.

HOLLAND, D., LARKOV, O., BAR-YA'AKOV, I., BAR, E., ZAX, A., BRANDEIS, E., ... & LEWINSOHN, E. Developmental and varietal differences in volatile ester formation and acetyl-CoA: alcohol acetyl transferase activities in apple (*Malus domestica* Borkh.) fruit. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 18, p. 7198-7203, 2005.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. Levant. Sistem. Prod. Agríc. Rio de Janeiro v.30 n.12 p.1-82 dezembro. 2017. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/2017/lspa_201712.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/2017/lspa_201712.pdf)> Acesso em junho de 2018.

JANISIEWICZ, W.J., LEVERENTZ, B., CONWAY, W.S., SAFTNER, R.A., REED, A.N., CAMP, M.J. Control of bitter rot and blue mold of apples by integrating heat and antagonist treatments on 1-MCP treated fruit stored under controlled atmosphere conditions. **Postharvest Biology and Technology**, v. 29, n. 2, p. 129-143, 2003.

JOHNSON, P.R.; ECKER, J.R. The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective. **Annu Rev Gene.** v.32, p.227–54, 1998.

JU, C.; CHANG, C. Mechanistic insights in ethylene perception and signal transduction. **Plant physiology**, v. 169, n. 1, p. 85-95, 2015.

KADER, A. A., YAHIA, E. M. Postharvest biology of tropical and subtropical fruits. **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**, p.79–111, 2011.

KE, D., RODRIGUEZ-SINOBAS, L.; KADER, A. A. Physiology and prediction of fruit tolerance to low-oxygen atmospheres. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 116, n. 2, p. 253-260, 1991.

KE, D.; YAHIA, E.; HESS, B.; ZHOU, L.; KADER, A.A. Regulation of fermentative metabolism in avocado fruit under oxygen and carbon dioxide stresses. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** v.120, p.481–490, 1995.

KE, D.; YAHIA, E.; MATEOS, M.; KADER, A.A. Ethanolic fermentation of ‘Bartlett’ pears as influenced by ripening stage and atmospheric composition. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** v.119, p.976–982, 1994a.

KITTEMANN, D., MCCORMICK, R., NEUWALD, D. A. Effect of high temperature and 1-MCP application on dynamic controlled atmosphere on energy savings during apple storage. **European Journal of Horticultural Science**, v. 80, n. 1, p. 33-38, 2015.

KLEE, H.J. Control of ethylene-mediated processes in tomato at the level of receptors. **J Exp Bot**, v.53, p.2057-2063, 2002.

KONDO, S., SETHA, S., RUDEL, D.R. L, BUCHANAN, D.A., MATTHEIS, J.P. Aroma volatile biosynthesis in apples affected by 1-MCP and methyl jasmonate. **Postharvest Biol. Technol.** v.36, p.61–68, 2005.

KÖPCKE, D. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) and dynamic controlled atmosphere (DCA) applications under elevated storage temperatures: effects on fruit quality of ‘Elstar’, ‘Jonagold’ and ‘Gloster’ apple (*Malus domestica* Borkh.). **European Journal of Horticultural Science**, v. 80, n. 1, p. 25-32, 2015.

KUBO, Y.; INABA, A.; NAKAMURA, R. Respiration and C₂H₄ production in various harvested crops held in CO₂-enriched atmospheres. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, n. 6, p. 975-978, 1990.

LACEY, R.F.; BINDER, B.M. How plants sense ethylene gas - The ethylene receptors. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 133, p. 58-62, 2014.

LALLU, N.; BURDON, J. Experiences with recent postharvest technologies in kiwifruit. In: **VI International Symposium on Kiwifruit 753**. p. 733-741, 2006.

LANDAU, E. C. *et al.* Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas: cenário histórico, divisão política, características demográficas, socioeconômicas e ambientais. **Embrapa Milho e Sorgo-Livro científico** (ALICE), 2020.

LANGE, D.L.; KADER, A.A. Elevated carbon dioxide exposure alters intracellular pH and energy charge in avocado fruit tissue. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** v.122, p.253–257, 1997.

LARA I, ECHEVERRÍA G, GRAELL J, LÓPEZ ML. Volatile emission after controlled atmosphere storage of Mondial Gala apples (*Malus domestica*): relationship to some involved enzyme activities. **J Agric Food Chem.** v.55, p.6087–6095, 2007.

LAU, O. L. Control of storage scald in ‘Delicious’ apples by diphenylamine, low oxygen, atmosphere, and ethylene scrubbing. In: **International Controlled Atmosphere Research Conference**. p. 169-176, 1989.

LAVILLA, T., PUY, J., LÓPEZ, M.L., RECASENS, I., VENDRELL, M. Relationships between volatile production, fruit quality, and sensory evaluation in Granny Smith apples stored in different

controlled-atmosphere treatments by means of multivariate analysis. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 9, p. 3791-3803, 1999.

LELIÈVRE, J. M., LATCHÈ, A., JONES, B., BOUZAYEN, M., PECH, J. C. Ethylene and fruit ripening. **Physiologia plantarum**, v. 101, n. 4, p. 727-739, 1997.

LIDSTER, P. D.; BLANPIED, G. D.; LOUGHEED, E. C. Factors affecting the progressive development of low-oxygen injury in apples. In: **Fourth Natl. Controlled Atmosphere Res. Conf., Raleigh, NC (USA), 23-26 Jul 1985**. Department of Horticultural Science. North Carolina State Univ.(USA), 1985.

LIMA, J.R.F.; ARAÚJO, J.L.P.; LOPES, P.R.C.L.; JÚNIOR, J.N.A.; PEREIRA, A.F.C. Análise do comportamento dos preços da maçã comercializada em Juazeiro, BA e em São Paulo, SP. **Comunicado Técnico 167**. Pernambuco. Embrapa Semiárido, 2016. 4 p.

LIU, S., YANG, Y., MURAYAMA, H., TAIRA, S., FUKUSHIMA, T. Effects of CO₂ on respiratory metabolism in ripening banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, n. 1, p. 27-34, 2004.

LIU, W.W.; QI, H.Y.; XU, B.H.; LI, Y.; TIAN, X.B.; JIANG, Y.Y.; XU, X.F.; LV, D.Q. Ethanol treatment inhibits internal ethylene concentrations and enhances ethylester production during storage of oriental sweet melons (*Cucumismelovar. Makuwa* Makino). **Postharvest Biol Tec** v.67, p.75-83, 2012.

LIU, Z.Y.; JIANG, W.B. Lignin deposition and effect of postharvest treatment on lignification of green asparagus (*Asparagus officinalis* L.). **Plant Growth Regul.** v.48, p.187-193, 2006.

Lo SCALZO, R.; TESTONI, A.; GENNA, A. 'Annurca' apple fruit, a southern Italy apple cultivar: textural properties and aroma composition. **Food Chem** v.73, p.333-343, 2001.

LÓPEZ, M. L., LAVILLA, M. T., RIBA, M., & VENDRELL, M. Comparison of volatile compounds in two seasons in apples: Golden Delicious and Granny Smith. **Journal of Food Quality**, v. 21, n. 2, p. 155-166, 1998a.

LÓPEZ, M. L., LAVILLA, T., RECASENS, I., RIBA, M., & VENDRELL, M. Influence of different oxygen and carbon dioxide concentrations during storage on production of volatile compounds by Starking Delicious apples. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 46, n. 2, p. 634-643, 1998b.

LÓPEZ, M. L.; LAVILLA, M. T.; RIBA, M.; VENDRELL, M. Comparison of volatile compounds in two seasons in apples: Golden Delicious and Granny Smith. **Journal of Food Quality**, v. 21, n. 2, p. 155-166, 1998.

LUCCHETTA, L., MANRIQUEZ, D., EL-SHARKAWY, I., FLORES, F.B., SANCHEZ-BEL, P., ZOUINE, M., ... & LATCHÉ, A. Biochemical and catalytic properties of three recombinant alcohol acyltransferases of melon. Sulfur-containing ester formation, regulatory role of CoA-SH in activity, and sequence elements conferring substrate preference. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 13, p. 5213-5220, 2007.

LUMPKIN, C., FELLMAN, J. K., RUDELL, D. R., MATTHEIS, J. P. 'Fuji' apple (*Malus domestica* Borkh.) volatile production during high pCO₂ controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 100, p. 234-243, 2015.

LURIE, S., PRE-AYMARD, C., RAVID, U., LARKOV, O., FALLIK, E. Effect of 1-methylcyclopropene on volatile emission and aroma in cv. Anna apples. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 15, p. 4251-4256, 2002.

MA, F., CHENG, L. The sun-exposed peel of apple fruit has higher xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and antioxidants of the ascorbate–glutathione pathway than the shaded peel. **Plant Science**, v. 165, n. 4, p. 819-827, 2003.

MARTIN, M. S. D., STEFFENS, C. A., AMARANTE, C. V. T., BRACKMANN, A., JUNIOR, W. L. Quality of 'Rocha' pears stored in controlled atmosphere. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 1, p. 73-82, 2015.

MATHOOKO, F.M. Regulation of ethylene biosynthesis in higher plants by carbon dioxide. **Postharvest Biology and Technology**, v. 7, n. 1-2, p. 1-26, 1996.

MATTHEIS, J. P., FELLMAN, J. K., CHEN, P. M., & PATTERSON, M. E. Changes in headspace volatiles during physiological development of Bisbee Delicious apple fruits. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 39, n. 11, p. 1902-1906, 1991.

MATTHEIS, J. P.; FAN, X. T.; ARGENTA, L. C. Interactive responses of Gala apple fruit volatile production to controlled atmosphere storage and chemical inhibition of ethylene action. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.4510-4516, 2005.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. **Journal of experimental botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MAZZURANA, E. R.; ARGENTA, L. C.; DO AMARANTE, C. V. T.; CRISTIANO, A. Potenciais benefícios do aumento da temperatura de armazenagem em atmosfera controlada de maçãs 'Gala' tratadas com 1-MCP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 1, p. 43-52, 2016.

McCORMICK, R.; NEUWALD, D. A.; STREIF, J. Commercial apple CA storage temperature regimes with 1-MCP (SmartFresh™): benefits and risks. **Acta Horticulturae**, n. 934, p. 263, 2012.

MOSTAFAVI, H. A.; MIRMAJLESSI, S. M.; FATHOLLAHI, H. F.; SHAHBAZI, S.; MIRJALILI, S. M. Integrated effect of gamma radiation and biocontrol agent on quality parameters of apple fruit: An innovative commercial preservation method. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 91, p. 193-199, 2013.

MURCHIE, E.H.; LAWSON, T. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. **Journal of experimental botany**, v. 64, n. 13, p. 3983-3998, 2013.

NGUYEN, T., VERBOVEN, P., SCHENK, A. NICOLAI, B. M. Prediction of water loss from pears (*Pyrus communis* cv.Conference) during controlled atmosphere storage as affected by relative humidity. **Journal of Food Engineering**, v.83, p. 149–155, 2007.

NOCK, J.F.; WATKINS, C.B. Repeated treatment of apple fruit with 1-methylcyclopropene (1-MCP) prior to controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 79, p. 73-79, 2013.

PAILLARD, N.M.M. The flavour of apples, pears and quinces. In: MORTON, I.E, MACLEOD, A.J. editors. **Food Flavours, Part C**. The flavour of fruits. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science; 1990. pp. 1–41.

PATHAK, N., CALEB, O. J., GEYER, M., HERPPICH, W. B., RAUH, C., & MAHAJAN, P. V. Photocatalytic and photochemical oxidation of ethylene: potential for storage of fresh produce- a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 6, p. 982-1001, 2017.

- PERATA, P.; ALPI, A. Plant responses to anaerobiosis. **Plant Sci.** v.93, p.1–17, 1993.
- PÉREZ, A.G.; SANZ, C. Formation of fruit flavour. In: BRÜCKNER, B., WYLLIE, S.G. editors. **Fruit and vegetable flavour**. Boca Raton FL, USA: CRC Press; p. 71–102, 2008.
- PESIS, E. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, n. 1, p. 1-19, 2005.
- PRANGE, R. K.; WRIGHT, A. H.; deLONG, J. M.; ZANELLA, A. A review on the successful adoption of Dynamic Controlled-Atmosphere (DCA) storage as a replacement for diphenylamine (DPA), the chemical used for control of superficial scald in apples and pears. In: **XI International Controlled and Modified Atmosphere Research Conference 1071**. p. 389-396, 2013.
- PRANGE, R.K., DELONG, J.M., HARRISON, P.A. Quality management through respiration control: is there a relationship between lowest acceptable respiration, chlorophyll fluorescence and cytoplasmic acidosis? **Acta Hort.** v.682, p.823–828, 2005b.
- PRANGE, R.K., DeLONG, J.M., HARRISON, P.A. Quality management through respiration control: Is there a relationship between lowest acceptable respiration, chlorophyll fluorescence and cytoplasmic acidosis?. In: **V International Postharvest Symposium 682**, p. 823-830, 2004.
- PRANGE, R.K.; DeLONG, J.M.; DANIELS-LAKE, B.J.; HARRISON, P.A. Innovation in controlled atmosphere technology. **Stewart Postharvest Review**, v. 1, n. 3, p. 1-11, 2005.
- PRANGE, R.K.; DeLONG, J.M.; HARRISON, P.; MCLEAN, S.; SCRUTTON, J.; CULLEN, J. **Method and apparatus for monitoring a condition in chlorophyll containing matter**. U.S. Patent n. 7,199,376, 3 abr. 2007.
- 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**, v. 128, n. 4, p. 603-607, 2003.
- PRANGE, R.K.; WRIGHT, A.H.; DeLONG, J.M.; ZANELLA, A. History, current situation and future prospects for dynamic controlled atmosphere (DCA) storage of fruits and vegetables, using chlorophyll fluorescence. In: **VII International Postharvest Symposium 1012**. p. 905-915, 2012.
- PRE-AYMARD, C., FALLIK, E., WEKSLER, A., LURIE, S. Sensory analysis and instrumental measurements of 'Anna' apples treated with 1-methylcyclopropene. **Postharvest biology and technology**, v. 36, n. 2, p. 135-142, 2005.
- QBAL, Noushina *et al.* Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 475, 2017.
- RAFFO, A., KELDERER, M., PAOLETTI, F., ZANELLA, A. Impact of innovative controlled atmosphere storage technologies and postharvest treatments on volatile compound production in cv. Pinova apples. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 3, p. 915-923, 2009.
- RECH, S., CARIO, S. A. F., AUGUSTO, C. A. Avaliação conjuntural da produção e comercialização da maçã em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul: aspectos comparativos. **Indicadores Econômicos FEE**, v.42, n.1, p.89-106, 2014.
- RITA, R.D.; ZANDA, K.; DAINA, K.; DALIJA, S. Composition of aroma compounds in fermented apple juice: effect of apple variety, fermentation temperature and inoculated yeast concentration. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1709-1716, 2011.

ROBERTS, J.K.M., CALLIS, J., KARDETSKY, O., WALBOT, V., FREELING, M. Cytoplasmic acidosis as a determinant of flooding intolerance in plants. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** v.81, p.6029–6033, 1984.

ROWAN D.D, LANE HP, ALLEN JM, FIELDER S, HUNT MB. Biosynthesis of 2-methylbutyl, 2-methyl-2-butenyl, and 2-methylbutanoate esters in Red Delicious and Granny Smith apples using deuterium-labeled substrates. **J Agric Food Chem.** v.44, p.3276–3285, 1996.

ROWAN, D.D.; HUNT, M.B.; DIMOURO, A.; ALSPACH, P.A.; WESKETT, R.; VOLZ, R.K.; GARDINER, Se.; CHAGNÉ, D. Profiling fruit volatiles in the progeny of a “Royal Gala” x “Granny Smith” apple (*Malus x domestica*) cross. **J Agric Food Chem.** v.57, p.7953–7961, 2009.

RUDELL, D. R.; BUCHANAN, D. A.; LEISSO, R. S.; WHITAKER, B. D.; MATTHEIS, J. P.; ZHU, Y.; VARANASI, V. Ripening, storage temperature, ethylene action, and oxidative stress alter apple peel phytosterol metabolism. **Phytochemistry**, v. 72, n. 11-12, p. 1328–1340, 2011.

SALAS SALAZAR, N.A.; OLIVAS OROZCO, G.I. El aroma de la manzana. **Interciencia**, v. 36, n. 4, 2011.

SALTVEIT, M.E. (2002). Respiratory metabolism, in: GROSS, K. *et al.* (eds). The commercial storage of fruit, vegetables, and florist and nursery stocks. USDA Agr. Hbk. 66 (<http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/index.html>). (Acesso em 20 de agosto de 2018).

SALTVEIT, M. E. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v.15, n.3, p.279–292, 1999.

SALTVEIT, M.E. Ethylene effects in: GROSS, K. C., CHIEN, Y. W., MIKAL, S. eds. 2016. **The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. Agriculture Handbook 66**, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC.

SANZ, C.J.; OLIAS, M.; PÉREZ, A.G. (1997) Aroma biochemistry of fruits and vegetables. In: **Phytochemistry of Fruit and Vegetables. F. A. TOMAS-BARBERAN, F.A and ROBINS, R.J. (eds.)**. New York, Oxford University. pp:125-155.

SAQUET AA, STREIF J, BANGERTH F. Impaired aroma production of CA-stored ‘Jonagold’ apples as affected by adenine and pyridine nucleotide levels and fatty acid concentrations. **J Hort Sci Biotech.** v.78, p.695–705, 2003.

SAQUET, A. A.; BRACKMANN, A.; STORCK, L. Armazenamento de maçã ‘Gala’ sob diferentes temperaturas e concentrações de oxigênio e gás carbônico. **Ciência Rural**, v. 27, n. 3, p. 399-405, 1997.

SAQUET, A. A.; STREIF, J. Fermentative metabolism in ‘Jonagold’ apples under controlled atmosphere storage. **European Journal of Horticultural Science**, v. 73, n. 1, p. 43, 2008.

SAQUET, A. A.; STREIF, J.; BANGERTH, F. Changes in ATP, ADP and pyridine nucleotide levels related to the incidence of physiological disorders in ‘Conference’ pears and ‘Jonagold’ apples during controlled atmosphere storage. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 75, n. 2, p. 243-249, 2000.

SAQUET, A.A.; STREIF, J.; BANGERTH, F. Energy metabolism and membrane lipid alterations related to the incidence of brown heart in ‘Conference’ pears during delayed controlled atmosphere storage. **Posth. Biol. Technol.** 30, 123–132, 2003.

SCHWARZ, A. Relative humidity in cool store: measurement control and influence of discreet factors. **Acta Hort.** 368, 687–697, 1994.

SCHOUTEN, S. P., PRANGE, R. K., VERSCHOOR, J., LAMMERS, T. R., & OOSTERHAVEN, J. Improvement of quality of Elstar apples by dynamic control of ULO conditions. **IFAC Proceedings Volumes**, v. 31, n. 9, p. 25-29, 1998.

SISLER, E.C.; BLANKENSHIP, S.M. Methods of counteracting an ethylene response in plants. **U.S. Patent Number 5,518,988**. 1996.

SISLER, E.C.; SEREK, M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: recent developments. **Physiologia plantarum**, v. 100, n. 3, p. 577-582, 1997.

STREIF, J. Ernte, Lagerung und Aufbereitung. In: LINK, H. (ed.): **Lucas' Anleitung zum Obstbau, 32nd edition**, Eugen Ulmer Stuttgart, 338–369, 2002.

STREIF, J. Ripening management and postharvest fruit quality. **Acta Hort.** v.858, p.121–129, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal** (p. 918). Porto Alegre: Artmed, 2013.

TANAKA, F., MIYAZAWA, T., OKAZAKI, K., TATSUKI, M., ITO, T. Sensory and metabolic profiles of “fuji” apples (*Malus domestica* Borkh.) grown without synthetic agrochemicals: The role of ethylene production. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v.79, n.12, p.2034-2043, 2015.

TATSUKI, M., ENDO, A., OHKAWA, H. Influence of time from harvest to 1-MCP treatment on apple fruit quality and expression of genes for ethylene biosynthesis enzymes and ethylene receptors. **Postharvest Biology and Technology**, v. 43, n. 1, p. 28-35, 2007.

THEWES, F.R., BOTH, V., BRACKMANN, A., WEBER, A., DE OLIVEIRA ANESE, R. Dynamic controlled atmosphere and ultralow oxygen storage on ‘Gala’ mutants quality maintenance. **Food chemistry**, v. 188, p. 62-70, 2015.

THEWES, Fabio Rodrigo *et al.* Dynamic controlled atmosphere based on carbon dioxide production (DCA–CD): Lower oxygen limit establishment, metabolism and overall quality of apples after long-term storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 168, p. 111285, 2020d.

THEWES, F.R.; BRACKMANN, A.; BOTH, V.; WEBER, A.; de OLIVEIRA ANESE, R.; dos SANTOS FERRÃO, T.; WAGNER, R. The different impacts of dynamic controlled atmosphere and controlled atmosphere storage in the quality attributes of ‘Fuji Suprema’ apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 130, p. 7-20, 2017.

TOMIC, N.; RADIVOJEVIC, D.; MILIKOJEVIC, J.; DJEKIC, I.; SMIGIC, N. Effects of 1-methylcyclopropene and diphenylamine on changes in sensory properties of “Granny Smith” apples during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 112, p. 233-240, 2016.

TRAN, D.T.; VERLINDEN, B.E.; HERTOOG, M.; NICOLAÏ, B.M. Monitoring of extremely low oxygen control atmosphere storage of ‘Greenstar’ apples using chlorophyll fluorescence. **Scientia Horticulturae**, v. 184, p. 18-22, 2015.

TRIVITTAYASIL, V., TSUTA, M., KASAI, S., MATSUO, Y., SEKIYAMA, Y., SHOJI, T., ... SUGIYAMA, J. Classification of 1-methylcyclopropene treated apples by fluorescence fingerprint

using partial least squares discriminant analysis with stepwise selectivity ratio variable selection method. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 175, p. 30-36, 2018.

USTIN, S.L.; GITELSON, A.A.; JACQUEMOUD, S.; SCHAEPMAN, M.; ASNER, G.P.; GAMON, J.A.; ZARCO-TEJADA, P. Retrieval of foliar information about plant pigment systems from high resolution spectroscopy. **Remote Sensing of Environment**, v. 113, p. S67-S77, 2009.

USTUN, U.; CANDIR, E.; OZDEMIR, A.E, KAMILOGLU, O.; SOYLU, E.M.; DILBAZ, R. Effects of modified atmosphere packaging and ethanol vapor treatment on the chemical composition of 'Red Globe' table grapes during storage. **Postharvest Biol Tec**, v.68, p.8-15, 2012.

VALDES, H.H., Pizarro, M.M., Campos-Vargas, R.R., Infante, R.R., Defilippi, B. Effect of ethylene inhibitors on quality attributes of apricot cv. Modesto and Patterson during storage. **Chilean journal of agricultural research**, v.69, n.2, p.134-144, 2009.

VALERO, D., GUILLÉN, F., VALVERDE, J.M., CASTILLO, S., SERRANO, M. Recent developments of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatments on fruit quality attributes. In: **Eco-friendly technology for postharvest produce quality**, p. 185-201, 2016.

VAN DEN DOOL, H. & KRATZ, P.D. A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. **Journal Chromatography A**, v.11, p.463-471, 1963.

VERAVERBEKE, E.A., VERBOVEN, P., OOSTVELDT, P.V., NICOLAI, B. Prediction of moisture loss across the cuticle of apple (*Malus sylvestris* subsp. *mitis* (Wallr.) during storage: part 2. Model simulations and practical applications. **Postharvest Biol. Technol.** v.30, p.89–97, 2003.

VITALIJS, R & JUHNEVICA-RADENKOVA, K. Comparison of three storage techniques for post-harvest quality preservation of six commercially available cultivars of apple. **International Journal of Fruit Science**, v. 18, n. 3, p. 268-286, 2018.

WAKASA, Y., KUDO, H., ISHIKAWA, R., AKADA, S., SENDA, M., NIIZEKI, M., HARADA, T. Low expression of an endopolygalacturonase gene in apple fruit with long-term storage potential. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, n. 2, p. 193-198, 2006.

WATKINS, C. B. New technologies for storage of horticultural products-there is more to adoption than availability!. In: **VIII International Postharvest Symposium: Enhancing Supply Chain and Consumer Benefits-Ethical and Technological Issues 1194**. p. 1233-1244, 2016

WATKINS, C. B. Storage disorders of controlled atmosphere stored Empire apples. **New York Fruit Quarterly**, v. 18, n. 3, p.19-22, 2010.

WATKINS, C.B. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) in: GROSS, K. C., CHIEN, Y. W., MIKAL, S. eds. 2016b. **The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. Agriculture Handbook 66**, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC.

WATKINS, C.B. 2003d. Principles and practices of postharvest handling and stress. In D. FEREE, D.; WARRINGTON, I.J. eds., **Apples: Crop Physiology, Production and Uses**, pp. 585-614. CAB Intl., Wallingford, U.K.

WATKINS, C.B. Current and future research and uses of 1-MCP in apples. In: **Proceedings of the 36th Annual Meeting of the Plant Growth Regulation Society of America, Asheville, North Carolina, USA, 2-6 August 2009**. Plant Growth Regulation Society of America, 2009. p. 14-26.

WATKINS, C.B. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. **Biotechnology advances**, v. 24, n. 4, p. 389-409, 2006.

WATKINS, C.B.; KUPFERMAN, E.; ROSENBERGER, D.A. Apple. in: GROSS, K. C., CHIEN, Y. W., MIKAL, S. eds. 2016c. The **Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. Agriculture Handbook 66**, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC.

WATKINS, C.B.; KUPFERMAN, E.; ROSENBERGER, D.A. Apple. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. **Washington: United States Department of Agriculture, 2004.** (Agriculture Handbook, 66).

WATKINS, C.B.; NOCK, J.F.; WHITAKER, B.D. Responses of early, mid and late season apple cultivars to postharvest application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) under air and controlled atmosphere storage conditions. **Postharvest Biology and technology**, v. 19, n. 1, p. 17-32, 2000.

WEBER, A., BRACKMANN, A., ANESE, R. D. O., BOTH, V., PAVANELLO, E. P. 'Royal Gala' apple quality stored under ultralow oxygen concentration and low temperature conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 12, p. 1597-1602, 2011a.

WEBER, A., BRACKMANN, A., BOTH, V., PAVANELLO, E. P., ANESE, R. O., SCHORR, M. R. Ethanol reduces ripening of 'Royal Gala' apples stored in controlled atmosphere. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 1, p. 403-410, 2016.

WEBER, A., BRACKMANN, A., de OLIVEIRA ANESE, R., BOTH, V., PAVANELLO, E. P. Atmosfera controlada para o armazenamento da maçã 'Maxi Gala'. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 2, p. 294-301, 2013.

WEBER, A.; BRACKMANN, A.; ANESE, R. O.; BOTH, V.; PAVANELLO, E. P. Atmosfera controlada para armazenamento de maçã Maxi Gala. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 2, p. 294-301, 2013.

WILLS, R. B. (2015). Low ethylene technology in non-optimal storage temperatures. In R. B. H. Wills & J. Golding (Eds.), **Advances in postharvest fruit and vegetable technology** (pp. 167–190). Boca Raton: CRC Press.

WILLS, R. B.; GOLDING, J. B. Reduction of energy usage in postharvest horticulture through management of ethylene. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.95, n.7, p.1379–1384, 2015.

WRIGHT, A. H., DELONG, J. M., GUNAWARDENA, A. H., & PRANGE, R. K. Dynamic controlled atmosphere (DCA): Does fluorescence reflect physiology in storage? **Postharvest Biology and Technology**, v. 64, n. 1, p. 19-30, 2012.

WRIGHT, A.H.; DeLONG, J.M.; ARUL, J.; PRANGE, R.K. The trend toward lower oxygen levels during apple (*Malus × domestica* Borkh) storage - A review. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 90, n. 1, p. 1-13, 2015.

WRIGHT, A.H.; DeLONG, J.M.; FRANKLIN, J.L.; LADA, R.R.; PRANGE, R.K. A new minimum fluorescence parameter, as generated using pulse frequency modulation, compared with pulse amplitude modulation: F_a versus F_o. **Photosynthesis research**, v. 97, n. 3, p. 205-214, 2008.

WRIGHT, A.H.; DeLONG, J.M.; GUNAWARDENA, A.H.; PRANGE, R. K. The interrelationship between the lower oxygen limit, chlorophyll fluorescence and the xanthophyll cycle in plants. **Photosynthesis research**, v. 107, n. 3, p. 223-235, 2011.

WRIGHT, A.H.; DELONG, J.M.; GUNAWARDENA, A.H.L.A.N.; PRANGE, R.K. Dynamic controlled atmosphere (DCA): Does fluorescence reflect physiology in storage? **Postharvest Biology and Technology**, v. 64, n. 1, p. 19-30, 2012.

WRIGHT, H., DeLONG, J., HARRISON, P. A., GUNAWARDENA, A. H., PRANGE, R. The effect of temperature and other factors on chlorophyll a fluorescence and the lower oxygen limit in apples (*Malus domestica*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, n. 1, p. 21-28, 2010.

XUAN, H.; STREIF, J. Effect of 1-MCP on the respiration and ethylene production as well as on the formation of aroma volatiles in 'Jonagold' apple during the storage. *Acta Hort.* 682, 1203–1210, 2005.

YOSHIDA, S. Low-temperature-induced cytoplasmic acidosis in cultured Mung bean (*Vigna radiata* [L.] Wilczek) cells. **Plant Physiol.** v.104, p.1131–1138, 1994.

YOSHIDA, S., HOTSUBO, K., KAWAMURA, Y., MURAI, M., ARAKAWA, K., TAKEZAWA, D. Alterations in intracellular pH in response to low temperature stress. **J. Plant Res.** v.112, p.225–236, 1999.

YOUNES, A.; STREIF, J. Effect of 1-MCP on the quality of 'Conference' pears. In: **Proc. Intern. Conf. Posth. Technol. Quality Management in Arid Tropics**, p. 315–318, 2005.

YOUNG, H., GILBERT, J. M., MURRAY, S. H., BALL, R. D. Causal effects of aroma compounds on Royal Gala apple flavours. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 71, n. 3, p. 329-336, 1996.

YOUNG, J.C., CHU, C.G., LU, X., ZHU, H. Ester variability in apple varieties as determined by solid-phase microextraction and gas chromatography– mass spectrometry. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 26, p. 8086-8093, 2004.

ZANELLA, A. Control of apple superficial scald and ripening—a comparison between 1-methylcyclopropene and diphenylamine postharvest treatments, initial low oxygen stress and ultra-low oxygen storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, n. 1, p. 69-78, 2003.

ZANELLA, A.; CAZZANELLI, P.; PANARESE, A.; COSER, M.; CECCHINEL, M.; ROSSI, O. Fruit fluorescence response to low oxygen stress: modern storage technologies compared to 1-MCP treatment of apple. **Acta Hort.** 2005, 682, 1535–1542.

ZANELLA, A.; STÜRZ, S. Optimizing postharvest life of horticultural products by means of dynamic CA: fruit physiology controls atmosphere composition during storage. In: **XI International Controlled and Modified Atmosphere Research Conference 1071**. 2013. p. 59-68.

Bloco 2.

As referências deste bloco compreendem desde os **materiais e métodos** até a **conclusão**.

ABRIL, J.G.; RODRÍGUEZ-VERÁSTEGUI, L.L.; ARTÉS, F. Antioxidant capacity and total phenolic compounds changes in “Pero of Cehegín” apple stored in air and controlled atmosphere. **Acta Horticulturae**, vol. 1194, no. VIII International Postharvest Symposium: Enhancing Supply Chain and Consumer Benefits-Ethical and Technological Issues, p. 1011–1018, 2018. DOI 10.17660/actahortic.2018.1194.144.

ADYANTHAYA, Ishan; KWON, Young-In; APOSTOLIDIS, Emmanouil; SHETTY, Kalidas. APPLE POSTHARVEST PRESERVATION IS LINKED TO PHENOLIC CONTENT AND SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY. **Journal of Food Biochemistry**, vol. 33, no. 4, p. 535–556, 1 Aug.

2009. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2009.00236.x>.

ANESE, Rogerio de Oliveira; BRACKMANN, Auri; THEWES, Fabio Rodrigo; SCHULTZ, Erani Eliseu; DE GASPERIN, Adriano Roque. Mass loss by low relative humidity increases gas diffusion rates in apple flesh and allows the use of high CO₂ partial pressures during ultralow O₂ storage. **Scientia Horticulturae**, vol. 198, p. 414–423, 2016. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.12.015>.

ANESE, Rogerio de Oliveira; BRACKMANN, Auri; THEWES, Fabio Rodrigo; SCHULTZ, Erani Eliseu; LUDWIG, Vagner; WENDT, Lucas Mallmann; WAGNER, Roger; KLEIN, Bruna. Impact of dynamic controlled atmosphere storage and 1-methylcyclopropene treatment on quality and volatile organic compounds profile of ‘Galaxy’ apple. **Food Packaging and Shelf Life**, vol. 23, p. 100443, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100443>.

ANESE, Rogerio de Oliveira; BRACKMANN, Auri; WENDT, Lucas Mallmann; THEWES, Fabio Rodrigo; SCHULTZ, Erani Eliseu; LUDWIG, Vagner; BERGHETTI, Magno Roberto Pasquetti. Interaction of 1-methylcyclopropene, temperature and dynamic controlled atmosphere by respiratory quotient on ‘Galaxy’ apples storage. **Food Packaging and Shelf Life**, vol. 20, p. 100246, 2019. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.07.004>.

ANESE, Rogerio de Oliveira; THEWES, Fabio Rodrigo; BRACKMANN, Auri; SCHULTZ, Erani Eliseu; WAGNER, Roger; KLEIN, Bruna; BERGHETTI, Magno Roberto Pasquetti; WENDT, Lucas Mallmann. Growth regulators on quality traits and volatile organic compounds profile of ‘Royal Gala’ apple at harvest and after dynamic controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 164, p. 111158, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111158>.

ARGENTA, LUIZ CARLOS; VIEIRA, MARCELO JOSÉ; SOUZA, FRANCIELLE DE; PEREIRA, WALTER SÉRGIO PINTO; EDAGI, FERNANDO KAZUHIRO. DIAGNÓSTICO DA QUALIDADE DE MAÇÃS NO MERCADO VAREJISTA BRASILEIRO. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol. 37, no. 1, p. 48–63, 2015. DOI <https://doi.org/10.1590/0100-2945-047/14>.

BANANI, Houda; OLIVIERI, Leone; SANTORO, Karin; GARIBALDI, Angelo; GULLINO, Maria L; SPADARO, Davide. Thyme and Savory Essential Oil Efficacy and Induction of Resistance against Botrytis cinerea through Priming of Defense Responses in Apple. **Foods**, vol. 7, no. 2, 2018. <https://doi.org/10.3390/foods7020011>.

BANGERTH, Fritz K; SONG, Jun; STREIF, Josef. Physiological Impacts of Fruit Ripening and Storage Conditions on Aroma Volatile Formation in Apple and Strawberry Fruit: A Review. **HortScience horts**, Washington, DC, vol. 47, no. 1, p. 4–10, 2012. DOI 10.21273/HORTSCI.47.1.4.

BATT, Peter; SADLER, C. Consumer attitudes towards the labelling of apples. **Food Australia**, vol. 50, p. 449–450, 1 Sep. 1998.

BEAULIEU, John C; LEA, Jeanne M. Characterization and Semiquantitative Analysis of Volatiles in Seedless Watermelon Varieties Using Solid-Phase Microextraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 54, no. 20, p. 7789–7793, 1 Oct. 2006. DOI 10.1021/jf060663l.

BELLAVIA, Vincenzo; NATANGELO, Marco; FANELLI, Roberto; ROTILIO, Domenico. Analysis of Benzothiazole in Italian Wines Using Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 48, no. 4, p. 1239–1242, 1 Apr. 2000. DOI 10.1021/jf990634t.

BOLLING, Bradley W; CHEN, Ya-Yen; CHEN, C-Y. Oliver. Contributions of phenolics and added vitamin C to the antioxidant capacity of pomegranate and grape juices: synergism and

antagonism among constituents. **International Journal of Food Science & Technology**, vol. 48, no. 12, p. 2650–2658, 1 Dec. 2013. DOI <https://doi.org/10.1111/ijfs.12261>.

BOTH, Vanderlei; BRACKMANN, Auri; THEWES, Fabio Rodrigo; FERREIRA, Daniele de Freitas; WAGNER, Roger. Effect of storage under extremely low oxygen on the volatile composition of 'Royal Gala' apples. **Food Chemistry**, vol. 156, p. 50–57, 2014. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.094>.

BOTH, Vanderlei; BRACKMANN, Auri; THEWES, Fabio Rodrigo; WEBER, Anderson; SCHULTZ, Erani Eliseu; LUDWIG, Vagner. The influence of temperature and 1-MCP on quality attributes of 'Galaxy' apples stored in controlled atmosphere and dynamic controlled atmosphere. **Food Packaging and Shelf Life**, vol. 16, p. 168–177, 2018. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.010>.

BOTH, Vanderlei; THEWES, Fabio Rodrigo; BRACKMANN, Auri; DE OLIVEIRA ANESE, Rogerio; DE FREITAS FERREIRA, Daniele; WAGNER, Roger. Effects of dynamic controlled atmosphere by respiratory quotient on some quality parameters and volatile profile of 'Royal Gala' apple after long-term storage. **Food Chemistry**, vol. 215, p. 483–492, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.009>.

BRACKMANN, A.; WEBER, A.; BOTH, V. CO₂ PARTIAL PRESSURE FOR RESPIRATORY QUOTIENT AND HARVESTWATCH™ DYNAMIC CONTROLLED ATMOSPHERE FOR "GALAXY" APPLES STORAGE. **Acta Horticulturae**, vol. 1079, p. 435–440, 2015. DOI <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1079.56>.

BRACKMANN, Auri; ARGENTA, LC; MAZARO, Sérgio. CONCENTRAÇÕES DE O₂ E CO₂ NA QUALIDADE DE MAÇÃS (*Malus domestica* Bork) CV. GALA, ARMAZENADAS A 0,5° E 2,5°C. **Revista Brasileira de Agrociência**, vol. 2, no. 1, p. 51–56, 1996. DOI [HTTPS://DOI.ORG/10.18539/CAST.V2I1.152](https://doi.org/10.18539/CAST.V2I1.152).

BRACKMANN, Auri; PINTO, Josuel Alfredo Vilela; STEFFENS, Cristiano André; GUARIENTI, Affonso José Wietzke; GIEHL, Ricardo Fabiano Hettwer; SESTARI, Ivan. Consequência da umidade relativa durante o armazenamento refrigerado e em atmosfera controlada na qualidade da maçã 'Gala.' **Ciência Rural**, vol. 35, no. 5, p. 1197–1200, 2005. DOI <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000500034>.

BRACKMANN, Auri; SAQUET, AA. Low ethylene and rapid CA storage of "Gala" apples. **ISHS Acta Horticulturae 485: International Symposium Effect of Pre- & Postharvest factors in Fruit Storage**, vol. 485, p. 79–84, 1999. DOI <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.485.9>.

BRACKMANN, Auri; STEFFENS, Cristiano André; NEUWALD, Daniel Alexandre; MELLO, Anderson M de. Armazenamento de maçã "Royal Gala" sob diferentes concentrações de etileno. **Revista Brasileira de Agrociência**, vol. 6, no. 1, p. 39–41, 2000. DOI [HTTPS://DOI.ORG/10.18539/CAST.V6I1.305](https://doi.org/10.18539/CAST.V6I1.305).

BRACKMANN, Auri; STEFFENS, Cristiano André; NEUWALD, Daniel Alexandre; SESTARI, Ivan. Armazenamento de maçã 'Gala' em atmosfera controlada com remoção de etileno. **Ciência Rural**, vol. 33, no. 4, p. 647–650, 2003.

BRACKMANN, Auri; STREIF, J; BANGERTH, F. Relationship between a Reduced Aroma Production and Lipid Metabolism of Apples after Long-term Controlled-atmosphere Storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science** jashs, Washington, DC, vol. 118, no. 2, p. 243–247, 1993. DOI 10.21273/JASHS.118.2.243.

BRAND-WILLIAMS; CUVÉLIER, M E; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Food Sci. Technol.**, vol. 28, p. 25–30, 1995. <https://doi.org/10.1016/S0023->

BRIZZOLARA, Stefano; SANTUCCI, Claudio; TENORI, Leonardo; HERTOOG, Maarten; NICOLAI, Bart; STÜRZ, Stefan; ZANELLA, Angelo; TONUTTI, Pietro. A metabolomics approach to elucidate apple fruit responses to static and dynamic controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 127, p. 76–87, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.008>.

BUTKHUP, Luchai; JEENPHAKDEE, Montri; JORJONG, Sujitar; SAMAPPITO, Supachai; SAMAPPITO, Wannee; CHOWTIVANNAKUL, Sawitree. HS-SPME-GC-MS analysis of volatile aromatic compounds in alcohol related beverages made with mulberry fruits. **Food Science and Biotechnology**, vol. 20, no. 4, p. 1021, 2011. DOI 10.1007/s10068-011-0140-4.

CAI, Hongfang; HAN, Shuai; JIANG, Li; YU, Mingliang; MA, Ruijuan; YU, Zhifang. 1-MCP treatment affects peach fruit aroma metabolism as revealed by transcriptomics and metabolite analyses. **Food Research International**, vol. 122, p. 573–584, 2019. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.026>.

CANO, M.Pilar; DE ANCOS, Begoña; MATAALLANA, M.Cruz; CÁMARA, Montaña; REGLERO, Guillermo; TABERA, Javier. Differences among Spanish and Latin-American banana cultivars: morphological, chemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, vol. 59, no. 3, p. 411–419, 1997. DOI [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00285-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00285-3).

CONTRERAS, Carolina; BEAUDRY, Randolph. Lipoxxygenase-associated apple volatiles and their relationship with aroma perception during ripening. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 82, p. 28–38, 2013. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.02.006>.

DANDEKAR, Abhaya M; TEO, Gianni; DEFILIPPI, Bruno G; URATSU, Sandra L; PASSEY, Andrew J; KADER, Adel A; STOW, John R; COLGAN, Richard J; JAMES, David J. Effect of Down-Regulation of Ethylene Biosynthesis on Fruit Flavor Complex in Apple Fruit. **Transgenic Research**, vol. 13, no. 4, p. 373–384, 2004. DOI 10.1023/B:TRAG.0000040037.90435.45.

DE CASTRO, Elena; BARRETT, Diane M; JOBLING, Jennifer; MITCHAM, Elizabeth J. Biochemical factors associated with a CO₂-induced flesh browning disorder of Pink Lady apples. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 48, no. 2, p. 182–191, 2008. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.027>.

DEUTCH, Charles E. Browning in apples: Exploring the biochemical basis of an easily-observable phenotype. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, vol. 46, no. 1, p. 76–82, 1 Jan. 2018. DOI <https://doi.org/10.1002/bmb.21083>.

DIXON, Jonathan; HEWETT, Errol W. Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration: A Review. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, vol. 28, no. 3, p. 155–173, 1 Sep. 2000. DOI 10.1080/01140671.2000.9514136.

DJOJOPUTRO, Hiannie; ISMADJI, Suryadi. Density and Viscosity Correlation for Several Common Fragrance and Flavor Esters. **Journal of Chemical & Engineering Data**, vol. 50, no. 2, p. 727–731, 1 Mar. 2005. DOI 10.1021/je050001c.

DONADEL, Jossie Zamperetti; THEWES, Fabio Rodrigo; ANESE, Rogerio de Oliveira; SCHULTZ, Erani Eliseu; BERGHETTI, Magno Roberto Pasquetti; LUDWIG, Vagner; KLEIN, Bruna; CICHOSKI, Alexandre José; BARIN, Juliano Smaniotto; BOTH, Vanderlei; BRACKMANN, Auri; WAGNER, Roger. Key volatile compounds of ‘Fuji Kiku’ apples as affected by the storage conditions and shelf life: Correlation between volatile emission by intact fruit and juice extracted from the fruit. **Food Research International**, vol. 125, p. 108625, 2019. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108625>.

DURALIJA, Boris; PUTNIK, Predrag; BRDAR, Dora; BEBEK MARKOVINOVIĆ, Anica; ZAVADLAV, Sandra; PATEIRO, Mirian; DOMÍNGUEZ, Rubén; LORENZO, José M; BURSAC KOVAČEVIĆ, Danijela. The Perspective of Croatian Old Apple Cultivars in Extensive Farming for the Production of Functional Foods. **Foods**, vol. 10, no. 4, 2021. <https://doi.org/10.3390/foods10040708>.

ECHEVERRÍA, G; GRAELL, J; LÓPEZ, M L; LARA, I. Volatile production, quality and aroma-related enzyme activities during maturation of 'Fuji' apples. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 31, no. 3, p. 217–227, 2004. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.003>.

ESPINO-DÍAZ, Miguel; SEPÚLVEDA, David Roberto; GONZÁLEZ-AGUILAR, Gustavo; OLIVAS, Guadalupe I. Biochemistry of Apple Aroma: A Review. **Food technology and biotechnology**, vol. 54, no. 4, p. 375–397, Dec. 2016. DOI 10.17113/ftb.54.04.16.4248.

FAZLE RABBEH, Muhammad; BAEK, Kwang-Hyun. Antimicrobial Activities of Lipopeptides and Polyketides of *Bacillus velezensis* for Agricultural Applications. **Molecules**, vol. 25, no. 21, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25214973>.

FELLMAN, JK; MILLER, TW; MATTINSON, DS. Factors that influence biosynthesis of volatiles flavor compounds in apple fruit. **HortScience**, vol. 35, p. 1026–1033, 2000. <https://doi.org/doi:https://doi.org/10.21273/HORTSCI.32.3.554C>.

FELLNER, Markus. **Gärstoffuntersuchungen beim Apfel**. [S. l.: s. n.], 2010. Available at: https://www.agrar.steiermark.at/cms/dokumente/11305333_13888112/b2f734ee/2010-01_Gärstoffuntersuchungen_beim_Apfel.pdf.

FERENCZI, Alejandra; SUGIMOTO, Nobuko; BEAUDRY, Randolph M. Emission Patterns of Esters and Their Precursors Throughout Ripening and Senescence in 'Redchief Delicious' Apple Fruit and Implications Regarding Biosynthesis and Aroma Perception. **Journal of the American Society for Horticultural Science J. Amer. Soc. Hort. Sci.**, Washington, DC, vol. 146, no. 5, p. 297–328, 2021. DOI 10.21273/JASHS05064-21.

FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J Pablo; NOCK, Jacqueline F; WATKINS, Christopher B. Fermentative Metabolism and Organic Acid Concentrations in Fruit of Selected Strawberry Cultivars with Different Tolerances to Carbon Dioxide. **Journal of the American Society for Horticultural Science jashs**, Washington, DC, vol. 124, no. 6, p. 696–701, 1999. DOI 10.21273/JASHS.124.6.696.

FLOEGEL, Anna; KIM, Dae-Ok; CHUNG, Sang-Jin; KOO, Sung I; CHUN, Ock K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, vol. 24, no. 7, p. 1043–1048, 2011. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>.

FRANCK, Christine; LAMMERTYN, Jeroen; HO, Quang Tri; VERBOVEN, Pieter; VERLINDEN, Bert; NICOLAÏ, Bart M. Browning disorders in pear fruit. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 43, no. 1, p. 1–13, 2007. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.08.008>.

GAGO, Custódia M L; GUERREIRO, Adriana C; MIGUEL, Graça; PANAGOPOULOS, Thomas; SÁNCHEZ, Claudia; ANTUNES, Maria D C. Effect of harvest date and 1-MCP (SmartFresh™) treatment on 'Golden Delicious' apple cold storage physiological disorders. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 110, p. 77–85, 2015. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.018>.

GAO, Haiyan; LI, Peizhong; XU, Xinxing; ZENG, Qing; GUAN, Wenqiang. Research on Volatile

Organic Compounds From *Bacillus subtilis* CF-3: Biocontrol Effects on Fruit Fungal Pathogens and Dynamic Changes During Fermentation. **Frontiers in Microbiology**, vol. 9, p. 456, 2018.

GAO, Zhenfeng; ZHANG, Baojun; LIU, Huiping; HAN, Jucai; ZHANG, Yongjie. Identification of endophytic *Bacillus velezensis* ZSY-1 strain and antifungal activity of its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, vol. 105, p. 27–39, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.11.007>.

GEIGENBERGER, P; FERNIE, A R; GIBON, Y; CHRIST, M; STITT, M. Metabolic Activity Decreases as an Adaptive Response to Low Internal Oxygen in Growing Potato Tubers. vol. 381, no. 8, p. 723–740, 2000. DOI [doi:10.1515/BC.2000.093](https://doi.org/10.1515/BC.2000.093).

GUO, Yafang; BASCHIERI, Andrea; AMORATI, Riccardo; VALGIMIGLI, Luca. Synergic antioxidant activity of γ -terpinene with phenols and polyphenols enabled by hydroperoxyl radicals. **Food Chemistry**, vol. 345, p. 128468, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128468>.

HAN, Qianyun; LIU, Fang; HAO, Yanling; NI, Yuanying. Characterization of membrane-bound polyphenol oxidase from Granny Smith apple (*Malus × domestica* Borkh.). **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 158, p. 977–984, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.225>.

HARB, Jamil; GAPPER, Nigel E; GIOVANNONI, James J; WATKINS, Chris B. Molecular analysis of softening and ethylene synthesis and signaling pathways in a non-softening apple cultivar, ‘Honeycrisp’ and a rapidly softening cultivar, ‘McIntosh.’ **Postharvest Biology and Technology**, vol. 64, no. 1, p. 94–103, 2012. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.10.001>.

HARKER, F Roger; KUPFERMAN, Eugene M; MARIN, Anna B; GUNSON, F Anne; TRIGGS, Christopher M. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 50, no. 1, p. 70–78, 2008. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.03.020>.

HERREMANS, Els; VERBOVEN, Pieter; BONGAERS, Evi; ESTRADE, Pascal; VERLINDEN, Bert E; WEVERS, Martine; HERTOOG, Maarten L.A.T.M.; NICOLAI, Bart M. Characterisation of ‘Braeburn’ browning disorder by means of X-ray micro-CT. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 75, p. 114–124, 2013. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.08.008>.

HO, Quang Tri; VERBOVEN, Pieter; VERLINDEN, Bert E; SCHENK, Ann; NICOLAÏ, Bart M. Controlled atmosphere storage may lead to local ATP deficiency in apple. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 78, p. 103–112, 2013. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.12.014>.

HU, Bingxue; SUN, Da-Wen; PU, Hongbin; WEI, Qingyi. Recent advances in detecting and regulating ethylene concentrations for shelf-life extension and maturity control of fruit: A review. **Trends in Food Science & Technology**, vol. 91, p. 66–82, 2019. DOI <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.010>.

INGHAM, Lindsay M; PARKER, Mary L; WALDRON, Keith W. Peroxidase: Changes in soluble and bound forms during maturation and ripening of apples. **Physiologia Plantarum**, vol. 102, no. 1, p. 93–100, 1 Jan. 1998. DOI <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1020113.x>.

ISMOND, Kathleen P; DOLFERUS, Rudy; DE PAUW, Mary; DENNIS, Elizabeth S; GOOD, Allen G. Enhanced Low Oxygen Survival in *Arabidopsis* through Increased Metabolic Flux in the Fermentative Pathway. **Plant Physiology**, vol. 132, no. 3, p. 1292–1302, 1 Jul. 2003. DOI [10.1104/pp.103.022244](https://doi.org/10.1104/pp.103.022244).

JAKOBEK, Lidija; GARCÍA-VILLALBA, Rocio; TOMÁS-BARBERÁN, Francisco A. Polyphenolic

characterisation of old local apple varieties from Southeastern European region. **Journal of Food Composition and Analysis**, vol. 31, no. 2, p. 199–211, 2013. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.05.012>.

JU, Zhiguo; BRAMLAGE, William J. Cuticular Phenolics and Scald Development in 'Delicious' Apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science** *jashs*, Washington, DC, vol. 125, no. 4, p. 498–504, 2000. DOI 10.21273/JASHS.125.4.498.

JU, Zhiguo; BRAMLAGE, William J. Phenolics and lipid-soluble antioxidants in fruit cuticle of apples and their antioxidant activities in model systems. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 16, no. 2, p. 107–118, 1999. DOI [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(99\)00006-X](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(99)00006-X).

JUNG, Seok-Kyu; WATKINS, Christopher B. Involvement of ethylene in browning development of controlled atmosphere-stored 'Empire' apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 59, no. 3, p. 219–226, 2011. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.08.019>.

KAWHENA, Tatenda G; FAWOLE, Olaniyi A; OPARA, Umezuruike L. Application of Dynamic Controlled Atmosphere Technologies to Reduce Incidence of Physiological Disorders and Maintain Quality of 'Granny Smith' Apples. **Agriculture**, vol. 11, no. 6, 2021. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060491>.

KE, Dangyang; RODRIGUEZ-SINOBAS, Leonor; KADER, Adel A. Physiology and Prediction of Fruit Tolerance to Low-oxygen Atmospheres. **Journal of the American Society for Horticultural Science** *jashs*, Washington, DC, vol. 116, no. 2, p. 253–260, 1991. DOI 10.21273/JASHS.116.2.253.

KERI, Rangappa S; PATIL, Mahadeo R; PATIL, Siddappa A; BUDAGUMPI, Srinivasa. A comprehensive review in current developments of benzothiazole-based molecules in medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, vol. 89, p. 207–251, 2015. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.10.059>.

KIM, Seong Mi; LEE, Sang Mi; SEO, Jeong-Ah; KIM, Young-Suk. Changes in volatile compounds emitted by fungal pathogen spoilage of apples during decay. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 146, p. 51–59, 2018. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.08.003>.

KLEIN, Bruna; RIBEIRO, Quellen Machado; THEWES, Fabio Rodrigo; ANESE, Rogerio de Oliveira; OLIVEIRA, Fernanda de Candido de; SANTOS, Ingrid Duarte dos; RIBEIRO, Stephanie Reis; DONADEL, Jossiê Zamperetti; BRACKMANN, Auri; BARIN, Juliano Smanioto; CICHOSKI, Alexandre José; WAGNER, Roger. The isolated or combined effects of dynamic controlled atmosphere (DCA) and 1-MCP on the chemical composition of cuticular wax and metabolism of 'Maxi Gala' apples after long-term storage. **Food Research International**, vol. 140, p. 109900, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109900>.

KOMTHONG, Pongsuriya; HAYAKAWA, Shoichi; KATOH, Tatsuo; IGURA, Noriyuki; SHIMODA, Mitsuya. Determination of potent odorants in apple by headspace gas dilution analysis. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 39, no. 5, p. 472–478, 2006. DOI <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.03.003>.

KOUSHESH SABA, Mahmoud; WATKINS, Christopher B. Flesh browning development of 'Empire' apple during a shelf life period after 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment and controlled atmosphere storage. **Scientia Horticulturae**, vol. 261, p. 108938, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108938>.

LACEY, Randy F; BINDER, Brad M. How plants sense ethylene gas — The ethylene receptors. **Journal of Inorganic Biochemistry**, vol. 133, p. 58–62, 2014. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.01.006>.

LARSEN, Mette; POLL, Leif. Odour thresholds of some important aroma compounds in strawberries. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, vol. 195, no. 2, p. 120–123, 1992. DOI 10.1007/BF01201770. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF01201770>.

LEE, J; RUDELL, D R; DAVIES, P J; WATKINS, C B. Metabolic changes in 1-methylcyclopropene (1-MCP)-treated “Empire” apple fruit during storage. **Metabolomics**, vol. 8, no. 4, p. 742–753, 2012. DOI 10.1007/s11306-011-0373-5.

LEE, Jinwook; MATTHEIS, James P; RUDELL, David R. High Storage Humidity Affects Fruit Quality Attributes and Incidence of Fruit Cracking in Cold-stored ‘Royal Gala’ Apples. **HortScience horts**, Washington, DC, vol. 54, no. 1, p. 149–154, 2019. DOI 10.21273/HORTSCI13406-18.

LEFFINGWELL, John C; LEFFINGWELL, Diane. GRAS Flavor Chemicals— Detection Thresholds. **Perfumer & Flavorist**, vol. 16, p. 2–19, 1991. Available at: [http://leffingwell.com/GRAS Flavor Chemicals.pdf](http://leffingwell.com/GRAS%20Flavor%20Chemicals.pdf).

LEJA, M; MARECZEK, A; BEN, J. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. **Food Chemistry**, vol. 80, no. 3, p. 303–307, 2003. DOI [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00263-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00263-7).

LI, Tong; XU, Yaxiu; ZHANG, Lichao; JI, Yinglin; TAN, Dongmei; YUAN, Hui; WANG, Aide. The Jasmonate-Activated Transcription Factor MdMYC2 Regulates ETHYLENE RESPONSE FACTOR and Ethylene Biosynthetic Genes to Promote Ethylene Biosynthesis during Apple Fruit Ripening. **The Plant Cell**, vol. 29, no. 6, p. 1316–1334, 1 Jun. 2017. DOI 10.1105/tpc.17.00349.

LIU, Cuihua; LIU, Xiaoran; TIAN, Xiaoning; ZHANG, Jing; ZHANG, Zhanfeng; SHI, Jinrui; XU, Juan; REN, Xiaolin. Determination of volatile profiles inside apple fruit storage facilities using Monotrap™ monolithic silica adsorbent and GC–MS. **Horticultural Plant Journal**, vol. 7, no. 4, p. 267–274, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2020.12.003>.

LIU, Ye; HE, Congcong; SONG, HuanLu. Comparison of SPME Versus SAFE Processes for the Analysis of Flavor Compounds in Watermelon Juice. **Food Analytical Methods**, vol. 11, no. 6, p. 1677–1689, 2018. DOI 10.1007/s12161-018-1153-x.

LÓPEZ, M L; VILLATORO, C; FUENTES, T; GRAELL, J; LARA, I; ECHEVERRÍA, G. Volatile compounds, quality parameters and consumer acceptance of ‘Pink Lady®’ apples stored in different conditions. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 43, no. 1, p. 55–66, 2007. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.07.009>.

LU, Xin-gang; MA, Yan-ping; LIU, Xing-hua. Lu, X. G., Ma, Y. P., & Liu, X. H. (2012). Effects of maturity and 1-MCP treatment on postharvest quality and antioxidant properties of ‘Fuji’ apples during long-term cold storage. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, vol. 53, no. 5, p. 378–386, 2012. DOI 10.1007/s13580-012-0102-7.

LU, Xingang; MENG, Guanli; JIN, Wengang; GAO, Hui. Effects of 1-MCP in combination with Ca application on aroma volatiles production and softening of ‘Fuji’ apple fruit. **Scientia Horticulturae**, vol. 229, p. 91–98, 2018. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.033>.

LUMPKIN, Christie; FELLMAN, John K; RUDELL, David R; MATTHEIS, James P. ‘Fuji’ apple (*Malus domestica* Borkh.) volatile production during high pCO₂ controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 100, p. 234–243, 2015. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.10.008>.

MA, Lijing; HE, Junhua; LIU, Huan; ZHOU, Huiling. The phenylpropanoid pathway affects apple

fruit resistance to *Botrytis cinerea*. **Journal of Phytopathology**, vol. 166, no. 3, p. 206–215, 1 Mar. 2018. DOI <https://doi.org/10.1111/jph.12677>.

MA, Yurong; BAN, Qingfeng; SHI, Jingying; DONG, Tiantian; JIANG, Cai-Zhong; WANG, Qingguo. 1-Methylcyclopropene (1-MCP), storage time, and shelf life and temperature affect phenolic compounds and antioxidant activity of ‘Jonagold’ apple. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 150, p. 71–79, 2019. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.12.015>.

MAZZURANA, ELIS REGINA; ARGENTA, LUIZ CARLOS; AMARANTE, CASSANDRO VIDAL TALAMINI DO; STEFFENS, CRISTIANO ANDRÉ. POTENCIAIS BENEFÍCIOS DO AUMENTO DA TEMPERATURA DE ARMAZENAGEM EM ATMOSFERA CONTROLADA DE MAÇÃS ‘GALA’ TRATADAS COM 1-MCP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol. 38, no. 1, p. 43–52, 2016. DOI <https://doi.org/10.1590/0100-2945-237/14>.

MDITSHWA, Asanda; FAWOLE, Olaniyi Amos; OPARA, Umezuruike Linus. Recent developments on dynamic controlled atmosphere storage of apples—A review. **Food Packaging and Shelf Life**, vol. 16, p. 59–68, 2018. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.011>.

MDITSHWA, Asanda; FAWOLE, Olaniyi Amos; VRIES, Filicity; VAN DER MERWE, Kobus; CROUCH, Elke; OPARA, Umezuruike Linus. Impact of dynamic controlled atmospheres on reactive oxygen species, antioxidant capacity and phytochemical properties of apple peel (cv. Granny Smith). **Scientia Horticulturae**, vol. 216, p. 169–176, 2017a. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.011>.

MDITSHWA, Asanda; FAWOLE, Olaniyi Amos; VRIES, Filicity; VAN DER MERWE, Kobus; CROUCH, Elke; OPARA, Umezuruike Linus. Minimum exposure period for dynamic controlled atmospheres to control superficial scald in ‘Granny Smith’ apples for long distance supply chains. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 127, p. 27–34, 2017b. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.12.009>.

MDITSHWA, Asanda; FAWOLE, Olaniyi Amos; VRIES, Filicity; VAN DER MERWE, Kobus; CROUCH, Elke; OPARA, Umezuruike Linus. Repeated application of dynamic controlled atmospheres reduced superficial scald incidence in ‘Granny Smith’ apples. **Scientia Horticulturae**, vol. 220, p. 168–175, 2017c. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.04.003>.

MELO, Anderson Adriano Martins; BOAS, Eduardo Valério de Barros Vilas; JUSTO, Cristina Filomena. Uso de aditivos químicos para a conservação pós-colheita de banana “Maçã” minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol. 33, no. 1, p. 228–236, 2009.

NGUYEN, Hue; CAMPI, Eva M; ROY JACKSON, W; PATTI, Antonio F. Effect of oxidative deterioration on flavour and aroma components of lemon oil. **Food Chemistry**, vol. 112, no. 2, p. 388–393, 2009. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.090>.

OPARA, L U; STUDMAN, C J; BANKS, N H. Physico-mechanical Properties of “Gala” apples and Stem-end Splitting as Influenced by Orchard Management Practices and Harvest Date. **Journal of Agricultural Engineering Research**, vol. 68, no. 2, p. 139–146, 1997. DOI <https://doi.org/10.1006/jaer.1997.0190>.

ORTIZ, Abel; GRAELL, Jordi; LARA, Isabel. Cell wall-modifying enzymes and firmness loss in ripening ‘Golden Reinders’ apples: A comparison between calcium dips and ULO storage. **Food Chemistry**, vol. 128, no. 4, p. 1072–1079, 2011. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.016>.

PEDRESCHI, Romina; FRANCK, Christine; LAMMERTYN, Jeroen; ERBAN, Alexander; KOPKA, Joachim; HERTOOG, Maarten; VERLINDEN, Bert; NICOLAÏ, Bart. Metabolic profiling of

'Conference' pears under low oxygen stress. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 51, no. 2, p. 123–130, 2009. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.05.019>.

PESIS, Edna. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 37, no. 1, p. 1–19, 2005. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.03.001>.

PIRETTI, M V; GALLERANI, G; BRODNIK, U. Polyphenol polymerisation involvement in apple superficial scald. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 8, no. 1, p. 11–18, 1996. DOI [https://doi.org/10.1016/0925-5214\(95\)00056-9](https://doi.org/10.1016/0925-5214(95)00056-9).

PRANGE, Robert; DELONG, John; HARRISON, Peter; LEYTE, Jerry; MCLEAN, Scott Donald; SCRUTTON, Jeffrey Garrett Edmund; CULLEN, John Joseph. **Method and apparatus for Monitoring a condition in Chlorophyll containing matter**. [S. l.: s. n.], 2007.

QI, Ying; LI, Chunli; LI, Hao; YANG, Huaming; GUAN, Junfeng. Elimination or Removal of Ethylene for Fruit and Vegetable Storage via Low-Temperature Catalytic Oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 69, no. 36, p. 10419–10439, 15 Sep. 2021. DOI [10.1021/acs.jafc.1c02868](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c02868).

RABBE, Muhammad Fazle; ALI, Md Sarafat; CHOI, Jinhee; HWANG, Buyng Su; JEONG, Sang Chul; BAEK, Kwang-Hyun. *Bacillus velezensis*: A Valuable Member of Bioactive Molecules within Plant Microbiomes. **Molecules (Basel, Switzerland)**, vol. 24, no. 6, p. 1046, 16 Mar. 2019. DOI [10.3390/molecules24061046](https://doi.org/10.3390/molecules24061046).

RAFFO, Antonio; KELDERER, Markus; PAOLETTI, Flavio; ZANELLA, Angelo. Impact of Innovative Controlled Atmosphere Storage Technologies and Postharvest Treatments on Volatile Compound Production in Cv. Pinova Apples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 57, no. 3, p. 915–923, 11 Feb. 2009. DOI [10.1021/jf802054y](https://doi.org/10.1021/jf802054y).

REIS, Sofia F A R; ROCHA, Sílvia M; BARROS, António S; DELGADILLO, Ivonne; COIMBRA, Manuel A. Establishment of the volatile profile of 'Bravo de Esmolfe' apple variety and identification of varietal markers. **Food Chemistry**, vol. 113, no. 2, p. 513–521, 2009. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.093>.

RICHARD-FORGET, Florence C; GAUILLARD, Frédéric A. Oxidation of Chlorogenic Acid, Catechins, and 4-Methylcatechol in Model Solutions by Combinations of Pear (*Pyrus communis* Cv. Williams) Polyphenol Oxidase and Peroxidase: A Possible Involvement of Peroxidase in Enzymatic Browning. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 45, no. 7, p. 2472–2476, 1 Jul. 1997. DOI [10.1021/jf970042f](https://doi.org/10.1021/jf970042f).

RITENOUR, M A; AHRENS, M J; SALTVEIT, M E. Effects of Temperature on Ethylene-induced Phenylalanine Ammonia Lyase Activity and Russet Spotting in Harvested Iceberg Lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science** jashs, Washington, DC, vol. 120, no. 1, p. 84–87, 1995. DOI [10.21273/JASHS.120.1.84](https://doi.org/10.21273/JASHS.120.1.84).

ROBERTS, J K; CALLIS, J; JARDETZKY, O; WALBOT, V; FREELING, M. Cytoplasmic acidosis as a determinant of flooding intolerance in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 81, no. 19, p. 6029 LP – 6033, 1 Oct. 1984. DOI [10.1073/pnas.81.19.6029](https://doi.org/10.1073/pnas.81.19.6029).

RUX, G; BOHNE, K; HUYSKENS-KEIL, S; ULRICH, Ch.; HASSENBERG, K; HERPPICH, W B. Effects of modified atmosphere and sugar immersion on physiology and quality of fresh-cut "Braeburn" apples. **Food Packaging and Shelf Life**, vol. 29, p. 100726, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100726>.

SADAR, N; URBANEK KRAJNC, A; TOJNKO, S; TIJSKENS, L M M; SCHOUTEN, R E; UNUK,

T. Development and distribution of quality related compounds in apples during growth. **Scientia Horticulturae**, vol. 213, p. 222–231, 2016. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.10.038>.

SALES, Adones; FELIPE, Lorena de Oliveira; BICAS, Juliano Lemos. Production, Properties, and Applications of α -Terpineol. **Food and Bioprocess Technology**, vol. 13, no. 8, p. 1261–1279, 2020. DOI 10.1007/s11947-020-02461-6.

SAQUET, A.A.; STREIF, J. Fermentative metabolism in ‘Jonagold’ apples under controlled atmosphere storage. **European Journal of Horticultural Science**, vol. 73, no. 1, p. 43–46, 2008.

SAQUET, A A; STREIF, J; BANGERTH, F. Changes in ATP, ADP and pyridine nucleotide levels related to the incidence of physiological disorders in ‘Conference’ pears and ‘Jonagold’ apples during controlled atmosphere storage. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, vol. 75, no. 2, p. 243–249, 1 Jan. 2000. DOI 10.1080/14620316.2000.11511231.

SCHAFFER, Robert J; FRIEL, Ellen N; SOULEYRE, Edwige J F; BOLITHO, Karen; THODEY, Kate; LEDGER, Susan; BOWEN, Judith H; MA, Jun-Hong; NAIN, Bhawana; COHEN, Daniel; GLEAVE, Andrew P; CROWHURST, Ross N; JANSSEN, Bart J; YAO, Jia-Long; NEWCOMB, Richard D. A Genomics Approach Reveals That Aroma Production in Apple Is Controlled by Ethylene Predominantly at the Final Step in Each Biosynthetic Pathway. **Plant Physiology**, vol. 144, no. 4, p. 1899–1912, 1 Aug. 2007. DOI 10.1104/pp.106.093765.

SCHMIDT, Suele Fernanda Prediger; SCHULTZ, Erani Elizeu; LUDWIG, Vagner; BERGHETTI, Magno Roberto Pasquetti; THEWES, Fabio Rodrigo; ANESE, Rogerio de Oliveira; BOTH, Vanderlei; BRACKMANN, Auri. Volatile compounds and overall quality of ‘Braeburn’ apples after long-term storage: Interaction of innovative storage technologies and 1-MCP treatment. **Scientia Horticulturae**, vol. 262, p. 109039, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109039>.

SCHWARZ, A. RELATIVE HUMIDITY IN COOL STORES: MEASUREMENT, CONTROL AND INFLUENCE OF DISCREET FACTORS. **ISHS Acta Horticulturae**, vol. 368, p. 687–697, 1994. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.368.82>.

SIEGMUND, Barbara; PÖLLINGER-ZIERLER, Barbara. Growth Behavior of Off-Flavor-Forming Microorganisms in Apple Juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 55, no. 16, p. 6692–6699, 1 Aug. 2007. DOI 10.1021/jf070524j.

SIEGMUND, Barbara; PÖLLINGER-ZIERLER, Barbara. Odor Thresholds of Microbially Induced Off-Flavor Compounds in Apple Juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 54, no. 16, p. 5984–5989, 1 Aug. 2006. DOI 10.1021/jf060602n. Available at: <https://doi.org/10.1021/jf060602n>.

SISLER, E C; SEREK, M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Recent developments. **Physiologia Plantarum**, vol. 100, no. 3, p. 577–582, 1 Jul. 1997. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb03063.x>.

SONG, J; BANGERTH, F. Fatty acids as precursors for aroma volatile biosynthesis in pre-climacteric and climacteric apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 30, no. 2, p. 113–121, 2003. DOI [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00098-X](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00098-X).

STANGER, Mayara Cristiana; STEFFENS, Cristiano André; SOETHE, Cristina; MOREIRA, Marcelo Alves; DO AMARANTE, Cassandro Vidal Talamini; BOTH, Vanderlei; BRACKMANN, Auri. Phenolic compounds content and antioxidant activity of ‘Galaxy’ apples stored in dynamic controlled atmosphere and ultralow oxygen conditions. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 144, p. 70–76, 2018. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.05.014>.

STÜRZ, Barbara; ROSSI, Oswald; ZANELLA, Angelo. Aufspringen und mehliges Zerfall am Apfel

während der Lagerung. **Obstbau Weinbau Fachmagazin des Beratungsrings**, vol. 55, no. 5, 2018.

SUGIMOTO, Nobuko; ENGELGAU, Philip; JONES, A Daniel; SONG, Jun; BEAUDRY, Randolph. Citramalate synthase yields a biosynthetic pathway for isoleucine and straight- and branched-chain ester formation in ripening apple fruit. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 118, no. 3, p. e2009988118, 19 Jan. 2021. DOI 10.1073/pnas.2009988118.

SUN, Jie; CHU, Yi-Fang; WU, Xianzhong; LIU, Rui Hai. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 50, no. 25, p. 7449–7454, 1 Dec. 2002. DOI 10.1021/jf0207530.

SWAIN, T; HILLIS, W E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 10, no. 1, p. 63–68, 1 Jan. 1959. DOI <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo (Eds.). **Plant Physiology**. 3^o. [S. l.: s. n.], 2002.

TANG, Tiantian; XIE, Xinfang; REN, Xue; WANG, Wenjun; TANG, Xuanming; ZHANG, Jie; WANG, Zhidong. A difference of enzymatic browning unrelated to PPO from physiology, targeted metabolomics and gene expression analysis in Fuji apples. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 170, p. 111323, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111323>.

TESTEMPASIS, Stefanos; TANOU, Georgia; MINAS, Ioannis; SAMIOTAKI, Martina; MOLASSIOTIS, Athanassios; KARAOGLANIDIS, Georgios. Unraveling Interactions of the Necrotrophic Fungal Species *Botrytis cinerea* With 1-Methylcyclopropene or Ozone-Treated Apple Fruit Using Proteomic Analysis. **Frontiers in plant science**, vol. 12, p. 644255, 10 Mar. 2021. DOI 10.3389/fpls.2021.644255.

THEWES, Fabio Rodrigo; ANESE, Rogerio Oliveira; THEWES, Flavio Roberto; LUDWIG, Vagner; KLEIN, Bruna; WAGNER, Roger; NORA, Fabiana Roos; ROMBALDI, César Valmor; BRACKMANN, Auri. Dynamic controlled atmosphere (DCA) and 1-MCP: Impact on volatile esters synthesis and overall quality of ‘Galaxy’ apples. **Food Packaging and Shelf Life**, vol. 26, p. 100563, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100563>.

THEWES, Fabio Rodrigo; BOTH, Vanderlei; BRACKMANN, Auri; FERREIRA, Daniele de Freitas; WAGNER, Roger. 1-methylcyclopropene effects on volatile profile and quality of “Royal Gala” apples produced in Southern Brazil and stored in controlled atmosphere. **Ciência Rural**, vol. 45, no. 12, p. 2259–2266, 2015. DOI <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141613>.

THEWES, Fabio Rodrigo; BOTH, Vanderlei; BRACKMANN, Auri; WEBER, Anderson; DE OLIVEIRA ANESE, Rogerio. Dynamic controlled atmosphere and ultralow oxygen storage on ‘Gala’ mutants quality maintenance. **Food Chemistry**, vol. 188, p. 62–70, 2015. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.128>.

THEWES, Fabio Rodrigo; BRACKMANN, Auri; ANESE, Rogerio de Oliveira; LUDWIG, Vagner; SCHULTZ, Erani Eliseu; SANTOS, Luana Ferreira dos; WENDT, Lucas Mallmann. Effect of dynamic controlled atmosphere monitored by respiratory quotient and 1-methylcyclopropene on the metabolism and quality of ‘Galaxy’ apple harvested at three maturity stages. **Food Chemistry**, vol. 222, p. 84–93, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.009>.

THEWES, Fabio Rodrigo; BRACKMANN, Auri; BOTH, Vanderlei; WEBER, Anderson; ANESE, Rogerio de Oliveira; FERRÃO, Tassiane dos Santos; WAGNER, Roger. The different impacts of dynamic controlled atmosphere and controlled atmosphere storage in the quality attributes of ‘Fuji Suprema’ apples. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 130, p. 7–20, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.04.003>.

THEWES, Fabio Rodrigo; BRACKMANN, Auri; DE OLIVEIRA ANESE, Rogerio; BRONZATTO, Eduarda Spagnol; SCHULTZ, Erani Eliseu; WAGNER, Roger. Dynamic controlled atmosphere storage suppresses metabolism and enhances volatile concentrations of 'Galaxy' apple harvested at three maturity stages. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 127, p. 1–13, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.002>.

TOIVONEN, Peter M A; BRUMMELL, David A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 48, no. 1, p. 1–14, 2008. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.004>.

TOMÁS-BARBERÁN, Francisco A; ESPÍN, Juan Carlos. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 81, no. 9, p. 853–876, 1 Jul. 2001. DOI <https://doi.org/10.1002/jsfa.885>.

TRAN, Dinh T; VERLINDEN, Bert E; HERTOOG, Maarten; NICOLAÏ, Bart M. Monitoring of extremely low oxygen control atmosphere storage of 'Greenstar' apples using chlorophyll fluorescence. **Scientia Horticulturae**, vol. 184, p. 18–22, 2015. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.11.014>.

VAN DEN DOOL, H; DEC. KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, vol. 11, p. 463–471, 1963. DOI [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)80947-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X).

VERAVERBEKE, Els A; VERBOVEN, Pieter; VAN OOSTVELDT, Patrick; NICOLAÏ, Bart M. Prediction of moisture loss across the cuticle of apple (*Malus sylvestris* subsp. *mitis* (Wallr.)) during storage: part 2. Model simulations and practical applications. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 30, no. 1, p. 89–97, 2003. DOI [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00082-6](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00082-6).

WATKINS, Christopher B; NOCK, Jacqueline F. Rapid 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment and delayed controlled atmosphere storage of apples. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 69, p. 24–31, 2012. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.02.010>.

WEBER, Anderson; BRACKMANN, Auri; BOTH, Vanderlei; PAVANELLO, Elizandra Pivotto; ANESE, Rogério de Oliveira; THEWES, Fabio Rodrigo. Respiratory quotient: innovative method for monitoring 'Royal Gala' apple storage in a dynamic controlled atmosphere. **Scientia Agricola**, vol. 72, p. 28–33, 2015. DOI <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2013-0429>.

WEBER, Anderson; NEUWALD, Daniel Alexandre; KITTEMANN, Dominikus; THEWES, Fabio Rodrigo; BOTH, Vanderlei; BRACKMANN, Auri. Influence of respiratory quotient dynamic controlled atmosphere (DCA – RQ) and ethanol application on softening of Braeburn apples. **Food Chemistry**, vol. 303, p. 125346, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125346>.

WEBER, Anderson; THEWES, Fabio Rodrigo; ANESE, Rogerio de Oliveira; BOTH, Vanderlei; PAVANELLO, Elizandra Pivotto; BRACKMANN, Auri. Dynamic controlled atmosphere (DCA): interaction between DCA methods and 1-methylcyclopropene on 'Fuji Suprema' apple quality. **Food Chemistry**, vol. 235, p. 136–144, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.047>.

WEI, Chunlei; ZHANG, Fang; SONG, Lili; CHEN, Xuefeng; MENG, Xianghong. Photosensitization effect of curcumin for controlling plant pathogen *Botrytis cinerea* in postharvest apple. **Food Control**, vol. 123, p. 107683, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107683>.

WOJDYŁO, Aneta; OSZMIAŃSKI, Jan. Antioxidant Activity Modulated by Polyphenol Contents in Apple and Leaves during Fruit Development and Ripening. **Antioxidants**, vol. 9, no. 7, 2020. <https://doi.org/10.3390/antiox9070567>.

WOOD, Rachael Maree; THEWES, Fabio Rodrigo; REYNAUD, Milena; KITTEMANN, Dominikus; SAUTTER, Cláudia Kaehler; WÜNSCHE, Jens Norbert; NEUWALD, Daniel Alexandre. Apple fruit recovery from anoxia under controlled atmosphere storage. **Food Chemistry**, vol. 371, p. 131152, 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131152>.

WRIGHT, A H; DELONG, J M; ARUL, J; PRANGE, R K. The trend toward lower oxygen levels during apple (*Malus × domestica* Borkh) storage. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, vol. 90, no. 1, p. 1–13, 1 Jan. 2015. DOI 10.1080/14620316.2015.11513146.

XU, Yang; WANG, Deliang; LI, g; HAO, JianQin; JIANG, Wei; LIU, Zhushui; QIN, Qian. Flavor Contribution of Esters in Lager Beers and an Analysis of Their Flavor Thresholds. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, vol. 75, no. 3, p. 201–206, 1 Jun. 2017. DOI 10.1094/ASBCJ-2017-3007-01.

YI, Junjie; KEBEDE, Biniam T; HAI DANG, Doan Ngoc; BUVÉ, Carolien; GRAUWET, Tara; VAN LOEY, Ann; HU, Xiaosong; HENDRICKX, Marc. Quality change during high pressure processing and thermal processing of cloudy apple juice. **LWT**, vol. 75, p. 85–92, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.041>.

YUAN, Junwei; WANG, Haifen; LI, Yusheng; CHEN, Lan; ZHENG, Yanli; JIANG, Yuqian; TANG, Yao; LI, Xihong; WANG, Luyin; LI, Jixin. 1-MCP and pulsed controlled atmosphere affect internal storage disorders and desired quality of watercored “Fuji” apples. **Journal of Food Safety**, vol. n/a, no. n/a, p. e12935, 7 Oct. 2021. DOI <https://doi.org/10.1111/jfs.12935>.

ZABALZA, Ana; VAN DONGEN, Joost T; FROEHLICH, Anja; OLIVER, Sandra N; FAIX, Benjamin; GUPTA, Kapuganti Jagadis; SCHMÄLZLIN, Elmar; IGAL, Maria; ORCARAY, Luis; ROYUELA, Mercedes; GEIGENBERGER, Peter. Regulation of Respiration and Fermentation to Control the Plant Internal Oxygen Concentration. **Plant Physiology**, vol. 149, no. 2, p. 1087–1098, 1 Feb. 2009. DOI 10.1104/pp.108.129288.

ZANELLA, A; ROSSI, O. Post-harvest retention of apple fruit firmness by 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment or dynamic CA storage with chlorophyll fluorescence (DCA-CF). **European Journal of Horticultural Science**, Leuven, vol. 80, no. 1, p. 11–17, 2015. <https://doi.org/10.17660/eJHS.2015/80.1.2>.

ZHAO, H; KIM, Y K; HUANG, L; XIAO, C L. Resistance to thiabendazole and baseline sensitivity to fludioxonil and pyrimethanil in *Botrytis cinerea* populations from apple and pear in Washington State. **Postharvest Biology and Technology**, vol. 56, no. 1, p. 12–18, 2010. DOI <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.11.013>.

ZIELIŃSKA, Danuta; TUREMKO, Marcin. Electroactive Phenolic Contributors and Antioxidant Capacity of Flesh and Peel of 11 Apple Cultivars Measured by Cyclic Voltammetry and HPLC–DAD–MS/MS. **Antioxidants**, vol. 9, no. 11, 2020. <https://doi.org/10.3390/antiox9111054>.