



EFEITOS DOS TRATAMENTOS TÉRMICO E  
QUÍMICO NO CONTROLE DO "BOLOR  
VERDE" CAUSADO POR *Penicillium*  
*digitatum* SACC E NA QUALIDADE DE  
LIMAS ÁCIDAS "THAITI"  
(*Citrus latifolia* TANAKA)

Dissertação apresentada à Univer-  
sidade Federal de Lavras, como parte  
das exigências do curso de Pós-Gradua-  
ção em Ciência dos Alimentos, para ob-  
tenção do grau de "Mestre".

Orientadora

VÂNIA DÉA DE CARVALHO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

LAVRAS - MINAS GERAIS

1995



EFEITOS DOS TRATAMENTOS TÉRMICO E  
QUÍMICO NO CONTROLE DO "BOLOR  
VERDE" CAUSADO POR *Penicillium*  
*digitatum* SACC E NA QUALIDADE DE  
LIMAS ÁCIDAS "TAHITI"  
(*Citrus latifolia* TANAKA)

Dissertação apresentada à UFLA -  
Univ. Federal de Lavras, como parte  
das exigências do curso de Pós-Gradua-  
ção em Ciências dos Alimentos, para ob-  
tenção do grau de "Mestre".

Resende, Sérgio Roberto de  
Efeitos dos tratamentos térmico e químico no  
controle do "bolor verde" causado por *Penicillium*  
*digitatum* Sacc e na qualidade de limas ácidas  
"Tahiti" (*Citrus latifolia* Tanaka) / Sérgio Ro-  
berto de Resende. — Lavras : UFLA, 1995.  
79p. : il.

Orientador: Vânia Déa de Carvalho.  
Dissertação (Mestrado) - UFLA.  
Bibliografia.

1. Lima ácida "Tahiti" - Tratamento térmico.
2. Bolor verde.
3. *Penicillium digitatum*.
4. Qualidade.
5. *Citrus latifolia*. I. Universida-  
de Federal de Lavras. II. Título.

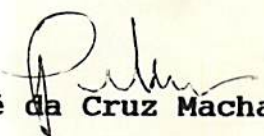
CDD-664.804337  
-633.1887


SÉRGIO ROBERTO DE RESENDE

EFEITOS DOS TRATAMENTOS TÉRMICO E  
QUÍMICO NO CONTROLE DO "BOLOR  
VERDE" CAUSADO POR *Penicillium*  
*digitatum* SACC E NA QUALIDADE DE  
LIMAS ÁCIDAS "THAITI"  
(*Citrus latifolia* TANAKA)

Dissertação apresentada à Univer-  
sidade Federal de Lavras, como parte  
das exigências do curso de Pós-Gradua-  
ção em Ciência dos Alimentos, para ob-  
tenção do grau de "Mestre".

APROVADA EM 31 de agosto de 1995

  
José da Cruz Machado

  
Luiz Ronaldo de Abreu

  
Vânia Déa de Carvalho

Orientadora

*A Deus,*

*Aos meus pais, José e Eunice,*

*Aos meus irmãos, Paulo, Rezende,*

*Maria Eunice e Maria Claret,*

*Às minhas amadas filhas,*

*Roberta e Raquel,*

*Minha neta Giovana e*

*minha esposa Rosana,*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais, EMATER-MG, pela oportunidade.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela acolhida.

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudo.

Aos professores Vânia Déa de Carvalho, José da Cruz Machado e Luis Ronaldo Abreu, pela amizade, ensinamentos, confiança, estímulo, respeito, orientação e sensibilidade.

Ao professor Luis Henrique de Aquino, pela amizade vivenciada ao longo do curso e orientação na elaboração das análises estatísticas.

À professora Maria Isabel Fernandes Chitarra, pelo incentivo marcante e amizade.

À solícita engenheira agrônoma Neide Botrel Gonçalves pela colaboração marcante nas análises de laboratório e constantes trocas de informações ao longo de nosso trabalho.

Aos engenheiros agrícolas Rogério Giranda e Rogério Amaro Gonçalves, pelo imprescindível auxílio na digitação do texto e confecção dos gráficos.

Ao engenheiro agrônomo Sílvio Júlio Rezende Chagas e ao laboratorista Samuel Rosa de Brito, pelo auxílio na realização das análises químicas no laboratório da EPAMIG.

Às laboratoristas Constantina Maria Braga Torres, Sandra Mara Lacerda Silva e ao funcionário Ismael Alves, pela ajuda na elaboração das análises químicas e pela amizade.

Ao bibliotecário Luis Carlos de Miranda, pela orientação no tocante às referências bibliográficas.

Aos colegas e amigos do curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, aos funcionários e professores, pelo convívio e apoio.

A todos aqueles que, anonimamente contribuíram para a realização deste trabalho.

E finalmente, a Deus, força e presença constantes a todo momento.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
RESUMO .....	xi
SUMMARY .....	xiii
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	5
2.1 Caracterização dos frutos de lima ácida "Tahiti" .....	5
2.1.1 Composição físico-morfológica .....	5
2.1.2 Composição química .....	6
2.1.2.1 Ácidos orgânicos .....	6
2.1.2.2 Sólidos solúveis totais e relação SST/ATT .....	7
2.1.2.3 Açúcares .....	8
2.1.2.4 Pigmentos .....	8
2.1.2.5 Vitamina C total .....	9
2.2 Modificações e perdas que ocorrem no armazenamento dos frutos .....	10
2.3 Causas e controle de deteriorações de frutos causados por fungos .....	12

2.3.1	Principais fungos causadores de deterioração em citrus .....	12
2.3.2	Etiologia e biologia de <i>Penicillium digitatum</i> .....	15
2.3.3	Controle químico de <i>Penicillium digitatum</i> .....	17
2.4	Uso do calor para controle de doenças pós-colheita de frutos cítricos .....	21
2.5	Armazenamento sob baixas temperaturas .....	24
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	26
3.1	Procedimento, colheita e seleção dos frutos .....	26
3.2	Tratamentos experimentais .....	27
3.3	Obtenção e preparo do inóculo .....	27
3.4	Inoculação .....	28
3.5	Tratamentos químicos e térmicos dos frutos .....	29
3.6	Delineamento experimental .....	29
3.7	Avaliações .....	30
3.7.1	Peso dos frutos .....	31
3.7.2	Avaliação da infecção por <i>Penicillium digitatum</i> ....	31
3.7.3	Determinações físicas: cor da casca .....	31
3.7.4	Rendimento do suco (ml/100 g fruto) .....	32
3.7.5	Determinações físico-químicas e químicas .....	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	34
4.1	Caracterização dos frutos .....	34
4.2	Avaliação da eficiência dos tratamentos químicos e físicos no controle de infecções por <i>Penicillium digitatum</i> .....	36



	Página
4.3 Avaliação da cor .....	39
4.4 Relação entre alteração da cor e ataque fúngico .....	39
4.5 Sólidos solúveis totais (SST) e relação SST/ATT .....	42
4.6 Acidez titulável total (ATT) .....	45
4.7 Açúcares totais .....	49
4.8 Vitamina C total .....	52
4.9 Pectina solúvel (mg/100 ml suco) e relação pectina solúvel/pectina total .....	54
4.10 Pectina total (mg/100 ml) .....	58
5 CONCLUSÕES .....	61
6 RECOMENDAÇÃO .....	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	63
APÊNDICE .....	73

## LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1 Características físicas, físico-químicas e químicas das limas ácidas "Tahiti" no estágio de maturidade fisiológica, 24 horas após a colheita .....	35

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Índice de controle de esporulação (%) por <i>Penicillium digitatum</i> de limas ácidas "Tahiti" armazenadas a $10 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. igual a $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias .....	38
2	Valores médios das avaliações de cor de limas ácidas "Tahiti" armazenadas a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ e U.R. igual a $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias .....	41
3	Teores médios de Sólidos Solúveis Totais (SST) de limas ácidas "Tahiti" armazenadas a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ e U.R. igual a $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias .....	44
4	Valores médios da Relação Sólidos Solúveis Totais SST)/Acidez Titulável Total (ATT) de limas ácidas "Tahiti" armazenadas a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ e U.R. igual a $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias .....	46
5	Valores médios da Acidez Titulável Total (ATT) de limas ácidas "Tahiti" armazenadas a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ e U.R. igual a $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias .....	47
6	Teores de Açúcares Totais (AT) de limas ácidas "Tahiti" armazenadas a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ e U.R. igual a $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias .....	50

## RESUMO

RESENDE, Sérgio Roberto de. Efeitos dos tratamentos térmico e químico no controle do "bolor verde" causado por *Penicillium digitatum* Sacc. e na qualidade de limas ácidas "Tahiti" (*Citrus latifolia* Tanaka). Lavras: UFLA, 1995. 79p. (Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos)\*

Avaliou-se através deste trabalho a eficiência da imersão de limas ácidas "Tahiti" em água aquecida a 46°C e uso de dois tratamentos químicos na prevenção da infecção causada pelo fungo imperfeito *Penicillium digitatum*, denominada "Bolor Verde" e determinar seu efeito na composição química e físico-química após o armazenamento com refrigeração. Os frutos foram provenientes do município de Luminárias, e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 8 x 2, em que foram estudados 5 períodos de imersão (5, 10, 15, 20 e 25 minutos), 2 fungicidas (imazalil e thiabendazol) e tratamento controle; em todos os tratamentos foram usados frutos com e sem inoculação com *Penicillium digitatum*. Após estes tratamentos, as limas ácidas foram armazenadas durante 20 dias em câmara fria na temperatura de

---

\*Orientador: Vânia Déa de Carvalho. Membros da banca: José da Cruz Machado e Luiz Ronaldo de Abreu.

10 ± 1°C e umidade relativa de 90 ± 5%. Foram realizadas as seguintes avaliações: índice de controle de infecção, evolução de cor, sólidos solúveis totais, acidez titulável total, açúcares totais, vitamina C total e pectina (solúvel, total e relação pectina solúvel/pectina total). Os 5 períodos de imersão em água aquecida a 46°C controlaram com eficiência de 100% a infecção; o fungicida imazalil exerceu controle de 87% e o fungicida thiabendazol e o tratamento controle não controlaram o "bolor verde". Os frutos submetidos a inoculação e tratados com thiabendazol e controle (sem prevenção) apresentaram teores mais elevados de sólidos solúveis, vitamina C total e pectinas. Os 5 períodos de imersão não interferiram na composição química e físico-química dos frutos.

## SUMMARY

EFFECTS OF HEAT AND CHEMICAL-TREATMENTS TO CONTROL THE "GREEN-MOLD" CAUSED BY *PENICILLIUM DIGITATUM* SACC. AND TO KEEP THE QUALITY OF "TAHITI" LIMES (*CITRUS LATIFOLIA* TANAKA).

The purpose of this study was to evaluate the efficiency of both dipping "Tahiti limes" in water at 46°C and the use of two chemical treatments to prevent the disease caused by the fungi *Penicillium digitatum*, known as "green mold" and to determine its effects in both chemical and physico-chemical composition following a cold storage. The fruits were cultivated at the county of Luminarias, and the experimental design was the "randomized" in a 8 x 2 factorial scheme, in which 5 periods of dipping was studied (5, 10, 15, 20 and 25 minutes), two fungicides (imazalil and thiabendazol) and a control treatment. In all treatments were utilized fruits with and without inoculation with *Penicillium digitatum*. After treatments, the Tahiti limes were stored during a period of 20 days in a cold chamber at  $10 \pm 1^{\circ}\text{C}$  and relative humidity of  $90 \pm 5\%$ . The following evaluations were carried out index of infection control, changes in color, total soluble solids, titratable acidity, total sugars, vitamin C total and soluble

pectin and ratio soluble/total pectin. The five periods of dipping in water at 46°C were effective in controlling 100% of the infection; the fungicide imazalil was able to control 87% and the fungicide thiabendazol and the control treatment showed no control on the "green mold". The fruits submitted to inoculation and treated with thiabendazol and control (without prevention) presented higher contents of soluble solids, total vitamin C and pectins. The 5 periods of dipping did not interfere on both chemical and physico-chemical composition of the fruits.

## 1 INTRODUÇÃO

O problema de desequilíbrio entre a população e a oferta de alimentos pode ser consideravelmente reduzido através da diminuição das perdas que ocorrem nas diferentes etapas da obtenção dos alimentos desde a produção até a comercialização e consumo. O conhecimento de técnicas para reduzir os danos e perdas pós-colheita são usuais em países desenvolvidos, enquanto que nos países em desenvolvimento, principalmente nas regiões tropicais, a aquisição e o emprego destas tecnologias nem sempre são possíveis. Somente nos Estados Unidos, de acordo com o Departamento de Agricultura, as perdas com frutas e vegetais após colhidos, durante viagens e comercialização são estimadas em 200 milhões de dólares anuais. No Brasil as perdas dos produtos de origem vegetal (grãos, raízes, tubérculos, frutas e hortaliças) compreendem 25% da safra, após serem colhidos. Dada à grande extensão do território brasileiro, à diversidade de matérias-primas, à falta de infraestrutura de armazenagem, perecibilidade, manuseio e transporte inadequados, entre outros, fazem com que haja um aumento do índice de perdas para o mercado interno e rejeição dos produtos pelo mercado internacional.

\* A incidência de doenças que afetam os frutos cítricos, entre eles a lima ácida "Tahiti" (*Citrus latifolia*, Tanaka) durante



o período pós-colheita, incluindo aí o processo de comercialização é, sem dúvida, um dos principais problemas para os setores industrial e de consumo no Brasil. \*As percentagens de deterioração variam de 10 a 40% podendo estes valores aumentar, principalmente se as condições de manuseio não forem desenvolvidas e se os frutos, nestas condições, forem enviados aos packinghouse em períodos em que os fatores ambientais não sejam favoráveis às operações de colheita (chuva, alta umidade relativa e temperatura em torno de 22-25°C). Sob tais condições, taxas de perdas de frutos cítricos acima de 15% são comumente encontradas, Piquer e Garcia (1980).

O Brasil é o maior produtor mundial de frutos cítricos e o maior exportador de suco concentrado; em 1991 o país exportou 110 mil toneladas de laranjas e 284 toneladas de lima ácida "Tahiti", gerando uma receita de 22 milhões de dólares, Silva (1992). Em termos mundiais os primeiros produtores de limas ácidas são México, Estados Unidos (Flórida), Egito, Índia e Brasil, Silva (1992). A produção de lima ácida "Tahiti" no Brasil, após uma mudança no patamar em 1989, quando cresceu 12% em relação ao ano anterior, estabilizou-se em torno de 560 mil toneladas, obtidas em uma área plantada de 40.000 hectares, com rendimentos estáveis em torno de 14 ton/ha. O Sudeste destaca-se como principal região produtora, com posição consolidada em 86% da produção total em 1991, seguido do Nordeste com 5,1% e da região Sul com 4%, Ministério da Agricultura (1994). A nível de Brasil, o Estado de São Paulo é o 1º produtor brasileiro de cítricos, com cerca de 70% da área total plantada, Cesar (1986) e (Conjuntura Econômica, 1991). Em termos mundiais, os principais produtores de limas ácidas são México,

Estados Unidos (Flórida), Egito, Índia e Brasil (Silva, 1992).

Há, entretanto, uma preocupação constante de produtores, exportadores e comerciantes quanto à conservação deste fruto. A lima ácida "Thaiti", mantida à temperatura ambiente perde praticamente todas as suas propriedades após duas semanas de sua colheita. A casca torna-se amarelada, ocorre a perda média de 12% do peso e ocorre ainda o ressecamento interno do produto. Com essas características, esse produto é desprezado pelos compradores, acarretando enormes prejuízos, Passam e Blunden (1982) e Costa (1994).

A rapidez na colocação do produto tem sido a melhor forma de evitar essa perda, principalmente pelos exportadores que, utilizando-se de refrigeração, dispõem apenas de 4 semanas, o tempo justo de duração de uma viagem marítima entre o Brasil e a Europa e mais alguns dias para se completar o processo de comercialização.

Parte considerável das perdas que ocorrem após a colheita da lima ácida "Tahiti" é causada pelo fungo *Penicillium digitatum* que provoca graves deteriorações que são rápidas e extensivas, destruindo frutos frescos, seja em partidas inteiras, containers ou lotes isolados. Tais deteriorações são conhecidas como bolor verde ou mofo verde. Tradicionalmente, os métodos para se prevenir ou controlar os efeitos do ataque do patógeno são os tratamentos com fungicidas ou o envolvimento dos frutos com ceras, filmes de polietileno ou cartões embebidos em produtos químicos, que procuravam impedir ou atenuar tais deteriorações. Mas a série de riscos existentes quando se manuseia e se consome frutos tratados com fungicidas geraram a crescente e rigorosa objeção por parte dos

países importadores quanto à entrada e comercialização destas frutas, isto sem se contar que existem diferenças entre os países consumidores na aceitação de determinados fungicidas, bem como na variação de dose mínima de resíduos tolerados, Cuñat e Sala (1989) e Sigrist (1993). Além destes problemas, o uso de misturas de fungicidas e/ou produtos alternados pode provocar o surgimento de sensibilidade colateral, onde a resistência a determinado produto pode afetar a efetividade de outros do mesmo grupo; finalmente tem-se que se considerar o acúmulo de químicos na cadeia alimentar, que acarreta sérios prejuízos ao consumidor, devido à inobservância dos períodos de carência e doses máximas de resíduos tolerados pela legislação.

Diante desta situação exposta, o propósito deste trabalho é colocar à disposição dos produtores e operadores de "packinghouse", tecnologia alternativa eficiente e segura para o controle eficaz das deteriorações pós-colheita causadas por *Penicillium digitatum* em limas ácidas "Tahiti". E neste sentido nosso estudo se propõe a avaliar a eficiência dos tratamentos térmico e químicos, no controle do bolor verde causado por *Penicillium digitatum*, na manutenção da qualidade e no prolongamento da vida pós-colheita da lima ácida "Tahiti".

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Caracterização dos frutos de lima ácida "Tahiti"

A lima ácida "Thaiti" (*Citrus latifolia*, Tanaka) é uma planta de tamanho médio e grande, vigorosa, expansiva, curvada e quase sempre sem espinhos, de folhagem verde, densa, folhas de tamanho médio, lanceoladas e com pecíolos alados. Suas flores, normalmente têm 5 pétalas e não apresentam o pólen viável.

#### 2.1.1 Composição físico-morfológica

Os frutos são de tamanho médio, oblongos ou levemente elípticos, com a base arredondada. As sementes são raras ou ausentes (partenocarpia), casca fina, superfície lisa, de cor verde escuro quando jovem e que perde intensidade no amadurecimento, até tornar-se amarelo pálido no final da maturação. Na casca existem numerosas glândulas de óleo e o endocarpo (polpa) é de cor esverdeada, com 10 segmentos, eixo pequeno, tenra, succulenta e muito ácida. No flavedo (camada mais externa do epicarpo) encontram-se os plastídeos e numerosas vesículas, preenchidas com óleo essencial aromático. Nos frutos ainda verdes os plastídeos armazenam clorofila e na fase de amadurecimento contêm xantofila, Saenz (1987), Casas e Mallent (1988). O flavedo compõe-se de

açúcares, celulose, substâncias pécticas, vitamina C e limonina, princípio amargo de alguns frutos cítricos, que afeta de forma desfavorável o sabor do suco de certos cultivares. Abaixo do flavedo encontra-se o albedo, uma camada intermediária de cor esbranquiçada e textura esponjosa.

### 2.1.2 Composição química

Na lima ácida "Tahiti" a polpa corresponde a 40-50% do fruto, sendo sua principal parte utilizada como alimento. Seu suco contém ácidos, pectinas solúveis, minerais (principalmente potássio), proteínas e óleos, Ting e Attaway (1970), Swisher e Swisher (1971), Cook (1983) e Saenz (1987). Entre os ácidos destacam-se o ácido cítrico, seguido do málico, oxálico, succínico e outros. Na polpa as pectinas solúveis incorporadas ao suco proporcionam a textura do fruto.

#### 2.1.2.1 Ácidos orgânicos

No processo de respiração, os principais substratos utilizados são os açúcares e os ácidos orgânicos, Ulrich (1970), sendo que estes ácidos por serem participantes intermediários do metabolismo, atuam diretamente no crescimento, amadurecimento, maturação e senescência dos frutos, Clements (1964). Na fase de maturação os frutos acumulam ácidos orgânicos, principalmente cítrico e málico, Bogin e Wallace (1966) e na fase de amadurecimento a concentração de ácidos aumenta consideravelmente, podendo se estender até a fase de armazenamento, Kefford (1966). O teor de ácido cítrico chega a ser superior a 60% dos ácidos,

seguido pelo málico, oxálico, succínico e L-quínico.

A acidez titulável total (ATT) situa-se entre 4,34 e 7,66%, Van der Laats (1954), Kefford (1966) e Swisher e Swisher (1971). Devido à presença de consideráveis cátions como cálcio, potássio e magnésio, estes reagem com os ácidos livres e formam um sistema tamponante ativo e há inibição das variações na acidez titulável, Ting e Attaway (1970) e Kefford (1959).

#### 2.1.2.2 Sólidos solúveis totais e relação SST/ATT

Os sólidos solúveis totais sendo considerados parâmetros que determinam a qualidade dos frutos, são constituídos por açúcares, ácidos orgânicos, vitamina C, aminoácidos e íons inorgânicos principalmente, que se encontram armazenados em sua maioria nos frutos maduros, Cook (1983). Porém, em frutos cítricos predominantemente ácidos e limas ácidas como a "Tahiti", o teor de sólidos solúveis totais é constituído, na sua maior parte, de ácidos orgânicos, Kefford (1966), e nesses frutos o teor destes sólidos solúveis não se altera desde o primeiro estágio de desenvolvimento até a maturidade, devido ocorrer um aumento da acidez e redução no conteúdo de açúcares, Kefford (1959).

A característica do sabor dos frutos cítricos geralmente é expressa pela relação SST/ATT, sendo inclusive utilizada como índice de maturidade para prevenir a baixa qualidade de frutos comercializados, Ting e Attaway (1970). No caso da lima ácida "Tahiti", cujo teor de ácidos é o fator mais importante em sua comercialização, Biale (1960), essa relação tem pouca importância no amadurecimento e colheita dos frutos.

### 2.1.2.3 Açúcares

Os açúcares são também componentes bioquímicos indicadores da qualidade dos frutos, Moriguchi et al. (1992), sofrendo modificações contínuas. No processo metabólico das plantas, os açúcares são os substratos mais importantes, onde a glicólise é a via mais expressiva de sua degradação, Hansen e Weichmann (1987) e Turner (1975). Durante a fase de amadurecimento das limas ácidas, o conteúdo de açúcares tende a diminuir e conseqüentemente aumenta o teor da acidez total titulável (ATT), Kefford (1959) em conseqüência desse metabolismo. A lima ácida "Tahiti" tem teores muito baixos de açúcares totais, cuja faixa varia de 0 a 1,74%, Swisher e Swisher (1971) e em geral frutos que apresentam maiores teores de carboidratos solúveis são os oriundos de regiões ensolaradas e temperaturas médias elevadas, Kefford (1959).

### 2.1.2.4 Pigmentos

O processo natural de coloração dos frutos dá-se em duas fases: inicialmente ocorre a degradação das clorofilas (pigmentos verdes armazenados nos cloroplastos) e posteriormente o surgimento e/ou biossíntese dos carotenóides. O fenômeno mais marcante que ocorre durante o amadurecimento dos frutos cítricos é a degradação da clorofila total, A e B, Yamaguchi e Watada (1991), quando se dá a modificação drástica da cor do flavedo para amarela em função da conversão dos cloroplastos que contêm carotenóides e clorofilas em cromoplastos, contendo somente carotenóides, Elaih e Shah (1971). Os carotenóides são pigmentos solúveis em gorduras e solventes

orgânicos, que localizam-se nos cromoplastos nas células do flavedo em uma mistura complexa, Casas e Mallent (1988). No processo de comercialização, os frutos devem mostrar casca brilhante, cor verde forte, lisa, homogênea e firme, além de não mostrarem sintomas de ataques fúngicos, injúrias e enrugamentos, Cohen et al. (1990); Cardinali e Seiler (1958).

#### 2.1.2.5 Vitamina C total

O valor nutritivo das frutas cítricas é largamente medido pelo seu teor de vitamina C, das quais são fontes importantes e o ácido ascórbico encontra-se presente nas plantas sob 3 formas: ácido ascórbico reduzido, ácido monohidroascórbico (MHA - intermediário estável) e ácido dehidro ascórbico (DHA). A casca da lima ácida "Tahiti" é especialmente mais rica em ácido ascórbico que o suco, Ting e Attaway (1970), possuindo também concentração superior ao albedo e somente algo em torno de 25% do ácido ascórbico presente no fruto integral está contido no suco, principal porção utilizada no consumo humano. Seu teor em vitamina C normalmente situa-se na faixa de valores compreendidos entre 20-40 mg/100 ml de suco, de ácido ascórbico, Kefford (1959).

Cohen (1956) agrupou em ordem crescente destas vitaminas as seguintes espécies de frutos cítricos quanto ao teor de vitamina C: tangerinas, limões, limas, grapefruits e laranjas. No suco, o teor de ácido ascórbico por 100 gramas de peso do fruto, apresenta um brusco aumento até atingir um pico máximo no início do desenvolvimento e uma posterior redução à medida que o fruto aumenta de peso e amadurece, Eaks (1964). Estudos realizados na Costa Rica por Van der Laats mostram de modo convincente a



inexistência de qualquer correlação entre a acidez e o teor de ácido ascórbico nas frutas cítricas. Assim é que limões e laranjas altamente ácidas podem apresentar baixos teores de vitamina C e vice-versa.

## 2.2 Modificações e perdas que ocorrem no armazenamento dos frutos

A incidência de doenças que afetam os frutos cítricos e entre eles a lima ácida "Tahiti" durante o período pós-colheita, incluindo o processo de comercialização é, sem dúvida um dos principais problemas para os setores produtivo, industrial e de consumo no Brasil e em todo o mundo. Há alguns anos atrás estas doenças eram de pouca importância econômica, mas na atualidade elas mostram elevada prioridade, seja na fase de produção, no armazenamento ou comercialização em função das elevadas perdas. EMBRAPA (1989), Cohen et al. (1990), Chitarra e Chitarra (1990) estimam-nas variando entre 15 a 60% em função de práticas inadequadas na colheita, manuseio, processamento e deteriorações causadas por patógenos. No sentido de se preservar a qualidade e prolongar a vida de armazenamento dos frutos, a colheita da lima ácida "Tahiti" deve evitar ferimentos ou stresses físicos em seus frutos, fator principal de futuras deteriorações, principalmente as provocadas pelo *Penicillium digitatum*.<sup>\*</sup> Neste sentido é que se preconiza fazer a colheita nas horas mais frescas do dia e o rápido resfriamento, que reduz o metabolismo e inibe a germinação de esporos retirando-lhes o calor de campo e prolongando sua qualidade, Grierson (1976) e Scott (1984). Entre os principais fatores que condicionam a qualidade dos frutos na fase pós-colheita, podem ser destacados, temperatura de armazenamento e umidade relativa.

O processo de amadurecimento de frutos pode ser inibido mediante emprego de condições ambientais adequadas obtidas através de controle da temperatura, umidade relativa, Berg e Lentz (1979) e Scott (1984), da composição de gases da atmosfera (controlada ou modificada) Kader (1986), Cohen et al. (1990) e Chitarra e Chitarra (1990), e por meio de tratamento de choque frio, Inaba e Crandall (1986) e Barret-Reina (1990). As limas ácidas "Tahiti" podem ser armazenadas na faixa de 9-10°C e umidade relativa variando de 85-90% devendo ser colhidas com o máximo desenvolvimento, mas ainda verdes, conservando-se bem nestas condições durante 8 a 12 semanas embora alguma perda da coloração verde possa ocorrer a partir da 4ª semana, não chegando a prejudicar o produto, porém depreciando-o para a comercialização. Depois de 8 semanas de armazenamento a casca torna-se verde-amarelada e sob temperaturas abaixo de 8°C já surgem manchas deprimidas (pittings), injúrias pelo frio (chillings injury), membranosas internas e podendo ocorrer mudanças na composição do suco. Tais sintomas surgem logo após os frutos serem transferidos para condições ambientes, o que limita acentuadamente a sua comercialização.

Nos frutos cítricos maduros, apesar de sua baixa atividade respiratória, a extensão do armazenamento pós-colheita resulta em transformações internas do conteúdo de açúcares, Echeverria e Ismail (1987) e Kilburnn (1993). Quanto à umidade relativa de armazenamento, uma vez que todos os tipos de frutos e hortaliças perdem água sob forma de vapor após colhidos, esta perda, se acentuada, irá provocar murcha, enrugamento e endurecimento do produto, inviabilizando-o para a comercialização e consumo. A diminuição desta perda pode ser feita proporcionando-

se ao ambiente, teores de alta umidade relativa, cerca de 90-95%, embora se corra o risco do desenvolvimento de microorganismos, Berg e Lentz (1978). Assim é que, limas armazenadas a temperaturas elevadas e sob atmosfera ambiente podem perder peso à taxa diária de 1 a 2% e perdendo cerca de 12-14% de seu peso, os frutos já mostram sinais de enrugamento e acima destes níveis, já perdem seu valor comercial, pois a desidratação provoca depreciação da aparência do fruto, Passam e Blunden (1982). Diante disto, o controle da umidade relativa no ambiente pós-colheita é tão importante quanto o controle da temperatura. Em algumas condições, o efeito destes dois fatores é difícil de ser separado, porque a capacidade do ar envolver uniformemente todo o meio armazenado, depende da temperatura, Kurki (1971). A umidade relativa no ambiente pós-colheita não afeta somente as perdas dos produtos colhidos, sejam frutos, sejam vegetais, mas afeta também a atividade dos organismos causadores de deteriorações, caso seja excessiva. Para muitos produtos, a umidade relativa próxima da saturação somente resultará em diminuição de deterioração se a temperatura estiver próxima a 0°C, Kurki (1971).

### 2.3 Causas e controle de deteriorações de frutos causados por fungos

#### 2.3.1 Principais fungos causadores de deterioração em citrus

Os frutos cítricos podem sofrer ataques de vários gêneros de fungos patogênicos, causadores de deteriorações pós-colheitas. Estas infecções, chamadas tardias, geralmente iniciam no campo, em packinghouse e posteriormente no armazenamento ou nos diversos

pontos de comercialização. Invariavelmente são facilitados por injúrias que se verificam em função do manuseio inadequado a partir do processo de colheita até o ato da comercialização, passando pelos diversos estágios como transporte, beneficiamento e embalagem, Tuset et al. (1981), e dentre estas infecções, a mais importante, por ser causadora do mais alto índice de perdas, é o bolor verde, causado pelo fungo *Penicillium digitatum* Sacc..

Segundo Schiffman-Nadel (1977), há correlação entre a acidez total na colheita e no armazenamento com a porcentagem de deteriorações que se desenvolveram posteriormente, isto é, limões com teor relativamente alto de acidez total foram menos sujeitos à deteriorações do que frutos com teores mais baixos. Da mesma forma, observou também a existência de correlação entre os teores de etanol produzidos durante o armazenamento e a incidência de podridões em laranjas "Valência", "Shamouti" e com grapefruits armazenados abaixo de 10°C. Esta formação de etanol ocorrida antes do desenvolvimento de deteriorações pode ser o indicador de podridões que logo irão ocorrer. E isto sugere que o efeito fisiológico do frio no desenvolvimento de podridão estilar em laranjas é semelhante ao efeito do "chilling" pela redução da temperatura no armazenamento. Nesse trabalho, a taxa respiratória, a produção do etileno e a atividade de enzimas pectolíticas foram elevadas em limões deteriorados, modificando-se de acordo com o patógeno específico sendo a atividade da enzima poligalacturonase maior em frutos com podridões moles do que naqueles com podridões secas. Na prática, no decorrer do armazenamento prolongado, os frutos sadios estão frequentemente em contato com os frutos deteriorados e esta condição se assemelha a um contínuo e crescente tratamento com etileno, o que pode provocar a senescência precoce

de frutos sadios, Schiffman-Nadel (1977).

De modo geral, existem várias causas que propiciam diretamente a ocorrência de deteriorações por *Penicillium digitatum* e dentre elas destacam-se: a) O alongamento do período de colheita; por tratar-se de uma prática comum entre os produtores e com isto os frutos em estado de pós-maturação são facilmente injuriados e pequenas trincas ou ferimentos facilitam a introdução destes patógenos, que logo em seguida ali se estabelecem; b) O acúmulo de frutos caídos no solo; isto ocorre com o avanço do período de colheita fazendo com que haja aumento do potencial de inóculo do fungo, principalmente se o ambiente estiver seco; c) atraso da retirada dos frutos ou caixas amontoadas sobre o solo fazendo com que as injúrias que se formaram por ocasião da colheita constituam em fonte de inóculo devido às condições favoráveis ao crescimento do patógeno; d) o uso de fungicidas de baixa eficiência ou de forma inadequada. Nestes casos é importante considerar-se o surgimento de resistência por parte do fungo.

Os frutos cítricos durante a fase final de maturação, após colhidos, durante as operações de armazenamento, transporte e no processo de comercialização são fortemente expostos e atacados por *Penicillium digitatum*, que recobre todo o fruto, mostrando sob a forma de um bolor verde a massa de esporos verde oliva. <sup>✓</sup> Por meio de secreções produzidas pelo micélio intra e intercelular, dá-se a dissolução da lamela média da parede celular dos frutos, provocando as deteriorações e morte da epiderme, Galli (1976).

### 2.3.2 Etiologia e biologia de *Penicillium digitatum*

Em condições naturais o *Penicillium digitatum* completa o seu ciclo de vida em frutos cítricos, Eckert e Dawson (1977). Conídios de *Penicillium digitatum* e *Penicillium italicum* são produzidos na superfície dos frutos doentes e permanecem no solo junto às fruteiras ou no ambiente dos packinghouses. Tais esporos podem sobreviver por vários meses sob condições de ausência de umidade e quando transportados por correntes de ar atingem os frutos sadios, contaminando praticamente a superfície de todos os frutos até a época da colheita, Eckert et al. (1983). A germinação destes esporos e sua penetração ocorrerão somente em locais injuriados. Potencialmente, um único esporo de *Penicillium digitatum* inoculado na superfície de um fruto pode gerar uma prole de 10<sup>8</sup> esporos em 10 dias, sob condições ambientais favoráveis, Eckert et al. (1983). Estes esporos irão servir de inóculo primário para em outros frutos cítricos, que podem visivelmente contaminar os frutos adjacentes em uma mesma embalagem, originando as podridões que reduzem seriamente o valor comercial do produto. Sua esporulação extremamente intensa, ocupa em estágio avançado, toda a superfície, fazendo com que parte do fruto deteriorado fique aderido à embalagem, Eckert (1977).

Cada tipo de fruto e vegetal pode ser atacado somente por um relativamente limitado e único grupo de fungos parasitas, que tem exigências nutricionais e capacidade enzimática que lhes permitem desenvolver-se extensivamente na superfície de seu hospedeiro. Esta especificidade pode ser vista com o gênero *Penicillium*, onde *Penicillium digitatum* causa doenças somente em frutos cítricos, ao passo que o *Penicillium expansum* é um sério

patógeno de maçãs e peras, mas não o é para os cítricos, Eckert (1975) e Miller (1988). A susceptibilidade do produto à deterioração pós-colheita é significativamente influenciada pelo estágio de maturação do produto à época da colheita, gerando as trocas fisiológicas que acontecem em conjunto no amadurecimento. Essa susceptibilidade é comprovada em maçãs atacadas por *Penicillium expansum* e em laranjas pelo mofo verde causado por *Penicillium digitatum*. É importante ressaltar que a retomada do processo infeccioso que estava latente e que proliferou por ocasião do amadurecimento do fruto é o claro e clássico caso do aumento de susceptibilidade do hospedeiro por injúria mecânica, French et al. (1978).

É importante destacar o papel que certos compostos, principalmente os voláteis, exercem como fatores indutores na germinação de esporos (conídios) do *Penicillium digitatum*. Assim é que, compostos voláteis do exocarpo injuriado induziram esta germinação em cerca de 50% dos conídios deste patógeno em testes onde se usou como meio de cultura, água e ágar. Estes compostos voláteis são: limonene,  $\alpha$ -pinene, sabinene,  $\beta$ -mircene, acetaldeído, etanol, etileno e  $\text{CO}_2$ , sendo que a ação destes voláteis somente dá-se quando atuam juntos, não havendo pois, ação estimuladora, se um deles estiver isolado, Eckert e Ratnayake (1994). Também o teor de açúcares nos tecidos está diretamente relacionado com a colonização por patógenos. Assim, doenças cuja susceptibilidade é favorecida por altos teores de açúcares, foram chamadas de "doenças de alto açúcar" e o contrário, "doenças de baixo açúcar", Booth e Burden (1983). Por exemplo, maçãs em infusão de sacarose ou frutose através do pecíolo tiveram acelerado o processo de podridão dos frutos por *Botryosphaeria ribis*, mas isto também poderia ser

atribuído à redução da toxicidade de substâncias anti-fúngicas na presença de açúcares. Esporos de alguns fungos, por exemplo aqueles que iniciam a infecção latente ainda no campo, precisam estar aptos para crescer e infeccionar com o auxílio de gotas de água pura ou nutrientes diluídos que se difundem na superfície do hospedeiro. Já outros como o *Penicillium digitatum* requerem nutrientes complexos para sua germinação e infecção, Rippon (1980) e Eckert (1978). Os frutos cítricos contêm ácido ascórbico e terpenos conhecidos como estimuladores da germinação de esporos de *Penicillium digitatum*, assim como um complexo de nutrientes orgânicos que mantém o vigor do crescimento micelial através do processo infeccioso, French et al. (1978) e Pelsler e Eckert (1977).

Sob condições tropicais, a incidência predominante de *Penicillium digitatum* dá-se na primeira metade da estação de colheita, ou seja, de janeiro a abril e depois ela é relativamente comparável à incidência de *Penicillium italicum*, causador do bolor azul. Ambos são saprófitas comuns de materiais vegetais, sendo típicos parasitas de ferimentos e, devido a abundância de seus conídios secos, quer estejam presentes no campo, quer no packinghouse, têm sido o mais sério problema pós-colheita de frutos cítricos, Grierson et al. (1976).

### 2.3.3 Controle químico de *Penicillium digitatum*

Os tratamentos químicos escolhidos como tratamento pós-colheita devem, normalmente, ser aplicados logo após a colheita, mas em certos casos, o atraso de algumas horas pode aumentar significativamente a eficiência do produto usado, em função de que esporos recém-germinados são mais sensíveis que esporos dormentes,



Eckert (1977). Isto é importante no sentido de se evitar que o patógeno penetre profundo no tecido do hospedeiro. Daí, o período máximo que deve decorrer entre a colheita (ou inoculação) e o sucesso do tratamento, variar de 10 horas a 24 horas para laranjas inoculadas com *Penicillium digitatum*, avaliadas a 24°C, Graham et al. (1973).

Inúmeros experimentos foram conduzidos nos últimos 30 anos na tentativa de se encontrar fungicidas que aliados a uma elevada eficiência no controle do bolor, também mostrassem baixa propensão a desenvolver resistência contra o *Penicillium digitatum*. Os fungicidas thiabendazólicos foram um dos primeiros a serem usados em frutos cítricos e notabilizaram-se por seu amplo espectro de ação contra os fungos, em inúmeros trabalhos, a partir de 1964.

Sua ação endoterápica e estabilidade comprovada quando na superfície dos frutos, o que não acontece com o benomyl e o tiofanato metílico, que se transmutam para carbendazim, tornaram-no durante longo tempo o fungicida mais indicado para o controle de fungos pós-colheita e dentre eles, *Penicillium digitatum*, Vonk e Kaars Sijpesteijn (1971). Porém, após uma década de uso intensivo mostrou sua grande desvantagem: o potencial para desenvolver raças resistentes de *P. digitatum* ao seu princípio ativo, o que foi detectado a partir de 1972 na Califórnia.

Existem estratégias apropriadas para retardar a emergência de raças resistentes, como: controle preventivo, pulverizações com fungicidas que impeçam a proliferação destas raças e o uso de compostos fungicidas dos quais o patógeno não pode escapar por meio de mutações, Koffman et al. (1978); Rosenberger et al. (1979).

Os fungicidas thiabendazólicos foram um dos primeiros a serem usados em frutos cítricos e notabilizaram-se por seu amplo espectro de ação contra os fungos, em inúmeros trabalhos a partir de 1964, Robinson et al. (1964). Sua ação endoterápica e estabilidade prolongada quando na superfície dos frutos tornaram-no durante longo tempo o fungicida mais indicado para o controle de fungos pós-colheita e dentre eles, *Penicillium digitatum*, Vonk e Kaars Sijpesteijn (1971). Porém, após 10 anos de uso intensivo mostrou a grande desvantagem para o potencial de desenvolver raças resistentes de *P. digitatum* ao seu princípio ativo. Sucederam-se inúmeros trabalhos comprovando esta perda de eficiência em Israel, Austrália, Japão, Califórnia, Flórida e França, Gutter (1981).

Por sua vez, a atividade fungicida de Imazalil (Janssen Pharmaceutica) tem sido usado intercaladamente com thiabendazol e benomyl para o controle de vários tipos de deterioração pós-colheita, como as causadas por *P. digitatum* e *P. italicum*. São muitos os trabalhos comparando a eficiência entre fungicidas e podem ser citados os principais: controle de *P. digitatum* em frutos cítricos, onde se sobressaíram imazalil, prochloraz e etaconazole, Van Gestel (1988); comparação entre 5 fungicidas (imazalil, benomyl, etaconazol, prochloraz e guazatine) para controle de bolor verde em laranjas Bahia, onde também o imazalil os superou, Laville (1977); teste de eficiência entre imazalil e guazatine para controle de bolor verde em limões e laranjas, onde imazalil mostrou-se superior, controlando 90% contra 86%, em avaliação após 3 dias do tratamento, Perez-Zúñiga e Muñoz-Delgado (1984). Mais uma vez imazalil superou fungicidas como: prochloraz, phenapronil, benomyl, thiabendazol e ortofenilfenato, onde as concentrações mais eficientes ficaram na faixa de 500 a 1000 ppm, Tuset (1980). O

fungicida imazalil também superou os fungicidas 2-aminobutano, benomyl e thiabendazol em trabalho de Harding (1976), trabalhando com limões inoculados com 4 raças resistentes de *P. digitatum*, seja em testes com culturas do fungo em placas de Petri, seja com frutos submetidos a inoculações hipodérmicas, onde o referido fungicida superou completamente a esporulação das 4 raças testadas. Outros trabalhos também se destacaram: esporulações de *P. digitatum* foram controladas, em frutos de limões e tangerinas, por meio de imersão em calda de imazalil (500 e 1000 ppm), superando o benomyl, Rebelato e Monteiro (1984). O fungicida imazalil retardou em 73 horas a instalação da infecção em frutos inoculados com *P. digitatum* por meio de agulhas, tempo inferior ao benomyl, guazatine, etaconazole e prochloraz, Wild e Spohr (1977); maior eficiência de imazalil sobre benomyl e thiabendazol no controle de *P. digitatum* em 5 variedades de laranjas inoculadas, Laville et al. (1978). Outros autores: McDonald et al. (1991); Farooqi et al. (1991); Laville (1981). A importância da lignificação nos locais injuriados como fator de resistência às deteriorações foi demonstrada em laranjas quando estes frutos submetidos ao desverdecimento através de armazenamento sob umidade relativa de 90-96% e a 30°C por 2 a 3 dias, tiveram lignificados os tecidos previamente injuriados no flavedo. Estes locais injuriados e depois lignificados não foram invadidos pelo *Penicillium digitatum*, ao passo que o desverdecimento sob 55-75% de umidade relativa e 30°C não formou lignina e os frutos foram rapidamente invadidos pelo patógeno, Brown (1973).

Ressalte-se que a principal ação do imazalil é preventiva, suprimindo esporulações iniciais em frutos infectados. Sendo um concentrado emulsionável, possui atividade endoterápica

levemente sistêmica, interferindo na biossíntese do esterol, causando uma rápida alteração na quantidade e na natureza dos lipídeos componentes das células, acarretando com isso, uma redução na taxa de germinação e formação das hifas germinativas, Siegel e Ragsdale (1978), Van Tuyl (1977) e McCornack (1977).

#### 2.4 Uso do calor para controle de doenças pós-colheita de frutos cítricos

Em alguns casos, infecções imperceptíveis causadas por fungos patogênicos podem ser erradicadas ou atenuadas pelo aquecimento da superfície do hospedeiro, em alguns graus acima do limite de injúria, por poucos minutos. O uso do calor tem a vantagem do baixo custo, equipamento relativamente simples, além de não deixar resíduos nos frutos. Desta forma, infecções que possam estar latentes, podem ser erradicadas pelo tratamento a quente, através do aumento da temperatura das células superficiais do produto em um nível acima do calor mortal suportável pelo patógeno, ou seja, a temperaturas superiores às do máximo crescimento do parasita.

Inúmeros trabalhos com tratamento térmico em pós-colheita de frutos foram desenvolvidos, tais como: controle de *Phytophthora* em tomates, Fawcet (1922); controle de *Monilinia fructicola* em pêssegos, Kable (1958); controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de mamão e manga, Harvey (1960); Akamine (1967); Spalding et al. (1972); controle de *M. fructicola* e *R. stolonifer* em pêssegos, Wells et al. (1976); controle de *B. cinerea* em morangos e framboesas, Smoot et al. (1973); controle de *Gloeosporium perenans* em maçãs, Hardenburg (1977).

Há diferentes espécies de fungos que têm reações variadas ao tratamento térmico: conídios de *P. expansum* mostraram-se relativamente resistentes ao calor, exigindo 53°C durante 4 minutos para serem inativados ao nível de LD<sub>50</sub>. Pelo mesmo período, conídios de *M. fructicola*, *B. cinerea* e *C. herbarum* foram igualmente inativados sob calor variando de 43 a 47°C. Com pêssegos, um efetivo e prático tratamento consiste em imergi-los em água a 51,5°C por 3 minutos ou a 46°C durante 5 minutos, Smith et al. (1977). A água quente causou injúrias em pêssegos tratados por imersão quando foram depois armazenados em baixas temperaturas e nestas injúrias houve infecção de *Penicillium*, *Alternaria* e *Botrytis*, o que não ocorreu quando os pêssegos foram armazenados em temperatura ambiente após o tratamento, Smith et al. (1977).

Infecções latentes ou estabelecidas, em alguns casos podem ser erradicadas pelo tratamento de frutos e vegetais com água aquecida em torno de 50°C, mas é um processo que deve ser usado com cuidado, porque a intensidade do calor requerida para controlar a doença é muito próxima do limite de injúria do hospedeiro, Eckert (1977). Neste método, o processo de maturação, a presença do sabor e o flavor, não são afetados pelo tratamento térmico. Caso não se observe cuidadosamente a temperatura da água e o tempo nos limites suportáveis pela fruta, pode-se ter como consequência sua escaldadura. Experimentos realizados com mamão para se reconhecer qual melhor temperatura para um eficiente armazenamento, permitiram concluir que o tempo mais eficiente foi de 20 minutos de imersão e a temperatura foi de 48°C, Arisumi (1953); Chau et al. (1979).

Trabalhando com mangas com a mesma finalidade, a destruição de esporos de patógenos instalados na superfície dos frutos, o tratamento mais eficiente foi a imersão dos frutos

durante 15 minutos à temperatura de 51°C, Pennock et al. (1962). O mesmo efeito foi obtido usando-se 8 variedades de mangas, à temperatura de 55°C, mas somente por 5 minutos de imersão, onde não houve alteração na firmeza, perda de peso ou escaldadura, Hatton et al. (1964).

Quando se tentou introduzir a combinação de fungicida e água quente para se aumentar a eficiência no controle dos fungos, verificou-se que a imersão de mangas em solução de água quente a 55°C durante 5 minutos, juntamente com benomyl (1000 ppm de ingrediente ativo), embora proporcionasse controle satisfatório do desenvolvimento da antracnose e podridão marrom, houve acentuada redução do brilho natural da fruta, além de provocar o enrugamento da mesma, Jacobs et al. (1973).

Há tratamentos similares envolvendo além do benomyl, fungicidas como thiabendazole (TBZ), captafol e maneb, mas há inconvenientes quanto ao perfeito e correto estágio de desenvolvimento da fruta e também a exigência de que sejam feitas cerca de 3 pulverizações espaçadas de 15 dias, antes que se faça a colheita, antecedendo a imersão em água quente e fungicida, para que se obtenha o controle desejado, Bleinroth et al. (1973/1974).

Uma variação da imersão em água aquecida para se controlar patógenos pós-colheita consiste no uso de aquecimento intermitente para armazenamento comercial em longo tempo: usando-se limões e a técnica de aquecimento dos frutos por 7 dias a 13°C e depois resfriados por 21 dias a 2°C e depois recobri-los com cera misturada com os fungicidas TBZ e imazalil, para finalmente armazená-los em caixotes plásticos durante 5 meses. Após este período os limões foram embarcados em navios para a Europa em câmaras frias a 10°C, onde foram comercializados com excelente

aparência e firmeza. Resultados semelhantes foram obtidos com grapefruits, tomate, batata, pimentão, pepino e pêssegos, Cohen (1988).

Presumivelmente o calor mata os patógenos através da desnaturação das enzimas e outras proteínas, cujo resultado depende da conjugação de temperatura e tempo de exposição. Evidentemente o estado fisiológico influencia a inativação. Assim é que, esporos mostram maior sensibilidade após germinados. Por exemplo, esporangiosporos recém-germinados de *Rhizopus stolonifer* foram tratados por 4 minutos e a temperatura requerida para inativar metade da população ( $LD_{50}$ ) foi de somente 39°C, ao passo que, antes de sua incubação exigiram 49°C, Van der Berg et al. (1977). Em adição à temperatura e ao tempo de tratamento, a umidade tem efeito marcante no poder letal do processo e pode-se afirmar que o calor úmido tem este potencial por 2 motivos, uma vez que as enzimas se coagulam mais rapidamente quando hidratadas e também porque o calor é transmitido muito mais rapidamente em ar úmido. O vapor é particularmente efetivo porque o calor latente de vaporização se transfere para o fruto quando se condensa sobre ele, Wells et al. (1976).

## 2.5 Armazenamento sob baixas temperaturas

É um dos mais efetivos e práticos métodos para retardar o desenvolvimento de deteriorações em frutos e vegetais com infecções instaladas, que não podem ser erradicados por outros tratamentos pós-colheita, Eckert et al. (1977). Entretanto, com raras exceções, a baixa temperatura não exerce um permanente efeito sobre as células do patógeno em infecções quiescentes, mas

meramente retarda seu desenvolvimento até um certo ponto após a colheita. Patógenos com exigência de alta temperatura, como *geotrichum* e *erwinia*, podem ser inibidos quase indefinidamente sob armazenamento próximo de 0°C, mas produzirão doenças rapidamente quando o produto retornar a altas temperaturas no amadurecimento ou na comercialização, Miller (1988).

Limões colhidos de acordo com os padrões de cor, tamanho, teor de suco e composição e depois armazenados a 10°C por 40 dias, desenvolveram coloração atraente e favorável à comercialização, além de terem sua qualidade interna melhorada e aumentado sua porcentagem de suco. Também não ocorreu injúria pelo frio (C.I.) durante o período estudado, Castro-Lopes et al. (1981); Chalutz et al. (1981).



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Procedimento, colheita e seleção dos frutos

As limas ácidas "Tahiti" (*Citrus latifolia*, Tanaka) foram colhidas de cultura com 6 anos de idade em 7 de fevereiro de 1995, na fazenda Serinf, município de Luminárias, cultura esta submetida aos tratamentos e tratos culturais usuais (capina e adubação com NPK) e cultivada em solo com textura areno-argilosa. Nos últimos 60 dias que antecederam a colheita, não foram efetuadas pulverizações com fungicidas e inseticidas. Os frutos apresentavam-se em seu máximo grau de maturidade fisiológica, ou seja, desenvolvidos com a casca totalmente verde, e foram colhidos em toda a extensão da copa das árvores.

Por seleção visual foram descartados os frutos que apresentavam danos mecânicos, defeitos de má formação, sintomas de moléstias ou mesmo atípicos quanto ao tamanho ou grau de maturidade e maturação. Após colhidos, os frutos foram lavados em água corrente para a retirada do calor vital e então transportados ao laboratório do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA. No dia seguinte os frutos foram desinfestados por meio de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,025% durante 1 minuto. Em seguida os frutos foram lavados por meio de regador e foram secos à sombra, sendo então selecionados por tamanho (cerca de 104 g,

1. A cultura original foi obtida a partir de frutos de lima Tahiti recobertos por conídios, após inoculação artificial com incubação de 12 dias;
2. Para se certificar da pureza da colônia usada na inoculação, foram feitas 3 sub-culturas em meio BDA, obtendo-se colônias homogêneas e típicas da espécie;
3. Após a purificação, esporos foram produzidos definitivamente em placas de Petri em meio de batata, dextrose e ágar (BDA) durante 10 dias em câmara de incubação a 22°C;
4. Com o auxílio de um pincel esterilizado, conídios foram liberados da colônia usando-se água esterilizada;
5. De posse da suspensão procedeu-se à filtragem da mesma em gaze com o intuito de eliminar aglomerados de esporos e fragmentos de hifas que iriam dificultar sua contagem;
6. A esta suspensão filtrada adicionou-se duas gotas do agente dispersante "Tween 20";
7. Com o auxílio de microscópio e hemacitômetro (câmara de Neubauer) ajustou-se a concentração da suspensão para  $1 \times 10^8$  esporos/ml.

### 3.4 Inoculação

Os frutos foram separados em 80 lotes de 30 frutos cada, compreendendo 16 tratamentos e 4 repetições por tratamento. As limas ácidas destinadas a inoculação foram feridas com auxílio de agulha hipodérmica, perfazendo cerca de 6 furos com profundidade de 2,0 mm e espaçados cerca de 3 cm, atingindo somente o flavedo, tangenciando o diâmetro equatorial do fruto. Após a efetivação dos ferimentos fez-se o esfregação dos frutos com algodão embebido na

suspensão de conídios. Em seguida, acondicionados em sacos plásticos perfurados na parte superior, os frutos inoculados foram mantidos em câmara incubadora, à temperatura de 20°C durante 36 horas, para induzir a penetração e início de infecção de *Penicillium digitatum*.

### 3.5 Tratamentos químicos e térmicos dos frutos

Findo o período de incubação, os frutos inoculados e os demais, destinados aos outros tratamentos, foram submetidos aos 5 diferentes tempos de imersão em água a 46°C e imersão nas caldas de imazalil 500 CE e thiabendazol, na concentração de 600 ppm, durante 2 minutos. Finda a operação de tratamentos, as limas ácidas foram armazenadas em câmara fria. Os frutos foram acondicionados em caixas de papelão perfuradas, apropriadas para viagens a longas distâncias em containers refrigerados, contendo cada uma, 30 frutos, onde cada local foi previamente sorteado por aleatorização, na temperatura de  $10 \pm 1^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $90 \pm 5\%$ , por um período de 20 dias.

### 3.6 Delineamento experimental

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $8 \times 2$  (8 tipos de tratamentos de frutos e duas formas de inoculação) com 4 repetições, constando cada repetição de 30 frutos, perfazendo um total de 3840 frutos e mais 240 frutos para caracterização inicial. Para efeito de comparação das médias, o quadro de análise de variância (ANAVA) apresentou a seguinte forma:

---

Causas de variação	Graus de liberdade
Tratamentos (T)	7
Inoculação (I)	1
T x I	7
Erro	48
<hr/>	
Total	63

---

### 3.7 Avaliações

Todas as análises foram realizadas utilizando-se técnicas testadas ou adaptadas e padronizadas para este tipo de trabalho. Para a caracterização inicial dos frutos foram realizadas análises 24 horas após a colheita, características estas capazes de sofrer alterações ao longo do armazenamento nas 4 repetições das unidades experimentais de cada tratamento. Assim é que, nos frutos armazenados sob refrigeração, as avaliações foram feitas por 20 dias de armazenamento. Foram efetuadas avaliações físicas nos frutos íntegros e determinações químicas e físico-químicas no suco, logo após sua extração.

### 3.7.1 Peso dos frutos

Foi determinado em balança semi-analítica, no Laboratório de Análises de Produtos Vegetais do Departamento de Ciência dos Alimentos.

### 3.7.2 Avaliação da infecção por *Penicillium digitatum*

Decorridos os 20 dias de armazenamento em câmara fria, os frutos foram retirados das caixas e avaliados visualmente quanto à presença de formação de micélio, consequência da germinação de esporos do patógeno. Os resultados foram expressos em porcentagem de frutos infectados para cada tratamento testado como possível erradicador de infecções instaladas.

### 3.7.3 Determinações físicas: cor da casca

Por ser um fenômeno sensorial, deve ser avaliado por uma metodologia que detecte as transformações ocorridas ao longo do armazenamento dos frutos e hortaliças, Gnanasekharan et al. (1992). A escala subjetiva de cor varia de 0 a 6 graus, relacionando-se as faixas de coloração do Munsell Book of Color (1976) com o grau de maturação do fruto em cada tempo de avaliação.

A escala foi assim construída:

Grau	Características
0	Verde forte; fruto fisiologicamente desenvolvido, próprio para o consumo
1	Verde médio, homogêneo
2	Verde claro com percepção das primeiras nuances amareladas (Break)
3 (limite)	Verde amarelado (predominância do verde)
4	Amarelo esverdeado (predominância do amarelo)
5	Amarelo vívido
6	Amarelo amarronzado (oxidação de pigmentos típico de senescência)

A análise foi realizada em cada fruto da unidade experimental e as características descritas no grau 3 da escala correspondem ao limite de aceitação da lima ácida "Tahiti" pelo consumidor.

#### 3.7.4 Rendimento do suco (ml/100 g fruto)

Determinado após extração em espremedor industrial, dos frutos cortados transversalmente, medindo-se o volume do suco obtido e dividindo-se o mesmo, pelo peso dos frutos, segundo Bleinroth et al. (1973).

#### 3.7.5 Determinações físico-químicas e químicas

Sólidos Solúveis Totais (SST) - Foram determinados por refratometria, utilizando-se Refratômetro Abee, segundo técnica da AOAC (1970), expressando-se os resultados em porcentagem.

Acidez Total Titulável (ATT) - Determinada segundo

técnica do Instituto Adolfo Lutz (1985), com os resultados sendo expressos em g de ácido cítrico por 100 ml de suco.

pH - Foi medido em potenciômetro Micronal com eletrodo de membrana de vidro, segundo técnica da AOAC (1970).

Vitamina C Total (Ácido Ascórbico + Ácido Dehidroascórbico: mg/100 ml) - Determinada por método colorimétrico de Roe e Kueter citados por Strohecker e Henning (1967).

Açúcares Totais (%) - Foram extraídos pelo método de Lane Enyon citado na AOAC (1970) e identificados pelo método Somogy, modificado por Nelson (1944).

Pectina Solúvel e Total (mg/100 g) - Foram extraídas de acordo com a técnica de McCready e McComb (1952) e determinadas segundo a técnica de Bitter e Muir (1962).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização dos frutos

A caracterização inicial das limas ácidas "Tahiti", 24 horas após terem sido colhidas encontra-se na Tabela 1. Após seleção criteriosa para descarte de frutos injuriados, descoloridos e de tamanho anormal, constatou-se que os mesmos apresentavam aparência túrgida, casca lisa e brilhante, cor verde homogênea e forte, conforme os níveis 0 e 1 da escala de pontos apresentada na avaliação subjetiva de cor, item 3.3.3. Os valores médios relatados por outros autores para o peso têm sido de 111,0 g (Cardinali e Seiler, 1958) e 103,0 g (Kefford, 1959) e o rendimento de suco entre 44 e 48% em relação ao peso do fruto inteiro (Spalding e Reeder, 1972).

Na Tabela 1 estão mostradas também as características físico-químicas e químicas dos frutos em avaliação inicial, além dos valores encontrados na literatura específica com os respectivos autores dos trabalhos.



**TABELA 1 - Características físicas, físico-químicas e químicas das limas ácidas "Tahiti" no estágio de maturidade fisiológica, 24 horas após a colheita.**

Características	(*) Valores médios $\pm$ D.P.	Dados de literatura	Autores
Peso (g)	104,63 $\pm$ 5,23	111,00 103,00	Cardinali e Seiler Kefford
Rendimento em suco (ml/100 g)	38,46 $\pm$ 2,89	44,00 - 48,00	Spalding e Reeder
Cor (Munsell Book of Color nível 0 e 1)	Verde forte		
Sólidos solúveis totais (SST) (%)	7,28 $\pm$ 0,15	7,8	Slutzky
Acidez titulável total (ATT) (g ácido cítrico/100 ml suco)	5,81 $\pm$ 0,092	4,94 - 8,32	Swisher e Swisher
Relação SST/ATT	1,25 $\pm$ 0,039	1,23	Swisher e Swisher
pH	2,23 $\pm$ 0,093	1,70 - 3,20	Swisher e Swisher
Vitamina C total (mg/100 ml suco)	46,47 $\pm$ 3,22	29,00 - 36,00 (ác. ascórbico)	Bleinroth et al.
Pectina solúvel (mg/100 g)	27,80 $\pm$ 3,63	-	
Pectina insolúvel (mg/100 g)	-	36,47	Kefford
Pectina total (mg/100 g)	81,59 $\pm$ 8,32	-	
Relação pectina solúvel/pectina total (%)	34,07 $\pm$ 0,88	-	
Açúcares redutores (% glicose)	0,885 $\pm$ 0,122	-	
Açúcares não redutores (% sacarose)	0,210 $\pm$ 0,035	-	
Açúcares totais (g glicose/100 ml suco)	1,51 $\pm$ 0,128	0,00 - 1,74	Swisher e Swisher

\* Valores médios e o desvio padrão obtidos na avaliação de frutos.

#### 4.2 Avaliação da eficiência dos tratamentos químicos e físicos no controle de infecções por *Penicillium digitatum*

Conforme pode se constatar pela Tabela 2, as infecções somente ocorreram em frutos submetidos a inoculação, para os tratamentos Controle, thiabendazol e imazalil, com porcentagens respectivamente de controle de 0, 0 e 87%, enquanto que o tratamento térmico em diferentes tempos de imersão teve eficiência de 100% no controle da esporulação de *P. digitatum*.

A perda de eficiência do fungicida thiabendazol (Tecto 600) já foi constatada por diversos pesquisadores (Gutter, 1981; Smoot et al., 1973; Namesny e Decoud, 1988; Kaplan et al., 1979), em experimentos onde se comparou várias formas de aplicação deste fungicida, trabalhando também com diferentes espécies de frutos cítricos e também em experimentos comparando o thiabendazol com outros fungicidas. Nestes trabalhos foi constatado o desenvolvimento de resistência do *Penicillium digitatum*, tanto em raças originais, quanto em cepas posteriormente geradas. No presente estudo, o fungicida imazalil, considerado um defensivo de alta eficiência no controle de infecções recém-instaladas de *P. digitatum*, de ação sub-cuticular (Tuset et al., 1981), enquanto exercia eficiente controle da esporulação do inóculo na casca dos frutos, não controlou o desenvolvimento do fungo nos tecidos da polpa. Conseqüentemente, após os frutos terem completado o tempo de armazenamento e retornarem à condição ambiente, houve rápida descoloração da casca (nível 6) em cerca de 13% dos frutos, onde através de exames efetuados no laboratório de Fitopatologia,

constatou-se infecção endógena por *P. digitatum*. Isto pode ser explicado em função da barreira química residual do produto, que impedindo a germinação dos esporos na superfície dos frutos, não impediu seu desenvolvimento no endocarpo, devido à ausência do fungicida naquela região. Ressalta-se a eficiência de 100% para todos os tratamentos que envolveram a imersão em água aquecida a 46°C em todos os períodos de exposição ao calor (Figura 1). Esta ausência de diferença na eficiência do controle da infecção ("bolor verde") entre os tratamentos térmicos permite indicar o tempo de 5 minutos como o mais conveniente, por ser de menor duração, proporcionando menor gasto de tempo, menor custo com energia, menor manuseio dos frutos, redução do intervalo entre as operações, enfim uma economia de escala no processamento erradicativo de infecções instaladas.

Quanto aos frutos não inoculados, todos os tratamentos exerceram controle efetivo (Tabela 2) contra uma possível contaminação por esporos que pudessem já estar alojados nos frutos, advindos da cultura ou que pudessem contaminar os mesmos no próprio ambiente de desenvolvimento do experimento.

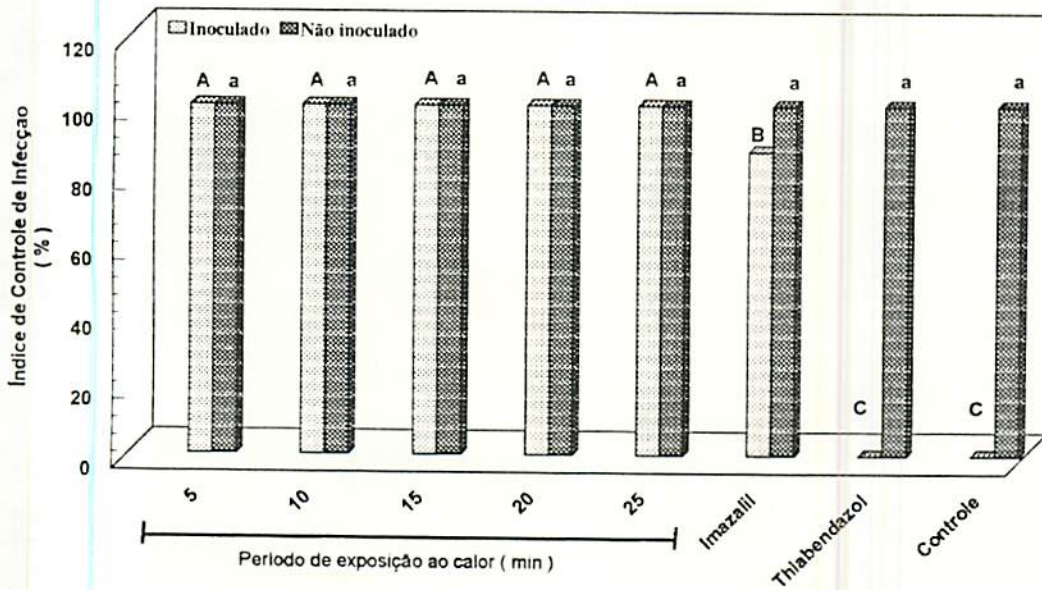


Figura 1 Índice de Controle de Infecção (%) por *Penicillium digitatum* em Limas Ácidas "Tahiti" após armazenamento a  $10 \pm 1^\circ\text{C}$  e U.R. igual a  $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias. Colunas com as mesmas letras maiúsculas e minúsculas no topo, com inóculo e sem inóculo, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV = 1,60 %

### 4.3 Avaliação de cor

Os resultados referentes aos valores de avaliação de cor encontram-se na Figura 2. Observa-se ter havido diferenças acentuadas entre os tratamentos.

### 4.4 Relação entre alteração da cor e ataque fúngico

Na procura de um possível relacionamento entre a evolução na escala subjetiva de cores (valores 0 a 6) da casca das limas ácidas "Tahiti" e o grau de infecção das mesmas por *P. digitatum*, não foi possível estabelecer nenhuma correlação no presente caso. Assim é que, como já foi mencionado no item 3.3.3, relativo à avaliação subjetiva de cor, a maior parte dos frutos enquadrou-se no nível 3, padrão aceitável pelo consumidor, ao final do armazenamento. Por outro lado, os frutos que sofreram infecção pelo patógeno, mostraram toda a evolução típica dos frutos em processo de invasão pelo micélio, além do que, o intervalo decorrido entre a germinação dos esporos e a formação do bolor na superfície da casca, é muito curto, demorando em média, 3 a 4 dias, não propiciando sintomas ou alterações superficiais neste intervalo que permitissem estabelecer tal relação.

A simples comparação entre a coloração predominante das limas ácidas após 24 horas de sua colheita (Tabela 1) e após decorridos 20 dias de armazenamento em câmara fria (10°C e UR 95%) possibilita inferir que o processo de degradação da clorofila e a síntese simultânea de carotenóides independeram do fator temperatura, mesmo se sabendo que a temperatura baixa reduz a atividade enzimática, afetando o metabolismo de degradação da clorofila. É importante salientar a notável rapidez com que os frutos do controle e os frutos submetidos ao tratamento com thiabendazol tornaram-se amarronzados, recobertos por um micélio de cor verde oliva, em função da infecção por *P. digitatum*. Em consequência desta degeneração total da casca, flavedo e albedo, os frutos submetidos a tais tratamentos receberam a pontuação máxima na avaliação subjetiva, 90 pontos (Figura 2). Observando-se a Figura 2, é possível deduzir que os tratamentos de imersão térmica, sem exceção, não exerceram alterações na coloração dos frutos, não apresentando diferenças estatísticas entre si. Porém, os frutos imersos em suspensão de imazalil (1000 ppm) obtiveram pontuação elevada (60,00 pontos), valor menor somente que os frutos do tratamento controle e thiabendazole (90 pontos). Esta constatação permite deduzir a possibilidade de o fungicida imazalil ter de alguma forma interferido no aumento do metabolismo de degradação da clorofila e formação de pigmentos carotenóides. Sabendo-se que o choque frio e baixas temperaturas promovem a retenção da cor verde, Inaba e Crandal (1986), no presente trabalho o armazenamento dos frutos a 10°C não reteve esta degradação. Este fato deveu-se possivelmente ao choque térmico (46°C) a que os frutos foram submetidos.

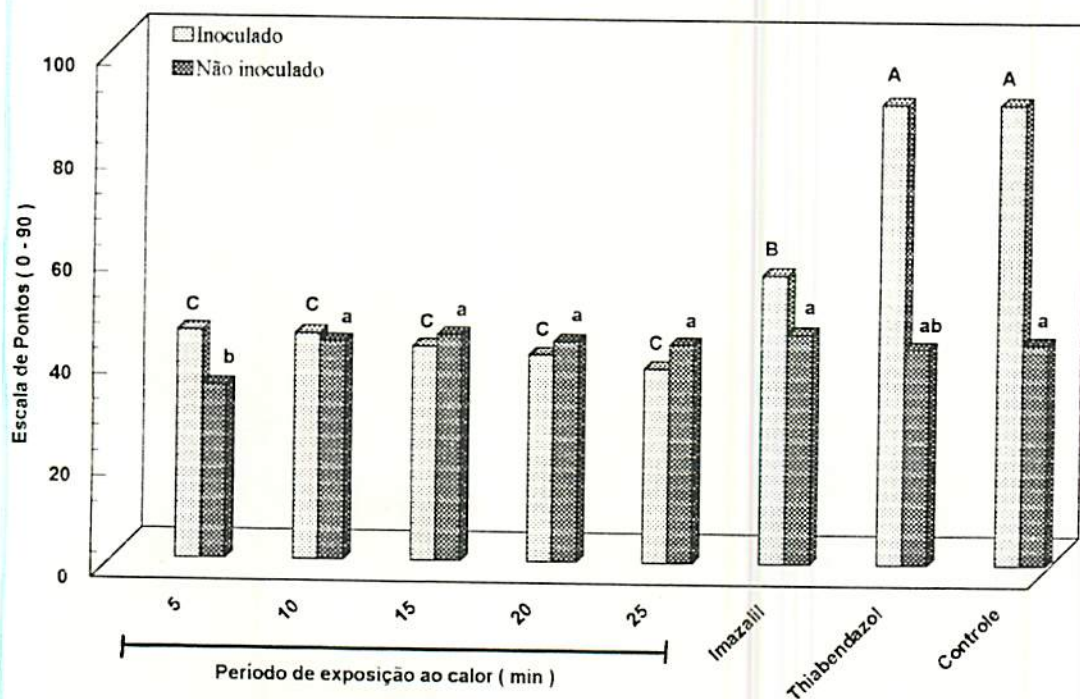


Figura 2. Valores médios das avaliações de cor de Limas Ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1$  °C e U.R. igual a  $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias. Colunas com as mesmas letras maiúsculas e minúsculas no topo, com inóculo e sem inóculo, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV = 7,51%

É importante que se ressalte que mesmo após permanecerem 20 dias em câmara, cerca de 80% dos frutos mantiveram o grau 3, nível de cor considerado como limite aceitável pelo consumidor (Tabela Munsel, item 3.3.3) para limas ácidas "Tahiti".

No tocante aos frutos que não foram inoculados, o comportamento da evolução da cor não foi diferente; pequenas diferenças nas pontuações foram tão insignificantes, podendo-se afirmar não ter havido diferenças estatísticas entre os tratamentos. Mas, deve ser ressaltado que a exemplo dos frutos inoculados, comparativamente a maior pontuação obtida pelos tratamentos foi com o fungicida imazalil (1000 ppm), que com esta particularidade deixa aberta uma discussão futura a uma possível interveniência deste produto quanto à dinâmica de degradação da clorofila. Ao se comparar frutos com e sem inóculo, nota-se que em alguns tratamentos a inoculação acelerou a degradação da cor original dos frutos, demonstrando o efeito da injúria em ativar os processos metabólicos devido à produção de etileno nas áreas injuriadas.

#### 4.5 Sólidos solúveis totais (SST) e relação SST/ATT

A Figura 3 apresenta os resultados dos teores de SST para os sucos dos frutos submetidos a inoculação como também para os não inoculados. Pode-se verificar que apesar de variações significativas (Tabela 1B apêndice), pouca alteração ocorreu entre os tratamentos. Mesmo assim, constata-se que os maiores valores desta característica foram observados nos frutos onde houve alta



infestação do patógeno e a conseqüente degradação da casca, flavedo e albedo (thiabendazole e controle), com os valores 7,67 e 7,25% respectivamente. É possível que a infecção tenha acelerado a maturação pós-colheita posto que certas variedades de frutos cítricos prosseguem o amadurecimento acumulando sólidos solúveis durante o armazenamento segundo Eaks (1964); Purvis (1983); Echeverria e Ismail (1987), sendo que este aumento é seguido de um declínio simultâneo no conteúdo de ácidos. Estes ácidos são por sua vez convertidos em açúcares, conversão esta possível através da via glicolítica, que ocorre nas primeiras semanas após a colheita (Echeverria e Valich, 1989). Somente após a conversão é que passam a atuar as enzimas responsáveis pelo catabolismo dos açúcares. Entre as principais mudanças que ocorrem nas fases de maturação e senescência estão as alterações na permeabilidade das membranas, alterações químicas dos carboidratos, ácidos orgânicos, estrutura da parede celular e a solubilização das pectinas (Chitarra e Chitarra, 1990). Nos frutos cítricos, a degradação da parede celular (hemicelulose e pectinas da parede) das vesículas do suco na polpa causa a liberação de componentes solúveis que irão interferir na composição e teor de SST. A degradação da parede celular deveu-se à ativação das enzimas hidrolíticas e às enzimas pectolíticas, poligalacturonase (PG), pectina metil esterase (PME) e celulase, que degradando as pectinas, provocaram o aumento do teor de sólidos solúveis totais (SST). Um outro fator a ser considerado seria a perda de água pelos frutos, que também poderia provocar o aumento da concentração dos SST.

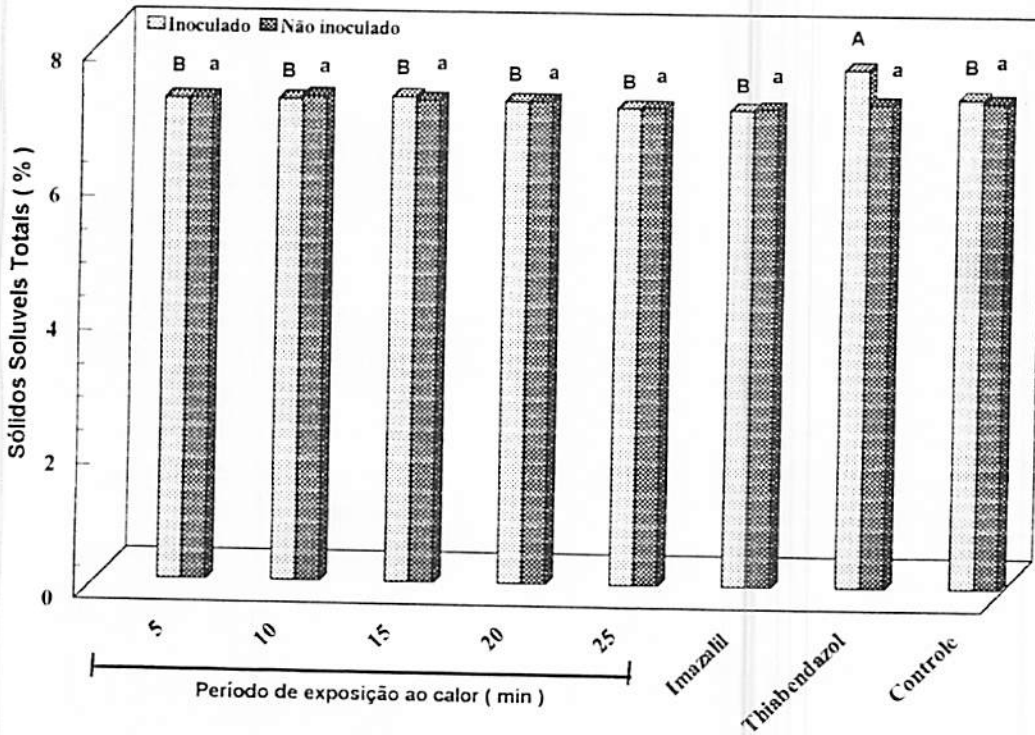


Figura 3. Teores médios de Sólidos Solúveis Totais ( SST ) de Limas Ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1$  °C e U.R. igual a  $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias.

Colunas com as mesmas letras maiúsculas e minúsculas no topo, com inóculo e sem inóculo, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

CV = 1.70 %

Observa-se que nos frutos não inoculados e submetidos aos mesmos tratamentos (Figura 3), a ausência do fator inóculo levou a um comportamento homogêneo entre todos os tratamentos, e fazendo com que não houvesse diferenças significativas entre médias estatísticas dos teores encontrados nos diversos tratamentos. Comparando-se o teor de SST determinado nos frutos analisados 24 horas após a colheita, 7,28% (Tabela 1), e a média nos frutos neste trabalho (7,13%), nota-se que os valores são ligeiramente inferiores aos também obtidos por Slutzky et al. (1981), que foram de 7,80%. É importante ressaltar que a integridade das paredes celulares dos componentes essenciais do fruto, é fator preponderante à normalidade do processo metabólico ao longo do armazenamento dos mesmos.

#### 4.6 Acidez total titulável (ATT)

A ATT das limas ácidas ao longo do armazenamento em câmara fria e submetidas ao *P. digitatum* não foi significativamente afetada ( $P < 0,01$ ) pelos fatores tratamentos, mas foi afetada pelo fator inóculo, além da interação tratamento e inóculo, embora não apresentasse diferenças estatísticas entre os tratamentos (Figura 4 e Tabela 1B apêndice). Mesmo mostrando diferenças pequenas, é possível constatar na Figura 5 que os valores menores ocorreram nos tratamentos referentes ao controle, imazalil e thiabendazol e os mais elevados nos 5 períodos de imersão, mas mesmo assim a amplitude de variação que foi de 5,46-5,93%, contemplou o teor médio da ATT encontrada para os frutos analisados 24 horas após a

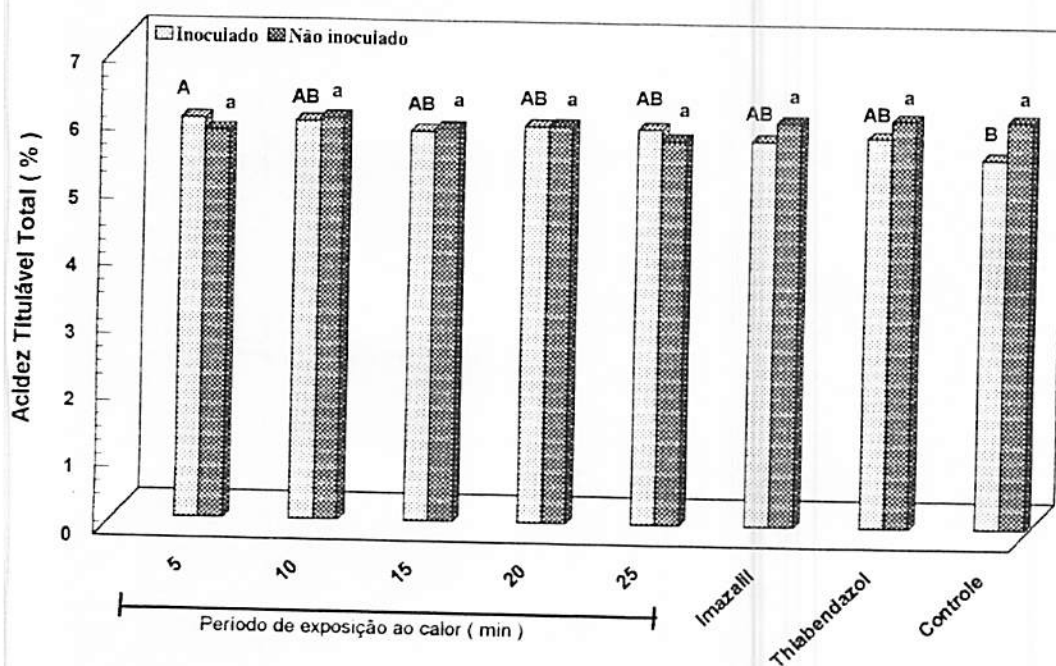


Figura 4. Valores médios da Acidez Titulável Total ( ATT ) de Limas Ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1$  °C e U.R. igual a  $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias.

Colunas com as mesmas letras maiúsculas e minúsculas no topo, com inóculo e sem inóculo, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.  
CV = 3.56 %

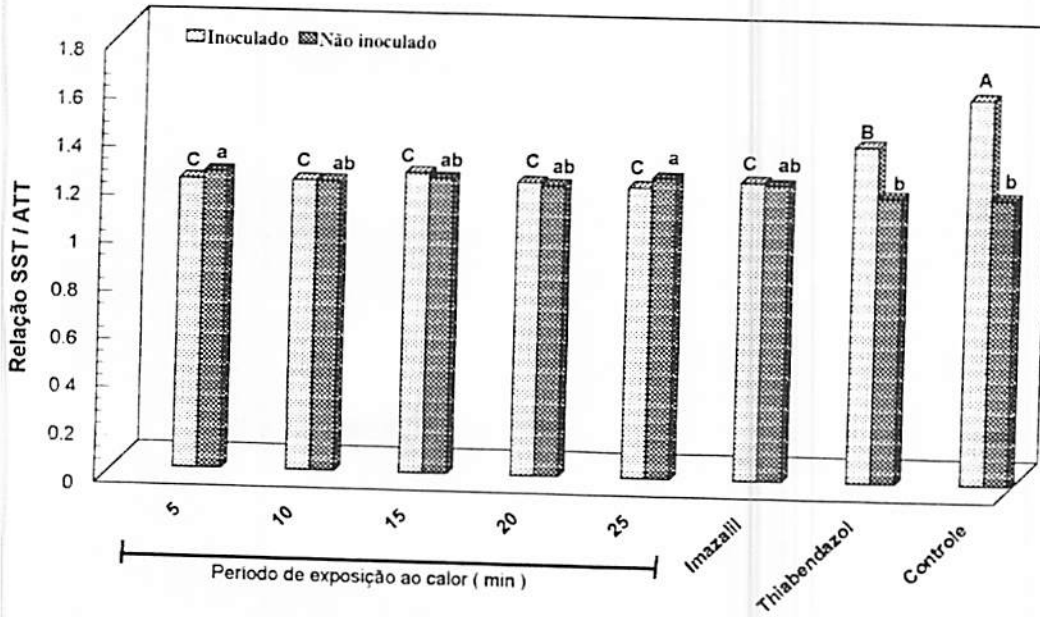


Figura 5. Valores médios da Relação Sólidos Solúveis Totais ( SST ) / Acidez Titulável Total ( ATT ) de Limas Ácidas Tahiti” armazenadas a  $10 \pm 1$  °C e U.R. igual a  $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias.

Colunas com as mesmas letras maiúsculas e minúsculas no topo, com inóculo e sem inóculo, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.  
CV = 1.73 %

em função da evolução da maturação, aumento da concentração devido à perda de água e também em consequência de elevada produção de citromalato a partir do piruvato, gerando a síntese de ácidos orgânicos, como o ácido cítrico (Bogin e Wallace, 1966). Porém, a ausência deste aumento possivelmente deveu-se à baixa temperatura na câmara fria e alta umidade relativa. A baixa temperatura pode ter reduzido as atividades metabólicas, particularmente o metabolismo dos açúcares, diminuindo a necessidade de formação de ácidos orgânicos para atuarem como substratos no processo respiratório.

Em se tratando dos frutos não inoculados, a alteração foi menor ainda, não havendo diferenças entre médias dos 8 tratamentos. O efeito dos tratamentos foi significativo ( $F > 0,01$ ), assim como o efeito de inóculo e a interação entre tratamento e inóculo (Tabela 1B, apêndice).

A relação SST/ATT é uma das melhores formas de se avaliar o sabor dos frutos, dando uma idéia de equilíbrio entre estes dois componentes e auxiliando a compreensão do processo metabólico dos frutos. Assim é que, valores maiores na relação SST/ATT refletem uma aceleração do processo metabólico natural ou então um incremento no metabolismo anaeróbico ou fermentativo (Bruemmer et al., 1977). Através da Figura 4, constata-se que os valores mais elevados nesta relação, nos frutos submetidos a inoculação com *P. digitatum*, foram justamente os encontrados nos tratamentos controle (1,59) e thiabendazol (1,39), ambos superiores ao valor encontrado nos frutos analisados 24 horas após a colheita (1,25). Os demais tratamentos, além de apresentarem valores menores, não mostraram diferenças estatísticas entre si. Tal comportamento indica a

possibilidade de que as deteriorações provocadas pela invasão dos tecidos da casca, flavedo e albedo pelo patógeno inoculado, acelerou o processo metabólico, além de induzir a fermentação anaeróbica no interior dos frutos. Daí, em função da degradação da hemicelulose e das pectinas da parede celular das vesículas do suco, deu-se a liberação e elevação do teor de compostos solúveis. Em contrapartida, os mesmos tratamentos aplicados aos frutos não inoculados, mostraram os menores índices na relação SST/ATT para os tratamentos controle e thiabendazol (1,18%), indicando que a presença do inóculo acelera o processo de maturação.

#### 4.7 Açúcares totais

Analisando-se primeiramente os frutos submetidos a inoculação, observa-se que houve diferenças significativas entre os teores de AT dos tratamentos com os frutos inoculados com *P. digitatum* e armazenados em câmara fria (Tabela 1C, apêndice). Através da Figura 6 pode-se inferir que os frutos do tratamento thiabendazol apresentaram o menor teor de açúcares totais (0,86%), o que não ocorreu com o tratamento controle (1,015%), embora ambos os tratamentos propiciassem intensa infecção nos frutos pela inoculação realizada. Com relação aos demais tratamentos, os teores encontrados não mostraram qualquer uniformidade entre si.

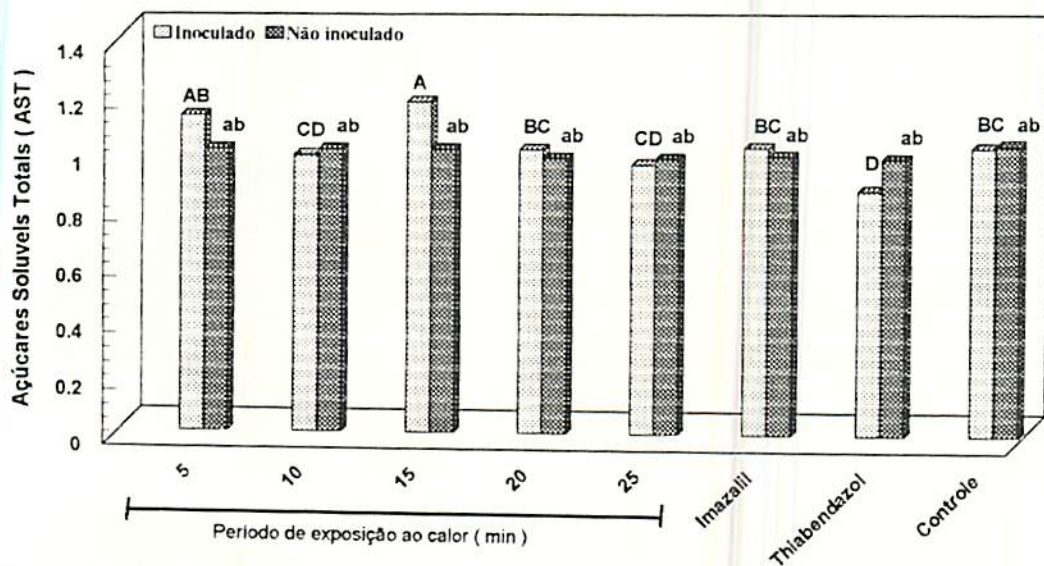


Figura 6. Teores médios de Açúcares Totais ( AT ) de Limas Ácidas “Tahiti” armazenadas a  $10 \pm 1$  °C e U.R. igual a  $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias. Colunas com as mesmas letras maiúsculas e minúsculas no topo, com inóculo e sem inóculo, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV = 5,84 %



Quando também se analisa os teores de AT de frutos inoculados e não inoculados e posteriormente armazenados em câmara fria, com o valor médio dos frutos analisados 24 horas após colhidos (1,51 g açúcares totais/100 ml de suco), os valores encontrados neste trabalho situaram-se na faixa de 0,86 a 1,17 g/100 ml inferiores aos do dia da colheita, indicando haver decréscimos nos açúcares com o armazenamento. Em vista da pequena variação ocorrida nos teores de açúcares dos frutos dos tratamentos não inoculados (Figura 6) menor que a sofrida pelos inoculados, pode-se deduzir que a ausência de inóculo nos frutos possivelmente possa ter proporcionado uma menor instabilidade nos teores de açúcares totais, o que permite inferir que em tecidos isentos de fatores que promovam transformações traumáticas e que provoquem mudanças que ativem a respiração e a atividade de enzimas hidrolíticas nos frutos, os valores destes açúcares tendem a não sofrer grandes alterações.

É importante salientar que o teor de açúcares não é um fator usado para se avaliar a qualidade em limas ácidas "Tahiti", uma vez que os açúcares correspondem a apenas 20-25% dos SST dos frutos e alcançam níveis de 0 a 1,74 g/100 ml, ao passo que a acidez corresponde a 70-80% dos SST (Swisher e Swisher, 1971). É sabido também que os açúcares são uma das principais fontes de energia dos fungos, que em presença de níveis adequados deste carboidrato podem acelerar seu crescimento e formação de conídios. Por outro lado, a presença de açúcares pode também reduzir a toxicidade de compostos anti-fúngicos (Sitterly e Shay, 1960) e Schulz (1978).

#### 4.8 Vitamina C total

Os resultados encontrados para os frutos submetidos a inoculação estão apresentados na Tabela 1A apêndice e Figura 7, onde pode-se observar ter havido diferenças significativas entre os diferentes tratamentos, quais sejam: controle, tratamentos químicos e imersão em água aquecida. Dentre eles, os tratamentos que apresentaram frutos com sucos com maiores teores de vitamina C total foram os tratamentos controle e a imersão em solução com o fungicida thiabendazol (Tecto 600). Os frutos destes tratamentos alcançaram os níveis de 49,96 e 44,68 mg/100 ml de suco, respectivamente. Ressalta-se que o teor de vitamina C total encontrado nos frutos após 24 horas de colheita foi de 46,47 mg/100 ml, e com base nesses valores pode-se inferir que a intensa esporulação e a conseqüente decomposição do flavedo e albedo dos frutos podem ter provocado a inibição de enzimas responsáveis pela oxidação enzimática do ácido ascórbico, além de carrear esta vitamina do flavedo e albedo para o suco dos frutos, elevando por conseguinte seu teor. Além disso, é sabido que os maiores teores de ácido ascórbico, dehidroascórbico e pectina em frutos cítricos estão contidos nas regiões do flavedo e albedo, Ting e Attaway (1970); Kefford (1966). Os níveis encontrados nestas condições, são superiores também aos pesquisados por Swisher e Swisher (1971) e também por Bleinroth et al. (1973), que encontraram teores entre 29 e 36 mg/100 ml de ácido ascórbico.

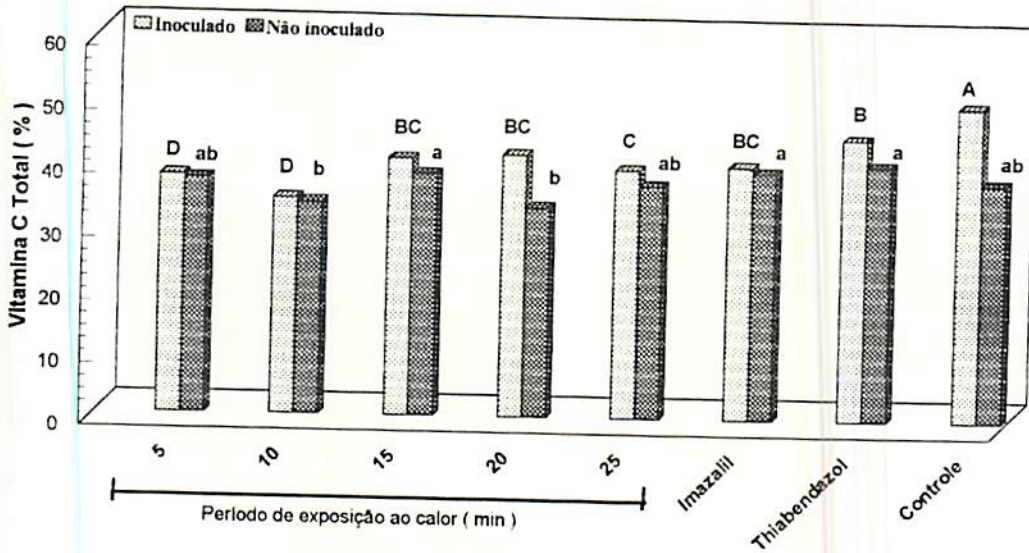


Figura 7. Valores médios de Vitamina C Total ( Ácidos Ascórbico + Dihidro-ascórbico ) de Limas Ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1$  °C e U.R. igual a  $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias. Colunas com as mesmas letras maiúsculas e minúsculas no topo, com inóculo e sem inóculo, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV = 5,36 %

A superioridade dos resultados encontrados no presente trabalho se deve ao fato dos mesmos serem expressos em vitamina C total (ácido ascórbico + ácido dehidroascórbico). Quanto aos diferentes períodos de imersão, pode-se observar que os maiores teores de vitamina C total para este grupo de tratamento (imersão térmica) foram encontrados nos tempos 15, 20 e 25 minutos, sugerindo que o calor prolongado pode ter inibido a atividade das enzimas responsáveis pela oxidação do ácido ascórbico (ácido ascórbico oxidase). Por outro lado, para os frutos submetidos aos mesmos tratamentos, mas sem inoculação, não houve diferença estatística em 6 dentre os 8 tratamentos, quais sejam: controle, imersão em suspensão de imazalil e suspensão de thiabendazol e os tempos de 5, 15 e 25 minutos, cujos teores (ác. ascórbico) sempre estiveram superiores aos relatados (ácido ascórbico) pela literatura (Swisher, 1971; Bleinroth et al., 1973). Comparando-se tais valores com os obtidos nos tratamentos com frutos inoculados, observa-se que os mesmos são inferiores e isto permite-nos deduzir que com a ausência do inóculo e a conseqüente integridade do flavedo e albedo, não houve carreamento de substâncias destes compartimentos, incluindo-se aí o ácido ascórbico, para o suco dos frutos.

#### 4.9 Pectina solúvel (mg/100 ml suco) e relação pectina solúvel/pectina total

Através da Tabela 1D apêndice pode-se constatar que os efeitos dos tratamentos, efeitos do inóculo e da interação

tratamento/inóculo foram significativos ( $P < 0,01$ ) e os dados da Tabela 1D apêndice mostram que não houve diferenças significativas entre os efeitos causados pelos tempos de imersão e também pelo tratamento imazalil.

Pode-se observar também que os valores, tanto de pectina solúvel, como da relação pectina solúvel/pectina total, foram mais elevados no suco de limas ácidas submetidas aos tratamentos Thiabendazol ( $Q_2$ ) e controle, cujos frutos foram intensivamente infectados, com os valores de 73,49 e 52,66 mg/100 ml respectivamente para pectina solúvel e de 77,47 e 52,89 %, para a relação pectina solúvel/pectina total (Figuras 8 e 9). Ressalte-se que, quando se compara o efeito destes 2 tratamentos (thiabendazol e controle), dentro do grupo de frutos inoculados, constata-se que estes foram até 3,5 vezes superiores aos obtidos aos demais (tempos de imersão e imazalil), que inibiram completamente a esporulação do inóculo.

Provavelmente a solubilização da pectina que compunha os tecidos destruídos pelo fungo fez com que suas substâncias componentes fossem carregadas para o suco dos frutos, provocando aumentos tão expressivos; além da própria ação das enzimas pectina metil esterase (PME) e poligalacturonase (PG) de formação endógena, formadas em consequência da desorganização da lamela média e do amadurecimento induzido dos frutos, pode ter havido a interveniência de enzimas similares (PME, PG e celulase) secretadas pelo patógeno, cuja ação conjugada ocasionou a desorganização total daqueles tecidos.

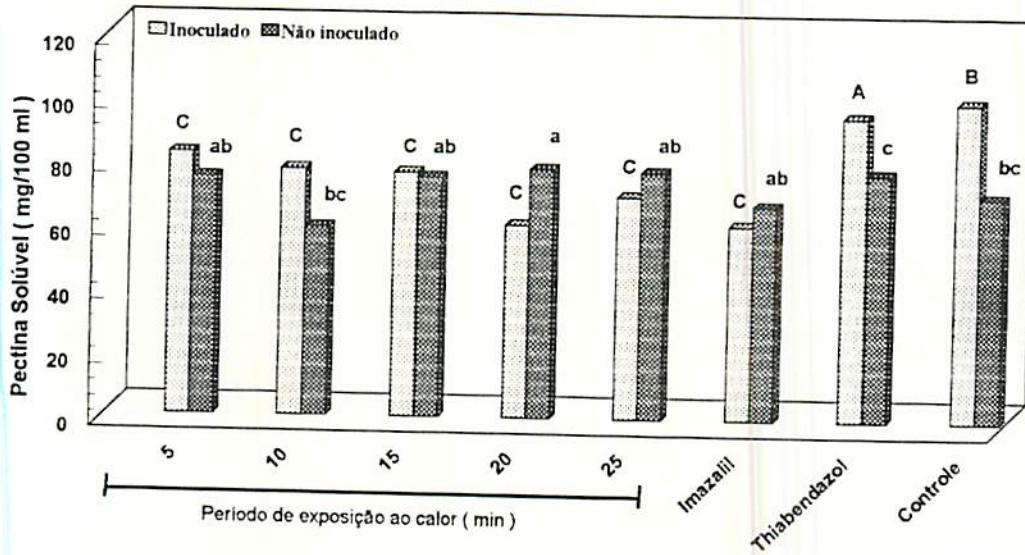


Figura 8 Teores médios de Pectina Solúvel de Limas Ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1$  °C e U.R. igual a  $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias. Colunas com as mesmas letras maiúsculas e minúsculas no topo, com inóculo e sem inóculo, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV = 5,98 %

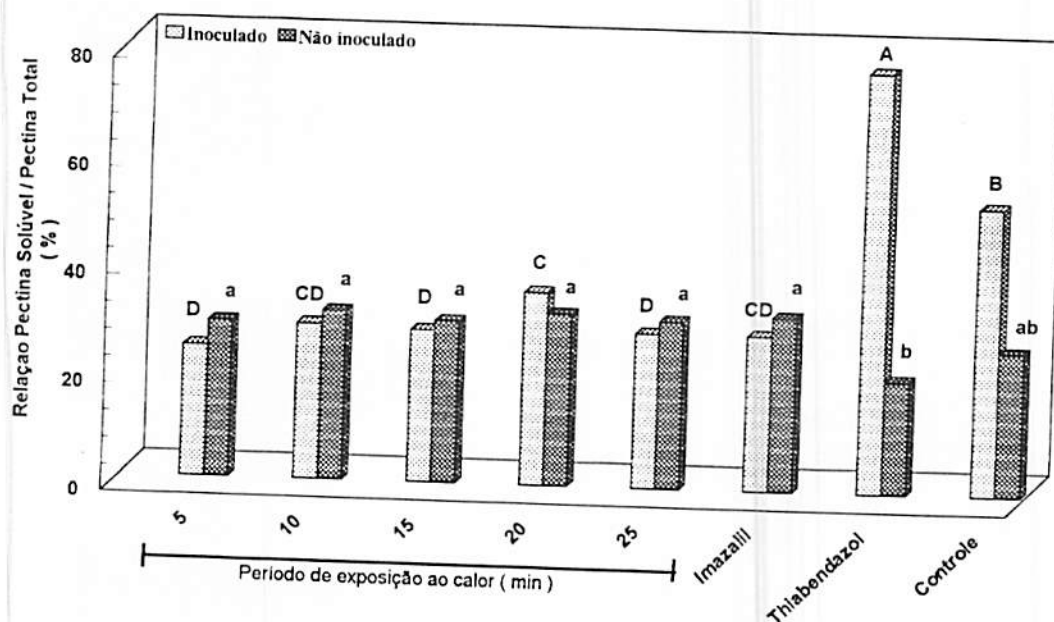


Figura 9. Valores médios da Relação Pectina Solúvel / Pectina Total de Limas Ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1$  °C e U.R. igual a  $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias. Colunas com as mesmas letras maiúsculas e minúsculas no topo, com inóculo e sem inóculo, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV = 9,48 %

Deve-se considerar inclusive que o valor médio encontrado na caracterização inicial 24 horas após a colheita, foi de 28,70 mg/100 ml de suco, de pectina solúvel e 34,07 para a relação pectina solúvel/pectina total. Por outro lado, analisando-se os frutos não inoculados, constata-se que dentre os 8 tratamentos estudados, não houve diferença estatística entre 6 deles, confirmando o fato de que em frutos cuja integridade do flavedo e albedo foi mantida, os teores de pectina solúvel tendem a não se alterar.

#### 4.10 Pectina total (mg/100 ml)

Através da Tabela 1C apêndice e Figura 10, observa-se que os valores de pectina total foram mais elevados no suco de limas ácidas submetidas aos tratamentos controle (99,58) e thiabendazol (94,90). Em se tratando dos frutos inoculados e sabendo-se que as substâncias pecticas localizam-se em sua quase totalidade na lamela média dos tecidos que compõem o flavedo, albedo e segmentos divisores internos nos frutos cítricos (Fonseca, 1971; Kefford, 1959), tais resultados podem representar o resultado da solubilização das pectinas (solúvel e protopectina), originadas dos tecidos destruídos pela infecção causada pela intensa atividade de *Penicillium digitatum*. Provavelmente essa desorganização dos tecidos fez com que suas substâncias componentes fossem carregadas para o suco dos frutos, provocando aumentos expressivos em seus níveis.



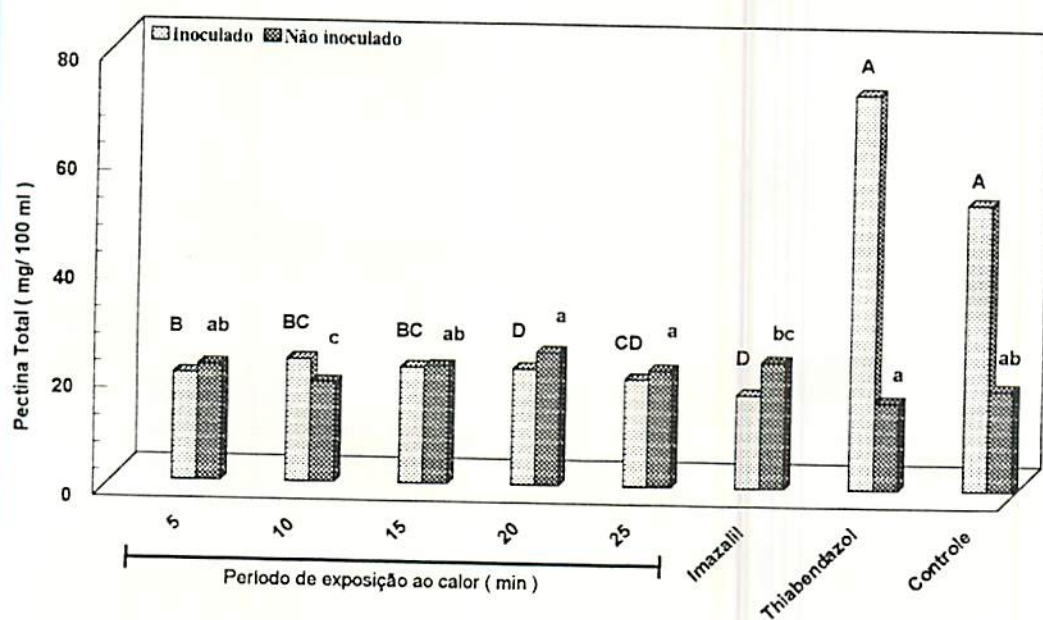


Figura 10. Teores médios de Pectina Total de Limas Ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1$  °C e U.R. igual a  $90 \pm 5\%$ , durante 20 dias. Colunas com as mesmas letras maiúsculas e minúsculas no topo, com inóculo e sem inóculo, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV = 9,22 %

Além da própria ação das enzimas Pectina Metil Esterase (PME) e Poligalacturonase (PG) de formação endógena em consequência do brusco e forçado amadurecimento, pode ter havido a interveniência de enzimas semelhantes, secretadas pelo patógeno (PME; PG e celulase) cuja ação conjunta causou a total desorganização daqueles tecidos. Com relação aos demais tratamentos, pode-se deduzir que em função do eficiente controle da germinação dos esporos inoculados, todos os valores encontrados para a pectina total foram inferiores aos obtidos para os tratamentos citados, com ênfase para o fungicida imazalil, que proporcionou o menor teor (60,41 mg/100 ml).

Por sua vez, os frutos que não foram submetidos a inoculação não apresentaram praticamente diferenças estatísticas em suas médias, levando-nos a inferir que em não havendo deteriorações de tecidos ricos em substâncias pécticas, não haverá sua degradação e a consequente elevação de seus teores.

## 5 CONCLUSÕES

a) O tratamento de limas ácidas "Tahiti" por imersão em água aquecida a 46°C durante os tempos de 5, 10, 15, 20 e 25 minutos e inoculadas com esporos de *Penicillium digitatum*, controlou com eficiência de 100% a infecção pelo patógeno nos frutos, ao passo que o fungicida imazalil mostrou a eficiência de 87% na erradicação da infecção instalada;

b) Os frutos inoculados e não inoculados e submetidos a todos os tratamentos exceto Tecto e controle mantiveram os seus atributos de qualidade como coloração, brilho e textura, assim como suas características químicas e físico-químicas originais.

## 6 RECOMENDAÇÃO

Por medida de economia de tempo, custo financeiro, eficiência do produto e praticidade dos trabalhos de desinfestação dos frutos a serem embarcados para os locais onde serão comercializados, o tempo de imersão 5 minutos apresenta-se como o mais eficiente dentre os estudados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKAMINE, E.K. History of the hot water treatment of papayas fruit. *Hawaii Farm Science*, Honolulu, v.16, n.3, p.4-6, 1967.
- ARISUMI, T. Control of postharvest storage decay of fruits of papaya (*Caryca papaya*, L.) with special reference to the effect of hot water. *Proceedings of American Society Horticultural Science*, v.61, p.270-274, 1953.
- ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTRY. Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemistry. 2.ed. Washington, AOAC, 1970.
- BARRET-REINA, L.C. Conservação pós-colheita do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) da cultivar "Gigante Kada" submetido ao choque frio e armazenado com filme PVC. Lavras: ESAL, 1990. 144p. (Tese - Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- BERG, L. VAN DER; LENTZ, L.P. High humidity storage of vegetables and fruits. *Hortscience*, Alexandria, v.13, n.5, p.17-21, Jan. 1979.
- BIALE, J.B. The postharvest biochemistry of tropical and subtropical fruits. *Advances Food Research*, New York, v.4, p.293-355, 1960.
- BITTER, T.; MUIR, H.M. A modified uronic acid carbazole reaction. *Analytical Biochemistry*, New York, v.4, p.330-334, 1962.
- BLEINROTH, E.W.; HANSEN, H.A.; SHIROSE, I. Tratamento fitossanitário da manga após colheita. *Coletânea do ITAL*, Campinas: v.5, p.185-197, 1973.
- BOGIN, N.; WALLACE, A. Organic acid synthesis and accumulation in sweet and sour lemon fruits. *Proceedings of America Society of Horticultural Science*, Beltsville, v.82, p.189-194, 1966.
- BOOTH, R.H.; BURDEN, O.J. Postharvest losses. In: JOHNSTON, S.A.; BOOTH, R.H. *Plants Pathologist's Pocketbook*. Slough: C.A.B., 1983. p.114-160.

- BROWN, G.E. Development of green mold in degreened oranges. *Phytopathology*, Lake Alfred, v.63, p.1104-1107, 1973.
- BROWN, G.E.; NAGY, S.; MARAULJA, M. *Plant Disease*, Washington, v.67, p.954-957, 1988.
- BRUEMMER, J.H.; BUSLIG, B.S.; ROE, B. Citrus enzymes systems: oportunities for control of fruit quality. *Proceedings of International Society of Citriculture*, Miami Beach, v.3, p.712-716, 1977.
- CARDINALI, L.R.; SEILER, F.E. Estudo químico-físico em algumas variedades de frutas cítricas. *Boletim Agrícola do Departamento de Produção Vegetal*, Belo Horizonte, v.7, n.7-8, p.7-30, 1958.
- CASAS, A.; MALLENT, D. El color de las frutas citricas. I. Generalidades. II. Factores que influyem en el color. Influencia de la especie, variedad y de la temperatura. *Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, Valencia, v.28, n.2, p.185-202, 1988.
- CASTRO LOPES, T.; IZQUIERDO, I.; PÉREZ, L. Response of lemons to various harvesting and post-harvesting treatment. *Proceedings of International Society of Citriculture*, Miami Beach, v.2, p.737-739, 1981.
- CESAR, H.S. Limão. *Agroanalysis*, São Paulo, v.10, n.7, p.14-16, 1986.
- CHALUTZ, E.; WAKS, J.; SCHIFFMANN-NADEL, M. The different responses of several citrus fruit cultivars to low temperatures. *Proceedings International Society of Citriculture*, Bet Dayan, v.2, p.773-774, 1981.
- CHAU, K.F.; ALVAREZ, A.M. Role of *Mycosphaerella ascospores* in stem-end of papaya fruit. *Phytopathology*, St. Paul, v.69, n.5, p.500-503, 1979.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Qualidade pós-colheita de frutos e hortaliças. In: CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. Cap.8, p.235-288.
- CLEMENTS, R.L. Organic acids in citrus fruits. I. Varietal differences. *Journal of Food Science*, Chicago, v.29, n.2, p.276-280, 1964.
- COHEN, E. Commercial use of long-term storage of lemon with intermitent warming. *Hortscience*, Alexandria, v.23, n.2, p.400-406, 1988.
- COHEN, H. The effect of different factors on the ascorbic acid content in citrus fruits; the relationship between species and variety and the ascorbic acid content of the juice. *Horticultural Abstracts*, Bet Dagan, v.26, n.4, Abst. 4097, 1956.

- COHEN, E.; LURIE, S.; SHAPIRO, B.; BEN-YEHOSHUA, S.; SHALOM, Y.; ROSENBERG, I. Prolonged storage of lemons using individual seal packaging. *Journal of America Society of Horticultural Science*, Alexandria, v.112, n.2, p.251-255, 1990.
- CONJUNTURA ECONÔMICA. Rio de Janeiro: F.G.V., v.45, n.11, 1991.
- COOK, R. Quality of citrus juice as related of composition and processing practices. *Food Technology*, Chicago, v.37, n.6, p.68-113, June 1983.
- COSTA, L. Qualidade e pós-colheita de citros. In: TAVARES, A. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.17, n.180, p.45-51, 1994.
- CUÑAT, P.; SALA, J.M. Location of fungicide residues in postharvest treated citrus fruit. *Acta Horticulturae*, Wageningen, v.258, p.646-653, 1989.
- EAKS, I.L. Ascorbic acid content of citrus during growth and development. *Botanical Gazette*, Chicago, v.125, n.3, p.186-191, 1964.
- ECHEVERRIA, E.; ISMAIL, M. Changes in sugars and acids of citrus fruits during storage. *Proceedings of Florida State of Horticultural Society*, Miami Beach, v.100, p.50-52, 1987.
- ECHEVERRIA, E.; VALICH, J. Enzymes of sugar and acid metabolism in stored 'Valencia' oranges. *Journal American Society of Horticultural Science*, Alexandria, v.114, n.3, p.440-444, May 1989.
- ECKERT, J.W. Control of postharvest diseases: Antifungal compounds. New York: Marcell Dekker, 1977. v.1, 600p.
- ECKERT, J.W. Postharvest diseases of citrus fruits. *Outlook Agriculture*, New York, v.9, p.225-232, 1978.
- ECKERT, J.W. Postharvest diseases of fresh fruits and vegetables: etiology and control. In: \_\_\_\_\_. *Postharvest Biology and handling of fruits and vegetables*. Westport, 1975. 228p.
- ECKERT, J.W.; DAWSON, A.J. Problems of decay control in marketing citrus fruits: strategy and solutions. *Proceedings of International Society of Citriculture*, Riverside, v.1, p.255-259, 1977.
- ECKERT, J.W.; KOLBEZEN, M.J.; RAHM, M.L.; ECKARD, K.J. Influence of Benomyl and Methyl-2-Benzimidazole carbamate on development of *P. digitatum* in the pericarp of orange fruits. *Phytopathology*, Riverside, v.69, n.9, p.934-939, 1983.
- ECKERT, J.W.; RATNAYAKE, M. Role of volatile compounds from wounded oranges in the induction of germination of *Penicillium digitatum* conidia. *Phytopathology*, Riverside, v.84, p.746-750, 1994.

- ELAIH, M.; SHAH, M.A. Carotenoids content of citrus fruits. *Pakistan Journal of Science Industry and Research*, Biallpur, v.14, n.4-5, p.353-355, 1971.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. *Programas Nacionais de Pesquisa em Fruticultura de Clima Tropical*. Brasília: EMBRAPA-DID, 1989. 198p.
- FAROOQI, W.A.; HATTON, T.T. Studies on the shelf-life extension of citrus fruits. *Proceedings of International Society of Citriculture*, Orlando, v.2, p.760-761, 1991.
- FAWCETT, H.S. Eradication of *Phytophthora* on citrus fruit. *California Citrograph*, v.7, p.233-254, 1922.
- FONSECA, H. Substâncias pécticas. In: \_\_\_\_\_. *Química de Alimentos*. Apostilas de aulas, Dept. de Tecnologia Rural, ESALQ-USP, Piracicaba, 1971.
- FRENCH, R.C.; LONG, R.K.; LATRELL, F.M.; GRAHAM, C.L.; SMOOT, J. J.; SHAW, P.E. Effect of nonanal, citral and citrus oils on germination of conidia of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *Phytopathology*, Riverside, v.68, p.877-882, 1978.
- GALLI, F. Ciclo das relações patógeno-hospedeiro. In: \_\_\_\_\_. *Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas e seu controle*. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1976. Cap.6, p.46-58.
- GNANASEKHARAN, N.; SHEWFELT, R.L.; CHINAN, M.S. Detection of color changes in green vegetables. *Journal of Food Science*, Chicago, v.57, n.1, p.149-154, Jan./Feb. 1992.
- GRAHAM, D.; HAMILTON, G.A.; QUINN, C.E.; RUTHVEN, A.V. Use of 2-aminobutane as a fumigant for control of gangrene, skin spot and silver scurf diseases of potato tubers. *Potato Research*, Wageningen, v.16, p.109-125, 1973.
- GRIERSON, W.; WARDOWS, W.F. Postharvest rind disorders of "Persian limes". *Proceedings of Florida State Horticultural Society*, v.84, p.294-298, 1976.
- GUTTER, Y. Investigations on new postharvest fungicides. *Proceedings of International Society of Citriculture*, Israel, v.2, p.810-811, 1981.
- HANSEN, H.; WEICHMANN, J. Carbohydrates. In: WEICHMANN, J. ed. *Postharvest physiology of vegetables*. New York: Marcell Dekker, 1987. Cap.23, p.113-170.
- HARDENBURG, R.E. Postharvest treatments. In: SISLER, H.D.; ECKERT, J.W. *Antifungal Compounds*. Nova York: Marcell Dekker ed., 1977. p.283-291.



- HARDING JR., PAUL. R-23979, a new Imidazole derivative effective against postharvest decay of fruits by mold resistant to TBZ, Benomyl and 2-Aminobutane. *Plant Disease Reporter*, California, v.60, n.8, p.643-646, 1976.
- HARVEY, J.M. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* in mangoes fruit. *Phytopathology*, Riverside, v.61, p.27-31, 1960.
- HATTON JR., T.T.; REEDER, W.F. Hot water as a commercial control of mango anthracnose. *Proceedings of Caribbean Region of America Society Horticultural Science*, Puerto Rico, v.8, p.76-84, 1964.
- INABA, M.; CRANDALL, P.G. Cold shock treatment of mature green tomatoes to delay color development and increase shelf-life during room temperature storage. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, Miami Beach, v.99, p.143-145, 1986.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4.ed. São Paulo, 1985. 426p.
- JACOBS, L.J.; BRODRICK, H.T.; SWARTS, H.D.; MULDER, N.J. Control of postharvest decay of mango fruit in South Africa. *Plant Disease Research*, USDA, v.57, n.2, p.173-176, 1973.
- KABLE, P.F. Significance of short-term latent infection in control of brown rot in peach fruits. *Phytopathology*, St. Paul, v.70, p.173-177, 1958.
- KADER, A.A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technology*, Chicago, v.40, n.5, p.99-104, May 1986.
- KAPLAN, H.J.; DAVE, B.A. The current status of imazalil: a new postharvest fungicide for citrus. *Proceedings of Florida State Horticultural Society*, Florida, v.92, p.37-43, 1979.
- KEFFORD, J.K. The chemical constituents of citrus fruits. *Advances in Food Research*, New York, v.9, p.289-372, 1959.
- KEFFORD, J.K. Citrus fruits and processed citrus products in human nutrition. *World Review of Nutrition and Dietetics*, New York, v.6, p.197-249, 1966.
- KILBURNN, R.W.T.T. The taste of citrus juice. II. Citrate salts and pH. In: SILVA, S.M. *Conservação pós-colheita do limão "Tahiti": uso de choque frio, atmosfera modificada e refrigeração: aplicação de modelagem matemática*. Lavras, ESAL, 1993. 125p. (Tese - Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- KOFFMAN, W.; PENROSE, L.J.; MENZIES, A.R.; DAVIES, K.C.; KALDOR, J. Control of benzimidazole-tolerant of *Penicillium expansum* in pome fruit. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.9, p.31-39, 1978.

- KURKI, L. Moisture in vegetable storage. *Data Horticulturae*, v.20, p.146-151, 1971.
- LAVILLE, E.Y.; HARDING, P.R.; DAGAN, Y.; RAMAT, M.; RIPPON, L.E. Synthèse des essais entrepris avec l'imazalil sur les pourritures des agrumes après récolte. *Fruits, Florida*, v.33, n.4, p.257-267, 1978.
- LAVILLE, E.Y. Studies on imazalil as potential treatment for control of citrus decay. *Proceedings of International Society of Citriculture*, Miami Beach, v.1, p.269-273, 1977.
- LAVILLE, E.Y. The evolution of two populations of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* under influence of two fungicides: Benomyl and imazalil. *Proceedings of International Society of Citriculture*, Montpellier, France, v.2, p.783-784, 1981.
- MCCORNACK, A.A. R-23979, an experimental postharvest citrus fungicide with against benzimidazole resistant *Penicillium's*. *Plant Disease Reporter*, Florida, v.61, p.788-791, 1977.
- MCCREADY, R.M.; MCCOMB, E.A. Extractions and determination of total pectic materials. *Analytical Chemistry*, Washington, v.24, n.2, p.1986-1988, Dec. 1952.
- MCDONALD, R.E.; MILLER, W.R.; MCCOLLUM, T.G.; BROWN, E.G. Thiabendazole and imazalil applied at 53°C reduce "Chilling injury" and decay of grapefruit. *Hortscience, Florida*, v.26, n.4, p.397-399, 1991.
- MILLER, W.R. Influence of selected fungicide treatments to control the development of decay in waxed or film wrapped Florida grapefruits. *Proceedings of the Sixth International Citrus Congress*, Tel Aviv, Israel, 1988, p.1471-1476.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA. *Manual de Exportação de Frutas*. Brasília: FRUPEX-SDR-IICA, 1994. 252p.
- MORIGUCHI, T.; ABE, K.; SANADA, T.; YAMAKI, S. Levels and role of sucrose synthase, sucrose phosphate synthase and acid invertase in sucrose accumulation in fruit of Asian pear. *Journal of American Society of Horticultural Science*, Alexandria, v.112, n.2, p.274-278, Mar. 1992.
- MORKIDOU, EUPHEMIA PAPADOPOULOU. Postharvest applied agrochemicals and their residues in fresh fruits and vegetables. *J. Assoc. of Anal. Chem.*, v.74, n.5, p.745-765, 1991.
- MUNSELL BOOK OF COLOR. Baltimore, McBeth Division of Kollmorgen Corporation. v.1, 1976.

- NAMESNY, C.; DECOUD, A.P. Effectivity of Imazalil, Prochloraz and TBZ, applied in commercial citrus waxes. *Proceedings of the Sixth International Citrus Congress, Tel Aviv, Israel, v.92, p.1435-1541, 1988.*
- NELSON, N. A photometric adaptation of Somogy method for the determination of glucose. *Journal of the Biological Chemists, Baltimore, v.15, n.1, p.375-380, 1944.*
- NORMAN, S.M.; FOUSE, D.C.; CRAFT, C.C. Effects of coatings on weight loss and build up in juice of oranges. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v.21, n.3, p.455-458, 1972.*
- PASSAM, H.C.; BLUNDEN, G. Experiments on the storage of limes at tropical ambient temperature. *Tropical Agriculture, Trinidad, v.59, n.1, p.20-24, Jan. 1982.*
- PELSER, P. du T.; ECKERT, J.W. Constituents of orange juice that stimulate the germination of conidia of *Penicillium digitatum*. *Phytopathology, St. Paul, v.67, p.747-654, 1977.*
- PENNOCK, W.; MALDONADO,, G. Hot water treatment of mango fruits to reduce anthracnose decay. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico, Rio Piedras, v.46, n.4, p.272-283, 1962.*
- PÉREZ-ZÚÑIGA, F.J.; MUÑOZ-DELGADO, L. Test with Guazatine and Imazalil for postharvest control of *Penicillium digitatum* on oranges and lemons. *Proceedings of International Society of Citriculture, Madri, Spain, v.1, p.503-506, 1984.*
- PIQUER, J.; GARCIA, J. El podrids de las frutas citricas. *ITEA, València, v.40, p.32-42, 1980.*
- PURVIS, A.C. Moisture loss and juice quality from waxed and individually seal packaged citrus fruits. *Proceedings of the Florida State of Horticultural Society, Miami Beach, v.96, p.327-329, 1983.*
- RAMAKRISHNAN, T.V.; FRANCIS, F.J. Antoxidation of carotenoids and their relative polarity. *Journal of Food Quality, Westport, v.3, n.1, p.25-34 Jan./Feb. 1980.*
- REBELLATO, L.H.; MONTEIRO, M.C. Report of an imazalil resistant strain of *Penicillium digitatum* in citrus in Uruguay. *Proceedings of International Society of Citriculture, Montevideo, v.1, p.588-590, 1984.*
- RIPPON, L.E. Wastage of postharvest fruit and its control. *CSIRO Food Research, Sidney, Australia, p.1-12, 1980.*
- ROBINSON, H.J.; PHARES, H.F.; GRASSLE, O.E. Antimycotic properties of thiabendazole. *Journal of Investigation Dermatology, Chicago, v.42, p.479-482,, 1964.*

- ROSENBERGER, D.A.; MEYER, F.W.; CECILIA, C.V. Fungicide strategies for control of benomyl-tolerant *Penicillium expansum* in apple storages. *Plant Disease Reporter*, Washington, v.63, p.1033-1037, 1979.
- SAENZ, C. Frutos citricos: interes para la industria y alimentación humana. *Revista Chilena de Nutrición*, Santiago, v.15, n.1, p.9-16, Abr. 1987.
- SCHIFFMAN-NADEL, M. Chemical and physiological changes in citrus fruit during storage and their relative to fungal infection. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, Florida, v.1, p.311-317, May 1977.
- SCHULZ, F.A. Some physiological and biochemical aspects of the action mechanism of fungal parasites during fruit storage. *Fruits*, Paris, v.33, n.1, p.15-21, 1978.
- SCOTT, K.J. Methods of delaying the ripening of fruits. *Asean Horticultural Produce Handling*, Bangkok, v.17, p.43-47, 1984.
- SIEGEL, M.R.; RAGGSDALE, N.N. Antifungal mode of action of Imazalil. *Pesticide Biochemical and Physiology*, Maryland, v.9, p.48-56, 1978.
- SIGRIST, J.M.M. Perdas pós-colheita de produtos horti-frutícolas. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.5, n.2, p.1-22, 1993.
- SILVA, B.P. da. Exportações brasileiras de frutas frescas. Exercícios de 1990/1991. São Paulo: HORTINEXA, 1992. (HORTI-NEXA, Circular 2/92).
- SITTERLY, W.R.; SHAY, J.R. Physiological factors affecting the onset of susceptibility of apple fruit to rotting by fungus pathogens. *Phytopathology*, St. Paul, v.50, p.91-93, 1960.
- SLUTZKY, A.; GONZALES ABREU, F.; BERDAM, I. Chilling injury related to mineral composition of grapefruit and limes during cold storage. *Proceedings of International Society Citriculture*, Tokyo, v.2, p.779-782, 1981.
- SMITH JR., W.L.; ANDERSON, R.F. Postharvest treatments. In: SISKLER, H.D.; ECKERT, J.W. *Antifungal compounds*. Nova York: Marcel Dekker, 1977. p.263-291.
- SMOOT, J.J.; SEGALL, R.H. Hot water as a postharvest control of mango anthracnose. *Plant Disease Reporter*, Washington, v.47, n.8, p.739-742, 1973.
- SPALDING, D.H.; REEDER, W.F. Postharvest disorders of mangoes as affected by fungicides and heat-treatments. *Plant Disease Reporter*, USDA, v.56, n.9, p.751-753, 1972.

- STROHECKER, R.; HENNING, H.M. Analisis de vitaminas, modos comprobados. Madri: Paz Montalvo, 1967. 428p.
- SWISHER, H.E.; SWISHER, L.H. Lemon and lime juices. In: TRAESLER, D.K. e JOSLYN, M.A. Fruits and Vegetables Juice, Processing Technology. 2.ed. Westport, 1971. Cap.4, 562p.
- TING, V.S.; ATTAWAY, J.A. Citrus fruits. In: HULME, A.C. The biochemistry of fruits and their products. London: Academic Press, 1970. v.1, 620p.
- TURNER, J.F.; TURIVER, D.H. The regulation of carbohydrate metabolism. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, v.26, p.159-186, 1975.
- TUSET, J.J. Actividad fungitoxica del imazalil sobre *Penicillium digitatum* Sacc y *Penicillium italicum* Wehmer, causantes de podredumbres en los frutos citricos. ITEA, Valencia, v.40, p.34-42, 1980.
- TUSET, J.J.; PIQUER, J.; GARCIA, J. Activity of Imidazole fungicides to control postharvest citrus decay. Proceedings of International Society of Citriculture, Tokyo, v.2, p.784-787, 1981.
- ULRICH, R. Organics acids. In: HULME, AC. The biochemistry of fruits and their products. London: Academic Press, 1970. v.1, 620p.
- VAN DER BERG, L.; LENTZ, C.P. Postharvest treatments. In: SISLER, H.D.; ECKERT, J.W. Antifungal compounds. New York: Marcel Dekker, 1977. p.192-213.
- VAN DER LAATS, J.E. Estudio comparativo del contenido de acido citrico y vitamina C en el jugo de algunas variedades de citrus de uso popular. Revista de Biologia Tropical, Costa Rica, v.2, n.1, p.45-48, 1954.
- VAN GESTEL, J. Imazalil-sensitive and less sensitive strains of *Penicillium digitatum*: Competition Experiments on Oranges. Proceedings of Sixth International Citrus Congress, Tel Aviv, Israel, p.1511-1514, 1988.
- VAN TUYL, J.M. Genetic aspects of resistance to imazalil in *Aspergillus nidulans*. Journal Plant Pathology, Netherlands, v.83, n.169, 1977.
- VONK, J.W.; KARS SIJPESTEIJN, A. Methil-benzimidazole-2-yl-carbamate, the fungitoxic principle of thiofanate methyl. Pesticide Science, Oxford, v.2, p.160-164, 1971.
- WELLS, J.M.; HARVEY, J.M. Tropical crops requiring fungicide treatment. Plant Disease Reporter, Washington, v.60, p.543-576, 1976.

- WILD, B.L.; SPOHR, L.J. Influence of fruit temperature and application time on the effectiveness of fungicides in controlling citrus green mould *Penicillium digitatum*. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Gosford, Australia, v.29, p.139-142, 1977.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Pesticide residues in food: evaluations 1977. *FAO/WHO Plant Production and Protection Paper*, n.10 (Suppl.), p.283-303, 1977.
- YAMAGUCHI, N.; WATADA, A.E. Regulated chlorophyll degradation in spinach leaves during storage. *Journal of American Society of Horticultural Science*, Alexandria, v.116, n.1, p.58-62, Jan. 1991.
- YOKOYAMA, H.; VAN DER COOK, C.E. Citrus carotenoids. I. Comparison of carotenoids of mature-green and yellow lemons. *Journal of Food Science*, Chicago, v.32, n.1, p.42-48, Jan./Feb. 1967.

APÊNDICE

TABELA 1A - Resumo das análises de variância referentes à avaliação subjetiva de cor e Sólidos Solúveis Totais (%) de Limas Ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1^\circ\text{C}$  e U.R. de  $90 \pm 5\%$ .

Causas de variação	GL	Quadrados médios e níveis de significância	
		Constituintes	
		Índice de coloração	Sólidos Solúveis Totais (% SST)
Métodos de controle (M)	7	1017,4635**	0,0983**
Inóculo (I)	1	2945,7752**	0,0976*
M x I	7	935,8846**	0,0687**
Resíduo	48	13,5334	0,0149
CV (%)		7,154	1,704

\*\* F significativo ao nível de 1%.

\* F significativo ao nível de 5%.



TABELA 1B - Resumo das análises de variância referentes à Acidez Total Titulável (g ácido cítrico/.100 ml suco) e relação Sólidos Solúveis Totais/Acidez Total Titulável de limas ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1^\circ\text{C}$  e U.R.  $90 \pm 5\%$ .

Causas de variação	GL	Quadrados médios e níveis de significância	
		Constituintes	
		Acidez (% ATT)	SST/ATT
Métodos de controle (M)	7	0,0355 NS	0,0983*
Inóculo (I)	1	0,1914*	0,0915*
M x I	7	0,1196*	0,0494*
Resíduo	48	0,0435	0,00047
CV (%)		3,5559	1,732

\*\* F significativo ao nível de 1%.

\* F significativo ao nível de 5%.

NS Não significativo.

TABELA 1C - Resumo das análises de variância referentes aos teores de Vitamina C Total (mg/100 ml de suco) e Açúcares Totais (g/100 ml suco) de limas ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1^\circ\text{C}$  e UR de  $90 \pm 5\%$ .

Causas de variação	GL	Quadrados médios e níveis de significância	
		Constituintes	
		Vitamina C Total (mg/100 ml)	Açúcares Totais (g/100 ml)
Métodos de controle (M)	7	97,6544**	0,0350**
Inóculo (I)	1	179,5297**	0,0019 NS
M x I	7	56,3207	0,0088*
Resíduo	48	4,2918	0,0035
CV (%)		5,363	5,841

\* F significativo ao nível de 1%.

\*\* F significativo ao nível de 5%.

NS Não significativo.

QUADRO 1D - Resumo das análises de variância referentes aos teores em mg/100 ml de suco de Pectina Solúvel, Total e relação Pectina Solúvel/Pectina Total de Limas Ácidas "Tahiti" armazenadas a  $10 \pm 1^\circ\text{C}$  e U.R. de  $90 \pm 5\%$ .

		Quadrados médios e níveis de significância		
Causas de variação	GL	Constituintes		
		Pectina Solúvel (mg/100 ml)	Pectina Total (mg/100 ml)	Relação Pectina Solúvel/Total
Métodos de controle (M)	7	685,0532**	507,1068**	449,0912**
Inóculo (I)	1	1725,1581**	453,4731**	1303,4788**
M x I	7	1051,6065*	500,3159**	953,1681**
Resíduo				
CV (%)		9,22	5,98	9,48

\*\* F significância ao nível de 1%.

FIGURA 1A - (5) Frutos de lima ácida "Tahiti" da testemunha (não inoculado e não submetido aos tratamentos térmico e químico). (6) frutos com esporulações de *P. digitatum* oriundos do tratamento com thiabendazol. (7) aspecto do processo de imersão de frutos no tratamento em água quente.



FIGURA 1B - Aspectos de frutos de lima ácida "Tahiti" submetida a tratamento térmico e químico visando controle de *P. digitatum*. (1) e (2) frutos infectados e submetidos a imersão em água quente (46°C) durante 5 e 25 minutos, respectivamente. (3) e (4) frutos infectados e submetidos aos tratamentos com imazalil e thiabendazol, respectivamente.



Fig. 12 - Aspecto de um dos tipos de "Tambor" submetido a  
tratamento químico e durante o período de controle de  
digitalização. (1) e (2) - frutões infectados e sementes  
a serem analisadas quanto à presença de vírus. (3) e (4) -  
frutões infectados e sementes a serem analisadas  
quanto ao tratamento com enxofre e fósforo.