

GERALDA GILLIAN SILVA

Avaliação do efeito da radiação gama na qualidade do mamão (*Carica papaya* L.): características nutricionais, textura, parâmetros de estresse oxidativo e genéticos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia vegetal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Suely Gomes de Figueiredo.

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sílvia Tamie Matsumoto.

**VITÓRIA
2008**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

S586a Silva, Geralda Gillian, 1981-
Avaliação do efeito da radiação gama na qualidade do mamão (*Carica papaya* L.) : características nutricionais, textura, parâmetros de estresse oxidativo e genéticos / Geralda Gillian Silva. – 2008.
157 f. : il.

Orientadora: Suely Gomes de Figueiredo.
Co-Orientadora: Sílvia Tamie Matsumoto.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito Santo,
Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Mamão. 2. Alimentos – Conservação por radiação. 3. Mamão – Efeito do stress. 4. Mamão – Aspectos nutricionais. 5. Genética vegetal. I. Figueiredo, Suely Gomes de. II. Matsumoto, Sílvia Tamie. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU:57

FOLHA DE APROVAÇÃO

***À minha mãe, Maria Perpétua, pelo amor e dedicação, e ao meu
esposo, Marcelo, pelo incentivo e amor incondicional.***

Dedico

AGRADECIMENTOS

Deus por estar ao meu lado nos momentos de dificuldade e iluminar meus passos...

Mãe, pelas oportunidades, por ter abdicado dos seus sonhos em função dos meus, pelo incentivo, pelo exemplo de vida...

Pai, pela educação, pelos ensinamentos guardados para toda a vida, por ter me ensinado a seguir os melhores caminhos...

Marcelo por entender minha escolha, por ter me apoiado em todas as decisões tomadas nessa longa caminhada que estamos juntos, por entender minha ausência, pelo companheirismo e amor incondicional.

Aos meus familiares, em especial, Tia Renata, por ter me auxiliado nos primeiros passos desta conquista; aos primos Fernando e Kélem, pelas idas a Linhares para buscar os frutos, por sempre estarem dispostos a ajudar...

Suely, minha orientadora, pela amizade, oportunidade, pelos ensinamentos valiosos e imensuráveis, pela atenção na execução deste trabalho, por ter compartilhado comigo dificuldades encontradas neste caminho trilhado (e foram muitas...), pelo tempo despendido. Pelo seu exemplo de dedicação profissional e amor ao que faz... O meu agradecimento especial a você que foi essencial para que esse trabalho se tornasse concreto.

Sílvia, minha co-orientadora, pela amizade, oportunidade, ensinamentos valiosos, pela atenção e orientação nas análises citogenéticas. O meu agradecimento especial a você!

Aos Profs. Dr. João Oiano Neto (*Embrapa Agroindústria de Alimentos - RJ*), pela colaboração nas dosagens das vitaminas, e ao Dr. Marcelo Eustáquio Silva, pela amizade e disponibilização da infraestrutura para as análises das características nutricionais.

Ao LQP (Laboratório de Química de Proteínas), pela acolhida.

À minha segunda família (amigos do LQP): Jú Cassoli, por ter colaborado com o início dessa conquista, pelas longas conversas, pelos imensos favores; Jú Brambilla, pelo ombro amigo, pela paciência, pelo espírito sereno que transmitia paz e

tranqüilidade; Jú Soprani, por ter sido amiga nos estudos; por sempre ter me recebido de “braços abertos” no CDTN (*Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear - CDTN/CNEN/MG*), pelos imensos favores; Renan, pelo auxílio nos experimentos; pela compreensão nos momentos difíceis, por escutar minhas reclamações, pela paciência; Pedro, pelos momentos de risos, pela amizade mostrada naquele momento que precisava; Filipe, pelas improvisações para realização dos experimentos, pela boa vontade em ajudar; Lucas, por me instigar a pensar com sua curiosidade, pelo auxílio nos experimentos; Rafael, pela amizade, pelas brincadeiras descontraídas, pelo auxílio nos experimentos. A todos vocês, o meu muito obrigada pela amizade e por terem tornado essa caminhada menos difícil e mais prazerosa. Conviver com vocês foi muito bom!

Aos amigos do GEMUT (Grupo de Estudo em Mutagênese e Toxicologia), pela amizade, carinho, por todo apoio nos experimentos! Maressa (e família), por ter colaborado para o meu início no GEMUT, pela amizade, longos desabafos, por estar sempre solícita a ajudar, Natália, Vinícius, Camila, Michell, Tati, Gabi, Tiago pelas ajudas imensuráveis... A todos vocês meus sinceros agradecimentos pela colaboração neste trabalho e pela agradável convivência!

À amiga Marcela, por todo apoio, amizade, favores... Ao Lucas, Areta, Priscila e Bruna (Laboratório de Leishmanioses/ NDI).

Às amigas da República Drosófila, pela acolhida no retorno a Ouro Preto.

Aos amigos Fabrício e Wandinha, pela amizade e apoio no Laboratório de Nutrição Experimental (LABNEX) – Ouro Preto.

Muitas foram as dificuldades encontradas para realização deste trabalho, mas também muitas foram as pessoas dispostas a ajudar... Às profas. Dra. Elenice (*Núcleo de Doenças infecciosas – NDI*) e Dra. Edna (Departamento de Química), por todo apoio e auxílio dispensados; ao Leduqui (NDI), pelo nitrogênio líquido; prof. Dr. Marco Antônio, pelo auxílio nas análises estatísticas; prof. Dr. Camilo, pelo microscópio; Profas. Dra. Flávia (Departamento de Biologia) e Dra. Maria José (*CDTN/CNEN/MG*), pelos reagentes; prof. Dr. Luiz Fernando e Profa. Msc. Mariana.

À Dra. Raquel Gouvêa dos Santos, ao Ricardo Ferracini Corrêa e Pablo Andrade Grossi (*CDTN/CNEN/MG*), pelo apoio técnico.

Aos amigos do Departamento de Ciências Fisiológicas, Sônia, Evaldo, Nino, Maria Helena e, em especial ao Elias, pelos favores constantes; ao Sr. Antônio, Roger e ao Charles (Biblioteca Setorial Centro Biomédico).

Por fim, agradeço a todos aqueles que participaram de alguma forma na conclusão deste trabalho.

APOIO FINANCEIRO

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida;

Banco do Nordeste Fundo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico;

Fundação de Administração e Pesquisa Econômico-Social (FAPES);

Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN);

Caliman Agrícola S/A, pela disponibilização dos frutos;

Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal/ UFES.

“É graça divina começar bem. Graça maior persistir na caminhada certa. Mas, graça das graças é não desistir nunca.”

Dom Hélder Câmara

RESUMO

O processo de irradiação gama é uma estratégia importante para conservação pós-colheita e comercialização de frutos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da radiação gama nas características nutricionais, na textura e sobre parâmetros de estresse oxidativo e genéticos de frutos do mamão (*Carica papaya* L.) do grupo 'Solo' Golden. Frutos irradiados (0,8 kGy - fonte cobalto-60) foram avaliados quanto ao teor de água, fibras, minerais, lipídeos totais, proteínas, carboidratos, carotenóides e vitamina C (no 5º, 7º e 9º dia pós-colheita (dpc)); à textura; atividade das enzimas catalase – CAT e peroxidase – POX; peroxidação lipídica e possíveis danos ao material genético (durante sua vida útil). A radiação, na dose aplicada, não alterou o conteúdo de água, minerais, proteínas e de licopeno, como também não acarretou mutagenicidade e genotoxicidade nos frutos. Entretanto, os frutos irradiados apresentaram maior conteúdo de fibras e menores teores de lipídeos e vitamina C; menor conteúdo de carboidratos (5º dpc) e de carotenóides totais (7º dpc) quando comparados aos frutos controles e aumento na peroxidação lipídica, a qual pode sugerir indução de estresse oxidativo. A irradiação também alterou os perfis de atividade da CAT e POX, o que pode estar relacionado com a maior firmeza e menor teor de carboidratos dos frutos irradiados, os quais indicam retardo no amadurecimento. Esses resultados demonstram que a irradiação gama (0,8 KGy) não altera a qualidade do mamão, sendo um processo promissor na conservação pós-colheita destes frutos e fornecem, ainda, subsídios para a implementação e utilização deste processo.

Palavras-chave: mamão papaia, irradiação gama, características nutricionais, textura, estresse oxidativo, material genético.

ABSTRACT

The gamma irradiation process is an important strategy to post-harvest conservation and fruit's commercialization. This work had as an objective to evaluate the effect of gamma radiation in the nutritional characteristics, texture and on the stress oxidative and genetic parameters of papaya fruit (*Carica papaya* L.) of the 'Solo' Golden group. Irradiated fruits (0.8 kGy - cobalt-60 source) were evaluated as the water contents, fibers, ash, totals lipids, proteins, carbohydrates, carotenoids and vitamin C (at the 5, 7 and 9th day post-harvest (dph)); at the texture; activity of the catalase - CAT and peroxidase – POX enzymes; lipid peroxidation and possible damages to the genetic material (during its shelf life). The radiation dose applied did not alter the content of water, ash, proteins and as of lycopene, as did not carry mutagenicity and genotoxicity in the fruits. However, the irradiated fruits presented higher content of fibers and lower content of lipids and vitamin C; content a little bit of carbohydrates (5th dph) and total carotenoids (7th dph) when compared to the controls fruits and an increase of lipid peroxidation, the one what can suggest an inducement of oxidative stress. The irradiation altered the profile of CAT and POX activities, which that can be related to the higher firmness and a lower content of carbohydrates of the irradiated fruits, which indicates that the irradiation delayed ripening of the fruits. The results demonstrated that the gamma irradiation (0.8 KGy) do not change the papaya quality, being a process promissory in the conservation post harvest of these fruits.

Keywords: papaya, gamma irradiation, nutritional characteristics, oxidative stress, genetic material.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Fases de crescimento, maturação, senescência e comportamento respiratório de frutos climatéricos e não climatéricos durante o desenvolvimento.....31
- Figura 2** - Esquema da via biossintética do etileno.....32
- Figura 3** - Etapas da Peroxidação Lipídica.....43
- Figura 4** - Ação direta e indireta da radiação ionizante sobre a molécula de DNA.....44
- Figura 5** - Rádura: símbolo internacional para alimentos submetidos ao processo de irradiação.....48
- Figura 6** - (a) Frutos embalados em caixas tipo 'exportação' prontos para comercialização e (b) aspecto visual externo dos frutos – estágio "um" de maturação.....54
- Figura 7** - Tanque de lavagem com água clorada onde passam os frutos na casa de embalagem.....55
- Figura 8** - Irradiador panorâmico MDS Nordion: (a) maquete interna do irradiador, (b) frutos de mamão Golden no interior do irradiador sobre a mesa giratória. Em detalhe: 1. fonte de cobalto-60; 2. mesas giratórias.....56

Figura 9 - Pontos equatoriais (1, 2 e 3) utilizados para determinação da textura dos frutos de mamão e penetrômetro.....	57
Figura 10 - Preparo das amostras para análise das características nutricionais - amostras: (a) da polpa fresca, (b) secas a 60° C em estufa ventilada, (c) trituradas, (d) acondicionadas em recipiente adequado para o armazenamento a 4°C.....	58
Figura 11 – Esquema do Ensaio com (a) sementes (SI) e (b) raízes (RI) de <i>Allium Cepa</i>	69
Figura 12 – Classes de Cometa que podem ser encontradas na análise: (a) Classe 0; (b) Classe 1; (c) Classe 2; (d) Classe 3.....	71
Figura 13 - Comparação entre a textura diária dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado durante o amadurecimento.....	73
Figura 14 – Comparação do teor de água da polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco.....	74
Figura 15 - Comparação do teor de fibras da polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco.....	75
Figura 16 - Comparação do teor de cinzas da polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco.....	76

Figura 17 - Comparação do conteúdo de lipídeos totais presentes na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco.....	77
Figura 18 - Comparação do conteúdo protéico da polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco.....	78
Figura 19 - Comparação do teor de carboidratos totais presentes na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco.....	79
Figura 20 - Perfil cromatográfico característico, obtido por HPLC, (a) dos carotenóides e (b) da vitamina C da polpa dos frutos de mamão da cultivar Golden.....	80
Figura 21 - Comparação do teor de carotenóides totais presentes na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso fresco.....	81
Figura 22 - Comparação do valor de vitamina A referente ao conteúdo de β -criptoxantina e β -caroteno na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso fresco.....	82
Figura 23 - Comparação do teor de licopeno presente na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso fresco.....	82

Figura 24 - Comparação do teor de vitamina C presente na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso fresco.....	83
Figura 25 - Comparação entre o perfil da atividade da enzima catalase de frutos do mamão dos grupos controle e irradiado durante o amadurecimento.....	84
Figura 26 - Comparação entre o perfil da atividade da enzima catalase de frutos do mamão dos grupos controle e irradiado durante o amadurecimento.....	85
Figura 27 - Comparação da peroxidação lipídica de frutos do mamão dos grupos controle e irradiado durante o amadurecimento.....	86
Figura 28 - Frequência (a) dos Índices de alterações cromossômicas (IAC), (b) de Mutagenicidade (IM) das células meristemáticas e (c) IM das células diferenciadas de <i>Allium cepa</i>	89
Figura 29 - Frequência do Índice de Mutagenicidade (IM) (a) das células meristemáticas e (b) das células diferenciadas de <i>Allium cepa</i>	90
Figura 30 - Células (cél.) de <i>Allium cepa</i> - divisão celular e diferenciadas (A, B, C e E) e com alterações (D, F, G, H, I e J).....	116

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Frequência dos Índices de Alterações Cromossômicas (IAC) e de Mutagenicidade (IM) de células meristemáticas e diferenciadas das sementes e raízes de *A. cepa*.....88
- Tabela 2** - Análise do Ensaio do Cometa em polpa de frutos do mamão dos grupos controle (C) e irradiado (I).....92
- Tabela 3** - Adequação do valor de vitamina A (%) em relação ao consumo de uma porção (200g) dos frutos controles e irradiados.....106
- Tabela 4** - Adequação da vitamina C (%) em relação ao consumo de uma porção (200g) dos frutos controles e irradiados.....108

LISTA DE ANEXOS

Anexo A – Esquema do Ensaio com sementes de <i>Allium Cepa</i> (SI).....	152
Anexo B – Esquema do Ensaio com raízes de <i>Allium Cepa</i> (RI).....	153
Anexo C – Esquema do Ensaio do Cometa realizado com a polpa de frutos do mamão controles (C) e irradiados (I).....	154
Anexo D – Tabela da análise do Ensaio do Cometa em polpa de frutos do mamão controles (C) e irradiados (I).....	155

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Abs	Absorbância.
ACC	Ácido aminociclopropanocarboxílico.
ADA	American Dietetic Association.
AGRIANUAL	Anuário da Agricultura Brasileira.
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
AOAC	Association of Official Analytical Chemists.
ATP	Adenosina trifosfato.
BRAPEX	Associação Brasileira dos Exportadores de Papaya.
BSA	Soro albumina bovina.
C	Frutos de mamão do grupo controle.
CAT	Catalase.
CDTN	Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear.
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura.
CN	Controle negativo.
CNEN	Comissão Nacional de Energia Nuclear.
Co	Cobalto.
CP	Controle positivo.
cv.	Cultivar.
DINAL	Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos.
DNA	Ácido desoxirribonucléico.
dpc	Dia pós-colheita.
F1	Células diferenciadas.
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura.
FAOSTAT	Food and Agriculture Organization Statistical Databases.

FDA	Órgão de Administração de Fármacos e Alimentos dos Estados Unidos.
GCIIA	Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos.
ha	Hectares.
I	Frutos de mamão do grupo irradiado.
IAC	Índice de Alterações Cromossômicas das células de <i>A. cepa</i> .
IAEA	Agência Internacional de Energia Atômica.
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
IBRAF	Instituto Brasileiro de Frutas.
IM	Índice de Mutagenicidade das células de <i>A. cepa</i> .
Kgf	Quilograma-força.
L·	Radicais livres de ácidos graxos.
LH	Ácidos graxos poliinsaturados de sistemas biológicos.
LOO·	Peróxiradical do ácido graxo.
LIG	Laboratório de Irradiação Gama.
LOOH	Hidroperóxidos de lipídeo.
MDA	Malondialdeído.
MMS	Metil metanosulfonato.
MN	Micronúcleos.
NAS-NCR	National Academy of Science/ National Council Research.
OGMs	Alimentos geneticamente modificados.
OMS	Organização Mundial de Saúde.
ONU	Organização das Nações Unidas.
PBS	Phosphate Buffered Saline.
PL	Peroxidação Lipídica.
POX	Peroxidase.

PPG	Purpurogalina.
RE	Retinol.
RI	Raízes de cebola irradiadas.
ROS	Espécies reativas de oxigênio.
SAM	S-adenosilmetionina.
SCGE	Single Cell Gel Eletrophoresis Assay.
SI	Sementes de cebola irradiadas.
SOD	Superóxido dismutase.
TBA	Ácido tiobarbitúrico.
UV	Ultravioleta.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	24
2. REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1 Aspectos econômicos da cultura do mamoeiro no Brasil	28
2.2 Fisiologia do amadurecimento de frutos	30
2.3 Avaliação da qualidade do fruto	33
2.4 Perdas pós-colheita	36
2.5 Irradiação gama como processo de conservação	37
2.5.1 Qualidade nutricional de alimentos irradiados	40
2.5.2 Irradiação gama e fenômenos oxidativos	41
2.5.3 Material genético de alimentos irradiados	43
2.5.3.1 Sistema-teste <i>Allium cepa</i>	45
2.5.3.2 Ensaio do Cometa	46
2.5.4 Atitude do consumidor <i>versus</i> Irradiação de alimentos	47
3. OBJETIVOS	50
3.1 Objetivos gerais	51
3.2 Objetivos específicos	51
4. MATERIAIS E MÉTODOS	53
4.1 Coleta dos frutos e amostragem	54
4.2 Irradiação dos frutos	55
4.3 Análises	56
4.3.1 Análise da textura da polpa dos frutos	56
4.3.2 Características nutricionais dos frutos	57
4.3.2.1 Análise da composição centesimal dos frutos	57
4.3.2.1.1 Teor de água (umidade da matéria seca)	58
4.3.2.1.2 Fibras	59
4.3.2.1.3 Cinzas (resíduo mineral fixo)	59
4.3.2.1.4 Lipídeos totais (extrato etéreo)	59
4.3.2.1.5 Proteínas	59
4.3.2.1.6 Carboidratos	60
4.3.2.2 Carotenóides e vitamina C	60
4.3.2.2.1 Carotenóides	61
4.3.2.2.1.1 Preparo das amostras (Extração)	61
4.3.2.2.1.2 Dosagem dos carotenóides	61
4.3.2.2.1.3 Valor de Vitamina A	62
4.3.2.2.2 Vitamina C	62
4.3.2.2.2.1 Extração	62
4.3.2.2.2.2 Dosagem da vitamina C	63
4.3.3 Análise de parâmetros de estresse oxidativo	63
4.3.3.1 Obtenção do extrato protéico	64
4.3.3.2 Dosagem de proteínas	64
4.3.3.3 Ensaio das atividades enzimáticas	64

4.3.3.3.1 Ensaio da atividade da Catalase (EC 1.11.1.6)	65
4.3.3.3.2 Ensaio da atividade da peroxidase (EC 1.11.1.7)	65
4.3.3.4 Determinação da Peroxidação Lipídica	65
4.3.4 Avaliação da possível atividade mutagênica e genotóxica da radiação gama por meio de teste de mutagenicidade e genotoxicidade	67
4.3.4.1 Avaliação do efeito da radiação gama sobre o material genético de <i>Allium cepa</i> como organismo-teste	67
4.3.4.2 Avaliação do efeito da radiação gama sobre o material genético dos frutos pelo Ensaio do Cometa	70
4.4 Delineamento experimental e análise estatística	71
5. RESULTADOS	72
5.1 TEXTURA	73
5.2 CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS	74
5.2.1 Teor de água (umidade da matéria seca)	74
5.2.2 Fibras	74
5.2.3 Cinzas (resíduo mineral fixo)	75
5.2.4 Lipídeos totais (extrato etéreo)	76
5.2.5 Proteínas	77
5.2.6 Carboidratos	78
5.2.7 Carotenóides e vitamina C	79
5.2.7.1 Carotenóides	80
5.2.7.2 Vitamina C	83
5.3 Parâmetros de estresse oxidativo	83
5.3.1 Atividade enzimática da catalase	83
5.3.2 Atividade enzimática da peroxidase	84
5.3.3 Determinação da peroxidação lipídica	85
5.4 Análise da atividade da radiação gama sobre o material genético dos frutos por meio de teste de mutagenicidade e genotoxicidade	86
5.4.1 Teste de mutagenicidade com <i>Allium cepa</i>	86
5.4.2 Teste de genotoxicidade pelo Ensaio do Cometa	91
6. DISCUSSÃO	93
6.1 Irradiação dos frutos	94
6.2 Textura	95
6.3 Características nutricionais	97
6.3.1 Teor de água (umidade da matéria seca)	98
6.3.2 Fibras	99
6.3.3 Cinzas (resíduo mineral fixo)	100
6.3.4 Lipídeos totais (extrato etéreo)	100
6.3.5 Proteínas	102
6.3.6 Carboidratos	103
6.3.7 Carotenóides e Vitamina C	105
6.3.7.1 Carotenóides	105
6.3.7.2 Vitamina C	107
6.4 Parâmetros de estresse oxidativo	108
6.4.1 Enzimas	108

6.4.2 Peroxidação Lipídica.....	111
6.5 Análise da atividade da radiação gama sobre o material genético dos frutos por meio de teste de mutagenicidade e genotoxicidade.....	112
6.5.1 Teste de mutagenicidade com Allium cepa	112
6.5.2 Teste de genotoxicidade pelo Ensaio do Cometa.....	114
6.6 Considerações Finais	117
7. CONCLUSÕES	119
8. REFERÊNCIAS	121

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta uma área de 150 milhões de hectares favoráveis ao cultivo, o que lhe confere um grande potencial agrícola e garante uma posição de relevância internacional como um dos principais produtores de frutas. Dentre elas, destaca-se a cultura do mamão, sendo o Brasil considerado o maior produtor mundial e o 3º maior exportador desta fruta (CALORE; VIEITES, 2003; Food and Agriculture Organization Statistical Databases - FAOSTAT, 2007).

Entretanto, grande parte da produção nacional de frutos e hortaliças é perdida, principalmente, após a colheita por falta de tecnologias de conservação e manuseio adequados. Estas perdas variam de 30 a 50%, representando um descarte de 15 milhões de toneladas/ano (DI RIENZO, 2001).

A alta perecibilidade do mamão é o principal problema enfrentado pelos produtores na comercialização da fruta *in natura*, tanto no mercado nacional, como internacional. A falta do emprego de tecnologias de conservação limita o período de comercialização e diminui a qualidade dos frutos, tendo como consequência a redução do número de mercados consumidores (BALBINO, 2003).

Os frutos de mamão são largamente consumidos devido ao seu sabor agradável e seu conteúdo de fibras, vitaminas e minerais, os quais podem trazer benefícios à saúde (GIUNTINI et al., 2005). No entanto, na busca por uma alimentação saudável e melhor qualidade de vida, o mercado consumidor está mais exigente quanto à oferta de alimentos frescos, nutritivos e higienicamente seguros (TAIPINA et al., 2003; WORCMAN-BARNINKA; LANDGRAF, 2003).

Diversos processos são empregados para a conservação de frutos na tentativa de aumentar a vida útil e minimizar as perdas causadas por microorganismos, o que melhora a qualidade dos frutos e atende às exigências do mercado (TAIPINA et al., 2003). A irradiação gama é considerada uma tecnologia de conservação pós-colheita promissora, podendo exercer papel fundamental na cadeia de comercialização de frutos (OLIVEIRA, 2000).

No entanto, apesar da aprovação e controle no emprego da irradiação por órgãos de monitoramento de alimentos, ainda são questionadas perdas no valor nutricional,

nas características sensoriais e modificações no material genético de alimentos irradiados e seus possíveis riscos à saúde humana (DIEHL, 2002).

Considerando a importância do mamão na economia e seus benefícios à saúde, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da radiação gama nas características nutricionais (teores de água, fibras, cinzas, lipídeos totais, proteínas, carboidratos, carotenóides e vitamina C), na textura e sobre parâmetros de estresse oxidativo e genéticos de frutos do mamão (*Carica papaya* L.) do grupo 'Solo' Golden.

O estudo e adequação deste processo na conservação pós-colheita do mamão são fundamentais, pois oferecem informações de interesse para o mercado consumidor e subsídios para solução de problemas que afetam este agronegócio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos econômicos da cultura do mamoeiro no Brasil

O agronegócio é uma atividade rentável e representa grande parte da economia brasileira. O potencial agropecuário do Brasil é favorecido por vários fatores como clima diversificado, energia solar e água doce abundantes, terras férteis e de alta produtividade (ANDRIGUETO et al., 2007).

O Brasil destaca-se na produção mundial de frutas, ocupando a terceira posição, precedida pela China e Índia (ANDRIGUETO; KOSOKI, 2002; SANTIAGO; ROCHA, 2001), sendo considerado o maior produtor mundial de mamão (*Carica papaya* L.), produzindo cerca de 1,9 milhões de toneladas/ano desta fruta numa área plantada de 37 mil hectares e é um dos principais exportadores para os mercados europeu, americano e canadense (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2007). A maior parte da produção é comercializada no mercado interno, o qual apresenta um consumo *per capita* de 57 kg/ano. Somente 2 % do total produzido é destinado à exportação, o que demonstra a potencialidade de incremento do comércio internacional do mamão (Associação Brasileira dos Exportadores de Papaya - BRAPEX, 2007; Instituto Brasileiro de Frutas - IBRAF, 2007).

O capital gerado com as exportações brasileiras de frutas frescas é da ordem de US\$ 440 milhões/ano, que representa 2,2 % do mercado mundial destas frutas e cerca de 3,5 % do mercado mundial de frutas tropicais (ANDRIGUETO et al., 2007; ORIOLI, 1999).

A introdução de cultivares (cv.) do mamoeiro do grupo 'Solo' ('Sunrise Solo', 'Golden'), no Brasil, promoveu uma expansão significativa na comercialização do mamão, devido à sua grande aceitação pelos mercados interno e externo. Os frutos da cv. Golden possuem formato piriforme, sabor doce pronunciado, peso médio de 400g e tamanho desejável pelo mercado consumidor (PAULL et al., 1997).

Atualmente, os principais produtores de mamão são Bahia, Espírito Santo, Ceará e Paraíba. O estado do Espírito Santo (ES) apresenta uma área de cultivo de

aproximadamente 10.000 hectares (ha) com uma produtividade média anual de 600.000 toneladas. A cultura está localizada na região Norte do estado, cujas condições climáticas e de solo e tecnologias empregadas na sua exploração permitem a produção de frutas com elevado padrão de qualidade e grande aceitação pelos mercados consumidores locais e internacionais. O ES responde por aproximadamente 35 % da produção nacional e exporta \cong 25000 toneladas/ano do fruto, o que corresponde a cifras de US\$20,6 milhões, sendo considerado o maior exportador de mamão do país (BOTEON, 2005; IBGE, 2007; MARTINS; MALAVASI, 2002).

Estudos de projeções, realizados pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), indicam uma tendência de aumento na produção mundial de mamão e que o Brasil continuará sendo o maior produtor e um dos principais exportadores. A manutenção da qualidade do produto e a diversificação de mercados são os desafios atuais desta fruticultura. As diversidades climáticas, o aumento na incidência de doenças, a perecibilidade dos frutos e a inviabilidade do transporte aéreo são alguns fatores que dificultam a ampliação das exportações brasileiras (BOTEON, 2005). Apesar dessas dificuldades, a cultura do mamoeiro apresenta como vantagem para os produtores a característica de produzir frutos durante todo ano (Anuário da Agricultura Brasileira - AGRIANUAL, 2002).

O desenvolvimento de projetos visando aumentar a produtividade, manutenção da qualidade do fruto e cumprimento de exigências fitossanitárias proporciona competitividade entre os pólos produtores brasileiros, o que pode favorecer a conquista de novos mercados, aumentando o número de países importadores do fruto brasileiro. O incremento nas exportações é uma das estratégias para garantir rentabilidade ao produtor.

2.2 Fisiologia do amadurecimento de frutos

Frutos são órgãos originados de estruturas que formam as flores ou inflorescências e seu desenvolvimento inicia-se com a fertilização, seguida pelas etapas de formação, crescimento, maturação e senescência (Figura 1) (SILVA; ALVES; MENDONÇA, 2007).

Na fase inicial do crescimento, ocorre intensa divisão celular nos frutos e uma elevada taxa respiratória. Esta etapa é seguida por um período de expansão celular caracterizada por aumento do tamanho das células devido ao acúmulo de água e solutos. Após esta fase, ocorre redução drástica na taxa de aumento do volume e da massa dos frutos, até que a taxa de crescimento torne-se nula (FINGER; VIEIRA, 2002).

A maturação inicia-se durante o crescimento e é caracterizada por um equilíbrio entre processos de síntese e degradação. No final da maturação, ocorrem alterações bioquímicas e fisiológicas nas células, as quais correspondem à fase do amadurecimento. Durante o amadurecimento, há intensificação dos processos de degradação, o que acarreta desorganização das estruturas celulares, culminando na senescência (PAL; SELVARAJ, 1987).

Segundo Kader (1980) várias transformações bioquímico-fisiológicas ocorrem durante o processo de amadurecimento de frutos: (1) alterações na cor, devido à degradação da clorofila, síntese de pigmentos carotenóides e de antocianinas; (2) alteração na composição de carboidratos, em função da interconversão de açúcares; (3) amolecimento da polpa, devido às modificações estruturais de polissacarídeos da parede celular; (4) desenvolvimento de aroma e sabor, pela síntese de compostos voláteis e alterações no padrão de ácidos orgânicos e (5) alterações na expressão protéica, ocasionada por mudanças na indução da expressão gênica. Estas modificações tornam o fruto mais atrativo para o consumo.

Durante o amadurecimento, a respiração celular fornece energia química (ATP) para a manutenção do metabolismo (SIEDOW; UMBACH, 1995). Dependendo do comportamento respiratório durante a maturação, os frutos são classificados em climatéricos e não-climatéricos. Frutos como abacate, banana, goiaba, manga e mamão que apresentam um aumento significativo da respiração no início do

amadurecimento, são denominados *climatéricos*. Aqueles que não apresentam esse pico respiratório, como por exemplo, abacaxi, laranja, limão e tangerina, são classificados não-climatéricos (Figura 1). No climatério, o aumento na taxa respiratória está associado às transformações físicas e químicas do amadurecimento. Nesta fase, ocorre redução da organização celular devido ao aumento na permeabilidade da membrana (LATIES; FRANKLIN; BLACKMAN, 1995).

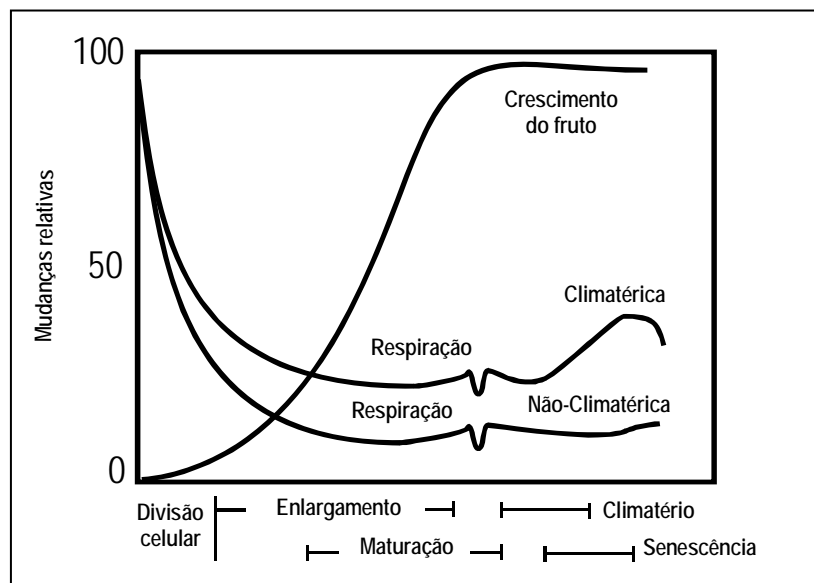


Figura 1 – Fases de crescimento, maturação, senescência e comportamento respiratório de frutos climatéricos e não climatéricos durante o desenvolvimento (Modificado de Finger; Vieira, 2002).

Os frutos climatéricos podem completar o processo de amadurecimento quando destacados da planta mãe, enquanto que os frutos não-climatéricos atingem o total amadurecimento somente quando aderidos à planta. A distinção entre o amadurecimento de frutos climatéricos e não-climatéricos está relacionada às diferenças na resposta ao hormônio etileno e de sua concentração nestes frutos (LATIES; FRANKLIN; BLACKMAN, 1995; POCASANGRE ENAMORADO et al., 1995).

A síntese do etileno, pelas plantas, inicia-se com a formação da S-adenosilmetionina (SAM), pela condensação da metionina com o grupo adenosil de uma molécula de ATP, reação catalisada pela S-adenosilmetionina sintase. A SAM é convertida, pela ACC sintase, ao ácido aminociclopropanocarboxílico (ACC). O ACC é então oxidado

a etileno pela ACC oxidase (Figura 2). Este hormônio se difunde através dos espaços intercelulares e liga-se ao seu receptor celular, um complexo protéico transmembrana, desencadeando processos que culminam com o amadurecimento de frutos (BURG; BURG, 1967; GIRARDI et al., 2003; KADER, 1992; PICTON et al., 1993).

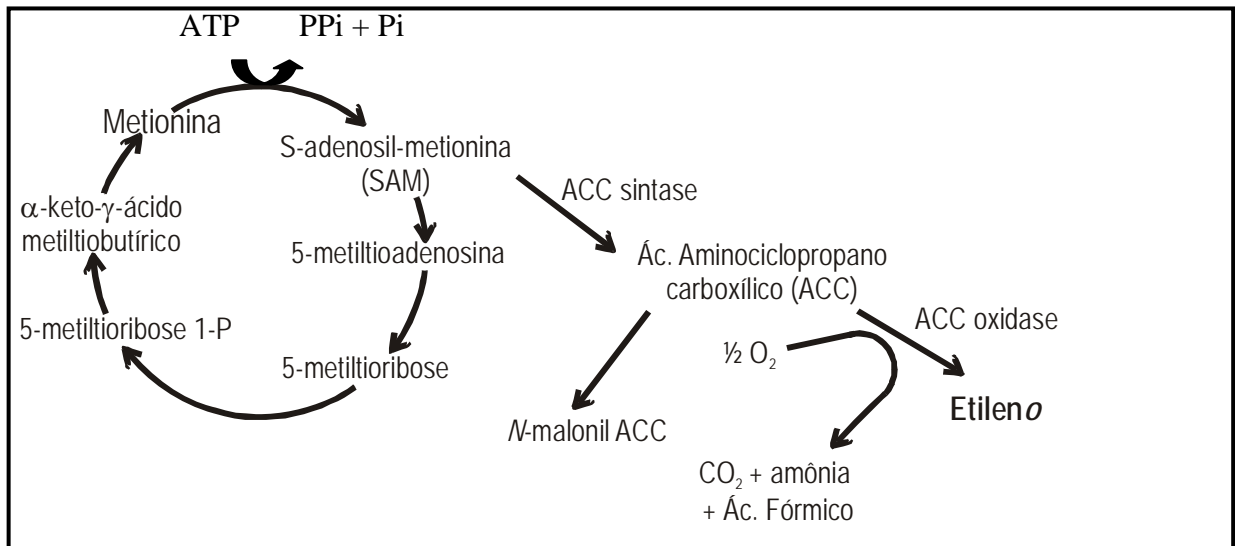


Figura 2 – Esquema da via biossintética do etileno (Modificado de Taiz; Zeiger, 2002).

Nos frutos climatéricos, ocorre aumento na concentração de etileno, o qual atinge níveis máximos no pico climatérico, caracterizado por um aumento na taxa respiratória com a aceleração do processo de amadurecimento, o que não ocorre nos frutos não-climatéricos (YANG; HOFFMAN, 1984).

O etileno age como um “disparo” molecular para o início do processo de amadurecimento dos frutos climatéricos. Nestes frutos, o etileno está envolvido com a ativação e/ou regulação de genes que induzem a expressão de enzimas relacionadas aos processos metabólicos de maturação. Em frutos não-climatéricos a relação etileno/ expressão protéica não é significativa (PRETEL et al., 1995; DOMÍNGUEZ-PUIGJANER; VENDRELL; LUDEVID, 1992). O aumento na conservação pós-colheita de vegetais climatéricos é, na maioria das vezes, inversamente proporcional à taxa respiratória e à produção de etileno (LELIÈVRE et al., 1997).

O acentuado amaciamento da polpa, as modificações na coloração da casca e polpa, redução da adstringência e desenvolvimento de aroma e sabor nos frutos de mamão são parâmetros relacionados com a ativação do etileno durante o amadurecimento (FLORES et al., 2001).

2.3 Avaliação da qualidade do fruto

Vários estudos evidenciam uma correlação positiva entre a ingestão de frutas e a prevenção de doenças crônico-degenerativas (câncer e doenças cardíacas), devido à presença de antioxidantes nestes alimentos, os quais são responsáveis pela redução dos riscos destas doenças. Estas observações causaram um aumento significativo no consumo de frutas nos últimos anos (AGOSTINI-COSTA; ABREU; ROSSETI, 2003; GIUNTINI et al., 2005; SERRANO et al., 2005; SZETO; TOMLINSON; BENZIE, 2002).

Com o aumento do consumo, observou-se uma maior exigência do mercado consumidor quanto à qualidade de frutos. A qualidade de vegetais pode ser avaliada por meio de atributos quantitativos (tamanho e massa) e/ou qualitativos (grau de maturação, valor nutritivo, sabor, aroma, constituintes químicos, propriedades funcionais, forma, turgidez, coloração, presença de resíduos químicos, contaminantes, sujidades, sinais de danos mecânicos, fisiológicos e de pragas (ABBOT, 1999; PAULL et al., 1997).

A qualidade do mamão é, principalmente, avaliada pelo seu aspecto físico (aparência, peso, comprimento, largura, espessura, firmeza da polpa) e por características nutricionais (conteúdo de carboidratos, proteínas, vitaminas, minerais). Estes parâmetros são influenciados pelas condições edafoclimáticas, cultivar, época e local de colheita, tratos culturais e manuseio na colheita e pós-colheita (MANRIQUE; LAJOLO, 2004).

A aparência, uma das características sensoriais do alimento, compreende a cor, o brilho, o tamanho e a forma. A coloração da casca é um importante atributo de

qualidade e depende do estágio de maturação dos frutos, indicando seu ponto de colheita. O percentual de cor amarela da casca é utilizado para classificação dos estádios de maturação dos frutos de mamão: estágio 0 – zero (ausência de coloração amarela); 1 (15% amarelecida); 2 (até 25% amarela); 3 (até 50% de coloração amarela); 4 (50 - 75% amarelecida) e 5 (76 -100% da casca amarela). A coloração da casca no estágio 5 indica que o fruto está adequado para consumo (MENDOZA; AGUILERA, 2004; PRATES, 2005).

A textura indica a firmeza da polpa dos frutos e é considerada um importante atributo de qualidade. Durante o amadurecimento, ocorre perda de firmeza da polpa (mudança na textura de firme para macio), o que promove seu amolecimento. Estudos bioquímicos demonstram que a degradação de componentes estruturais da parede celular (pectina, hemicelulose e celulose), por enzimas hidrolíticas, está envolvida com a perda de firmeza. Estas modificações estruturais são responsáveis por mudanças na parede celular durante o amadurecimento de frutos até que a senescência seja alcançada com depreciação do produto (PAULL; GROSS; QIU, 1999).

O teor de açúcares é responsável pelo sabor doce característico do mamão e pode ser utilizado também como índice de maturidade (CHAN; KWOK, 1975; CHAN et al., 1979; GOMEZ; LAJOLO; CORDENUNSI, 2002). Durante o amadurecimento de frutos, o adoçamento é proporcionado pelo acúmulo de sacarose originada na fotossíntese (enquanto o fruto está fixado à planta mãe) ou, no caso de frutos já colhidos, por hidrólise de carboidratos de reserva (amido e polissacarídeos da parede celular) (SOUZA, 1998). Nos frutos de mamão, o conteúdo de amido declina de 0,4 para menos que 0,1% durante seu desenvolvimento e não há armazenamento do mesmo para posterior degradação no amadurecimento (CHAN et al., 1979; SELVARAJ; SUBRAMANYAM; IYER, 1982). O conteúdo de açúcares varia entre cultivares ou dentro de um mesmo cultivar dependendo das condições climáticas, da fertilidade do solo, da época do ano e do estágio de maturação de frutos (ARRIOLA; ROLZ, 1980; DU; BRAMLAGE, 1992).

O mamão é popularmente conhecido pelas suas propriedades funcionais, fornecendo à dieta componentes bioativos, tais como fibras, carotenóides e vitamina C (MILNER, 2002).

As fibras são substâncias de origem vegetal resistentes à ação de enzimas digestivas classificadas em solúveis (pectina e gomas) e insolúveis (hemicelulose e lignina) em sistemas aquosos (MATTOS; MARTINS, 2000). As fibras alimentares auxiliam na remoção de toxinas intestinais, na formação do bolo fecal, no controle da glicemia e são benéficas para o tratamento de doenças crônico-degenerativas e nas dietas de valor calórico reduzido. Estas são convertidas, por enzimas bacterianas, em produtos que contribuem para a manutenção da microflora intestinal (CUMMINGS et al., 1979; JENKINS, KENDALL, RANSOM, 1998; WEISBURGER et al., 1993).

Os carotenóides são pigmentos, encontrados nas frutas e hortaliças, responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha destes alimentos. Alguns destes compostos como a β -criptoxantina, α e β -carotenos são considerados pró-vitaminas A, os quais exercem papel primordial no tratamento da deficiência da Vitamina A (CAMPOS et al., 2006; RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1989). Os carotenóides estão envolvidos com o ciclo da visão, crescimento ósseo, diferenciação celular e também atuam como agentes antioxidantes (KRINSKY, 1994; OLSON, 1989). Durante o desenvolvimento de frutos, desempenham um papel fundamental como pigmento acessório na fotossíntese, agindo como coletor de energia e protetor contra fotooxidação (PINHEIRO SANT'ANA et al., 1998).

A vitamina C (ácido ascórbico) é um importante agente redutor, sendo sua principal função a de neutralização de espécies reativas de oxigênio. O ácido ascórbico também está envolvido em processos metabólicos e fisiológicos como na integridade do sistema imune, coagulação sanguínea e síntese de neurotransmissores (FOYER; HALLIWELL, 1976; FOYER, DESCOURVIÈRES, KUNERT, 1994; SMIRNOFF; PALLANCA, 1996). Nos vegetais, a vitamina C participa do processo de amadurecimento, pois atua como cofator das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, envolvidas na síntese do etileno (GRAY et al., 1994).

Entretanto, os atributos de qualidade dos frutos de mamão podem ser comprometidos pelas perdas pós-colheita, as quais exercem papel determinante na conservação pós-colheita de frutos (KARAKURT; HUBER, 2003).

2.4 Perdas pós-colheita

Organizações como a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura), OMS (Organização Mundial de Saúde) e *Codex Alimentarius* (programa conjunto entre a OMS e FAO), responsáveis pelo monitoramento de alimentos, têm reconhecido que a medida economicamente mais viável para aumentar a oferta e abastecer a demanda alimentícia no mundo é a redução de perdas na agricultura que ocorrem durante e, principalmente, após a colheita (FINGER; VIEIRA, 2002; VENTURA, 1995; VENTURA; COSTA, 2002). As perdas pós-colheita de frutos tropicais e subtropicais como banana, tomate, manga, laranja e mamão são da ordem de 20 a 70% (SILVA et al., 2007).

Durante a cadeia de comercialização dos frutos, as perdas podem ser ocasionadas por vários fatores: (1) danos mecânicos; (2) incidência de patógenos; (3) armazenamento inadequado; (4) fatores ambientais desfavoráveis de difícil controle (FINGER; VIEIRA, 2002; KADER; ZAGORY; KERBEL, 1989; PAULL et al., 1997; WATADA et al., 1984). Estes fatores geram perdas quantitativas e qualitativas, o que prejudica a aparência do produto, acarretando redução no seu valor comercial (SANTOS et al., 2005).

O mamão é muito susceptível à ocorrência de injúrias mecânicas, que ocasionam ferimentos na casca, os quais constituem via de penetração de patógenos causadores de deterioração do alimento (LUENGO et al., 2003). Estes danos também causam aumento na produção de etileno, o que eleva a taxa respiratória e reduz a vida pós-colheita do fruto (PAULL et al., 1997).

Condições de armazenamento são importantes para manutenção da qualidade do mamão. Temperaturas de refrigeração abaixo da ideal (9 – 12° C) acarretam escurecimento, despigmentação e áreas afundadas na casca; exsudação da polpa; amadurecimento anormal e aceleração da senescência (ALMEIDA et al., 2005; CHEN; PAULL, 1986; COUEY, 1982; EL-TOMI et al., 1974; THOMPSON; LEE, 1971). Temperaturas e umidade elevadas, características de climas tropicais, acarretam aumento na transpiração de frutos, ocorrendo perda de água para o ambiente. Nos frutos de mamão, essa alteração é facilmente observada, devido à espessura reduzida de sua casca (CHITARRA; CHITARRA, 1990; VIEGAS, 1992;

BALBINO, 1997). Souza (1998), Maaleku et al. (2006) e Manrique e Lajolo (2004) descrevem que a perda de água leva à perda de turgescência, a qual pode contribuir para alterações na textura com redução no tempo de prateleira e perda no valor econômico de frutos.

A deterioração oxidativa dos alimentos, causada por patógenos, também pode ocasionar perdas tanto no valor nutritivo, quanto na segurança alimentar (CHOE; MIN, 2006). Dessa forma, a utilização de critérios técnicos durante a colheita, pós-colheita, armazenamento e distribuição de produtos alimentícios com alta perecibilidade, como o mamão, é essencial para manutenção da qualidade, um padrão de conveniência imposto pelo consumidor.

2.5 Irradiação gama como processo de conservação

Vários métodos de conservação têm sido empregados no processamento de alimentos, os quais podem ser de *origem química* (aplicação de substâncias inseticidas) e/ou de *origem física* (choque térmico, refrigeração, liofilização, embalagens com atmosfera modificada e irradiação) (MARÍN-HUACHACA, 2004; VERRUMA-BERNADI; SPOTO, 2003). Um desafio atual é o desenvolvimento e adequação de tecnologias que sejam capazes de aumentar a vida útil de frutos, reduzindo e/ou eliminando patógenos com manutenção do seu valor nutricional (SHEWFELT, 1990).

Embora seja considerada uma tecnologia nova, pesquisas utilizando a irradiação como processo de conservação de alimentos datam do início do século passado (LAGUNAS – SOLAR, 1995). O emprego desta tecnologia vem sendo regulamentado, desde 1963, pela FDA (Órgão de Administração de Fármacos e Alimentos dos Estados Unidos) e suas aplicações têm sido normatizadas sob as regras das Boas Práticas de Manuseio e Fabricação. A irradiação, como qualquer processo de conservação, deve ser associada a outros procedimentos (higienização e seleção) durante a produção e armazenamento do alimento, o que melhora a eficácia do processo (WORCMAN-BARNINKA; LANDGRAF; 2003). Nas últimas 3 décadas, organizações internacionais, como Organização das Nações Unidas

(ONU), FAO, OMS e alguns países têm discutido regulamentações para o uso da irradiação em alimentos.

No Brasil, as primeiras pesquisas com irradiação de alimentos foram feitas na década de 50 pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) e o Programa de Irradiação de Alimentos foi criado em 1969 com o suporte da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), que, emitiu, em 1980, a Resolução Nº 5, que trata da autorização para instalação de irradiadores de alimentos. A legislação brasileira segue as recomendações internacionais sugeridas pela FAO, Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) e do *Codex Alimentarius*. Atualmente, todas as normas para o emprego desta tecnologia estão descritas na Resolução Nº 21 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a qual estabelece que “qualquer alimento pode ser irradiado desde que sejam observados os limites mínimo e máximo da dose aplicada, sendo que a dose mínima deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a máxima, inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e/ou atributos sensoriais do alimento” (ANVISA, 2007).

A radiação gama é a mais utilizada para irradiação de alimentos de origem vegetal. Esta radiação eletromagnética é ionizante de baixo comprimento de onda e alta energia, apresentando grande poder de penetração (Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos - GCIIA, 1999; KILCAST, 1994; THRALL, 2003). A fonte mais comum e eficiente de raios gama para processamento de alimentos é o isótopo de cobalto 60 (^{60}Co), obtido pelo bombardeamento do metal ^{59}Co com nêutrons. Esse isótopo apresenta-se na forma sólida e é insolúvel em água, o que proporciona maior segurança para o meio ambiente (Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear - CDTN, 1994). Durante o processo de irradiação, apenas os raios entram em contato com o alimento, incidindo sobre os mesmos e não a fonte, não ocorrendo contaminação radioativa (O'BEIRNE, 1989).

Quando produtos alimentícios são submetidos à radiação, esta penetra nos mesmos, embalados ou não, reduzindo e/ou eliminando o número de microorganismos presentes, o que aumenta a sua vida útil. Este processo pode ser comparado a uma esterilização a frio, pois não eleva significativamente a temperatura do produto, sendo possível sua aplicação a uma variedade de alimentos, incluindo frutos do mamão (FAO, 2007; THRALL, 2003).

A dose de radiação é a quantidade de energia absorvida pelo alimento durante a exposição à irradiação por unidade de massa e é mensurada através da unidade **Gray** (Gy) ou **rad**, sendo $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rads} = 1 \text{ Joule (J)}$ de energia absorvida por 1 kg de alimento irradiado (GCIIA, 1991).

Autoridades sanitárias e de segurança alimentar internacionais preconizam que a segurança de alimentos irradiados é garantida se a dose utilizada for \leq a 10,0 kGy (10000 Gy). As doses são classificadas em três categorias: *dose baixa* (<1,0 kGy), *dose média* (1,0 - 10,0 kGy) e *dose alta* (10 – 45 kGy). A dose de radiação gama a ser aplicada depende das características do alimento e é considerada efetiva se promover retardo na maturação, inibição de brotamentos, esterilização, eliminação de microorganismos patogênicos, redução da carga microbiana (GCIIA, 1999). A Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos (DINAL), pela portaria Nº 30, recomenda a aplicação de doses inferiores ou iguais a 1,0 kGy para retardar o amadurecimento de frutos como abacaxi, banana, caqui, goiaba, laranja, limão, manga, melão e tomate.

A radiação ionizante pode retardar o amadurecimento ou maturação de determinados frutos e hortaliças pela indução de alterações nos processos fisiológicos de tecidos vegetais (KILCAST, 1994; LOAHARANU, 1994). Além disso, previne a divisão celular de microorganismos que ocasionam a deterioração de alimentos, tais como bactérias e fungos (WORCMAN-BARNINKA; LANDGRAF, 2003).

O cumprimento de normas rígidas de exportação em matéria de qualidade, quarentena e saúde pública é um dos obstáculos à comercialização/exportação de produtos alimentícios. Alguns países, como os Estados Unidos e Japão, não permitem a importação de frutas tratadas com alguns agentes químicos, os quais são utilizados na fumigação e considerados nocivos à saúde. Países em desenvolvimento, como o Brasil, cuja economia depende amplamente da produção agrícola e alimentícia, enfrentam esta dificuldade, podendo ser a irradiação uma opção distinta à fumigação e a outros tratamentos de conservação (GCIIA, 1999).

2.5.1 Qualidade nutricional de alimentos irradiados

Vários trabalhos têm demonstrado a eficácia da radiação na conservação de alimentos (BHUSAHN; THOMAS, 1998; LALAGUNA, 1998; LIMA et al., 2001; MITCHELL et al. 1990; NAGAY; MOY, 1985; THOMAS; DHARKAR; SREENIVASAN, 1971). Resultados recentes obtidos no laboratório de Química de Proteínas da UFES mostram que a radiação gama na dose de 0,8 kGy é eficaz na conservação pós-colheita do mamão, aumentando sua vida útil em aproximadamente 40-50% por retardar a perda de firmeza destes frutos (LOPES, 2007; SOPRANI, 2005). Estes autores sugerem que a irradiação promove retardo no amadurecimento dos frutos pela alteração do perfil da atividade de enzimas pectinolíticas de degradação da parede celular e também diminui a incidência e severidade de doenças fúngicas que acometem os frutos no período da pós-colheita.

Entretanto, a irradiação gama pode alterar a qualidade nutricional dos alimentos. A FAO/IAEA (1991) descreve que carboidratos, proteínas e lipídeos, ao contrário das vitaminas, são relativamente estáveis quando submetidos à irradiação. Vitaminas lipossolúveis (A e E) e hidrossolúveis (vitaminas C e tiamina - B₁) são consideradas radiosensíveis (NINJOOR, 1989).

Diversos trabalhos consideram que a perda no valor nutritivo dos alimentos submetidos à irradiação é comparada com a de outros métodos de conservação como o calor, a pasteurização e outros tipos de esterilização. Além disso, acredita-se que esta tecnologia seja capaz de preservar a qualidade nutricional dos alimentos, por ser considerada um processo de pasteurização a frio, o qual não promove elevação substancial na temperatura do alimento (SONG et al., 2006; THOMAS; BEYERS, 1979; WOOD; MPH; BRUHN, 2000).

No entanto, a natureza e extensão das mudanças nas características nutricionais são dependentes de fatores inerentes do alimento (tipo, variedade, composição, estágio de maturação), do tempo, da dose e temperatura do processo de irradiação (BOYLSTON et al., 2002; CALORE; VIEITES, 2003; DENNISON; AHMED, 1967).

Algumas alterações têm sido descritas em alimentos irradiados: autooxidação de lipídeos, deaminação, descarboxilação, redução de ligações dissulfeto, oxidação de grupos sulfidril e quebra de ligações peptídicas de proteínas e hidrólise de

polissacarídeos. Esta hidrólise pode causar amolecimento precoce da polpa de frutos e rigidez em hortaliças. Estas mudanças podem resultar num “flavour” (mistura de sabor e aroma) desfavorável ao consumo (TAIPINA et al., 2003; URBAIN, 1989; WORCMAN-BARNINKA; LANDGRAF, 2003).

Chitarra e Chitarra (1990) demonstraram que doses $\geq 1,5$ kGy podem causar escurecimento, amaciamento, amadurecimento anormal ou perda de sabor e aroma em frutos. Entretanto, Bande (1990) relata que frutas e hortaliças corretamente irradiadas (doses adequadas) mantiveram o mesmo valor nutritivo que alimentos processados por outros métodos de conservação.

Além disso, Josephson, Thomas e Calhoun (1978) demonstraram que a irradiação acarreta menores prejuízos nutricionais ao alimento quando comparada a outros processos de conservação.

O exposto acima demonstra a importância do estabelecimento da dose de radiação gama para conservação pós-colheita de frutos e manutenção das qualidades organolépticas (sensoriais) e nutricionais.

2.5.2 Irradiação gama e fenômenos oxidativos

Durante o amadurecimento natural de frutos, em vias metabólicas oxidativas, fotossíntese e respiração, há produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ânions superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e radicais hidroxila (OH^{\cdot}) em quantidades moderadas (CHOE; MIN, 2006; JIMÉNEZ et al., 2002; MITTLER, 2002). As ROS, em condições normais, estão envolvidas em processos bioquímico-fisiológicos como na modulação da expressão gênica, indução de apoptose e lignificação da parede celular de plantas superiores (SRIVASTAVA; BHARGAVA; RAI, 2005).

Condições de estresse como exposição ao frio, seca, salinidade, radiação solar, patógenos e a determinados métodos de conservação de alimentos (pasteurização, congelamento, irradiação) podem aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio, prejudicando os processos bioquímico-fisiológicos normais de vegetais

(JIMÉNEZ et al., 2003; SIDDHURAJUA; MAKKAR; BECKER, 2002). Compartimentos celulares (animais e vegetais) são protegidos contra os efeitos das ROS por um sistema antioxidante complexo constituído por agentes redutores hidrossolúveis (vitamina C e glutatona), lipossolúveis (α -tocoferol e β -caroteno) e enzimas (superóxido dismutase, catalase, peroxidase, glutatona S-transferase) (JIMÉNEZ et al., 2002). Este sistema é responsável pela manutenção do equilíbrio entre a produção e remoção das ROS, tornando as células menos susceptíveis ao estresse oxidativo (SHULAEV; OLIVER, 2006).

O processo de irradiação gama pode promover efeitos diretos e indiretos sobre componentes dos alimentos (proteínas, açúcares, lipídeos e vitaminas). Os efeitos diretos são causados pela ionização de um átomo de uma molécula-alvo, o que acarreta quebras de ligações químicas, levando à formação de átomos ou moléculas altamente reativos, os quais reagem com outros constituintes (MOREHOUSE, 1998). Enquanto que os efeitos indiretos implicam na ação de espécies reativas de oxigênio provenientes da radiólise da água (ânion superóxido (O_2^-), radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio) sobre estes nutrientes (JACOBLEN et al., 1996; SAFFI, HENRIQUES, 2003).

Os componentes celulares mais susceptíveis ao estresse oxidativo são os lipídeos. O processo oxidativo destes compostos (peroxidação lipídica) ocorre em vias metabólicas normais e acentua-se com a senescência. A peroxidação lipídica pode ser desencadeada por enzimas (lipoxigenases) ou induzida pelas ROS (vias autooxidativas não enzimáticas) (COLOWICK; KAPLAN, 1984).

No processo autooxidativo, as ROS, principalmente o radical OH^\cdot , reagem com ácidos graxos poliinsaturados de sistemas biológicos (LH), formando radicais livres de ácidos graxos (L^\cdot), os quais reagem, espontaneamente, com o oxigênio, produzindo o peróxiradical do ácido graxo (LOO^\cdot). Este último pode abstrair um átomo de hidrogênio de uma outra molécula de ácido graxo, formando hidroperóxidos de lipídeo ($LOOH$) e um novo radical, o qual propicia uma reação em cadeia. Os hidroperóxidos podem sofrer reações de decomposição e ser convertidos em produtos secundários como alcanos e aldeídos (malondialdeído - MDA) (Figura 3), que podem ser utilizados para monitorar o processo de peroxidação lipídica (AUGUSTO, 2006; DEL; STEWART; PELLEGRINI, 2005; VANNUCCHI, 1998).

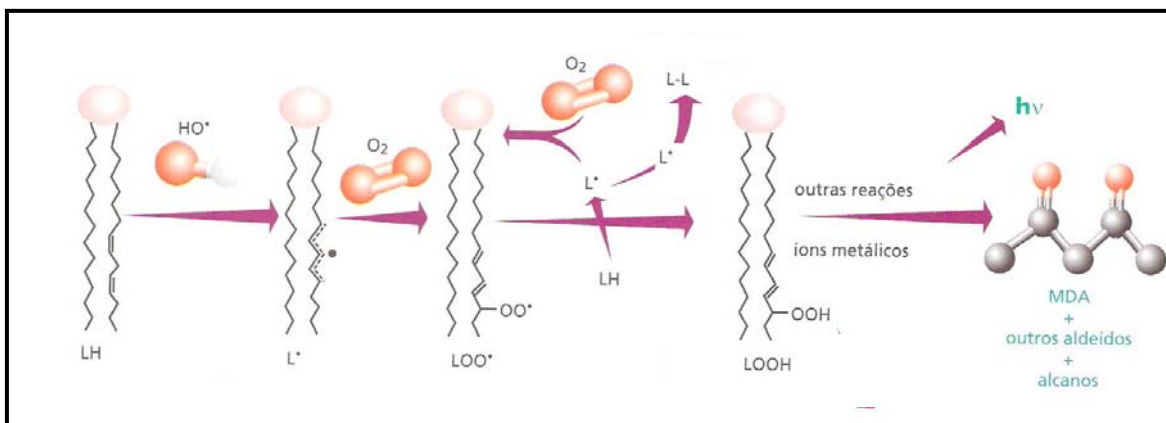


Figura 3 - Etapas da Peroxidação Lipídica (Modificado de Augusto, 2006).

2.5.3 Material genético de alimentos irradiados

A modificação do material genético também é outro ponto bastante polêmico na irradiação de alimentos e pouco se conhece sobre os efeitos adversos desta alteração à saúde humana (FREITAS, 2003).

A molécula de DNA (ácido desoxirribonucléico) sofre alterações denominadas mutações, as quais podem surgir por erros durante a sua duplicação e/ou no ciclo da divisão celular. Estas alterações, muitas vezes, são necessárias a todas as formas de vida para que possam evoluir e sobreviver (RIBEIRO; MARQUES, 2003).

Embora mutações espontâneas possam ocorrer, a maioria delas é induzida por agentes, aos quais os organismos vivos estão expostos, tais como inibidores de replicação, agentes alquilantes e radiação ionizante (NAVARRETE et al., 1997). Os agentes mutagênicos podem induzir alterações irreversíveis em nível gênico ou cromossômico (DEARFIELD et al., 2002).

Segundo Lee e Steinert (2003), agentes causadores de danos à molécula de DNA podem ser divididos em quatro grupos: (1) aqueles que agem diretamente sobre a molécula de DNA; (2) os que requerem via de metabolização para causarem danos; (3) os que promovem a produção de espécies reativas de oxigênio e (4) aqueles que causam inibição no reparo e na síntese do DNA.

Como descrito anteriormente, a radiação pode atuar de forma direta (ionização e excitação) ou indireta (radiólise da água) sobre macromoléculas (Figura 4). Na molécula de DNA, este processo pode promover fragmentações da fita simples, danos nas bases nitrogenadas e açúcares (pentoses) e quebras das fitas duplas (NAVARRETE et al., 1997; ROSS, 1995). Entretanto, estes efeitos parecem ser dependentes da dose de radiação aplicada (SAFFI; HENRIQUES, 2003). A molécula de DNA, quando danificada, pode sofrer a atuação do mecanismo de reparo que, de forma correta, mantém a integridade da molécula. Se o mecanismo de reparo atuar de forma incorreta ocorre a mutação, a qual pode acarretar efeitos biológicos prejudiciais (ERDTMANN, 2003).

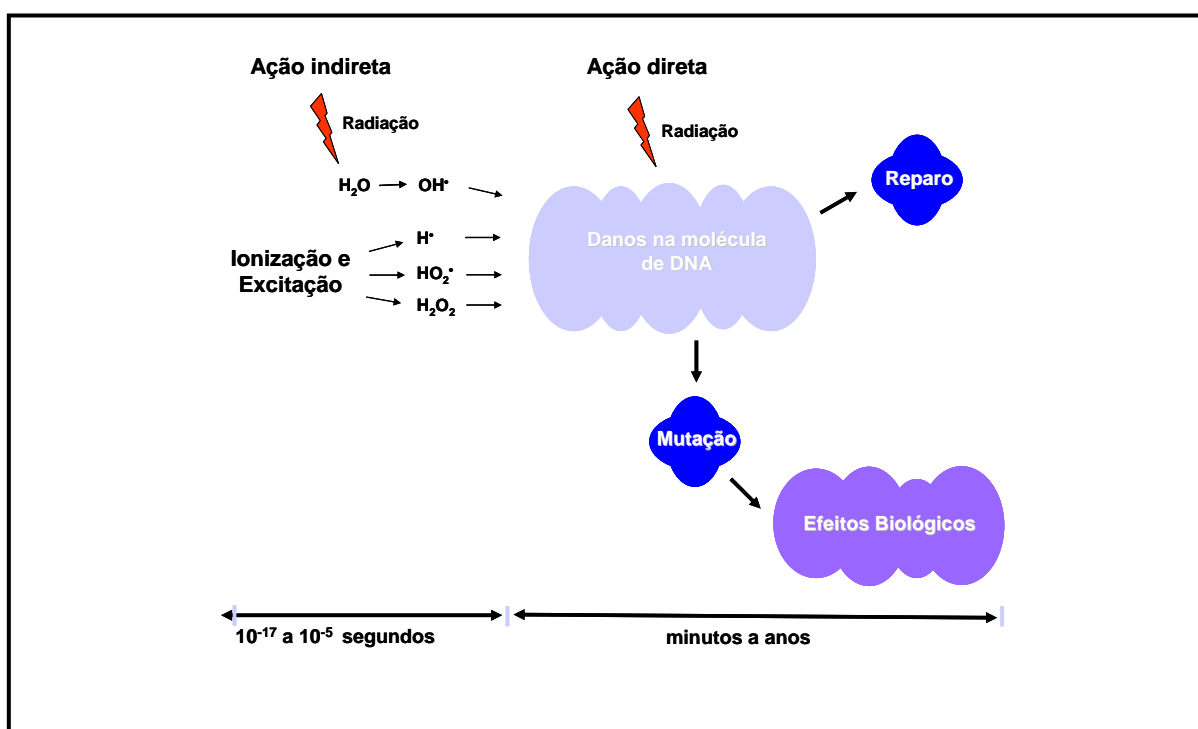


Figura 4 – Ação direta e indireta da radiação ionizante sobre a molécula de DNA (Modificado de Nouailhetas, 2006).

A avaliação do potencial mutagênico de um agente físico, como a radiação ionizante, pode ser realizada por meio de testes aplicados em vários organismos-teste, incluindo desde mamíferos até vegetais superiores (CADET et al., 2003).

2.5.3.1 Sistema-teste *Allium cepa*

Ensaio utilizando o gênero *Allium*, para avaliação de atividade mutagênica, vêm sendo amplamente realizados desde 1930, pois apresentam alta sensibilidade e especificidade (HOSHIMA, 2005; NAVARRETE, 1997). A espécie mais utilizada é *Allium cepa* (cebola), devido ao conhecimento da duração do seu ciclo celular, crescimento rápido de suas raízes, grande número de células em divisão celular (região meristemática), alta tolerância a diferentes condições de cultivo, disponibilidade de aquisição, fácil manuseio e também por possuir número de cromossomos reduzido ($2n=16$) e de grande tamanho e por sua reação a muitos agentes mutagênicos conhecidos (EVSEEVA et al., 2002; FISKEJÖ, 1985; QUINZANI-JORDÃO, 1987). O sistema-teste *A. cepa* consiste na avaliação de parâmetros macroscópicos (turgescência, mudança de cor, formato, espessura e comprimento das raízes) e microscópicos (alterações no ciclo celular). As alterações cromossômicas, frequentemente, observadas são células da divisão mitótica com micronúcleo, C-metáfase, ponte, fragmentação nuclear, aderência, quebras e perdas cromossômicas. De acordo com Hoshima (2005), Matsumoto, Marin-Morales (2004) e Quinzani-Jordão (1987), células com micronúcleo indicam eventuais mutações no conteúdo genético.

Uma modificação do teste com *A. cepa* para avaliação do efeito mutagênico a partir da observação de micronúcleos em células F1 (diferenciadas) das radículas (raízes) de *A. cepa* expostas ao agente em análise foi proposta por Ma et al. (1995). Micronúcleos são morfologicamente semelhantes ao núcleo principal, apresentam diâmetro entre 1/16 a 1/3 menor e intensidade de coloração semelhante à do núcleo principal, embora algumas vezes, apresente coloração menos intensa e são produzidos, durante a telófase da mitose, por perda de cromossomos inteiros ou fragmentos, quando estes não são incorporados ao núcleo principal durante o ciclo celular, sendo separados e adicionais ao núcleo principal (FENECH, 2002; RIBEIRO et al., 2004). Dessa forma, o teste do micronúcleo é amplamente utilizado para a detecção de agentes clastogênicos (induzem quebra nos cromossomos) e aneugênicos (promovem segregação cromossômica anormal).

A análise da presença do micronúcleo em células diferenciadas é considerada um dos indicativos mais simples de danos citológicos e mostra se o erro observado no

material genético, das células em divisão, sofreu algum tipo de reparo na geração F1, considerando que estas células possuem eficientes mecanismos de reparo, os quais são capazes de restaurar a integridade do DNA após a divisão mitótica (NAVARRETE et al., 1997).

2.5.3.2 Ensaio do Cometa

Além do sistema-teste *A. cepa*, diversas metodologias têm sido desenvolvidas para avaliação de danos ao material genético por agentes (STEINERT, 1996). O Ensaio do Cometa ou SCGE (“Single Cell Gel Electrophoresis Assay”) foi descrito pela primeira vez por Österling e Johanson (1984) e apresenta alta sensibilidade, é rápido e econômico, além de requerer poucas células para análise (KOPPEN et al., 1999). O dano ao material genético, avaliado nesta técnica, corresponde a quebras de fitas simples, sítios álcili-lábeis, sítios abásicos, excisão de sítios incompletos de reparo, quebras de dupla-fita e ligações cruzadas (COLLINS, 2004; NAVARRETE, 1997; ROJAS; LOPEZ; VALVERDE, 1999; TICE et al., 2000).

O SCGE tem sido realizado para avaliar o potencial genotóxico da radiação gama em alimentos, principalmente, quando doses mais elevadas que aquelas recomendadas para frutos são utilizadas (DELINCÉE, 1998; KOPPEN et al., 1999; MARÍN-HUACHACA; VILLAVICENCIO, 2002). Agentes genotóxicos, são aqueles capazes de interagir com a molécula de DNA (ácido desoxirribonucléico), fibras do fuso e enzimas envolvidas com processos de replicação e empacotamento do DNA (topoisomerases). Diferente dos agentes mutagênicos, os genotóxicos ocasionam erros que podem ser reparados (DEARFIELD et al., 2002).

A investigação do efeito da radiação gama sobre o material genético de frutos do mamão irradiados torna-se necessária para facilitar a comercialização de alimentos irradiados, a compreensão de alterações nos processos fisiológicos, esclarecer o público-alvo, e pode promover a expansão no uso desta tecnologia em nível nacional e internacional.

2.5.4 Atitude do consumidor *versus* Irradiação de alimentos

Mais de 40 países têm aprovação legal para a utilização do processo de irradiação em alimentos e a comercialização de alimentos irradiados está em expansão (CERDA et al., 1997). A OMS encoraja o uso da irradiação de alimentos para garantir a segurança alimentar e diminuir perdas na produção mundial de alimentos (GCIIA, 1999; PAULI; TARANTINO, 1995). Segundo o Comitê Misto de Especialistas em Segurança Alimentar da OMS/FAO, as doenças oriundas de alimentos contaminados são um problema grave de saúde do mundo contemporâneo e constituem um fator que influencia na atividade econômica.

No entanto, apesar da aprovação e controle no emprego da irradiação, ainda existem barreiras que dificultam a comercialização de alimentos irradiados. Estas barreiras não são de natureza técnica, mas estão relacionadas ao custo de sua implementação e aceitação pelo consumidor (ORNELLAS et al., 2006).

O custo para a construção de um sistema para irradiação de alimentos é alto (\cong 3,5 milhões de dólares) e depende do seu tamanho, capacidade de processamento e outros fatores, entretanto este investimento é semelhante ao empregado em outros sistemas de conservação. Uma alternativa para viabilizar a implementação do processo de irradiação é a instalação deste sistema de forma cooperativa, ou seja, o uso combinado do irradiador para o tratamento de produtos alimentícios, e outros itens, como médico-hospitalares, produtos farmacêuticos, cosméticos, fitoterápicos (GCIIA, 1999).

Como a irradiação promove o aumento no tempo de prateleira de alguns alimentos comercializados na forma *in natura*, esta tecnologia constitui uma estratégia promissora na conservação de frutos, incluindo o mamão, sendo importante avaliar o custo-benefício da aplicação deste processo em grande escala nesta fruticultura.

A insegurança dos consumidores, devido à falta de informações e a dificuldade de avaliar os benefícios obtidos neste tratamento, é outro fator que dificulta o uso desta tecnologia (ORNELLAS et al., 2006). A principal dúvida dos consumidores sobre alimentos irradiados é se alimentos tratados com este processo tornam-se radioativos (American Dietetic Association - ADA, 2000).

Mesmo em países desenvolvidos, esta tecnologia é pouco difundida com pequena conscientização da população sobre seus benefícios, o que reduz a aquisição de alimentos irradiados (CROWLEY; GABOURY; WITT, 2002; STEWART, 2004). No Brasil, apesar de ser aprovada desde a década de 60, a falta de informações da população sobre a irradiação (segurança e benefícios) é um fator limitante do seu uso segundo pesquisas de opinião pública (OLIVEIRA; SABATO, 2004; ORNELLAS et al., 2006; RESURRECCION et al., 1995).

Existem duas vertentes com relação à utilização da irradiação de alimentos: há aqueles que acreditam ser este processo altamente seguro se respeitadas as normas pré-estabelecidas de aplicação das doses específicas para cada tipo de alimento (LOAHARANU, 1994; OMS, 2007); por outro lado, organizações como a Comissão para Alimentos do Reino Unido e da Cidadania Pública dos Estados Unidos acreditam que a irradiação oferece risco à saúde do ponto de vista toxicológico e acarreta prejuízos no valor nutricional. Estes órgãos consideram esta prática apenas interesse econômico das grandes indústrias (DEELEY, 2002; FOOD & WATER WATCH, 2007). Este ponto de vista negativo vem ganhando espaço, o que mostra a necessidade de pesquisas que esclareçam as dúvidas mais frequentes da população sobre o processo de irradiação, favorecendo a implementação desta tecnologia.

Os alimentos irradiados devem conter a rádura (Figura 5), símbolo internacional exigido pela FDA (MOREHOUSE, 1998), o que garante ao consumidor o direito de escolha do uso de alimentos irradiados.



Figura 5 – Rádura: símbolo internacional para alimentos submetidos ao processo de irradiação. Os dizeres “Tratado com radiação” ou “Tratado pela irradiação” devem acompanhar a rotulagem (Modificado de Morehouse, 1998).

Segundo Shewfelt (2006), o desenvolvimento da ciência do consumidor vem trazendo contribuições importantes para tecnologias relacionadas à qualidade de alimentos e identifica segmentos que não se contentam com o oferecido pelo mercado de massa. Produtores e distribuidores bem sucedidos serão aqueles capazes de identificar esses segmentos, introduzindo novos produtos e transformando-se em fornecedores consistentes para os nichos de mercado. O sucesso dependerá da adoção de tecnologias apropriadas e também da percepção de oportunidades e alternativas para as diferentes classes de qualidade do produto.

Para frutos do mamão, a conservação da qualidade é um fator básico, pois grande parte da produção destina-se ao mercado *in natura*. Como mencionado anteriormente, trabalhos recentemente realizados em nosso laboratório (Química de Proteínas/UFES) demonstraram que a radiação gama na dose de 0,8 kGy retarda o amadurecimento destes frutos (LOPES, 2007; SOPRANI, 2005). Este trabalho propõe dar continuidade aos estudos já iniciados, avaliando o efeito da radiação gama nas propriedades nutricionais, funcionais e sobre parâmetros de estresse oxidativo e genéticos de mamões (*Carica papaya* L.).

O estudo e adequação da irradiação gama são essenciais para implementação deste processo na conservação pós-colheita de frutos do mamão, pois oferecem informações de interesse para o mercado consumidor e subsídios para solução de problemas que afetam este agronegócio, possibilitando aumento na produção e exportação, com incremento na rentabilidade do produtor.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da radiação gama (0,8 kGy) na textura, nas características nutricionais e sobre parâmetros de estresse oxidativo e genéticos de frutos do mamão (*Carica papaya* L.) do grupo 'Solo' Golden.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito da radiação gama em frutos do mamão (*Carica papaya* L.) quanto à(os):

- Textura (perda de firmeza);
- Características nutricionais:
 - Conteúdo de água (Umidade);
 - Fibras;
 - Cinzas (resíduo mineral fixo);
 - Lipídeos totais (extrato etéreo);
 - Proteínas;
 - Carboidratos;
 - Carotenóides e vitamina C (ácido ascórbico).
- Parâmetros de estresse oxidativo:

- Ensaio da atividade catalásica;
- Ensaio da atividade peroxidásica;
- Determinação da Peroxidação Lipídica.

➤ Parâmetros genéticos:

- Avaliação do efeito mutagênico (Ensaio com *Allium cepa* como organismo-teste);
- Avaliação do efeito genotóxico (Ensaio do Cometa).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta dos frutos e amostragem

Os experimentos foram conduzidos com frutos tipo exportação coletados de lavouras comerciais de mamão (*Carica papaya* L.) do grupo 'Solo' Golden, representativas do cultivo da região norte do ES, cedidos pela Caliman Agrícola S/A (Figura 6a). Os frutos foram coletados no estágio "um" de maturação de acordo com a classificação de Marin et al. (1995) (Figura 6b).

(a)



(b)



Figura 6 - (a) Frutos embalados em caixas tipo 'exportação' prontos para comercialização e (b) aspecto visual externo dos frutos – estágio "um" de maturação (Fotografias de arquivo pessoal).

Após a colheita, os frutos foram transportados para a casa de embalagem (*packing house*) e submetidos à lavagem em tanque com água clorada (1,5 ppm) (Figura 7) para remoção de sujidades provenientes do campo.

Posteriormente, os frutos foram conduzidos adequadamente ao Laboratório de Química de Proteínas/UFES, executor das análises. Aqueles frutos em perfeitas condições de qualidade (ausência de defeito físico ou sinais de contaminação por patógenos e sem diferença significativa no peso e coloração) foram selecionados e, posteriormente, separados em dois grupos: controle (C) e irradiado (I).

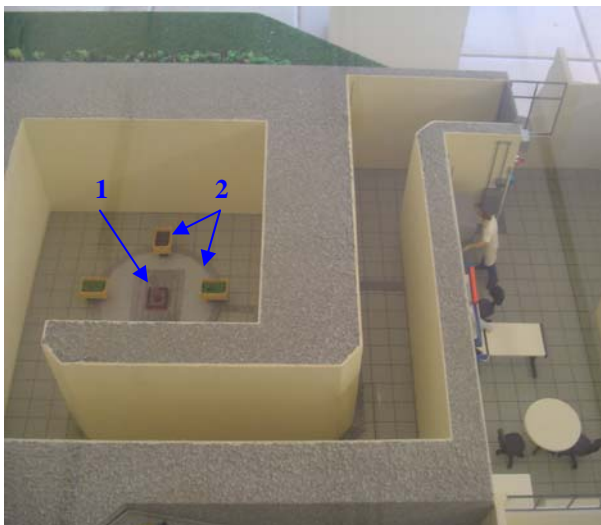


Figura 7 - Tanque de lavagem com água clorada onde passam os frutos na casa de embalagem (Fotografias de arquivo pessoal).

4.2 Irradiação dos frutos

Frutos do grupo I foram conduzidos via aérea para o Laboratório de Irradiação Gama (LIG) do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear CDTN/CNEN (Belo Horizonte/MG) e irradiados no primeiro dia pós-colheita (dpc). A dose utilizada, para o processo de irradiação, foi de 0,8 kGy. Utilizou-se um irradiador gama panorâmico MDS Nordion (Canadá) equipado com fonte de cobalto-60 armazenada a seco, e sistema de mesas giratórias para homogeneização de doses (Figura 8). Este procedimento foi, gentilmente, realizado pelo técnico em Ciências e Técnicas Nucleares Ricardo Ferracini Corrêa. Após este tratamento, os frutos retornaram ao Laboratório de Química de Proteínas/UFES (Vitória/ES).

(a)



(b)

**Fig**

Figura 8 - Irradiador panorâmico MDS Nordion: (a) maquete interna do irradiador, (b) frutos de mamão Golden no interior do irradiador sobre a mesa giratória. Em detalhe: 1. fonte de cobalto-60; 2. mesas giratórias (Fotografias de arquivo pessoal).

4.3 Análises

Para as avaliações, os frutos foram mantidos em condições naturais de amadurecimento, temperatura de aproximadamente 25° C e umidade relativa ambiente.

Para as análises, foram utilizadas três repetições (frutos), de cada grupo, por dia pós-colheita e todas as avaliações foram realizadas em duplicata, exceto a textura, a qual foi realizada em triplicata.

4.3.1 Análise da textura da polpa dos frutos

A textura da polpa foi avaliada de acordo com Almeida (2003). As medidas foram realizadas, diariamente, na região equatorial dos frutos em 3 pontos equidistantes

após retirada da casca (\cong 1 mm de espessura) (Figura 9a), utilizando-se penetrômetro manual EFFEGI® com ponteira de 11,3 mm de diâmetro (Figura 9b). Os dados foram expressos em kgf.

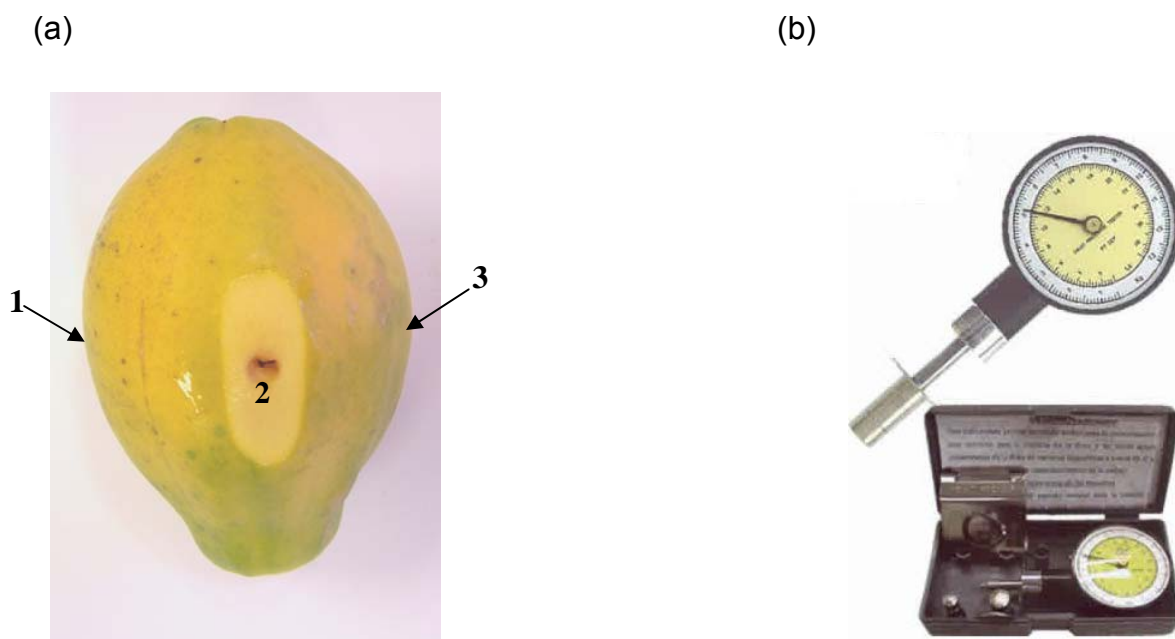


Figura 9 – (a) Pontos equatoriais (1, 2 e 3) utilizados para determinação da textura da polpa dos frutos de mamão e (b) Penetrômetro.

4.3.2 Características nutricionais dos frutos

4.3.2.1 Análise da composição centesimal dos frutos

Para a análise da composição centesimal, amostras da polpa dos frutos foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar a 60 °C para obtenção do seu peso seco, posteriormente trituradas em multiprocessador e acondicionadas em recipiente adequado (Figura 10). O material obtido foi armazenado a 4 °C até o início das análises propriamente ditas e estas foram realizadas no 5º, 7º e 9º dpc.

Os teores de água, fibras, cinzas, lipídeos totais, proteínas e carboidratos foram determinados na polpa dos frutos controles e irradiados. Os valores encontrados foram expressos em % ou em unidade equivalente, gramas /100g da amostra com base no peso seco. Os resultados encontrados neste trabalho não foram expressos em função do peso fresco ou parte comestível do fruto, pois o objetivo foi realizar análise comparativa, a qual independe da unidade adotada.



Figura 10 – Preparo das amostras para análise das características nutricionais - amostras: (a) da polpa fresca, (b) secas em estufa com circulação de ar a 60 °C, (c) trituradas, (d) acondicionadas em recipiente adequado para o armazenamento a 4 °C.

4.3.2.1.1 Teor de água (umidade da matéria seca)

Para a determinação do teor de água, as amostras (item 4.3.2.1) foram pesadas (método gravimétrico), antes e após sua desidratação, em estufa regulada a 105 °C até obtenção de peso constante (Association of Official Analytical Chemists - AOAC, 2000).

4.3.2.1.2 Fibras

O teor de fibras foi determinado por gravimetria, nas amostras (item 4.3.2.1), antes e após serem submetidas à hidrólise com solução de ácido nítrico 6% v/v, ácido tricloroacético 5% p/v em ácido acético 70% v/v (SCHARRER; KURSCHNER, 1963).

4.3.2.1.3 Cinzas (resíduo mineral fixo)

Para a determinação do teor de cinzas, as amostras (item 4.3.2.1) foram previamente carbonizadas em bico de Bunsen e posteriormente submetidas à incineração em mufla a 600 °C. O resíduo mineral fixo foi determinado pela diferença de peso antes e depois do processo de ignição da matéria orgânica até obtenção de resíduo com coloração branca/ acinzentada e peso constante (AOAC, 2000).

4.3.2.1.4 Lipídeos totais (extrato etéreo)

Os lipídeos foram extraídos das amostras (item 4.3.2.1) com éter etílico durante 8 h, utilizando um Soxhlet. O extrato etéreo foi determinado por gravimetria antes e depois do processo de extração (AOAC, 2000).

4.3.2.1.5 Proteínas

O conteúdo protéico foi estimado, utilizando-se do teor de nitrogênio total das amostras (item 4.3.2.1), o qual foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2000). Este método consiste de digestão da amostra, em altas temperaturas, com ácido sulfúrico concentrado e na presença de sulfato de cobre e óxido de selênio como catalisadores, seguida da destilação, na qual a solução é alcalinizada com

hidróxido de sódio 50% p/v, arrastada por corrente de vapor com ácido bórico 4% p/v como receptor da amônia. O conteúdo protéico é obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total e 6,25^(*).

(*) Fator usual empregado para o cálculo do conteúdo de proteína de alimentos. Este fator é baseado na porcentagem de nitrogênio presente nas proteínas (16%).

4.3.2.1.6 Carboidratos

O teor de carboidratos nas amostras (item 4.3.2.1) foi estimado pela diferença entre 100 e o somatório dos teores de umidade, fibras, cinzas, extrato etéreo e proteínas (AOAC, 2000).

4.3.2.2 Carotenóides e vitamina C

Os teores de carotenóides e ácido ascórbico foram determinados, na polpa dos frutos no 5º, 7º e 9º dpc, por cromatografia de alta resolução em sistema HPLC (High Performance Liquid Chromatography) Waters (modelo Alliance 2695) equipado com detector de arranjo de fotodiodos UV/Vis (modelo 2996) de acordo com metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001) e Rosa et al. (2007) respectivamente.

Estas análises foram realizadas com a colaboração do pesquisador Dr. João Oiano Neto da Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro/RJ).

As amostras, para estas análises, foram coletadas e imediatamente armazenadas a -20º C, até o momento de uso.

4.3.2.2.1 Carotenóides

4.3.2.2.1.1 Preparo das amostras (Extração)

Para extração dos carotenóides, primeiramente, uma amostra da polpa foi macerada em almofariz com celite (relação 1:4) e os pigmentos foram extraídos com acetona. A mistura obtida foi filtrada em funil de placa sinterizada e o resíduo transferido para o almofariz. Este processo foi repetido até obtenção de resíduo incolor. O material resultante foi transferido para um funil de separação contendo \cong 40 mL de éter de petróleo e, em seguida, adicionou-se gradativamente \cong 300 mL de água Milli-Q. A fase aquosa (água-acetona) foi descartada e para total remoção da acetona a fase etérea foi lavada 3 a 4 vezes com água. Para remoção dos ácidos graxos ligados aos carotenóides, adicionou-se à fase etérea hidróxido de potássio 10% p/v em metanol (relação 1:1). Após 16h na ausência de luz e à temperatura ambiente, o extrato obtido foi transferido para um funil de separação e água Milli-Q foi adicionada. A fase aquosa foi descartada e a fase etérea, lavada com água até que não houvesse mais resíduos do álcali. O extrato etéreo obtido foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL por meio de um funil contendo sulfato de sódio anidro. Uma alíquota de 2,0 mL do extrato final obtido foi seca em frasco âmbar sob fluxo de nitrogênio e o resíduo, ressuspenso com 100 μ L de acetona e a solução foi transferida para um “vial” âmbar.

4.3.2.2.1.2 Dosagem dos carotenóides

A quantificação dos carotenóides foi feita por cromatografia, utilizando a coluna de fase reversa YMC30 Carotenoid S-3 (4,6 mm x 250 mm). Amostra injetada: 10 μ L do extrato obtido no item 4.3.2.2.1.1; temperaturas da coluna e do injetor: 30° C e ambiente respectivamente; fase móvel: metanol: éter metil terc-butílico 80:20 v/v; eluição isocrática e fluxo de 0,8mL/ min durante 28 minutos.

Os carotenóides foram detectados pela absorção em 450 nm e suas concentrações nas amostras foram determinadas pela integração automática das áreas dos picos respectivos e comparadas com curvas padrões.

Utilizou-se o método de padronização externa e os padrões analíticos (β -caroteno, β -criptoxantina e licopeno) foram obtidos de fontes naturais gentilmente cedidas pela Embrapa Agroindústria de Alimentos – RJ. Os valores de carotenóides foram expressos em $\mu\text{g}/100\text{g}$ de peso fresco.

4.3.2.2.1.3 Valor de Vitamina A

O valor de vitamina A foi calculado pelos fatores de conversão obtidos a partir da atividade pró-vitáminica de cada um dos carotenóides precursores de acordo com Bauernfeind (1972) e NAS-NCR (1980). O valor de vitamina A foi expresso em equivalentes de retinol (RE) por 100 g de peso fresco da polpa.

4.3.2.2.2 Vitamina C

4.3.2.2.2.1 Extração

Uma amostra da polpa foi triturada utilizando um homogeneizador de tecidos. Para a extração do ácido ascórbico, adicionou-se ao homogenato ácido sulfúrico suprapuro[®] 0,05 M e esta mistura foi sonicada por 10 minutos e levada a volume conhecido. Em seguida, o material foi filtrado utilizando filtro de teflon hidrofílico. O extrato final obtido foi transferido para um “vial” âmbar.

4.3.2.2.2 Dosagem da vitamina C

A quantificação da vitamina C foi feita por cromatografia, utilizando a coluna de fase reversa/ exclusão iônica Aminex HPX-87H (7,8 mm x 300 mm). Amostra injetada: 20 µL do extrato obtido no item 4.3.2.2.1; temperaturas da coluna e do injetor: ambiente e 10° C respectivamente; fase móvel: ácido sulfúrico suprapuro® 0,1 N; eluição isocrática e fluxo de 0,8mL/ min durante 12 minutos.

A vitamina C foi detectada pela absorção em 243 nm e a concentração das amostras foi determinada pela integração automática da área do pico e comparada com uma curva padrão.

Utilizou-se o método de padronização externa e o padrão analítico (solução de ácido ascórbico) foi obtido da Sigma Aldrich®. Os valores de vitamina C foram expressos em µg/100g de peso fresco.

4.3.3 Análise de parâmetros de estresse oxidativo

O estresse oxidativo foi avaliado pela análise da atividade de enzimas antioxidantes (catalase - CAT e peroxidase - POX) e também pela peroxidação lipídica.

As análises das atividades enzimáticas na polpa dos frutos C e I tiveram início no 2° dpc e da peroxidação lipídica, no 3° dpc, sendo realizadas até os frutos de cada grupo atingirem a completa senescência.

As amostras, para estas análises, foram coletadas e mantidas em nitrogênio líquido até o momento de uso.

4.3.3.1 Obtenção do extrato protéico

O extrato protéico para análise da atividade das enzimas catalase e peroxidase foi obtido segundo método descrito por Rocha (2006). Uma amostra de 200 mg da polpa foi macerada em almofariz na presença de nitrogênio líquido. Em seguida, foram adicionados à amostra 2 mL de tampão fosfato de sódio ($\cong 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) 0,1 M pH 6,8 contendo ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) 0,1 mM e 20 mg de polivinilpolipirrolidona, procedendo-se uma homogeneização. O homogenato obtido foi centrifugado a 24000 g por 15 minutos a 4 $^{\circ}\text{C}$. O sobrenadante, denominado extrato protéico, foi utilizado para a dosagem de proteínas e avaliações das atividades enzimáticas.

4.3.3.2 Dosagem de proteínas

O conteúdo protéico do extrato foi determinado pelo método de Lowry et al. (1951). Uma alíquota da amostra, contida em solução aquosa com volume final de 500 μL , foi acrescida de 5 mL de reagente de cobre (sulfato de cobre 2% p/v, solução de tartarato de sódio e potássio 2% p/v, carbonato de sódio 3% p/v em hidróxido de sódio 0,1M, na relação 1:1:48). Após 10 minutos de repouso, foi adicionado ao meio de reação 0,5 mL do reagente de Folin (diluído 1:2 em água) e a leitura da absorbância foi realizada a 660nm após 10 minutos da adição deste reagente. A concentração protéica da amostra foi determinada utilizando uma curva padrão de soro albumina bovina (BSA).

4.3.3.3 Ensaio das atividades enzimáticas

4.3.3.3.1 Ensaio da atividade da Catalase (EC 1.11.1.6)

A atividade da CAT foi determinada através de método espectrofotométrico de acordo com Havir e Mchale (1987) e Anderson et al. (1995). O meio de reação foi constituído de 0,9 mL de solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 12,5 mM em tampão fosfato de sódio 50 mM pH 7,0 pré-incubado a 30 °C. A reação foi iniciada pela adição de 100 μL do extrato protéico (item 4.3.3.1) e a atividade foi acompanhada pelo decréscimo da absorbância a 240 nm, o qual foi registrado em intervalos de 30 segundos durante 3 minutos. A atividade da catalase foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 ($36 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) e expressa em μmol de peróxido de hidrogênio consumido por miligrama de proteína por minuto.

4.3.3.3.2 Ensaio da atividade da peroxidase (EC 1.11.1.7)

A atividade da POX foi determinada por método fotocolorimétrico de acordo com Kar e Mishra (1976) e Chance e Maehley (1955). O meio de reação foi constituído de 0,98 mL de solução de H_2O_2 20 mM em tampão fosfato de sódio 25 mM pH 6,8 acrescida de pirogallol 20 mM e a reação foi iniciada pela adição de 20 μL do extrato protéico (item 4.3.3.1) diluído 1:25 (v/v). O período de reação foi de 40 segundos a 25 °C e a absorbância do composto cromogênico formado (purpurogalina - PPG) foi registrada a 420 nm neste tempo. A atividade peroxidásica foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar da PPG ($2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e expressa em μmol de purpurogalina produzida por miligrama de proteína por minuto.

4.3.3.4 Determinação da Peroxidação Lipídica

A determinação da peroxidação lipídica foi realizada segundo metodologia descrita por Hodges et al. (1999) que se baseia na reação do malondialdeído (MDA) com o

ácido tiobarbitúrico (TBA), a qual forma um complexo MDA-TBA de coloração rósea. Amostras de 1g da polpa foram homogeneizadas com 1 g de areia inerte e 25 mL de etanol 80%. O homogenato foi centrifugado a 15000 g por 10 minutos a 4 °C. Para realização do ensaio, uma alíquota do sobrenadante apropriadamente diluída para um volume final de 1 mL (em água) foi adicionada a dois tubos de ensaio: Tubo 1 (presença de TBA) - contendo 1 mL de solução TBA 0,65% p/v e de butilhidroxitolueno (BHT) 0,01% p/v em ácido tricloroacético (TCA) 20% p/v e Tubo 2 (ausência de TBA) – contendo 1 mL de solução de BHT 0,01% p/v em TCA 20% p/v. As soluções foram agitadas em 6 ciclos de 20 segundos cada e incubadas a 95°C por 60 minutos. A reação foi, então, paralisada em banho de gelo por 60 minutos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 15000 g por 10 minutos a 4 °C. A absorbância do sobrenadante foi lida em 532 nm, 600 nm e 440 nm, que correspondem, respectivamente, à absorbância máxima do complexo MDA-TBA, à absorbância de turbidez inespecífica e à absorbância dada pela interferência de carboidratos. A peroxidação lipídica foi calculada de acordo com a equação descrita por Hodges et al. (1999) e expressa em μmol de equivalentes de MDA produzidos por 100 g de peso fresco:

$$1) [(Abs\ 532_{+TBA}) - (Abs\ 600_{+TBA}) - (Abs\ 532_{-TBA} - Abs\ 600_{-TBA})] = A$$

$$2) [(Abs\ 440_{+TBA} - Abs\ 600_{+TBA}) \times 0,0571] = B$$

$$3) \text{MDA equivalentes } (\mu\text{mol}/ 100\text{g peso fresco}) = (A - B/ 157 \times 10^3) \times 10^6$$

Onde:

Abs 532_{+TBA} = absorbância a 532 nm na presença de TBA

Abs 600_{+TBA} = absorbância a 600 nm na presença de TBA

Abs 532_{-TBA} = absorbância a 532 nm na ausência de TBA

Abs 600_{-TBA} = absorbância a 600 nm na ausência de TBA

Abs 440_{+TBA} = absorbância a 440 nm na presença de TBA

0,0571 = razão da absorbância molar da sacarose a 440 nm e 532 nm

157×10^3 = coeficiente de extinção molar do MDA ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

4.3.4 Avaliação da possível atividade mutagênica e genotóxica da radiação gama por meio de teste de mutagenicidade e genotoxicidade

Para avaliação da possível mutagenicidade da radiação gama na dose de 0,8 kGy, foi utilizado o sistema *Allium cepa*, onde foram analisadas aproximadamente 5000 células meristemáticas e diferenciadas (F1). Foram utilizados 4 grupos/tratamentos: sementes de cebola irradiadas (SI), raízes de cebola irradiadas (RI), controle negativo (CN) e controle positivo (CP).

Para avaliação da possível genotoxicidade da radiação gama, foi utilizado o ensaio do Cometa. Este ensaio foi realizado a partir do 2º dpc, em dias alternados, até os frutos do mamão de cada grupo (C e I) atingirem a completa senescência.

4.3.4.1 Avaliação do efeito da radiação gama sobre o material genético de *Allium cepa* como organismo-teste

Como organismo-teste, foram utilizadas sementes da espécie *A. cepa* Topseed® (variedade baia periforme) por serem caracterizadas como um material de análise mais homogêneo, tanto geneticamente como fisiologicamente e também disponível durante todo o ano.

Sementes de *A. cepa* e sementes germinadas em água Milli-Q (radículas) até as raízes atingirem comprimento aproximado de 2 cm acondicionadas em placas de petri foram conduzidas via aérea para o Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear CDTN/CNEN (Belo Horizonte/MG), onde foram submetidas ao mesmo procedimento de irradiação (0,8 kGy) descrito anteriormente para os frutos do mamão (item 4.2) e correspondem aos tratamentos SI e RI respectivamente.

O ensaio para obtenção da frequência dos índices de alterações cromossômicas e de mutagenicidade foi realizado segundo metodologia descrita por Grant (1982) e Ma et al. (1995).

As sementes de cebola submetidas ao processo de irradiação (SI) foram germinadas em água Milli-Q até que as raízes atingissem o comprimento aproximado de 2 cm, enquanto que as raízes submetidas ao processo de irradiação (RI) permaneceram em água Milli-Q por 48 h (2 ciclos celulares). O controle negativo (CN) e o controle positivo (CP) foram obtidos com sementes germinadas em água Milli-Q e com solução do agente mutagênico Metil Metanosulfonato (MMS) 4×10^{-4} M respectivamente. Em seguida, todas as raízes foram coletadas, fixadas em Carnoy (etanol: ácido acético 3:1 v/v) por 24 h e armazenadas a 4° C até sua utilização na confecção das lâminas. Posteriormente, as raízes foram submetidas à hidrólise ácida com HCl (ácido clorídrico) 1N a 60° C durante 8 minutos, seguida de lavagem em água destilada e coradas com Reativo de Schiff ^(*) segundo metodologia de Feulgen (MELLO; VIDAL, 1978). As regiões meristemáticas e diferenciadas foram removidas das raízes, transferidas para lâminas e, em seguida, as células meristemáticas e diferenciadas foram recobertas com lamínulas e suavemente esmagadas. As lamínulas foram removidas por imersão em nitrogênio líquido e as lâminas permanentes montadas com resina sintética (Figura 11 e anexos A e B). As alterações cromossômicas foram consideradas nas diferentes fases da divisão celular (prófase, metáfase, anáfase, telófase) e aquelas mais freqüentes foram analisadas por microscopia de luz, marcadas e registradas por recursos fotográficos. No grupo SI, as alterações cromossômicas foram analisadas em células meristemáticas e a freqüência de micronúcleos (MN) foi avaliada em células meristemáticas e diferenciadas tanto do grupo SI, quanto do RI.

^(*) Reativo de Schiff: fuccina básica 0,5% p/v, metabissulfito de potássio 1,5% p/v, HCl 0,15 M em água.

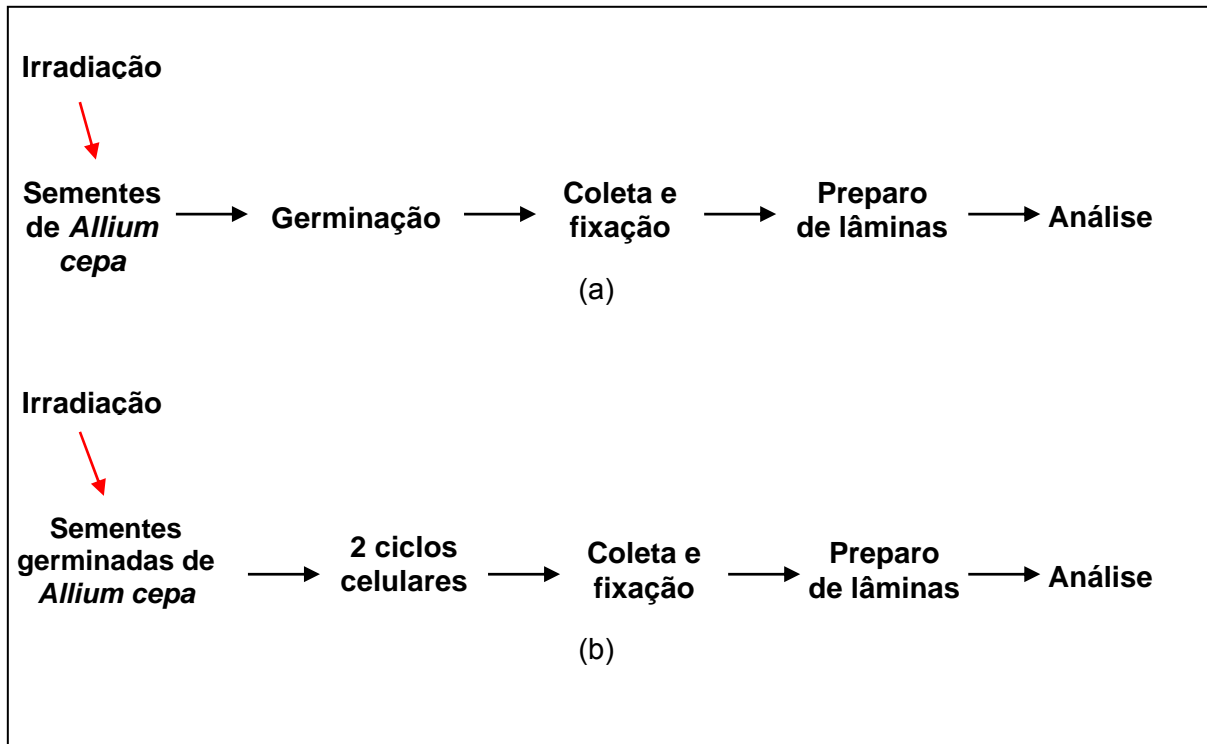


Figura 11 - Esquema do Ensaio com (a) sementes (SI) e (b) raízes (RI) de *Allium Cepa*.

Os Índices de Alterações cromossômicas e de mutagenicidade dos tratamentos avaliados foram estimados pelas equações descritas abaixo.

$$\text{Índice de Alteração (\%)} = \frac{\text{N}^* \text{ de células com alterações do ciclo celular}}{\text{N de células em divisão celular}}$$

$$\text{Índice de Mutagenicidade (\%)} = \frac{\text{N}^* \text{ de células com micronúcleo}}{\text{N}^* \text{ total de células analisadas}}$$

* N = número de células

4.3.4.2 Avaliação do efeito da radiação gama sobre o material genético dos frutos pelo Ensaio do Cometa

A extensão de dano ao DNA das células da polpa dos frutos foi determinada pelo ensaio do cometa de acordo Koppen e Cerda (1997) e Singh et al. (1988) com pequenas modificações. Uma amostra de 1g da polpa foi macerada com areia inerte em tampão PBS 0,01 M pH 7,4 contendo 0,14 M NaCl isento de cálcio e magnésio ($\cong 4$ °C) utilizando-se almofariz. Este homogenato foi centrifugado a 2000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi filtrado (filtro - 200 μ m) e uma alíquota de 40 μ L do filtrado (suspensão celular) foi adicionada a 80 μ L de agarose de baixo ponto de fusão 0,5% a 37 °C. Esta mistura foi aplicada a uma lâmina pré-preparada com agarose 1,5%. As lâminas foram incubadas em solução de lise (1mL de Triton X-100, 10mL de dimetilsulfóxido e 89 mL de solução de lise estoque^(*)) por um período de, no mínimo, 1 hora a 4 °C na ausência de luz. Posteriormente, as lâminas foram transferidas para a cuba de eletroforese, a qual continha solução de corrida (hidróxido de sódio (NaOH) 10 N, EDTA 200 mM pH 13,4) a 4 °C. As lâminas permaneceram 20 minutos em contato com esta solução e após este período, a eletroforese foi conduzida durante 20 minutos a 25 V. Em seguida, as lâminas foram neutralizadas com tampão Tris 0,4 M pH 7,5 por 15 minutos, secas à temperatura ambiente e fixadas com etanol 100 % por 20 minutos. A coloração foi realizada com brometo de etídio 0,02mg/mL e a análise foi feita pela contagem aleatória de 100 nucleóides/ lâmina (Anexo C), utilizando microscópio de fluorescência Olympus[®] com filtros de excitação 515-560 nm e de barreira 590 nm em objetiva de 40x. Os nucleóides foram classificados, visualmente, de acordo com a migração dos fragmentos (comprimento e intensidade da cauda) em: classe 0 (nenhum ou pouco dano); classe 1 (pequeno dano); classe 2 (médio dano); classe 3 (grande dano) (Figura 12) (KOBAYASHI et al., 1995). Após a contagem, obteve-se os escores de cada tratamento por meio do somatório do número de células encontradas em cada classe seguido de multiplicação pelo valor atribuído a cada classe.

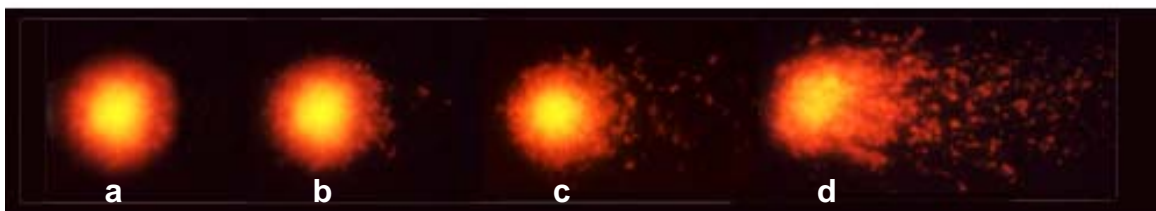


Figura 12 - Classes de Cometa que podem ser encontradas na análise: (a) Classe 0; (b) Classe 1; (c) Classe 2; (d) Classe 3.

(*) Solução de lise estoque: cloreto de sódio 2,5 M, EDTA 100 mM, trishidroximetilaminometano (Tris) 10 mM, \cong 8,0 g de NaOH, e 10 g de laurilsarcosinato de sódio para 1L pH 10,0).

4.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e para a análise estatística das variáveis estudadas, exceto para o sistema-teste *Allium cepa*, foi empregada a análise de variância (ANOVA) de uma via completamente randomizada, seguida pelo cálculo das diferenças mínimas entre as médias, pelo teste de Tukey a 5%. Os escores de cada tratamento do ensaio do Cometa foram avaliados pelo teste de Duncan a 5%.

Para as análises do sistema-teste *Allium cepa*, a análise estatística foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis a 5%.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 Textura

A figura 13 mostra os resultados da avaliação da textura dos frutos controles e irradiados. Observa-se uma diminuição da textura durante os dias pós-colheita, tanto em frutos controles quanto em frutos irradiados. Entretanto, frutos irradiados apresentaram textura significativamente maior durante todo o período avaliado. No 9º dia pós-colheita, frutos irradiados exibiram características texturais ($0,97 \text{ kgf} \pm 0,05$) semelhantes às de frutos controles no 4º dpc ($1,13 \text{ kgf} \pm 0,23$), os quais, no 9º dpc, já haviam perdido completamente a firmeza. No entanto, frutos do grupo I mantiveram-se firmes até o 12º dia pós-colheita (dados não mostrados).

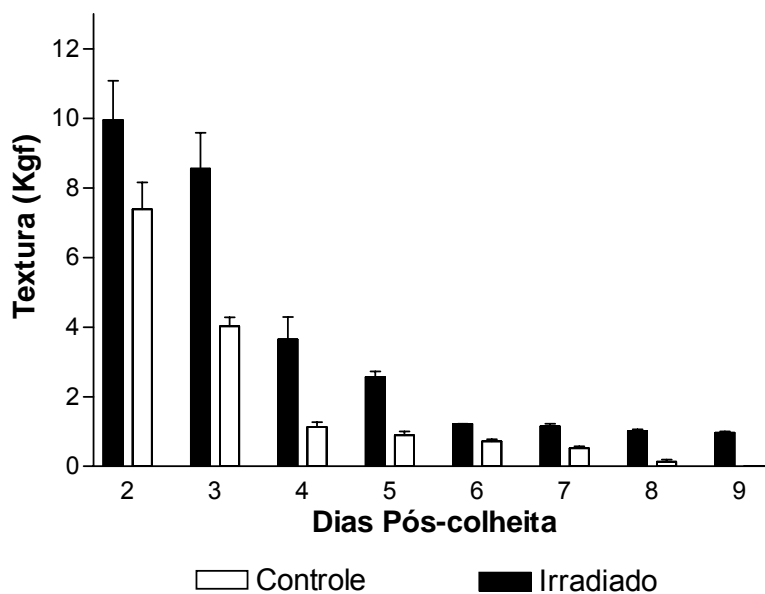


Figura 13 - Comparação entre a textura da polpa de frutos do mamão dos grupos controle e irradiado durante o amadurecimento. A significância das diferenças entre os grupos foi determinada por ANOVA uma via seguida do teste de Tukey 5% ($n=3$).

5.2 Características nutricionais

5.2.1 Teor de água (umidade da matéria seca)

Os resultados referentes à análise do teor de água dos frutos C e I são mostrados na figura 14. Frutos controles e irradiados apresentaram teores de água semelhantes no 5º (C -10,42 g ± 0,34; I - 11,07 g ± 0,54), 7º (C - 9,60 g ± 0,95; I - 9,58 g ± 0,74) e 9º dpc (C - 9,12 g ± 0,52; I - 8,86g ± 0,44) por 100g de polpa.

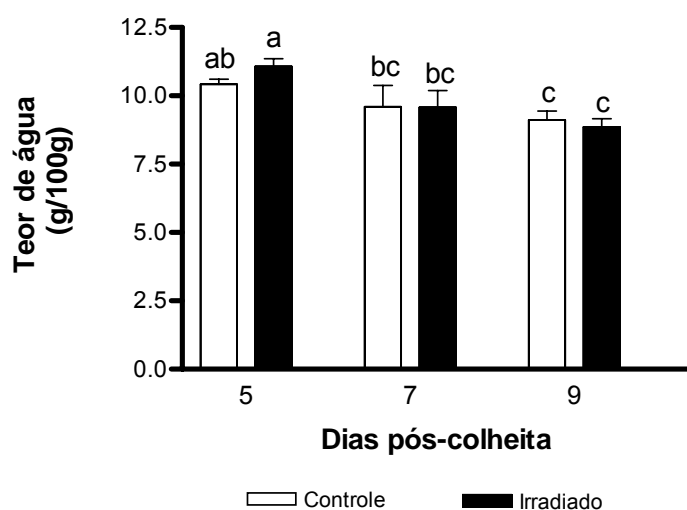


Figura 14 – Comparação do teor de água da polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=3).

5.2.2 Fibras

A figura 15 mostra os resultados da análise do teor de fibras da polpa de frutos do mamão. Foi observado que frutos irradiados apresentaram níveis significativamente maiores no teor de fibras (\cong 23% - 5º dpc; \cong 24% - 7º dpc; \cong 31% - 9º dpc) quando

comparados aos frutos controles. Observa-se também uma diminuição no teor de fibras dos frutos C e I nos diferentes dias avaliados.

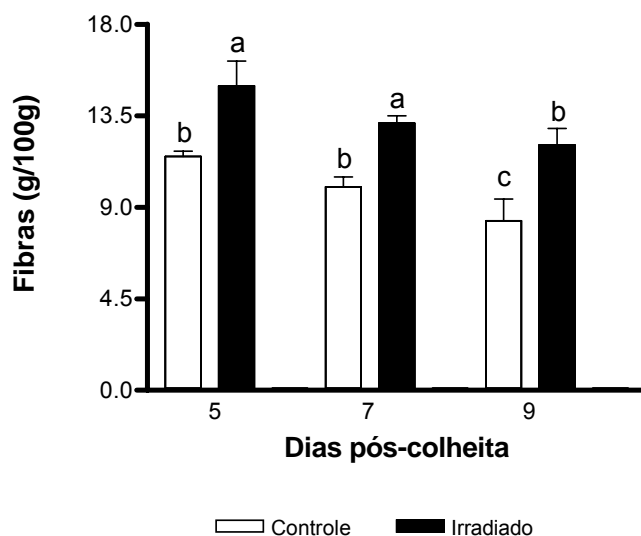


Figura 15 – Comparação do teor de fibras da polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=3).

5.2.3 Cinzas (resíduo mineral fixo)

Os resultados da análise do teor de cinzas dos frutos C e I estão apresentados na figura 16. Frutos controles e irradiados apresentaram teores de cinzas semelhantes no 5º (C – $2,37 \pm 0,71$; I – $3,23 \pm 0,45$), 7º (C – $3,16 \pm 0,47$; I – $3,51 \pm 0,39$) e 9º dpc (C – $2,61 \pm 0,63$; I – $2,71 \pm 0,49$) por 100g de polpa. Os resultados demonstram não haver diferença significativa no teor de cinzas tanto durante os diferentes dias pós-colheita avaliados, quanto entre os dois grupos.

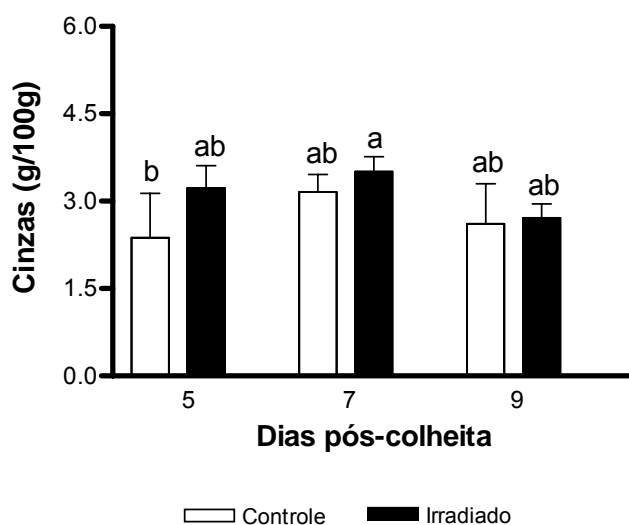


Figura 16 – Comparação do teor de cinzas da polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=3).

5.2.4 Lipídeos totais (extrato etéreo)

A figura 17 mostra os resultados da análise do conteúdo lipídico dos frutos controles e irradiados. A irradiação diminuiu significativamente o teor de lipídeos totais da polpa dos frutos de mamão. Frutos do grupo I apresentaram menor conteúdo lipídico do que os frutos controles nos dias pós-colheita avaliados (\cong 55, 62 e 57% menor no 5º, 7º e 9º dpc respectivamente). Não foi encontrada diferença significativa no teor lipídico nos diferentes dpc analisados dos frutos irradiados. Entretanto, nos frutos controles, houve uma diminuição no conteúdo lipídico no 9º dpc.

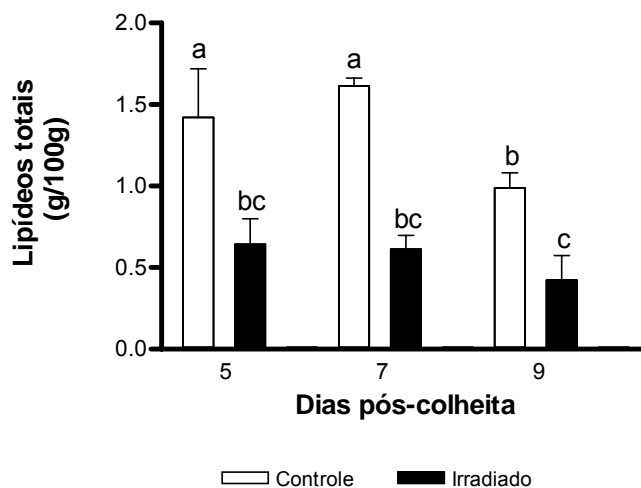


Figura 17 – Comparação do conteúdo de lipídeos totais presentes na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=3).

5.2.5 Proteínas

Os resultados da análise do conteúdo protéico da polpa dos frutos controles e irradiados são mostrados na figura 18. Observa-se que o teor protéico foi estatisticamente semelhante entre os frutos C e I e este conteúdo não foi alterado durante os diferentes dpc avaliados. O valor médio do conteúdo protéico foi de $4,19 \pm 0,31$ e $4,02 \pm 0,15$ nos frutos controles e irradiados respectivamente. Estes resultados demonstram que o processo de irradiação não promoveu alteração no conteúdo de proteínas na polpa dos frutos.

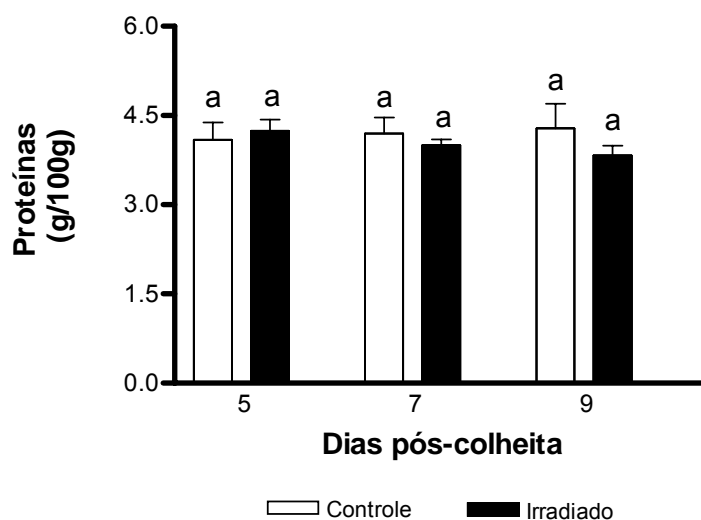


Figura 18 – Comparação do conteúdo protéico da polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=3).

5.2.6 Carboidratos

A análise do conteúdo de carboidratos totais da polpa de frutos do mamão é mostrada na figura 19. Os frutos irradiados apresentaram conteúdo de carboidratos significativamente menor no 5º dpc ($65,84 \text{ g/100g} \pm 1,88$) que os controles ($70,20 \text{ g/100g} \pm 1,48$). Mas, não houve diferença significativa entre os grupos no 7º e 9º dpc.

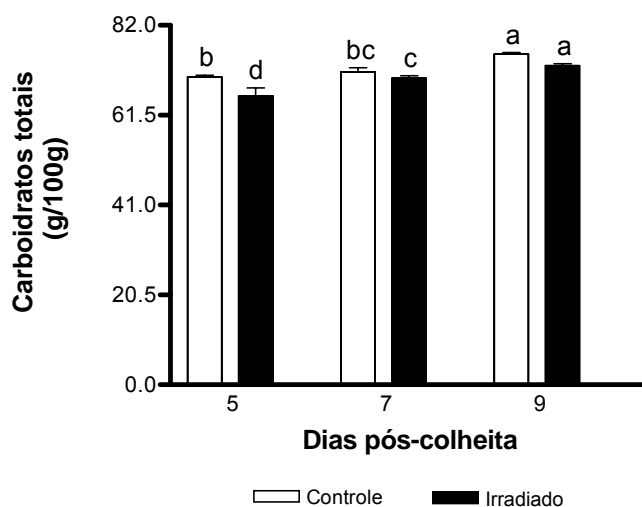


Figura 19 - Comparação do teor de carboidratos totais presentes na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso seco. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=3).

5.2.7 Carotenóides e vitamina C

A figura 20 mostra os perfis cromatográficos típicos da análise do conteúdo de carotenóides e vitamina C presentes na polpa dos frutos de mamão da cultivar Golden. Observa-se que estes frutos apresentam β -criptoxantina, β -caroteno e licopeno como principais carotenóides, sendo o último majoritário.

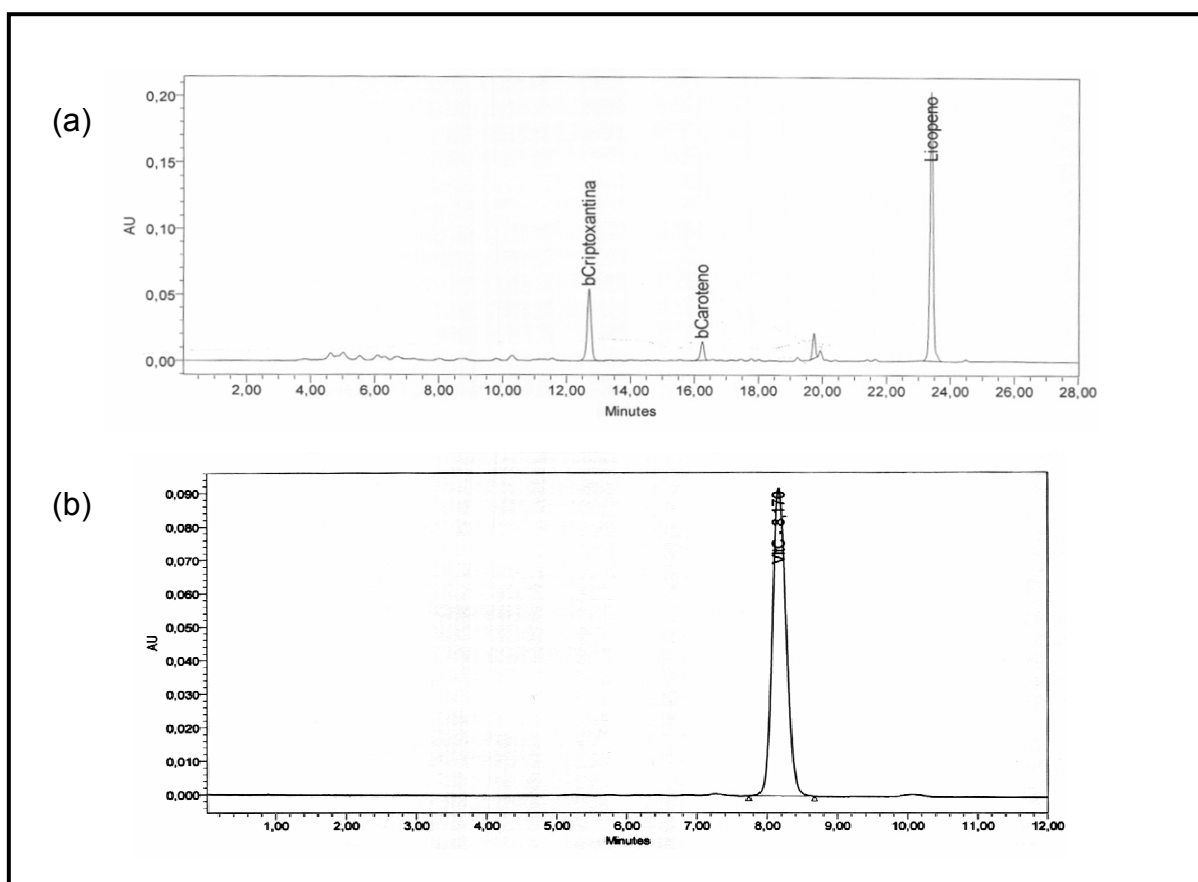


Figura 20 – Perfil cromatográfico característico, obtido por HPLC, (a) dos carotenóides e (b) da vitamina C da polpa dos frutos de mamão da cultivar Golden. As condições cromatográficas estão descritas em Matérias e Métodos.

5.2.7.1 Carotenóides

Os resultados da análise do conteúdo de carotenóides totais da polpa de frutos controles e irradiados são mostrados na figura 21. Não houve diferença significativa no conteúdo de carotenóides entre os grupos C e I no 5º e 9º dpc. Entretanto, foi observado que os frutos irradiados apresentaram menor teor de carotenóides totais ($\cong 35\%$) no 7º dpc. Observou-se que o teor de carotenóides no 9º dpc dos frutos I é semelhante ao dos frutos C no 7º dpc.

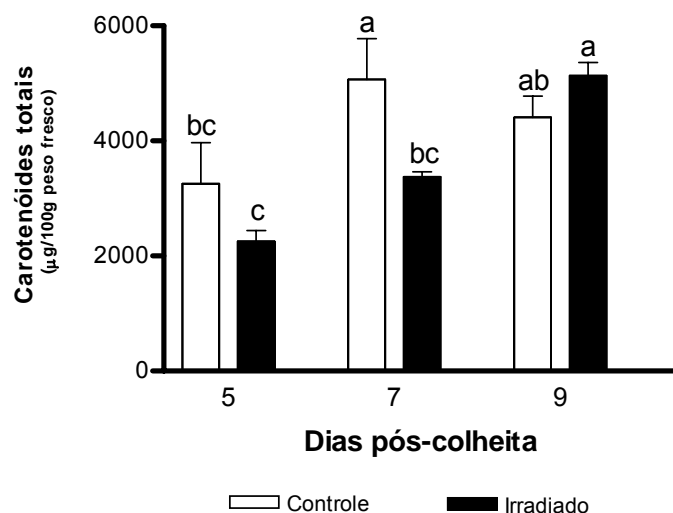


Figura 21 - Comparação do teor de carotenóides totais presentes na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso fresco. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=3).

A figura 22 mostra os resultados da análise do valor de vitamina A (calculado utilizando os teores de β -caroteno e β -criptoxantina). É definido que 6 μg de β -caroteno e 12 μg de β -criptoxantina equivalem a 1 μg de retinol (RE) (NAS-NCR, 1980).

O potencial vitamínico dos frutos I (78,8 μg RE/ 100g \pm 12,9) foi menor do que o dos frutos C (127,9 μg RE/ 100g \pm 30,4) no 7º dpc, e maior no 9º dpc (C – 106,5 μg RE/100g \pm 14,76 e I - 169,7 μg RE/100g \pm 11,9). Observou-se também que a atividade de vitamina A de frutos irradiados no 9º dpc (169,7 μg RE/100g \pm 11,9) é semelhante à de frutos controles no 7º dpc (127,9 μg RE/ 100g \pm 30,4).

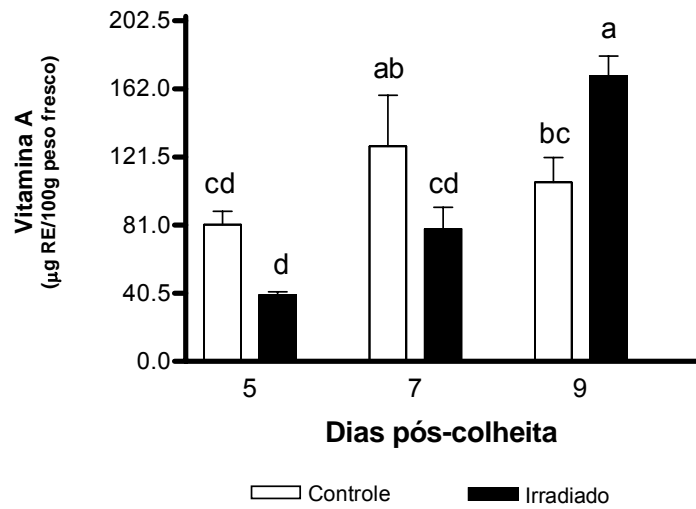


Figura 22 – Comparação do valor de vitamina A referente ao conteúdo de β -criptoxantina e β -caroteno na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5^o, 7^o e 9^o dias pós-colheita com base no peso fresco. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=3).

Diferente dos resultados obtidos para os carotenóides totais e valor de vitamina A, não foi verificada diferença significativa no teor de licopeno tanto entre os grupos C e I, quanto nos diferentes dias avaliados (Figura 23).

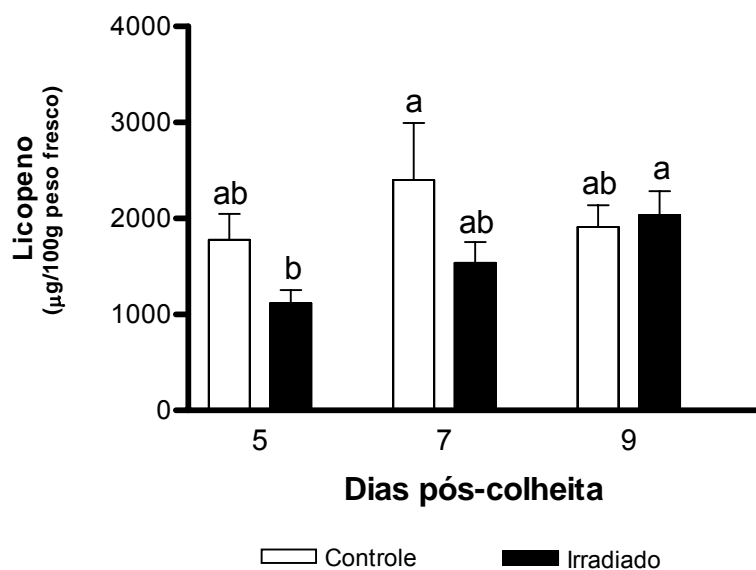


Figura 23 - Comparação do teor de licopeno presente na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5^o, 7^o e 9^o dias pós-colheita com base no peso fresco. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=3).

5.2.7.2 Vitamina C

Os resultados da análise do conteúdo de vitamina C dos frutos controles e irradiados são mostrados na figura 24. Frutos irradiados apresentaram menor conteúdo de vitamina C que os frutos controles em todos os dias avaliados ($\cong 21\%$ - 5º dpc; $\cong 52\%$ - 7º dpc e $\cong 27\%$ - 9º dpc).

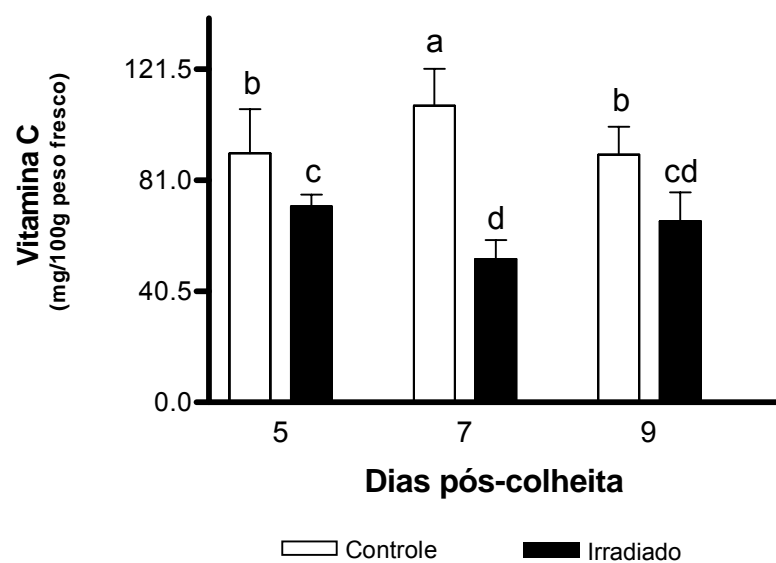


Figura 24 – Comparação do teor de vitamina C presente na polpa dos frutos de mamão dos grupos controle e irradiado no 5º, 7º e 9º dias pós-colheita com base no peso fresco. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=3).

5.3 Parâmetros de estresse oxidativo

5.3.1 Atividade enzimática da catalase

Os resultados da atividade da catalase (CAT) durante o amadurecimento dos frutos estão apresentados na figura 25. A radiação alterou o perfil de atividade desta

enzima. Observa-se um aumento significativo da atividade da CAT no 4º e 5º dpc, com posterior redução no 6º dpc, permanecendo sem alteração até o 9º dpc em frutos controles. Por outro lado, frutos irradiados apresentaram um pico de atividade no 3º dpc, seguido de redução no 4º e 5º dpc e a partir do 6º dpc, sua atividade foi semelhante à de frutos controles.

5.3.2 Atividade enzimática da peroxidase

A figura 26 mostra os resultados da análise da atividade da peroxidase (POX) durante os dias pós-colheita. A radiação alterou o perfil de atividade desta enzima durante o amadurecimento dos frutos. Observa-se dois picos de atividade durante a maturação (5º e 8º dpc) dos frutos controles. Os frutos irradiados apresentaram um retardo de 1 dia no 1º pico de atividade da POX.

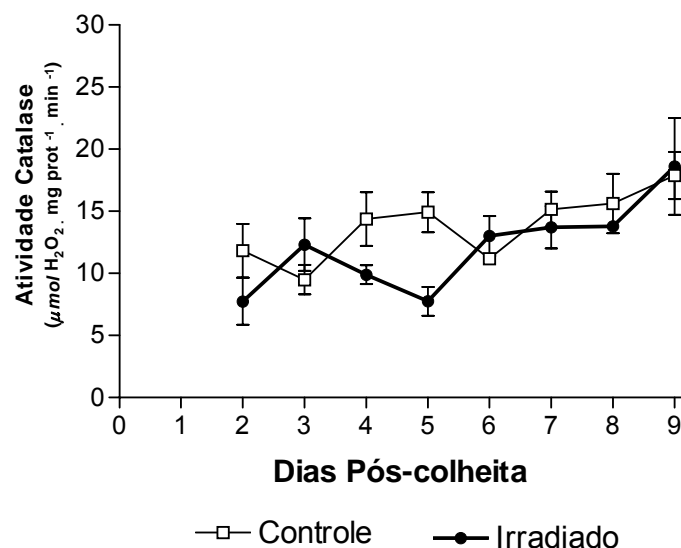


Figura 25 - Comparação entre o perfil da atividade da enzima catalase de frutos do mamão dos grupos controle e irradiados durante o amadurecimento. A atividade foi expressa em μmol de peróxido de hidrogênio consumido por miligrama de proteína por minuto. A significância das diferenças entre os grupos foi determinada por ANOVA, uma via seguida do teste de Tukey a 5% ($n=3$).

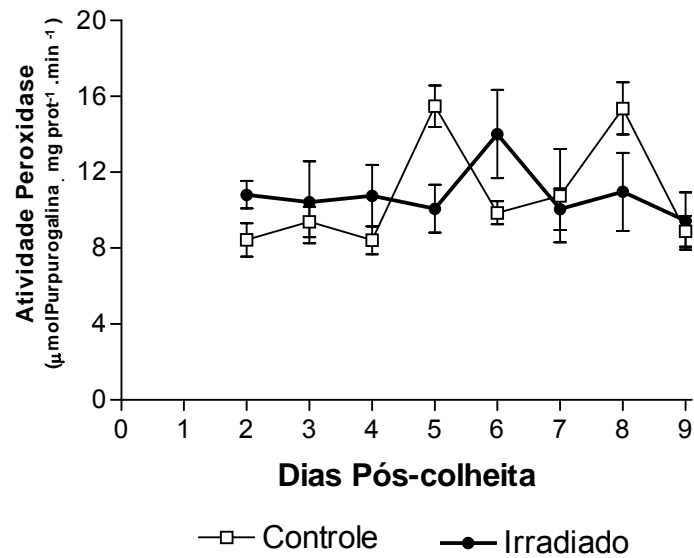


Figura 26 - Comparação entre o perfil da atividade da enzima peroxidase de frutos do mamão dos grupos controle e irradiados durante o amadurecimento. A atividade foi expressa em μmol de purpurogalina produzida por miligrama de proteína por minuto. A significância das diferenças entre os grupos foi determinada por ANOVA, uma via seguida do teste de Tukey a 5% ($n=3$).

5.3.3 Determinação da peroxidação lipídica

Os resultados da avaliação da peroxidação lipídica (PL) estão apresentados na figura 27. Foi observado um aumento na PL de frutos C e I durante o amadurecimento, entretanto a radiação gama não alterou o perfil da PL. Frutos irradiados apresentaram um aumento estatisticamente significativo dos equivalentes de MDA no 5^o, 7^o e 9^o dpc.

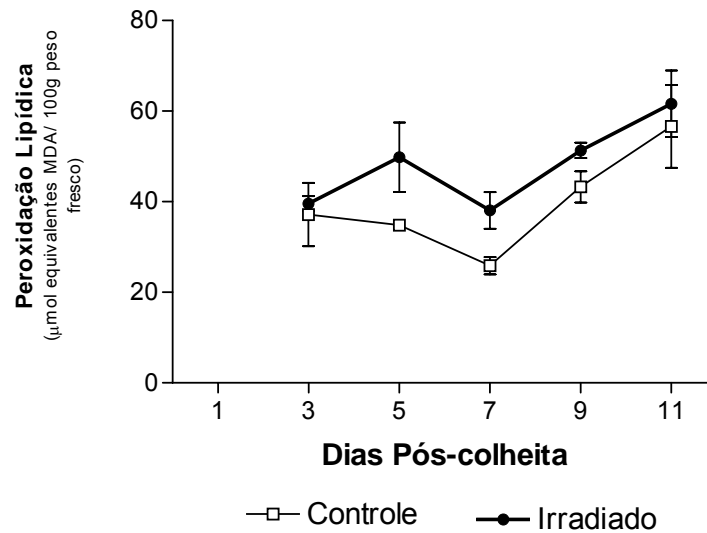


Figura 27 – Comparação da peroxidação lipídica de frutos do mamão dos grupos controle e irradiados durante o amadurecimento. A peroxidação lipídica foi expressa em μmol de equivalentes de MDA produzido por 100 g de peso fresco da polpa dos frutos. A significância das diferenças entre os grupos foi determinada por ANOVA, uma via seguida do teste de Tukey a 5% ($n=3$).

5.4 Análise da atividade da radiação gama sobre o material genético dos frutos por meio de teste de mutagenicidade e genotoxicidade

5.4.1 Teste de mutagenicidade com *Allium cepa*

Os resultados da análise do efeito da dose de 0,8 kGy de radiação gama sobre a freqüência dos índices de alterações cromossômicas (IAC) e de mutagenicidade (IM) das células de *A. cepa* são mostrados na tabela 1 e figuras 28 e 29.

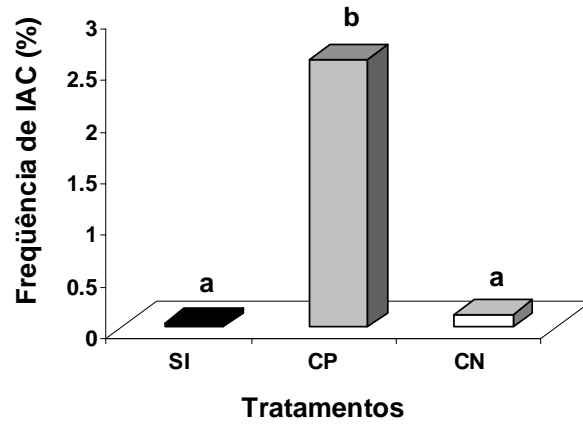
As células meristemáticas provenientes das sementes de *A. cepa* irradiadas (SI) apresentaram freqüência do índice de alterações cromossômicas (IAC) semelhante à das células do controle negativo (CN) e valores significativamente inferiores aos do controle positivo (CP).

As células meristemáticas e diferenciadas das sementes e raízes irradiadas (SI e RI) apresentaram freqüência do índice de mutagenicidade (IM) semelhante à das células do CN e estatisticamente inferior à das células do CP.

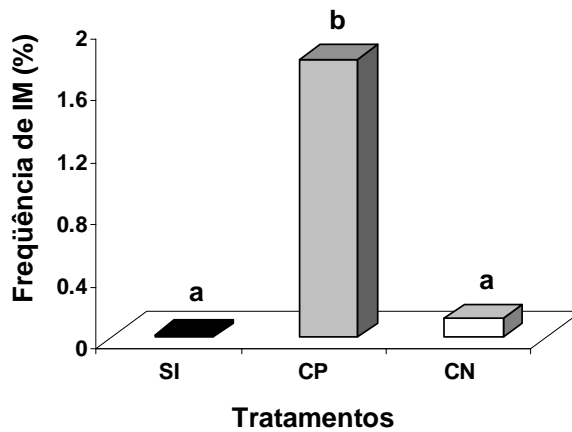
Tabela 1 - Frequência dos Índices de Alterações Cromossômicas (IAC) e de Mutagenicidade (IM) de células meristemáticas e diferenciadas das sementes e raízes de *A. cepa*.

Frequência de IAC e IM/ Tratamentos	Sementes			Raízes	
	Células meristemáticas		Células F1	Células meristemáticas	
	IAC	IM	IM	IM	IM
I (SI ou RI)	0,04 a	0,02 a	0,22 a	0,06 a	0,004 a
CP	2,60 b	1,80 b	3,90 b	1,57 b	0,028 b
CN	0,12 a	0,12 a	0,45 a	0,10 a	0,006 a

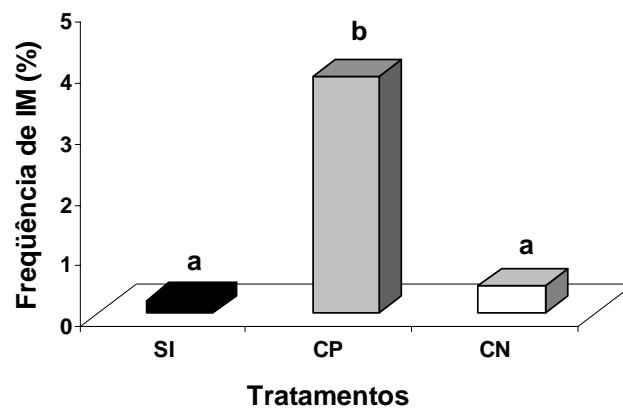
Médias seguidas de mesmas letras, na vertical, indicam não haver diferença significativa entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).



(a)



(b)



(c)

Figura 28 – Frequência (a) dos Índices de alterações cromossômicas (IAC), (b) de Mutagenicidade (IM) das células meristemáticas e (c) IM das células diferenciadas de *Allium cepa*. **SI** – células provenientes das sementes irradiadas (0,8 kGy); **CN** – controle negativo; **CP** – controle positivo. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a 5%.

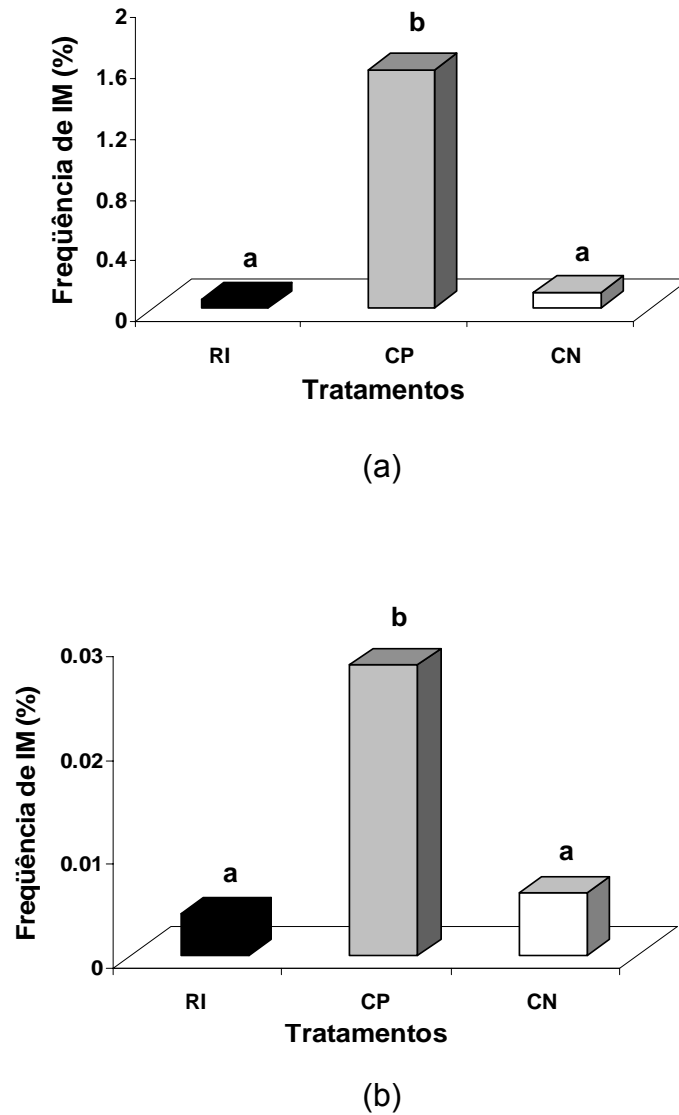


Figura 29 – Freqüência do Índice de Mutagenicidade (IM) (a) das células meristemáticas e (b) das células diferenciadas de *Allium cepa*. **RI** – células provenientes das raízes irradiadas (0,8 kGy); **CN** – controle negativo; **CP** – controle positivo. Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a 5%.

5.4.2 Teste de genotoxicidade pelo Ensaio do Cometa

O anexo D mostra as classes de nucleóides encontrados no ensaio do cometa e o escore calculado a partir do número de células encontradas em cada classe. Frutos controles e irradiados apresentaram freqüência das classes de nucleóides semelhantes em cada dia pós-colheita avaliado.

Os escores demonstram não haver diferença significativa na extensão do dano ao material genético, da polpa, entre os frutos controles e irradiados nos dias avaliados (Tabela 2). Também não foi observada diferença significativa no dano ao DNA, durante o período de amadurecimento, tanto dos frutos controle, quanto dos frutos irradiados.

Tabela 2 - Análise do Ensaio do Cometa em polpa de frutos do mamão dos grupos controle (C) e irradiado (I).

Tratamentos/ Dias pós-colheita		2º	4º	6º	8º	10º	12º
Escore	Controle	2,67 Aa	2,67 Aa	5,67 Aa	3,50 Aa	4,50 Aa	5,00 Aa
	Irradiado	3,67 Aa	4,00 Aa	4,67 Aa	3,00 Aa	4,67 Aa	5,67 Aa

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical indicam não haver diferença significativa entre si pelo teste de Duncan a 5% e Tukey a 5%.

6. DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

6.1 Irradiação dos frutos

Alimentos de origem vegetal, como hortaliças e frutas, são importantes na alimentação humana devido ao seu valor nutricional e atributos sensoriais. Alterações fisiológicas, químicas e enzimáticas nestes vegetais comprometem o valor nutricional e aceleram o processo de senescência, o que afeta sua qualidade (CHERVIN; BOISSEAU, 1994; LIMA et al., 2001; SHEWFELT, 1990). Nos últimos anos, vários métodos de conservação têm sido desenvolvidos com o intuito de manter a qualidade de alimentos (SHEWFELT, 1990).

A irradiação de alimentos é considerada uma tecnologia eficaz na manutenção da qualidade e na redução de perdas pós-colheita por retardar o amadurecimento de frutos 'in natura' (LOAHARANU, 1996). Estes benefícios contribuem para que barreiras fitossanitárias sejam superadas, favorecendo o potencial de comercialização de frutos em nível internacional (LOAHARANU, 1996; MOY; WONG, 2002).

Vários trabalhos têm demonstrado que o retardo no amadurecimento e senescência de frutos climatéricos (banana, melão, manga, maçã, tomate e mamão), induzido pela radiação gama, pode ser devido à diminuição da síntese e/ ou da resposta ao estímulo do hormônio etileno (BOYLSTON et al. 2002; BRODRICK, 1976; BHUSAHN; THOMAS, 1998; BRUTON, 1994; CASTRICINI et al., 2002; LALAGUNA, 1998; MITCHELL et al. 1990; NAGAY; MOY, 1985; THOMAS; DHARKAR; SREENIVASAN, 1971; YU et al., 1995).

Entretanto, para que a eficácia do processo de irradiação seja alcançada, é necessário o estabelecimento da dose de radiação a ser aplicada (IADEROZA; BLEINROTH; AZUMA, 1988; ZHAO; MOY; PAULL, 1996).

Apesar de alguns trabalhos desenvolvidos nas décadas de 60 e 70 demonstrarem que a dose de 0,75 kGy é a mais efetiva no retardo do amadurecimento de frutos do mamão (AKAMINE; GOO, 1977; AKAMINE; WONG, 1966; MOY, 1977), avaliações

mais recentes utilizando doses de 0,6 e 1,0 kGy em mamões do grupo 'Solo' Golden, colhidos e irradiados no estágio 1 de maturação, demonstram que estas doses foram eficientes na manutenção da firmeza. Entretanto, mesmo sendo mais efetiva, a dose de 1,0 kGy provocou prejuízos na qualidade visual pelo escurecimento da casca e amadurecimento anormal dos frutos (FERRAZ, 2005). Estes distúrbios influenciam de forma negativa na aceitabilidade do mercado consumidor.

A efetividade deste processo depende também do estágio de maturação dos frutos no momento da irradiação. De acordo com Akamine e Goo (1977), frutos de mamão devem ser, preferencialmente, irradiados no estágio 1 de maturação, o qual faz parte da fase pré-climatérica. Por outro lado, Balock et al. (1966), Paull (1994) e Zhao (1996) descrevem que doses entre 0,5 e 1,0 kGy são eficazes no aumento de vida útil destes frutos quando irradiados no estágio 3. Thomas, Dharkar e Sreenivasan (1971) verificaram melhores respostas quando frutos são irradiados em estádios mais precoces de maturação. Estes mesmos autores obtiveram uma resposta máxima do retardo no amadurecimento de bananas quando a aplicação da radiação foi realizada entre 20 a 30 h após a colheita.

Levando em consideração o exposto acima, a revisão da literatura, observações experimentais anteriores em nosso laboratório e também a normatização de doses descrita pela Divisão de Alimentos do Ministério da Saúde do Brasil (OLIVEIRA, 2000), foi estabelecida a dose teste de 0,8 KGy, o estágio 1 de maturação para irradiação dos frutos e o período de 24 h entre a colheita e a aplicação do processo para a realização deste trabalho.

6.2 Textura

O processo de amolecimento da polpa de frutos é parte integrante do seu amadurecimento natural e tem grande importância econômica por determinar a limitação da vida pós-colheita de frutos consumidos na forma *in natura* (PAULL et al., 1997; SOUZA; OLIVEIRA, 2007). As injúrias físicas que ocorrem durante o

manuseio, transporte e armazenamento dos frutos como também a susceptibilidade a doenças são proporcionais ao amolecimento e diminuem consideravelmente a qualidade dos frutos (FAGUNDES; YAMANISHI, 2001; MANRIQUE ; LAJOLO, 2004).

Em frutos climatéricos, o amolecimento da polpa envolve a perda de água, por transpiração, e/ou eventos bioquímicos regulados pelo hormônio etileno, o qual ativa rotas de transdução de sinal que alteram o padrão de expressão gênica, incluindo a síntese de enzimas de degradação da parede celular (ALEXANDER; GRIERSON, 2002). Estas enzimas degradam polissacarídeos como pectina, hemicelulose e celulose, causando modificações na arquitetura da parede celular, o que gera mudanças nas características texturais com amolecimento da polpa (KARAKURT; HUBER, 2002; JACKMAN; STANLEY, 1995).

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que frutos irradiados apresentaram maior textura durante todo o período avaliado (Figura 13).

A manutenção da firmeza da polpa, pela aplicação do processo de irradiação gama, tem sido demonstrada em vários frutos. Camargo, Tadini e Sabato (2007), Dennison e Ahmed (1967), Silva et al. (2007) e Tremocoldi et al. (2007) descrevem maior manutenção da textura de frutos de abacate 'Hass', goiabas 'Paluma', mangas e mamões 'Golden' submetidos à irradiação gama. Em tomates, a utilização da radiação gama na fase da pós-colheita diminuiu a velocidade de processos metabólicos envolvidos no amadurecimento com redução na perda de firmeza dos frutos (CASTRICINI et al., 2002; MORAES et al., 2007; MURRAY et al., 1981). De acordo com o descrito por Balock et al. (1966), Boylston et al. (2002), Paull (1994) e Pimentel e Walder (2004), a aplicação da radiação gama manteve a firmeza de frutos do mamão com um aumento de 30 a 50% na vida útil do fruto. Resultados obtidos em trabalhos recentemente realizados no Laboratório de Química de Proteínas/ UFES corroboram com os mencionados anteriormente (LOPES, 2007; SOPRANI, 2005).

Bron (2006) demonstrou que valores $\leq 2,04$ Kgf ($\cong 20$ N) para a textura indicam que os frutos do mamão estão apropriados para o consumo. Neste trabalho, frutos controles atingiram valor ideal de textura para consumo no 4º dpc ($1,13$ Kgf $\pm 0,23 \cong 11,07$ N), e os frutos irradiados, no 6º dpc ($1,21$ Kgf $\pm 0,01 \cong 11,86$ N), 2 dias depois,

podendo estes ser consumidos até o 9º dpc ($\cong 0,97 \text{ kgf} \pm 0,05 \cong 9,51 \text{ N}$). É importante ressaltar ainda que, no 9º dpc, frutos irradiados apresentavam características texturais semelhantes às de frutos controles no 4º dia pós-colheita.

A diferença de 2 dias para a textura ideal de consumo dos frutos irradiados mostra que a radiação foi capaz de retardar o aumento na atividade respiratória dos frutos. De acordo com Bron (2006) e Gomez, Lajolo e Cordenunsi (1999), o pico respiratório, desencadeado pelo climatério, de frutos do mamão ocorre no 4º dpc, o que acarreta modificações na firmeza. Thomas, Dharkar e Sreenivasan (1971) também observaram um retardo no pico climatérico de frutos de banana submetidos ao processo de irradiação (1,0 kGy).

Os resultados obtidos neste trabalho confirmam a efetividade da irradiação na conservação pós-colheita dos frutos de mamão.

6.3 Características nutricionais

Muitas pesquisas têm sido conduzidas sobre irradiação de frutos e vegetais, entretanto, aquelas relacionadas ao estudo específico do efeito deste processo sobre a qualidade nutricional de mamões são limitadas (BOYLSTON et al., 2002).

Como já descrito, a radiação gama pode aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) nos tecidos de frutas e hortaliças, acarretando alterações nutricionais (ANDERSON, 1996; KOVACS; KERESZTES, 2002; YU; ANDERSON, 1997). As ROS podem tornar os alimentos menos aceitáveis por serem capazes de reagir com proteínas, açúcares, lipídeos e vitaminas, resultando perda de funcionalidade destas macromoléculas, síntese de compostos voláteis indesejáveis e destruição de ácidos graxos essenciais, aminoácidos e vitaminas (CHOE; MIN, 2006; JIMÉNEZ et al., 2002; JIMÉNEZ et al., 2003).

Entretanto, as avaliações das características nutricionais de frutos irradiados descritas na literatura são, geralmente, realizadas apenas no estágio de maturação em que o fruto encontra-se apto ao consumo e desconsideram diferenças no grau de maturação.

Considerando a textura ideal para o consumo dos frutos C e I (Figura 13) e as observações anteriormente descritas por Soprani (2005), as quais demonstraram que frutos controles no 5º dpc apresentavam aspecto visual externo atrativo ao consumo e, no 9º dpc, já exibiam distúrbios fisiológicos (inadequados ao consumo), enquanto que os irradiados, neste dia (9º dpc) estavam ainda aptos ao consumo, decidiu-se avaliar as características nutricionais do mamão no 5º, 7º e 9º dpc, o que possibilitou uma comparação dos frutos quando estes apresentavam grau de maturação semelhante.

6.3.1 Teor de água (umidade da matéria seca)

O conteúdo de água exerce um papel importante no crescimento, amadurecimento e na pós-colheita de frutos (CHAVES et al., 2004). O efeito da radiação gama no teor de água de frutos do mamão foi avaliado e os resultados demonstram que a irradiação na dose aplicada (0,8 kGy) não alterou o conteúdo de água dos frutos (Figura 14).

Os resultados encontrados neste trabalho corroboram com aqueles descritos por Lopes (2007), o qual descreve que a irradiação (0,8 kGy) não afetou a perda de água dos frutos de mamão, utilizando a perda de peso para esta análise, entretanto manteve a firmeza destes frutos. Este mesmo autor sugere que a manutenção da firmeza está provavelmente associada a processos metabólicos que não estão diretamente relacionados com a transpiração. Estes resultados estão de acordo com Paull e Chen (1989), que relatam que em frutos carnosos, como o mamão, a perda de água, à temperatura ambiente, possui uma participação menos expressiva nas alterações da textura do que as transformações nos constituintes da parede celular.

Vários trabalhos, utilizando a perda de peso e a desidratação a 105º C, também demonstram que a irradiação não promoveu alteração no conteúdo de água de pêssegos, abacates, mangas, morangos e mamões (GERMANO; ARTHUR; WIENDL, 1996; CALORE; VIEITES, 2003; BEYERS; THOMAS; VAN TONDER, 1979).

Viegas (1992) e Balbino (1997) descreveram que a perda de água se deve principalmente à difusão de vapor de água através da casca do fruto, o que se acentua com seu amadurecimento devido à diminuição na espessura da casca, sendo essa perda afetada pela variação da umidade do ambiente. Estas observações podem justificar o menor conteúdo de água no 9º dpc dos frutos C e I encontrados neste trabalho (Figura 14).

6.3.2 Fibras

Como mencionado, as fibras apresentam benefícios para a saúde humana e são componentes da parede celular dos vegetais (pectina, hemicelulose e celulose) (MATTOS; MARTINS, 2000; WEISBURGER et al., 1993). Modificações na arquitetura da parede celular estão correlacionadas com o amadurecimento e com características nutricionais e sensoriais de frutos (FAO, 1997).

Resultados da análise do conteúdo de fibras mostram que frutos irradiados apresentaram teores significativamente maiores quando comparados aos frutos controles (Figura 15), o que está de acordo com o aumento na firmeza da polpa promovido pelo processo de irradiação gama. Estes resultados confirmam observações anteriores realizadas no Laboratório de Química de Proteínas/ UFES e descritas na literatura, as quais demonstram que a irradiação é capaz de alterar o perfil da atividade de enzimas envolvidas na degradação da parede celular (pectinametilesterase, β -galactosidase e poligalacturonase), reduzindo a perda de firmeza (amolecimento), o que aumenta a vida de prateleira dos frutos de mamão (BRUMMELL; LABAVITCH, 1997; D'INNOCENZO, 1996; HADFIELD; BENNETT, 1998; LOPES, 2007; PIMENTEL; WALDER, 2004; PAULL; GROSS; QIU, 1999; SOPRANI, 2005).

Vários trabalhos demonstram uma diminuição no tamanho dos polissacarídeos da parede celular durante o amadurecimento de frutos (tomate, morango, melancia, abacate, pêra e maçã), acarretando perda de firmeza da polpa (AHMED; LABAVITCH, 1980; BARTLEY, 1976; HUBER, 1983; HUBER, 1984; MCCOLLUM; HUBER; CANTLIFFE, 1989; PESIS; FUCHS; ZAUBERMAN, 1978; ZHAO; MOY;

PAULL, 1996), o que é condizente com a redução no teor de fibras observada nos 2 grupos avaliados neste trabalho (Figura 15).

6.3.3 Cinzas (resíduo mineral fixo)

O conteúdo de cinzas relaciona-se ao resíduo inorgânico remanescente da queima da matéria orgânica presente nos alimentos e pode ser utilizado como índice de qualidade (CIABOTTI; DUARTE; CAVALCANTI-MATA, 2000). Os minerais apresentam várias funções, atuando, principalmente, como cofatores, sendo importantes na ativação e regulação de várias vias metabólicas (GRAY et al., 1994; LOBO; TRAMONTE, 2004).

Os resultados do teor de minerais demonstram que a radiação gama (0,8 kGy) não afetou o conteúdo destes micronutrientes nos frutos de mamão (Figura 16). O mesmo foi observado em morangos (2,0 kGy), mangas (0,75 kGy) e mamões (0,75 kGy) irradiados (BASSON; BEYERS; THOMAS, 1979; BEYERS; THOMAS; VAN TONDER, 1979; BLAKESLEY et al., 1979).

Entretanto, Stewart (2004) demonstra que o conteúdo de minerais nos alimentos pode ser largamente afetado pelo processo de irradiação.

6.3.4 Lipídeos totais (extrato etéreo)

Os lipídeos biológicos apresentam uma diversidade de funções devido à sua variedade estrutural: armazenamento de energia; elementos estruturais de membranas; transportadores de elétrons; mensageiros intracelulares; hormônios; agentes emulsificantes; pigmentos absorvedores de radiação luminosa (carotenóides) (FRASER; BRAMLEY, 2004).

Ao contrário dos resultados obtidos para o teor de fibras, a irradiação induziu uma redução significativa no teor de lipídeos totais (Figura 17). Frutos irradiados

apresentaram conteúdo de lipídeos \cong 58% menor do que os frutos controles no 5º, 7º e 9º dpc.

A diminuição no conteúdo lipídico da polpa dos frutos irradiados encontrada neste trabalho pode ser justificada tanto por um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio quanto pela redução da síntese e/ou perda parcial na atividade de enzimas antioxidantes induzidos pelo processo de irradiação (LOAHARANU, 1994; SIDDHURAJUA; MAKKAR; BECKER, 2002). Choe e Min (2006) descreveram que, em algumas situações, os fatores oxidantes podem superar o sistema de defesa e acarretar alterações nos constituintes celulares, principalmente lipídeos pela peroxidação lipídica e Loaharanu (1994) e Soprani (2005) demonstraram que a irradiação altera o conteúdo protéico da polpa dos frutos e a atividade de enzimas.

Entretanto, Murray (1983) demonstrou que doses de 0,1 – 0,6 kGy não acarretaram mudanças no conteúdo lipídico de mangas, o que foi atribuído a um aumento no índice de saturação de ácidos graxos durante o amadurecimento. Esta redução no conteúdo de ácidos graxos insaturados (linoléico, palmitoléico, linolênico) tem sido observada durante o amadurecimento de bananas e maçãs, o que lhes confere menor susceptibilidade à peroxidação lipídica (GALLIARD, 1968; GOLDSTEIN; WICK, 1969). Resultados semelhantes foram encontrados por Josephson, Thomas e Calhoun (1978), os quais verificaram que diferentes vegetais submetidos ao processo de irradiação apresentaram distintas respostas quanto a alterações no teor lipídico devido aos seus específicos índices de insaturações.

O conteúdo lipídico dos frutos controles foi \cong 2,0 g/ 100g com base no peso seco da polpa do fruto. Este resultado está de acordo com o encontrado por Chan e Taniguchi (1985). Quando se compara o conteúdo de carboidratos e proteínas com o de lipídeos em mamões, observa-se que estes frutos não representam fonte significativa de lipídeos. Portanto, a redução no teor de lipídeos dos frutos irradiados não acarreta prejuízo no seu valor nutricional.

A redução no teor lipídico de frutos controles observada no 9º dpc pode estar relacionada ao processo de senescência, já que a oxidação de lipídeos é acentuada com o processo de senescência de frutos (COLOWICK; KAPLAN, 1984).

6.3.5 Proteínas

As proteínas são as mais versáteis das biomoléculas, atuando como enzimas, elementos estruturais, receptores, transportadores, fonte de energia e instrumentos moleculares por meio dos quais a informação genética é expressa (BIGGS; HARRIMAN; HANDA, 1986).

Semelhante ao observado para o conteúdo de água e de cinzas, o processo de irradiação não promoveu alteração no conteúdo de proteínas na polpa dos frutos (Figura 18).

Estes resultados estão de acordo com os descritos por Beyers, Thomas e Van Tonder (1979) e Blakesley et al. (1979), que trabalharam com morangos e mangas irradiados com doses de 2,0 e 0,75 kGy respectivamente. No entanto, Josephson, Thomas e Calhoun (1978) sugerem que doses altas de radiação podem ocasionar prejuízos no conteúdo protéico de alimentos, mas aquelas indicadas para frutos ($\leq 1,0$ kGy) não acarretam efeitos significativos sobre o teor destes nutrientes e ainda são capazes de retardar seu amadurecimento.

Apesar da irradiação não alterar o conteúdo total de proteínas nos frutos do mamão, este processo pode promover alterações no padrão de expressão protéica, como também na função biológica de proteínas (BIGGS; HARRIMAN; HANDA, 1986; DOMINGUEZ-PUIGJANER; VENDRELL; LUDEVID, 1992). Sabehat, Weiss e Lurie (1996), com o intuito de aumentar a resistência de bananas ao frio, característica desejada pelos produtores de frutos tropicais, submeteram os frutos a 38° C por 48 h e 21 dias a 2° C. Os frutos submetidos ao aquecimento apresentaram um padrão de expressão protéica diferente daqueles submetidos apenas ao resfriamento. Estes autores sugeriram que este choque térmico induziu a expressão de proteínas envolvidas no retardo do amadurecimento dos frutos, já que estes apresentaram melhor estado de conservação.

A elucidação do perfil global de expressão protéica de frutos controles e irradiados, por técnicas proteômicas atuais como eletroforese bidimensional e cromatografia de alta resolução, poderá dar início à identificação de proteínas, cuja expressão é afetada pelo processo de irradiação, sendo estas informações úteis para a compreensão dos mecanismos bioquímicos envolvidos no amadurecimento.

Resultados preliminares de análise proteômica recentemente obtidos no Laboratório de Química de Proteínas/ UFES (dados não mostrados) mostram diferença no padrão de expressão protéica entre os grupos controle e irradiado durante o amadurecimento.

No entanto, Biggs, Harriman e Handa (1986) demonstraram que ocorre um aumento na síntese de proteínas durante o amadurecimento de frutos. Este incremento deve ter sido induzido nos dias pós-colheita dos frutos controles não avaliados neste trabalho.

6.3.6 Carboidratos

Os açúcares encontrados em maior quantidade nos frutos são glicose, frutose e sacarose, os quais lhe conferem o sabor doce (CHAVES et al., 2004). O sabor doce, em conjunto com mudanças de coloração e textura, são atributos importantes para a qualidade de frutos e influenciam na sua comercialização (GOMEZ; LAJOLO; CORDENUNSI, 1999).

De acordo com Selvaraj, Subramanyam e Iyer (1982) e Chan (1975), durante o amadurecimento do mamão, não ocorre alteração no conteúdo total de carboidratos e sim, interconversão de açúcares. A concentração de glicose e de frutose declina no início do desenvolvimento com posterior aumento no final do amadurecimento, enquanto o oposto ocorre com a sacarose (CHAN; KWOK, 1976; CHAN et al., 1979).

A análise do conteúdo de carboidratos demonstrou que frutos irradiados apresentam teor de carboidratos discretamente menor que os frutos controles no 5º dpc, entretanto, em estádios mais avançados de amadurecimento (7º e 9º dpc) não há diferença no conteúdo deste nutriente (Figura 19). Este comportamento está de acordo com os resultados obtidos para o teor de fibras, os quais também corroboram com a maior textura (\cong 65%) dos frutos irradiados no 5º dpc. A manutenção da firmeza e o maior conteúdo de fibras dos frutos irradiados podem estar relacionados com o retardo na aquisição de sabor doce destes frutos (BRUMMEL et al., 2004).

Um menor conteúdo de carboidratos, no início do amadurecimento, foi também descrito por Gomez, Lajolo e Cordenunsi (1999) em mamões irradiados.

A maior firmeza dos frutos I indica menor degradação dos polissacarídeos da parede celular, o que implica em uma menor disponibilidade de suas unidades monoméricas, as quais se relacionam com o sabor doce dos frutos. Desse modo, diferenças no estágio de maturidade fisiológica são responsáveis pelo menor conteúdo de carboidratos dos frutos irradiados no 5º dpc. De acordo com Gomez, Lajolo e Cordenunsi (2002) e Manrique e Lajolo (2004), o sabor doce dos frutos de mamão está relacionado ao amolecimento e estas a modificações na textura durante o amadurecimento.

Vários trabalhos demonstram que a irradiação é efetiva na conservação pós-colheita de frutos e não acarreta prejuízos no sabor doce dos mesmos. O conteúdo de açúcares totais de frutos de manga, melão, morango, limão, uva, tomate, maçã e mamão não foi afetado pelo processo de irradiação (BLAKESLEY et al., 1979; BEYERS; THOMAS; VAN TONDER, 1979; BOYLSTON et al., 2002; BHUSHAN; THOMAS, 1998; DOMARCO et al. 1999; LALAGUNA, 1998; MITCHELL et al., 1992; YU et al., 1995). Da mesma forma, a irradiação de frutos de banana nas doses de 0,25 e 0,4 kGy não acarretou mudanças no teor de açúcares (THOMAS; DHARKAR; SREENIVASAN, 1971).

Beyers e Thomas (1979), comparando métodos de conservação, demonstraram que a irradiação foi mais efetiva no aumento da vida útil e manutenção do teor de carboidratos do que o aquecimento e a refrigeração de frutos de mangas e mamões.

Os valores superiores do teor de carboidratos dos frutos C e I no 9º dpc encontrados neste trabalho podem ser associados ao índice de maturidade, sendo que os frutos irradiados neste dia apresentavam ainda textura adequada ao consumo. Embora os frutos controles apresentassem sabor adequado, já haviam perdido completamente a firmeza.

6.3.7 Carotenóides e Vitamina C

Nos tecidos vegetais e animais, os carotenóides e a vitamina C estão envolvidos com mecanismos de defesa contra estresse oxidativo (LATA, 2007; STAVRIC, 1994; FOTSIS et al., 1997; POOL-ZOBEL et al., 1997). Estes antioxidantes são constituintes importantes de frutos e hortaliças, pois acarretam benefícios à saúde (GIUNTINI et al., 2005; SIES; STAHL, 1995).

6.3.7.1 Carotenóides

Os carotenóides são os componentes bioativos mais abundantes nos vegetais (CORTÉS et al., 2006; LIMA et al., 2001). Estes nutrientes são susceptíveis à oxidação devido ao elevado grau de insaturações em sua estrutura (AGOSTINI-COSTA; ABREU; ROSSETTI, 2003; PINHEIRO SANT'ANA et al., 1998)

A radiação gama na dose de 0,8 kGy afetou o conteúdo de carotenóides totais dos frutos de mamão no 7º dpc, acarretando redução de $\cong 35\%$ no mesmo (Figura 21).

A literatura é contraditória com relação ao efeito da radiação sobre o teor de carotenóides totais. Khan et al. (1974) e Kilcast (1994) também demonstraram que ocorrem perdas da ordem de 30% no conteúdo de carotenóides de mangas e mamões submetidos ao processo de irradiação. Por outro lado, outros trabalhos não descrevem alterações no conteúdo de carotenóides de mangas, morangos, cenouras, mamões e lícium irradiados (BEYERS; THOMAS, 1979; JOSEPHSON; THOMAS; CALHOUN, 1978; LIMA et al., 2004; BEYERS; THOMAS; VAN TONDER, 1979; WEN et al., 2006).

A diferença encontrada no teor de carotenóides totais no 7º dpc (Figura 21) pode estar associada ao retardo no amadurecimento, o que está de acordo com a maior firmeza dos frutos I (Figura 13). Boylston et al. (2002) descreveram um retardo no aumento do conteúdo de carotenóides durante o amadurecimento de laranjas e mamões irradiados com dose de 0,75 kGy. Heinonen et al. (1989), Mitchell et al. (1990) e Thomas e Beyers (1979) mostraram que o desenvolvimento da cor

amarelo-alaranjada da casca dos frutos de mamão é resultante da biossíntese e acúmulo de carotenóides e este evento relaciona-se com a maturação.

Vários outros trabalhos comprovam que há um aumento no conteúdo de carotenóides durante o amadurecimento de frutos como manga, laranja, mamão e carambola (GROSS; IKAN; ECKHARDT, 1983; HEINONEN et al., 1989; JOHN; SUBBARAYAN; CAMA, 1970; ROTSTEIN; GROSS; LIFSHITZ, 1972; WILBERG; RODRIGUEZ-AMAYA, 1995), o que também foi observado neste trabalho.

Seres humanos são incapazes de sintetizar carotenóides, sendo estes essenciais à dieta, pois são precursores da vitamina A (FRASER; BRAMLEY, 2004). β -caroteno e β -criptoxantina são os carotenóides considerados pró-vitaminas A no mamão. Considerando 200 g ($\frac{1}{2}$ unidade) como a porção diária ingerida de mamão papaia e que o maior potencial vitamínico é encontrado no 7º e 9º dpc (dias em que os frutos ainda encontravam-se aptos ao consumo) para frutos C e I respectivamente, comparou-se a adequação do valor de vitamina A entre estes grupos. Os resultados demonstram que os frutos irradiados apresentaram adequação de 81,84 – 87,76%, para crianças, e 40,92 – 43,88%, para adultos e os frutos controles, adequação de 56,31 – 71,49% (crianças) e 28,11 - 35,69% (adultos) (Tabela 3), o que demonstra que a irradiação, na dose de 0,8 kGy, não ocasiona prejuízos na atividade de vitamina A.

Tabela 3 - Adequação do valor de vitamina A (%) em relação ao consumo de uma porção (200g) dos frutos controles e irradiados **

Frutos de mamão	Porção (g)	Valor de Vitamina A (μ g RE)	% de Adequação para crianças	% de Adequação para adultos
Controle (7º dpc)	200	255,7 \pm 30,37	56,31 - 71,49	28,11 - 35,69
Irradiado (9º dpc)	200	339,4 \pm 11,85	81,84 - 87,76	40,92 - 43,88

** Utilizou-se para o cálculo da adequação do valor de vitamina A, a recomendação de uma ingestão diária de 800 μ g de RE (adultos) e 400 μ g RE (crianças) de acordo com as DRI's - Dietary Reference Intakes (CUPPARI, 2002).

Apesar do licopeno não atuar como pró-vitamina A, possui ação antioxidante e está envolvido na comunicação celular, modulação hormonal e sistema imune (CRISOSTO; CRISOSTO; METHENEY, 2003; KAUR; KAPOOR, 2001).

O conteúdo de licopeno não foi afetado pela irradiação (Figura 23). Este resultado mostra que a atividade antioxidante dada pelo licopeno nos frutos irradiados é preservada. Considerando que o mamão é uma das poucas fontes de licopeno (FRASER; BRAMLEY, 2004), a manutenção do teor deste constituinte nos frutos indica que a irradiação não afeta a propriedade funcional dada por esse carotenóide.

6.3.7.2 Vitamina C

A vitamina C é o principal composto envolvido na neutralização das ROS em meios aquosos e está envolvida em vários processos metabólicos como no controle do crescimento, divisão celular e expansão da parede celular de vegetais (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003; LISO et al., 1984).

O processo de irradiação gama acarretou redução significativa (em média 31%) no conteúdo de vitamina C nos dias analisados (Figura 24). Esta diminuição pode estar relacionada, do ponto de vista fisiológico, com o retardo do amadurecimento, pois a vitamina C, de acordo com Gray et al. (1994) está envolvida na síntese do etileno.

Além disso, Fry (1998) e Smirnoff (1996) sugerem que a presença do ácido ascórbico acidifica o meio, ativando as expansinas (proteínas da parede celular que impedem a adesão dos polissacarídeos), o que favorece a maturação dos frutos. Acredita-se que o menor teor desta vitamina diminua a atuação destas proteínas, o que causa um retardo no amadurecimento dos frutos (FRY, 1998; SMIRNOFF, 1996). Jiménez et al. (2002), avaliando o conteúdo de vitamina C durante o amadurecimento de frutos de tomate, observaram que o aumento na concentração de ácido ascórbico foi acompanhado pelo amolecimento da polpa.

A literatura é divergente quanto ao efeito da radiação sobre o conteúdo de ácido ascórbico de frutos. Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho foram descritos em laranjas, tangerinas, tomates, cenouras, mangas e lícium (CASTRICINI et al., 2002; JOBIN et al., 1992; JOSEPHSON; THOMAS; CALHOUN, 1978; SONG et al., 2007; THOMAS; BEYERS, 1979; WEN et al., 2006; YANEZ et al. 1990). No entanto, Basson Beyers e Thomas (1979), Beyers, Thomas e Van Tonder (1979), Boylston et al. (2002), Moshonas e Shaw (1984), Patil, Vanamala e Hallman (2004) e

Thomas, Dharkar e Sreenivasan (1971) demonstraram que doses até 1,0 kGy não promovem alteração no conteúdo de vitamina C de mangas, toranjas, bananas, morangos e tomates.

Sajilata e Singhal (2006) descrevem ainda que um decréscimo no teor de antioxidantes dos alimentos pode estar correlacionado com a neutralização de ROS, produzidas pela irradiação e níveis superiores parecem indicar a atuação de outros compostos antioxidantes.

Assim como para os carotenóides, o processo de irradiação não ocasionou prejuízos nutricionais quanto ao teor de vitamina C. A adequação de vitamina C em ½ mamão papaia foi calculada em frutos C (7º dpc) e I (9º dpc) considerando o dpc de maior conteúdo de vitamina C e/ou a adequação para o consumo (Tabela 4). Apesar de frutos irradiados apresentarem menor conteúdo de vitamina C, os resultados para sua % de adequação demonstraram que estes ainda atendem aos requerimentos exigidos desta vitamina.

Tabela 4 - Adequação da vitamina C (%) em relação ao consumo de uma porção (200g) dos frutos controles e irradiados **

Frutos de mamão	Porção (g)	Vitamina C (mg)	% de Adequação para crianças	% de Adequação para adultos
Controle (7º dpc)	200	216,48 ± 12,0	817,9 - 913,9	255,6 - 285,6
Irradiado (9º dpc)	200	132,24 ± 9,34	491,6 - 566,3	153,6 - 176,9

** Utilizou-se para o cálculo da adequação da vitamina C, a recomendação de uma ingestão diária de 80 mg (adultos) e 25 mg (crianças) de vitamina C de acordo com as DRI's - Dietary Reference Intakes (CUPPARI, 2002).

6.4 Parâmetros de estresse oxidativo

6.4.1 Enzimas

Como já descrito, condições de estresse como a aplicação de métodos de conservação podem promover um aumento na produção de espécies reativas de

oxigênio (ROS) (SIDDHURAJUA; MAKKAR; BECKER, 2002). A radiação gama pode gerar espécies reativas de oxigênio, principalmente pela radiólise da água, e induzir a perda de elétrons de moléculas orgânicas, tornando-as mais reativas. Como o sistema antioxidante relaciona-se com a proteção dos alimentos contra danos oxidativos (SAJILATA; SINGHAL, 2006), avaliou-se o efeito da irradiação gama sobre a atividade de enzimas antioxidantes (catalase - CAT e peroxidase - POX) em frutos do mamão.

O sistema enzimático de proteção contra as ROS parece atuar de maneira seqüenciada. Primeiro, a superóxido dismutase (SOD) atua na conversão do $O_2^{\cdot-}$ em O_2 e H_2O_2 , sendo este último eliminado pela catalase e/ ou pela peroxidase (ALSCHER et al., 2002). A catalase converte o H_2O_2 em O_2 e H_2O , já a peroxidase oxida substratos (aminas primárias, secundárias e terciárias, ácido ascórbico e fenóis) para eliminação do H_2O_2 (COLOWICK; KAPLAN, 1984; HAARD; TOBIN, 1971). A eliminação do H_2O_2 é essencial, pois este pode reagir com outros $O_2^{\cdot-}$, produzindo íons OH^- e radical hidroxila (OH^{\cdot}), o que acarreta aumento no estresse oxidativo (RESENDE et al., 2003).

Neste estudo, verificou-se que a irradiação antecipou o pico de atividade da catalase, o qual foi observado no 3º dpc para os frutos I e no 4º e 5º dpc para os frutos C (Figura 25).

Vários trabalhos descrevem aumento na atividade da CAT durante o amadurecimento de frutos (maçã, pêra, uva, manga e mamão) (BRENNAN; FRENKEL, 1977; EZELL; GERHARDT, 1942; MATTOO; MODI, 1969; PAL; SELVARAJ, 1987). Semelhante ao observado neste trabalho, Pal e Selvaraj (1987) demonstraram um pico de atividade da CAT em frutos do mamão no 4º dpc, sendo que Bron (2006) e Gómez, Lajolo e Cordenunsi (1999) relacionam este pico de atividade à respiração climatérica. O aumento na atividade metabólica neste dpc pode ocasionar um aumento na produção de ROS, o que, provavelmente, induz maior expressão de enzimas antioxidantes (JIMÉNEZ et al., 2002).

A diminuição na atividade da CAT no 4º e 5º dpc dos frutos irradiados pode ser associada ao retardo no climatério destes frutos e, conseqüentemente, ao retardo no amadurecimento, o que acarreta redução da taxa respiratória dos frutos, reduzindo a produção das ROS. No entanto, nestes frutos, o aumento na atividade da CAT no 3º dpc (2º dia após a irradiação), provavelmente, se deve ao estresse causado pelo

processo de irradiação. Akamine e Goo (1971) e Thomas, Dharkar e Sreenivasan (1971) demonstraram que a radiação gama promove um aumento na respiração de frutos após sua aplicação, o que pode levar a uma maior produção de espécies reativas de oxigênio, mas este incremento é mínimo e rapidamente retorna aos níveis normais.

A peroxidase está envolvida nos processos de maturação e senescência de frutos e hortaliças por participar de eventos como a biogênese do etileno, balanço hormonal, integridade de membrana e controle da respiração (AYLWARD; HAISMAN, 1969; DILLEY, 1970; HAARD; TOBIN, 1971; MAPSON; WARDALE, 1968; MATOO; MODI, 1969; SCHNEIDER, 1970).

Os resultados obtidos demonstraram que a irradiação alterou o perfil de atividade da POX durante o amadurecimento de frutos do mamão. Frutos controles apresentaram dois picos de atividade, enquanto que os frutos irradiados, um retardo de 1 dia no 1º pico de atividade (Figura 26).

Semelhante ao que ocorre com a atividade catalásica, a atividade da POX em bananas, mangas e uvas aumenta com o amadurecimento (HAARD, 1973; IVANOVA; IVANOVA, 1968; MATOO; MODI, 1969). O aumento da atividade peroxidásica no 5º dpc dos frutos controles, encontrado neste trabalho, provavelmente se deve ao aumento da taxa respiratória devido ao climatério. O pico de atividade no 8º dpc destes frutos pode corresponder à fase de intensificação de processos de degradação que culminam com a senescência e com aumento na produção de espécies reativas de oxigênio. Gorin e Heidema (1976) também demonstraram 2 picos de atividade da POX durante o amadurecimento de maçãs da cultivar Golden Delicious e os relacionaram ao climatério e ao início da senescência.

Diferente do observado para a CAT, a radiação gama retardou em 1 dia o 1º pico de atividade da POX em relação aos frutos controles, possivelmente, devido ao atraso na maturação dos frutos induzido por este processo. Este resultado pode parecer incoerente, entretanto pode ser justificado considerando que a defesa primária contra as ROS é realizada pela SOD.

O efeito da radiação gama sobre a atividade das enzimas de estresse oxidativo (CAT e POX), durante o amadurecimento dos frutos, observado neste estudo é semelhante àquele descrito para a atividade das enzimas de degradação da parede

celular de mamões irradiados (0,8 kGy), por Soprani (2005) e Lopes (2007). Estes autores demonstraram que a irradiação retarda o amadurecimento destes frutos por alterar a atividade destas enzimas. A alteração no perfil de atividade da CAT e POX pode também estar relacionada ao melhor estado de conservação dos frutos irradiados.

6.4.2 Peroxidação Lipídica

Considerando a susceptibilidade dos lipídeos ao estresse oxidativo (CATALÁ, 2006), avaliou-se o efeito da radiação gama sobre o índice de peroxidação lipídica (PL) nos frutos de mamão pela dosagem do malondialdeído (MDA) (RIO; STEWART; PELLEGRINI, 2005).

Verificou-se que a radiação gama acarretou um aumento discreto na peroxidação lipídica, entretanto não alterou seu perfil durante o amadurecimento dos frutos (Figura 27). Este aumento pode ser devido a um incremento na produção de espécies reativas de oxigênio induzido pela irradiação e ser responsável pela diminuição do conteúdo lipídico encontrada neste trabalho (Figura 17). Hodges et al. (1999) também verificaram um aumento substancial na PL de tomates e cenouras expostos à irradiação UV.

Os resultados da PL dos frutos irradiados são aparentemente contraditórios à eficiente conservação destes frutos, considerando que, de acordo com Colowick e Kaplan (1984), a PL está envolvida com a senescência. Nossos dados não são suficientes para justificar estas observações. Entretanto, a diminuição na atividade da CAT e a menor atividade da POX dos frutos irradiados no 5º dpc podem ter colaborado para desencadear maior peroxidação lipídica. A avaliação da atividade de outras enzimas, tais como superóxido dismutase, glutathione S-transferase, poderá auxiliar no esclarecimento destas observações (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003).

Du e Bramlage (1995) observaram que maçãs resistentes ao aquecimento acumularam mais equivalentes de MDA durante a maturação do que aquelas

sensíveis a este processo, o que indica que o aparecimento de sintomas de estresse oxidativo e senescência em frutos é um fenômeno complexo, dependente do balanço entre a atividade de enzimas e compostos que controlam o aumento dos produtos de peroxidação lipídica. Dessa forma, uma correlação entre o desenvolvimento de desordens fisiológicas dadas pelo dano oxidativo durante a fase da pós-colheita e a peroxidação lipídica de frutos nem sempre é evidente.

6.5 Análise da atividade da radiação gama sobre o material genético dos frutos por meio de teste de mutagenicidade e genotoxicidade

A molécula de DNA é particularmente um alvo sensível para a radiação ionizante (DELINCÉE, 1993).

Com o intuito de fornecer subsídios para a implementação e utilização da irradiação gama na conservação de frutos do mamão, foi também avaliado o efeito da dose de 0,8 kGy, sobre o material genético de células de *Allium cepa*, bem como a intensidade de dano no DNA de células da polpa dos frutos de mamão durante seu período de vida útil.

6.5.1 Teste de mutagenicidade com *Allium cepa*

O aumento na porcentagem de células portadoras de alterações do ciclo celular é indicativo tanto de efeitos mutagênicos, quanto genotóxicos do agente avaliado (SMAKA-KINCL et al., 1996). Os resultados obtidos para a frequência do índice de alterações cromossômicas (IAC) em células meristemáticas das sementes de cebola sugerem que a dose de 0,8 kGy de radiação gama não promoveu modificações no ciclo celular do sistema-teste *Allium cepa* (tabela 1 e figura 28a).

A figura 30 ilustra algumas das alterações cromossômicas que são avaliadas no sistema-teste *Allium cepa*. As principais alterações observadas nas células meristemáticas provenientes das sementes nos grupos avaliados (SI, RI, CN e CP) foram anáfase multipolar; C-metáfase; células com micronúcleo; aderência, ponte e perda cromossômica.

O teste do micronúcleo vem sendo amplamente aplicado, sendo considerado efetivo na avaliação de efeitos mutagênicos induzidos, quer seja por substâncias químicas puras ou tratamentos físicos como a irradiação. A ampla utilização do teste se deve à sua capacidade de avaliar a indução de quebras e/ou perdas cromossômicas (STEINERT, 1996).

Os resultados da análise da frequência do índice de Mutagenicidade dos grupos SI e RI demonstram que a radiação gama, na dose de 0,8 kGy, não apresentou efeito mutagênico em células meristemáticas e diferenciadas de *A. cepa* (tabela 1 e figuras 28b, 28c, 29a e 29b).

Os tecidos de frutos no período de amadurecimento são formados, predominantemente, por células diferenciadas. Considerando esta observação, realizou-se o sistema-teste *A. cepa* com sementes germinadas (radículas), as quais apresentavam regiões meristemática e diferenciada. Dessa forma, as raízes irradiadas possuíam células diferenciadas semelhantes às encontradas no mamão, o que sugere que os resultados obtidos para RI podem ser utilizados para inferência da seguridade de mamões irradiados com 0,8 kGy. De acordo com Osipov e Kolomiitseva (1996), células diferenciadas apresentam baixa taxa mitótica e são menos radiosensíveis que células com alta taxa reprodutiva e pouco diferenciadas.

Recentemente, Farkas (1998), Yu et al. (2004) e Ahn et al. (2005), empregando o Teste de Ames, o qual utiliza linhagens de bactérias sensíveis para detecção de mutações, também não encontraram aumento significativo de mutagenicidade nas bactérias crescidas no meio rico em extratos de vegetais frescos irradiados com dose de 1,0 – 2,0 KGy e recomendam a utilização da radiação gama para aumentar o tempo de vida útil destes alimentos.

6.5.2 Teste de genotoxicidade pelo Ensaio do Cometa

O ensaio do Cometa é largamente utilizado para avaliação do potencial genotóxico de agentes e associa técnicas bioquímicas simples e ensaios citogenéticos, sendo capaz de estimar o dano pela extensão de migração do material genético (KUMARAVEL; JHA, 2006).

Os resultados obtidos no ensaio do cometa revelam que a irradiação não promoveu dano ao material genético dos frutos de mamão durante o período de amadurecimento (Tabela 2 e anexo D), o que sugere que a radiação gama na dose de 0,8 kGy não apresenta genotoxicidade. A maior frequência de classes de nucleóides com menores comprimentos e intensidades da cauda corrobora com este resultado.

Segundo Gichner et al. (2000), o mecanismo de reparo de lesões ao DNA radioinduzidas é, plenamente, funcional em algumas células vegetais diferenciadas, como aquelas presentes na fase de maturação de frutos, sendo a quebra de fitas simples e duplas rapidamente reparada.

Como já descrito, o processo de irradiação gama pode induzir o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), as quais podem promover dano oxidativo na molécula de DNA (FAIRBAIRN; OLIVE; O'NEILL, 1995). Pode-se sugerir, pelos resultados obtidos, uma atuação do sistema antioxidante dos frutos na neutralização das ROS produzidas pela irradiação. Entretanto, experimentos adicionais são necessários para verificar se a dose aplicada ocasiona aumento das ROS.

Além das espécies reativas de oxigênio, a peroxidação lipídica, também pode exercer efeitos tóxicos sobre a divisão celular. O tempo de meia vida longo, diferentemente da instabilidade das ROS, e a alta reatividade de aldeídos como o malondialdeído (MDA), permitem sua atuação no meio intra ou extracelular, tornando possível sua interação com biomoléculas como ácidos nucleicos, o que pode ocasionar danos nos mecanismos envolvidos com transdução de sinal, expressão gênica e proliferação celular (CATALÁ, 2006; RIO, STEWART; PELLEGRINI, 2005). Apesar do aumento observado na produção de equivalentes de

MDA (figura 27), este, provavelmente, não foi suficiente para promover efeitos tóxicos sobre o material genético de frutos do mamão.

Vários outros compostos, produzidos em decorrência da aplicação da radiação ionizante em alimentos, são considerados tóxicos e, possivelmente, mutagênicos (CHYTIRI et al., 2007). Estudos utilizando cultura de células e animais para avaliar o 2-alcilciclobutanona, um composto produzido em alimentos submetidos ao processo de irradiação, demonstraram que este não induz efeito genotóxico (STEWART, 2004). Siddhurajua, Makkarb e Beckera (2002) também descrevem que animais que receberam alimentos irradiados durante longo período experimental não apresentaram aumento na incidência de células tumorais, nem efeitos tóxicos.

A insegurança da população no consumo de alimentos irradiados é semelhante àquela de alimentos geneticamente modificados (OGMs). O receio quanto à aquisição de produtos alimentícios obtidos a partir destes processos se deve, principalmente, a alterações no seu material genético e seus riscos potenciais à saúde humana (BORÉM; GIÚDICE; COSTA, 2003). Estratégias para a avaliação da segurança destas novas tecnologias como a descrita neste trabalho podem auxiliar no progresso de sua utilização.

A associação de técnicas proteômicas atuais como eletroforese bidimensional e cromatografia de alta resolução, sugerida anteriormente para elucidação do perfil global de expressão protéica também poderá identificar possíveis alterações no material genético dos frutos irradiados.

Lâmina no programa Corel Draw (está na versão impressa da dissertação)

6.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cenário mercadológico mundial sinaliza uma busca crescente por alimentos que sejam seguros e possam ser adquiridos frescos e saudáveis, priorizando a qualidade de vida e respeito ao meio ambiente (WORCMAN-BARNINKA; LANDGRAF; 2003).

Bruhn (1995) e Bruyn (2000) demonstraram que, numa pesquisa de aceitação do mercado consumidor à irradiação de alimentos, 15% das pessoas comprariam alimentos irradiados, enquanto que 65% não eram favoráveis à comercialização destes produtos. Após esclarecimentos sobre este processo de conservação através de informações áudio-visuais e avaliação sensorial, 76% dos consumidores não apresentavam restrições, enquanto que apenas 5% não gostariam de adquirir alimentos irradiados. Informações apropriadas sobre a segurança e benefícios desta tecnologia podem aumentar o entendimento e aceitação do consumidor, o que demonstra a relevância deste trabalho.

Nossos resultados demonstram que a radiação gama promoveu um aumento na conservação pós-colheita dos frutos de mamão pela manutenção da textura e não acarretou prejuízos na qualidade nutricional (teores de água, fibras, cinzas, lipídeos totais, proteínas, carboidratos, carotenóides e vitamina C). O maior teor de fibras dos frutos I sugere melhor qualidade funcional e o menor teor lipídico destes frutos não acarreta prejuízos no valor nutricional, considerando que o mamão não representa fonte significativa de lipídeos. Esta alteração pode estar relacionada ao aumento discreto da peroxidação lipídica (PL) dos frutos irradiados.

O aumento da PL nos frutos I pode comprometer a qualidade sensorial dos frutos (BANDYOPADHYAY; GHOLAP, 1973), pois altera a relação ácidos graxos insaturados/saturados. Entretanto, a avaliação sensorial de frutos irradiados demonstrou que a radiação gama não altera seu sabor e aspecto visual (IAEA, 2006; NAGAY; MOY, 1985; MOSHONAS; SHAW, 1984; POHLMAN; WOOD; MASON, 1994).

Um estudo realizado no Brasil para avaliar características sensoriais de frutos de mamão irradiados (1,0 kGy) com aproximadamente 400 pessoas, demonstrou que a radiação gama não promoveu alteração no sabor e aspecto visual dos frutos e

observou-se, algumas vezes, que estas características foram melhores nos mamões irradiados (BLAKESLEY et al., 1979; OLIVEIRA; SABATO, 2004).

A análise da resposta ao estresse oxidativo demonstra que a irradiação não induziu aumento na atividade das enzimas catalase e peroxidase, mas alterou seus perfis de atividade durante o amadurecimento. Isto pode estar relacionado com o retardo na maturação dos frutos irradiados. Entretanto, observou-se uma redução no conteúdo de vitamina C, o que sugere sua atuação como um dos mecanismos primários de defesa contra o estresse oxidativo induzido pela irradiação. Além desta alteração, verificou-se também uma diminuição no conteúdo de carotenóides totais (7º dpc), a qual pode estar correlacionada a uma proteção sinérgica contra processos oxidativos conforme descrito por Marta et al. (2003) e Yun-Zhong, Sheng e Guoyao (2002). Apesar do menor teor de vitamina C e de carotenóides totais dos frutos irradiados encontrado neste trabalho, não há comprometimento na adequação dos requerimentos nutricionais diários destes nutrientes.

Os ensaios realizados para avaliar danos ao material genético demonstraram que a radiação gama na dose de 0,8 KGy não promove efeitos mutagênico e genotóxico, o que sugere ausência de riscos à saúde humana.

A terminologia adotada para alimentos irradiados, considerando-os “seguros para consumo”, abrange a segurança nos âmbitos toxicológico e microbiológico, bem como a manutenção de suas qualidades nutricionais e sensoriais (EHLERMANN, 2005). Algumas destas características foram avaliadas neste estudo e sugerem que o processo de irradiação de frutos do mamão na dose de 0,8 kGy é capaz de atender à demanda do consumidor por produtos mais seguros, naturais, frescos e de sabor agradável.

Os dados obtidos neste trabalho fornecem subsídios para a implementação e utilização da irradiação gama (0,8 kGy) na conservação de frutos do mamão, com manutenção da qualidade e podem ser transferidos para produtores, indústrias de alimentos e órgãos regulamentadores da irradiação de alimentos.

7. CONCLUSÃO

7. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que a radiação gama, na dose de 0,8 kGy, aplicada em frutos do mamão no estágio 1 de maturação:

- É eficaz como método de conservação pós-colheita;
- Não acarreta prejuízos na qualidade nutricional dos frutos (teores de água, fibras, cinzas, lipídeos totais, proteínas, carboidratos, carotenóides e vitamina C);
- Induz alterações na resposta antioxidante (catalase e peroxidase), as quais podem ser associadas com o retardo no amadurecimento dos frutos irradiados;
- Não apresenta efeito mutagênico no sistema-teste *Allium cepa*.
- Não exerce efeito genotóxico sobre o material genético do mamão.

8. REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

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

ADA. American Dietetic Association. Food irradiation – position of ADA. **J. Am. Diet. Assoc.**, v. 100, p. 246 – 253, 2000.

AGOSTINI-COSTA, T. S.; ABREU, L. N.; ROSSETTI, A. G. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 25, n. 1, p. 56 – 58, abr. 2003.

AGRIANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2002. 545p.

AHMED, A. E.; LABAVITCH, J. M. Cell wall metabolism in ripening fruit I. Cell wall changes in ripening 'Bartlett' pears. **Plant Physiol.**, v. 65, p. 1009 – 1013, 1980.

AHN, H. J.; KIM, J. H.; KIM, J. K.; KIM, D. H.; YOON, H. S.; BYUN, M. W. Combined effects of irradiation and modified atmosphere packaging on minimally processed Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.). **Food Chem.** v. 89, p. 589 – 597, 2005.

AKAMINE, E. K.; GOO, T. Respiration, ethylene production and shelf life extension in irradiated papaya fruits after storage under simulated shipping conditions. **Technical Bulletin of the Hawaiian Agricultural Experimental Station**, n. 93, p.1 -12, 1977.

AKAMINE, E. K.; WONG, R. T. E. Extending the shelf life of papayas with gamma irradiation. **Hawaiian Farm Science**, v. 15, p. 4 - 6, 1966.

AKAMINE, E. T.; GOO, W. Respiration in gamma irradiated fresh fruits. **J. Food Sci.**, v. 36, p. 1074 – 1077, 1971.

ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene Biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal Exp. Botany**, v. 53, n. 377, p. 2039 – 2055, 2002.

ALMEIDA, R. F. **Avaliação das características físicas e químicas de frutos de mamoeiro 'Golden' submetidos à Refrigeração**. 2003 46 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2003.

ALMEIDA, R. F.; RESENDE, E. D. de; VITORAZI, L.; CARLOS, L. A.; PINTO, L. K. A.; SILVA H. R. F.; MARTINS, M. L. L. Injúria pelo frio em frutos de mamoeiro (*Carica Papaya* L.) cv. 'Golden'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 27, n. 1, p. 17 - 20, abr. 2005.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1331 – 1341, 2002.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, v. 350, n. 1, p.103 - 108, 1996.

ANDERSON, M. D.; PRASAD, T. K.; STEWART, C. R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of maize seedlings. **Plant Physiology**, v. 109, n. 4, p. 1247 – 1257, 1995.

ANDRIGUETO, J. R.; KOSOKI, A. R. Programa de Desenvolvimento da Fruticultura Brasileira e a Inserção da Produção Integrada nos Mercados Nacional e Internacional. In: ZAMBOLIM, L. **Manejo Integrado: Fruteiras Tropicais – Doenças e Pragas**. Viçosa: UFV, 2002. p. 1 - 6.

ANDRIGUETO, J. R.; NASSER, L. C. B.; SIMON, G.; TEIXEIRA, J. M. A. Produção integrada de frutas e sistema agropecuário de produção integrada. In: MARTINS, D. S.; da COSTA, A. N.; da COSTA, A. F. S. **Papaya Brasil: manejo, qualidade e mercado do mamão**. Incaper, Vitória, ES. 2007. p. 177 – 189.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução Nº 21, de 26 de Janeiro de 2001. Disponível em: <http://anvisa.gov.br/legis/resol/21_rdc.htm>. Acesso em: 15 mar. 2007.

A. O. A. C. **ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS**. Official Methods of Analysis, 17. ed., v. 01, Washington, 2000.

ARRIOLA, M. C., ROLZ, C. Some physical and chemistry changes in papaya during its storage. **Proc. Trop. Reg. Am. Soc. Hort. Sci.**, v.19, p. 97 – 101, 1980.

AUGUSTO, O. **Radicais Livres – bons, maus e naturais**. São Paulo: Oficina de Textos - USP, 2006.

AYLWARD, F. HAISMAN, D. R. Oxidation systems in fruits and vegetables – their relation to the quality of preserved products. **Adv. Fd. Res.** v. 17, p. 1 – 76, 1969.

BALBINO, J. M. S. **Efeito da hidrotermia, refrigeração e ethephon na qualidade pós-colheita do mamão (Carica papaya L.)**. 1997. 104 f. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1997.

BALBINO, J. M. S.; COSTA, A. F. S. Crescimento e desenvolvimento dos frutos do mamoeiro do 'Grupo Solo' e padrão de qualidade. In: MARTINS, D. S.; COSTA, A. F. S. **A Cultura do Mamoeiro: Tecnologias de Produção**. Vitória, ES. Incaper. p. 405 -439, 2003.

BALOCK, J. W.; BURDITT, A. K.; SEO, S. T.; AKAMINE, E. K. Gamma radiation as a quarantine treatment for Hawaiian fruits flies. **J. Entomol.**, v. 59, p. 202, 1966.

BANDE, A. L. Aplicaciones de la irradiación de los alimentos: diversos aspectos relacionados. **Alimentaria**, v. 24, p. 27 – 28, 1990.

BANDYOPADHYAY, C.; GHOLAP, A. S. Changes in fatty acids in ripening mango pulp (variety – Alphonso). **J. Agric. Food Chem.**, v. 21, p. 496 – 497, 1973.

BARTLEY, I. M. Changes in the glucans of ripening apples. **Phytochemistry**, v. 13, p. 2107 – 2111, 1976.

BASSON, R. A.; BEYERS, M.; THOMAS, A. C. A radiation chemical approach to the evaluation of the possible toxicity of irradiated fruits: Part 1 - The effect of protection by carbohydrates. **Food Chemistry**, v. 4, issue 2, p. 131 – 142, apr. 1979.

BAUERNFEIND, J. C. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, n. 3, p. 456 – 473, 1972.

BEYERS, M.; THOMAS, A. C. y Irradiation of Subtropical Fruits. 4. Changes in Certain Nutrients Present in Mangoes, Papayas, and Litchis during Canning, Freezing, and y Irradiation. **J. Agric. Food Chem.**, v. 27, n. 1, p. 48 51, 1979.

BEYERS, M.; THOMAS, A. C.; VAN TONDER, A. J. y Irradiation of Subtropical Fruits. Compositional Tables of Mango, Papaya, Strawberry, and Litchi Fruits at the Edible-Ripe Stage. **J. Agric. Food Chem.**, v. 27, n. 1, p. 37 – 42, 1979.

BHUSHAN, B.; THOMAS, P. Quality of apples following gamma irradiation and cold storage. **Intern. J. Food Sci. Nutr.**, v. 49, p. 485 - 492, 1998.

BIGGS, M. S.; HARRIMAN, R. W.; HANDA, A. K. Changes in gene expression during fruit ripening. **Plant Physiology**, v. 81, p. 395 – 403, 1986.

BLAKESLEY, C. N.; LOOTS, J. G.; DU PLESSIS, L. M.; BRUYN, G. y Irradiation of Subtropical Fruits. Volatile Components, Lipids, and Amino Acids of Mango, Papaya, and Strawberry Pulp. **J. Agric. Food Chem.**, v. 27, n. 1, p. 42 – 48, 1979.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v. 91, p. 179 – 194, 2003.

BORÉM, A.; GIÚDICE, M. P.; COSTA, N. M. B. **Alimentos geneticamente modificados**. Viçosa: Folha de Viçosa, 2003. 305 p.

BOTEON, M. Desafios da Fruticultura e o mercado do mamão. In: MARTINS, D. S. **Papaya Brasil: mercados e inovações tecnológicas para o mamão**. Incaper, Vitória, ES. 2005. p. 15 – 21.

BOYLSTON, T. D.; REITMEIER, C. A.; MOY, J. H.; MOSHER, G. A.; TALADRIZ, L. Sensory quality and nutrient composition of three Hawaiian fruits treated by x-irradiation. **Journal of Food Quality**, v. 25, p. 419 – 433, 2002.

BRAPEX – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE PAPAYA. Exportação – Brasil em destaque. Disponível em: <http://www.brapex.net/index_1024.asp>. Acesso em: 21 maio 2007.

BRENNAN, T.; FRENKEL, C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear. **Plant Physiology**, v. 59, p. 411 – 416, 1977.

BRODRICK, H. T.; THOMAS, A. C.; VISSER, F.; BEYERS, M. Studies on the gamma irradiation and hot water treatments for shelf life extension of papayas. **Plant Dis. Rep.**, v. 60, p. 749 – 753, 1976.

BRON, I. U. **Amadurecimento do mamão 'Golden': ponto de colheita, bloqueio da ação do etileno e armazenamento refrigerado**. 2006. 66 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2006.

BRUHN, C. M. Consumer attitudes and market response to irradiated food. **J. Food Prot.**, v. 58, n. 2, p. 175 – 181, 1995.

BRUMMELL, D. A.; DAL-CIN, V. CRISOSTO, C. H.; LABAVITCH, J. M. Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 405, p. 2029 - 2039, 2004.

BRUMMELL, D. A.; LABAVITCH, J. M. Effect of antisense suppression of endopolygalacturonase activity on polyuronide molecular weight in ripening tomato fruit and in fruit homogenates. **Plant Physiology**, v. 115, p. 715 – 725, 1997.

BRUTON, B. O. Mechanical injury and latent infections leading to postharvest decay. **HortScience**, v. 29, p. 747 – 749, 1994.

BRUYN, I. N. The application of high dose food irradiation in South Africa. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 57, p. 223 – 225, 2000.

BURG, S. P.; BURG, E. A. Molecular requirements for the biological activity of ethylene. **Plant Physiology**, v. 42, p.144 - 152, 1967.

CADET, J.; DOUKI, T.; GASPARUTTO, D.; RAVANAT, J. L. Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. **Mutation Research**, v. 531, p. 5 – 23, 2003.

CALORE, L.; VIEITES, R. L. Conservação de Pêssegos 'Biuti' por Irradiação. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 23 (Supl), p. 53 - 57, dez. 2003.

CAMARGO, R. J.; TADINI, C. C.; SABATO, S. F. Physical–chemical analyses of irradiated papayas (*Carica papaya* L.). **Radiation Physics and Chemistry**, v. 76, p. 1866–1868, 2007.

CAMPOS, F. M.; PINEIRO-SANT'ANA, H. M.; SOUZA, P. M. de.; STRINGHETA, P. C.; CHAVES, J. B. P. Pró-vitaminas A em hortaliças comercializadas no mercado formal e informal de Viçosa (MG), em três estações do ano. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 33 – 40, jan.-mar. 2006.

CASTRICINI, A.; MEDEIROS, S. F.; CONEGLIAN, R. C. C.; VITAL, H. C. Uso da radiação gama na conservação pós-colheita do tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* M.): fruto “de vez”. **Rev. Univ. Rural**, Ser. Ciên. da Vida, v. 22. n.22 (suplemento), p. 223 – 229, 2002.

CATALÁ, A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 38, p. 1482 – 1495, 2006.

CDTN – CENTRO DE DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA NUCLEAR. **Irradiação de alimentos**. Belo Horizonte: CDTN/CENEN, (Folheto), 6 p.

CERDA, H.; DELINCÉE, H.; HAINE, H.; RUPP, H. The DNA ‘comet assay’ as a rapid screening technique to control irradiated food. **Mutation Research**, v. 375, p.167 – 181,1997.

CHAN, H. T. J.; HIBBARD, K. L.; GOO, T.; AKAMINE. E. K. Sugar composition of papayas during fruit development. **HortScience**, v. 14, p. 140 – 141, 1979.

CHAN, H. T. J.; KWOK, S. C. M. Identification and determination of sugar in some tropical fruit products. **Journal of Food Science**, v. 40, n. 2, p. 419 – 420, 1976.

CHAN, H. T. J.; KWOK, S. C. M. Importance of enzyme inactivation prior to extraction of sugars from papaya. **Journal of Food Science**, v. 40, p. 770 – 771, 1975.

CHAN, H. T.; TANIGUCHI, M. H. Changes in fatty acid composition of papaya lipids (*Carica papaya*) during ripening. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 1092 – 1094, 1985.

CHANCE, B.; MAEHLEY, A. C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v. 2, p. 764 – 775, 1955.

CHAVES, M. C. V.; GOUVEIA, J. P. G.; ALMEIDA, F. A. C.; LEITE, J. C. A.; SILVA, F. L. H. Caracterização físico-química do suco de acerola. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 4, n. 2, 2004.

CHEN, N.M.; PAULL, R. E. Development and prevention of chilling injury in papaya fruit. **Journal America Society HortScience**, Alexandria, v. 111, n. 4, p. 639 - 643, 1986.

CHERVIN, C.; BOISSEAU, P. Quality Maintenance of “ready-to-eat” shredded carrots by gamma irradiation. **Journal of Food Science**, v. 59, n. 2, p. 359 – 361, 1994.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutos e hortaliças. **Fisiologia e manuseio**. Lavras, MG: ESAL-FAEPE, 1990. 293p.

CHYTIRI, S.; GOULAS, A. E.; BADEKA, A.; RIGANAKOS, K. A.; PETRIDIS, D.; KONTOMINAS, M. G. Determination of radiolysis products in gamma-irradiated multilayer barrier food packaging films containing a layer of recycled LDPE. **Radiat. Phys. Chem.** (2007), in press. doi:[10.1016/j.radphyschem.2007.06.007](https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2007.06.007).

CHOE, E.; MIN, D. B. Chemistry and Reactions of Reactive Oxygen Species in Foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, p. 1 - 22, 2006.

CIABOTTI, E. D.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI-MATA, M. E. R. M. Alterações das características físico-químicas da polpa de maracujá amarelo submetido a diferentes técnicas de congelamento inicial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 2, n. 1, p. 51 – 60, 2000.

COLOWICK, S. P.; KAPLAN, N. O. Oxygen Radicals in Biological systems. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 273 – 338, 1984.

COLLINS, A. R. The Comet Assay for DNA Damage and Repair: Principle, Applications and Limitations. **Molecular Biotechnology**, v. 26, p.249 - 261, 2004.

CORTÉS, C.; TORREGROSA, F.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. Carotenoid profile modification during refrigerated storage in untreated and pasteurized orange juice and orange juice treated with high-intensity pulsed electric fields. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 6247 – 6254, 2006.

COUEY, H. M. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin: an overview. **HortScience**, Alexandria, v.17, n.2, p.158 - 162, 1982.

CRISOSTO, C. H.; CRISOSTO, G. M.; METHNEY, P. Consumer acceptance of “Brooks” and “Bing” cherries is mainly dependent on fruit SSC and visual skin color. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 28, p. 159 – 167, 2003.

CROWLEY, M. L.; GABOURY, D. J.; WITT, D. Chef's attitudes in Noeth-Eastern US toward irradiation beef, Olestra, rBST and genetically engineered tomatoes. **Food Service Technology**, v. 2, p. 173 – 181, 2002.

CUMMINGS, J. H.; SOUTHGATE, D. A. T.; BRANCH, W. J.; WIGGINS, H. S. The digestion of pectin in the human gut and its effect on calcium absorption and large bowel function. **Br. J. Nutr.**, v. 41, p. 477 – 485, 1979.

CUPPARI, L. **Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto**. DRI's - Dietary Reference Intakes to vitamins C and A. Barueri, SP: Manole, 2002, p. 21 - 23.

DEARFIELD, K. L.; CIMINO, M. C.; MCCARROLL, N. E.; MAUER, I.; VALCOVIC, L. R. Genotoxicity risk assessment a proposed classification strategy. **Mutation Research**, v. 521, p.121 - 135, 2002.

DEELEY, C. Food irradiation: setting new standards or a slip pery slope? **Food Sci. Technol.**, v. 27, p. 691 – 696, 2002.

DEL, R. D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.**, v. 15, p. 316 – 328, 2005.

DELINCÉE, H. Control of irradiated food: recent developments in analytical detection methods. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 42, p. 351 – 357, 1993.

DELINCÉE, H. Detection of Irradiated Food: DNA Fragmentation in Grapefruits. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 52, n. 1-6, p. 135 - 139, 1998.

DENNISON, R. A.; AHMED, E. M. Irradiation effects on the ripening of Kent mangoes. **Journal of Food Science**, v. 32, p. 702 – 705, 1967.

DIEHL, J. F. Food irradiations - past, present and future. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 63, p. 211 – 215, 2002.

DILLEY, D. **Enzymes - The Biochemistry of fruits and their products**. Academic Press, New York, p. 195, 1970.

D'INNOCENZO, M. **Comportamento de enzimas da parede celular e textura da polpa relacionados ao tratamento de irradiação de mamões (*Carica papaya* L. cv. Solo) durante o amadurecimento**. 1996. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). ESALq. Piracicaba, 1996.

DI RIENZO, C. A Importância das câmaras frias na horticultura. **Tecnologia da refrigeração**, n. 5, p. 16 - 22, 2001.

DOMARCO, R. E.; SPOTO, M. H. F.; BLUMER, L.; WALDER, J. M. M. Sinergia da radiação ionizante e do aquecimento na vida de prateleira da uva 'Itália'. *Scientia Agrícola*, v. 56, n. 4, p. 981 - 986, 1999.

DOMINGUEZ-PUIGJANER; E.; VENDRELL, M.; LUDEVID, M. D. Differential protein accumulation in banana fruit during ripening. **Plant Physiology**, v. 98, p. 157 -162, 1992.

DU, Z.; BRAMLAGE, W. J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, p. 1566 – 1570, 1992.

DU, Z.; BRAMLAGE, W. J. Peroxidative activity of apple peel in relation to development of poststorage disorders. **HortScience**, v. 30, p. 205 – 209, 1995.

EHLERMANN, D. A. E. Four decades in food irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 73, p. 346 – 347, 2005.

EL-TOMI, A. L.; ABON AZIZ, A. B.; ABDEL-KADER, A. S.; ABDEL-WAHAB, F. K. The effect of chilling and non-chilling temperatures on the quality of papaya fruit. **Egypt. J. Hort.**, v. 1, p. 197 – 185, 1974.

ERDTMANN, B. A genotoxicidade nossa de todos os dias. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética Toxicológica**. 1. ed. Porto Alegre: Alcance, 2003. p. 23 – 46.

EVSEEVA, T. I.; KHRAMOVA, E. S. Action of low concentration of ²³²Th on tradescantia (clone 02) and meristematic root tip cells of *Allium cepa*. In:

Proceedings of the fifth International Conference on High Levels of Natural Radiation and Radon Areas, Munich, p. 489 - 491. 2002.

EZELL, B. D.; GERHARDT, F. Respiration and oxidase and catalase activity of apples in relation to maturity and storage. **J. Agric. Res.**, v. 65, p. 453 – 470, 1942.

FAGUNDES, G. R.; YAMANISHI, O. K. Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo 'Solo' comercializados em 4 estabelecimentos de Brasília-DF. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, SP, v. 23, n. 3, p. 541 - 545, dez. 2001.

FAIRBAIRN, D. W.; OLIVE, P. L.; O'NEILL, K. L. The comet assay: a comprehensive review. **Mutation Research**, v. 339, p. 37 – 59, 1995.

FAO/IAEA - FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION/ INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. GCIIA (Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos). **Facts about food irradiation**. Viena (Áustria), 1991.

FAO - FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. Carbohydrates in human nutrition. **Food and Nutrition Paper 66**. Report of a Joint FAO/ WHO Expert Consultation Rome, 14 – 18 april, 1997.

FAO - FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. Fed Regist. 9CFR Parts 317, 318 and 381. Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service. Disponível em: <<http://www.isis.usda.gov>>. Acesso em: 27 maio 2007.

FAOSTAT – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION STATISTICAL DATABASES. 2007. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/default.aspx>>. Acesso em: 15 dez. 2007.

FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food - A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 44, p.189 – 204,1998.

FENECH, M. Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. **Toxicology**, Limerick, p. 411- 4116, 2002.

FERRAZ, K. K. F. **Avaliação das características físicas, bioquímicas e organolépticas e efeito da radiação gama na conservação pós-colheita dos frutos de mamão (*Carica papaya* L.)**. 2005. 110 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2005.

FINGER, F. L.; VIEIRA, G. Fisiologia pós-colheita de frutos tropicais e subtropicais. In: ZAMBOLIM, L. **Manejo Integrado: Fruteiras Tropicais – Doenças e Pragas**. Viçosa: UFV, 2002. p. 1 - 26.

FISKEJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, p. 99 - 112, 1985.

FLORES, F.; AMOR, M. B.; JONES, B.; PECH, J. C.; BOUZAYEN, M.; LATCHÉ, A.; ROMOJARO, F. The use of ethylene-suppressed lines to assess differential sensitivity to ethylene of the various ripening pathways in Cantaloupe melons. **Physiologia Plantarum**, v. 113, p. 128 – 133, 2001.

FOOD AND WATER WATCH. Food irradiation around the world. Disponível em: <<http://www.foodandwaterwatch.org/food/pubs/ireports/food-irradiation-status-2006/?searchterm=irradiation>>. Acesso em: 15 maio 2007.

FOTSIS, T. Flavonoids, dietary-derived inhibitors of cell proliferation and *in vitro* angiogenesis. **Cancer Research**, v. 57, n. 14, p. 2916 - 2921, 1997.

FOYER, C.; HALLIWELL, B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. **Planta**, v. 133, p. 5 – 21, 1976.

FOYER, C. H.; DESCOUVIÈRES, P.; KUNERT, K. J. Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. **Plant, Cell and Environment.**, v. 17, p. 507 – 523, 1994.

FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipid Research**, v. 43, p. 228 – 265, 2004.

FREITAS, G. B. Produção orgânica de fruteiras tropicais. In: ZAMBOLIM, L. **Manejo Integrado: produção integrada, fruteiras tropicais, doenças e pragas**. Viçosa: UFV, 2003. p. 61 – 65.

FRY, S. C. Oxidative scission of plant cell wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals. **Biochem. J.**, v. 332, p. 507 – 515, 1998.

GALLIARD, T. Aspects of lipid metabolism in higher plants. The identification and quantitative analysis of lipids from the pulp of pre- and post-climacteric apples. **Phytochemistry**, v. 7, n. 11, p. 1915 – 1922, 1968.

GCIIA. Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos. **Realidades sobre irradiação de alimentos**. Viena (Áustria); FAO/IAEA, 1991.

GCIIA. Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos. **A Irradiação de Alimentos: ficção e realidade**. Série de fichas descritivas do GCIIA. Viena (Áustria), 1999.

GERMANO, R. M. A.; ARTHUR, V.; WIENDL, F. M. Conservação pós-colheita de abacates *Persia americana* M., variedades Fortuna e Quintal por irradiação. **Scientia Agricola**, v. 53, n. 2 – 3, p. 249 – 253, 1996.

GICHNER, T.; PTÁCEK, ONDREJ.; STAVREVA, D. A.; WAGNER, E. D.; PLEWA, M. J. A comparison of DNA repair using the comet assay in tobacco seedlings after exposure to alkylating agents or ionizing radiation. **Mutation Research**, v. 470, p. 1 – 9, 2000.

GIRARDI, C. L.; PARUSSOLO, A.; DANIELI, R.; CORRENT, A. R.; ROMBALDI, C. V. Conservação de caqui (*Diospyros kaki* L.) cv. Fuyu, pela adição de 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n. 1, p. 54 – 56, 2003.

GIUNTINI, D.; GRAZIANI, G.; LERCARI, B.; FOGLIANO, V.; SOLDATINI, G. F.; RANIERI, A. Changes in Carotenoid and Ascorbic Acid Contents in fruits of different Tomato Genotypes related to the Depletion of UV-B Radiation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3174 – 3181, 2005.

GOLDSTEIN, J. L.; WICK, E. L. Lipid in ripening banana fruit. **Journal of Food Science**, v. 34, issue 6, p. 482 – 484, 1969.

GOMEZ, M. L. P. A.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Metabolismo de carboidratos durante o amadurecimento do mamão (*Carica papaya* L. Cv. Solo): influência da radiação gama. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n. 2, p. 246-252. 1999.

GOMEZ, M. L. P. A.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Evolution of soluble sugars during ripening of papaya fruit and its relation to sweet taste. **Sensory and Nutritive Qualities of Food**, v. 67, n. 1, p. 442 – 447, 2002.

GORIN, N.; HEIDEMA, F. T. Peroxidase activity in Golden Delicious apple as a possible parameter of ripening and senescence. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 24, p. 200 – 201, 1976.

GRANT, W. F. Chromosome aberration assays in *Allium*, **Mutat. Res.**, v. 99, p. 273 – 291, 1982.

GRAY, J. E.; PICTON, S.; GIOVANNONI, J. J.; GRIESERSON, D. The use of transgenic and naturally occurring mutants to understand and manipulate tomato fruit ripening. **Plant Cell Environment**, v. 17, p. 557 – 571, 1994.

GROSS, J.; IKAN, R.; ECKHARDT, G. Carotenoids of the fruit of *Averrhoa carambola*. **Phytochemistry**, v. 22, p. 1479 - 1481, 1983.

HAARD, N. F. Upsurge of particulate peroxidase in ripening banana fruit. **Phytochemistry**, v. 12, p. 555 – 560, 1973.

HAARD, N. F.; TOBIN, L. Patterns of soluble peroxidase in ripening banana fruit. **Journal of Food Science**, v. 36, p. 854 – 857, 1971.

HADFIELD, K. A.; BENNET, A. B. Polygalacturonases: many genes in search of a function. **Plant Physiology**, v. 117, p. 337 – 343, 1998.

HAVIR, E. A.; McHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, p. 450 -455, 1987.

HEINONEN, M. I.; OLLIALINEN, V.; LINKOLA, E. K.; VARO, P. T.; KOIVISTOINEN, P. E. Carotenoids in finis foods: vegetables, fruits and berries. **J. Agric. Food Chem.**, v. 37, p. 655 – 659, 1989.

HODGES, M.; DELONG, J. M.; FORNEY, C. F.; PRANGE, R. K. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta**, v. 207, p. 604 – 611, 1999.

HOSHIMA, M. M. **Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de efluentes de refinaria de petróleo, por meio dos sistemas testes de *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus***. 2005. 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2005.

HUBER, D. J. Polyuronide degradation and hemicellulose modifications in ripening tomato fruit. **J. Am. Soc. Hort. Sci.**, v. 108, p. 405 – 409, 1983.

HUBER, D. J. Strawberry (*Fragaria ananassa*) fruit softening, the potential roles of polyuronides and hemicelluloses. **J. Food Sci.**, v. 49, p. 1310 – 1315, 1984.

IADEROZA, M.; BLEINROTH, E. W.; AZUMA, E. H. Efeitos da radiação ionizante na atividade da pectinesterase do mamão cultivar Solo. **Colet. Inst. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 76 – 82, 1988.

IAEA. International Atomic Energy Agency. Summary of the effect to of irradiation on the safety, shelf-life and quality of products studied in Brazil. In: IAEA - TECDOC-1530. **Use of irradiation to ensure hygienic quality of fresh, pre-cut fruits and vegetables and other minimally processed food of plant origin.** p. 7, dec. 2006.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção Agrícola Municipal. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp>>. Acesso em 10 nov. 2007.

IBRAF - INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. Estatísticas. Exportação – Frutas frescas. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/>>. Acesso em: 28 abr. 2007.

IVANOVA, T.; IVANOVA, A. The oxidation of grape must. 3. Polyphenol oxidase and peroxidase activities during ripening of the grape in the Muscate Rouge, Dimiat, Rissling and Aliqote varieties. **Ann. Technol. Agric.**, v. 17, p. 333 – 337, 1968.

JACKMAN, R. L., STANLEY, D. W. Perspectives in the textural evaluation of plant foods. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 6, p. 187 – 194, 1995.

JACOBIEN, K.; von FRIJTAG, D. K.; van DER ZEE, J.; AD, P. L. Radical scavenging properties of adenosine and derivatives in vitro. **Drug Development Res.**, v. 37, p. 48–54, 1996.

JENKINS, D. A. J.; KENDALL, C. W. C.; RANSOM, T. P. P. Dietary fiber, the evolution of the human diet and coronary heart disease. **Nutr Res.**, v. 18, p. 633 – 652, 1998.

JIMÉNEZ, A.; CREISSEN, G.; KULAR, B. FIRMIN, J.; ROBINSON, S.; VERHOEYEN, M.; MULLINEAUX, P. Changes in oxidative processes and

components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. **Planta**, v. 214, p. 751 - 758, 2002.

JIMÉNEZ, A.; ROMPJARO, F.; GÓMEZ, J. M.; LLANOS, M. R.; SEVILLA, F. Antioxidant Systems and their relationship with the response of pepper fruits to storage at 20 °C. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 6293 - 6299, 2003.

JOBIN, M.; LACROIX, M.; ABDELLAOUI, S.; BERGERON, G.; BOUBEKRI, C.; GAGNON, M. Effect of gamma irradiation combined with hot water treatment on physical, chemical and organoleptic properties of tangerines. **Microbiol. Aliment. Nutr.**, v. 10, p. 115 – 128, 1992.

JOHN, J.; SUBBARAYAN, C.; CAMA, H. R. Carotenoids in 3 stages of ripening of mango. **Journal of Food Science**, v. 35, p. 262 - 265, 1970.

JOSEPHSON, E. S.; THOMAS, M. H.; CALHOUN, W. K. Nutritional aspects of food irradiation – an overview. **Journal of Food Processing and Preservation**, n. 2, p. 299 – 313, 1978.

KADER, A. A. Prevention of ripening in fruits by use of controlled atmospheres. **Food Technology**, p. 51 – 54, mar. 1980.

KADER, A. A. **Postharvest technology of horticultural crops**. 5. ed. Berkeley: University of California, 1992.

KADER, A. A.; ZAGORY, D.; KERBEL, E. L. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. **Critical reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.28, n. 1, p.1 - 30, 1989.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 57, p. 315 – 319, 1976.

KARAKURT, Y.; HUBER, D. J. Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p. 219 – 229, 2003.

KARAKURT, Y.; HUBER, D. J. Cell wall-degrading enzymes and pectin solubility and depolymerization in immature and ripe watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit in response to exogenous ethylene. **Physiologia Plantarum**, v. 116, p. 398 – 405, 2002.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidant in fruits and vegetables – the milleium's health. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 36, p. 703 – 725, 2001.

KHAN, I.; SATTAR, A.; ALI, M.; MUHAMMED, A. Some physiological and biochemical changes in irradiated mangoes. **Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie**, v. 7, p. 25 – 28, 1974.

KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. **Food Chem.**, v. 49, p. 157 – 164, 1994.

KOBAYASHI, H.; SUGIYAMA, C.; MORIKAMA, Y.; HAYASHI, M.; SOFUNI, T. A comparison between manual microscopic analysis and computerized image analysis in the cell gel electrophoresis. **MMS. Comm**, v. 3, p.103 - 115, 1995.

KOPPEN, G.; CERDA, H. Identification of Low-dose Irradiated Seeds using the Neutral Comet Assay. **Technol.**, v. 30, p. 452 - 457, 1997.

KOPPEN, G.; TONCELLI, L. M.; TRIEST, L.; VERSCHAEVE, L. The comet assay: a toll to study alteration of DNA integrity in developing plant leaves. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 110, n. 1 - 2, p. 13 - 24, 1999.

KOVACS, E.; KERESZTES, A. Effect of gamma and UV-b/c radiation on plant cells. **Micron.**, v. 33, p. 199 – 210, 2002.

KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure & Applied Chemistry**, v. 66, p. 10003 – 1010, 1994.

KUMARAVEL, T. S.; JHA, A. N. Reliable Comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals. **Mutation Research**, v. 605, p. 7–16, 2006.

LAGUNAS-SOLAR, M. C. Radiation processing of foods: An overview of scientific principles and current status. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 2, p. 186 – 192, 1995.

LALAGUNA, F. Response of 'Galia' muskmelons to irradiation as a quarantine treatment. **HortScience**, v. 33, p. 118 -120, 1998.

LATA, B. Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 663 – 671, 2007.

LATIES, G.G.; FRANKLIN KIDD, C. W.; BLACKMAN, F. F. The start of modern postharvest physiology. **Postharvest Biology and Technology**, v. 5, p. 1 -10, 1995.

LEE, R. F.; STEINERT, S. Use of the single cell gel eletrophoresis/ comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. **Mutation Research**, v.544, p.43 - 64, 2003.

LELIÉVRE, J. M.; LATCHÉ, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M.; PECH, J. C. Ethylene and fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, v. 101, p. 727 – 739, 1997.

LIMA, K. S. C.; GROSSI, J. L. S.; LIMA, A. L. S.; ALVES, P. F. M. P.; CONEGLIAN, R. C. C.; GODOY, R. L. O.; SABAA-SRUR, A. U. Efeito da irradiação ionizante *g* na qualidade pós-colheita de cenouras (*Daucus carota* L.) cv. Nantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 202 – 208, 2001.

LIMA, K. S. C.; LIMA, A. L. S.; FREITAS, L. C.; DELLA-MODESTA, R. C.; GODOY, R. L. O. Efeito de baixas doses de irradiação nos carotenóides majoritários em cenouras prontas para o consumo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 183 – 193, abr./jun. 2004.

LISO, B. R.; CALABRESE, G.; BITONTI, M. B.; ARRIGONI, O. Relationship between AsA and cell division. **Exp. Cell Res.**, v. 150, p. 314 – 320, 1984.

LOAHARANU, P. Coast Beneficent Aspects of Food Irradiation. **Food Technology**, v. 48, n. 1, p. 104 - 108, 1994.

LOAHARANU, P. Irradiation as a cold pasteurization process of food. **Veterinary Parasitology**, v. 64, p. 71 – 82, 1996.

LOBO, A. S. TRAMONTE, V. L. C. Efeitos da suplementação e da fortificação de alimentos sobre a biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p. 107 - 113, 2004.

LOPES, B. F. **Comparação de métodos de conservação sobre os processos fisiológicos e bioquímicos relacionados com características essenciais à qualidade e comercialização do mamão *Carica papaya* L.** 2007. 102 f.

Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2007.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent. **Journal of Biology Chemistry**, v. 193, p. 262 – 267. 1951.

LUENGO, R. F. A.; CALBO, A. G.; JACOMINO, A. P.; PESSOA, J. D. C. Avaliação da compressão em hortaliças e frutas e seu emprego na determinação do limite físico da altura da embalagem de comercialização. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 704 - 707, out.- dez. 2003.

MA, T. H.; XU, Z.; XU, C.; McCONNELL, H.; RABAGO, E. V.; ARREOLA, G. A.; ZHANG, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research**, v.334, p.185 - 195, 1995.

MAALEKUU, K.; ELKIND, Y.; LEIKIN-FREKEL, A.; LURIE, S.; FALLIK, E. The relationship between water loss, lipid content, membrane integrity and LOX activity in ripe pepper fruit after storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 42, p. 248 – 255, 2006.

MANRIQUE, G. D.; LAJOLO, F. M. Cell wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, p. 11 - 26, 2004.

MAPSON, L. W.; WARDALE, D. A. Biosynthesis of ethylene enzymes involved in its formation from methional. **Biochem. J.**, v. 107, p. 433 – 442, 1968.

MARIN, S. L. D., GOMES, J. A. SALGADO, J. S., et al. **Recomendações para a cultura do mamoeiro dos grupos Solo e Formosa no Estado do Espírito Santo**. 4. ed. Vitória – ES. Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária, 57p. (EMCAPA, circular técnica 3). 1995.

MARÍN-HUACHACA, N. S.; MANZINI FILHO, J.; DELINCEÉ, H.; VILLAVIVENCIO, A. L. C. H. Identification of gamma-irradiated papaya, melon and watermelon. **Radiation Physics and Chemistry**. v. 71, n. 1-2, p. 191-194, 2004.

MARÍN-HUACHACA, N. S.; VILLAVIVENCIO, A. L. C. H. Identificação de mamão irradiado mediante o teste do "Comet Assay". **Alasbimn Journal**, ano 4, n. 14, jan. 2002. Resumo de: III Encontro Nacional de Biociências Nucleares.

MARTA, W.; WITOLD, K.; MALGORZATA, R.; TADEUSZ, S.; GEORGE, T. Cooperation of antioxidants in protection against photosensitized oxidation. **Free Radical Bio. Med.** v. 10, p. 1319 – 1329, 2003.

MARTINS, D. S.; MALAVASI, A. Aplicação do Sistema Approach para a Exportação de Frutas: Mamão Brasileiro para os Estados Unidos. In: ZAMBOLIM, L. **Manejo Integrado: Fruteiras Tropicais – Doenças e Pragas**. Viçosa: UFV, 2002. p. 7 - 19.

MATSUMOTO, S. T.; MARIN-MORALES, M. A. **Estudos sobre a influência de efluentes potencialmente genotóxicos, derivados de curtume, na contaminação de recursos hídricos da região de Franca/SP**. 2004. 216 f. Tese (Doutorado em Genética). Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, 2004.

MATTOO, A. K.; MODI, V. V. Ethylene and the ripening of mangoes. **Plant Physiology**, v. 44, p. 308 – 310, 1969.

MATTOS, L. L.; MARTINS, I. S. Dietary fiber consumption in adult population. **Journal of Public Health**, v. 34, n. 1, p. 50 - 55, feb. 2000.

McCOLLUM, T. G.; HUBER, D. J.; CATLIFFE, D. J. Modification of polyuronides and hemicelluloses during muskmelon fruit softening. **Physiol. Plant.**, v. 76, p. 303 – 308, 1989.

MELLO, M. L. S.; VIDAL, B. C. A reação de Feulgen. **Ciênc. e Cult.**, v. 30, n. 6, p. 665 – 676, 1978.

MENDOZA, F.; AGUILERA, J. M. Application of image analysis for classification of ripening bananas. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 2, p. 471 – 477, 2004.

MILNER, J. Functional foods and healthy: A US perspective. **British Journal of Nutrition**, v. 88, p. S151 – S158, 2002.

MITCHELL, G. E.; MCLAUCHLAN, R. L.; BEATTIE, T. R.; BANOS, C.; GILLEN, A. A. Effect of gamma irradiation on the carotene content of mangos and red capsicum. **J. Food Sci.**, v. 55, p. 1185 – 1186, 1990.

MITCHELL, G. E.; MCLAUCHLAN, R. L.; ISAACS, A. R.; WILLIAMS, D. J.; NOTTINGHAM, S. M. Effect of low dose irradiation on composition of tropical fruits and vegetables. **J. Food Comp. Anal.**, v. 5, p. 291 -311, 1992.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405 – 410, 2002.

MORAES, M. R.; MOREIRA, G. C.; OLIVEIRA, A. C. E.; MENGAI, B.; VIEITES, R. L.; EVANGELISTA, R. M. Influência da irradiação gama na conservação pós-colheita do tomate cereja frigorificado. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, HORTALIÇAS E FLORES, 2., 2007, Viçosa, MG. **Resumos...** Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2007. p. 369.

MOREHOUSE, K. M. Food Irradiation: The treatment of foods with ionizing radiation. **Food Testing & Analysis**, v. 4, n. 3, p. 9, 32, 35. june-july. 1998.

MOSHONAS, M. G.; SHAW, P. E. Effects of low dose γ -irradiation on grapefruit products. **J. Agric. Food Chem.**, v. 32, p. 1098 – 1101, 1984.

MOY, J. H. Potential of gamma irradiation of fruits: a review. **Journal of Food Technology**, v.12, p. 449 - 457, 1977.

MOY, J. H.; WONG, L. The efficacy and progress in using radiation as a quarantine treatment of tropical fruits - a case study in Hawaii. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 63, p. 397 – 401, 2002.

MURRAY, A. J.; BID, C.R.; SCHUCH, W.W.; HOBSON, G.E. Nutritional aspects of food irradiation. **Food Irradiation Publisher International: Projects in the field of the irradiation**, n.11, p.21-32, 1981.

MURRAY, T. K. Nutritional aspects of food irradiation. **Recent Adv. Food Irradiat.**, p. 203 – 16, 1983.

NAGAY, N. Y.; MOY, J. H. Quality of gamma irradiated 'California Valencia' oranges. **J. Food Sci.**, v. 50, p. 215 – 219, 1985.

NAS-NCR – NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE/ NATIONAL COUNCIL RESEARCH. **Recommended dietary allowance**. Washington, D.C., 1980. 9. ed., p. 51 -57.

NAVARRETE, M. H.; CARRERA, P.; MIGUEL M. de; DE LA TORRE, C. A fast comet assay variant for solid tissue cells. The assessment of DNA damage in higher plants. **Mutation Research**, v. 389, p. 271 – 277, 1997.

NINJOOR, V. Use of ionizing for food processing application. **Indian Society for Radiation Physics**, [s. 1], p. 35 - 41, 1989.

NOUAILHETAS, Y. Apostila educativa: Radiações Ionizantes e a vida. **Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN)**. 2006. Disponível em: http://www.cnen.gov.br/ensino/apostilas/rad_ion.pdf. Acesso em: 28 ago. 2007.

O'BEIRNE, D. Irradiation of fruits and vegetables: applications and issues. **Professional Horticulture**, v. 3, p. 12 – 19, 1989.

OLIVEIRA, I. B.; SABATO, S. F. Dissemination of the food irradiation process on different opportunities in Brazil. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 71, p. 493 – 497, 2004.

OLIVEIRA, L. C. Present situation of food irradiation in South America and the regulatory perspectives for Brazil. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 57, p. 249 – 252, 2000.

OLSON, J. A. Biological actions of carotenoids. **Journal of Nutrition**, v. 119, p. 94 – 95, 1989.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. World Health Organization. High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 KGy, a joint FAO/IAEA/WHO study group. Geneva, Switzerland, p. 15-20, September 1997. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/irradiation/en/. Acesso em: 27 abr. 2007.

ORIOLO, A. L. **Pólo agroindustrial associado à fruticultura irrigada na Região Noroeste Fluminense**. Brasília: CAMPO, 1999. 172p.

ORNELLAS, C. B. D.; GONÇALVES, M. P. J.; SILVA, P. R.; MARTINS, R. T. Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 01, p. 211-213, jan./mar. 2006.

OSIPOV, A. N.; KOLOMIITSEVA, G. Post-radiation changes of DNA-protein crosslinks and single-stranded DNA breaks in cells of various organs in gamma-irradiated rats. **Biokhimiia**, v.61, p. 927 - 931, 1996.

ÖSTERLING, O.; JOHANSON, K. J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damage in individual mammalian cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.123, p.291 - 298, 1984.

PAL, D. K.; SELVARAJ, Y. Biochemistry of papaya (*Carica papaya* L.) fruit ripening: changes in RNA, DNA, protein and enzymes of mitochondrial, carbohydrate, respiratory and phosphate metabolism. **Journal of Horticultural Science**, v. 62, n. 1, p. 117 – 124, 1987.

PATIL, B. S.; VANAMALA, J.; HALLMAN, G. Irradiation and storage influence on bioactive components and quality of early and late season 'Rio Red' grapefruit (*Citrus paradise* Macf.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 34, p. 53 – 64, 2004.

PAULL, R. E.; CHEN, N. J. Waxing and plastic wraps influence water loss from papaya fruit during storage and ripening. **J. Am. Soc. Hort. Sci.**, v. 114, p. 937 – 942, 1989.

PAULL, R. E. Response of Tropical commodities to insect desinfestation treatments. **Hort. Science**, v. 29, p. 988 – 996, 1994.

PAULL, R. E.; NIDHIJIMA, W.; REYES, M.; CAVALETTO, C.C. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 11, p. 165 – 179, 1997.

PAULL, R. E.; GROSS, K.; QIU, Y. Changes in papaya cell walls during fruit ripening. **Postharvest Biology and Technology**, v. 16, p. 79 - 89, 1999.

PAULI, G. H.; TARANTINO, L. M. FDA regulatory Aspects of Food Irradiation. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 2, p. 209 – 212, feb.1995.

PESIS, E.; FUCHS, Y.; ZAUBERMAN, G. Cellulase activity and fruit softening in avocado. **Plant Physiol.**, v. 61, p. 416 – 419, 1978.

PICTON, S.; BARTON, S. L.; BOUAZAYEN, M.; HAMILTON, A. J.; GRIERSON, D. Altered fruit ripening and leaf senescence in tomatoes expressing an antisense ethylene-forming enzyme transgene. **Plant J.**, v. 3, p. 469 - 481, 1993.

PIMENTEL, R. M. A.; WALDER, J. M. M. Gamma radiation in papaya harvest at three stages of maturation. **Scientia Agricola**, v.61, n. 2, p. 146 -150, 2004.

PINHEIRO SANT'ANA, H. M.; A STRINGHETA, P. C.; BRANDÃO, S. C. C.; AZEREDO, R. M. C. de. Carotenoid retention and vitamin A value in carrot (*Daucus carota* L.) prepared by food service. **Food Chemistry**, v. 61, n. 1/2, p. 145 – 151, 1998.

POCASANGRE ENAMORADO, H. E.; FINGER, F. L.; BARROS, R. S.; PUSCHMANN, R. Development and ripening of yellow passion fruit. **Journal of Horticultural Science**, v. 70, p. 573 – 576, 1995.

POHLMAN, A.; WOOD, O. B.; MASON, A. C. Influence of audiovisuals and food samples on consumer acceptance of food irradiation. **Food Technol.**, v. 48, n. 12, p. 46 – 49, 1994.

POOL-ZOBEL, B. L.; BUB, A.; MÜLLER, H.; WOLLOWSKI, I.; RECHKEMMER, G. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. **Carcinogenesis**, v. 18, n. 9, p. 1847-1850, 1997.

PRATES, R. S. Aspectos operacionais do programa de exportação do mamão brasileiro para os Estados Unidos. In: MARTINS, D. S. **Papaya Brasil – Mercado e inovações tecnológicas para o mamão**. Vitória, ES, Incaper, 2005. p. 57 – 68.

PRETEL, M. T.; SERRANO, M.; AMOROS, A.; RIQUELME, F.; ROMOJARO, F. Non-involvement of ACC and ACC oxidase activity in pepper fruit ripening. **Postharvest Biology and Technology**, v. 5, p. 295 – 302, 1995.

QUINZANI – JORDÃO, B. **Ciclo celular em meristemas. La formación de intercâmbios entre cromátidas hermanas**. 1987. 276 f. Tese (Doutorado em Genética). Universidade de Complutense, Madrid, 2007.

RESENDE, L. M. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas e patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 123 – 130, 2003.

RESURRECCION, A. V. A.; GALVEZ, F. C. F.; FLETCHER, S. M.; MISRA, S. K. Consumers attitudes towards irradiated food: results of a new study. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 2, p. 193 – 196, 1995.

RIBEIRO, L. R.; MARQUES, E. K. A importância da mutagênese ambiental na carcinogênese humana. In: RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. (Org.). **Mutagênese Ambiental**. Canoas: Ulbra, 2003. p. 21-27.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; TAKAHASHI, C. S.; GRISÓLIA, C. C. Teste do micronúcleo em eritrócito de medula óssea de camundongo. **Sociedade Brasileira de Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese Ambiental (SBMCTA)**, n. 1, Série Documentos. 2004. Disponível em: <<http://www.sbmcta.org.br/?arq=doc01>>. Acesso em 30 nov. 2007.

RIO, D. D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 15, p. 316 – 328, 2005.

ROCHA, M. **Respiração e atividade de enzimas do metabolismo antioxidativo em raízes de plântulas de milho (*Zea mays* L.) submetidas ao estresse por alumínio**. 2006. 69 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2006.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington DC: International Life Science Institute Press, 2001, 1. ed. 64 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; RAYMUNDO, L. C.; LEE, T.; SIMPSON, K. L.; CHICHESTER, C. O. Critical review of provitamin A determination in plant foods. **Journal Micronutritional Analysis**, v. 5, p. 191 - 225, 1989.

ROJAS, E.; LOPEZ, M. C.; VALVERDE, M. Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. **Journal of Chromatography B**, v. 722, p. 225 - 254, 1999.

ROSA, J. S.; GODOY, R. L. O.; NETO, J. O.; CAMPOS, R. S.; MATTA, V. M.; FREIRE, C. A.; SILVA, A. S.; SOUZA, R. S. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 787 - 792, out./dez. 2007.

ROSS, G. M.; MCMILLAN, T. J.; WILCOX, P.; COLLINS, A. R. The single cell microgel electrophoresis assay (comet assay): technical aspects and applications. **Mutation Research**, v. 337, p. 57 – 60, 1995.

ROTSTEIN, A.; GROSS, J.; LIFSHITZ, A. Changes in the pulp carotenoid pigments of the ripening Shamouti orange. **Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie**, v. 5, p. 140 - 143, 1972.

SABEHAT, A.; WEISS, D.; LURIE, S. The correlation between heat-shock protein accumulation and persistence and chilling tolerance in tomato fruit. **Plant Physiology**, v. 110, p. 531 – 537, 1996.

SAFFI, J.; HENRIQUES, J. A. P. Reparação de DNA em Células Eucarióticas. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética Toxicológica**. 1. ed. Porto Alegre: Alcance, 2003. p. 269 – 274.

SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S. Effect of irradiation and storage on the antioxidative activity of cashew nuts. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 75, p. 297 – 300, 2006.

SANTIAGO, M. M. D; ROCHA, M. B. O mercado de frutas e as estimativas dos preços recebidos pelos fruticultores no Estado de São Paulo, 1990 – 2000. **Informações Econômicas**. IEA, São Paulo. v. 31, n. 2, p. 7 – 20, fev. 2001.

SANTOS, C. E. M. dos; JÚNIOR, A. W.; ROCHA, A.; PIMENTEL, L. D.; COSTA E SILVA, J. O.; COUTO, F. A. D'ARAÚJO. Avaliação da qualidade pós-colheita de mamões 'Formosa' em diferentes formas de acondicionamento para o transporte ao mercado atacadista. In: MARTINS, D. S. **Papaya Brasil – Mercado e inovações tecnológicas para o mamão**. Vitória, ES, Incaper, 2005. p. 598 – 600.

SCHARRER, K; KURSCHNER, K. Ein neues, rasch durchfurbares Verfahren Zur Bestimmung der Rohfaser in Futtermitteln bredermanns. **Lenbr. E. Tierernahrung**, v. 3, p. 302 – 310, 1963.

SCHNEIDER, G. Morphactins: physiology and performance. **Annual Review Plant Physiology**. v. 21, p. 499 – 536, 1970.

SELVARAJ, Y.; SUBRAMANYAM, M. D.; IYER, C. P. A. Changes in the chemical composition of four cultivars of papaya (*Carica papaya* L.) during growth and development. **Journal of Horticulture Science**, v.57, p.135 -143, 1982.

SERRANO, M.; GUILLÉN, F.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; CASTILLO, S.; VALERO, D. Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2741 – 2745, 2005.

SHEWFELT, R. L. Quality of fruits and vegetables. A scientific status summary by the Institute of Food Technologists. **Food Technology**, v. 44, n. 6, p. 99 -100, 1990.

SHEWFELT, R. L. Defining and meeting consumer requirements. **Acta Horticulturae**, v. 712, p. 31-37, 2006.

SHULAEV, V.; OLIVER, D. J. Metabolic and Proteomic Markers for Oxidative Stress. New Tools for Reactive Oxygen Species Research. **Plant Physiology**, v. 141, p. 367 - 372, jun. 2006.

SIDDHURAJUA, P.; MAKKARB, H. P. S.; BECKERA, K. The effect of ionising radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chemistry**, v. 78, p. 187 – 205, 2002.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 62 (Suppl.), p. 1315S - 1321S, 1995.

SIEDOW, J. N.; UMBACH, A.L. Plant mitochondrial electron transfer and molecular biology. **The Plant Cell**, v.7, p.821 - 831, 1995.

SILVA, J. M.; CORREIA, L. C. S. A.; VILLAR, H. P.; MACIEL, M. I. S. Estudo das características visuais, sensoriais e físico-químicas de goiaba 'Paluma' submetida à radiação ionizante como método de conservação pós-colheita. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, HORTALIÇAS E FLORES, 2., 2007, Viçosa, MG. **Resumos...** Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2007. p. 285.

SILVA, S. M.; ALVES, R. E.; MENDONÇA, R. M. N. Fisiologia pós-colheita de frutas tropicais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, HORTALIÇAS E FLORES, 2., 2007, Viçosa, MG. **Palestras...** Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2007. p. 93 - 100.

SINGH, N. P.; McCOY, M. T.; TICE, R. R.; SCHEIDER, E. L. A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research**, v.175, n.1, p.184 - 191, 1988.

SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, M. J. The evaluation of the waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. **Mutation Research**, v.368, p.171 -179, 1996.

SMIRNOFF, N. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. **Annals of Botany**, v. 78, p. 661 – 669, 1996.

SMIRNOFF, N.; PALLANCA, J. E. The metabolism in relation to oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, v. 24, p. 472 – 478, 1996.

SONG, H. P.; KIM, D.; JO, C.; LEE, C.; KIM, K.; BYUN, M. Effect of gamma irradiation on the microbiological quality activity of fresh vegetable juice. **Food Microbiology**, v. 23, p. 372 - 378, 2006.

SONG, H.; BYUN, M. W.; JO, C.; LEE, C.; KIM, K.; KIM, D. Effects of gamma irradiation on the microbiological, nutritional, and sensory properties of fresh vegetable juice. **Food Control**, v. 18, p. 5 – 10, 2007.

SOPRANI, J. **Avaliação da radiação gama como método de conservação pós-colheita em frutos do mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. 2005. 85 p. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2005.

SOUZA, G. **Características físicas, químicas e sensoriais do fruto de cinco cultivares de mamoeiro (*Carica papaya* L.) produzidas em Macaé – RJ**. 1998. 68 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos do Goytacazes, RJ, 1998.

SOUZA, M. S.; OLIVEIRA, J. G. Alterações na atividade da pectinametilesterase e poligalacturonase em frutos de mamão (*Carica papaya* L.) ‘Golden’ armazenados a baixa temperatura. In: MARTINS, D. S.; da COSTA, A. N.; da COSTA, A. F. S. **Papaya Brasil: manejo, qualidade e mercado do mamão**. Incaper, Vitória, ES. 2007. p. 622 – 624.

SRIVASTAVA, A. K.; BHARGAVA, P.; RAI, L. C. Salinity and copper – induced oxidative damage and changes in the antioxidative defence systems of *Anabaena doliolum*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 21, p. 1291 – 1298, 2005.

STAVRIC, B. Antimutagens and anticarcinogens in foods. **Food Chemical Toxicology**, v. 32, n.1, p. 79 - 90, 1994.

STEINERT, S. A. Contribution of apoptosis to observed DNA damage in mussel cells. **Marine Environmental Research**, v. 42, p. 253 - 259, 1996.

STEWART, E. M. Food irradiation: more pros than cons. **Biologist**, v. 51, n. 3, p. 141- 144, 2004.

SZETO, Y. T.; TOMLINSON, B.; BENZIE, I. F. F. Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p.55 – 59, 2002.

TAIPINA, M. S.; FONTES, M. A. S.; COHEN, V. H.; MASTRO, N. L. D. M. Novas tecnologias: alimentos funcionais e a irradiação de alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 112, set. 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, 3. ed. Massachusetts: Sinauer Associats, 2002. 719p.

THOMAS, A. C.; BEYERS, M. γ Irradiation of Subtropical Fruits. A comparison of the chemical changes occurring during normal ripening of mangoes and papayas with changes produced by γ Irradiation. **J. Agric. Food Chem.** v. 27, n. 1, p.157-163, 1979.

THOMAS, P.; DHARKAR, S. D.; SREENIVASAN, A. Effect of gamma irradiation on the postharvest physiology of five banana varieties grown in India. **Journal of Food Science**, v. 36, p. 243 – 247, 1971.

THOMPSON, A. K.; LEE, G. R. Factors affecting the storage behaviour of papaya fruit. **J. Hort. Sci.**, v. 46, p. 511 – 516, 1971.

THRALL J. T.; ZIESSMAN H. A. Princípios Básicos. In: **Medicina Nuclear**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap. 1.

TICE, R. R., AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYAMAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J. C.; SASAKI, Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 35, p.206 - 221, 2000.

TREMOCOLDI, M. A.; MOREIRA, G. C.; VIEITES, R. L.; EVANGELISTA, R. M. Efeito da radiação gama na conservação de abacates 'Hass' armazenado sob refrigeração. In: II SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, HORTALIÇAS E FLORES, 2, Viçosa, 2007. **Resumos...** Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2007, p. 234.

URBAIN, W. M. Food irradiation: the past fifty years as prologue to tomorrow. **Food Technol.**, v. 43, n. 7, p. 76 – 92, 1989.

VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E. A. M.; CUNHA, D. F.; JUNQUEIRA-FRANCO, M. V. M.; BERNARDES, M. M.; JÚNIOR, A. A. J. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante. Simpósio: Nutrição Clínica. **Cap. III...** Medicina, Ribeirão Preto, 31: 31 - 44, jan./mar. 1998.

VENTURA, J. A. Controle de doenças em pós-colheita de frutos tropicais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, p. 273, 1995.

VENTURA, J. A.; COSTA, H. Manejo das doenças de fruteiras tropicais: abacaxi, banana e mamão. In: ZAMBOLIM, L. **Manejo Integrado: Fruteiras Tropicais – Doenças e Pragas**. Viçosa: UFV, 2002. p. 279 – 352.

VERRUMA-BERNADI, M. R.; SPOTO, M. H. F. Efeito da radiação gama sobre o perfil sensorial de suco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 28 - 32, jan./abr. 2003.

VIEGAS, P. R. A. **Características químicas e físicas do mamão (*Carica papaya* L.) cultivares 'Sunrise Solo' e 'Formosa' relacionados ao ponto de colheita**. 1992. 82 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1992.

WATADA, A. E.; HERMER, R. C.; KADER, A. A.; ROMANI, R. J.; STABY, G. L. Terminology for the description of developmental stages of horticultural crops. **HortScience**, v. 19, p. 20 – 21, 1984.

WEISBURGER, J. H.; REDDY, B. S.; ROSE, D. P.; COHEN, L. A.; KENDALL, M. E.; WYNDER, E. L. Protective mechanisms of dietary fibers in nutritional carcinogenesis. **Basic Life Sci.**, v. 61, p. 45 – 63, 1993.

WEN, H. W.; CHUNG, H. P.; CHOU, F. I.; LIN, I. H.; HSIEH, P. C. Effect of gamma irradiation on microbial decontamination, and chemical and sensory characteristic of lycium fruit. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 75, p. 596 – 603, 2006.

WILBERG, V. C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. **Lebensmittel - Wissenschaft und Technologie**, v. 28, p. 474 - 480, 1995.

WOOD, O. B.; MPH, R. D.; BRUHN, C. M. Position of the American Dietetic Association: Food irradiation. **Journal of the AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION**, v. 100, n. 2, p. 246-253, 2000.

WORCMAN-BARNINKA, D.; LANDGRAF, M. Irradiação de Carnes. **Bol. SBCTA**, Campinas, v. 37, n. 1, p. 22 – 27, jan./jun., 2003.

YANEZ, G. M.; ARTEGA, G. A.; MIRANDA, J. F.; PARDO, A.; SAMPERE, E.; CASTILLO, E.; SERRANO, G. Stability of vitamin C content in grapefruit treated with gamma irradiation. **Agroquim. Technol. Aliment.**, v. 30, p. 409 – 415, 1990.

YANG, S. F.; HOFFMAN, N. E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. **Annu. Rev. Plant Physiol.**, v. 35, p. 155 – 189, 1984.

YU, L.; REITMEIER, C. A.; GLEASON, M. L.; NONNECKE, G. R.; OLSON, D. G.; GLADSON, R.J. Quality of electron beam irradiated strawberries. **J. Food Sci.**, v. 60, p. 1084 – 1087, 1995.

YU, T. W., ANDERSON, D. Reactive oxygen species induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. **Mutation Research**, v. 379, n. 2, p. 201 - 210, 1997.

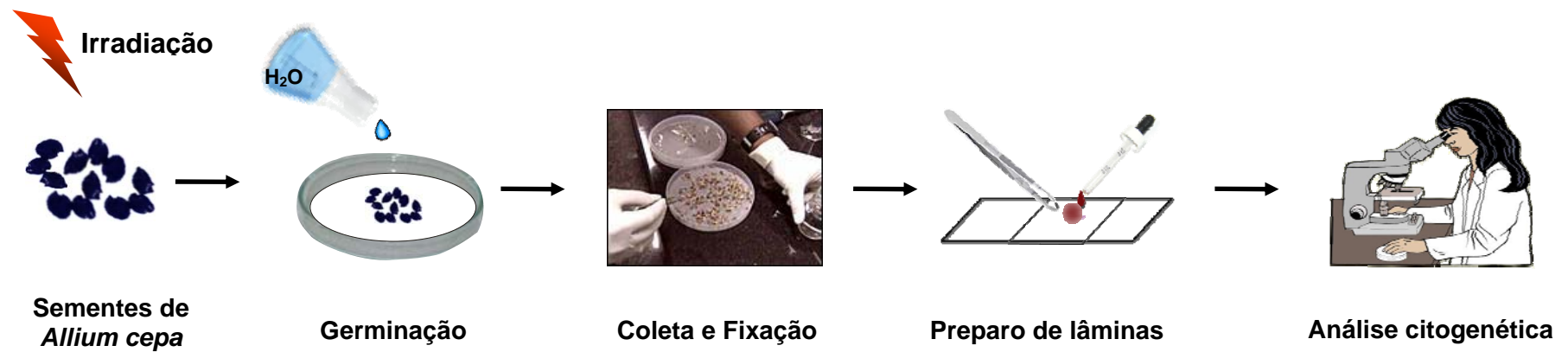
YU, Y. B.; JEONG, I. Y.; PARK, H. R.; OH, H.; JUNG, U.; JO, S. K. Toxicological safety and stability of the components of an irradiated Korean medicinal herb, *Paeoniae Radix*. **Radiat. Phy. Chem.**, v. 71, p. 115 – 119, 2004.

YUN-ZHONG, F.; SHENG, Y.; GUOYAO, W. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, v. 18, p. 872 – 879, 2002.

ZHAO, M.; MOY, J.; PAULL, R. E. Effect of gamma-irradiation on ripening papaya pectin. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 8, p. 209 – 222, 1996.

ANEXOS

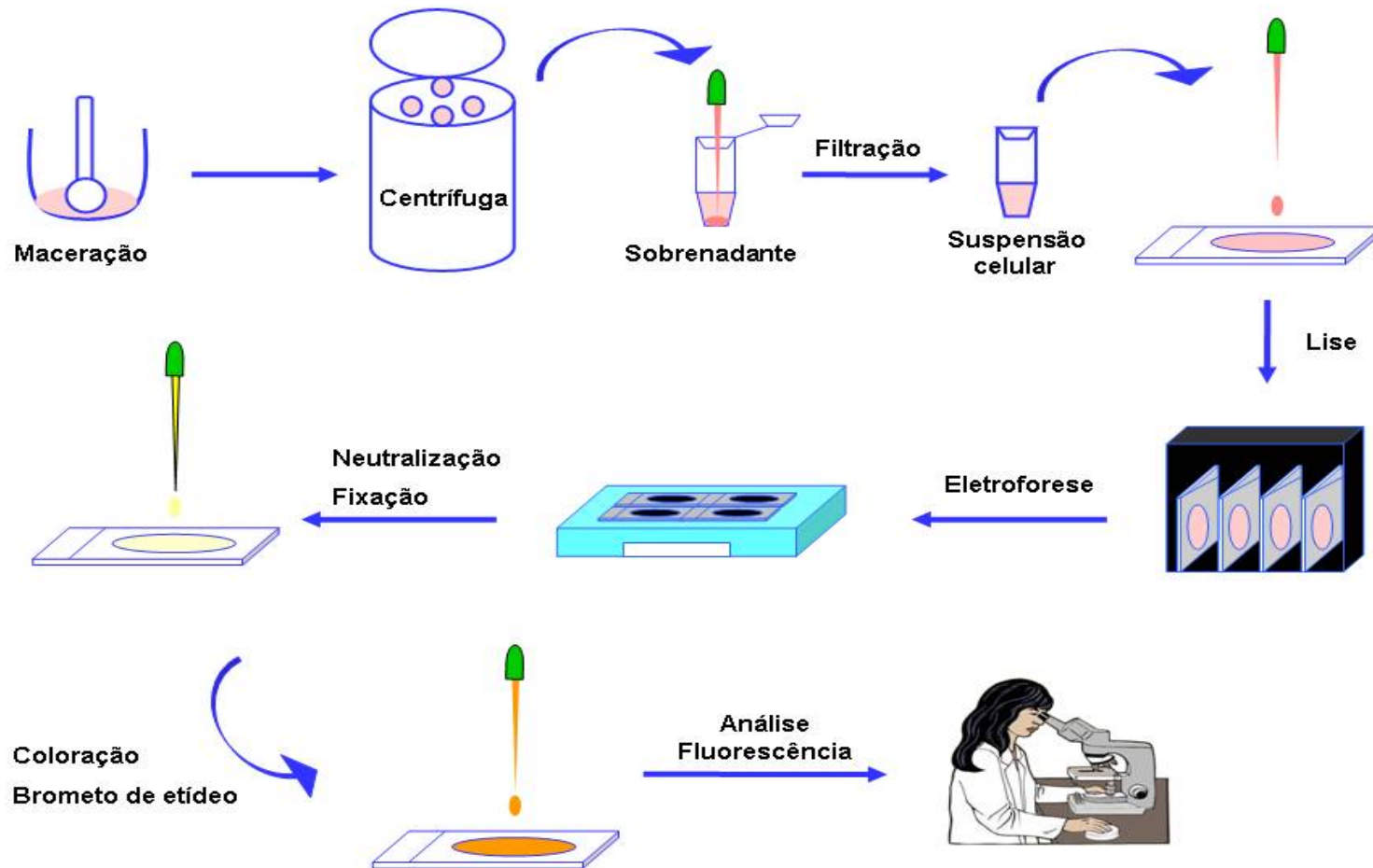
Anexo A – Esquema do Ensaio com sementes de *Allium Cepa* (SI).



Anexo B – Esquema do Ensaio com raízes de *Allium Cepa* (RI).



Anexo C – Esquema do Ensaio do Cometa realizado com a polpa de frutos do mamão controles (C) e irradiados (I).



Anexo D – Tabela da análise do Ensaio do Cometa em polpa de frutos do mamão controles (C) e irradiados (I).

Análise do Ensaio do Cometa em polpa de frutos de mamão dos grupos controle (C) e irradiado (I).

Amostras	Classe 0	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Total de nucleóides analisados	Escore
Controle (2º dpc)						
C2.1	97	3	0	0	100	3
C2.2	98	2	0	0	100	2
C2.3	97	3	0	0	100	3
TOTAL	292	8	0	0	300	X =2,67 ± 0,58
Irradiado (2º dpc)						
I2.1	97	3	0	0	100	3
I2.2	96	4	0	0	100	4
I2.3	97	2	1	0	100	4
TOTAL	290	9	1	0	300	X =3,67 ± 0,58
Controle (4º dpc)						
C4.1	98	2	0	0	100	2
C4.2	98	2	0	0	100	2
C4.3	96	4	0	0	100	4
TOTAL	292	8	0	0	300	X =2,67 ± 1,15
Irradiado (4º dpc)						
I4.1	95	4	1	0	100	6
I4.2	98	2	0	0	100	2
I4.3	96	4	0	0	100	4
TOTAL	289	10	1	0	300	X =4,00 ± 2,00
Controle (6º dpc)						
C6.1	93	6	1	0	100	8
C6.2	95	5	0	0	100	5
C6.3	96	4	0	0	100	4
TOTAL	284	15	1	0	300	X =5,67 ± 2,08
Irradiado (6º dpc)						

I6.1	94	5	1	0	100	7
I6.2	95	5	0	0	100	5
I6.3	98	2	0	0	100	2
TOTAL	287	12	1	0	300	X =4,67 ± 2,52

Controle (8º dpc)

C8.1	98	2	0	0	100	2
C8.2	OP	OP	OP	OP	OP	OP
C8.3	95	5	0	0	100	5
TOTAL	193	7	0	0	200	X =3,50 ± 2,12

Irradiado (8º dpc)

I8.1	98	2	0	0	100	2
I8.2	96	4	0	0	100	4
I8.3	OP	OP	OP	OP	OP	OP
TOTAL	194	6	0	0	200	X =3,00 ± 1,41

Controle (10º dpc)

C10.1	96	4	0	0	100	4
C10.2	96	3	1	0	100	5
C10.3	OP	OP	OP	OP	OP	OP
TOTAL	192	7	1	0	200	X =4,50 ± 0,71

Irradiado (10º dpc)

I10.1	95	5	0	0	100	5
I10.2	93	7	0	0	100	7
I10.2	98	2	0	0	100	2
TOTAL	286	14	0	0	300	X =4,67 ± 2,52

Controle (12º dpc)

C12.1	98	2	0	0	100	2
C12.2	95	4	1	0	100	6
C12.3	94	5	1	0	100	7
TOTAL	287	11	2	0	300	X =5,00 ± 2,65

Irradiado (12º dpc)

I12.1	96	3	1	0	100	5
I12.2	95	4	1	0	100	6

112.3	95	4	1	0	100	6
TOTAL	286	11	3	0	300	X =5,67 ± 0,58

* OP – observação perdida.