

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS**

Maryelle Cristina Souza Aguiar

**TEMPERATURA, UMIDADE RELATIVA E CONDIÇÕES DE  
ATMOSFERA CONTROLADA PARA O ARMAZENAMENTO DE  
PINHÕES (*Araucaria angustifolia*)**

**Santa Maria, RS**

**2018**

**Maryelle Cristina Souza Aguiar**

**TEMPERATURA, UMIDADE RELATIVA E CONDIÇÕES DE  
ATMOSFERA CONTROLADA PARA O ARMAZENAMENTO DE  
PINHÕES (*Araucaria angustifolia*)**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientador: Prof. Dr. Auri Brackmann

**Santa Maria, RS  
2018**

Aguiar, Maryelle Cristina Souza

Temperatura, umidade relativa e condições de atmosfera controlada para o armazenamento de pinhões (*Araucaria angustifolia*) / Maryelle Cristina Souza Aguiar.- 2018.  
124 p.; 30 cm

Orientador: Auri Brackmann

Coorientadores: Cláudia Kaehler Sautter, Luisa Helena Rychecki Hecktheuer

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2018

1. Pós-Colheita do Pinhão 2. Armazenamento Refrigerado  
3. Atmosfera Controlada I. Brackmann, Auri II. Sautter,  
Cláudia Kaehler III. Hecktheuer, Luisa Helena Rychecki  
IV. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

**Maryelle Cristina Souza Aguiar**

**TEMPERATURA, UMIDADE RELATIVA E CONDIÇÕES DE  
ATMOSFERA CONTROLADA PARA O ARMAZENAMENTO DE  
PINHÕES (*Araucaria angustifolia*)**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

**Aprovada em 28 de setembro de 2018:**

---

**Auri Brackmann, Dr. (UFSM)  
(Presidente/Orientador)**

---

**Luisa Helena Rychecki Hecktheuer,  
Dra. (UFSM)**

---

**Vanderlei Both,  
Dr. (UFSM)**

---

**Rogério de Oliveira Anese,  
Dr. (IFSC - SC)**

---

**Elizandra Pivotto Pavanello,  
Dra. (SEAPI – RS)**

Santa Maria, RS  
2018

A Deus onipotente;  
À minha mãe, Dilza;  
Às minhas avós, Branca e Elisa;  
Aos meus irmãos, Hígor e Gustavo;  
Ao meu amado, Vagner.

DEDICO.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pela oportunidade de realizar este estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa.

À Embrapa Florestas, pelo auxílio financeiro na pesquisa.

Ao orientador Prof. Dr. Auri Brackmann pela confiança, orientação, ensinamentos e disponibilidade durante a realização desta pesquisa.

À Pesquisadora Dra. Rossana Catie Bueno de Godoy, pelo auxílio e incentivo na realização desta pesquisa.

Aos professores Dra. Cláudia Kaehler Sautter, Dra. Luisa Helena Rychecki Hecktheuer, Dra. Marina Venturini Copetti, Dra. Neila Silvia Pereira dos Santos Richards, Dr. Vanderlei Both, e à Dra. Elizandra Pivotto Pavanello, pelos ensinamentos, disponibilidade e auxílio.

Aos colegas de pós-graduação e iniciação científica do Núcleo de Pesquisa em Pós-colheita e Laboratório de Micologia pela convivência e imprescindível ajuda na execução desta pesquisa.

## RESUMO

### TEMPERATURA, UMIDADE RELATIVA E CONDIÇÕES DE ATMOSFERA CONTROLADA PARA O ARMAZENAMENTO DE PINHÕES (*Araucaria angustifolia*)

AUTORA: Maryelle Cristina Souza Aguiar

ORIENTADOR: Auri Brackmann

O pinhão é um alimento nutritivo de importância cultural e socioeconômica na região sul do Brasil. Entretanto, são escassas as pesquisas que visam seu armazenamento na pós-colheita. A comercialização do pinhão ocorre em curto período de tempo em virtude do longo período de entressafra e da breve vida de prateleira, que decorre de fatores intrínsecos (fisiologia recalcitrante; elevada umidade e atividade de água) e extrínsecos (ataques biológicos, broca-do-pinhão e fungos; condições de armazenamento). O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da temperatura, umidade relativa e condições de atmosfera controlada sobre a conservação do pinhão *in natura* por um período prolongado de armazenamento. Foram realizados experimentos de armazenamento do pinhão *in natura* onde foram avaliadas: 1) as temperaturas 20,0 °C; 2,0 °C; 1,0 °C; 0,0 °C, -0,5 °C em 90 ±3 % UR, em 60 e 135 dias de armazenamento e 3 dias de vida de prateleira; 2) condições de umidade relativa 98; 90; e 80 % UR, a 2,0 ±0,2 °C, em 60 e 135 dias de armazenamento e 3 dias de vida de prateleira; 3) condições de AC nos níveis de pressões parciais de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (kPa O<sub>2</sub> + kPa CO<sub>2</sub>) de 20,91 + 0,04; 3,00 + 0,00; 20,91 + 3,00; 20,91 + 5,00 em 2,0 ±0,2 °C e 90 ±3 % UR, após 120 dias de armazenamento e 7 dias de vida de prateleira; 4) as temperaturas 0,5 °C e 2,5 °C em 96 ±2 % UR e 20,0 °C em 70 % UR, em 120 e 210 dias de armazenamento e 14 dias de vida de prateleira; 5) condições de AC, níveis de 1 + 3; 3 + 5; e 5 + 20 (kPa O<sub>2</sub> + kPa CO<sub>2</sub>) em 0,5 °C e 2,5 °C e 96 ± 2 % UR, após 120 e 210 dias de armazenamento e 14 dias de vida de prateleira. A qualidade do pinhão armazenado foi avaliada quanto: perda de massa; taxa respiratória; produção de etileno; cor da casca; firmeza da polpa; incidência de fungos, de podridão e danos pela broca-do-pinhão; atividade de água; percentual de infecção, e de fungos identificados. Pinhões armazenados em AC apresentaram menor atividade respiratória e perda de massa e, melhor conservação da qualidade, comparados àqueles em armazenamento refrigerado (AR), nas mesmas condições de temperatura e UR. É possível o armazenamento prolongado do pinhão *in natura* em AC, nas condições 1,0 kPa O<sub>2</sub> + 3,0 kPa CO<sub>2</sub>; 3,0 kPa O<sub>2</sub> + 5,0 kPa CO<sub>2</sub>; 5 kPa O<sub>2</sub> + 20,0 kPa CO<sub>2</sub> em 2,5 °C e 96 ±2 % UR, por cerca de sete meses, garantindo a oferta desse alimento na entressafra.

**Palavras-chave:** Pós-Colheita. Armazenamento Prolongado. Qualidade

## ABSTRACT

### TEMPERATURE, RELATIVE HUMIDITY AND CONTROLLED ATMOSPHERE CONDITIONS FOR STORAGE OF PINHÃO (*Araucaria angustifolia*)

AUTHOR: Maryelle Cristina Souza Aguiar  
ADVISOR: Auri Brackmann

Pinhão is a nutritious food of cultural and socioeconomic importance in the South Brazil. However, there are little researches that aims at post-harvest storage. The commercialization of pinhão occurs in a short period of time due to the long period of off-season and short shelf life, which is due to intrinsic factors (recalcitrant physiology, high humidity and water activity) and extrinsic factors (biological attacks, storage conditions). The objective of this study was to evaluate the effects of temperature, relative humidity and controlled atmosphere conditions on the conservation of the pinhão in natura for an extended period of storage. Experiments were carried out with storage of the Pinhão in natura, as follow: 1) temperatures were 20.0 °C; 2.0 °C; 1.0 °C; 0.0 °C, -0.5 °C in 90 ±3% RH, in 60 and 135 days of storage and 3 days of shelf life; 2) relative humidity conditions 98; 90; and 80% RH, at 2.0 ± 0.2 °C, at 60 and 135 days storage and 3 days shelf life; 3) CA conditions at partial pressure levels of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> (kPa O<sub>2</sub> + kPa CO<sub>2</sub>) of 20.91 + 0.04; 3.00 + 0.00; 20.91 + 3.00; 20.91 + 5.00 at 2.0 ±0.2 ° C and 90 ±3% RH, after 120 days of storage and 7 days shelf life; 4) temperatures of 0.5°C and 2.5°C in 96 ±2% RH and 20.0 °C in 70% RH, in 120 and 210 days of storage and 14 days of shelf life; 5) CA conditions, levels of 1 + 3; 3 + 5; and 5 + 20 (kPa O<sub>2</sub> + kPa C O<sub>2</sub>) at 0.5 °C and 2.5 °C and 96 ±2% RH, after 120 and 210 days storage and 14 days shelf life. The quality of the stored pinhão was evaluated as: mass loss; respiration rate; ethylene production; shell color; pulp firmness; incidence of fungi, rot and damage by pinhão borer; water activity; percentage of infection, and fungi identified. Pinhão stored in CA presented lower respiratory activity and mass loss, and better conservation of quality, compared to those in refrigerated storage under the same conditions of temperature and RH. Extended storage of the pinhão in natura in CA is possible, under the conditions 1,0 kPa O<sub>2</sub> + 3,0 kPa CO<sub>2</sub>; 3.0 kPa O<sub>2</sub> + 5.0 kPa CO<sub>2</sub>; 5 kPa O<sub>2</sub> + 20.0 kPa CO<sub>2</sub> at 2.5 °C and 96 ±2% RH, for about seven months, guaranteeing the supply of this food in the off season.

**Keywords:** Postharvest. Prolonged Storage. Quality

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Floresta Ombrófila Mista (FOM). Registro de FOM em Santa Catarina.. 21
- Figura 2 – Fenologia reprodutiva da *Araucaria angustifolia*: 1A) planta masculina com estróbilos, androstróbilos, maduros dispersando pólen; 1B) detalhe mostrando os androstróbilos em fase de amadurecimento e dispersão do pólen; 2 fenologia, evolução e crescimento da pinha 2A) folhas terminais do ginostrobilo começam a abrir; 2B) ginostrobilo durante a polinização; 2C) crescimento da pinha após polinização. ....24
- Figura 3 – Pinhas de diferentes tamanhos (A) estruturas de uma pinha (pinhão, chochos e falhas) (B). ..... 26
- Figura 4 – Amêndoa do pinhão: (A) endosperma (m) e embrião maduro (e); (B) endosperma (m) e embrião germinado (e), fase em que a radícula rompe o revestimento para iniciar o do crescimento das plântulas. Para melhor visualização, os revestimentos da semente foram removidos e realizado corte longitudinal nas amêndoas. .... 27
- Figura 5 – Broca-do-pinhão, *Cydia araucariae*.(A) Detalhe das sementes na pinha; (B) semente com orifício de saída da lagarta; (C) interior de semente atacada pela lagarta; (D) pupa da broca sobre a semente; (E) Adulto de *Cydia araucariae*. ..... 35
- Figura 6 – Incidência de fungos em pinhão, identificada visualmente na casca do pinhão (A); e cobrindo toda amêndoa, pinhão descascado (B). ..... 37

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

Tabela 1 – Taxa respiratória, perda de massa e firmeza de pinhões, armazenados sob diferentes temperaturas e elevada UR ( $90 \pm 3$  %) por 60 dias (saída da minicâmara) e mais 3 dias de vida de prateleira a  $20^\circ\text{C}$ . ..... 62

Tabela 2 – Valores das coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  da casca de pinhão (cru), armazenado sob diferentes temperaturas e elevada UR ( $90 \pm 3$  %) por 60 dias (saída da minicâmara) e mais 3 dias de vida de prateleira a  $20^\circ\text{C}$ . ..... 63

Tabela 3 – Taxa respiratória, perda de massa e firmeza de pinhões, armazenados em diferentes condições de umidade relativa (% UR) em  $2,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$  por 60 dias, na saída da câmara e mais 3 dias de vida de prateleira a  $20^\circ\text{C}$ . ..... 64

Tabela 4 – Valores das coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  da casca de pinhão (cru), armazenado em diferentes condições de umidade relativa (%UR) em  $2,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$  por 60 dias, na saída da minicâmara e mais 3 dias de vida de prateleira a  $20^\circ\text{C}$ . ..... 64

Tabela 5 – Valores da taxa respiratória, perda de massa, firmeza e incidência de fungos em pinhões, armazenados sob diferentes temperaturas e elevada UR ( $90 \pm 3$  %) por 135 dias, na saída da minicâmara e mais 3 dias de vida de prateleira a  $20^\circ\text{C}$ . ..... 65

Tabela 6 – Valores das coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  da casca de pinhão (cru), armazenado sob diferentes temperaturas e elevada UR ( $90 \pm 3$  %) por 135 dias, na saída da minicâmara e mais 3 dias de vida de prateleira a  $20^\circ\text{C}$ . ..... 66

Tabela 7 – Taxa respiratória, perda de massa, firmeza e incidência de fungos em pinhões, armazenados em diferentes condições de umidade relativa (% UR) em  $2,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$  por 135 dias, na saída da minicâmara e mais 3 dias de vida de prateleira a  $20^\circ\text{C}$ . ..... 67

Tabela 8 – Valores das coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  da casca de pinhão (cru), armazenado em diferentes condições de umidade relativa (% UR) em  $2,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$  por 135 dias, na saída da minicâmara e mais 3 dias de vida de prateleira a  $20^\circ\text{C}$ . ..... 67

Tabela 9 – Taxa respiratória, perda de massa e firmeza de pinhões, armazenados em diferentes condições de atmosfera controlada (AC) na temperatura de  $2,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$  e UR de  $90 \pm 3$  % por 120 dias, na saída da minicâmara e mais 7 dias de vida de prateleira a  $20^\circ\text{C}$ . ..... 68

Tabela 10 – Valores das coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  da casca de pinhão (cru), armazenados em diferentes condições de atmosfera controlada (AC) na temperatura de  $2,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$  e UR de  $90 \pm 3$  % por 120 dias, na saída da minicâmara e mais 7 dias de vida de prateleira a  $20^\circ\text{C}$ . ..... 69

## ARTIGO 2

- Tabela 1 – Taxa respiratória ( $\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), perda de massa (%) e firmeza (N) em pinhão armazenado sob três diferentes temperaturas e diferentes níveis de UR, em dois períodos de armazenamento (saída da minicâmara) e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C. .... 94
- Tabela 2 - Incidência de danos causados pela broca-do-pinhão (%) e de podridão (%) em pinhão armazenado sob três diferentes temperaturas e diferentes níveis de UR, em dois períodos de armazenamento (saída da minicâmara) e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C. .... 95
- Tabela 3 - Luminosidade ( $L^*$ ), coordenadas  $a^*$  e  $b^*$  da cor da casca do pinhão armazenado sob diferentes UR, três temperaturas variadas, dois períodos de armazenamento (saída da minicâmara) e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C. .... 95
- Tabela 4 – Valores de atividade de água ( $A_w$ ), percentual de infecções e percentual dos fungos identificados na casca e na amêndoa do pinhão *in natura* no pré-armazenamento ..... 96
- Tabela 5 – Valores de atividade de água ( $A_w$ ), percentual de infecções e percentual dos fungos identificados na casca e na amêndoa do pinhão, após 210 dias de armazenamento em três diferentes condições de armazenamento refrigerado (AR). .... 96
- Tabela 6 – Taxa de respiração ( $\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em  $96 \pm 2$  % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C. .... 97
- Tabela 7 – Perda de massa (%) de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em  $96 \pm 2$  % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C. .... 97
- Tabela 8 – Firmeza\*\* (N) de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em  $96 \pm 2$  % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C. .... 98
- Tabela 9 – Incidência de brocas (%) em pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em  $96 \pm 2$  % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C. .... 98
- Tabela 10 – Incidência de podridão (%) em pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em  $96 \pm 2$  % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C. .... 99

- Tabela 11 – Luminosidade ( $L^*$ ) da casca de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em  $96 \pm 2$  % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a  $20\text{ }^\circ\text{C}$ . ..... 99
- Tabela 12 – Coordenada  $a^*$  da cor da casca de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em  $96 \pm 2$  % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a  $20\text{ }^\circ\text{C}$ . ..... 100
- Tabela 13 – Coordenada  $b^*$  da cor da casca de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em  $96 \pm 2$  % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a  $20\text{ }^\circ\text{C}$ .....100
- Tabela 14 – Valores de atividade de água (Aa), percentual de infecções e percentual dos fungos identificados na casca e na amêndoa do pinhão, após 210 dias de armazenamento em três diferentes condições de atmosfera controlada, e em  $0,5\text{ }^\circ\text{C}$  e  $96,0 \pm 2$  % UR. .... 101
- Tabela 15 – Valores de atividade de água (Aa), percentual de infecções e percentual dos fungos identificados na casca e na amêndoa do pinhão, após 210 dias de armazenamento em três diferentes condições de atmosfera controlada, e em  $2,5\text{ }^\circ\text{C}$  e  $96,0 \pm 2$  % UR. .... 101

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aa	Atividade de Água
AC	Atmosfera Controlada
AM	Atmosfera Modificada
ANOVA	Análise de Variância
AR	Armazenamento Refrigerado
CA	Controlled atmosphere
CaCl <sub>2</sub>	Cloreto de Cálcio
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEAGESP	Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo
CEASA	Centrais de Abastecimento
cm	Centímetro
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono ou Gás Carbônico
CREA	Creatine Sucrose Agar (Ágar Creatina Sacarose)
CYA	Czapek yeast extract agar (Ágar Extrato de Levedura Czapek)
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	Etileno
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DRBC	Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol)
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FID	Flame Ionization Detector (Detector por Ionização de Chama)
FOM	Floresta Ombrófila Mista
°C	Temperatura em Graus Celsius
h	Hora
ICMS	Imposto sobre Circulação de Mercadorias e Prestação de Serviços
IUCN	International Union for Conservation of Nature and Natural Resources
Kg	Quilograma
km	Quilômetro
kPa	Kilopascal
L	Litro
m	Metro
MEA	Malt Extract Agar (Ágar Extrato de Malte)
mL	Mililitro
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
N	Newton ou Normal
NaClO	Hipoclorito de Sódio
N <sub>2</sub>	Nitrogênio
NPP	Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita
O <sub>2</sub>	Oxigênio
PAA	Programa de Aquisição de Alimentos
PEBD	Polietileno de Baixa Densidade
PR	Paraná
PSA	Pagamento por Serviços Ambientais
PSA	Pressure Swing Adsorption
RH	Relative Humidity

RS	Rio Grande do Sul
SC	Santa Catarina
t	Tonelada
TNT	Tecido não tecido
UC	Unidades de Conservação
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria
UR	Umidade Relativa

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>14</b>
1.1 HIPÓTESES.....	18
1.2 OBJETIVO GERAL .....	19
<b>1.2.1 Objetivos específicos.....</b>	<b>19</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>20</b>
2.1 PINHÃO, SEMENTE DA <i>Araucaria angustifolia</i> .....	20
<b>2.1.1 Botânica e biologia reprodutiva da <i>Araucaria angustifolia</i> .....</b>	<b>23</b>
<b>2.1.2 O pinhão.....</b>	<b>27</b>
<b>2.1.3 Importância cultural e econômica do pinhão .....</b>	<b>27</b>
<b>2.1.4 Potencial do pinhão para a indústria.....</b>	<b>30</b>
2.2 PÓS-COLHEITA.....	31
<b>2.2.1 A pós-colheita do pinhão.....</b>	<b>32</b>
<b>2.2.2 A broca-do-pinhão.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2.3 Fungos em pinhão.....</b>	<b>36</b>
<b>2.2.4 Armazenamento refrigerado (AR) .....</b>	<b>39</b>
<b>2.2.5 Atmosfera controlada (AC).....</b>	<b>40</b>
<b>3 ARTIGO 1 .....</b>	<b>43</b>
3.1 EFEITO DA TEMPERATURA, UMIDADE RELATIVA E ATMOSFERA CONTROLADA NO ARMAZENAMENTO DO PINHÃO (SEMENTE DA <i>Araucaria angustifolia</i> ) .....	43
<b>4 ARTIGO 2.....</b>	<b>70</b>
4.1 QUALIDADE DO PINHÃO (SEMENTE DA <i>Araucaria angustifolia</i> ) IN NATURA ARMAZENADO EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E ATMOSFERA CONTROLADA .....	70
<b>5 DISCUSSÃO GERAL .....</b>	<b>102</b>
<b>6 CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>109</b>
<b>7 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>110</b>

## 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O pinhão é considerado a semente da *Araucaria angustifolia* (CARVALHO, 2002; GARCIA et al., 2014), uma conífera nativa do Brasil que encontra-se ameaçada de extinção (BRASIL 2008; BRASIL 2014; FAO, 1986; IBAMA, 1992), em razão da exploração madeireira não sustentável no século XX. Desde o ano 2001 há incentivos políticos e fiscais para a preservação da espécie (ZANETTE et al., 2017), destacando-se como estratégia de preservação o plantio para a produção do pinhão, devido a geração de renda do pinhão ser superior à renda da atividade madeireira (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012).

O pinhão possui importância cultural e econômica na região sul do Brasil (BRASIL, 2011; DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012), embora ainda seja explorado de forma depredatória, coletados sem garantir a manutenção de suas populações (PALUDO et al., 2016), e apresente cadeia produtiva informal (SANTOS et al., 2002) e precária, metodológica e tecnologicamente. Sua polpa interna, a amêndoa, é comestível, apresenta excelente qualidade organoléptica e grande aceitação no mercado regional. É um alimento fonte de amido, fibra dietética, magnésio e cobre, e é considerado de baixo índice glicêmico (CORDENUNSI et al., 2004). Comumente o pinhão é preparado na forma assada ou cozida em água (SANTOS et al., 2002), descascado e consumido. Na culinária usa-se a farinha do pinhão (CORDENUNSI et al., 2004) e o pinhão como ingrediente de vários pratos.

Paralelo aos incentivos de produção do pinhão para preservação da espécie há um constante crescimento no número de estudos sobre o pinhão. As publicações científicas abordam sua composição química (CAPELLA; PENTEADO; BALBI, 2009; CORDENUNSI et al., 2004; Da SILVA et al., 2016; GAMA et al., 2010) e propriedade funcional, o amido resistente (STHAL et al., 2007; ZÓRTEA-GUIDOLIN et al., 2017a). Estudos apontam o potencial de industrialização do pinhão, o seu amido, na tecnologia de alimentos (BELLO-PEREZ et al., 2006; DAUDT et al., 2016; GONÇALVES et al., 2014; PINTO et al., 2012; PINTO et al., 2015; SPADA et al., 2013; THYS et al., 2010; THYS et al., 2013; ZÓRTEA-GUIDOLIN et al., 2017a) e indústria farmacêutica (DAUDT et al., 2014; DAUDT et al., 2015), o pinhão como matéria prima de potenciais alimentos industrializados (ACORSI et al., 2009; BOLZAN; PEREIRA, 2017; IKEDA et al., 2018; ZÓRTEA-GUIDOLIN et al., 2017b) e ainda, o aproveitamento da casca do pinhão a nível industrial (Da SILVA et al., 2014;

FREITAS et al., 2018; LIMA et al., 2007; SANTOS et al., 2018). Estes estudos demonstram a capacidade de ampliação comercial do pinhão. Entretanto, Santos et al. (2002) ressaltam que o incentivo à produção, comercialização e industrialização requer definições de métodos para conservação pós-colheita do pinhão *in natura*.

De fato, mesmo ampliando o plantio e a produção de sementes, hoje o potencial do pinhão para atingir, de maneira incisiva, os demais estados brasileiros e o mercado externo, bem como ser matéria-prima para indústria, é inibido pela deficiência metodológica e tecnológica em sua conservação pós-colheita. Há um número incipiente de estudos sobre o armazenamento do pinhão *in natura* na entressafra, com foco no pinhão como alimento e matéria prima para indústria, bem como abordando as alterações físico-químicas, incidências de fungos e danos causados pela broca-do-pinhão, resultantes do armazenamento na entressafra.

A comercialização do pinhão é restrita ao período da safra, quando as pinhas estão maduras e liberam as sementes. A maturação ocorre entre o período de fevereiro a setembro (ANSELMINI; ZANETTE, 2008a), com maior produção entre abril e agosto (CARVALHO, 2002). Para conciliar a geração de renda e a conservação da espécie, as atividades de coleta, transporte, armazenamento e comércio do pinhão são permitidas a partir de 01 de abril nos estados Paraná e Santa Catarina (PARANÁ, 2015; SANTA CATARINA, 2011) e a partir de 15 de abril nos demais estados (BRASIL, 1976).

O período de comercialização do pinhão é curto devido ao longo período de entressafra, que impede a oferta do pinhão durante todo o ano (SANTOS et al., 2002), e da breve vida de prateleira. Existem três fatores que influenciam diretamente em sua vida de prateleira. O primeiro fator é sua classificação fisiológica como semente recalcitrante; o pinhão apresenta rápida perda de umidade (BALBUENA et al., 2011; FARRANT; PAMMENTER; BERJAK, 1989; FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998), reduzindo o tempo da vida de prateleira, pois a perda de umidade resulta em condições indesejáveis na aparência, textura e sabor. O segundo fator é a ocorrência da broca-do-pinhão (*Cydia araucariae*). As lagartas eclodem no eixo central durante a formação da pinha (PEDROSA-MACEDO, 1993). Elas alimentam-se da amêndoa do pinhão, o endosperma, causam alterações na cor e sabor, e provocam apodrecimento, cujo prejuízo pode chegar ao índice de até 64,0 % de redução da produção de sementes viáveis (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011). O terceiro fator é a elevada contaminação por fungos no armazenamento

(HENNIPMAN, et al., 2017) devido o pinhão apresentar alta umidade, maior de 80,0 % na base seca, e elevada atividade de água (Aa), 0,98 (CLADERA-OLIVEIRA et al., 2005). Soma-se a esses fatores a ausência de uma definição das condições de armazenamento do pinhão *in natura*, que permitam a manutenção da qualidade desse alimento e maximize sua vida de prateleira por toda a entressafra.

A preferência dos consumidores é por produtos frescos e disponíveis durante todo o ano (TADINI, 2018), em contrapartida, os produtores almejam competitividade de mercado e estender a comercialização em tempo e distância. As metodologias e tecnologias de armazenamento pós-colheita visam atender essas demandas de forma viável economicamente, prezando pela segurança alimentar e melhor aceitabilidade dos consumidores.

Um dos métodos mais efetivos e práticos para prolongar a vida útil de vegetais *in natura* é o armazenamento refrigerado (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A refrigeração atua sobre os vegetais, reduzindo seu metabolismo, atividade respiratória, (EKMAN; GOLDING; McGLASSON, 2005), taxas de reações químicas e enzimáticas, além de prevenir a deterioração microbiana (TADINI, 2018). Usualmente há a combinação da redução da temperatura com o controle da umidade relativa (UR) do ar nas câmaras frigoríficas, segundo a autora Tadini (2018), tal associação é absolutamente necessária para a manutenção da qualidade da maioria dos produtos vegetais.

As recomendações da temperatura e período de armazenamento do pinhão, objetivando a viabilidade fisiológica, germinação, são 5,0 °C por até 12 meses (FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998; HENNIPMAN et al., 2017), 10,0 °C por 3 meses e 20,0 °C por um mês (AMARANTE et al., 2007), todas associadas a  $\pm 90,0$  % UR. Embora a germinação do pinhão seja indesejada no comércio alimentício, a literatura atual demonstra que quanto maior a temperatura de armazenamento menor a vida de prateleira do pinhão. A perda da viabilidade fisiológica e ou menor vida de prateleira deve-se ao fato de o manejo da temperatura ser o principal fator na manutenção da qualidade pós-colheita de vegetais *in natura* (EKMAN; GOLDING; McGLASSON, 2005). Os pesquisadores Amarante et al. (2007) observaram um incremento maior de duas vezes na taxa respiratória do pinhão com aumento de 10,0 °C na temperatura de armazenamento. Os mesmos autores observaram melhores resultados, supressão da germinação e manutenção da atividade respiratória, quando armazenado o pinhão a 2,0 °C e 90,0  $\pm 2,0$  % UR por 3 meses.

Concluíram em seu trabalho que o armazenamento do pinhão *in natura*, para uso alimentício, deve ser imediatamente após a coleta e em temperatura próxima de 0,0 °C e elevada UR.

Para os produtos vegetais, que mesmo armazenados sob atmosfera refrigerada (AR) ainda apresentam elevada taxa respiratória, o armazenamento em atmosfera controlada (AC) tem sido usado como método adicional à baixa temperatura e elevada UR (BRACKMANN et al., 2009; WEBER et al., 2013; TADINI, 2018). A redução do metabolismo vegetal, taxa respiratória, na câmara de armazenamento em AC pode ser obtida com elevação do nível de pressão parcial (kPa) de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) (KUBO; INABA; NAKAMURA, 1990) e ou redução do nível de oxigênio (O<sub>2</sub>) (BOERSING; KADER; ROMANI, 1988), partindo da premissa de reduzir o nível de O<sub>2</sub> com inserção de gás nitrogênio (N<sub>2</sub>) (TADINI, 2018). Visando definir condições de AC ideais para diversos produtos vegetais, pesquisadores estudam progressivamente o efeito da AC nas respostas fisiológicas dos vegetais (BOTH et al., 2014; KADER, 1986; KUBO; INABA; NAKAMURA, 1990; MATHOOKO, 1996; SMOCK, 1979). Estas respostas variam entre produtos vegetais, cultivares, tipos de órgão, estágios de maturação (BEAUDRY, 1999), temperaturas, umidades relativas, concentrações de etileno e o tempo de armazenamento (KADER, 2003). Condições de AC também são estudadas para controle de ataques biológicos, fungos e insetos, em diversos vegetais *in natura*. O crescimento de fungos pode ser inibido em níveis superiores a 10 kPa CO<sub>2</sub> e em cerca de 1 kPa O<sub>2</sub> (EL-GOORANI; SOMMER, 1981), o baixo O<sub>2</sub> (< 1 kPa) também tem favorecido o controle de insetos, para o tratamento quarentenário (BOERSING; KADER; ROMANI, 1988).

Pesquisadores estudaram o pinhão, sua germinação e vigor, armazenados sob refrigeração e elevada UR, associadas a diferentes condições de atmosfera modificada (AM) (CAÇOLA et al., 2006; CARRILO et al., 2003; FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998; HENNIPMAN et al., 2017) e AC (CAÇOLA et al., 2006). Entretanto não foi encontrada literatura que avalie a AC no armazenamento do pinhão *in natura*, objetivando maximizar a vida de prateleira, para comercialização como alimento e matéria prima para indústria. Considerando que cada produto vegetal e suas cultivares apresentam um metabolismo diferenciado, o que repercute no armazenamento, é de extrema importância estabelecer as condições de temperatura, umidade relativa e AC que melhor conservam a

qualidade do pinhão *in natura* e, reduzam a ocorrência de fungos e de danos causados pela broca-do-pinhão.

A atual produção de pinhão é comercializada como alimento, a maioria no mercado *in natura*, logo, a manutenção da sua qualidade na entressafra é de vital importância para expandir sua comercialização, favorecer uma melhor cotação no mercado consumidor, resultando em remuneração mais satisfatória ao produtor. Sabendo-se da importância cultural e socioeconômica do pinhão, do seu potencial para industrialização e sua produção ser uma ferramenta para o incentivo ao cultivo e preservação da *Araucaria angustifolia*, é fundamental que pesquisas em pós-colheita definam metodologias e tecnologias para seu armazenamento durante a entressafra. Nesse sentido essa pesquisa busca esclarecer o efeito da temperatura, umidade relativa e condições de atmosfera controlada na conservação da qualidade do pinhão *in natura*.

## 1.1 HIPÓTESES

A baixa temperatura reduz a atividade respiratória do pinhão durante o armazenamento.

A umidade relativa elevada reduz a perda de massa do pinhão.

Em atmosfera controlada, associada à baixa temperatura e elevada umidade relativa, a taxa respiratória do pinhão é menor durante o armazenamento.

Em atmosfera controlada, associada à baixa temperatura e elevada umidade relativa, a perda de massa do pinhão é menor durante o armazenamento prolongado.

A atmosfera controlada, associada à baixa temperatura, permite aumentar a umidade relativa no armazenamento prolongado do pinhão.

A atmosfera controlada reduz os danos causados pela broca-do-pinhão, por interromper seu ciclo, durante o armazenamento prolongado do pinhão.

A atmosfera controlada, sobretudo em menor pressão parcial de O<sub>2</sub> e maior de CO<sub>2</sub>, reduz o percentual de infecção por fungos em pinhões no armazenamento prolongado.

A atmosfera controlada permite manter a qualidade do pinhão durante o armazenamento prolongado.

## 1.2 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da temperatura, umidade relativa e condições de atmosfera controlada sobre a conservação do pinhão *in natura* por um período prolongado de armazenamento.

### 1.2.1 Objetivos específicos

Identificar a melhor temperatura para o armazenamento;

Identificar a melhor umidade relativa na câmara de armazenamento refrigerado;

Definir a melhor condição de atmosfera controlada associada à refrigeração e elevada umidade relativa;

Avaliar o efeito das condições de armazenamento sobre o controle da broca-do-pinhão (*Cydia araucariae*) e redução da incidência de fungos;

Identificar os fungos na colheita e após o armazenamento em diferentes condições;

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 PINHÃO, SEMENTE DA *Araucaria angustifolia*

A *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze é uma conífera nativa do Brasil e popularmente chamada de pinheiro-brasileiro, pinheiro-do-paraná e araucária, (BALBUENA et al., 2011; BRASIL, 2011; CARVALHO, 2002; LORENZI, 2014, ZANETTE et al., 2017). Ocorre naturalmente pelos estados da região sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul e, em manchas esparsas da região sudeste, nos locais de altitude acima de 900 m, nos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Ocorre ainda em países vizinhos, no extremo nordeste da Argentina e leste do Paraguai (CARVALHO, 2002; FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998; LORENZI, 2014). O diásporo do pinheiro-brasileiro é considerado sua semente com invólucros e nomeada pinhão (CARVALHO, 2002; GARCIA et al., 2014). Tem origem nas folhas modificadas reunidas no estróbilo feminino, chamada pinha (CARVALHO, 2002). A amêndoa do pinhão, polpa interna, é comestível (BELLO-PÉREZ et al., 2006) e apreciada pelos povos nativos desde antes da colonização (CORDENUNSI et al., 2004). É um alimento de importância cultural, social e econômica, na região sul (BRASIL, 2011), a sua produção é vista como uma ferramenta para a preservação dessa espécie (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012).

A *Araucaria angustifolia* é o componente que marca a fitofisionomia da Floresta Ombrófila Mista (FOM) (Figura 1) (VIEIRA-DA-SILVA; REIS, 2009), uma formação florestal do Bioma Mata Atlântica (BRASIL, 2006a). A FOM cobria 182.295 km<sup>2</sup> nos planaltos brasileiros até início do século XX (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012) e representava cerca de 35 % da cobertura vegetal dos estados da região sul (PUCHALSKI; MANTOVANI; REIS, 2006). Devido à alta qualidade da madeira para construções e do alto teor de celulose para fabricação de papel, o pinheiro-brasileiro foi durante várias décadas um dos produtos mais importantes na exportação brasileira (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012).

Tal exploração ocorreu de forma desordenada e sem medidas eficientes de controle (PUCHALSKI; MANTOVANI; REIS, 2006), fator que contribuiu para que suas florestas primárias fossem dizimadas e, em consequência, seu nome ser incluído na lista de espécies que necessitam de atenção (FAO, 1986). Na Lista

Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) sua classificação migrou de espécie em alto risco de extinção (1998) para risco extremamente alto de extinção (2006) (THOMAS, 2013). A presença da *Araucaria angustifolia* nas publicações de Lista Oficial da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (BRASIL 2008; BRASIL 2014; IBAMA, 1992), torna essa espécie protegida por lei (CONAMA, 2001), pois dos 182.295 km<sup>2</sup> originais, atualmente existem 8.858,58 km<sup>2</sup>, ou seja, 4,4 %. Esses encontram-se protegidos em 72 Unidades de Conservação (UC) federais e estaduais de domínio público localizadas na área de ocorrência da FOM no Brasil (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012).

Figura 1 – Floresta Ombrófila Mista (FOM). Registro de FOM em Santa Catarina.



Fonte: (BRASIL, 2011)

O governo brasileiro vem promovendo várias iniciativas para preservação do pinheiro-brasileiro, como por exemplo a proteção de recursos genéticos com criação de Banco de Germoplasma (BRASIL, 1998), o impedindo da exploração madeireira com a proibição de corte, regulamentada pela Resolução nº 278, de 24 de maio de 2001 (CONAMA, 2001) e o extrativismo sustentável do pinhão previsto no Plano Nacional de Promoção das Cadeias de Produtos da Sociobiodiversidade (BRASIL,

2009). Há ainda incentivos fiscais, como o pagamento por serviços ambientais (PSA), por meio do ICMS (Imposto sobre Circulação de Mercadorias e Prestação de Serviços) ecológico. As leis estaduais de ICMS ecológico garantem que parte do ICMS arrecado seja repassado aos municípios e produtores com área florestal protegida (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012).

Embora os incentivos políticos e fiscais de preservação da FOM sejam recentes, são importantes e precisam ser ampliados. A recuperação, manutenção e conservação da FOM requerem um redirecionamento das políticas públicas relacionadas ao setor florestal, visando à eficiência do manejo florestal sustentável (ROSOT, 2007) e os estudos sobre o pinheiro-brasileiro devem primar pela preservação e implementação da FOM como uma verdadeira alternativa econômica para os moradores locais (PERALTA et al., 2016). O pinheiro-brasileiro destaca-se entre as espécies da flora nativa consideradas de valor econômico, atual e potencial. No grupo das alimentícias, o pinhão é um alimento de grande aceitação e pode garantir a renda do produtor por longo prazo (BRASIL, 2011). O cultivo do pinheiro-brasileiro para produção de pinhões é uma estratégia de geração de renda e consequente conservação da espécie (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012; VIEIRA-DA-SILVA; REIS, 2009; ZANETTE; OLIVEIRA; BIASI, 2011; ZANETTE et al. 2017).

Nas últimas décadas, estudos evoluíram as técnicas de enxertia na propagação vegetativa do pinheiro-brasileiro. Esses estudos visam a conservação e o melhoramento genético para produção sustentável da madeira e criação de pomares de pinhões (KAGEYAMA; FERREIRA, 1975; ANSELMINI; ZANETTE, 2008b; WENDLING; BRONDANI, 2015; GASPARI et al., 2017; WENDLING et al., 2017), incluindo árvores com potencial de produção precoce de pinhão (WENDLING; STUEPP; ZUFFELLATO-RIBAS, 2016; ZANETTE; OLIVEIRA; BIASI et al., 2011). Todos os avanços conseguidos no campo da tecnologia de propagação e cultivo devem ser acompanhados de avanços no uso dos produtos do pinheiro-brasileiro (BRASIL, 2011). A indisponibilidade de técnicas para conservação e industrialização do pinhão são obstáculos para a sua comercialização, em maior volume, em outras regiões e países, e na entressafra (SANTOS et al., 2002).

### 2.1.1 Botânica e biologia reprodutiva da *Araucaria angustifolia*

O pinheiro-brasileiro é a gimnosperma nativa de maior importância econômica e biológica do Brasil (ANSELMINI; ZANETTE; BONA, 2006). É uma planta dióica, com árvores masculinas e femininas distintas (ANSELMINI; ZANETTE; BONA, 2006; LORENZI, 2014), embora haja ocorrências raras de plantas monóicas (CARVALHO, 2002; ZANETTE et al., 2017). Trata-se de uma conífera de vida longa, podendo viver de 200 a 300 anos, perenifólia, com altura entre 20 e 25m e 1 a 1,5 m de diâmetro, tronco reto e cilíndrico, cuja primeira floração ocorre entre 12 a 15 anos, sendo os estróbilos produzidos na extremidade dos ramos (ZANETTE et al., 2017). As plantas adultas, de ambos os sexos, produzem novos estróbilos anualmente nas extremidades dos ramos vegetativos, cuja visualização nas etapas iniciais de desenvolvimento é dificultada pela semelhança dos estróbilos com os ramos (ANSELMINI; ZANETTE; BONA, 2006).

Os estróbilos diferenciam em feminino, ginostrobilos, e masculino, androstróbilo. O ginostrobilo, conhecido popularmente por pinha, são folhas modificadas, é composto por mais de 200 folhas carpelares inseridas ao redor de um eixo cônico comum (ANSELMINI; ZANETTE; BONA, 2006; CARVALHO, 2002; ZANETTE et al., 2017). O androstróbilo possui numerosas escamas em torno de um eixo alongado, que carregam em seu interior diversos sacos polínicos, onde se desenvolvem os grãos de pólen (ANSELMINI; ZANETTE; BONA, 2006). Possui formato cilíndrico alongado de 10 a 22 cm de comprimento por 2 a 5 cm de diâmetro (CARVALHO, 2002). As plantas masculinas apresentam ciclo anual do androstróbilo. Antes de iniciar nova formação de androstróbilos, os existentes secam e desligam-se da planta, enquanto as plantas femininas apresentam ciclo reprodutivo maior de dois anos, o que permite a presença de ginostrobilos em diferentes estágios de desenvolvimento nos ramos vegetativos (Figura 2). Em função das semelhança com os ramos, ambos estróbilos são de difícil visualização nos estágios iniciais de desenvolvimento (ANSELMINI; ZANETTE; BONA, 2006; ZANETTE et al., 2017).

Em condições ambientais de Curitiba-PR, os pesquisadores Anselmini; Zanette; Bona (2006) concluíram que o ciclo reprodutivo do pinheiro-brasileiro é de 29 a 34 meses. Os pesquisadores observaram que em novembro inicia a formação do androstróbilo e do ginostrobilo, no ano seguinte em setembro e outubro ocorre a

dispersão do pólen, pelos androstróbilos, e polinização dos ginostrobilos, um ciclo de 10 a 11 meses. O crescimento do ginostrobilo (pinha), após a polinização, estende-se por aproximadamente 20 meses. O ciclo reprodutivo do pinheiro-brasileiro é concluído com a maturação do ginostrobilo, ou seja, a liberação da pinha. Sendo o ciclo de 29 meses para as plantas precoces, que liberam as pinhas em abril, e o ciclo de 34 meses para as plantas tardias, que apresentam pinhas maduras em setembro.

Figura 2 – Fenologia reprodutiva da *Araucaria angustifolia*: 1A) planta masculina com estróbilos, androstróbilos, maduros dispersando pólen; 1B) detalhe mostrando os androstróbilos em fase de amadurecimento e dispersão do pólen; 2 fenologia, evolução e crescimento da pinha 2A) folhas terminais do ginostrobilo começam a abrir; 2B) ginostrobilo durante a polinização; 2C) crescimento da pinha após polinização.



Fonte: (ZANETTE et al., 2017)

A fenologia, evolução e crescimento da pinha (Figura 2) são descritas por Zanette et al. (2017). Os botões florais ocorrem como ramificação na região do crescimento longitudinal onde são formados os ramos secundários. O primeiro estágio do ginostrobilo (ovário) não é visível, por estar em formação interna e protegido por acículas; no segundo estágio está pronto para receber o pólen. O óvulo nasce na axila, protegido por uma folha modificada estéril, esta folha se une a outra folha modificada estéril para envolverem o óvulo fecundado. O terceiro estágio inicia com o ginostrobilo polinizado, óvulos fecundados, este estágio dura 20 meses,

período para o crescimento e a amadurecimento. O óvulo fecundado forma a semente da *Araucaria angustifolia*, denominado pinhão, que é liberada do ginostrobilo maduro, denominado pinha.

O amadurecimento da pinha é caracterizado pelo início da autocoria, a liberação das sementes da planta mãe, a dispersão das sementes ocorre pela ação da gravidade (dispersão barocórica) e pelos animais (dispersão zoocórica) como a cutia, o papagaio charão, a gralha azul e outros (CARVALHO, 2002; ZANETTE et al., 2017). A safra do pinhão ocorre entre os meses abril e agosto (CARVALHO, 2002), embora seja observada a ocorrência de autocoria entre fevereiro e setembro (ANSELMINI; ZANETTE, 2008a). Os meses de maior produção na safra diferem entre os estados, destaca-se o período de abril a junho no Paraná; de abril a julho, em São Paulo e Santa Catarina, e o período de abril a agosto no Rio Grande do Sul (CARVALHO, 2002).

A diferença de período da safra entre as regiões e estados brasileiros são em função das diferentes condições climáticas e edáficas (ANSELMINI; ZANETTE; BONA, 2006), e da diversidade genética das plantas (SANTOS et al., 2002). Dentro de um mesmo estado há diferenças ambientais que condicionam diferenças na estrutura demográfica e, possivelmente, diferenças genéticas entre populações naturais do pinheiro-brasileiro, em razão das condições de clima e solo determinarem vários climaxes locais ou edáficos dentro de um clímax regional (PUCHALSKI; MANTOVANI; REIS, 2006).

As influências de tais diferenças podem ser observadas na produção de pinhões em uma população de um mesmo local, como no estudo realizado por Krupek; Ribeiro (2010). Esses pesquisadores observaram que as características biométricas de sementes, principalmente na massa, são influenciadas pelo caráter genético da planta mãe enquanto que o número de pinhões férteis é dependente do processo de polinização e sofre influências da densidade populacional de plantas de ambos os sexos (Figura 3). Vieira-da-Silva; Reis (2009) complementam, afirmando que a produtividade é influenciada por condições climáticas na época da polinização, sendo realizada pelo vento e pela densidade de plantas femininas e masculinas.

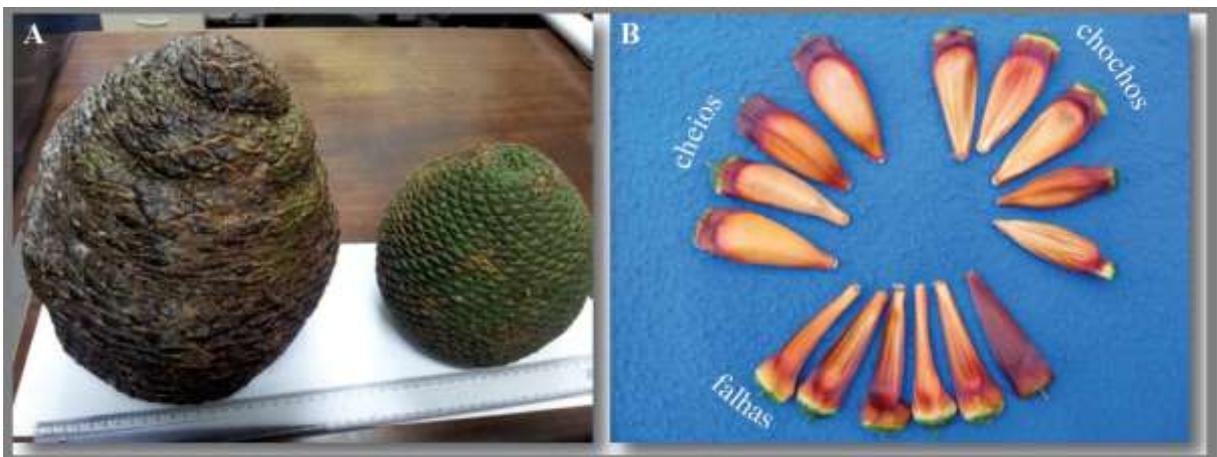
Após dois ou três anos de alta produção de sementes, o pinheiro-brasileiro apresenta anos de contra-safra, fator que dificulta o fluxo uniforme de produção e amplia a necessidade de desenvolver metodologias de armazenamento da semente por doze meses ou mais (FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998). Essa oscilação

na produção de pinhão ainda não é bem compreendida pelos pesquisadores da área (VIEIRA-DA-SILVA; MIGUEL, 2017).

Além das diferenças no período de safra e produtividade, a coleta das pinhas é uma etapa da cadeia extrativista do pinhão que merece atenção. A coleta da pinha representa uma atividade difícil em três aspectos, primeiro há a incerteza do período de maturação, que difere entre locais, regiões e variedades genéticas das plantas. O segundo é depender de coletar as sementes no solo, quando a pinha madura cai naturalmente, ou derrubar a pinha da planta. Esse processo requer escalar a planta e usar uma vara para derrubá-la. O terceiro é o volume extra a ser carregado por locais de difícil acesso por não serem abertas (debulhadas) as pinhas *in loco* (SANTOS et al., 2002). Além dessas dificuldades, faltam informações ecológicas para esta espécie. As coletas são realizadas sem garantir a manutenção de suas populações (PALUDO et al., 2016).

A pinha apresenta quatro estruturas: o pinhão cheio com óvulo fecundado, o pinhão chocho com óvulo não fecundado ou abortado, as falhas, folhas estéreis ou escamas de preenchimento e o eixo central (KRUPK; RIBEIRO, 2010; VIEIRA-DA-SILVA; REIS, 2009; ZANETTE et al., 2017). A produtividade da pinha é analisada pela proporção fértil:estéril, onde fértil são pinhões e estéril são falhas e chochos, e tal produtividade é dependente da polinização (Figura 3) (VIEIRA-DA-SILVA; REIS, 2009).

Figura 3 – Pinhas de diferentes tamanhos (A) e estruturas de uma pinha (pinhão, chochos e falhas) (B).

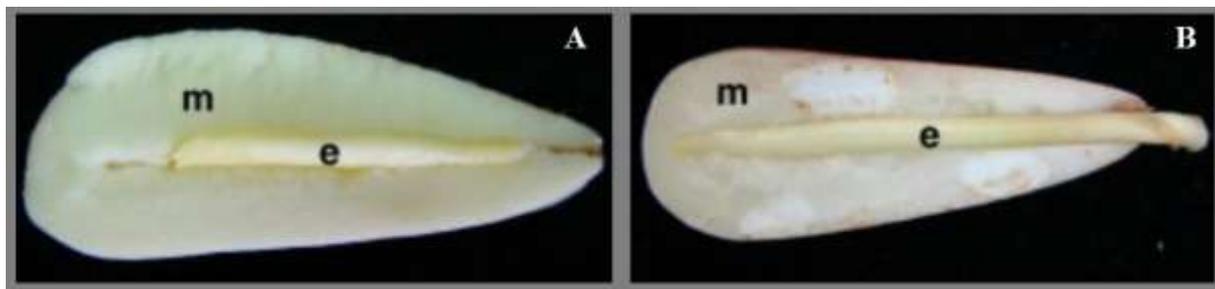


Fonte: (ZANETTE et al., 2017)

### 2.1.2 O pinhão

O pinhão, diásporo do pinheiro-brasileiro, é considerado sua semente com invólucros (CARVALHO, 2002; GARCIA et al., 2014). Os pinhões apresentam tamanho variando entre 3 a 8 cm de comprimento e 1 a 2,5 cm de largura, peso médio de 8,7g (CARVALHO, 2002). Seu invólucro externo apresenta cor amarelo-avermelhado (GAMA et al., 2010) e é muito resistente, o interno é uma película fina aderida à amêndoa, ambos invólucros representam aproximadamente 22% do peso do pinhão (CORDENUNSI et al., 2004). A amêndoa *in natura* apresenta cor branca ou rósea-clara e no centro da amêndoa (endosperma), encontra-se o embrião com os cotilédones, que são retos e constituem 5/6 do comprimento do embrião (Figura 4) (CARVALHO, 2002). É uma boa fonte de amido, fibra dietética, magnésio e cobre, e considerado um alimento de baixo índice glicêmico (CORDENUNSI et al., 2004).

Figura 4 – Amêndoa do pinhão: (A) endosperma (m) e embrião maduro (e); B) endosperma (m) e embrião germinado (e), fase em que a radícula rompe o revestimento para iniciar o crescimento das plântulas. Para melhor visualização, os revestimentos da semente foram removidos e realizado corte longitudinal nas amêndoas.



Fonte: (BALBUENA et al., 2011)

### 2.1.3 Importância cultural e econômica do pinhão

O pinhão promove um destaque ao pinheiro-brasileiro, dentre as espécies da flora nativa no grupo das alimentícias, pois possui importância cultural e econômica na região sul do Brasil (BRASIL, 2011; DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012). Trata-se de um alimento nutritivo bastante apreciado pela fauna silvestre e pelo homem. Seu consumo faz parte da cultura da população (SANTOS et al., 2002), e é grande a demanda de pinhão durante os meses de inverno (VIEIRA-DA-SILVA; MIGUEL,

2017), sendo um alimento imprescindível nas chamadas festas juninas (SANTOS et al., 2002). Economicamente, o pinhão é mais interessante que a madeira do pinheiro-brasileiro, pois a madeira gera renda uma única vez, enquanto que a renda do pinhão é gerada todo ano após o início da produção (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012).

A importância econômica do pinhão para os estados de ocorrência natural do pinheiro-brasileiro é significativa, embora a origem das sementes comercializadas seja principalmente os povoamentos naturais do pinheiro-brasileiro (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012). Os pinhões são coletados sem garantir a manutenção de suas populações (PALUDO et al., 2016), caracterizando uma exploração depredatória até a atualidade. Considerando a necessidade de conciliar a geração de renda e a conservação da *Araucaria angustifolia* no Bioma Mata Atlântica, é regulamentada a data de início da coleta do pinhão, seu transporte, armazenamento e comercialização para sementeiras e como alimento.

A portaria normativa nacional é a DC nº 20, de 27 de setembro de 1976, que regulamenta a coleta de pinhão a partir de 15 de abril (BRASIL, 1976). Dentre os estados da região sul, o Rio Grande do Sul é o único que ainda segue a DC nº 20. No Paraná, o Instituto Ambiental do estado, por meio da Portaria Nº 46, de 26 de março de 2015, proíbe a coleta, armazenamento e comercialização de pinha imatura. Define como imatura a pinha de cor verde, cujos pinhões apresentam casca esbranquiçada e alto teor de umidade, e fixa a data de 01 de abril para início das atividades de coleta, armazenamento e comercialização do pinhão, desde que oriundos de pinhas maduras. Considera maduras as pinhas em estado deiscente, estágio de maturação quando ocorre naturalmente a liberação da semente (autocória) (PARANÁ, 2015). Em Santa Catarina, a Lei Estadual n. 15.457, de 17 de janeiro de 2011, também estabelece a data 01 de abril para início da coleta, transporte e comércio do pinhão (SANTA CATARINA, 2011).

A cadeia produtiva ou cadeia extrativista do pinhão é caracterizada pela informalidade e, a compreensão do funcionamento dessa cadeia faz-se necessária para desenvolver políticas voltadas à produção e conservação da semente, intimamente ligada à conservação da espécie (SANTOS et al., 2002). Os agentes da cadeia produtiva do pinhão são os produtores e coletores, intermediários, varejistas (tendas de beira de estrada, pequenos e médios varejos e os grandes varejistas), atacadistas e os consumidores (SANTOS et al., 2002; VIEIRA-DA-SILVA; MIGUEL,

2017). O pinhão apresenta dois canais de comercialização: canal longo, que inclui ao menos um agente (intermediário, varejista ou atacadista), e canal curto, onde a comercialização ocorre diretamente entre produtor e consumidor (VIEIRA-DA-SILVA; MIGUEL, 2017).

Além do comércio varejista e atacadista, muitas famílias de baixa renda têm no pinhão a principal fonte de renda anual e realizam a venda diretamente ao consumidor na beira de rodovias, de forma clandestina, sem emissão de nota fiscal (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012). Tal ilegalidade pode ser observada ainda em pequenos e médios varejos que geralmente adquirem sementes sem nota fiscal (VIEIRA-DA-SILVA; MIGUEL, 2017). Segundo os pesquisadores anteriores, um exemplo importante de comercialização do pinhão ocorre em Lages (SC), onde o pinhão é comercializado no Programa de Aquisição de Alimentos (PAA), um ambiente organizacional que age sobre os canais de comercialização e na formação do preço.

A informalidade da atividade de coleta das pinhas gera desconhecimento sobre a importância da atividade e, conseqüentemente, reflete nos dados estatísticos oficiais. Exemplo disso são os dados registrados no ano de 2011, no município São Francisco de Paula (RS), onde a produção de pinhão foi estimada em 74 t pelo IBGE e pesquisas de campo relatam uma produção de 220 t (VIEIRA-DA-SILVA; MIGUEL, 2017).

Ainda em 2011, os mercados atacadistas de quatro estados (Ceagesp, de São Paulo, e Ceasa's do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná) comercializaram 3.399 t de pinhão no valor total de R\$ 6,23 milhões, sendo o preço médio do kg R\$ 1,97. No mesmo ano, no comércio varejista do município Curitiba (PR) o valor do kg era superior a R\$ 4,00, enquanto que nas 37 barracas à margem da rodovia PRT280 no município Clevelândia (PR) o valor do kg foi de R\$ 2,00 (sem nota fiscal) (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012).

Sobre o valor do kg, atualmente o pinhão está incluído na política nacional de pagamento de preços mínimos, no grupo dos produtos extrativos. Em cada safra é estabelecido o preço mínimo, a favor dos produtores, para o kg do pinhão *in natura*. Nas safras de 2015 e 2016 os preços mínimos estabelecidos foram R\$ 2,26 e R\$ 2,64, respectivamente (MAPA, 2016). O valor na safra de 2017 manteve-se igual àquele de 2016, já na safra de 2018 o valor mínimo do kg foi R\$ 3,16 (MAPA, 2018). Essa política reduz a incerteza de preços para os produtores. Para os consumidores,

o preço do kg do pinhão *in natura* permanece dependente dos canais de comercialização.

Além dos comércios citados anteriormente, o pinhão é comercializado em eventos culturais ligados ao pinhão, que visam conservar a tradição do consumo e valorizá-lo como produto regional. Anualmente, dezenas de toneladas de pinhão são comercializadas nesses eventos, por exemplo, a Festa Nacional do Pinhão, em Lages, SC, a Festa do Pinhão de São José dos Pinhais, PR, de Inácio Martins, PR, de Pinhão, PR e de São Francisco de Paula, RS, assim como a Feira do Pinhão, em Curitiba, PR (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012). Nesses eventos, além de demonstrarem pratos típicos com pinhão e promoverem festivais gastronômicos, há o comércio de pinhão *in natura* e processado (pinhão em conserva, pinhão cozido descascado e congelado, pinhão moído) favorecendo a geração de renda de um município ou região (BRASIL, 2011; DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012). Exemplificando o comércio em um evento: na Festa do Pinhão de São Francisco de Paula (RS), os produtos à base do pinhão, como pão, paçoca, croquete, pastel, bolo, cuca e outros, geralmente apresentam um canal curto de comercialização, produtor e consumidor, enquanto que produtores, que não beneficiam, vendem o pinhão *in natura* em canais longos de comercialização (VIEIRA-DA-SILVA; MIGUEL, 2017).

O pinhão, visto como garantia de renda do produtor, por longo prazo, é uma ferramenta eficaz para aumentar o plantio de pinheiros-brasileiros e reduzir a exploração das plantas remanescentes (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012). É necessário organizar a cadeia produtiva do pinhão para que haja a ampliação do mercado. A cadeia é bastante simplificada, não há nenhum processo industrial do pinhão; a indisponibilidade de técnicas apropriadas à sua conservação e industrialização, possivelmente é um obstáculo à comercialização em um volume maior (SANTOS et al., 2002).

#### **2.1.4 Potencial do pinhão para a indústria**

Dentre as espécies da flora nativa, o pinheiro-brasileiro destaca-se no grupo das espécies alimentícias em virtude da aceitabilidade do pinhão e seu potencial econômico (BRASIL, 2011). Atualmente o pinhão é popularmente consumido após ser cozido ou assado (SANTOS et al., 2002; ZÓRTEA-GUIDOLIN et al., 2017b) e sua comercialização é limitada pelo baixo nível de industrialização (ZÓRTEA-

GUIDOLIN et al., 2017b). De acordo com Rosot (2007) um dos maiores desafios é transformar os usos potenciais das espécies florestais em realidades concretas, valorizadas como provedoras de múltiplos bens e serviços ecossistêmicos.

Talvez mais por falta de uma cultura industrial do que por dificuldades técnicas em seu processamento, o pinhão não tenha sido largamente empregado na culinária brasileira como outras amêndoas (SANTOS et al., 2002). Os incentivos à elaboração de pratos culinários contendo pinhão são recentes. Tais incentivos ocorrem em festivais gastronômicos promovidos em alguns eventos culturais ligados ao pinhão (BRASIL, 2011; DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012). Mas observa-se um constante crescimento no número de estudos científicos sobre o potencial do pinhão para a indústria.

Pesquisadores estudam a composição química do pinhão (CAPELLA; PENTEADO; BALBI, 2009; CORDENUNSI et al., 2004; Da SILVA et al., 2016; GAMA et al., 2010) e sua propriedade funcional, o amido resistente (STHAL et al., 2007; ZÓRTEA-GUIDOLIN et al., 2017a). Enquanto pesquisas demonstram que o amido do pinhão pode ser utilizado largamente na tecnologia de alimentos (BELLO-PEREZ et al., 2006; DAUDT et al., 2016; GONÇALVES et al., 2014; PINTO et al., 2012; PINTO et al., 2015; SPADA et al., 2013; THYS et al., 2010; THYS et al., 2013; ZÓRTEA-GUIDOLIN et al., 2017a), novos estudos vêm analisando o potencial do amido para indústria farmacêutica (DAUDT et al., 2014; DAUDT et al., 2015).

Para elaboração de alimentos a nível industrial, tendo o pinhão como matéria prima, potenciais produtos vem sendo desenvolvidos por estudiosos (ACORSI et al., 2009; BOLZAN; PEREIRA, 2017; IKEDA et al., 2018; ZÓRTEA-GUIDOLIN et al., 2017b). Frente à expectativa de industrialização do pinhão e, considerando sua casca um subproduto alimentar ou resíduo industrial, estudos visam o aproveitamento em nível industrial da casca do pinhão (Da SILVA et al., 2014; FREITAS et al., 2018; LIMA et al., 2007; SANTOS et al., 2018).

## 2.2 PÓS-COLHEITA

O termo pós-colheita inclui todas as fases entre a colheita e o consumo do produto, inclusive as tecnologias de preservação. Vegetais *in natura*, mesmo separados da planta mãe no ato da colheita, apresentam tecidos vivos, metabolismo ativo. Metabolismo é o conjunto de reações bioquímicas e químicas, que

compreende duas fases, o anabolismo (reações de biossintéticas) e catabolismo (reações de oxidação), reações que viabilizam o processo do amadurecimento dos produtos com maturidade fisiológica. A respiração é o principal processo fisiológico dos vegetais na pós-colheita e controlá-la é uma condição essencial para manutenção da qualidade do produto vegetal (CHITARRA; CHITARRA, 2006).

O vegetal maduro apresenta características desejáveis pelo consumidor, entretanto o processo de amadurecimento é predominantemente degradativo, levando ao envelhecimento e senescência dos tecidos. A vida de prateleira (*Shelf life*) corresponde ao período em que o produto apresenta características desejáveis em nível de qualidade, período entre a maturação e a deterioração (senescência) (CHITARRA; CHITARRA, 2006). A qualidade de um produto de consumo (alimento) compreende aspectos físico-químico, microbiológicos e sensoriais (DUTCOSKY, 2013). Os estudos em pós-colheita visam desenvolver condições de armazenamento, ideais para cada produto vegetal, para maximizar a vida de prateleira com conservação da qualidade.

### **2.2.1 A pós-colheita do pinhão**

A pós-colheita do pinhão é caracterizada por um longo período de entressafra, de setembro a abril (CARVALHO, 2002), e breve vida de prateleira, situações que interferem em sua comercialização. A curta vida de prateleira decorre de fatores intrínsecos e extrínsecos. Sendo os intrínsecos sua fisiologia recalcitrante (BALBUENA et al., 2011; FARRANT; PAMMENTER; BERJAK, 1989; FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998) e elevada umidade e atividade de água (Aa) (CLADERA-OLIVEIRA et al., 2005) e os extrínsecos os ataques biológicos, por lagarta (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011) e fungos (HENNIPMAN et al., 2017), e inadequadas condições de armazenamento (DAVID; SILOCHI, 2010).

O longo período de entressafra do pinheiro-brasileiro impede a oferta do pinhão durante todo o ano (SANTOS et al., 2002). A entressafra além de restringir o período de consumo desse alimento nas regiões produtoras, impossibilita que potenciais consumidores de outras regiões e países criem o hábito de consumo.

Fisiologicamente o pinhão é classificado como semente recalcitrante, apresentando rápida perda de umidade e da viabilidade fisiológica na pós-colheita (BALBUENA et al., 2011; FARRANT; PAMMENTER; BERJAK, 1989; FOWLER;

BIANCHETTI; ZANON, 1998). Isso ocorre porque o pinhão, como outras recalcitrantes, não sofre secagem natural na planta mãe, atinge a maturidade com cerca de 50% de teor de água, após a dispersão começa a sofrer desidratação rapidamente, diminuindo o poder germinativo, viabilidade (CARVALHO, 2002; HENNIPMAN et al., 2017). No pinhão, o nível crítico de umidade varia entre 40,0 % e 38,0 %, abaixo do qual há perda de viabilidade (CARVALHO, 2002).

A perda da viabilidade, geralmente, é associada ao processo natural da senescência (ZANETTE et al., 2017). No pinhão a perda de viabilidade é acompanhada por aumentos de açúcares totais, resultantes da degradação do amido (CARVALHO, 2002) e o consumo dessas reservas pode ser acelerado por alta atividade metabólica, sobretudo a respiração, quando o pinhão é mantido em temperatura igual ou superior a 20,0 °C (AMARANTE et al., 2007). Temperaturas elevadas favorecem a desidratação, que ocasiona a desorganização celular e senescência dos tecidos (AMARANTE et al., 2007; ZANETTE et al., 2017). Na atualidade o pinhão é comercializado sem embalagem, disposto em gôndolas no comércio varejista sob condições ambiente, essa prática favorece a perda de umidade, de peso (AGUIAR et al., 2015; AMARANTE et al., 2007; DAVID; SILOCHI, 2010), com redução da lucratividade, uma vez que o pinhão é comercializado por quilograma (AGUIAR et al., 2015; DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012; MAPA, 2018).

Para manutenção de viabilidade fisiológica do pinhão por até 12 meses, recomenda-se o armazenamento em embalagem de polietileno (espessura 24 µm), sob baixa temperatura ( $\pm 5,0^{\circ}\text{C}$ ) e elevada umidade relativa do ar ( $\pm 89,0\%$  UR), pois mantém o teor de umidade da semente em cerca de 43 % e expressiva germinação (FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998; HENNIPMAN et al., 2017). Pinhões mantidos em ambiente modificado (AM) (embalagens de polietileno; acetato de vinil etil) e sob 0,0 °C apresentaram capacidade germinativa por até dois anos (CARRILLO et al., 2003). Entretanto essas condições de armazenamento objetivam a germinação para produção de mudas do pinheiro-brasileiro. A germinação é indesejável para a comercialização do pinhão *in natura* como alimento e matéria prima para indústria.

Na literatura, os trabalhos sobre sementes recalcitrantes, são escassos (HENNIPMAN et al., 2017), pois o comportamento recalcitrante dificulta sua conservação e armazenamento por longos períodos (CARVALHO, 2002;

HENNIPMAN et al., 2017). Em estudo preliminar sobre o armazenamento do pinhão *in natura*, objetivando sua utilização como alimento, Amarante et al. (2007) obtiveram melhores resultados na condição de 2 °C e 90 ± 2 % UR, por 96 dias, e concluíram que o armazenamento do pinhão requer temperatura próxima de 0,0 °C associada à elevada UR, e seu armazenamento deve ser imediatamente após a colheita.

De modo geral a preferência dos consumidores é por produtos frescos e disponíveis durante todo o ano (TADINI, 2018). Em contrapartida, os produtores almejam competitividade de mercado e estender a comercialização em tempo e distância. As metodologias e tecnologias de armazenamento pós-colheita visam atender essas demandas de forma viável economicamente, prezando pela segurança alimentar e melhor aceitabilidade dos consumidores. Assim, para que haja o desenvolvimento no consumo e produção de pinhão, ampliando este hábito alimentar a outras regiões e países, é preciso que sejam realizadas pesquisas sobre o desenvolvimento de técnicas de conservação e industrialização, disponibilizando a semente na entressafra (SANTOS et al., 2002).

Variáveis biológicas, de fontes externas, provocam perdas e desestimulam o consumo, prejudicando a comercialização do pinhão. A ação da lagarta da broca-do-pinhão pode inviabilizar até 64,0 % da produção de sementes (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011). Além de sofrer ataques dessa praga, o pinhão é um alimento suscetível a infecção por fungos. Os teores elevados de umidade, superior a 80,0 % na base seca e Aa de 0,98 dos pinhões são condições propícias ao crescimento de fungos (CLADERA-OLIVEIRA et al., 2005).

Segundo Dutcosky (2013), a qualidade de um alimento compreende três aspectos fundamentais, o físico-químico, o microbiológico e o sensorial. Muitos estudos de armazenamento do pinhão abordam o aspecto físico-químico, como a perda de massa ou umidade, redução de amido, elevação de açúcares totais, taxa respiratória, e outros, embora sejam, em sua maioria, estudos voltados para a germinação da semente. Por outro lado, estudos relacionados aos aspectos biológicos (BIZI et al., 2004; FRECCIA et al., 2013; HENNIPMAN et al., 2017; THOMAZINI; REIS, 2013;) e sensoriais (DAVID; SILOCHI, 2010; FRECCIA et al., 2013) estão sendo inicialmente abordados. São aspectos importantes para a cadeia produtiva do pinhão, que precisam ser elucidados nos estudos de armazenamento do pinhão *in natura*. Sendo assim, são necessários estudos sobre a segurança

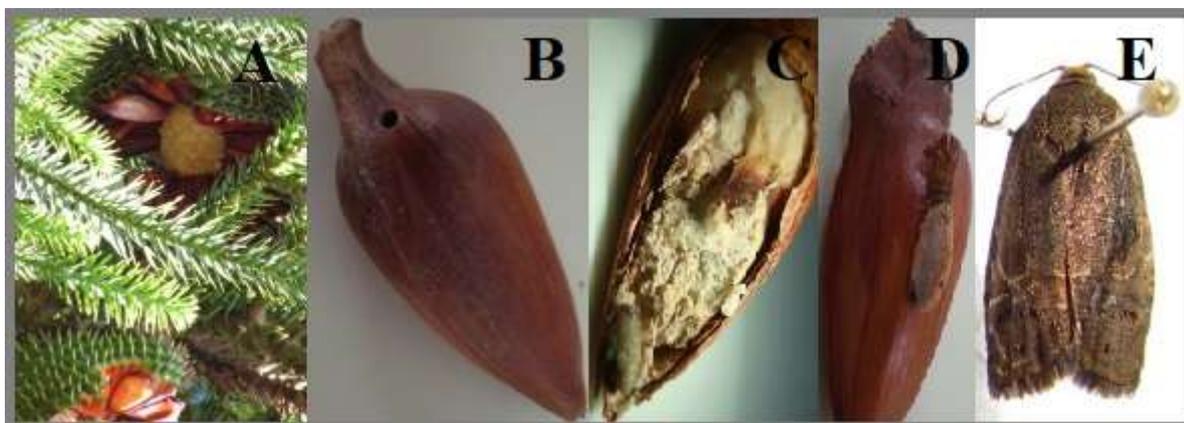
alimentar, índice de deterioração por ataques biológicos, e sobre atributos relacionados à qualidade percebida pelo consumidor, como cor da casca e firmeza da amêndoa cozida.

### 2.2.2 A broca-do-pinhão

A broca-do-pinhão, *Cydia araucariae*, é um tortricídeo nativo do sul da América do Sul (TEIXEIRA et al., 2005). É relatada como a principal praga da *Araucaria angustifolia*, cujos danos mais graves das lagartas ocorrem no pinhão (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011). A presença dessas lagartas no interior do pinhão é um dos principais problemas encontrados pelo consumidor (GODOY et al., 2010).

A *Cydia araucariae* deposita seus ovos na fase de formação e desenvolvimento da pinha. As lagartas recém-eclodidas podem alimentar-se do eixo central da pinha e, posteriormente, atingir o pinhão (Figura 5) (PEDROSA-MACEDO, 1993). Ao se alimentar do endosperma destrói o conteúdo do pinhão, causando alterações na cor e sabor, além de provocar o apodrecimento (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011).

Figura 5 – Broca-do-pinhão, *Cydia araucariae*. (A) Detalhe das sementes na pinha; (B) semente com orifício de saída da lagarta; (C) interior de semente atacada pela lagarta; (D) pupa da broca sobre a semente; (E) Adulto de *Cydia araucariae*.



Fonte: (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011)

A ação de destruir o conteúdo do pinhão é capaz de promover a perda da viabilidade de germinação, quando atinge o embrião, e chegar ao índice de até 64,0 % de redução da produção de sementes viáveis (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011). Não é permitido o uso de fumigantes para o expurgo de pinhões (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011) como o uso do brometo de metila e o bissulfito, proposto por Pedrosa-Macedo (1993). Embora, lagartas da *Cydia araucariae* submetidas a -5°C por 8 minutos, tenham apresentado mortalidade (TEIXEIRA et al., 2005), não há conhecimento de método que proporcione o controle da *Cydia araucariae* no pinhão *in natura* (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011).

Os pesquisadores Thomazini; Reis (2013) avaliaram a incidência da broca-do-pinhão em pinhões coletados na planta e no solo (uma semana após caírem). A coleta na planta apresentou 17,5 % de pinhões atacados, dos quais 80,0% não apresentavam sinais externos, como orifício de saída da lagarta ou excrementos; sendo o ataque visível após a abertura das sementes. As lagartas, em desenvolvimento intermediário, provocaram danos parciais às sementes. A coleta no solo apresentou 46,0% de pinhões atacados, desses 23,3% estavam totalmente destruídos internamente. Esses resultados colaboram para instruir a coleta de pinhas prezando pela melhor sanidade. Assim, preferencialmente as pinhas devem ser coletadas na planta mãe. A coleta no chão somente deve ser realizada naquelas caídas recentemente.

### **2.2.3 Fungos em pinhão**

As condições de manejo, secagem e armazenamento podem influenciar no desenvolvimento de microrganismos e no aumento do grau de contaminação de um produto armazenado (WHO, 1998). Os fungos possuem notável capacidade de adaptação e crescimento em condições de umidade e temperatura extremamente variáveis, são pouco exigentes quanto aos nutrientes disponíveis, podendo ocorrer praticamente em qualquer tipo de alimento (LAZZARI, 1997).

Alimentos que apresentam crescimento de fungos sobre sua superfície sofrem perdas econômicas e representam um perigo para a saúde pública devido à possibilidade dos fungos produzirem micotoxinas (WIGMANN et al., 2015). Em praticamente todos os nichos ambientais são encontrados fungos, como os dos

gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, que apresentam várias espécies produtoras de micotoxinas durante seu crescimento e desenvolvimento (BUGNO et al., 2005).

O pinhão *in natura* apresenta valores elevados de umidade e Aa (CLADERA-OLIVEIRA et al., 2005), características favoráveis à infecção fúngica. Além disso, a manutenção da qualidade do pinhão requer armazenamento sob elevada UR, condição que contribui para tal infecção (AGUIAR et al., 2017; HENNIPMAN et al., 2017) (Figura 6). Estudos sobre identificação de fungos filamentosos em pinhões são recentes e apresentam identificação de gêneros (BIZI et al. 2004; FRECCIA et al. 2013; HENNIPMAN et al., 2017). No momento, não se tem informações de literatura referentes à identificação de fungos, gênero e espécie, após o armazenamento do pinhão *in natura* sob condições de AC.

Em estudos mais simples, onde a incidência de fungos foi observada a olho nu, é possível verificar o efeito das condições de armazenamento, temperatura, umidade relativa e embalagem, no armazenamento de pinhão. Alves et al. (2017) avaliaram o efeito de embalagens sobre o percentual de ocorrência de fungos em pinhões mantidos sob condições ambiente por 21 dias. Observaram que pinhões em embalagem de polietileno de baixa densidade (PEBD 40  $\mu$ m) apresentaram 46,7 % de ocorrência de fungos, em consequência do aumento de umidade no interior da embalagem. Enquanto pinhões em recipiente aberto e embalado com papel Kraft apresentaram 11,7 % e 1,66 % de ocorrência, respectivamente.

Figura 6 – Incidência de fungos em pinhão identificada visualmente na casca do pinhão (A); e cobrindo toda amêndoa, pinhão descascado (B).



Fonte: Autora.

A qualidade sanitária e poder germinativo de pinhões (coletados em Colombo, PR) tratados com hipoclorito de sódio (controle; 0,5; 1,0; e 3,0% NaClO) e armazenados por até 12 meses (embalados e mantidos sob  $5,0 \pm 1,0$  °C e  $89,0 \pm 2,0$  % UR) foi estudada por Hennipman et al. (2017). Antes do armazenamento, no tratamento controle foram identificados os gêneros *Penicillium* (80,0 %), *Pestalotiopsis* (42,0 %) e *Cladosporium* (24,0 %) e *Trichoderma* (2,0 %). Aos seis meses de armazenamento, pinhões tratados com 1,0 % NaClO apresentaram incidência de fungos *Fusarium* (5,0 %) *Penicillium* (10,0%), *Aspergillus* (20,0 %), entretanto foi menor que a incidência nos demais tratamentos. Aos doze meses, sementes tratadas com 0,5 e 1,0 % apresentaram 50,0 % de germinação, enquanto o tratamento controle apresentou 0,0% de germinação devido à alta incidência de *Shizophyllum commune* (80,0%).

Os pesquisadores Bizi et al. (2004) avaliaram a influência de fungos na germinação do pinhão. Os pinhões, coletados em três municípios do Paraná, foram selecionados, lavados em água e mantidos em técnica de germinação (método papel filme, em condições ambientes). Durante 30 dias foi acompanhada a formação de estruturas fúngicas sobre as sementes, usando microscópio estereoscópico. Amostras dessas estruturas foram examinadas em microscópio óptico. Os pesquisadores identificaram 15 gêneros, descritos a seguir em ordem decrescente de percentual de infecção, *Pestalotia*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Cylindrocladium*, *Rhizoctonia*, *Phomopsis*, *Monilia*, *Rhizopus*, *Thielaviopsis*, *Botryodiplodia*, *Dreschlera*, *Curvalaria* e *Xylaria*. Enquanto que os autores Freccia et al. (2013) identificaram a ocorrência de três gêneros, *Penicillium*, *Moniliella* e *Monilinia* em pinhões, coletados em Bom Jesus (RS) e armazenados por sete meses, em todos os tratamentos; que consistiram em: pinhões embalados em bolsa plástica, rede e vácuo e mantidos sob 1,0 °C; pinha mantida sob 1,0 °C; pinhões congelados a seco e em água, ambos a -15 °C.

Fungos filamentosos (bolor) são a principal causa de perda fitopatológica de frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2006). Para identificação desses microrganismos é necessário determinar o meio de cultura ideal para o alimento, o pinhão (GUIMARÃES et al., 2010). Dentre as características do alimento a ser analisado, a Aa permite a seleção e utilização e meios de cultura específicos que possibilitam uma melhor visualização da presença de fungos deterioradores de alimentos (COPETTI et al., 2009). O parâmetro Aa determina a água disponível no alimento

para o metabolismo microbiano, a água livre para agir como solvente ou para participar de reações químicas (FRANCO; LANDGRAF, 1996). O pinhão *in natura*, não armazenado, apresenta Aa 0,98, leitura em 25,0 °C (CLADERA-OLIVEIRA et al., 2005). Sendo o pinhão um alimento de alto teor de Aa, é indicado o meio de cultura Ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC), que pode ser empregado no procedimento plaqueamento direto, procedimento que permite a enumeração de patógenos presentes do interior dos tecidos do pinhão (PITT; HOCKING, 2009). A literatura não reporta a identificação de fungos presentes do interior dos tecidos do pinhão.

#### **2.2.4 Armazenamento refrigerado (AR)**

Um dos métodos mais efetivos e práticos para o prolongamento da vida útil de vegetais *in natura* é o armazenamento refrigerado (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A refrigeração atua sobre os vegetais reduzindo seu metabolismo, atividade respiratória, (EKMAN; GOLDING; McGLASSON, 2005) e a deterioração microbiana (TADINI, 2018). Com uso da refrigeração o metabolismo vegetal pode ser reduzido pela Lei de Vant´ Hoff. De acordo com essa lei, as reações químicas e bioquímicas dobram para cada 10,0 °C de elevação na temperatura de armazenamento (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Usualmente há a combinação da redução da temperatura com o controle da UR nas câmaras frigoríficas. Segundo Tadini (2018), tal associação é absolutamente necessária para a manutenção da qualidade da maioria dos produtos vegetais.

Quase a totalidade do pinhão é armazenada e comercializada em condições ambiente. Alguns intermediários da comercialização, como associações e cooperativas, iniciaram o armazenamento em atmosfera refrigerada (AR) com temperatura entre 2,0 °C e 10,0 °C.

De acordo com Freccia et al. (2013), pinhões armazenados por sete meses sob 1,0°C em diferentes embalagens diferiram na perda de massa e na análise sensorial. Pinhões embalados em rede apresentaram maior perda que aqueles em AM e à vácuo. Na análise sensorial, pinhões armazenados em AM apresentaram melhor aceitação em função da textura e sabor semelhantes à época de coleta, enquanto que os embalados à vácuo apresentaram sabor azedo.

Diversos pesquisadores estudaram a germinação e vigor das sementes do pinheiro-brasileiro, armazenadas sob refrigeração e UR e associadas a diferentes condições de atmosfera modificada (AM) (CAÇOLA et al., 2006; CARRILO et al., 2003; FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998; HENNIPMAN et al., 2017) e atmosfera controlada (AC) (CAÇOLA et al., 2006).

Segundo Amarante et al. (2007), o armazenamento refrigerado, na condição de 2,0 °C e 90 ± 2 % UR, permite a conservação do pinhão *in natura* por três meses. Por reduzir a atividade respiratória e inibir fortemente a germinação (1,0 %), entretanto tal condição favorece a cerca de 13,0 % de perda de massa em três meses de armazenamento. Os autores indicam a temperatura 0 °C para o armazenamento do pinhão para uso alimentício.

São incipientes os estudos científicos em pós-colheita com foco no pinhão *in natura* como alimento e matéria prima para indústria. A literatura atual demonstra a necessidade de se definir uma condição ideal de temperatura e UR, e avaliar a associação com outras técnicas de armazenamento como a atmosfera controlada, objetivando a conservação da qualidade do pinhão *in natura*.

### **2.2.5 Atmosfera controlada (AC)**

Armazenamento em AC consiste na modificação e controle acurado das concentrações de gases no ambiente de armazenamento, que é feito em câmaras herméticas (CHITARRA; CHITARRA, 2006). É uma tecnologia usada para prolongar o armazenamento de produtos vegetais (BEAUDRY, 1999), uma vez que, concentrações gasosas consideradas ideais colaboram com a redução da taxa respiratória, da produção de etileno e da manutenção das características físicas e químicas de frutos e hortaliças (KE et al., 1991).

Essa redução da taxa respiratória, do metabolismo vegetal, pode ser obtida com a redução do nível O<sub>2</sub> (BOERSING; KADER; ROMANI, 1988) e ou elevação do nível de CO<sub>2</sub> (KUBO; INABA; NAKAMURA, 1990) na câmara de armazenamento. A redução do nível de O<sub>2</sub> é obtida com a inserção de gás N<sub>2</sub> (TADINI, 2018). Os autores Brackmann; Chitarra (1998) sugerem que o nível de O<sub>2</sub> deve ser reduzido para 3 kPa a 1 kPa e o de CO<sub>2</sub> aumentado de 3 kPa a 15 kPa, de acordo com vegetal *in natura* a ser armazenado, para se obter o benefício da AC. Além das respostas fisiológicas do vegetal, a AC pode favorecer a qualidade sanitária.

Patógenos fúngicos podem ter seu crescimento reduzido em AC com cerca de 1,0 kPa de O<sub>2</sub>, e inibido em atmosferas superiores a 10,0 kPa de CO<sub>2</sub> (EL-GOORANI; SOMMER, 1981).

O emprego da AC, geralmente, é associado a algumas técnicas de armazenamento em pós-colheita como a baixa temperatura e elevada UR na câmara (BRACKMANN et al., 2009; WEBER et al., 2013). Para melhor manutenção da qualidade do produto em AC, alguns processos podem ser aplicados antes do armazenamento, como por exemplo, a redução inicial de umidade e o pré-resfriamento.

Em alguns experimentos, foram estudadas as modificações na atmosfera de armazenamento de pinhão e suas influências sobre a germinação, visando a produção de mudas. Sementes da *Araucaria araucana* (Mol.) C. Koch, armazenadas sob 0,0 °C e 65,0 a 85,0 % UR por até seis meses em diferentes condições atmosféricas; em condição de AR apresentaram alta perda de umidade e maiores teores de açúcares totais quando comparadas às sementes em condições de AC (com níveis de CO<sub>2</sub> de 10,0 a 20,0 kPa e O<sub>2</sub> de 5,0 kPa) e AM (embalagem de polietileno com absorvedor de etileno) (ESTEVEZ; GALLETI, 1997). Sementes de *Araucaria angustifolia* mantidas em AM (polietileno; acetato de vinil etil) por até dois anos, apresentaram melhor capacidade germinativa e menor perda de massa quando armazenadas em 0,0 °C, enquanto na temperatura de 10,0 °C foi mais perceptível a redução no teor de amido (CARRILLO et al., 2003). A velocidade da germinação e o crescimento inicial das plântulas foram avaliados em sementes de *Araucaria angustifolia* quando armazenadas sob 0,0-1,0°C e 90,0-95,0% de UR em condições de ar normal (AR), AM e AC com níveis de O<sub>2</sub> de 2,4 kPa e de CO<sub>2</sub> de 0,6 kPa. Após 60 dias de armazenamento, o percentual de germinação de pinhões em AR mostrou-se igual ou ligeiramente superior aos métodos AM e AC. A condição de AC reduziu a velocidade de germinação do pinhão (CAÇOLA et al., 2006).

Visando definir condições de AC ideais para diversos produtos vegetais, pesquisadores estudam progressivamente o efeito da AC nas respostas fisiológicas dos vegetais (BOTH et al., 2014; KADER, 1986; KUBO; INABA; NAKAMURA, 1990; MATHOOKO, 1996; SMOCK, 1979). Respostas podem variar entre produtos vegetais, cultivares, tipos de órgão e estágio de maturação (BEAUDRY, 1999),

Em frutos como a maçã, a AC é amplamente empregada e traz inúmeros benefícios, como um período de armazenamento de até nove meses (BRACKMANN

et al., 2003). Caquis sob condições de baixa concentração de O<sub>2</sub> e alta de CO<sub>2</sub> resultaram em mudanças no metabolismo da respiração, etileno, aroma, carotenóides e atributos sensoriais (LIU et al., 2004). Em erva-mate, espécie nativa da FOM, a AC proporcionou manutenção da qualidade e extensão do período de armazenamento, prazo de validade, um estímulo para a colheita no período correto, pois essa matéria-prima pode ser armazenada em AC até o processamento (THEWES et al., 2016).

No momento, não se obteve informações em literatura referente ao emprego da AC na pós-colheita do pinhão *in natura*, visando maximizar vida de prateleira desse alimento para manutenção da sua qualidade e segurança microbiológica. Estimando um aumento da produção do pinhão, decorrente de novos plantios de pinheiro-brasileiro, o seu armazenamento em AC durante todo período da entressafra pode favorecer o mercado, por regular a oferta e demanda durante todo o ano.

### 1 3 ARTIGO 1

#### 2 3.1 Efeito da temperatura, umidade relativa e atmosfera controlada no armazenamento 3 do pinhão (semente da *Araucaria angustifolia*)<sup>1</sup>

#### 4 Effect of temperature, relative humidity and controlled atmosphere in the storage of the 5 pinhão (*Araucaria angustifolia seeds*)

#### 6 RESUMO

7       Esse estudo teve como objetivos avaliar o efeito da temperatura de armazenamento, o  
8 nível de umidade relativa e as condições de atmosfera controlada sobre a qualidade do pinhão  
9 em armazenamento prolongado. Foram realizados quatro experimentos de armazenamento  
10 refrigerado (AR) e um de atmosfera controlada (AC). Foram avaliadas as temperaturas 20,0;  
11 2,0; 1,0; 0,0; e -0,5 °C, em 90 ± 3 % umidade relativa (UR); e as condições de umidade  
12 relativa foram 98; 90; e 80 % UR, a 2,0 ± 0,2 °C; nos tempos de armazenamento de 60 (exp. 1  
13 e 2) e 135 dias (exp. 3 e 4), mais 3 dias de vida de prateleira. No experimento 5, de AC, foram  
14 avaliados os níveis de pressões parciais de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (kPa O<sub>2</sub> + kPa CO<sub>2</sub>) de 20,91 + 0,04;  
15 3,00 + 0,00; 20,91 + 3,00; 20,91 + 5,00 na temperatura de 2, 0 ± 0,2 °C e UR de 90 ± 3 %  
16 durante 120 dias de armazenamento mais 7 dias de vida de prateleira. A qualidade do pinhão  
17 armazenado foi avaliada quanto à perda de massa, taxa respiratória, produção de etileno, cor  
18 da casca, firmeza da polpa e incidência de fungos. Em AR, quanto menor a temperatura,  
19 menor é a taxa respiratória e, quanto mais elevada a UR, menor é a perda de massa dos  
20 pinhões. As condições ideais estão na faixa de 1,0 – 0,0 °C e 90 – 98 % UR. Entretanto,  
21 pinhões em AC apresentaram menor atividade respiratória, menor perda de massa e menor  
22 incidência de fungos, em níveis 3,0 kPa O<sub>2</sub> ou 3,0 kPa CO<sub>2</sub>, quando comparados com o  
23 armazenamento refrigerado.

24 **Palavras-chave:** semente do pinheiro-brasileiro, qualidade, perda de massa.

---

<sup>1</sup> Artigo nas normas da Revista Ciência Rural – ISSN Eletrônico 1678-4596

## 1 ABSTRACT

2 The objective of this study was to evaluate the effect of storage temperature, relative humidity  
3 level and controlled atmosphere conditions on the quality of the pinhão in prolonged storage.  
4 Four experiments were carried out with refrigerated storage and one with controlled  
5 atmosphere (CA). The temperatures adopted were 20.0; 2.0; 1.0; 0.0; and -0.5 °C, in 90 ± 3%  
6 relative humidity (RH); and relative humidity conditions were 98; 90; and 80% RH, at 2.0 ±  
7 0.2 ° C; at storage times of 60 (exp. 1 and 2) and 135 days (exp. 3 and 4), plus 3 days of shelf  
8 life. At the 5<sup>th</sup> experiment, of CA, the O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> (kPa O<sub>2</sub> + kPa CO<sub>2</sub>) partial pressure levels  
9 adapted were: 20.91 + 0.04; 3.00 + 0.00; 20.91 + 3.00; 20.91 + 5.00 at the temperature of 2.0  
10 ± 0.2 ° C and 90 ± 3 % RH) during 120 days of storage plus 7 days shelf life. The quality of  
11 the stored pinhão was evaluated as: mass loss; respiration rate; ethylene production; shell  
12 color; pulp firmness; and incidence of fungi. In refrigerated storage, the lower the temperature  
13 reduction resulted in lower respiratory rate, and the higher RH reduced the mass loss of the  
14 pinhões. The ideal storage conditions are in the range of 1.0 - 0.0 ° C and 90 - 98% RH.  
15 However, pinhões in CA had lower respiratory activity, lower mass loss and lower incidence  
16 of fungi, at levels 3.0 kPa O<sub>2</sub> or 3.0 kPa CO<sub>2</sub>, when compared with refrigerated storage.

17 **Key words:** Brazilian pine seed, quality, weight loss.

18

### 19 3.1.1 INTRODUÇÃO

20 A *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze, popularmente chamada de  
21 pinheiro-brasileiro, pinheiro-do-paraná e araucária, é uma conífera dióica nativa do Brasil  
22 (CARVALHO, 2002; BALBUENA et al., 2011; BRASIL, 2011; LORENZI, 2014;  
23 ZANETTE et al., 2017), que ocorre naturalmente pelos estados da região sul e em manchas  
24 esparsas da região sudeste (FOWLER et al., 1998; CARVALHO, 2002; LORENZI, 2014). O  
25 diásporo do pinheiro-brasileiro é considerado sua semente com invólucros e chamada de

1 pinhão (CARVALHO, 2002; GARCIA et al., 2014). Sua polpa, amêndoa, é comestível  
2 (BELLO-PÉREZ et al., 2006), um alimento fonte de amido, fibra dietética, magnésio e cobre  
3 e, é considerado de baixo índice glicêmico (CORDENUNSI et al., 2004).

4 O pinhão é um alimento de importância cultural, social e econômica na região sul  
5 (DANNER et al., 2012; BRASIL, 2011). Na atualidade a produção de pinhão é vista como  
6 uma ferramenta para gerar renda e incentivar o plantio e preservação do pinheiro-brasileiro  
7 (BRASIL, 2011; DANNER et al., 2012; ZANETTE et al., 2017), espécie ameaçada de  
8 extinção (IBAMA, 1992; BRASIL 2014). Porém, o incentivo à produção, comercialização e  
9 industrialização requer definições de métodos para conservação pós-colheita do pinhão *in*  
10 *natura* (SANTOS et al., 2002).

11 Sua comercialização é restrita ao período da safra (SANTOS et al., 2002), que ocorre  
12 entre abril e agosto (CARVALHO, 2002). A pós-colheita é caracterizada pelo longo período  
13 de entressafra e breve vida de prateleira, que decorre de fatores intrínsecos (fisiologia  
14 recalcitrante, elevada umidade e atividade de água) e extrínsecos (ataques biológicos, broca-  
15 do-pinhão e fungos, condições inadequadas de armazenamento).

16 Para manutenção de viabilidade fisiológica do pinhão por até 12 meses, recomenda-se  
17 o armazenamento em embalagem de polietileno (espessura 24  $\mu\text{m}$ ), sob  $\pm 5\text{ }^\circ\text{C}$  e  $\pm 89\%$  UR,  
18 pois mantém o teor de umidade da semente ( $\pm 43\%$ ) e expressiva germinação ( $\pm 61\%$ )  
19 (FOWLER et al., 1998; HENNIPMAN et al., 2017). No entanto, a germinação é indesejável  
20 no comércio do pinhão como alimento *in natura* e matéria prima para indústria. Amarante et  
21 al. (2007) estudaram as temperaturas 2; 10; 20; 30; 40 e 50  $^\circ\text{C}$ , associadas a  $90 \pm 2\%$  UR; e  
22 observaram que o armazenamento refrigerado (AR) a 2  $^\circ\text{C}$ , favorece a conservação do pinhão  
23 *in natura* por 3 meses e inibe fortemente a germinação (1%), entretanto apresenta 13% de  
24 perda de massa. Eles sugerem o armazenamento em temperatura próxima de 0,0  $^\circ\text{C}$  e elevada  
25 UR.

1 A literatura demonstra a necessidade de se definir uma condição ideal de temperatura,  
2 de UR e, avaliar a associação com outras técnicas para reduzir o metabolismo e perda de  
3 massa. A redução do metabolismo pode ser obtida com a modificação da pressão parcial de  
4 O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> na câmara refrigerada, tecnologia denominada atmosfera controlada (AC). Utiliza-se  
5 a AC para prolongar o armazenamento de produtos vegetais (BEAUDRY, 1999), entretanto,  
6 no momento, não se tem informações em literatura sobre o emprego da AC no  
7 armazenamento do pinhão.

8 Sabendo-se da importância cultural e socioeconômica do pinhão e, sua produção ser  
9 vista como geração de renda e ferramenta para incentivo ao plantio e preservação da  
10 *Araucaria angustifolia*, são necessários estudos de novas técnicas para seu armazenamento  
11 visando prolongar o período de oferta desse alimento de alta qualidade.

12 Esse estudo teve como objetivos avaliar o efeito da temperatura de armazenamento, o  
13 nível de umidade relativa e as condições de atmosfera controlada sobre a qualidade do pinhão  
14 em armazenamento prolongado.

15

### 16 **3.1.2 MATERIAL E MÉTODOS**

#### 17 *3.1.2.1 Material vegetal e homogeneização das amostras*

18 Os pinhões foram obtidos com coletores, agricultores familiares, no município de  
19 Muitos Capões - RS, Brasil (latitude 28° Sul, longitude 51° Oeste e altitude 937m), no mês de  
20 abril, em dois anos consecutivos (2013 e 2014). Em seguida os pinhões foram transportados  
21 ao laboratório do Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita da Universidade Federal de Santa  
22 Maria (NPP-UFSM), em Santa Maria – RS, onde inicialmente passaram pelas etapas de  
23 limpeza, seleção e secagem. Na limpeza foi usado o fluxo de ar forçado para remoção de  
24 partículas de baixa densidade (poeira, folhas e falhas). Em seguida foram selecionados  
25 pinhões livres de danos aparentes (rachaduras, quebras, fungos, furos) e defeitos (chochos e

1 falhas) e homogêneos quanto ao tamanho e à maturação. A secagem, que objetivou a redução  
2 da umidade inicial, consistiu no uso contínuo de fluxo de ar aquecido,  $8,5 \pm 0,2$  km/h e  $26 \pm 2$   
3 °C, por quatro dias. Posteriormente, os pinhões foram mantidos em condições de temperatura  
4 ambiente para a instalação do experimento.

5

### 6 *3.1.2.2 Experimentos*

7 Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC),  
8 composto por quatro unidades amostrais para cada tratamento. Cada unidade amostral,  
9 representada por 100 sementes, foi embalada em saco de TNT (tecido não tecido), com  
10 dimensões de 22 cm de largura e 30 cm de altura, e acondicionada em minicâmara  
11 experimental de 80 L, onde foi aplicado o respectivo tratamento. As minicâmaras  
12 experimentais foram alocadas no interior de câmaras frigoríficas maiores e, para cada  
13 temperatura foi utilizada uma câmara diferente.

14 Simulando o enchimento de câmaras comerciais, foi realizado o seguinte processo: as  
15 minicâmaras permaneceram abertas por dois dias a  $5 \pm 2$  °C e  $80 \pm 5$  %UR, exceto o  
16 tratamento de temperatura ambiente (20°C); no terceiro dia todas as minicâmaras foram  
17 fechadas e a temperatura das câmaras ajustadas aos níveis preestabelecidos para cada  
18 tratamento. As minicâmaras de AR permaneceram semiabertas a fim de manter trocas gasosas  
19 com o ambiente da câmara refrigerada, enquanto que as minicâmaras de AC foram fechadas  
20 hermeticamente; no quarto dia as pressões parciais de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> foram ajustadas para cada  
21 tratamento. Foram realizados dois experimentos no ano 2013 (exp. 1 e 2) e três no ano 2014  
22 (exp. 3, 4 e 5), totalizando cinco experimentos:

23 *Experimento 1:* teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes temperaturas sobre a qualidade  
24 de pinhões armazenados em elevada UR ( $90 \pm 3$  %) por 60 dias, e mais 3 dias de vida de

1 prateleira. Os pinhões, em armazenamento refrigerado (AR), foram expostos às temperaturas  
2 20,0 °C; 2,0 °C; 1,0 °C; 0,0 °C e -0,5 °C.

3 *Experimento 2:* objetivou avaliar o efeito de diferentes níveis de umidade relativa sobre a  
4 qualidade de pinhões em AR de  $2,0 \pm 0,2$  °C por 60 dias e mais 3 dias de vida de prateleira.  
5 Os níveis de UR avaliados foram 98 %; 90 % e 80 %.

6 *Experimento 3:* o objetivo desse experimento foi avaliar o efeito de diferentes temperaturas  
7 sobre a qualidade de pinhões armazenados em elevada UR ( $90 \pm 3$  %) por 135 dias e mais 3  
8 dias de vida de prateleira. Os pinhões em AR, foram expostos às temperaturas de 20,0 °C; 2,0  
9 °C; 1,0 °C; 0,0 °C e -0,5 °C.

10 *Experimento 4:* teve como objetivo a avaliação do efeito de diferentes percentuais de umidade  
11 relativa sobre a qualidade de pinhões em AR ( $2,0 \pm 0,2$  °C) por 135 dias e mais 3 dias de vida  
12 de prateleira. As condições de UR estudadas foram 98; 90 e 80 %.

13 *Experimento 5:* esse experimento objetivou avaliar o efeito de diferentes condições de  
14 atmosfera controlada (AC) sobre a qualidade de pinhões armazenados por 120 dias na  
15 temperatura de  $2,0 \pm 0,2$  °C e elevada UR ( $90 \pm 3$  %) e mais 7 dias de vida de prateleira. As  
16 condições atmosféricas avaliadas foram 20,91 kPa O<sub>2</sub> + 0,04 kPa CO<sub>2</sub> (AR, controle); 3,00  
17 kPa O<sub>2</sub> + 0,00 kPa CO<sub>2</sub> (AC 1); 20,91 kPa O<sub>2</sub> + 3,00 kPa CO<sub>2</sub> (AC 2); e 20,91 kPa O<sub>2</sub> +  
18 5,00 kPa CO<sub>2</sub> (AC 3).

19

### 20 3.1.2.3 Controle da temperatura e umidade relativa do ar

21 A temperatura de cada câmara frigorífica foi controlada por termostatos eletrônicos e  
22 monitorada diariamente por meio de termômetros de bulbo de mercúrio, com resolução de 0,1  
23 °C, acondicionados no interior das câmaras.

24 A umidade relativa do ar foi monitorada por meio de psicrômetros, com termômetros  
25 de mercúrio, colocados dentro das minicâmaras. Utilizou-se cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) para

1 absorver parte da umidade, visando manter a umidade correta preestabelecida para cada  
2 tratamento dos experimentos. O  $\text{CaCl}_2$  foi colocado no interior das minicâmaras em vasilha  
3 plástica com tampa retrátil. O controle da umidade foi feito via abertura ou fechamento  
4 gradativa da tampa retrátil para uma maior ou menor exposição da solução higroscópica.

5

#### 6 *3.1.2.4 Instalação e controle da atmosfera*

7 As condições de AC foram instaladas mediante a injeção de  $\text{N}_2$  gasoso, proveniente de  
8 um gerador de  $\text{N}_2$ , que funciona pelo princípio “Pressure Swing Adsorption” (PSA). A  
9 pressão parcial do  $\text{O}_2$  foi reduzida pelo princípio da diluição com  $\text{N}_2$  até o nível  
10 preestabelecido. As pressões parciais de  $\text{CO}_2$  foram obtidas mediante injeção deste gás,  
11 provenientes de cilindros de alta pressão, no interior das minicâmaras. No interior da  
12 minicâmara do tratamento com nível de 0,00 kPa  $\text{CO}_2$  foram colocados envelopes de papel  
13 Kraft, contendo hidróxido de cálcio (cal hidratada) com a finalidade de absorver o  $\text{CO}_2$   
14 formado pela respiração do pinhão. Durante o período de armazenamento, as pressões parciais  
15 dos gases  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$  foram monitoradas e corrigidas manualmente a cada cinco dias, usando  
16 analisadores de  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$  da marca Agri-datalog.

17

#### 18 *3.1.2.7 Amostragem*

19 Em todos os experimentos as amostras foram analisadas na instalação do experimento  
20 (inicial), após o período de armazenamento (saída da minicâmara) e ao final do período da  
21 vida de prateleira (+ 3 dias ou + 7 dias). Nas avaliações, cada unidade amostral foi  
22 representada por 10 sementes, exceto nas análises de incidência de fungos onde todas as 100  
23 sementes de cada unidade amostral foram avaliadas. Em todos os experimentos a vida de  
24 prateleira simulou as condições de ambiente semelhantes àquelas que ocorrem durante a

1 comercialização da semente no varejo, sendo os pinhões mantidos em recipientes plásticos  
2 abertos sob  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $70 \pm 5\%$  UR.

3

#### 4 3.1.2.6 Avaliações

5 Foram realizadas análises físicas para avaliar o efeito das diferentes condições de  
6 armazenamento estudadas e, com o avançar dos estudos foi incluída a análise de incidência de  
7 fungos. Assim, a qualidade do pinhão *in natura* armazenado foi avaliada quanto:

8 a) *perda de massa*: as unidades amostrais das sementes foram pesadas em balança eletrônica  
9 com precisão de 0,1g, e a diferença de massa entre as avaliações foi acumulada. A perda de  
10 massa ao final da vida de prateleira não foi somada à perda da saída do armazenamento. Os  
11 resultados foram expressos em porcentagem.

12 b) *respiração*: determinada pela quantificação da produção de  $\text{CO}_2$ . Foram colocadas 10  
13 sementes em recipiente de 0,8 L mantido hermeticamente fechado por aproximadamente por 1  
14 h a  $20,0^\circ\text{C}$ . O ar do recipiente foi circulado através de um analisador de  $\text{CO}_2$  marca Agri-  
15 datalog e, a produção de  $\text{CO}_2$  foi calculada, em função da concentração do gás no recipiente  
16 no momento da determinação, da massa das sementes, do volume do espaço livre no  
17 recipiente e do tempo de fechamento. Resultados expressos em  $\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , adaptado da  
18 metodologia de Both et al. (2014).

19 c) *produção de etileno*: realizada em dois momentos, antes do armazenamento e na saída da  
20 minicâmara. A mesma amostra de sementes que permaneceu fechada para avaliação da  
21 respiração foi utilizada para esta análise, no entanto o tempo que o recipiente permaneceu  
22 fechado foi de 2,5 h. Foram retiradas duas amostras de 1 mL de ar do *headspace* de cada  
23 recipiente e imediatamente injetadas em cromatógrafo a gás, marca Varian® modelo Star  
24 3400CX, equipado com um detector por ionização de chama (FID) e coluna Porapak N80/100  
25 de dois metros de comprimento. As temperaturas da coluna, injetor e detector eram de 90; 140

1 e 200 °C, respectivamente. A produção do etileno foi determinada em função da concentração  
2 do gás no recipiente no momento da determinação, da massa das sementes, do volume do  
3 espaço livre no recipiente e do tempo de fechamento, sendo expresso em  $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ,  
4 adaptação da metodologia de Both et al. (2014).

5 *d) cor da casca:* análise de cor da casca foi realizada nas sementes cruas com um colorímetro  
6 Minolta<sup>®</sup> modelo CR-310, com leitura direta de reflectância das coordenadas L\*  
7 (luminosidade, indica a variação do preto (0) ao branco (100)), a\* (indica a variação de cor do  
8 verde (-) até o vermelho (+)), b\* (indica a variação de cor do azul (-) até o amarelo (+)).  
9 Realizadas 10 determinações para cada unidade amostral.

10 *e) firmeza:* determinada após o cozimento sob pressão das sementes em água destilada por 45  
11 minutos; depois da cocção foram mantidas em caixa de isopor, visando não reduzir a  
12 temperatura até a leitura. As sementes foram descascadas (removidos os dois invólucros) e a  
13 firmeza da amêndoa foi avaliada nas duas extremidades, onde foram perfuradas com ponteira  
14 2 mm de diâmetro, de penetrômetro manual, marca Effegi, sendo os valores expressos em  
15 Newton (N).

16 *f) incidência de fungos:* através da avaliação visual de sementes (cruas), identificando-se  
17 aquelas com presença de estruturas fúngicas na casca (invólucro externo). Foi calculada a  
18 porcentagem de sementes afetadas. Ao final da vida de prateleira, o percentual foi somado à  
19 incidência da saída do armazenamento.

20

### 21 3.1.2.7 Análise estatística

22 Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo verificado o  
23 efeito da interação e de cada fator pelo teste F ( $p < 0,05$ ). Comparação de médias foi realizada  
24 usando teste de Tukey, para examinar se as diferenças entre as variáveis foram significativas a  
25  $p \leq 0,05$ . Os dados expressos em porcentagem foram transformados pela fórmula

1  $\text{arc.sen}\sqrt{x}/100$  antes da análise de variância. Para realização da análise estatística foram  
2 utilizados os softwares Microsoft Office Excel<sup>®</sup> e o SisVar, da Universidade Federal de  
3 Lavras (FERREIRA, 2000).

### 4 **3.1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

5 Em todos os experimentos e avaliações, inicial, saída do armazenamento e final de  
6 vida de prateleira, não foi quantificada a produção de etileno nos pinhões, em níveis  
7 detectáveis através de cromatografia gasosa. Esse resultado está em acordo com o observado  
8 pelos pesquisadores Amarante et al. (2007) que sugerem que a temperatura de armazenamento  
9 não influencia na biossíntese do etileno em pinhão. O fitohormônio etileno atua em vários  
10 processos fisiológicos como maturação, amadurecimento e senescência (TAIZ & ZEIGER,  
11 2017), entretanto, em pinhão, esse hormônio apresenta reduzido ou nenhum controle sobre a  
12 perda de viabilidade fisiológica (AMARANTE et al., 2007).

13 No experimento 1, os pinhões armazenados em temperatura elevada, 20 °C,  
14 apresentaram maior atividade respiratória e, conseqüentemente, maior perda de massa e maior  
15 firmeza, diferindo estatisticamente das temperaturas inferiores, 2; 1; 0; -0,5 °C (Tabelas 1), e  
16 embora não tenha diferido na análise de cor da casca de pinhões crus, apresentaram-se mais  
17 claros, L\* (Tabela 2). Na saída do armazenamento, a taxa respiratória de pinhões  
18 armazenados em 20 °C foi aproximadamente o dobro da observada em pinhões sob as  
19 temperaturas 2; 1; 0 °C e cerca de duas vezes maior que a taxa daqueles sob -0,5 °C.  
20 Amarante et al. (2007) observaram uma taxa respiratória de cerca de duas vezes e meia maior  
21 em pinhões armazenados por 24 horas em  $90 \pm 2$  % UR na faixa de temperatura entre 2 °C e  
22 37,1 °C.

23 Os resultados demonstram que a temperatura 20 °C propicia uma elevada taxa  
24 respiratória, e, conseqüentemente, maior gasto energético, favorecendo a maior perda de  
25 massa, desidratação, perda de atributo de qualidade do pinhão. Portanto é desaconselhada a

1 atual forma de exposição do pinhão *in natura* em gôndolas sob condições ambiente, no  
2 comércio varejista onde é vendido ao quilo, por ter como consequências o desestímulo do  
3 consumo e prejuízo econômico.

4 Tais observações estão em acordo com a literatura. Pinhões *in natura* mantidos em  
5 saco plástico aberto sob condições ambiente, sem controle térmico e de UR, aos 60 dias  
6 apresentaram acentuada perda de qualidade, visivelmente desidratados, não sendo indicados  
7 ao consumo como alimento (DAVID & SILOCHI, 2010). Segundo Amarante et al. (2007)  
8 pinhões mantidos em  $90 \pm 2$  % UR sob 20 °C e 30 °C apresentam maiores valores de taxa  
9 respiratória e germinação até 26 dias de armazenamento. Caracterizado como período de  
10 consumo acelerado de reservas e maior desidratação, após o qual apresentaram menor  
11 atividade metabólica. No presente estudo (Tabela 1) pinhões armazenados por 60 dias à 20 °C  
12 não apresentaram perda de massa após 3 dias de vida de prateleira.

13 A taxa respiratória foi significativamente menor em pinhões na temperatura -0,5 °C  
14 aos 60 dias, entretanto, a perda de massa (7,5 %) não diferiu daqueles sob temperaturas 0 °C e  
15 1 °C. Embora aqueles em 1 °C apresentaram menor firmeza após vida de prateleira. A perda  
16 de massa foi menor aos 60 dias em pinhões sob 2 °C, 4,4%, e maior sob 20 °C, 13,3% (Tabela  
17 1). Esses valores são inferiores aos observados por Amarante et al. (2007), onde pinhões em  
18 AR com  $90 \pm 2$  % UR apresentaram aproximadamente 15 % e 10 % de perda de massa sob 20  
19 °C e 2 °C, respectivamente. De forma geral, após o armazenamento, os pinhões apresentaram  
20 cor da casca mais clara ( $L^*$ ), vermelha ( $a^*$ ) e amarela ( $b$ ), caracterizando seu envelhecimento  
21 (Tabela 2).

22 No experimento 2 foram verificados resultados negativos para a condição baixa UR,  
23 80 %, em que pinhões apresentaram maior perda de massa, com um conseqüente aumento da  
24 firmeza, (Tabela 3) e cor da casca mais clara ( $L^*$ ) (Tabela 4). Enquanto que pinhões em alta  
25 UR, 98 %, apresentaram resultados positivos, com menor perda de massa e menor firmeza aos

1 60 dias (Tabela 3) e melhor manutenção da cor da casca. Não houve diferença estatística para  
2 as condições 90 e 98 % UR na taxa respiratória, entretanto, diferiram na perda de massa e  
3 firmeza (Tabela 3). Ao final da vida de prateleira observou-se um número considerável de  
4 pinhões apresentando estruturas fúngicas. Fato a ser considerado, em trabalhos futuros, para  
5 incluir análise da incidência de fungos, principalmente em pinhões armazenados em elevada  
6 UR. Segundo Hennipman et al. (2017) a alta UR favorece o ataque de fungos em pinhão.

7 Os resultados dos experimentos 1 e 2, do primeiro ano de pesquisa, demonstram que  
8 no AR a temperatura está relacionada à atividade respiratória, enquanto que o controle da UR,  
9 à manutenção da massa.

10 Devido à sua fisiologia recalcitrante, o pinhão apresenta gradual perda de viabilidade  
11 (FARRANT et al., 1989; FOWLER et al., 1998; BALBUENA et al., 2011), que é reduzida  
12 totalmente em 120 dias (LORENZI, 2014) ou 180 dias após a maturação (FOWLER et al.,  
13 1998). Há falta de pesquisas com sementes recalcitrantes, devido à dificuldade de  
14 armazenamento dessas sementes (HENNIPMAN et al., 2017). A curta longevidade,  
15 viabilidade, das sementes recalcitrantes é devido à intolerância à desidratação, essas sementes  
16 são liberadas da planta matriz com um conteúdo de água relativamente alto e metabolismo  
17 ativo (TAIZ & ZEIGER, 2017). Quando atinge a maturidade, o pinhão apresenta cerca de 50  
18 % de grau de umidade (HENNIPMAN et al., 2017), na coleta apresenta entre 45 % (GARCIA  
19 et al., 2014) e 43 % (FOWLER et al., 1998); e a sua viabilidade não é afetada até o valor de  
20 37 % (TOMPSETT, 1984).

21 Os resultados do experimento 1 (Tabela 1) são reafirmados nos resultados do  
22 experimento 3 (Tabela 5). O último traz dados importantes sobre o efeito do tempo de  
23 armazenamento. A perda de massa na saída do armazenamento aos 135 dias é  
24 aproximadamente 3 vezes maior que a perda na saída aos 60 dias. Mas, diferente do  
25 experimento 1 (Tabela 1), pinhões após armazenamento prolongado sob 20 °C apresentaram

1 atividade respiratória semelhante aos valores dos pinhões mantidos sob baixa temperatura  
2 (Tabela 5), possivelmente para manutenção do metabolismo, em razão dos gastos das reservas  
3 energéticas e desidratação. Garcia et al. (2014) relatam a redução do metabolismo de pinhões  
4 embalados (plástico transparente com espessura de 0,015  $\mu\text{m}$ ) e armazenados em ambiente  
5 refrigerado (5 °C e 45 % UR), que mantiveram a viabilidade até 180 dias, apresentando 64 %  
6 de germinação e 44 % de grau de umidade; o microambiente úmido na embalagem favoreceu  
7 a redução de apenas 1 % do grau de umidade inicial.

8         Pinhões em 20 °C e -0,5 °C diferiram daqueles em 2 °C, por apresentarem maior perda  
9 de massa, desidratação. Resultando em menor incidência de fungos, maior firmeza (20 °C)  
10 (Tabela 5), cor da casca mais clara, L\* (Tabela 6). Pinhões em 2 °C diferiram dos demais por  
11 apresentarem menor perda de massa e maior incidência de fungos (Tabela 5). Praticamente o  
12 dobro de incidência daqueles em 1 °C e 0 °C, seis vezes e nove vezes maior daqueles em -0,5  
13 °C e 20 °C, respectivamente. Nota-se que a incidência de fungos é inversamente proporcional  
14 à perda de massa, ou seja, quanto mais desidratado o pinhão (20 °C e -0,5 °C) menor a  
15 incidência.

16         Embora a temperatura 2 °C tenha favorecido à menor perda de massa dos pinhões,  
17 esses não diferiram na taxa respiratória, firmeza e cor daqueles em 1 °C e 0 °C, sendo a faixa  
18 de temperatura de 1 °C a 0 °C mais indicada para o armazenamento prolongado de pinhões *in*  
19 *natura* em AR, por apresentarem menor incidência de fungos. A literatura atual sugere que  
20 temperaturas próximas a 0 °C seriam ideais à manutenção da viabilidade e qualidade do  
21 pinhão, mas não define uma faixa, uma vez que cada autor apresentou apenas uma  
22 temperatura, 2 °C (AMARANTE et al., 2007) e 5 °C (GARCIA et al., 2014).

23         No experimento 4, a condição 80 % UR diferiu das outras duas, na saída do  
24 armazenamento; pinhões em 80 % UR apresentaram maior perda de massa e firmeza, menor  
25 incidência de fungos (Tabela 7) e maior luminosidade (L\*) na cor da casca (Tabela 8) .

1 A condição 98 % UR diferiu das demais em razão da menor perda de massa e  
2 manutenção da cor menos clara ( $L^*$ ) e amarela ( $b^*$ ) que os demais. Resultados semelhantes  
3 aos do experimento 2, exceto a perda de massa que no maior tempo de armazenamento foi  
4 cerca de três vezes maior às respectivas condições de UR do experimento 2 (Tabelas 3 e 7).

5 O metabolismo foi reduzido no armazenamento prolongado, assim como visto no  
6 experimento 3. Aos 135 os pinhões nas três condições de UR (Tabela 7) apresentaram taxa  
7 respiratória inferior à taxa observada aos 60 dias, no experimento 2 (Tabela 3), no entanto o  
8 mesmo não ocorreu ao fim da vida de prateleira.

9 Pinhões em 90 % UR apresentaram perda de massa três vezes maior que aqueles em  
10 98 %, entretanto foram semelhantes na firmeza e incidência de fungos. Sugere-se, a partir dos  
11 resultados dos experimentos 2 e 4, o armazenamento de pinhões entre 90 – 98 % UR em AR,  
12 com a necessidade de associar a um método que diminua a incidência de fungos.

13 No experimento 5, na saída do armazenamento, pinhões em condição AC2 (3 kPa  
14  $CO_2$ ) diferiram estatisticamente ao apresentarem menor perda de massa, seguido dos pinhões  
15 em AC1 (3 kPa  $O_2$ ) (Tabela 9). Ambas condições favoreceram à menor taxa respiratória  
16 (Tabela 9). Pinhões armazenados em AR, tratamento controle, e em AC3 apresentaram  
17 maiores taxa respiratória e perda de massa aos 120 dias. Os resultados indicam o uso de  
18 baixos níveis de  $O_2$  (AC1) e elevados níveis de  $CO_2$  (AC2) para redução do metabolismo e  
19 manutenção da qualidade do pinhão.

20 Todos os tratamentos apresentaram discreta redução na firmeza, em relação à análise  
21 inicial (Tabela 9), e não diferiram entre si na análise de cor (Tabela 10). No geral, a cor da  
22 casca dos pinhões ficou um pouco mais clara ( $L^*$ ), mais vermelhas ( $a^*$ ) e menos amarelas  
23 ( $b^*$ ) (Tabela 10) do que na análise inicial.

24 Caçola et al. (2006) verificaram, aos 60 dias, 98 % de pinhões geminados em AR e a  
25 germinação de 96 % de pinhões em AC (2,4 kPa  $O_2$  + 0,6 kPa  $CO_2$ ). Embora os percentuais

1 sejam próximos, a condição AC reduziu a velocidade de germinação, um resultado indesejado  
2 para os pesquisadores. Entretanto, o resultado desses autores demonstra que pinhões em AC  
3 não apresentaram perda de viabilidade e sim redução do metabolismo, quando em baixo nível  
4 de O<sub>2</sub> (2,4 kPa O<sub>2</sub>) e aumento o de CO<sub>2</sub> (0,6 kPa CO<sub>2</sub>). Assim como observado no presente  
5 trabalho, em pinhões armazenados nos níveis de 3 kPa O<sub>2</sub> ou de 3 kPa CO<sub>2</sub>, com redução na  
6 taxa respiratória e, conseqüentemente, na perda de massa (Tabela 9).

7

### 8 **3.1.4 CONCLUSÃO**

9 O armazenamento do pinhão *in natura* em AR requer baixa temperatura e alta UR. A  
10 faixa de temperatura 0 – 1 °C é indicada, quando em 90 ±3 % de UR. Os níveis de UR entre  
11 90 – 98 % reduzem a perda de massa, entretanto, tais condições favorecem a maior incidência  
12 de fungos.

13 No armazenamento prolongado de pinhões em AC, as condições com redução do nível  
14 de O<sub>2</sub> (3 kPa O<sub>2</sub>) ou elevação do de CO<sub>2</sub> (3 kPa CO<sub>2</sub>), quando em 2,0 ±0,2 °C e 90 ±3 % de  
15 UR , reduzem a taxa respiratória, a perda de massa e incidência de fungos.

16 Novos experimentos são necessários para verificar essa faixa de temperatura em  
17 condições de AC com alterações simultâneas dos níveis de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>.

18

### 19 **3.1.5 AGRADECIMENTOS**

20 Os autores agradecem à Embrapa Florestas pela concessão de bolsa de iniciação científica ao  
21 estagiário Lucas Mallmann Wendt.

22 O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de  
23 Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

24

25

### 1 3.1.6 DECLARAÇÃO DE CONFLITOS DE INTERESSES

2 Os autores afirmam não haver conflitos de interesses a declarar.

3

### 4 3.1.7 REFERÊNCIAS

5 AMARANTE, C.V.T. et al. Conservação pós-colheita de pinhões [semente de *Araucaria*  
6 *angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze] armazenados em diferentes temperaturas. **Ciência**

7 **Rural**, v. 37, n.2, p. 346-351. mar./abr. 2007. Disponível em:

8 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-)

9 84782007000200008&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 20 jul. 2014. DOI: 10.1590/S0103-

10 84782007000200008.

11 BALBUENA, T.S. et al. Differential proteome analysis of mature and germinated embryos of  
12 *Araucaria angustifolia*. **Phytochemistry**, v. 72, n. 4-5, p. 302-311, apr. 2011. Disponível em:

13 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942210004711?via%3Dihub#!>>

14 Acesso em: 23 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.12.007.

15 BEAUDRY, R.M. Effect of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> partial pressure on selected phenomena affecting  
16 fruit and vegetable quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, n. 3, p. 293-303,

17 mar. 1999. Disponível em:

18 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521498000921?via%3Dihub>>.

19 Acesso em: 26 fev. 2017. DOI: 10.1016/S0925-5214(98)00092-1.

20 BELLO-PÉREZ, L.A. et al. Isolation and Characterization of Starch from Seeds of *Araucaria*  
21 *brasiliensis*: A novel Starch for Application in Food Industry. **Starch/Starke**, v. 58, n.6, p.

22 283-291, jun. 2006. Disponível em:

23 <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/star.200500455>>. Acesso em: 21 mar. 2017.

24 DOI:<http://dx.doi.org/10.1002/star.200500455>.

25

- 1 BOTH, V. et al. Effect of storage under extremely low oxygen on the volatile composition of  
2 Royal Gala apples. **Food Chemistry**. v. 156, n. 1, p. 50-57, aug. 2014. Disponível em:  
3 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614001265>>. Acesso em: DOI:  
4 10.1016/j.foodchem.2014.01.094
- 5 BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Espécies nativas da flora brasileira de valor**  
6 **econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Editores Lidio Coradin,  
7 Alexandre Siminski, Ademir Reis. – Brasília: MMA, 2011. 934 p. (Série Biodiversidade  
8 nº40). Disponível em:  
9 <[http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008\\_dcbio/\\_ebooks/regiao\\_sul/Regiao\\_Sul.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008_dcbio/_ebooks/regiao_sul/Regiao_Sul.pdf)>.  
10 Acesso em: 02 mar. 2016.
- 11 BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº443, de 17 de dezembro de 2014.  
12 Trata de reconhecer como espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção aquelas  
13 constantes da "Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção". **Diário**  
14 **Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 dez. 2014. nº 245, seção 1, p.  
15 110-121, Disponível em:  
16 <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=18/12/2014&jornal=1&pagina=110&totalArquivos=144>> Acesso em: 02 mar. 2016.
- 17 CAÇOLA, A.V. et al. Qualidade Fisiológica de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.)  
18 Kuntze submetidas a diferentes condições de armazenamento e escarificação. **Ciência**  
19 **Florestal**, v.16, n.4, p.391-398. 2006. Disponível em:  
20 <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/1920>>.
- 21 CARVALHO, P.E.R. Pinheiro-do-paraná. Colombo: **Embrapa Florestas**, 2002. 17 p.  
22 (Circular Técnica 60). Disponível em:  
23 <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/304455>>. Acesso em: 15 jan.  
24 2016.  
25

- 1 CORDENUNSI, B.R. et al. Chemical composition and glyceemic index of Brazilian Pine  
2 (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11,  
3 p. 3412-3416, apr. 2004. Disponível em: < <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0348141>>.  
4 Acesso em: 28 mar. 2017. DOI: 10.1021/jf0348141.
- 5 DANNER, M.A. et al. O cultivo da araucária para produção de pihões como ferramenta para  
6 conservação. **Pesquisa Florestal Brasileira**, vol. 32, n. 72, p. 441-451, out./dez. 2012.  
7 Disponível em: <[https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/379/pdf\\_19](https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/379/pdf_19)>.  
8 Acesso em: 15 jan. 2016. DOI: 10.4336/2012.pfb.32.72.441.
- 9 DAVID, A.A.R.; SILOCHI, R.M.H.Q. Avaliação de métodos para conservação de pinhão.  
10 **Revista Faz Ciência**, v. 12, n. 15, p. 207-216, jun. 2010. Disponível em: < [http://e-](http://e-revista.unioeste.br/index.php/fazciencia/article/view/7521)  
11 [revista.unioeste.br/index.php/fazciencia/article/view/7521](http://e-revista.unioeste.br/index.php/fazciencia/article/view/7521)> . Acesso em: 23 mar. 2017.
- 12 FARRANT, J.M. et al. Germination-associated events and the desiccation sensitivity of  
13 recalcitrant seeds - a study on three unrelated species. **Planta**. v.178, n.2, p. 189-98, may.  
14 1989. DOI: 10.1007/BF00393194.
- 15 FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows: versão 4.0. **In:**  
16 REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE  
17 BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos, SP. **Programas e Resumos...** São Carlos: UFSCar.  
18 235p. 2000.
- 19 FOWLER, J.A.P. et al. Conservação de sementes de pinheiro do Paraná sob diferentes  
20 condições de ambientes e embalagens. Colombo: **Embrapa-CNPf**, dec. 1998. 4p.  
21 (Comunicado Técnico, 34). Disponível em:  
22 <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/290875/1/comtec34.pdf>>. Acesso em:  
23 20 jul. 2014.
- 24 GARCIA, C. et al. Conservação da viabilidade e vigor de sementes de *Araucaria angustifolia*  
25 (Bertol.) Kuntze durante o armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 4, p. 857-867, dez.

- 1 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1980-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-)  
2 50982014000400857&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 11 jun. 2015. DOI:  
3 10.5902/1980509816586.
- 4 HENNIPMAN, H.S. et al. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de *Araucaria* durante  
5 o armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 2, p. 643-654, abr./jun. 2017. Disponível em:  
6 <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/27749>>. Acesso em: 14 mai. 2015.  
7 DOI: 10.5902/1980509827749.
- 8 IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Portaria  
9 nº 37-N de 3 de abril de 1992. Reconhece como lista oficial das espécies da flora brasileira  
10 ameaçadas de extinção a relação que apresenta. **Diário Oficial [da] República Federativa do**  
11 **Brasil**, Brasília, n. 66, p. 4302-4303, 6 abr. 1992. Disponível em:  
12 <<http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/IBAMA/PT0037-030492.PDF>>. Acesso  
13 em: 04 mar. 2016.
- 14 LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas**  
15 **nativas do Brasil**. 1. 6 ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos de Flora, 2014. 384 p.
- 16 SANTOS, A.J. et al. Aspectos produtivos e comerciais do pinhão no Estado do Paraná.  
17 **Floresta**, v.32, n.2, p.163-169, 2002. Disponível em:  
18 <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/2281>>. Acesso em: 16 jan. 2016. DOI:  
19 10.5380/rf.v32i2.2281.
- 20 TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.
- 21 TOMPSETT, P.B. Desiccation studies in relation to the storage of *Araucaria* seed. **Annals of**  
22 **Applied Biology**, v. 105, n. 3, p. 581-586, dec. 1984. Disponível em:  
23 <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1744-7348.1984.tb03085.x>>. Acesso em:  
24 13 jun. 2015. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1984.tb03085.x.  
25

1 ZANETTE, F. et al. Particularidades e biologia reprodutiva de *Araucaria angustifolia*. In:  
 2 WENDLING, I.; ZANETTE, F. (edit. téc.) **Araucária: particularidades, propagação e**  
 3 **manejo de plantios**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. cap.1. p.14-39. Disponível em: <  
 4 [https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1070994/araucaria-](https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1070994/araucaria-particularidades-propagacao-e-manejo-de-plantios)  
 5 [particularidades-propagacao-e-manejo-de-plantios](https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1070994/araucaria-particularidades-propagacao-e-manejo-de-plantios)> Acesso em: 14 fev. 2018.

6

7 Tabela 1 – Taxa respiratória, perda de massa e firmeza de pinhões, armazenados sob  
 8 diferentes temperaturas e elevada UR (90 ±3 %) por 60 dias (saída da minicâmara) e mais 3  
 9 dias de vida de prateleira a 20 °C.

10

Temperatura (°C)	Respiração (mL CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		Perda de massa (%)		Firmeza <sup>**</sup> (N)	
	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias
20	30,7cA*	32,5bA	13,3aB	0,0aA	7,3bB	6,5cA
2	12,4bA	19,4aB	4,4cB	1,7bA	4,3aA	4,3abA
1	13,5bA	19,7aB	7,1bB	1,7bA	4,2aB	4,0aA
0	13,5bA	19,4aB	8,8bB	1,6bA	4,7aB	4,4abA
-0,5	9,3aA	18,9aB	7,5bB	1,8bA	4,8aA	4,6bA
Inicial		16,2		--		5,1
CV		22,1		8,7		6,7

11

12 \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e pela mesma letra maiúscula na  
 13 horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de  
 14 variação (%). \*\* Firmeza da amêndoa cozida.

15

16

17

18

19

1 Tabela 2 – Valores das coordenadas L\*, a\* e b\* da casca de pinhão (cru), armazenado sob  
 2 diferentes temperaturas e elevada UR (90 ±3 %) por 60 dias (saída da minicâmara) e mais 3  
 3 dias de vida de prateleira a 20 °C.

4

Temperatura (°C)	L*		a*		b*	
	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias
20	36,2aA*	38,2aA	22,1aA	18,3aA	19,7aB	17,4aA
2	35,3aA	36,6aA	21,7aB	18,6aA	19,8aB	17,9aA
1	33,5aA	35,1aA	20,1aA	19,7aA	19,4aB	17,8aA
0	34,2aA	34,2aA	23,8aB	18,5aA	19,8aB	16,4aA
-0,5	35,5aA	33,7aA	19,6aA	18,2aA	18,8aB	15,7aA
Inicial	28,1		17,1		19,2	
CV	6,2		14,7		4,3	

5

6

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e pela mesma letra maiúscula na  
 7 horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de  
 8 variação (%).

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

1 Tabela 3 – Taxa respiratória, perda de massa e firmeza de pinhões, armazenados em  
 2 diferentes condições de umidade relativa (% UR) em  $2,0 \pm 0,2$  °C por 60 dias, na saída da  
 3 câmara e mais 3 dias de vida de prateleira a 20 °C.

4

Umidade relativa (%)	Respiração (mL CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		Perda de massa (%)		Firmeza ** (N)	
	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias
98	15,5bB*	11,2aA	1,6aA	2,1aA	4,2aA	4,3bA
90	16,2bB	12,1aA	4,2bB	1,4aA	4,6bA	4,1aA
80	11,1aA	10,3aA	18,4cB	1,4aA	5,0bA	5,1bA
Inicial		15,1		--		5,3
CV		15,2		15,5		9,9

5

6 \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e pela mesma letra maiúscula na  
 7 horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de  
 8 variação (%). \*\*Firmeza da amêndoa cozida.

9

10 Tabela 4 – Valores das coordenadas L\*, a\* e b\* da casca de pinhão (cru), armazenado em  
 11 diferentes condições de umidade relativa (% UR) em  $2,0 \pm 0,2$  °C por 60 dias, na saída da  
 12 minicâmara e mais 3 dias de vida de prateleira a 20 °C.

13

Umidade relativa (%)	L*		a*		b*	
	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias
98	32,9aA*	34,8aA	19,3aA	19,8aA	17,1aA	16,9aA
90	37,4aA	34,6aA	23,9bB	19,6aA	20,5aA	17,6aA
80	47,7bA	45,5bA	19,4aA	19,4aA	24,7bA	23,2bA
Inicial		30,1		18,9		19,5
CV		10,2		4,4		6,3

14

15 \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e pela mesma letra maiúscula na  
 16 horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de  
 17 variação (%).

1 Tabela 5 – Valores da taxa respiratória, perda de massa, firmeza e incidência de fungos em  
 2 pinhões, armazenados sob diferentes temperaturas e elevada UR ( $90 \pm 3$  %) por 135 dias, na  
 3 saída da minicâmara e mais 3 dias de vida de prateleira a 20 °C.

4

Temperatura (°C)	Respiração (mL CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		Perda de massa (%)		Firmeza** (N)		Fungos (%)	
	Saída	+ 3 dias	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias
	20	14,7aA*	14,2aA	40,1cB	0,0aA	7,7bB	7,0bA	1,8aA
2	9,1aA	15,0aB	22,7aB	3,2cA	4,6aA	5,1aA	19,0cA	19,5cB
1	11,3aA	14,5aB	28,6bB	1,6bA	5,3aA	4,9aA	7,8abA	8,3bB
0	10,6aA	14,1aB	27,5aB	1,8bA	5,5aA	5,1aA	8,6bA	8,6bA
-0,5	10,5aA	10,9aA	30,5bB	1,7bA	5,7aA	5,3aA	2,8abA	2,8abA
Inicial	15,3		--		5,8		--	
CV	21,2		14,6		19,5		45,7	

5

6 \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e pela mesma letra maiúscula na  
 7 horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de  
 8 variação (%). \*\*Firmeza da amêndoa cozida.

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

1 Tabela 6 – Valores das coordenadas L\*, a\* e b\* da casca de pinhão (cru), armazenado sob  
 2 diferentes temperaturas e elevada UR ( $90 \pm 3$  %) por 135 dias, na saída da minicâmara e mais  
 3 3 dias de vida de prateleira a 20 °C.

4

Temperatura (°C)	L*		a*		b*	
	Saída	+ 3 dias	Saída	+ 3 dias	Saída	+ 3 dias
20	37,7bA*	40,4bB	18,0aA	18,6aA	16,5aA	18,2aA
2	33,1aA	35,4aB	17,7aA	18,1aA	16,4aA	17,3aA
1	34,9abA	38,0abB	18,0aA	18,6aA	18,1abA	19,0abA
0	35,1abA	36,2aB	17,6aA	18,0aA	17,5aA	17,0aA
-0,5	38,2bA	40,1bB	18,2aA	18,5aA	19,9bA	20,5bA
Inicial		32,1		15,3		19,6
CV		7,6		7,9		8,4

5

6 \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e pela mesma letra maiúscula na  
 7 horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de  
 8 variação (%).

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

1 Tabela 7 – Taxa respiratória, perda de massa, firmeza e incidência de fungos em pinhões,  
 2 armazenados em diferentes condições de umidade relativa (% UR) em  $2,0 \pm 0,2$  °C por 135  
 3 dias, na saída da minicâmara e mais 3 dias de vida de prateleira a 20°C.

4

Umidade relativa (%)	Respiração		Perda de massa		Firmeza**		Fungos	
	(mL CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		(%)		(N)		(%)	
	Saída	+ 3 dias	Saída	+ 3 dias	Saída	+ 3 dias	Saída	+ 3 dias
98	6,2aA*	17,1aB	4,3aA	3,3bA	4,3aA	3,8aA	24,4bA	25,4bA
90	8,3aA	16,4aB	13,4bB	2,9abA	5,0aA	4,0abA	19,6bA	20,2bA
80	9,0aA	17,4aB	36,9cB	0,6aA	5,5bA	5,0bA	1,8aA	1,8aA
Inicial	15,3		--		5,9		--	
CV	21,0		5,4		15,2		28,3	

5

6 \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e pela mesma letra maiúscula na  
 7 horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de  
 8 variação (%). \*\*Firmeza da amêndoa cozida.

9

10 Tabela 8 – Valores das coordenadas L\*, a\* e b\* da casca de pinhão (cru), armazenado em  
 11 diferentes condições de umidade relativa (% UR) em  $2,0 \pm 0,2$  °C por 135 dias, na saída da  
 12 minicâmara e mais 3 dias de vida de prateleira a 20°C.

13

Umidade relativa (%)	L*		a*		b*	
	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias	Saída	+ 3dias
98	34,7aA*	36,0aA	19,9aA	18,7aA	16,6aA	17,8aA
90	40,6bA	37,7aA	22,2aB	17,9aA	22,6bA	19,7bA
80	50,8cB	41,9aA	18,6aA	17,7aA	25,9bB	20,5bA
Inicial	32,5		16,4		18,9	
CV	5,3		6,8		5,3	

14

15 \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e pela mesma letra maiúscula na  
 16 horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de  
 17 variação (%).

1 Tabela 9 – Taxa respiratória, perda de massa e firmeza de pinhões, armazenados em  
 2 diferentes condições de atmosfera controlada (AC) na temperatura de  $2,0 \pm 0,2$  °C e UR de  $90$   
 3  $\pm 3$  % por 120 dias, na saída da minicâmara e mais 7 dias de vida de prateleira a 20 °C.

4

Condições de Armazenamento (kPa O <sub>2</sub> + kPa CO <sub>2</sub> )	Respiração (mL CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )		Perda de massa (%)		Firmeza <sup>**</sup> (N)		Fungos (%)	
	Saída	+ 7 dias	Saída	+ 7dias	Saída	+7dias	Saída	+ 7dias
AR (20,91+0,04)	9,5bA*	11,5bB	9,3cB	3,5aA	6,6aA	6,0aA	19,0cA	23,2cB
AC1 (3,00+0,00)	8,4aA	12,0bB	6,5abA	3,0aB	6,6aA	6,3aA	2,6bA	3,9aB
AC2(20,91+3,00)	8,9aA	9,4aB	4,7aB	4,1aA	6,0aA	6,1aA	8,1cA	13,4bA
AC3(20,91+5,00)	15,9cB	10,3bA	6,9bB	3,1aA	6,3aA	6,3aA	2,5abA	3,7aB
Inicial	18,2		--		6,9		--	
CV	14,7		15,2		10,3		19,4	

5

6 \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e pela mesma letra maiúscula na  
 7 horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de  
 8 variação (%). \*\*Firmeza da amêndoa cozida.

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

1 Tabela 10 – Valores das coordenadas L\*, a\* e b\* da casca de pinhão (cru), armazenados em  
 2 diferentes condições de atmosfera controlada (AC) na temperatura de  $2,0 \pm 0,2$  °C e UR de 90  
 3  $\pm 3$  % por 120 dias, na saída da minicâmara e mais 7 dias de vida de prateleira a 20 °C.  
 4

Condições de Armazenamento (kPa O <sub>2</sub> + kPa CO <sub>2</sub> )	L*		a*		b*	
	Saída	+ 7dias	Saída	+ 7dias	Saída	+ 7dias
AR1(20,91 + 0,04)	32,2aA*	35,2aB	17,8aA	19,2aA	13,4aA	16,3aA
AC1(3,00 + 0,00)	30,9aA	33,7aB	18,2aA	18,3aA	12,7aA	12,6aA
AC2(20,91 + 3,00)	30,5aA	32,1aB	18,1aA	17,8aA	12,0aA	11,7aA
AC3(20,91 + 5,00)	30,7aA	33,8aB	17,9aA	18,1aA	12,2aA	13,8aA
Inicial	29,8		14,4		15,7	
CV	5,1		6,6		10,2	

5  
 6 \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e pela mesma letra maiúscula na  
 7 horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de  
 8 variação.  
 9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

## 4 ARTIGO 2

### 4.1 Qualidade do pinhão (semente da *Araucaria angustifolia*) *in natura* armazenado em diferentes condições de temperatura e atmosfera controlada Quality of pinhão (*Araucaria angustifolia* seed) *in natura* stored in different temperature and controlled atmosphere conditions

#### RESUMO

O pinhão é um alimento de importância cultural, social e econômica na região sul do Brasil, que requer definições de métodos para sua conservação pós-colheita. Essa pesquisa teve como objetivos avaliar o efeito da temperatura e condições de atmosfera controlada (AC), em alta umidade relativa (UR), na manutenção da qualidade do pinhão *in natura* em diferentes períodos de armazenamento. Foram realizados dois experimentos com tempo de armazenamento de 120 e 210 dias mais 14 dias de vida de prateleira. No primeiro foi estudado o armazenamento refrigerado (AR), as temperaturas 0,5 °C e 2,5 °C em 96 ±2 % UR e 20 °C em 70 % UR. No segundo foram avaliadas condições de AC, os níveis de pressões parciais de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (kPa O<sub>2</sub> + kPa CO<sub>2</sub>) de 1 + 3; 3 + 5; e 5 + 20 nas temperaturas de 0,5 °C e 2,5 °C e 96 ±2 % UR. A qualidade do pinhão armazenado foi avaliada quanto: perda de massa; taxa respiratória; produção de etileno; cor da casca; firmeza da polpa; incidência de podridão e danos pela broca-do-pinhão; atividade de água; percentual de infecção, e de fungos identificados. Houve maior predomínio dos gêneros *Penicillium sp.* e *Fusarium sp.* no pré-armazenamento. Os resultados nas temperaturas 0,5 °C e 2,5 °C em AR, se apresentaram similares. Para o armazenamento prolongado, 210 dias, do pinhão *in natura* é indicada a AC nos níveis de 1,0 kPa O<sub>2</sub> + 3,0 kPa CO<sub>2</sub>; 3,0 kPa O<sub>2</sub> + 5,0 kPa; 5,0 kPa O<sub>2</sub> + 20,0 kPa CO<sub>2</sub>, associada a 2,5 °C e alta UR, 96 ±2 %. Pois tais condições de AC reduzem o metabolismo e a infecção por fungos e, conservaram a qualidade desse alimento na entressafra.

**Palavras-Chave:** Pós-Colheita. Armazenamento Refrigerado. Fungos Filamentosos.

## ABSTRACT

Pinhão is a food of cultural, social and economic importance in Southern Brazil, which requires definitions of post-harvest conservation methods. The objective of this research was to evaluate the effect of temperature and controlled atmosphere (CA) conditions, in high relative humidity (RH), on quality maintenance of the pinhão *in natura* storage in different periods. Two experiments were carried out with storage time of 120 and 210 days plus 14 days of shelf life. In the first one, were evaluated the temperatures of 0.5 °C and 2.5 °C in 96 ±2 % RH and 20.0 °C in 70 % RH. In the second, were evaluated CA conditions, with partial pressure levels of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> (kPa O<sub>2</sub> + kPa CO<sub>2</sub>) of 1 + 3 ; 3 + 5; and 5 + 20, at temperatures of 0.5 ° C and 2.5 ° C and 96 ±2 % RH. The quality of the stored pinhão was evaluated as: mass loss; respiration rate; ethylene production; shell color; pulp firmness; incidence of fungi, rot and damage by pinhão borer; water activity; percentage of infection, and fungi identified. There was a higher prevalence of the genus *Penicillium sp.* and *Fusarium sp.* before the storage. The temperatures of 0.5 ° C and 2.5 ° C in refrigerated storage, shown similar results. CA is recommended for prolonged storage, 210 days, of the pinhão *in natura* with levels of 1,0 kPa O<sub>2</sub> + 3,0 kPa CO<sub>2</sub>; 3.0 kPa O<sub>2</sub> + 5.0 kPa CO<sub>2</sub>; 5 kPa O<sub>2</sub> + 20.0 kPa CO<sub>2</sub> associated with 2.5 °C and in high RH, 96 ±2 %. Because such CA conditions reduce metabolism and fungal infection and, retain the quality of that food in the off season.

**Keywords:** Postharvest. Refrigerated Storage. Filamentous Fungi.

### 4.1.1 Introdução

A conífera *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze é popularmente chamada de pinheiro-brasileiro, pinheiro-do-paraná e araucária. Uma espécie nativa do Brasil, ocorrendo naturalmente na região sul e, em manchas esparsas da região sudeste (CARVALHO, 2002; LORENZI, 2014). Sofreu intensa exploração madeireira no século XX (DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012), tornando-a uma espécie ameaçada de extinção (BRASIL 2008; BRASIL 2014; FAO, 1986; IBAMA, 1992). O

seu diásporo, nomeado pinhão, é considerado sua semente com invólucros (CARVALHO, 2002; GARCIA et al., 2014) cuja amêndoa, polpa interna, é comestível (BELLO-PÉREZ et al., 2006).

O pinhão apresenta excelente qualidade organoléptica e grande aceitação no mercado regional. É fonte de amido, fibra dietética, magnésio e cobre e, é considerado de baixo índice glicêmico (CORDENUNSI et al., 2004), com importância cultural e socioeconômica (BRASIL, 2011; DANNER; ZANETTE; RIBEIRO, 2012).

A cadeia produtiva do pinhão é informal (SANTOS et al., 2002) e precária, metodológica e tecnologicamente. Requer definições de métodos para sua conservação pós-colheita. Sua comercialização é restrita ao período da safra, que ocorre entre abril e agosto (CARVALHO, 2002). Fisiologicamente o pinhão é classificado como semente recalcitrante, apresenta rápida perda de umidade, o que dificulta sua conservação pós-colheita e promove a perda de viabilidade (BALBUENA et al., 2011; FARRANT; PAMMENTER; BERJAK, 1989; FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998). O armazenamento refrigerado (AR) mantém a viabilidade fisiológica do pinhão por até 12 meses, com expressiva germinação, quando armazenado embalado sob 5 °C e  $\pm 89$  % UR (FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998; GARCIA et al., 2014; HENNIPMAN et al., 2017). A germinação é indesejável para comercialização do pinhão como alimento. Em um estudo preliminar, a germinação foi fortemente inibida sob condições de 2 °C e  $90 \pm 2$  % UR por 96 dias. Entretanto os pinhões apresentaram 13% de perda de massa, decorrente da atividade respiratória (AMARANTE et al., 2007). Além disso, é desejável que se consiga manter as qualidades dos pinhões por um período maior.

A presença e desenvolvimento de fungos (HENNIPMAN et al., 2017) e lagarta (broca) (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011) nos pinhões, é outra dificuldade enfrentada no seu armazenamento. Uma vez que, a qualidade de um alimento compreende três aspectos fundamentais, o físico-químico, o microbiológico e o sensorial (DUTCOSKY, 2013). O alto grau de umidade do pinhão e elevada UR no armazenamento são condições favoráveis desenvolvimento de fungos (HENNIPMAN et al., 2017). Esses autores identificaram oito gêneros de fungos filamentosos em pinhão. Os fungos filamentosos são os principais responsáveis por perdas fitopatológicas de vegetais *in natura*. O crescimento de fungos sobre a superfície de alimentos gera perdas econômicas e representam um perigo para a saúde pública, devido à possibilidade dos fungos produzirem micotoxinas

(WIGMANN et al., 2015). A broca-do-pinhão, *Cydia araucariae*, ao se alimentar do endosperma destrói o conteúdo do pinhão, causa alterações na cor e sabor, e provoca o apodrecimento (THOMAZINI; TEDESCHI; MEIRA, 2011).

Atmosfera Controlada (AC) é uma tecnologia usada para prolongar o armazenamento de produtos vegetais (BEAUDRY, 1999), por reduzir a atividade respiratória (BOERSING; KADER; ROMANI, 1988). A AC pode inibir o crescimento de fungos, como em atmosferas com cerca de 1 kPa O<sub>2</sub> ou menos, e ou superiores a 10 kPa CO<sub>2</sub> (EL-GOORANI; SOMMER, 1981). O emprego da AC, geralmente, é associado a algumas técnicas de armazenamento em pós-colheita como a baixa temperatura e elevada UR na câmara (BRACKMANN et al., 2009; WEBER et al., 2013). As respostas à AC variam entre produtos vegetais, cultivares, tipos de órgão, estágios de maturação (BEAUDRY, 1999), temperaturas, umidades relativas, concentrações de gases e o tempo de armazenamento (KADER, 2003).

Não há uma definição de temperatura ideal de armazenamento prolongado com foco no pinhão *in natura* como alimento. E não se tem informações na literatura sobre o emprego da AC na pós-colheita do pinhão *in natura*, visando maximizar a vida de prateleira desse alimento com manutenção da sua qualidade e segurança microbiológica.

Essa pesquisa teve como objetivos avaliar o efeito da temperatura e condições de atmosfera controlada, em alta umidade relativa, na manutenção da qualidade do pinhão *in natura* em diferentes períodos de armazenamento.

#### **4.1.2 Material e Métodos**

##### *4.1.2.1 Material vegetal e homogeneização das amostras*

Os pinhões foram obtidos de coletores, agricultores familiares, no município de Muitos Capões - RS, Brasil (latitude 28° Sul, longitude 51° Oeste e altitude 937m), no mês de maio, em dois anos consecutivos (2015 e 2016). Em seguida os pinhões foram transportados ao laboratório do Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita da Universidade Federal de Santa Maria (NPP-UFSM), em Santa Maria – RS. Inicialmente foram realizadas as etapas de limpeza, seleção e secagem. Na limpeza foi usado o fluxo de ar forçado para remoção de partículas de baixa densidade

(poeira, folhas e falhas). Em seguida foram selecionados pinhões livres de danos aparentes (rachaduras, quebras, fungos, furos) e defeitos (chochos e falhas) e homogêneos quanto ao tamanho e a maturação. A secagem, que objetivou a redução da umidade inicial, consistiu no uso contínuo de fluxo de ar aquecido,  $8,5 \pm 0,2$  km/h e  $26 \pm 2$  °C, por quatro dias. Posteriormente, os pinhões foram mantidos em condições de temperatura ambiente para a instalação do experimento.

#### 4.1.2.2 Experimentos

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) composto por quatro unidades amostrais para cada tratamento e tempo de armazenamento. Cada unidade amostral, representada por 100 sementes, foi embalada em saco de TNT (tecido não-tecido), com dimensões de 22 cm de largura e 30 cm de altura, e acondicionada em minicâmara experimental de 80 L, em que foi aplicado o respectivo tratamento. As minicâmaras experimentais foram alocadas no interior de câmaras frigoríficas maiores. Para cada temperatura foi utilizada uma câmara diferente.

Simulando o enchimento de câmaras comerciais, foi realizado o seguinte processo: as minicâmaras permaneceram abertas por dois dias a  $5 \pm 2$  °C e  $80 \pm 5$  % UR, exceto o tratamento de temperatura ambiente (20 °C). No terceiro dia todas as minicâmaras foram fechadas e a temperatura das câmaras ajustadas aos níveis preestabelecidos para cada tratamento. As minicâmaras de AR permaneceram semi-abertas, a fim de manter trocas gasosas com o ambiente da câmara refrigerada enquanto que as minicâmaras de AC foram fechadas hermeticamente. No terceiro dia, considerado o dia zero, foi realizada a análise inicial. No quarto dia as minicâmaras de tratamento em AC passaram por varredura com N<sub>2</sub> gasoso umidificado e tiveram a pressão parcial de O<sub>2</sub> reduzida até 5 kPa. No quinto dia as pressões parciais de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> foram ajustadas nos tratamentos de AC.

##### 4.1.2.2.1 Experimento 1

Teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes condições de atmosfera refrigerada (AR) sobre a qualidade do pinhão *in natura* após armazenamento prolongado. Foram avaliadas três condições de AR, 20,0 °C e 70 % UR (AR 1,

controle); 2,5 °C e 96  $\pm$ 2 % UR (AR 2); e 0,5 °C e 96  $\pm$ 2 % UR (AR 3). A qualidade do pinhão foi analisada em dois tempos de armazenamento 120 dias e 210 dias e após vida de prateleira de 14 dias.

#### 4.1.2.2.2 Experimento 2

Nesse experimento objetivou-se avaliar o efeito de diferentes condições de atmosfera controlada (AC) associada à refrigeração e elevada UR, sobre a qualidade do pinhão *in natura* após armazenamento prolongado. Foram avaliadas três condições de AC, 1,00 kPa O<sub>2</sub> + 3,00 kPa CO<sub>2</sub> (AC 1), 3,00 kPa O<sub>2</sub> + 5,00 kPa CO<sub>2</sub> (AC 2), 5,00 kPa O<sub>2</sub> + 20,00 kPa CO<sub>2</sub> (AC 3), em duas temperaturas de refrigeração, 0,5 °C e 2,5 °C, e uma condição de UR, 96  $\pm$ 2 %. A qualidade do pinhão foi analisada em dois tempos de armazenamento 120 dias e 210 dias e após vida de prateleira de 14 dias.

#### 4.1.2.3 Controle da temperatura e umidade relativa do ar

A temperatura de cada câmara frigorífica foi controlada por termostatos eletrônicos e monitorada diariamente por meio de termômetros de bulbo de mercúrio, com resolução de 0,1 °C, acondicionados no interior das câmaras.

A umidade relativa do ar foi monitorada por meio de psicrômetros, com termômetros de mercúrio, colocados dentro das minicâmaras. O gás N<sub>2</sub> usado nos processos de varredura e manutenção das condições de AC foi umidificado para manter a UR (96  $\pm$ 2 %). Para isso circulou-se este N<sub>2</sub> gasoso por um recipiente de vidro de 5 L, contendo 3,5 L de água destilada e fechado hermeticamente.

#### 4.1.2.4 Instalação e controle da atmosfera

As condições de AC foram obtidas mediante a injeção de N<sub>2</sub> gasoso, proveniente de um gerador de N<sub>2</sub>, que funciona pelo princípio "Pressure Swing Adsorption" (PSA). A pressão parcial do O<sub>2</sub> foi reduzida pelo princípio da diluição com N<sub>2</sub> até o nível preestabelecido. As pressões parciais de CO<sub>2</sub> foram obtidas mediante injeção desse gás, proveniente de cilindros de alta pressão, no interior das minicâmaras. Durante o período de armazenamento, as pressões parciais dos gases

O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> foram monitoradas e corrigidas manualmente, a cada cinco dias, usando analisadores de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> marca Agri-datalog.

#### 4.1.2.5 Amostragem

a) *análises físicas*: as amostras foram analisadas na instalação do experimento (inicial, o dia 0), após os períodos de armazenamento (saída da minicâmara aos 120 e 210 dias) e ao final do período da vida de prateleira (+14 dias). Nas avaliações cada unidade amostral foi representada por 10 sementes, exceto nas análises de incidência, (danos do por broca-do-pinhão; podridão) onde todas as sementes de cada unidade amostral foram avaliadas. A vida de prateleira simulou as condições ambiente semelhantes às que ocorrem durante a comercialização da semente no varejo; sendo os pinhões mantidos em recipientes plásticos abertos sob  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $70 \pm 5\%$  UR. Essas análises foram realizadas no Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita (NPP) do Departamento de Fitotecnia da UFSM.

b) *análises micológicas*: Os 70 kg de pinhão (experimento 1) foram bem misturados e deles retirados, aleatoriamente, 5 kg para análise de pré-armazenamento, dos quais foram separados pinhões livres de danos aparentes e defeitos. Desses selecionados, foram retirados ao acaso 60 pinhões para a análise de atividade de água (Aa) e 100 pinhões para a análise de percentual de infecção e identificação. Nas análises pós-armazenamento (210 dias) dos experimentos 1 e 2, foram retiradas 20 sementes de cada uma das quatro unidades amostrais dos respectivos tratamentos, para realização de análises de Aa; percentual de infecção e identificação. As análises foram realizadas no Laboratório de Micologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da UFSM.

#### 4.1.2.6 Avaliações

##### 4.1.2.6.1 Análises físicas

a) *perda de massa*: as unidades amostrais das sementes, em cada época de avaliação, foram pesadas em balança eletrônica com precisão de 0,1g. A diferença de massa entre as avaliações foi acumulada durante a evolução do experimento; mas a perda de massa após vida de prateleira não foi somada à perda do

armazenamento. Os resultados da perda de massa foram expressos em porcentagem.

b) *respiração*: determinada pela quantificação da produção de CO<sub>2</sub>. Foram colocadas 10 sementes em recipiente de 0,8 L mantido hermeticamente fechado por aproximadamente por 1 h a 20,0 °C para esta determinação. O ar do recipiente foi circulado através de um analisador de CO<sub>2</sub> marca Agri-datalog e, a produção de CO<sub>2</sub> foi calculada, em função da concentração do gás no recipiente no momento da determinação, da massa das sementes, do volume do espaço livre no recipiente e do tempo de fechamento. Resultados expressos em mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, adaptação da metodologia de Both et al. (2014).

c) *cor da casca*: análise realizada nas sementes cruas, utilizando o equipamento colorímetro Minolta<sup>®</sup> modelo CR-310, com leitura direta de reflectância das coordenadas L\* (luminosidade, indica a variação do preto (0) ao branco (100)), a\* (indica a variação de cor do verde (-) até o vermelho (+)), b\* (indica a variação de cor do azul (-) até o amarelo (+)). Realizadas 10 determinações para cada unidade amostral.

d) *firmeza*: determinada após o cozimento sob pressão das sementes em água destilada por 45 minutos; depois da cocção foram mantidas em caixa de isopor, visando não reduzir a temperatura até a leitura. As sementes foram descascadas (removidos os dois invólucros) e a firmeza da amêndoa foi avaliada nas duas extremidades, onde foram perfuradas com ponteira 2 mm de diâmetro, de penetrômetro manual, marca Effegi, sendo os valores expressos em Newton (N).

e) *incidência de podridão*: avaliação visual das sementes, cruas com casca, com presença de sintoma externo de podridão, manchas escuras na casca. Foi realizada a contagem das sementes e calculada a porcentagem em cada unidade amostral. Os valores após vida de prateleira foram somados aos da saída do armazenamento.

f) *incidência de danos causados pela broca-do-pinhão (Cydia araucariae)*: contagem das sementes com presença de furo na casca, através de análise a olho nu. Foi realizada a contagem das sementes e calculada a porcentagem em cada unidade amostral. Pinhões descascados, para a análise da firmeza (10 pinhões por unidade amostral), que apresentavam lagartas na amêndoa foram somados à análise de contagem dos pinhões com furos (saída da lagarta) na casca. Os valores após vida de prateleira foram somados aos da saída do armazenamento.

g) *incidência de germinação*: através da avaliação visual de sementes (cruas), identificando aquelas com presença de protrusão visível de radícula através da casca. Foi calculada a porcentagem de sementes afetadas.

#### 4.1.2.6.2 Análises micológicas

O pinhão foi previamente dividido em partes para posterior realização das análises. Na análise pré-armazenamento o pinhão foi subdividido em quatro partes: extremidade superior da casca; mediana da casca; extremidade inferior da casca; amêndoa (polpa da semente). Para a análise pós-armazenamento (210 dias), o pinhão foi dividido em duas partes: mediana da casca; e amêndoa. Em todas as análises utilizou-se pinhão cru, descascado e cortado manualmente em superfície higienizada e com uso de instrumentos higienizados.

a) *atividade de água (Aa)*: realizada em triplicata no analisador Aqualab Serie 3TE - (Decagon, USA) a  $25 \pm 0,1$  ° C. Cada unidade amostral foi composta por 10 pinhões *in natura*. Os pinhões foram descascados, cortados (4 ou 2 partes) e triturados. Cortados em 4 partes para análise no pré-armazenamento e, em 2 partes para análise após 210 dias de armazenamento.

b) *avaliação quantitativa dos fungos*: as partes do pinhão (4 ou 2) foram cortadas em pedaços pequenos e desinfetadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,4% por 2 minutos sob agitação. Utilizou-se o meio de cultura Agar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC) e a técnica do plaqueamento direto. Foram dispostos 11 pedaços por placa de Petri, em triplicata, incubadas a 25 °C por cinco a sete dias. Seguindo metodologia de Pitt; Hocking (1999). Após a incubação houve a leitura de contagem dos pedaços com crescimento fúngico, identificando o percentual (%) de infestação. Então os fungos foram isolados em meio de cultura Agar Extrato de Levedura Czapek (CYA) e incubados a uma temperatura de 25 °C ( $\pm 1$ ) durante 7 dias.

c) *multiplicação dos fungos*: os fungos isolados foram propagados em tubos com aproximadamente 10 mL do meio de cultura CYA, incubados a uma temperatura de 25 °C ( $\pm 1$ ) durante 7 dias. Posteriormente, conservados sob refrigeração até seguirem para as análises de identificação conforme as chaves de cada gênero.

d) *identificação dos fungos filamentosos*: a identificação do gênero *Aspergillus* ocorreu de acordo com Klich; Pitt (1988), a do gênero *Penicillium* realizada conforme Pitt (2000) e Samson; Frisvad (2004). Já a identificação de espécies xerofílicas e outros gêneros fúngicos, de acordo com Pitt; Hocking (2009). Os isolados de *Aspergillus sp.* foram inoculados em três pontos nas placas de CYA e Ágar Extrato de Malte (MEA) e incubados a 25 °C durante 7 dias. Adicionalmente às condições acima descritas, para a identificação do gênero *Penicillium*, foi precedida a inoculação em meio Ágar Creatina Sacarose (CREA) e CYA com incubação nas temperaturas de 5 °C e 37 °C durante 7 dias. Decorrido o período de cultivo, foi realizada a mensuração dos diâmetros médios das 3 colônias e observadas as características macroscópicas nos diferentes meios de cultura, juntamente com os atributos microscópios óptico de cada isolado.

#### 4.1.2.7 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo verificado o efeito da interação e de cada fator pelo teste F ( $p < 0,05$ ). Comparação de médias foi realizada usando teste de Tukey, para examinar se as diferenças entre as variáveis foram significativas a  $p \leq 0,05$ . Os dados expressos em porcentagem foram transformados pela fórmula  $\text{arc.sen}\sqrt{x/100}$  antes da análise de variância. Para realização da análise estatística foi utilizado o software SisVar, da Universidade Federal de Lavras (FERREIRA, 2000). Realizou-se a análise dos dados do estudo micológico no software Microsoft Office Excel®.

#### 4.1.3 Resultados e discussões

Em nenhum dos experimentos foi observada germinação em pinhões, nas avaliações, inicial, saída do armazenamento e final de vida de prateleira. Possivelmente, a secagem, que objetivou a redução da umidade inicial antes do armazenamento, e as condições de armazenamento estudadas não favoreceram à quebra da dormência da semente, sua germinação.

#### 4.1.3.1 Experimento 1

Os pinhões armazenados a 2,5 °C diferiram de forma significativa na taxa respiratória e apresentaram resultados similares aos pinhões sob 0,5 °C nas variáveis perda de massa e firmeza na saída dos armazenamentos (Tabela 1).

Pinhões mantidos a 20,0 °C diferiram estatisticamente, daqueles em 0,5 °C e 2,5 °C, apresentando maior atividade respiratória, devido à elevada temperatura, e maior perda de massa. Nessa temperatura desidrataram mais em função da baixa UR. Devido aos gastos das reservas energéticas e envelhecimento dos tecidos no armazenamento, apresentaram menor perda de massa na vida de prateleira. Embora estivessem visivelmente desidratados e com desordem nos tecidos, esses se reidrataram na cocção e diferiram discretamente na análise de firmeza, com menor valor aos 210 dias (Tabela 1).

Pinhões em 2,5 °C e 0,5 °C não diferiram entre si quanto à incidência de danos causados pela broca-do-pinhão e na podridão, embora aqueles em menor temperatura tenham apresentado menores incidências (Tabela 2). A condição temperatura baixa e alta UR pode ter interrompido o ciclo da lagarta, se essa estava em estágio inicial, não danificando a semente e nem saído de seu interior (furando a casca). A condição de armazenamento, elevada temperatura, 20,0 °C, e baixa UR, 70 %, favoreceu a broca-do-pinhão, que conseguiu completar seu ciclo. Foram observados muitos excrementos nas embalagens, sementes com mais de um furo, a fase de pupa sobre sementes e fora da embalagem (lagartas danificaram e saíram da embalagem) e o adulto da *Cydia araucariae* na câmara. Infelizmente não foi possível quantificar essas observações, pois além de saírem da embalagem a minicâmara estava semiaberta na câmara fria. Esses resultados demonstram que as condições de AR nas temperaturas de 0,5 °C e 2,5 °C e  $96 \pm 2\%$  UR controlam o dano causado pela broca-do-pinhão em armazenamento prolongado.

Thomazini; Reis (2013) verificaram 17,5 % de incidência de broca-do-pinhão (pinhões coletados na planta), desse valor mais de 80 % só foi observado após abrir a semente, ou seja, não tinha furo ou excremento visível na casca. Em embriões maduros de pinhão, Balbuena et al. (2011) observaram expressiva presença de proteínas do tipo vicilina e, segundo Sales et al. (2001), essas proteínas, ao se ligarem ao polissacarídeo quitina, podem desempenhar papel de proteção contra predação de insetos. Estudos das vicilinas em pinhão são necessários e podem

elucidar mecanismos de controle da broca-do-pinhão, como a interrupção do seu ciclo de desenvolvimento. De acordo com Thomazini; Reis (2013), as lagartas, em desenvolvimento intermediário, provocam danos parciais na amêndoa da semente e não atingem o embrião, o que provocaria a perda da viabilidade de germinação.

Na análise de cor, pinhões armazenados nas três temperaturas apresentaram valores maiores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  após os dois tempos de armazenamento (120 e 210 dias) e de vida de prateleira (após 120 dias) (Tabela 3). Os pinhões ficaram com cor da casca mais clara ( $L^*$ ), vermelha ( $a^*$ ) e amarela ( $b^*$ ), o que caracteriza o envelhecimento do pinhão.

Do ponto de vista microbiológico, a atividade de água ( $A_w$ ) é um fator importante para o crescimento dos microrganismos, uma vez que esse é dependente da disponibilidade de água livre para crescer. No pré-armazenamento o pinhão apresentou o valor de 0,99  $A_w$  nas três partes da casca, e 0,98  $A_w$  na amêndoa (Tabela 4). Os resultados da análise de  $A_w$  indicam o meio de cultura Ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC) para ser empregado no procedimento plaqueamento direto para a enumeração de fungos filamentosos no pinhão (PITT; HOCKING, 2009). A metodologia plaqueamento direto, com desinfecção da superfície da amostra, objetiva o estudo das hifas presentes no interior do tecido vegetal, casca e amêndoa do pinhão.

Na análise inicial, pré-armazenamento, as três partes da casca apresentaram infecção de 100%, enquanto que a infecção na amêndoa foi de 66,66 %. Houve maior incidência dos gêneros *Penicillium sp.* e *Fusarium sp.* na casca e, dos gêneros *Penicillium sp.* e *Aspergillus sp.* na amêndoa. O somatório do percentual de fungos identificados na parte mediana da casca foi 30,30 % maior que o da parte superior e inferior da casca. Para as análises pós-armazenamento foram usadas duas partes do pinhão, sendo elas a parte mediana da casca e a amêndoa (Tabela 4).

Foram isolados e identificados 5 gêneros de fungos filamentosos no pinhão *in natura*, a saber, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Trichoderma sp.* e *Mucor sp.*. E foram descritos como *Mycelia sterilia* (Ordem: Agonomycetales) aqueles que não apresentaram esporos detectáveis em microscópios e, *Demáceos* aqueles com escuras estruturas de frutificação (esporos) (Tabela 4). Em pinhões, os gêneros *Penicillium sp.* e *Trichoderma sp.* também foram observados pelos autores Hennipman et al. (2017), que identificaram ainda fungos dos gêneros *Rhizopus sp.*, *Pestalotiopsis sp.* e *Cladosporium sp.* em pinhões, após desinfestação em solução

de NaClO a 0; 0,5; 1 e 3 % por 15 minutos. Esses autores obtiveram pinhões em coleta de pinhas maduras na planta, matrizes de diferentes procedências e progênies, na Embrapa Florestas, em Colombo-PR.

A ordem decrescente de percentual de fungos identificada no presente estudo, no pré-armazenamento é: *Fusarium solani*, *Penicillium spinulosum*, *Penicillium sclerotiorum*, *Mycelia sterilia*, *Penicillium simplicissimum*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma sp.*, *Demáceos*, e *Mucor sp.* (Tabela 4). As condições ambiente na coleta e comércio do pinhão, assim como a elevada Aa dessa semente são fatores favoráveis ao ataque e crescimento desses fungos identificados. Os autores Pitt; Hocking (2009) descrevem as condições favoráveis para o crescimento destes fungos. *F. solani* é mesófilo, com crescimento ótimo entre 27 – 31 °C e máximo a 37 °C, e cresce em Aa até 0,90. São toxigênicos, seus metabólicos secundários são furanoterpenoides, ácido fusárico e ciclosporina. O *P. spinulosum* é xerofílico, germinando até 0,80 Aa, cresce entre 22 e 25 °C, não há relatos de produzir micotoxinas. *P. sclerotiorum* é provavelmente um xerofílico, não possui relato de estudo fisiológico e de produção de toxinas. A espécie *P. simplicissimum* apresenta crescimento até 37 °C, germinação até 0,86 Aa (não xerofílico), seus metabólicos secundários são verruculogênio, fumitremorgen B, ácido penicílico e viridicatumtoxina. *A. Fumigatus* é xerofílico, Aa mínima reportada 0,82, e termofílico, crescimento ótimo entre 40 – 42 °C, mínimo a 12 °C e máximo a 55 °C. Espécie toxigênica, sendo seus metabólicos secundários a fumigaclavina, fumigalina, fumigatina, fumitoxonas e gliotoxinas. Fungos do gênero *Trichoderma sp.* não são patogênicos, estão presentes no solo, são usados como agente de biocontrole contra fungos patogênicos de plantas. *Mucor sp.* São fungos relativamente primitivos, ocorrem em solos e habitats úmidos.

Após 210 dias de armazenamento em três diferentes condições de AR, houve redução de Aa em todas as amostras (Tabela 5), quando compara à análise pré-armazenamento (Tabela 4). Foi observada uma maior redução da Aa na casca de pinhões armazenados sob 20 °C e 2,5 °C (Tabela 5), os quais também apresentaram maior perda de massa na saída do armazenamento, 210 dias (Tabela 1). Pinhões mantidos em 2,5 °C apresentaram percentual de infecção na amêndoa semelhante à análise pré-armazenamento e reduzido percentual na casca (Tabelas 4 e 5). Esses resultados, aparentemente, possuem correlação com a menor taxa respiratória de pinhões armazenados sob 2,5 °C (Tabela 1). A maior desidratação,

alta atividade respiratória e danos pela broca-do-pinhão observados em pinhões sob 20 °C (Tabela 1 e 2), pode ter sido responsável pela maior infecção de fungos nos pinhões desse tratamento (Tabela 5).

No pós-armazenamento foram observados fungos distintos da análise pré-armazenamento, são eles: *P. sp. (monoverticiliado)*, *P. crustosum*, *P. glabrum*, *P. commune* e *P. expansum* (Tabela 5). O *P. commune*, presente na amêndoa de pinhões mantidos em 2,5 °C, é um importante fungo deteriorador de alimentos (PITT; HOCKING, 2009). Em amêndoas de pinhões armazenados em 2,5 e 0,5 °C houve crescimento de *P. expansum*. Uma espécie xerofílica de crescimento até 0,83 Aa, e em 23 °C, é toxigênica, produz o metabólitos secundários a citrinina e a patulina (PITT; HOCKING, 2009). A carcinogenicidade da micotoxina patulina em humanos ainda não é completamente estabelecida (IARC, 2018). Das duas espécie de xerofílicos identificados no pré-armazenamento, na amêndoa o *A. fumigatus* e na casca inferior o *P. spinulosum* (Tabela 4), somente o *P. spinulosum* foi registrado no pós-armazenamento (Tabela 5).

Os autores Hennipman et al. (2017) aplicaram tratamentos de desinfestação em pinhões (solução de NaClO a 0; 0,5; 1e 3 % por 15 minutos); embalaram (polietileno de espessura = 24 µm); e armazenaram em 5 ± 1 °C e 89 ± 2 % UR. Esses autores reportam que aos seis meses, sementes não tratadas com NaClO apresentaram *Penicillium sp.* (83 %) e *Aspergillus sp.* (39 %). Em todos os tratamentos identificaram maior ocorrência de *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Pestalotiopsis sp.*, *Trichoderma sp.* e *Phomopsis sp.* E menor ocorrência de *Phoma sp.*, *Gliocladium sp.*, *Nigrospora sp.* e *Epicoccum sp.* em sementes tratadas com NaClO. Os autores enfatizaram a ocorrência dos gêneros fitopatogênicos, *Phomopsis sp.* e *Fusarium sp.*. Aos 12 meses de armazenamento, pinhões apresentaram a ocorrência de *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Phomopsis sp.* e *Schizophyllum commune*; com incidência de 80 % de *S. commune* em sementes não tratadas com NaClO, os autores relatam que essas estavam deterioradas, apodrecidas, e não apresentaram germinação.

Na deterioração de alimentos os três grupos de fungos mais importantes são os xerofílicos, termorresistentes e toxigênicos. Algumas cepas de espécies dos toxigênicos são capazes de produzir micotoxina, contaminando alimentos que quando ingeridos podem causar efeitos tóxicos agudos e crônicos em humanos e animais. Além dos danos à saúde do consumido as micotoxinas causam perdas

comerciais, destacam-se em alimentos as micotoxinas aflatoxinas, ocratoxina, fumonisinas, zearalenona, desoxinivalenol e patulina.

De acordo com Pitt; Hocking (2009) assim como nem todo fungo é toxigênico, nem todas as cepas de espécies toxigênicas produzem micotoxinas em alimentos. Portanto, embora tenha sido identificado o *P. expansum* na amostra de pinhão, estudos mais aprimorados devem ser realizados para identificar se há contaminação de pinhão com patulina.

Contudo, face a diversidade genética do pinheiro-brasileiro, diferenças climáticas interanuais somadas à escassez de literatura micológica do pinhão, torna-se essencial a realização de novos estudos, de amostras de outras safras e locais das regiões produtoras, a fim de quantificar e identificar a diversidade de fungos em pinhão *in natura*, no pré-armazenamento.

#### 4.1.3.2 Experimento 2

As taxas de respiração diferiram significativamente nos dois tempos de armazenamento e em ambas as temperaturas. Os pinhões em AC1 apresentaram menores taxas enquanto os em AC3 apresentaram maiores, entretanto, na vida de prateleira comportaram de forma inversa. Esses resultados demonstram um possível stress no comportamento respiratório do pinhão sob as condições de 1,0 kPa O<sub>2</sub> (AC1) e 5,0 kPa O<sub>2</sub> (AC3) (Tabela 6). Os vegetais *in natura* são capazes de se recuperarem dos efeitos do baixo teor de O<sub>2</sub> e / ou altas tensões de CO<sub>2</sub> do armazenamento e retomarem o metabolismo respiratório normal (KADER, 2003). Essa retomada do metabolismo pode ser observada na vida de prateleira, em especial para as condições de 1,0 kPa O<sub>2</sub> (AC1) e 20,0 kPa CO<sub>2</sub> (AC3).

Os efeitos das diferentes condições de AC na taxa de respiração influenciaram diretamente na perda de massa. Os pinhões em AC1 perderam menos massa no armazenamento, mas na vida de prateleira, com retomada do metabolismo respiratório, tiveram maior perda; com aqueles em AC3 ocorreu o inverso (Tabela 7). No entanto se somadas as perdas (armazenamento + vida de prateleira), pinhões em AC1 perderam menos massa. Pinhões mantidos nas três condições de AC após os dois períodos de armazenamento e ao final da vida de prateleira apresentaram perda de massa menores que a perda observada em pinhões na análise inicial.

Na saída do armazenamento, os pinhões nas três AC não diferiram quanto à variável firmeza e apresentaram valores, pode se dizer, semelhantes ao da inicial e respectiva vida de prateleira (Tabela 8). Segundo Kader (2003), atmosferas controladas diminuem a atividade de enzimas envolvidas na degradação da parede celular, que causa o amaciamento e, envolvidas na lignificação, que causa o endurecimento dos tecidos vegetais. Ao final da vida de prateleira os pinhões armazenados por 120 e 210 dias em 0,5 °C diferiram nas três condições de AC, quanto maior o período de armazenamento menor a firmeza (Tabela 8). Entretanto, esses não diferiram nas variáveis atividade respiratória e perda de massa após vida de prateleira (Tabelas 6 e 7).

Na análise de incidência de dano causado pela broca-do-pinhão, houve diferença apenas no menor período de armazenamento sob 0,5 °C, onde pinhões em AC3 apresentaram maior percentual seguido daqueles em AC1 (Tabela 9). De modo geral, os pinhões após armazenamento prolongado e vida de prateleira, apresentaram percentual de dano similar ao da análise inicial (Tabela 9). Tais resultados sugerem que as condições de AC, sob ambas as temperaturas, controlaram o dano ao interromper o ciclo da broca-do-pinhão. É importante ressaltar que a análise de furo na casca impossibilita saber o número real de sementes danificadas, devido poder ter ocorrido a morte da lagarta antes de completar seu ciclo. De acordo com Teixeira et al. (2005), lagartas da *Cydia araucariae* submetidas a -5 °C por 8 minutos, apresentaram mortalidade. Os pesquisadores Garcia et al. (2014) observaram perda total de viabilidade do pinhão congelado; embalado em plástico de 0,015 µm de espessura e armazenado por 60 dias sob a condição de -18 °C e 90 % UR. A incidência de broca pode ser 6 % menor se a coleta prezar por melhor sanidade. Thomazini; Reis (2013) orientam que a coleta de pinhões, pinhas, deve ser na planta mãe e, somente coletar do chão, aquelas caídas recentemente.

No presente experimento as condições de AC proporcionaram pinhões com baixa incidência de podridão, semelhantes à análise de vida de prateleira da inicial. (Tabela 10).

A cor da casca dos pinhões diferiu quanto à Luminosidade ao fim da vida de prateleira após 210 dias sob 0,5 °C, onde pinhões da AC2 estavam mais escuros que os da AC3 (Tabelas 11). Porém em todas as análises as variáveis L\*, a\* e b\* (Tabelas 11, 12 e 13) demonstraram que os pinhões das três condições de AC

ficaram com a cor da casca mais clara ( $L^*$ ), vermelha ( $a^*$ ) e amarela ( $b^*$ ), em relação à análise inicial. Os resultados dessas variáveis da cor são correspondentes aos resultados das taxas de respiração (Tabela 6); quanto maiores foram as taxas, maiores os valores  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .

Notou-se um comportamento de maior elevação dos valores  $L^*$  aos 120 dias (pinhões mantidos em 2,5 °C) e após vida de prateleira (pinhões mantidos anteriormente em 0,5 °C) e menor elevação aos 210 dias (Tabela 11). Esse incremento de valor diferente para o tempo de armazenamento também foi observado nos valores da coordenada  $a^*$ , após a vida de prateleira (Tabela 12), e da  $b^*$ , na saída do armazenamento (pinhões em 2,5 °C) (Tabela 13).

Pinhões armazenados em AC mantiveram elevada a Aa e apresentaram menores percentuais de infecção por fungos nas condições 1 kPa  $O_2$  e 20 kPa  $CO_2$  (Tabelas 14 e 15), quando comparados àqueles observados no experimento 1 (Tabelas 4 e 5). Para muitos fungos, em pós-colheita, atmosferas  $\pm 1$  kPa  $O_2$  podem ser necessárias para se obter uma redução do crescimento, formação de esporos e germinação; em geral, o crescimento fúngico não é afetado em 5 kPa de  $CO_2$  e melhores resultados de inibição estão em atmosferas superiores a 10 kPa (EL-GOORANI; SOMMER, 1981).

A ocorrência de fungos registrada, em ordem decrescente, em pinhões armazenados nas três condições de AC sob refrigeração na temperatura 0,5 °C, foi *P. crustosum*, *Mycelia sterilia*, *Fusarium sp.*, *P. spinulosum*, *P. commune*, *P. sclerotiorum*, *P. expansum*, *P. aurantiogriseum* e *P. sp.(monoverticiliado)* (Tabela 14). E naqueles sob 2,5 °C, a saber, *Mycelia sterilia*, *P. crustosum*, *P. commune*, *Fusarium sp.*, *P. spinulosum*, *P. aurantiogriseum*, *P. glabrum*, *P. expansum*, *P. sclerotiorum* e *Curvularia sp.*(Tabela 15).

A ocorrência expressiva de *P. crustosum* (0,5 e 2,5 °C nas três AC) e *P. commune* (0,5 °C AC2 e AC3; 2,5 °C AC1 e AC2), assim como o registro de *P. aurantiogriseum* (AC1 em 0,5 °C; AC3 em 2,5 °C) em pinhões (Tabelas 14 e 15) estão em acordo com a literatura. Segundo Pitt; Hocking (2009) o *P. crustosum* apresenta crescimento em até -2 °C, ótimo em 25 °C e no máximo em 30 °C, a ocorrência desse fungo foi registrada em amendoim, nozes, soja, cereais, frutas, produtos lácteos e outros. *P. commune* cresce rapidamente em temperatura de refrigeração, com crescimento ótimo próximo de 25 °C e no máximo em 35 °C. Provavelmente, é capaz de crescer em Aa inferior a 0,85. Há registros do *P.*

*commune* em vegetais e cereais, em pequena quantidade, e ocorre em produtos lácteos, embalados a vácuo, o que sugere habilidade para crescer em atmosferas com baixo O<sub>2</sub> e ou alto CO<sub>2</sub>. O crescimento da espécie *P. aurantiogriseum* é mínimo em -2 °C, ótimo em 23 °C e máximo em 30 °C, requer valor mínimo de Aa 0,81, é estimulado acima de 10 kPa CO<sub>2</sub>, crescendo entre 30 e 50 kPa CO<sub>2</sub>.

Sobre a patogenicidade desses fungos, o *P. crustosum* é o maior produtor de penitrem A, cuja produção requer Aa maior que 0,92, sendo a Aa ótima 0,995. A patogenicidade da neurotoxina penitrem A em humanos requer mais estudos. O *P. commune*, produz ácido ciclopiazônico e, algumas cepas da espécie *P. aurantiogriseum* podem produzir ácido penicílico (PITT; HOCKING, 2009).

Foi observado *P. expansum* na amêndoa de pinhões em AC3, 5 kPa O<sub>2</sub> e 20 kPa CO<sub>2</sub>, em ambas temperaturas (Tabelas 14 e 15). Trabalhos *in vitro* de AC com *P. expansum* demonstraram significativa redução de germinação de esporos em 13 kPa CO<sub>2</sub> (COSSENTINE et al., 2004) e inibição do crescimento da colônia em 21 kPa O<sub>2</sub> + 20 kPa CO<sub>2</sub> e 0,2 kPa O<sub>2</sub> + 0 kPa CO<sub>2</sub>, sendo o crescimento reestabelecido após exposição em AR (BRACKMANN et al., 1996).

Esse foi um estudo pioneiro em quantificar e identificar a ocorrência de fungos, gêneros e espécies, em pinhão *in natura* após armazenamento prolongado em diferentes condições de AC. O objetivo do armazenamento é aumentar a disponibilidade do pinhão, durante a entressafra, para ser comercializado como alimento e matéria-prima para a indústria.

#### 4.1.4 Conclusão

O pinhão pode ser armazenado em AR, em temperaturas entre 0,5 °C e 2,5 °C, quando em 96 ±2 % UR, por 120 dias.

As temperaturas 0,5 °C e 2,5 °C não diferiram na qualidade do pinhão armazenado nas três condições de AC estudadas (1,0 kPa O<sub>2</sub> + 3,0 kPa CO<sub>2</sub>; 3,0 kPa O<sub>2</sub> + 5,0 kPa CO<sub>2</sub> e 5,0 kPa O<sub>2</sub> + 20,0 kPa CO<sub>2</sub>), pode-se empregar a temperatura 2,5 °C para a redução de custo.

As três condições de AC, associadas a 2,5 °C, permitem o armazenamento do pinhão em alta UR, 96 ±2 %, por 210 dias por reduzirem a infecção por fungos e

favorecerem a uma perda de massa semelhante aos 120 dias em AR (0,5 °C e 2,5 °C e 96  $\pm$ 2 %).

Os gêneros *Penicillium sp.* e *Fusarium sp.* são os contaminantes de maior predominância na amostra de pinhão analisada no pré-armazenamento e, a espécie *P. crustosum* no pós-armazenamento, nas condições AR e AC estudadas. A condição de AC 1,0 kPa O<sub>2</sub> + 3,0 kPa CO<sub>2</sub>, associada a 2,5 °C e 96  $\pm$ 2 %UR, proporciona menor infecção de fungos nos tecidos da amêndoa.

As condições de AR com baixa temperatura, 0,5 °C e 2,5 °C, e elevada UR, 96  $\pm$ 2 %, controlam o dano causado pela broca-do-pinhão no armazenamento prolongado. O mesmo ocorre na associação dessas condições de temperatura e UR com as três condições de AC estudadas.

A condição 1,0 kPa O<sub>2</sub> + 3,0 kPa CO<sub>2</sub> apresentou melhores resultados, seguida das condições 5,0 kPa O<sub>2</sub> + 20,0 kPa CO<sub>2</sub> e 3,0 kPa O<sub>2</sub> + 5,0 kPa CO<sub>2</sub>. É indicado o armazenamento do pinhão por 210 dias nessas três condições de AC em temperatura de 2,5 °C e nível de 96  $\pm$ 2 % UR. Nessas condições, há melhor conservação da qualidade do pinhão por proporcionarem menor taxa respiratória e perda de massa, manutenção da cor da casca, menor incidência de podridão e de infecção por fungos, baixo dano causado pela broca-do-pinhão.

#### **4.1.5 Agradecimentos**

Os autores agradecem à Embrapa Florestas pela concessão de bolsa de iniciação científica ao estagiário Lucas Mallmann Wendt.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

#### **4.1.6 Declaração de conflitos de interesses**

Os autores afirmam não haver conflitos de interesses a declarar.

#### 4.1.7 Referências

AMARANTE, C. V. T. et al. Conservação pós-colheita de pinhões [semente de *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze] armazenados em diferentes temperaturas. **Ciência Rural**, v.37, n. 2, p. 346-351. mar./abr. 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782007000200008&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782007000200008&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 20 jul. 2014. DOI: 10.1590/S0103-84782007000200008.

BALBUENA, T. S. et al. Differential proteome analysis of mature and germinated embryos of *Araucaria angustifolia*. **Phytochemistry**, v. 72, n. 4–5, p. 302-311, apr. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942210004711?via%3Dihub#!>> Acesso em: 23 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.12.007

BEAUDRY, R. M. Effect of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, n. 3, p. 293-303, mar. 1999. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521498000921?via%3Dihub>>. Acesso em: 26 fev. 2017. DOI: 10.1016/S0925-5214(98)00092-1.

BELLO-PÉREZ, L. A. et al. Isolation and Characterization of Starch from Seeds of *Araucaria brasiliensis*: A novel Starch for Application in Food Industry. **Starch/Starke**, v. 58, n.6, p. 283-291, jun. 2006. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/star.200500455>>. Acesso em: 21 mar. 2017. DOI: 10.1002/star.200500455.

BOERSING, M. R.; KADER, A. A.; ROMANI, R. J. Aerobic–anaerobic respiratory transition in pear fruit and cultured pear fruit cells. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v. 113, n. 6, p. 869–973. 1988. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8901849>> . Acesso em: 26 fev. 2017.

BOTH, V. et al. Effect of storage under extremely low oxygen on the volatile composition of Royal Gala apples. **Food Chemistry**. v. 156, n. 1, p. 50-57, aug. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614001265>>. Acesso em: DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.01.094

BRACKMANN, A. et al. Efeito das concentrações de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> no crescimento e esporulação de *Penicillium expansum* (Link.) Thom, *in vitro*. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.2, n. 3, set./dez. 1996. Disponível em: <<https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/168>>. Acesso em: 12 dez. 2016.

BRACKMANN, A. et al. Temperatura, umidade relativa e atraso na instalação da atmosfera controlada no armazenamento de maçã ‘Fuji’. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2367-2372, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782009000800015&script=sci\\_abstract&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782009000800015&script=sci_abstract&lng=pt)>. Acesso em: 20 mar. 2015. DOI: 10.1590/S0103-84782009000800015.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. Lista as espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção e com deficiência de dados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 set. 2008. nº 185, seção 1, p.75-83, Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=75&data=24/09/2008>>. Acesso em: 02 mar. 2016.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Editores Lidio Coradin, Alexandre Siminski, Ademir Reis. – Brasília: MMA, 2011. 934 p. Série Biodiversidade n. 40. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008\\_dcbio/\\_ebooks/regiao\\_sul/Regiao\\_Sul.p df](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008_dcbio/_ebooks/regiao_sul/Regiao_Sul.p df)>. Acesso em: 02 mar. 2016.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº443, de 17 de dezembro de 2014. Trata de reconhecer como espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes da "Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção". **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 dez. 2014. nº 245, seção 1, p. 110-121, Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=18/12/2014&jornal=1&pagina=110&totalArquivos=144>> Acesso em: 02 mar. 2016.

CARVALHO, P. E. R. Pinheiro-do-paraná. **Embrapa Florestas**, 2002. 17 p. Circular Técnica 60. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/304455>>. Acesso em: 15 jan. 2016.

COSENTINE J.E. et al. Fumigation of empty fruit bins with carbon dioxide to control diapausing codling moth larvae *and*. *Penicillium expansum* Link. ex Thom Spores. **Hort Science**, v. 39, p.429-432, 2004. Disponível em: <<http://hortsci.ashspublications.org/content/39/2/429.full.pdf>>. Acesso em: 17 abr. 2017.

CORDENUNSI, B. R. et al. Chemical composition and glycemic index of Brazilian Pine (*Araucária angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11 p. 3412-3416, apr. 2004. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf034814l>>. Acesso em: 28 mar. 2017. DOI: 10.1021/jf034814.

DANNER, M. A.; ZANETTE, F.; RIBEIRO, J. Z. O cultivo da araucária para produção de pinhões como ferramenta para conservação. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 72, p. 441-451, out./dez. 2012. Disponível em: <[https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/379/pdf\\_19](https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/379/pdf_19)>. Acesso em: 15 jan. 2016.  
DOI: 10.4336/2012.pfb.32.72.441

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 4. ed. Curitiba: Champagnat, 2013. 531 p.

EL-GOORANI, M. A.; SOMMER, N. F. Effects of modified atmospheres on postharvest pathogens of fruits and vegetables. **Horticultural Reviews**, v. 3, p.412 – 461, 1981. Disponível em: <<http://ucce.ucdavis.edu/files/datastore/234-1926.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

FAO. Databook on endangered tree and shrub species and provenances. Rome: **FAO**, (FAO Forestry Paper 77), 1986. 524p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/016/ap459e/ap459e00.pdf>>. Acesso em: 02 mar. 2016.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. M.; BERJAK, P. Germination-associated events and the desiccation sensitivity of recalcitrant seeds - a study on three unrelated species. **Planta**. v.178, n.2, p. 189-98, may. 1989. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00393194>>. Acesso em: 07 mar. 2017. DOI: 10.1007/BF00393194

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows: versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos, SP. **Programas e Resumos...** São Carlos: UFSCar. 235p. 2000.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A.; ZANON, A. Conservação de sementes de pinheiro do Paraná sob diferentes condições de ambientes e embalagens. **Embrapa Florestas**, p. 1-4, 1998. Comunicado Técnico, 34. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/290875/1/comtec34.pdf>> Acesso em: 19 jan. 2016.

GARCIA, C. et al. Conservação da viabilidade e vigor de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze durante o armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 4, p. 857-867, dez. 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1980-50982014000400857&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-50982014000400857&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 11 jun. 2015. DOI: 10.5902/1980509816586.

HENNIPMAN, H. S. et al. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de Araucária durante o armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 2, p. 643-654, abr./jun. 2017. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/27749>>. Acesso em: 14 mai. 2015. DOI: 10.5902/1980509827749.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Portaria nº 37-N de 3 de abril de 1992. Reconhece como lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção a relação que apresenta. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 66, p. 4302-4303, 6 abr. 1992. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/IBAMA/PT0037-030492.PDF>>. Acesso em: 04 mar. 2016.

IARC. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. **Agents Classified by the IARC Monographs**, v. 1–122. 30. July. 2018. Disponível em: <<https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>> Acesso em: 10 ago. 2018.

KADER, A. A. Physiology of Controlled Atmosphere Treated Produce. **Acta Horticulturae**, v. 600, p. 349-354, 2003. Disponível em: <[https://www.actahort.org/books/600/600\\_50.htm](https://www.actahort.org/books/600/600_50.htm)> . Acesso em: 18 jun. 2017. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.600.50

KLICH, M. A.; PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs**. Sydney: Common wealth scientific and industrial research organization.1988. 115p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 1. 6. ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos de Flora, 2014. 384 p.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. Weimar: Blackie Academic & Professional; 1999.

PITT, J. I. **A Laboratory Guide to Common *Penicillium* species**. SYDNEY: Common Wealth Scientific and Industrial Research Organization. 197p. 2000

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 3. ed. London: Blackie Academic & Professional. 2009. 593 p.

SALES, M. P. et al. Vicilins (7S storage globulins) of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds bind to chitinous structures of the midgut of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 1, p. 27-34, jan. 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-879X2001000100003&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2001000100003&lng=en&tlng=en)>. Acesso em: 20 jan. 2017. DOI: 10.1590/S0100-879X2001000100003.

SAMSON, R. A.; FRISVAD, J. C. *Penicillium* subgenus *Penicillium*: New taxonomic schemes, mycotoxins and other extrolites. **Studies in Mycology**, v. 449, p. 1–174. jan. 2004.

SANTOS, A. J. et al. Aspectos produtivos e comerciais do pinhão no Estado do Paraná. **Floresta**, v.32, n.2, p.163-169, 2002. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/2281>>. Acesso em: 16 jan. 2016. DOI: 10.5380/ufpr.v32i2.2281.

TEIXEIRA, J. S. G. et al. Imobilização de lagartas de *Cydia araucariae* (Lepidoptera, tortricidae) sob baixas temperaturas. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 17., 2005 Porto Alegre. **Anais eletrônicos...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/59510>>. Acesso em: 11 jun. 2016.

THOMAZINI, M. J.; TEDESCHI, V. H. P.; MEIRA, J. R. Incidência e danos da broca-do-pinhão, *Cydia araucariae* (Pastrana), em sementes de araucária. **Embrapa Florestas**, ago 2011. Comunicado Técnico 276. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/897996>>. Acesso em: 10 jun. 2016.

THOMAZINI, M. J. ; REIS, M. M. R. Incidência da broca-do-pinhão em sementes de araucária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 18., 2013 Florianópolis, **Anais eletrônicos...** XVIII Londrina: Abrates, 2013. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/91534/1/Marcilio-CBS-Incidencia.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2016.

WEBER, A. et al. Atmosfera controlada para o armazenamento da maçã 'Maxi Gala'. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n.2, p. 294-301, abr./jun. 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1806-66902013000200011&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-66902013000200011&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 20 mar. 2015. DOI: 10.1590/S1806-66902013000200011

WIGMANN, E. F. et al. Toxigenic penicillia spoiling frozen chicken nuggets. **Food Research International**, v. 67, p. 219-222, jan. 2015. Disponível em: <[http://orbit.dtu.dk/en/publications/toxigenic-penicillia-spoiling-frozen-chicken-nuggets\(9ea7717d-0c20-4824-ac8e-248af062e123\).html](http://orbit.dtu.dk/en/publications/toxigenic-penicillia-spoiling-frozen-chicken-nuggets(9ea7717d-0c20-4824-ac8e-248af062e123).html)>. Acesso em: 03 jan. 2016. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.11.025.

Tabela 1 – Taxa respiratória (mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>), perda de massa (%) e firmeza (N) em pinhão armazenado sob três diferentes temperaturas e diferentes níveis de UR, em dois períodos de armazenamento (saída da minicâmara) e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C.

Tratamentos (Temp.°C e UR%)	Respiração (mL CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )					
	Saída da minicâmara			Vida de Prateleira		
	0 dias	120 dias	210 dias	0 dias	120 dias	210 dias
Inicial	9,08			13,89		
AR1(20,0 e 70)		18,52cA *	17,81cA		22,01bB	19,45bA
AR2 (2,5 e 96)		10,01aA	11,12aA		15,19aA	16,45aA
AR3 (0,5 e 96)		13,28bA	15,01bB		21,03bB	18,71bA
CV		20,72			18,07	
Tratamentos (Temp.°C e UR%)	Perda de Massa (%)					
	Saída da minicâmara			Vida de Prateleira		
	0 dias	120 dias	210 dias	0 dias	120 dias	210 dias
Inicial	0,00			9,50		
AR1(20,0 e 70)		20,55bA	38,84cB		2,01aA	3,22aB
AR2 (2,5 e 96)		9,36aA	16,87bB		4,66bA	6,17bB
AR3 (0,5 e 96)		10,28aA	15,41aB		3,76abA	4,67abB
CV		16,40			23,65	
Tratamentos (Temp.°C e UR%)	Firmeza ** (N)					
	Saída da minicâmara			Vida de Prateleira		
	0 dias	120 dias	210 dias	0 dias	120 dias	210 dias
Inicial	6,41			6,98		
AR1(20,0 e 70)		6,85aB	5,25bA		6,94aB	5,92aA
AR2 (2,5 e 96)		6,81aA	6,45aA		7,43aB	6,36aA
AR3 (0,5 e 96)		6,49aA	6,36aA		7,16aB	6,72aA
CV		7,83			5,72	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p > 0,05).: coeficiente de variação (%).

\*\* Firmeza da amêndoa cozida.

Tabela 2 - Incidência de danos causados pela broca-do-pinhão (%) e de podridão (%) em pinhão armazenado sob três diferentes temperaturas e diferentes níveis de UR, em dois períodos de armazenamento (saída da minicâmara) e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C.

Tratamentos (Temp. °C e UR%)	Broca-do-pinhão (%)					
	Saída da minicâmara			Vida de Prateleira		
	0 dias	120 dias	210 dias	0 dias	120 dias	210 dias
Inicial	0,00			2,50		
AR1(20,0 e 70)		3,23aA*	11,99bB		14,45bB	11,99bA
AR2 (2,5 e 96)		2,65aA	2,47aA		2,65aA	2,47aA
AR3 (0,5 e 96)		1,44aA	2,06aA		2,37aA	2,75aA
CV		82,78			64,93	

Tratamentos (Temp. °C e UR%)	Podridão (%)					
	Saída da minicâmara			Vida de Prateleira		
	0 dias	120 dias	210 dias	0 dias	120 dias	210 dias
Inicial	0,00			2,50		
AR1(20,0 e 70)		10,72bA	13,14bA		16,92bA	21,66bB
AR2 (2,5 e 96)		1,11aA	2,65aA		2,06aA	5,52aA
AR3 (0,5 e 96)		0,59aA	1,04aA		1,13aA	2,75aA
CV		74,58			78,11	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). CV: coeficiente de variação (%).

Tabela 3 – Luminosidade ( $L^*$ ), coordenadas  $a^*$  e  $b^*$  da cor da casca do pinhão armazenado sob três diferentes temperaturas e diferentes níveis de UR, em dois períodos de armazenamento (saída da minicâmara) e mais 14 dias de vida de prateleira a 20°C.

Tratamentos (Temp. °C e UR%)	$L^*$					
	Saída da minicâmara			Vida de Prateleira		
	0 dias	120 dias	210 dias	0 dias	120 dias	210 dias
Inicial	26,78			29,37		
AR1(20,0 e 70)		36,77aB*	33,83bA		36,23aA	30,86aA
AR2 (2,5 e 96)		32,98aA	32,15bA		38,00aA	35,41bA
AR3 (0,5 e 96)		33,40aA	30,05aA		43,11bA	32,26aA
CV		4,62			15,91	

Tratamentos (Temp. °C e UR%)	Coordenada $a^*$					
	Saída da minicâmara			Vida de Prateleira		
	0 dias	120 dias	210 dias	0 dias	120 dias	210 dias
Inicial	14,91			15,34		
AR1(20,0 e 70)		18,41aA	16,69aA		17,40aB	13,85aA
AR2 (2,5 e 96)		17,71aA	18,18aA		18,70aB	16,46bA
AR3 (0,5 e 96)		19,18aA	18,11aA		16,45aB	14,33aA
CV		5,21			6,75	

Tratamentos (Temp. °C e UR%)	Coordenada $b^*$					
	Saída da minicâmara			Vida de Prateleira		
	0 dias	120 dias	210 dias	0 dias	120 dias	210 dias
Inicial	11,10			11,23		
AR1(20,0 e 70)		14,86aA	14,01aA		14,25aB	11,16aA
AR2 (2,5 e 96)		14,46aA	14,99aA		17,30bB	15,08aA
AR3 (0,5 e 96)		15,17aA	14,97aA		15,05aB	12,65aA
CV		9,71			9,76	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). CV: coeficiente de variação (%).

Tabela 4 – Valores de atividade de água (Aa), percentual de infecções e percentual dos fungos identificados na casca\* e amêndoa do pinhão *in natura* no pré-armazenamento.

	Casca do Pinhão			Amêndoa do pinhão
	superior	mediana	inferior	
Aa	0,99	0,99	0,99	0,98
Infecção	100,00	100,00	100,00	66,66
<i>Fusarium solani</i>	90,90	-	18,18	-
<i>Penicillium spinulosum</i>	-	-	81,81	45,45
<i>Penicillium sclerotiorum</i>	3,03	81,81	-	6,06
<i>Mycelia sterilia</i>	-	39,39	-	12,12
<i>Penicillium simplicissimum</i>	18,18	-	-	-
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	-	15,15
<i>Trichoderma sp.</i>	-	-	12,12	-
<i>Demáceos</i>	-	12,12	-	-
<i>Mucor sp.</i>	-	9,09	-	-

\*Três partes da casca: extremidade superior da casca; mediana da casca; e extremidade inferior.

Tabela 5 – Valores de atividade de água (Aa), percentual de infecções e percentual dos fungos identificados na casca\* e na amêndoa do pinhão, após 210 dias de armazenamento em três diferentes condições de armazenamento refrigerado (AR).

	Tratamentos					
	AR 1		AR 2		AR 3	
	20,0 °C		2,5 °C		0,5 °C	
	70,0 % UR		96,0 ±2 %UR		96,0 ±2 %UR	
	Casca	Amêndoa	Casca	Amêndoa	Casca	Amêndoa
Aa	0,89	0,90	0,89	0,96	0,93	0,97
Infecção	100,00	100,00	96,97	66,67	100,00	100,00
<i>Fusarium sp.</i>	27,27	-	57,57	18,18	15,15	12,12
<i>P. sp.(monovorticiliado)</i>	6,06	-	-	-	-	-
<i>P. sclerotiorum</i>	18,18	3,03	-	-	-	-
<i>P. spinulosum</i>	15,15	-	-	-	27,27	-
<i>P. crustosum</i>	9,09	72,72	9,09	-	48,48	72,72
<i>P. glabrum</i>	-	-	6,06	-	-	-
<i>P. commune</i>	-	-	-	45,45	-	-
<i>P. expansum</i>	-	-	-	3,03	-	15,15
<i>Mycelia sterilia</i>	57,57	42,42	48,48	21,21	18,18	18,18

\*Parte mediana da casca do pinhão.

Tabela 6 – Taxa de respiração (mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>) de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em 96 ±2 % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C.

Tratamentos (kPa O <sub>2</sub> +kPa CO <sub>2</sub> )	Dia 0		Vida de Prateleira	
	Inicial	9,08		13,89
CV	19,74			
<b>Saída do Armazenamento</b>				
	0,5 °C		2,5 °C	
	120 dias	210 dias	120 dias	210 dias
AC1(1,0+3,0)	7,09aA*	6,22aA	10,92aA	9,31aA
AC2(3,0+5,0)	9,07abA	8,98abA	12,55abA	10,60aA
AC3(5,0+20,0)	13,25bA	11,40bA	15,53bA	13,12bA
CV	21,17		37,29	
<b>Vida de Prateleira</b>				
	0,5 °C		2,5 °C	
	120 dias	210 dias	120 dias	210 dias
AC1(1,0+3,0)	13,28bA	15,03bA	21,49bA	23,51abA
AC2(3,0+5,0)	10,00abA	12,36abA	17,07abA	18,60abA
AC3(5,0+20,0)	9,05aA	10,71aA	11,59aA	13,19aA
CV	36,52		30,86	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p > 0,05). CV: coeficiente de variação (%).

Tabela 7 – Perda de massa (%) de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em 96 ±2 % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C.

Tratamentos (kPa O <sub>2</sub> +kPa CO <sub>2</sub> )	Dia 0		Vida de Prateleira	
	Inicial	0,00		9,05
CV	12,00			
<b>Saída do Armazenamento</b>				
	0,5 °C		2,5 °C	
	120 dias	210 dias	120 dias	210 dias
AC1(1,0+3,0)	1,58aA*	1,28aA	2,45aA	1,77aA
AC2(3,0+5,0)	2,29abA	2,30abA	2,86aA	2,14aA
AC3(5,0+20,0)	4,11bA	3,87bA	3,23aA	2,91aA
CV	39,85		45,12	
<b>Vida de Prateleira</b>				
	0,5 °C		2,5 °C	
	120 dias	210 dias	120 dias	210 dias
AC1(1,0+3,0)	7,62bA	8,83bA	5,62bA	7,10bA
AC2(3,0+5,0)	7,97bA	8,53bA	4,77aA	6,87aA
AC3(5,0+20,0)	6,65aA	7,36aA	6,08aA	5,93aA
CV	64,49		73,81	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p > 0,05). CV: coeficiente de variação (%).

Tabela 8 – Firmeza \*\* (N) de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em 96 ±2 % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C.

Tratamentos (kPa O <sub>2</sub> +kPa CO <sub>2</sub> )	Dia 0		Vida de Prateleira	
	3,61			
Inicial	6,40		6,98	
CV				
	Saída do Armazenamento			
	0,5 °C		2,5 °C	
	120 dias	210 dias	120 dias	210 dias
AC1(1,0+3,0)	6,58aA*	6,27aA	6,49aA	6,05aA
AC2(3,0+5,0)	6,58aA	5,83aA	6,58aA	5,92aA
AC3(5,0+20,0)	6,54aA	5,83aA	6,81aA	5,78aA
CV	16,49		17,35	
	Vida de Prateleira			
	0,5 °C		2,5 °C	
	120 dias	210 dias	120 dias	210 dias
AC1(1,0+3,0)	7,30aB	6,58aA	7,34aB	6,41aA
AC2(3,0+5,0)	7,12aB	6,67aA	7,03aA	6,76aA
AC3(5,0+20,0)	6,85aB	6,32aA	6,89aA	6,54aA
CV	4,48		3,97	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p > 0,05). CV: coeficiente de variação (%).

\*\* Firmeza da amêndoa cozida.

Tabela 9 – Incidência de danos causados pela broca-do-pinhão (%) em pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em 96 ±2 % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C.

Tratamentos (kPa O <sub>2</sub> +kPa CO <sub>2</sub> )	Dia 0		Vida de Prateleira	
	82,84			
Inicial	0,00		2,50	
CV				
	Saída do Armazenamento			
	0,5 °C		2,5 °C	
	120 dias	210 dias	120 dias	210 dias
AC1(1,0+3,0)	1,56abA*	2,04aA	0,88aA	0,63aA
AC2(3,0+5,0)	0,91aA	0,71aA	1,54aA	0,62aA
AC3(5,0+20,0)	1,97bA	0,97aA	2,38aA	1,55aA
CV	66,00		68,73	
	Vida de Prateleira			
	0,5 °C		2,5 °C	
	120 dias	210 dias	120 dias	210 dias
AC1(1,0+3,0)	2,46aA	2,04aA	1,51aA	0,63aA
AC2(3,0+5,0)	1,78aA	0,71aA	2,48aA	1,24aA
AC3(5,0+20,0)	2,55aB	0,97aA	2,38aA	1,55aA
CV	78,45		70,15	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p > 0,05). CV: coeficiente de variação (%).

Tabela 10 – Incidência de podridão (%) em pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em 96 ±2 % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C.

<b>Tratamentos (kPa O<sub>2</sub>+kPa CO<sub>2</sub>)</b>	<b>Dia 0</b>		<b>Vida de Prateleira</b>	
Inicial	0,00		2,50	
CV	82,84			
	<b>Saída do Armazenamento</b>			
	<b>0,5 °C</b>		<b>2,5 °C</b>	
	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>
AC1(1,0+3,0)	0,31aA*	1,05bA	0,00aA	0,32aA
AC2(3,0+5,0)	0,60aA	0,00aA	0,60aA	0,62aA
AC3(5,0+20,0)	0,00aA	0,00aA	0,88aA	0,32aA
CV	92,56		94,11	
	<b>Vida de Prateleira</b>			
	<b>0,5 °C</b>		<b>2,5 °C</b>	
	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>
AC1(1,0+3,0)	0,31aA	2,07aB	0,31aA	1,89aA
AC2(3,0+5,0)	1,23aA	1,68aA	0,60aA	1,85aA
AC3(5,0+20,0)	0,31aA	0,65aA	1,19aA	1,58aA
CV	107,01		99,23	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p > 0,05). CV: coeficiente de variação (%).

Tabela 11 – Luminosidade (L\*) da casca de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em 96 ±2 % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C.

<b>Tratamentos (kPa O<sub>2</sub>+kPa CO<sub>2</sub>)</b>	<b>Dia 0</b>		<b>Vida de Prateleira</b>	
Inicial	26,78		28,07	
CV	5,33			
	<b>Saída do Armazenamento</b>			
	<b>0,5 °C</b>		<b>2,5 °C</b>	
	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>
AC1(1,0+3,0)	32,62aB*	29,72aA	33,63aB	28,59aA
AC2(3,0+5,0)	32,91aB	28,58aA	34,55aB	28,95aA
AC3(5,0+20,0)	32,46aA	29,02aA	34,98aB	29,23aA
CV	5,61		7,48	
	<b>Vida de Prateleira</b>			
	<b>0,5 °C</b>		<b>2,5 °C</b>	
	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>
AC1(1,0+3,0)	37,04aB	32,86aB	35,33aA	31,51aA
AC2(3,0+5,0)	37,25aB	30,26aA	35,79aA	32,97aA
AC3(5,0+20,0)	34,36aA	33,41bA	37,84aA	31,68aA
CV	5,15		6,33	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p > 0,05). CV: coeficiente de variação (%).

Tabela 12 – Coordenada a\* da cor da casca de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em 96 ±2 % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C.

Tratamentos (kPa O <sub>2</sub> +kPa CO <sub>2</sub> )	Dia 0		Vida de Prateleira	
	Inicial		11,23	
Inicial	14,91		15,34	
CV	9,18			
<b>Saída do Armazenamento</b>				
<b>0,5 °C</b>				
	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>
AC1(1,0+3,0)	19,92aA*	18,84aA	20,66aA	18,55aA
AC2(3,0+5,0)	19,08aA	18,53aA	20,40aA	17,14aA
AC3(5,0+20,0)	18,95aA	18,68aA	21,14aA	18,35aA
CV	6,82		8,15	
<b>Vida de Prateleira</b>				
<b>0,5 °C</b>				
	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>
AC1(1,0+3,0)	17,61aB	14,97aA	18,24aB	15,17aA
AC2(3,0+5,0)	18,94aB	14,82aA	18,45aB	15,91aA
AC3(5,0+20,0)	17,84aB	15,45aA	18,48aB	16,69aA
CV	7,60		7,24	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p > 0,05). CV: coeficiente de variação (%).

Tabela 13 – Coordenada b\* da cor da casca de pinhão armazenado sob três condições de atmosfera controlada, duas temperaturas e em 96 ±2 % UR, por dois períodos de armazenamento e mais 14 dias de vida de prateleira a 20 °C.

Tratamentos (kPa O <sub>2</sub> +kPa CO <sub>2</sub> )	Dia 0		Vida de Prateleira	
	Inicial		11,23	
Inicial	11,10		11,23	
CV	11,82			
<b>Saída do Armazenamento</b>				
<b>0,5 °C</b>				
	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>
AC1(1,0+3,0)	15,39aA*	14,78aA	15,22aB	12,98aA
AC2(3,0+5,0)	15,22aA	13,73aA	16,25aB	13,02aA
AC3(5,0+20,0)	14,90aA	13,13aA	16,38aB	12,81aA
CV	9,34		12,62	
<b>Vida de Prateleira</b>				
<b>0,5 °C</b>				
	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>	<b>120 dias</b>	<b>210 dias</b>
AC1(1,0+3,0)	15,62aA	12,95aA	15,26aA	12,58aA
AC2(3,0+5,0)	16,71aA	12,94aA	15,64aA	13,12aA
AC3(5,0+20,0)	15,08aA	14,01aA	16,77aA	13,19aA
CV	13,56		10,81	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p > 0,05). CV: coeficiente de variação (%).

Tabela 14 – Valores de atividade de água (Aa), percentual de infecções e percentual dos fungos identificados na casca\* e na amêndoa do pinhão, após 210 dias de armazenamento em três diferentes condições de atmosfera controlada, e em 0,5 °C e 96,0 ±2 % UR.

	Tratamentos (kPa O <sub>2</sub> + kPa CO <sub>2</sub> )					
	AC 1 1,00 + 3,00		AC 2 3,00 + 5,00		AC 3 5,00 + 20,00	
	Casca	Amêndoa	Casca	Amêndoa	Casca	Amêndoa
Aa	0,97	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98
Infecção	96,97	78,79	100,00	84,85	100,00	30,30
<i>Fusarium sp.</i>	9,09	3,03	36,09	24,24	18,18	15,15
<i>P. sp.(monovorticiliado)</i>	-	3,03	-	-	-	-
<i>P. sclerotiorum</i>	-	15,15	-	3,03	6,06	3,03
<i>P. spinulosum</i>	51,51	-	-	-	-	-
<i>P. crustosum</i>	21,21	39,39	63,63	18,18	36,36	-
<i>P. commune</i>	-	-	-	39,39	6,06	-
<i>P. expansum</i>	-	-	-	-	-	12,12
<i>P. aurantiogriseum</i>	-	3,03	-	-	-	-
<i>Mycelia sterilia</i>	30,30	-	24,24	9,09	39,39	3,03

\*Parte mediana da casca do pinhão.

Tabela 15 – Valores de atividade de água (Aa), percentual de infecções e percentual dos fungos identificados na casca\* e na amêndoa do pinhão, após 210 dias de armazenamento em três diferentes condições de atmosfera controlada, e em 2,5 °C e 96,0 ±2 % UR.

	Tratamentos (kPa O <sub>2</sub> + kPa CO <sub>2</sub> )					
	AC 1 1,00 + 3,00		AC 2 3,00 + 5,00		AC 3 5,00 + 20,00	
	Casca	Amêndoa	Casca	Amêndoa	Casca	Amêndoa
Aa	0,98	0,98	0,99	0,98	0,98	0,98
Infecção	100,00	33,33	96,97	60,61	100,00	72,73
<i>Fusarium sp.</i>	9,09	-	6,06	3,03	12,12	-
<i>P. sclerotiorum</i>	-	-	-	3,03	-	-
<i>P. spinulosum</i>	-	-	24,24	-	-	-
<i>P. crustosum</i>	63,63	3,03	15,15	-	30,30	45,45
<i>P. glabrum</i>	6,06	-	-	-	6,06	-
<i>P. commune</i>	-	27,27	-	24,24	-	-
<i>P. expansum</i>	-	-	-	-	-	9,09
<i>P. aurantiogriseum</i>	-	-	-	-	-	24,24
<i>Curvularia sp.</i>	-	-	-	3,03	-	-
<i>Mycelia sterilia</i>	54,54	9,09	51,51	30,30	57,57	18,18

\*A casca do pinhão, parte mediana da casca.

## 5 DISCUSSÃO GERAL

A pós-colheita do pinhão vem sendo estudada há décadas, em sua maioria, para conservação da viabilidade, devido apresentar intolerância à desidratação, característica de sua fisiologia recalcitrante. Esses estudos reportam o uso da baixa temperatura e alta umidade relativa (UR) (CAÇOLA et al., 2006; FARRANT; PAMMENTER; BERJAK, 1989; FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998; GARCIA et al., 2014; HENNIPMAN et al., 2017). O armazenamento refrigerado (AR) na condição de baixa temperatura,  $4 \pm 1$  °C e alta umidade relativa (UR),  $89 \pm 1$  %, associadas à embalagem de polietileno, de 24  $\mu$ m de espessura, é indicado como condições ideais de armazenamento do pinhão por 12 meses (FOWLER; BIANCHETTI; ZANON, 1998), embora essa condição favoreça a infecção por fungos (HENNIPMAN et al. 2017). A literatura sobre o armazenamento pós-colheita do pinhão, visando à conservação desse alimento, com supressão da germinação, é incipiente. Amarante et al. (2007) ao avaliarem pinhões mantidos por 96 dias, nas temperaturas 2; 10; 20; 30; 40 e 50 °C em  $90,0 \pm 2,0$  % UR, concluíram que pinhões devem ser mantidos em temperatura próxima de 0 °C e elevada UR para reduzir a taxa respiratória e a perda de massa desse alimento.

A partir dos apontamentos acima se iniciou o planejamento dos experimentos da presente tese acerca de estabelecer a modalidade de aquisição de pinhões; estabelecer condições de AR, baixa temperatura e alta UR, e condições de atmosfera controlada (AC) a serem estudadas; estabelecer as análises das variáveis a serem realizadas; de forma a avaliar o efeito das condições de armazenamento na conservação do pinhão. Os pinhões foram obtidos diretamente de coletores que comercializam para varejistas e atacadistas locais. Essa modalidade de obtenção teve por intuito conseguir uma diversidade na maturação e genética dos pinhões e desconhecer o período real entre coleta e comercialização. Dessa forma foram simuladas as condições reais dos pinhões a serem armazenados em câmaras frigoríficas de cooperativas e atacadistas. Nas amostras obtidas nos 4 anos de estudo houve pouca variação na maturidade, entretanto, em todas as amostras eram visíveis a alta diversidade fenotípica dos pinhões, em cor, tamanho e massa. De acordo com Krupek; Ribeiro (2010), essa diversidade se dá em função da diferença genética da planta mãe e das diferentes condições edáficas e climáticas.

No primeiro ano foi realizado experimento de armazenamento de médio prazo, 60 dias. Tal período permite o controle dos excedentes de mercado, sem muita perda de qualidade, pois permite armazenar pinhão maturo recém-coletado em AR. A refrigeração, processo de transferência de calor, permitiu a redução da taxa respiratória (Artigo 1 – Tabela 1). O mesmo foi observado por Amarante et al. (2007) em pinhões sob 2 °C e 10 °C. Esses autores relatam um incremento duas vezes maior na taxa respiratória a cada aumento de 10 °C na temperatura de armazenamento do pinhão. A refrigeração afeta diretamente a velocidade das reações químicas e bioquímicas, assim, o controle da baixa temperatura de armazenamento tem por objetivo reduzir a taxa respiratória.

Altos níveis de UR, 90% e 98% no interior das minicâmaras, permitiram melhor manutenção da massa do pinhão (Artigo 1 – Tabela 3). O controle da UR durante o armazenamento é imprescindível, pois quando abaixo do requerido pelo produto vegetal promove a desidratação e, quando próximo da saturação, 98-100 % UR, pode favorecer o desenvolvimento excessivo de microrganismos patogênicos (CHITARRA; CHITARRA, 2006). Realmente, no primeiro ano de estudos foi percebida incidência de fungos na casca de pinhões nas condições de baixas temperaturas e altos níveis de UR. De forma que nos experimentos do segundo ano foi incluída a análise incidência de fungos (Artigo 1 – Tabelas 5, 7 e 9) e no terceiro ano as análises percentual de infecção e identificação de fungos (Artigo 2 – 4, 5, 14 e 15).

No segundo ano foi possível observar o efeito do tempo de armazenamento sobre o metabolismo dos pinhões em AR. A perda de massa na saída do armazenamento prolongado, aos 135 dias, foi de duas a três vezes maior daquela observada no ano anterior, aos 60 dias de armazenamento, sob as mesmas condições de temperatura e UR (Artigo 1 – Tabelas 1 e 5; 3 e 7).

As condições estudadas de alta temperatura, 20 °C, (Artigo 1 – Tabela 5 e Artigo 2 – Tabela 1) e baixo nível de UR, 80% (Artigo 1 – Tabela 7) e 70 % (Artigo 2 – Tabela 1) apresentaram resultados similares à literatura (AMARANTE et al., 2007; DAVID; SILOCHI, 2011). Entretanto são condições desaconselháveis por não conservarem a qualidade do pinhão. A alta temperatura favorece uma inicial perda de reserva energética e massa com posterior redução do metabolismo. Enquanto o baixo nível de UR propicia uma maior perda de massa e de atributos de qualidade, em razão do aumento do déficit de pressão de vapor (DPV), diferença de pressão de

vapor nos espaços intercelulares do pinhão e do ar da minicâmara de armazenamento.

A redução do metabolismo, representada pela taxa respiratória, do pinhão mantido em baixa temperatura (Artigo 1 – Tabela 5, Artigo 2 – Tabela 1), está em acordo com a literatura. Os autores Ekman; Golding; McGlasson (2005) afirmam que em AR a temperatura é o principal fator de redução do metabolismo de vegetais *in natura*. Quando associada a baixa temperatura com alta UR, há melhor manutenção da massa e conservação da qualidade do pinhão, exceto para análises de incidência e infecção fúngica (Artigo 1 – Tabela 6, Artigo 2 – Tabelas 5). A alta umidade e atividade de água do pinhão associadas aos elevados níveis de UR são condições favoráveis ao crescimento fúngico (CLADERA-OLIVEIRA et al., 2005; HENNIPMAN et al., 2017). Para armazenamento do pinhão em AR são indicadas temperaturas entre 0 °C a 1 °C, em 90 ±3% UR (Artigo 1) e as temperaturas 0,5 °C e 2,5 °C, quando em 96 ±2 % UR (Artigo 2).

Para estudar o efeito fisiológico da AC sobre a conservação da qualidade do pinhão no armazenamento prolongado, conduziu-se um experimento inicial. As condições de AC estudadas foram associadas à baixa temperatura de refrigeração e alto nível de UR (TADINI, 2018). A taxa respiratória é um bom indicador de atividade metabólica e, o controle da taxa respiratória é um dois meios mais eficazes de regular o metabolismo para estender a vida de prateleira de vegetais *in natura* (MATHOOKO, 1996). O oxigênio (O<sub>2</sub>) e o gás carbônico (CO<sub>2</sub>) são moléculas biologicamente ativas nos processos metabólicos dos vegetais, modificando o comportamento fisiológico do vegetal, propiciando armazenamento prolongado. A redução da taxa de respiração de produtos vegetais, na câmara frigorífica, pode ser obtida com a redução do nível de O<sub>2</sub> (BOERSING; KADER; ROMANI, 1988) e ou elevação CO<sub>2</sub> (KUBO; INABA; NAKAMURA, 1990).

Os autores Caçola et al. (2006) observaram redução no metabolismo, velocidade de germinação, de pinhões mantidos 60 dias em AC, em níveis de 2,4 kPa O<sub>2</sub> + 0,06 kPa CO<sub>2</sub>. No presente estudo também foi observada a redução do metabolismo, taxa respiratória e, conseqüente perda de massa em pinhões nos níveis de 3 kPa O<sub>2</sub> ou de 3 kPa CO<sub>2</sub> (Artigo 1 – Tabela 9) . Pinhões nessas duas condições de AC, associadas com 90 % UR e 2 °C apresentaram menor incidência de fungos que pinhões em AR sobre as mesmas condições de temperatura (Artigo 1 – Tabelas 7 e 9). Esses resultados estão em acordo com a literatura. A tecnologia

atmosfera controlada permite alterações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> em níveis que podem inibir o crescimento fúngico em vegetais *in natura* (BRACKMANN et al., 1996; EL-GOORANI; SOMMER, 1981; PITT; HOCKING, 2009).

As condições de AC estudadas foram mais importantes na redução do metabolismo dos pinhões que as temperaturas associadas 0,5 °C e 2,5 °C (Artigo 2 – Tabela 6) no terceiro ano de experimentos. Entretanto, quanto menor a temperatura de armazenamento, maior é o consumo de energia elétrica da câmara frigorífica. Trabalhar com uma faixa de temperatura um pouco mais elevada é uma ferramenta interessante para reduzir o gasto financeiro pelas empresas de armazenamento. Os autores McCormick; Neuwald; Streif (2012) observaram uma redução de 35 % no consumo de energia elétrica quando utilizado 4 °C, em relação a 1,5 °C; no armazenamento refrigerado de maçã ‘Gala’ por 8 meses em AC associada à aplicação de 1-metilciclopropeno (1-MCP).

Mesmo o pinhão sendo um alimento nutritivo e de importância cultural na região produtora, há um número incipiente de estudos sobre sua sanidade e aspectos sensoriais. Muitos pontos necessitam ser elucidados sobre os ataques biológicos, broca-do-pinhão e infecção fúngica e, o estudo de metodologias para controlar esses ataques no pinhão. Uma vez que a sanidade desse alimento é importante para garantir a segurança alimentar e nutricional do consumidor, atendendo à Lei n. 11.346 (BRASIL, 2006b), e reduzir os prejuízos financeiros decorrentes de perdas no armazenamento e comercialização.

A broca-do-pinhão é a principal praga do pinheiro-brasileiro. A lagarta se alimenta da amêndoa, provocando perda na qualidade do produto, tornando-o impróprio para o consumo humano. A incidência de pinhões com danos é uma considerável perda comercial. Uma grande dificuldade está em identificar pinhões com lagarta em seu interior, sem apresentar os danos por furo ou excremento na casca. Segundo Thomazini; Tedeschi; Meira (2011), o método de controle (prova Schenkel) baseado na separação dos pinhões atacados (que boiam) dos sadios (que afundam) em recipiente com água, é ineficiente.

Thomazini; Reis (2013) relatam a incidência da broca-do-pinhão de 17,5 % em pinhões obtidos em pinhas coletadas em plantas. Desse valor, apenas 3,5 % dos pinhões apresentavam dano na casca e, cerca de 14 % das sementes atacadas não tinham dano visível na casca; nessas a maioria das lagartas estavam em estágio intermediário de desenvolvimento e provocaram danos parciais. No presente estudo

as condições de AR de baixa temperatura e alta UR (Artigo 2 – Tabela 2) mostraram-se eficientes no controle de dano causado pela lagarta, ao interromper o ciclo da broca-do-pinhão. Resultado semelhante foi observado nos tratamentos de AC em iguais condições de temperatura e UR (Artigo 2 – Tabela 9). Segundo os autores Boersing; Kader; Romani (1988), são estudadas condições atmosférica de baixo O<sub>2</sub> (< 1 kPa) em diversos vegetais *in natura* para controle de insetos, tratamento quarentenário.

Os percentuais de podridão, observados em pinhões nas três condições de AC, são inferiores aos de dano causados pela broca-do-pinhão (Artigo 2 - Tabelas 9 e 10). Possivelmente a podridão em pinhão está mais relacionada à infecção por fungos, pois o percentual de infecção por fungos foi baixo em pinhões armazenados em AC (Artigo 2 - Tabelas 14 e 15), e maior quando comparados aos pinhões em AR (Artigo 2 – Tabelas 4 e 5). Os autores Hennipaman et al. (2017) observaram aos 12 meses de armazenamento, que 80 % de pinhões apresentavam infecção por fungo e apodrecidos após 12 meses mantidos de sob 5 ±1 °C, 89 ±2 %UR, e embalagem de polietileno, de 24 µm de espessura

É crescente e de ordem mundial a preocupação com os metabólicos secundários produzidos por fungos, importantes contaminantes em alimentos que podem ocasionar perdas comerciais e acometer a saúde humana. Algumas cepas de espécies dos gêneros *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* e *Fusarium sp.* são capazes de produzir as principais micotoxinas de preocupação em alimentos, aflatoxinas, ocratoxina, fumonisinas, zearalenona, desoxinivalenol e patulina (PITT; HOCKING, 2009). A identificação da espécie *P. expansum* em amêndoas de pinhão (Artigo 2 – Tabelas 14 e 15) requer estudos mais detalhados para identificar se é uma cepa produtora de patulina.

Na classificação da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC, 2018), a micotoxina patulina está no grupo 3, definido como: não classificável quanto à sua carcinogenicidade para os seres humanos. Apesar da falta de definições de dados sobre a sua toxicidade, vários países estabeleceram limites para a patulina em produtos derivados da maçã. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária regulamentou, via RDC nº 17/ 2011, que o limite máximo tolerado de patulina no suco de maçã e polpa de maçã é de 50 µg/kg (ANVISA, 2011).

O crescimento de fungos e a produção de seus metabólitos secundários, micotoxinas, são dependentes de fatores intrínsecos e extrínsecos. Dentre os intrínsecos destacam-se a Aa, em especial o valor da Aa mínima requerida e, os nutrientes do substrato, como os carboidratos. Entre os fatores extrínsecos, a temperatura tem grande influência. Têm sido determinadas faixas de temperaturas ótimas, onde se observa o ápice de desenvolvimento fúngico e da produção e várias micotoxinas. Para o *P. Expansum*, a condição ótima está em 0,95 Aa e 25 °C para produzir patulina, contudo há observações de AC interferirem na produção de patulina. Atmosfera com níveis de 3 kPa CO<sub>2</sub> ou 2 kPa CO<sub>2</sub> inibiram completamente a produção de patulina a 25 °C, mas em condições atmosféricas com níveis de 2 kPa CO<sub>2</sub> e 10 kPa O<sub>2</sub> ou 20 kPa O<sub>2</sub> ocorreu a produção de patulina (PITT; HOCKING, 2009).

O presente trabalho apresenta resultados promissores para controle do crescimento fúngico em pinhões armazenados em alta UR, quando em condições atmosféricas de baixo O<sub>2</sub> e elevado CO<sub>2</sub> e sob baixa temperatura (Artigo 2 – Tabelas 14 e 15), em comparação àqueles armazenados em AR nas condições de baixa temperatura e elevada UR (Artigo 2 – Tabela 5). Foram identificados gêneros e espécies fúngicas nos tecidos internos da casca e amêndoa do pinhão (Artigo 2 – Tabelas 4, 5, 14 e 15) enquanto que a literatura relata identificação de estruturas fúngicas que cresceram sobre a casca (BIZI et al., 2004; FRECCIA et al., 2013; HENNIPMAN et al., 2017).

Nas últimas décadas é significativo o número de estudos sobre a origem e imagem dos produtos alimentícios. Esses estudos abordam o crescente interesse e valorização dos consumidores por produtos locais, regionais e de caráter tradicional (BIANCHI, 2017; FELDMANN; HAMM, 2015; FERNÁNDEZ-FERRÍN, et al., 2018; PÍCHA; NAVRÁTIL; ŠVEC, 2018) e a relação produção-consumo, produtor comercializando diretamente com o consumidor (HOLLOWAY et al., 2007). O pinhão é um alimento que apresenta excelente qualidade organoléptica e grande aceitação no mercado regional. Os consumidores preferem produtos frescos e disponíveis durante todo o ano (TADINI, 2018), o armazenamento do pinhão na entressafra requer conservação da sua qualidade, propriedades sensoriais. Segundo Chitarra; Chitarra (2005), a qualidade sensorial de um produto vegetal depende de fatores como variedade, condições de cultivo, maturação para colheita, manuseio pós-colheita e armazenamento.

No presente estudo, na conservação da qualidade do pinhão *in natura* em armazenamento prolongado, foram obtidos resultados notórios em AR. A baixa temperatura reduziu a atividade respiratória e a alta UR propiciou a menor perda de massa. Enquanto que foram encontrados resultados satisfatórios na utilização da AC, principalmente nas alterações simultâneas dos níveis de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, associada à baixa temperatura e elevada UR, verificados nas análises físicas e micológicas. Considerando ser este um trabalho pioneiro de armazenamento do pinhão em AC, associada a baixa temperatura e elevada UR, o mesmo permite retirar algumas informações preliminares, mas importantes, a cerca da redução do metabolismo, controle de dano causado pela broca-do-pinhão e redução da infecção por fungos.

## 6 CONCLUSÃO GERAL

O pinhão *in natura* pode ser armazenado em AR, em temperaturas entre 0 °C e 1 °C, associada a 90  $\pm$ 3 % de UR por 135 dias, ou em temperatura entre 0,5 °C e 2,5 °C, em 96  $\pm$ 2 % UR, por 120 dias.

A tecnologia atmosfera controlada (AC), nas condições de baixo nível de O<sub>2</sub> (1 ou 3 kPa) ou elevado de CO<sub>2</sub> (3 ou 20 kPa), permite o armazenamento prolongado de pinhões *in natura* em níveis de 90 a 96% UR, pois reduzem a infecção por fungos.

É possível o armazenamento prolongado do pinhão *in natura* em AC durante 210 dias, garantindo a oferta desse alimento na entressafra. As condições de AC avaliadas no presente estudo, 1,0 kPa O<sub>2</sub> + 3,0 kPa CO<sub>2</sub>; 3,0 kPa O<sub>2</sub> + 5,0 kPa CO<sub>2</sub>; 5 kPa O<sub>2</sub> + 20,0 kPa CO<sub>2</sub>, associadas à refrigeração na temperatura de 2,5 °C e UR de 96  $\pm$ 2 % são recomendadas para a conservação do pinhão. Pois tais condições favorecem a menor taxa respiratória e perda de massa, menor infecção por fungos, manutenção da cor natural da casca, baixa incidência de podridão e de danos causados pela broca-do-pinhão e podridão.

Os gêneros *Penicillium sp.* e *Fusarium sp.* são os contaminantes de maior predominância na amostra de pinhão analisada antes do armazenamento e, a espécie *P. crustosum* no pós-armazenamento, nas condições AR e AC estudadas. A condição de AC 1,0 kPa O<sub>2</sub> + 3,0 kPa CO<sub>2</sub>, associada a 2,5 °C e 96  $\pm$ 2 % UR, proporciona menor infecção de fungos nos tecidos da amêndoa.

Finalizadas as etapas do proposto estudo, ainda restam alguns pontos que precisam ser elucidados em novas pesquisas, dentre eles: 1) compreender as respostas químicas do pinhão ao armazenamento em AC; 2) identificar a presença do ovo ou da broca-do-pinhão no interior da amêndoa quando há ausência de danos externos na casca; 3) identificar os fungos de ocorrência em pinhão em amostras de diferentes regiões produtoras e a possível patogenicidade desses fungos.

## 7 REFERÊNCIAS

ACORSI, D.M. et al. Viabilidade do processamento de biscoitos com farinha de pinhão. **Ambiência**, v. 5, n. 2, p. 207-212, mai./ago. 2009. Disponível em: <<https://revistas.unicentro.br/index.php/ambiencia/article/view/337>> Acesso em: 15 nov. 2017.

AGUIAR, M. C. S. et al. Avaliação da perda de massa fresca em pinhão (semente da *Araucaria angustifolia*). In: JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 30., 2015 Santa Maria. **Anais eletrônicos...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2015. Disponível em: <<https://portal.ufsm.br/jai/trabalho/anais.html>> Acesso em: 20 abr. 2016.

AGUIAR, M. C. S. et al. et al. Incidência de fungos em pinhão (semente de *Araucaria angustifolia*) armazenado sob refrigeração. In: JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 32., 2017 Santa Maria. **Anais eletrônicos...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2017. Disponível em: <<https://portal.ufsm.br/jai/trabalho/anais.html>> Acesso em: 13 jan. 2018.

ALVES, E. O. et al. Uso de embalagens na manutenção da qualidade de pinhões [sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze] em condições ambiente. In: JORNADA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA-CONGREGA, 14, Bagé. **Anais eletrônicos....** Bagé: Universidade da Região da Campanha (URCAMP). 2017. Disponível em: <<http://trabalhos.congrega.urcamp.edu.br/index.php/14jpgp/article/view/1828>> Acesso em: 12 fev. 2018.

AMARANTE, C. V. T. et al. Conservação pós-colheita de pinhões [semente de *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze] armazenados em diferentes temperaturas. **Ciência Rural**, v.37, n. 2, p. 346-351. mar./abr. 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782007000200008&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782007000200008&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 20 jul. 2014. DOI: 10.1590/S0103-84782007000200008.

ANSELMINI, J. I.; ZANETTE, F.; BONA, C. Fenologia reprodutiva da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze, na região de Curitiba - Pr. **FLORAM - Revista Floresta e Ambiente**, v.13, n. 1, p. 44-52. 2006. Disponível em: <<http://www.floram.org/article/588e2212e710ab87018b4635>>. Acesso em: 12 mar. 2017.

ANSELMINI, J.I.; ZANETTE, F. Development and growth curve of the pine cones of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze, in the region of Curitiba - PR. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 4, p.465-469. jun./aug. 2008a Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-89132008000400003&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132008000400003&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 25 mar. 2017. DOI: 10.1590/S1516-89132008000400003.

ANSELMINI, J. I.; ZANETTE, F. Microenxertia e sua caracterização morfológica em *Araucaria an gustifolia*. **Ciência Rural**, v.38, n. 4, p. 967-973, jul. 2008b. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-)

84782008000400010&lng=pt&lng=pt>. Acesso em: 12 mar. 2017. DOI: 10.1590/S0103-84782008000400010.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA, RDC N. 7, de 18 de fevereiro de 2011, que dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil** n. 37 Seção 1, p. 72, 22, fev. 2011. Disponível em: <Agência Nacional de Vigilância Sanitária>. Acesso em: 17 mar. 2017.

BALBUENA, T. S. et al. Differential proteome analysis of mature and germinated embryos of *Araucaria angustifolia*. **Phytochemistry**, v. 72, n. 4–5, p. 302-311, apr. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942210004711?via%3Dihub#!>> Acesso em: 23 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.12.007

BEAUDRY, R. M. Effect of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, n. 3, p. 293-303, mar. 1999. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521498000921?via%3Dihub>>. Acesso em: 26 fev. 2017. DOI: 10.1016/S0925-5214(98)00092-1.

BELLO-PÉREZ, L. A. et al. Isolation and Characterization of Starch from Seeds of *Araucaria brasiliensis*: A novel Starch for Application in Food Industry. **Starch/Starke**, v. 58, n.6, p. 283-291, jun. 2006. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/star.200500455>>. Acesso em: 21 mar. 2017. DOI: 10.1002/star.200500455.

BIANCHI, C. Exploring Urban Consumers' Attitudes and Intentions to Purchase Local Food in Chile, **Journal of Food Products Marketing**, v.23 n.5, p. 553-569, 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/author/Bianchi%2C+Constanza>>. Acesso em: 26 fev. 2018. DOI: 10.1080/10454446.2015.1048021.

BIZI R. M. et al. Fungos associados a sementes de araucária coletadas em três municípios do estado do Paraná. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 3., 2004 Colombo. **Anais eletrônicos...** Colombo: Embrapa Florestas, 2004. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/310593/fungos-associados-a-sementes-de-araucaria-coletadas-em-tres-municipios-do-estado-do-parana>>. Acesso em: 04 jan. 2016.

BOERSING, M. R.; KADER, A. A.; ROMANI, R. J.. Aerobic–anaerobic respiratory transition in pear fruit and cultured pear fruit cells. **Journal of American Society for Horticultural Science**. Alexandria, vol. 113, n. 6, p. 869–973. 1988. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8901849>>. Acesso em: 26 fev. 2017.

BOLZAN, A.B.; PEREIRA, E.A. Elaboração e caracterização de doce cremoso de caqui com adição de sementes da araucária. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, e2016061, p. 1-11, ago. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1981-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-)

67232017000100446&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 16 jan. 2018. DOI: 10.1590/1981-6723.6116.

BOTH, V. et al. Effect of storage under extremely low oxygen on the volatile composition of Royal Gala apples. **Food Chemistry**. v. 156, n. 1, p. 50-57, aug. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614001265>>. Acesso em: DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.01.094

BRACKMANN, A. et al. Efeito das concentrações de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> no crescimento e esporulação de *Penicillium expansum* (Link.) Thom, *in vitro*. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.2, n. 3, set./dez. 1996. Disponível em: <<https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/168>>. Acesso em: 12 dez. 2016.

BRACKMAN, A.; CHITARRA, A. B. Atmosfera controlada e atmosfera modificada. In: BORÉM, F. M. (Coord.). **Armazenamento e processamento de produtos agrícolas**. Lavras: UFLA/SBEA, p. 133-169, 1998.

BRACKMANN, A. et al. Armazenamento de maçã “Gala” em atmosfera controlada com remoção de etileno. **Ciência Rural**, v. 336, n.4, p.647-650, 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0103-84782003000400009&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0103-84782003000400009&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 20 mar. 2015. DOI: 10.1590/S0103-84782003000400009.

BRACKMANN, A. et al. Temperatura, umidade relativa e atraso na instalação da atmosfera controlada no armazenamento de maçã ‘Fuji’. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2367-2372, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782009000800015&script=sci\\_abstract&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782009000800015&script=sci_abstract&lng=pt)>. Acesso em: 20 mar. 2015. DOI: 10.1590/S0103-84782009005000178.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal (IBDF). Normativa DC n. 20 de 27 de setembro de 1976. Proíbe abate de *Araucaria angustifolia*, portadores de pinhas, nos meses de abril, maio e junho; fixa a data de 15 de abril para início da colheita, transporte e comercialização do pinhão. **IBDF**, Brasília, DF, 27 set. 1976. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/IBDF/PT0020-200976.PDF>>. Acesso em: 04 mar. 2016.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Primeiro Relatório Nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica. Brasília: **MMA**, 1998. 238 p. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/informma/item/7926-primeiro-relatorio>> Acesso em: 03 mar. 2016.

BRASIL. Lei n. 11.428, de 22 de dezembro de 2006. Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do Bioma Mata Atlântica, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 dez. 2006a. Seção 1, p.1-4. Retificado em 9 de janeiro de 2007. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=1&data=26/12/2006>> . Acesso em: 02 mar. 2016.

BRASIL. Lei nº 11.346, de 15 de setembro de 2006. Lei Orgânica de Segurança Alimentar e Nutricional, que regulamenta a criação do Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set. 2006b. Seção 1, p. 1. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2006/Lei/L11346.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Lei/L11346.htm)>. Acesso em: 15 dez. 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. Lista as espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção e com deficiência de dados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 set. 2008. nº 185, seção 1, p.75-83, Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=75&data=24/09/2008>>. Acesso em: 02 mar. 2016.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Agrário, Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome, Ministério do meio ambiente. **Portaria Interministerial n. 239 de 21 de julho de 2009**. Estabelece orientações para a implementação do Plano Nacional de Promoção das Cadeias e Produtos da Sociobiodiversidade, e dá outras providências. Disponível em: <[http://www.mds.gov.br/webarquivos/legislacao/seguranca\\_alimentar/\\_doc/portarias/2009/PCT%20Portaria%20Interministerial%20MDA-%20MDS%20e%20MMA%20no%20239-%20de%2021%20de%20julho%20de%202009.pdf](http://www.mds.gov.br/webarquivos/legislacao/seguranca_alimentar/_doc/portarias/2009/PCT%20Portaria%20Interministerial%20MDA-%20MDS%20e%20MMA%20no%20239-%20de%2021%20de%20julho%20de%202009.pdf)> Acesso em: 21 jan. 2018.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Editores Lidio Coradin, Alexandre Siminski, Ademir Reis. – Brasília: MMA, 2011. 934 p. Série Biodiversidade n. 40. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008\\_dcbio/\\_ebooks/regiao\\_sul/Regiao\\_Sul.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008_dcbio/_ebooks/regiao_sul/Regiao_Sul.pdf)>. Acesso em: 02 mar. 2016.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº443, de 17 de dezembro de 2014. Trata de reconhecer como espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes da "Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção". **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 dez. 2014. nº 245, seção 1, p. 110-121, Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=18/12/2014&jornal=1&pagina=110&totalArquivos=144>> Acesso em: 02 mar. 2016.

BUGNO, A. et al. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 4, p.491-497, out./dez., 2005.

CAÇOLA, A.V. et al. Qualidade Fisiológica de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze submetidas a diferentes condições de armazenamento e escarificação. **Ciência Florestal**, v.16, n.4, p.391-398. 2006. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/1920>>.

CARVALHO, P. E. R. Pinheiro-do-paraná. **Embrapa Florestas**, 2002. 17 p. Circular Técnica 60. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/304455>>. Acesso em: 15 jan. 2016.

CLADERA-OLIVEIRA, Florencia et al. Alternativas tecnológicas do processamento e armazenamento do pinhão. In: OKTOBERFÓRUM, 2005, Porto Alegre. **Anais eletrônicos...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/7925>>. Acesso em: 11 jun. 2016.

CORDENUNSI, B. R. et al. Chemical composition and glycemic index of Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11 p. 3412-3416, apr. 2004. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf034814l>>. Acesso em: 28 mar. 2017. DOI: 10.1021/jf034814.

CAPELLA, A. C. V.; PENTEADO, P. T. P. S.; BALBI, M. E. Semente de *Araucaria Angustifolia*: aspectos morfológicos e composição química da farinha. **Boletim do CEPPA**, v. 27, n. 1, p. 135-142, jan./jun. 2009. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/15009/10059>> . Acesso em: 28 mar. 2017.

CARRILLO, V.P. et al. Refrigerated storage of seeds of *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Kuntze over a period of 24 months. **Seed Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 411-421, jul. 2003. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/ista/sst/2003/00000031/00000002/art00018>>. DOI: 10.15258/sst.2003.31.2.18.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: glossário**. Lavras: UFLA, 2006. 256p.

CONAMA. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA Nº 278/2001. Dispõe contra corte e exploração de espécies ameaçadas de extinção da flora da Mata Atlântica. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 138, p. 51-52, 18 jul. 2001. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=276>> . Acesso em: 03 mar. 2016.

COPETTI, M. V. et al. Comparison of different culture media for mycological evaluation of commercial pet food. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 4, p. 329-335, 2009. Disponível em: <<http://seer.ufrgs.br/index.php/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/16392/9639>>. Acesso em: 04 jan. 2016.

DANNER, M. A.; ZANETTE, F.; RIBEIRO, J. Z. O cultivo da araucária para produção de pinhões como ferramenta para conservação. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 72, p. 441-451, out./dez. 2012. Disponível em:

<[https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/379/pdf\\_19](https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/379/pdf_19)>. Acesso em: 15 jan. 2016.

DOI: 10.4336/2012.pfb.32.72.441

DAVID, A. A. R.; SILOCHI, R. M. H. Q. Avaliação de métodos para conservação de pinhão. **Revista Faz Ciência**, v. 12, n. 15, p. 207-216, jun. 2010. Disponível em: <<http://e-revista.unioeste.br/index.php/fazciencia/article/view/7521>> . Acesso em: 23 mar. 2017.

Da SILVA, S. M. et al. Inhibition of salivary and pancreatic  $\alpha$ -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. **Food Research International**, vol. 56, p. 1-8, feb. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913006583>>. Acesso em: 20 mar. 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.12.004

Da SILVA, S. M. et al. Extraction of oil and bioactive compounds from *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze using subcritical n-propane and organic solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 14-21, jun. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844616300250>>. Acesso em: 19 mar. 2018. DOI: 10.1016/j.supflu.2016.02.003

DAUDT, R. M. et al. Determination of properties of pinhão starch: Analysis of its applicability as pharmaceutical excipient. **Industrial Crops and Products**, v. 52, n.420, p. 420-429, jan. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013006043>>. Acesso em: 20 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.10.052

DAUDT, R. M. et al. Pinhão starch and coat extract as new natural cosmetic ingredients: Topical formulation stability and sensory analysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, n. 10, p. 573-580, dec. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715007791>>. Acesso em: 20 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.08.038.

DAUDT, R. M. et al. Comparative study on properties of edible films based on pinhão (*Araucaria angustifolia*) starch and flour. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 279-287, oct. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X16301333>>. Acesso em: 20 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.03.040.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 4. ed. Curitiba: Champagnat, 2013. 531 p.

EL-GOORANI, M. A.; SOMMER, N. F. Effects of modified atmospheres on postharvest pathogens of fruits and vegetables. **Horticultural Reviews**, v. 3, p.412 – 461, 1981. Disponível em: <<http://ucce.ucdavis.edu/files/datastore/234-1926.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

EKMAN, J. H.; GOLDIN, J. B.; McGLASSON, W. B. Innovation in cold storage technologies. **Stewart Postharvest Review**, v. 1, n. 3, p. 1-14, oct. 2005. Disponível em: <[http://access.portico.org/Portico/#!journalAUSimpleView/tab=PDF?cs=ISSN\\_17](http://access.portico.org/Portico/#!journalAUSimpleView/tab=PDF?cs=ISSN_17)>

459656?ct=E-Journal%20Content?auld=ark:/27927/phx64r6061b> Acesso em: 15 jan. 2016. DOI: 10.2212/spr.2005.3.6

ESTEVEZ, A.M.; GALLETI, L. Postharvest storage of “piñones” from *Araucaria araucana* [(Mol.) C. Koch] under controlled atmosphere conditions. **Postharvest Horticulture Series**, n.17, p. 185-189, 1997.

FAO. Databook on endangered tree and shrub species and provenances. Rome: **FAO**, (FAO Forestry Paper 77), 1986. 524p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/016/ap459e/ap459e00.pdf>>. Acesso em: 02 mar. 2016.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. M.; BERJAK, P. Germination-associated events and the desiccation sensitivity of recalcitrant seeds - a study on three unrelated species. **Planta**. v.178, n.2, p. 189-98, may. 1989. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00393194>>. Acesso em: 07 mar. 2017. DOI: 10.1007/BF00393194.

FELDMANN, C.; HAMM, U. Consumers' perceptions and preferences for local food: A review. **Food Quality and Preference**.v.40, p. 152-164, mar. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329314001992>>. Acesso em: 26 fev. 2018. DOI:10.1016/j.foodqual.2014.09.014.

FERNÁNDEZ-FERRÍN, P. et al., The valuation and purchase of food products that combine local, regional and traditional features: The influence of consumer ethnocentrism. **Food Quality and Preference**. v. 64, p. 138-147, mar. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329317302227>>. Acesso em: 15 mai. 2018. DOI: 10.1016/j.foodqual.2017.09.015.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A.; ZANON, A. Conservação de sementes de pinheiro do Paraná sob diferentes condições de ambientes e embalagens. **Embrapa Florestas**, p. 1-4, 1998. Comunicado Técnico, 34. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/290875/1/comtec34.pdf>> Acesso em: 19 jan. 2016.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**, 2. ed. São Paulo: Ed Atheneu; 1996.

FRECCIA, C. F. et al. Conservação de pinhões em diferentes tipos de acondicionamento e seus efeitos sobre a qualidade pós-colheita. In: SICT-SUL SIMPÓSIO DE INTEGRAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DO SUL CATARINENSE, 2., 2013 Araranguá. **Anais eletrônicos...** Florianópolis/SC: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina. 2013. p. 717. Disponível em: <<https://periodicos.ifsc.edu.br/index.php/rtc/article/view/1292>>. Acesso em: 15 jan. 2016.

FREITAS, T., B. et al. Antioxidants extraction from Pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) coats and application to zein films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 15, p. 28-34, mar. 2018. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289417300868>>. Acesso em: 20 abr. 2018. DOI: 10.1016/j.fpsl.2017.10.006

GAMA, T. M. M. T. B. et al. A influência de tratamentos térmicos no teor de amido, cor e aparência microscópica de pinhão nativo (*Araucaria angustifolia*) e pinhão proveniente de polinização controlada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Ponta Grossa, vol. 4, n.2, p. 161-178, mar. 2010 . Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/592>>. DOI: 10.3895/S1981-36862010000200005.

GARCIA, C. et al. Conservação da viabilidade e vigor de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze durante o armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 4, p. 857-867, dez. 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1980-50982014000400857&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-50982014000400857&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 11 jun. 2015. DOI: 10.5902/1980509816586.

GASPAR, R. G. B. et al. Rootstock age and growth habit influence top grafting in *Araucaria angustifolia*. **Cerne**. v. 23, n. 4, p. 465-471, oct./dez. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-77602017000400465&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-77602017000400465&lng=en&nrm=iso)> Acesso em: 25 jan. 2018. DOI:10.1590/01047760201723042447.

GODOY, R. C. B. et al. Atitude do consumidor em relação ao pinhão: estratégias para valorização e conservação da espécie *Araucaria angustifolia*. In: SIMPÓSIO IBERO-AMERICANO EM ANÁLISE SENSORIAL, 6., 2010, São Paulo. **Anais CD-ROM...** São Paulo: Associação Brasileira de Ciências Sensoriais, 2010.

GONÇALVES, P. M. et al. Characterization of starch nanoparticles obtained from *Araucaria angustifolia* seeds by acid hydrolysis and ultrasound. **LWT- Food Science and Technology**, v. 58, n.1, p. 21-27, sep. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643814001650> >. Acesso em: 20 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.03.015

GOWER, J. C. Generalized procrustes analysis. **Psychometrika**, v. 40, n. 1, p. 33-51, mar. 1975 Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02291478>> . Acesso em: 07 jan. 2017.

GUÀRDIA, M. D. et al. Sensory characterization of dry-cured ham using free-choice profiling. **Food Quality and Preference**. v. 21, n. 1, p. 148-155, jan. 2010. DOI: 10.1016/j.foodqual.2009.08.014

GUIMARÃES, Í. C. O. et al. Comparação de metodologias para detecção de fungos em arroz irradiado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 2, p. 194-200, fev. 2010.

HENNIPMAN, H. S. et al. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de Araucária durante o armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 2, p. 643-654, abr./jun. 2017. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/27749>>. Acesso em: 14 mai. 2015. DOI: 10.5902/1980509827749.

HEYMANN, H. A comparison of free choice profiling and multidimensional scaling of vanilla samples. **Journal of Sensory Studies**. Trumbull, vol. 9, n. 4, p. 445-453, dec. 1994. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-459X.1994.tb00258.x>>. DOI: 10.1111/j.1745-459X.1994.tb00258.x.

HOLLOWAY, L. et al. Possible food economies: A methodological framework for exploring food production–consumption relationships. **Sociologia Ruralis**, v. 47, n. 1, p. 1-19, jan. 2007. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1467-9523.2007.00427.x>>. Acesso em: 26 fev. 2018. DOI: 10.1111/j.1467-9523.2007.00427.x

IARC. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. **Agents Classified by the IARC Monographs**, v. 1–122. 30. july. 2018. Disponível em: <<https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>> Acesso em: 10 ago. 2018.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Portaria nº 37-N de 3 de abril de 1992. Reconhece como lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção a relação que apresenta. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 66, p. 4302-4303, 6 abr. 1992. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/IBAMA/PT0037-030492.PDF>>. Acesso em: 04 mar. 2016.

IKEDA, M. et al. Influence of Brazilian pine seed flour addition on rheological, chemical and sensory properties of gluten-free rice flour cakes. **Ciência Rural**, v. 48, n. 6, e20170732, 2018. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782018000600752&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782018000600752&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 03 jul. 2018. DOI: 10.1590/0103-8478cr20170732

KADER, A. A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. **Food Technology**, 40, p. 99-104, 1986. Disponível em: <<http://ucce.ucdavis.edu/files/datastore/234-399.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2017.

KADER, A. A. Physiology of Controlled Atmosphere Treated Produce. **Acta Horticulturae**. v. 600, p. 349-354, 2003. Disponível em: <[https://www.actahort.org/books/600/600\\_50.htm](https://www.actahort.org/books/600/600_50.htm)> . Acesso em: 18 jun. 2017. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.600.50

KAGEYAMA, P. Y.; FERREIRA, M. Propagação vegetativa por enxertia com *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **IPEF**, v. 11, p. 95-102, 1975. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr11/cap07.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2018.

KE, D. et al. Physiology and prediction of fruit tolerance to low oxygen atmospheres. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v. 116, p.253-260, 1991.

KRUPEK, R. A.; RIBEIRO, V. Biometria e germinação de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze provenientes de uma remanescente florestal do

município de Turvo (PR). **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 12, n. 1, p. 73-89, jan./jun. 2010. Disponível em: <<https://revistas.unicentro.br/index.php/RECEN/article/view/818>>. Acesso em: 23 mar. 2017.

KUBO, Y.; INABA, A.; NAKAMURA, R. Respiration and C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> production in various harvested crops held in CO<sub>2</sub>-enriched atmospheres. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, n. 6, p. 975-978, 1990. Disponível em: <<http://journal.ashspublications.org/content/115/6/975.short>>. Acesso em: 26 fev. 2017.

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2. ed. Curitiba: Ed. do Autor, p.148.1997.

LIMA, E. C.; et al. Adsorption of Cu(II) on *Araucaria angustifolia* wastes: Determination of the optimal conditions by statistic design of experiments. **Journal of Hazardous Materials**, v. 140, n. 1-2, p. 211-220, feb. 2007  
Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389406007254>>. Acesso em: 20 abr. 2018. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2006.06.073

LIU, S. et al. Effects of CO<sub>2</sub> on respiratory metabolism in ripening banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.33, n.1, p.27-34, 2004.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 1. 6 ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos de Flora, 2014. 384 p.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 123 de 05 de julho de 2016. Publica os preços mínimos para as culturas de verão e sementes das safras 2016/2017 e 2017, para os produtos regionais e os produtos extrativos da safra 2016/2017. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 jul. 2016. Seção 1, p. 2. Disponível em:<<https://www.jusbrasil.com.br/diarios/119871710/dou-secao-1-06-07-2016-pg-2>>. Acesso em: 15 abr. 2018.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 14 de 03 de janeiro de 2018. Publica os preços mínimos para os produtos extrativos da safra 2018. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 jan. 2018. Seção 1, p. 3. Disponível em:<<https://www.jusbrasil.com.br/diarios/173596752/dou-secao-1-12-01-2018-pg-3>>. Acesso em: 15 abr. 2018.

MATHOOKO, F. M. Regulation of respiratory metabolism in fruits and vegetables by carbon dioxide. **Postharvest Biology and Technology**. v. 9, n. 3, p. 247-264, dec. 1996. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521496000191>> Acesso em: 18 jun. 2017. DOI: 10.1016/S0925-5214(96)00019-1.

MCCORMICK, R., NEUWALD, D. A.; STREIF, J. Commercial apple storage temperature regimes with 1-MCP (Smartfresh™): Benefits and risks. **Acta Horticulturae**, n. 934, p. 263-270, jun.2012. Disponível em: <[https://www.ishs.org/ishs-article/934\\_32](https://www.ishs.org/ishs-article/934_32)>. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.934.32  
DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.934.32.

PALUDO, G. F. et al. The size of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze entering into reproductive stages as a basis for seed management projects. **Revista Árvore**, v. 40, n. 4, p. 695-705, aug. 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622016000400695&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622016000400695&lng=en&nrm=iso)>. DOI: 10.1590/0100-67622016000400013. Acesso em: 25 jan. 2018.

PARANÁ. Instituto Ambiental do Paraná. Portaria n. 46 de 26 de março de 2015. Institui os procedimentos para controle da exploração do Pinhão e define outras providências. **Diário Oficial do Estado do Paraná**, Curitiba, PR, 30 mar. 2015. Disponível em: <[http://celepar7.pr.gov.br/sia/atosnormativos/form\\_cons\\_ato1.asp?Codigo=2897](http://celepar7.pr.gov.br/sia/atosnormativos/form_cons_ato1.asp?Codigo=2897)>. Acesso em: 04 mar. 2016.

PEDROSA-MACEDO, J. H. **Manual de pragas em florestas: pragas florestais do sul do Brasil**. Viçosa, MG: IPEF/SIF, 2v. 1993. 112 p.

PERALTA, Rosane M et al. Biological activities and chemical constituents of *Araucaria angustifolia*: An effort to recover a species threatened by extinction. **Trends in Food Science & Technology**, v. 54, p. 85-93, aug. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224416301650>>. Acesso em: 24 jan. 2017. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.05.013.

PÍCHA, K.; NAVRÁTIL, J.; ŠVEC, R. Preference to Local Food vs. Preference to “National” and Regional Food. **Journal of Food Products Marketing**, v. 24, n. 2, p. 125-145, 2018. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10454446.2016.1266549>>. Acesso em: 15 mai. 2018. DOI: 10.1080/10454446.2016.1266549.

PINTO, V. Z. et al. Physicochemical, crystallinity, pasting and thermal properties of heat- moisture- treated pinhão starch. **Starch-Stärke**, vol. 64, n.11, p. 855-863, nov. 2012. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/star.201200040>>. Acesso em: 21 mar. 2017. DOI: 10.1002/star.201200040

PINTO, Vânia Zanella et al. Effects of single and dual physical modifications on pinhão starch. **Food Chemistry**, Oxford, vol. 187, n.15, p. 98-105, nov. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461500583X>>. Acesso em: 21 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.04.037.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. Weimar: Blackie Academic & Professional; 1999.

PUCHALSKI, A.; MANTOVANI, M.; REIS, M. S. Variação em populações naturais de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O.Kuntze associada a condições edafo-climáticas. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 35, n. 70, p. 137-148, abr. 2006. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr70/cap14.pdf>>

ROSOT, M.A.D. Manejo florestal de uso múltiplo: uma alternativa contra a extinção da Floresta com Araucária? **Pesquisa Florestal Brasileira**, n.55, p.75-85, jul./dez. 2007. Disponível em: <<https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/121>>. Acesso em: 13 jul. 2017.

SANTA CATARINA. Lei Estadual n. 15.457 de 17 de janeiro de 2011. Regulamenta a colheita do pinhão. **Diário Oficial do Estado de Santa Catarina**, Florianópolis, SC, 18 jan. 2011. Disponível em: <[http://leis.alesc.sc.gov.br/html/2011/15457\\_2011\\_Lei.html](http://leis.alesc.sc.gov.br/html/2011/15457_2011_Lei.html)>. Acesso em: 04 mar. 2016.

SANTOS, A. J. et al. Aspectos produtivos e comerciais do pinhão no Estado do Paraná. **Floresta**, v.32, n.2, p.163-169, 2002. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/2281>>. Acesso em: 16 jan. 2016. DOI: 10.5380/ufpr.v32i2.2281.

SANTOS, C. H. K. et al. Systematic study on the extraction of antioxidants from *pinhão (Araucaria angustifolia (bertol.) Kuntze)* coat. **Food Chemistry**, v. 261, n. 30, p. 216-223, sep. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618306836#!>>. Acesso em: 19 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.04.057.

SMOCK, R. M. Controlled atmosphere storage of fruits. **Horticultural Reviews**, vol. 1, p. 301-336, 1979.

SPADA, J. C. et al. Water adsorption isotherms of microcapsules with hydrolyzed pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch as wall material. **Journal of Food Engineering**, v. 114, n. 1, p. 64-69, jan. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877412003536>>. Acesso em: 28 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2012.07.019

STHAL, J. A. et al. Physicochemical properties of *Pinhão (Araucaria angustifolia)* starch phosphates. **LWT- Food Science and Technology**, v. 40, n.7, p. 1206-1214, sept. 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643806002015>>. Acesso em: 20 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.lwt.2006.07.015

TADINI, C. C. **Refrigeração e Congelamento** In: TADINI, C. C. et al. Operações Unitárias na Indústria de Alimentos. Rio de Janeiro: LTC, 2018. 1v. cap. 14, p. 489-510.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos**. Florianópolis: UFSC, 1987, 180p.

TEIXEIRA, J. S. G. et al. Imobilização de lagartas de *Cydia araucariae* (Lepidoptera, tortricidae) sob baixas temperaturas. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 17., 2005 Porto Alegre. **Anais eletrônicos...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/59510>>. Acesso em: 11 jun. 2016.

THYS, R. C. S. et al. Adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch and thermodynamic analysis. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 468-473, oct. 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877410002293>>. Acesso em: 21 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2010.04.033

THYS, R. C. S. et al. The effect of acid hydrolysis on the technological functional properties of pinhão (*Araucaria brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 89-94, feb. 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612013000500014&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612013000500014&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>. Acesso em: 21 mar. 2017. DOI: 10.1590/S0101-20612013000500014

THEWES, F. R. et al. Controlled atmosphere maintains native and cultivated yerba mate quality during shelf life after long-term storage. **Bragantia**, v. 75, n. 2, p. 230-239, apr./june. 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0006-87052016000200230](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052016000200230)>. Acesso em: 20 abr. 2017.

THOMAS, P. ***Araucaria angustifolia***. In: The IUCN Red List of Threatened Species. 2013: e.T32975A2829141. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/details/32975/0>>. Acesso em: 02 mar. 2016. DOI: 10.2305/IUCN.UK.2013-1.RLTS.T32975A2829141.en

THOMAZINI, M. J.; TEDESCHI, V. H. P.; MEIRA, J. R. Incidência e danos da broca-do-pinhão, *Cydia araucariae* (Pastrana), em sementes de araucária. **Embrapa Florestas**, ago 2011. Comunicado Técnico 276. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/897996>>. Acesso em: 10 jun. 2016.

THOMAZINI, M. J. ; REIS, M. M. R. Incidência da broca-do-pinhão em sementes de araucária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 18., 2013 Florianópolis, **Anais eletrônicos...** XVIII Londrina: Abrates, 2013. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/91534/1/Marcilio-CBS-Incidencia.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2016.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. **Manual de dissertações e teses da UFSM: estrutura e apresentação**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2015. 88 p. Disponível em: <[http://w3.ufsm.br/biblioteca/phocadownload/Manual\\_de\\_Dissertacoes\\_e\\_Teses-2015.pdf](http://w3.ufsm.br/biblioteca/phocadownload/Manual_de_Dissertacoes_e_Teses-2015.pdf)>. Acesso em: 10 abr. 2017.

VIEIRA-DA-SILVA, C.; MIGUEL, L. A. Os canais de comercialização do pinhão e seus agentes, em São Francisco de Paula – RS. **Revista Floresta**, v. 47, n. 4, p. 489-500, out./mar. 2017. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/49570>>. Acesso em: 21 jan. 2018. DOI: 10.5380/ufpr.v47i4.49570

VIEIRA-DA-SILVA, C.; REIS, M. S. Produção de pinhão na região de Caçador, SC: aspectos da obtenção e sua importância para comunidades locais. **Ciência Florestal**, v. 19, n. 4, p. 363-374, out.-dez. 2009. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/892/0>>. Acesso em: 14 jul. 2017. DOI: 10.5902/19805098892

WEBER, A. et al. Atmosfera controlada para o armazenamento da maçã 'Maxi Gala'. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n.2, p. 294-301, abr./jun. 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1806-66902013000200011&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-66902013000200011&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 20 mar. 2015. DOI: 10.1590/S1806-66902013000200011

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Vegetative rescue and cuttings propagation of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Revista Árvore**, v.39, n.1, p. 93-104, 2015. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622015000100009&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622015000100009&lng=en&tlng=en)>. Acesso em: 26 jan. 2018. DOI: 10.1590/0100-67622015000100009

WENDLING, I.; STUEPP, C. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. *Araucaria angustifolia* grafting: techniques, environments and origin of propagation material. **Bosque.**, v. 37, n. 2, p. 285-293. 2016. Disponível em: <[https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-92002016000200007&lng=en&nrm=iso](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92002016000200007&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 27 fev. 2018. DOI: 10.4067/S0717-92002016000200007.

WENDLING, I.; STUEPP, C. A.; ZANETTE, F. Produção de mudas de araucária por semente. In: WENDLING, I.; ZANETTE, F. (edit. téc.) **Araucária: particularidades, propagação e manejo de plantios**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. cap.2. p.43-62. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1070994/araucaria-particularidades-propagacao-e-manejo-de-plantios>> Acesso em: 14 fev. 2018.

WENDLING, I. et al. Clonal forestry of *Araucaria angustifolia*: plants produced by grafting and cuttings can be used for wood production. **Revista Árvore**, v. 41, n. 1, e410117, nov. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622017000100116&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622017000100116&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 27 jan. 2018. DOI: 10.1590/1806-90882017000100017.

WILLIAMS, A. A.; LANGRON, S.P. The use of freechoice profiling for the evaluation of commercial ports. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v.35, n.5, p.558-568, 1984.

WIGMANN, E. F. et al. Toxigenic penicillia spoiling frozen chicken nuggets. **Food Research International**, v. 67, p. 219-222, jan. 2015. Disponível em: <[http://orbit.dtu.dk/en/publications/toxigenic-penicillia-spoiling-frozen-chicken-nuggets\(9ea7717d-0c20-4824-ac8e-248af062e123\).html](http://orbit.dtu.dk/en/publications/toxigenic-penicillia-spoiling-frozen-chicken-nuggets(9ea7717d-0c20-4824-ac8e-248af062e123).html)>. Acesso em: 03 jan. 2016. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.11.025.

WIGMANN, E. F., et al. Survival of *Penicillium* spp. conidia during deep-frying and baking steps of frozen chicken nuggets processing. **Food Microbiology**, v. 55, p. 1-6, may 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002015002269>>. Acesso em: 12 dez. 2016. DOI: 10.1016/j.fm.2015.11.010

WHO. World Health Organization. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva: WHO, 1998. 115p.

ZANETTE, F.; OLIVEIRA, L. S.; BIASI, L. A. Grafting of *Araucaria angustifolia* through the four seasons of the year. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p.1364-1370. dez. 2011. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452011000400040&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452011000400040&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 13 jun. 2015. DOI: 10.1590/S0100-29452011000400040

ZANETTE, F. et al. Particularidades e biologia reprodutiva de *Araucaria angustifolia*. In: WENDLING, I.; ZANETTE, F. (edit. téc.) **Araucária: particularidades, propagação e manejo de plantios**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. cap.1. p.14-39. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1070994/araucaria-particularidades-propagacao-e-manejo-de-plantios>> Acesso em: 14 fev. 2018.

ZÓRTEA-GUIDOLIN, M. E. B. et al. Structural and functional characterization of starches from Brazilian pine seeds (*Araucaria angustifolia*), **Food Hydrocolloids**, v. 63, n.19, p. 19-26, feb. 2017a. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X16303617>>. Acesso em: 20 nov. 2017. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.08.022

ZÓRTEA-GUIDOLIN, M. E. B. et al. Influence of Extrusion Cooking on In Vitro Digestibility, Physical and Sensory Properties of Brazilian Pine Seeds Flour (*Araucaria Angustifolia*). **Journal of Food Science**, v. 82, n. 4, p. 977-984, apr. 2017b. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28339105>>. Acesso em: 20 nov. 2017. DOI: 10.1111/1750-3841.13686.