

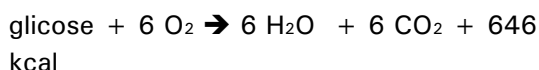


## Métodos para Medir a Respiração de Frutas e Hortaliças

Adonai Gimenez Calbo<sup>1</sup>  
Gilmar Paulo Henz<sup>2</sup>

### Como a taxa respiratória é estimada?

Para responder a esta questão deve-se definir a reação da respiração a ser estudada para deste modo definir-se o substrato ou o produto a ser mensurado. Isto é indispensável porque a respiração é um processo complexo e a sua estimativa depende daquilo se mede em um ensaio. Por isto, esta resposta será apresentada de maneira parcial e se restringirá a respiração como uma medida do consumo de glicose, um substrato particular, sob disponibilidade suficiente de O<sub>2</sub> e considerando que o CO<sub>2</sub> é um produto final, conforme se sumariza na equação abaixo:



De acordo com esta equação, é relativamente fácil imaginar alguns métodos de estimar a taxa respiratória,

seja através da medida do consumo dos substratos glicose e O<sub>2</sub>, seja pela medida dos produtos H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> ou calor, no caso em quilocalorias. Um outro aspecto é que a respiração pode ser estimada por medidas na fase gasosa de acordo com a evolução de CO<sub>2</sub> ou com o consumo de O<sub>2</sub> ou de acordo com medições da variação da concentração destas substâncias na fase líquida das células ou de organelas isoladas.

### Método de consumo de O<sub>2</sub> para medir respiração

O consumo do O<sub>2</sub> dissolvido na fase líquida tem sido usado para estudar a bioquímica da respiração em suspensões de mitocôndrios isolados de tecidos vegetais. Nestes ensaios, a quantidade do O<sub>2</sub> consumido da suspensão é medida no eletrodo de oxigênio. O uso de eletrodos para acompanhar a evolução de CO<sub>2</sub> em meio líquido aparentemente tem sido

<sup>1</sup> Eng. Agr., PhD., Embrapa Instrumentação Agropecuária, C. Postal 740, 13560-97 São Carlos, SP. E-mail: adonai@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup> Eng. Agr., PhD., Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70359-970 Brasília, DF. E-mail: gilmar@cnpq.embrapa.br

menos útil. Estas técnicas de medição na fase líquida, ainda que interessantes, apresentam dificuldades para a obtenção de resultados padronizados de respiração. No entanto, com eletrodo de O<sub>2</sub>, por exemplo, pode-se acompanhar a variação da concentração da atmosfera interna de órgãos intactos de acordo com o consumo de O<sub>2</sub> pelos tecidos (CALBO *et al.*, 1995).

## Método da redução de matéria seca para medir respiração

A medida da redução da matéria seca no tempo é uma estimativa da exaustão de reservas em um intervalo de tempo, usualmente grande, de semanas ou meses. A exaustão é relevante porque órgãos destacados consomem suas reservas orgânicas, de matéria seca, através da respiração. Na prática, no entanto, dificilmente um produto sofre redução de matéria seca superior a 20% da matéria seca sem perder completamente suas qualidades para consumo humano.

De acordo com a equação: glicose + 6 O<sub>2</sub> → 6 H<sub>2</sub>O + 6 CO<sub>2</sub> + 646 kcal, a glicose, aqui tomada como a matéria seca, é convertida em CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O. Assim, a massa de glicose consumida é a massa de CO<sub>2</sub> produzido na respiração multiplicada pelo fator 0,709. Este fator é a razão entre 180 gramas, que é a massa molecular da glicose, e 254 gramas, que é a massa molecular de seis moles de CO<sub>2</sub>. Esta relação possibilita converter resultados de respiração de acordo com perda de matéria seca em respiração, expressa de acordo com a taxa de evolução de CO<sub>2</sub>, e vice-versa.

Para avaliar matéria seca, a técnica mais comum, por enquanto, é a pesagem. Nesta técnica, a grande dificuldade é depender da secagem das amostras. O problema aqui é que não há como fazer medições repetidas na mesma amostra, pois esta é

“sacrificada” durante o processo de secagem. Deste modo, a medição de redução de matéria seca tem sido muito menos precisa e muito mais difícil do que medidas gasométricas, não destrutivas, que são realizadas repetidamente na mesma amostra. Imagina-se que, no futuro, a variação de matéria seca poderá ser avaliada por métodos espectroscópicos não destrutivos, o que facilitaria muito as medições de respiração e, principalmente, das medições da produtividade vegetal, que raramente são efetuadas por esta simples razão.

## Métodos de amostragens de gás para medir respiração

Presentemente, os métodos mais práticos e utilizados são os que envolvem medidas de consumo de O<sub>2</sub> e de evolução de CO<sub>2</sub> na fase gasosa. A cromatografia gasosa e o analisador infravermelho (IRGA) têm sido os instrumentos mais utilizados. Outras tecnologias disponíveis são a detecção paramagnética de oxigênio e as manometrias e as volumetrias, com auxílio de reagentes químicos.

Para pós-colheita, em particular, a cromatografia gasosa tem sido mais conveniente para amostras da atmosfera de frascos com produtos vegetais, em sistema aberto (CALBO, 1989; CLAYPOOL; KEEFER, 1942) ou fechado, dos quais se queira medir CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> e outros componentes gasosos. O analisador infravermelho (‘IRGA - Infrared Gas Analyzer’) possibilita medições mais precisas de evolução de CO<sub>2</sub> e de água. Entretanto, trata-se de um instrumento mais prático para estudos de ecofisiologia do que medições de respiração aplicada a estudos de conservação pós-colheita de produtos agrícolas. A razão disto é o fato do IRGA, em geral, ser instrumento designado para a operação em sistema

aberto, ou de estado estacionário, de amostras individuais.

## Diferença entre sistema fechado e sistema aberto

Na Figura 1 são ilustrados os mencionados sistemas fechado e aberto. No sistema fechado, os órgãos são acondicionados em uma câmara de volume conhecido na qual o volume de ar ou volume morto é o volume do frasco menos volume do produto. Neste sistema, de uma maneira simplificada, a respiração é calculada de acordo com o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> durante um intervalo de tempo, sem considerar o aumento da concentração do CO<sub>2</sub> na atmosfera interna do fruto e a solubilidade deste gás na água das células.

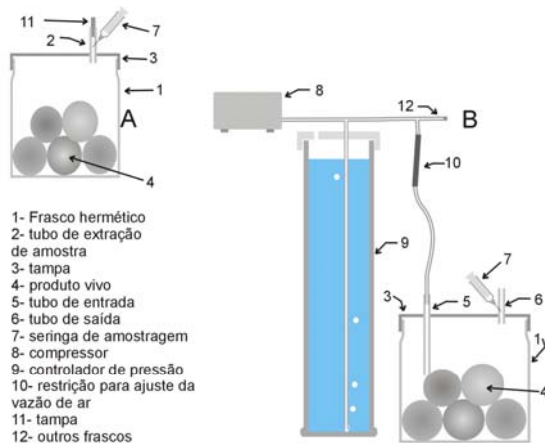


Figura 1- À esquerda (A) ilustra-se a um frasco tampado por um dado período de tempo até o momento de coleta do ar para estimar a taxa de respiração em sistema fechado. À direita (B), ilustra-se um sistema denominado aberto, no qual a vazão de ar é ajustada por uma restrição, que recebe ar sob pressão controlada de um barostato de coluna de água. Em ambos os sistemas a coleta de amostras pode ser feita com uma seringa de injeção para leitura em cromatógrafo a gás.

No sistema aberto, o produto é colocado em uma câmara com entrada e saída por onde atravessa uma vazão conhecida de ar. No sistema aberto, as medições são iniciadas após um período de “lavação”, isto é, após um período no qual o produto do tempo pela vazão corresponda a um volume de “lavação” igual a pelo menos cinco vezes o volume da câmara na qual o produto sob estudo é acondicionado. A diferença entre a concentração de CO<sub>2</sub> na entrada e na saída, multiplicada pela vazão

de ar e dividida pela massa do produto, fornece uma estimativa da taxa de respiração. Um diferencial do sistema aberto é possibilitar repetidas amostragens no tempo e até medições contínuas no tempo. Outro diferencial do sistema aberto é a possibilidade de estudar respiração em sistemas com atmosferas modificadas e controladas. Por ser um sistema de estado estacionário, o erro de não considerar o aumento da concentração do CO<sub>2</sub> na atmosfera interna do órgão e o erro de não considerar o aumento da quantidade de CO<sub>2</sub> dissolvido na fase líquida do órgão é menos relevante.

Nestas medições em sistema aberto e sistema fechado, a respiração costuma ser expressa em moles CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, em mililitros de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ou em mg de CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Lencki *et al.* (2004) relatam vantagens de precisão do uso do sistema aberto ou sistema estacionário sobre o sistema fechado ou não estacionário em relação à correção dos resultados obtidos. Dados obtidos no sistema fechado tendem a ser subestimados. Por outro lado, caso o sistema aberto ou estacionário seja utilizado com vazão de ar muito baixa, a fisiologia do órgão pode ser afetada, restringindo a taxa de respiração e afetando o próprio padrão de evolução de CO<sub>2</sub> e de etileno (PHARR; KATTAN, 1971). Outro detalhe, em geral envolvido na escolha dos sistemas, é o fato do sistema fechado de medir respiração não envolver o trabalhoso preparo de “flowboards” ou “fluxcentros” .

Uma idéia o erro na estimativa da taxa de respiração devido ao acúmulo de CO<sub>2</sub> no interior de frutos, por exemplo frutos de melão com 1,4 kg, em sistema fechado tomando-se como base de cálculo a variação da concentração de CO<sub>2</sub> medida por cromatografia gasosa, 1,54 ml CO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> no interior de um frasco de vidro cujo volume morto foi de 5,35 litro. O volume

morto é volume de ar contido no recipiente o que se obtém do volume do recipiente o volume do fruto, é igual a 5,35 litros.

Neste caso, o produto do volume morto pelo aumento de concentração gera a quantidade de CO<sub>2</sub> liberado para o volume morto, o que foi igual a 0,00824 L CO<sub>2</sub>. É esta quantidade de CO<sub>2</sub> sem considerar a solubilidade do CO<sub>2</sub> em água que tem sido utilizada para estimar as taxas de respiração. A quantidade total de CO<sub>2</sub> (Q<sub>F</sub>) que deveria ser utilizada para calcular a respiração conforme Calbo e Nery (1994), no entanto, é aquela definida na equação 1:

$$Q_F = \Delta P_{CO_2}(\alpha_{CO_2} V_L + V_G/RT) \quad \text{eq. 1}$$

Onde V<sub>L</sub> é o volume de líquido contido no fruto, que costuma ser aproximado pela massa do produto, V<sub>G</sub> é o volume gasoso intercelular, T é a temperatura em graus Kelvin, R é a constante dos gases, α<sub>CO<sub>2</sub></sub> é a solubilidade do CO<sub>2</sub> em água na temperatura T e ΔP<sub>CO<sub>2</sub></sub> é o incremento na pressão parcial do CO<sub>2</sub> durante a medição da respiração.

Assim, retomando o exemplo dos frutos de melão, e considerando que também se saibam os valores sejam: V<sub>L</sub> = 1,4 litros, V<sub>G</sub> = 0,23 litros e T = 20 °C são os valores no fruto, então, da Tabela 1 toma-se que α<sub>CO<sub>2</sub></sub> = 0,878 L CO<sub>2</sub> / L água e a seguir estima-se ΔP<sub>CO<sub>2</sub></sub> = 1 atm x 0,00824 L / 5,35 L = 0,00154 atm. Com substituição destes valores na equação 1 se obtém:

$$Q_F = 0,00154 \text{ atm} \times \{0,878 \times 1,4 + 0,23/[0,082 \times (273,14 + 20)]\} = 1,91 \times 10^{-3} \text{ L CO}_2$$

Este erro de 1,91 × 10<sup>-3</sup> litros de CO<sub>2</sub> é 1,91 ml de CO<sub>2</sub>, ou 23% do CO<sub>2</sub> medido no volume morto (8,24 ml). Estas contas rápidas evidenciam que os erros por não considerar a solubilidade do CO<sub>2</sub> em água

são expressivos e estão de acordo com as estimativas e considerações de Pharr e Kattan (1971).

## O que é um respirômetro?

Em princípio, um respirômetro pode ser qualquer sistema para medir a evolução CO<sub>2</sub> ou o consumo de O<sub>2</sub>. Em pós-colheita, um sistema simples que deixou de ser popular é feito com um dessecador (câmara hermética) ligado a um manômetro ou transdutor de pressão. No fundo do dessecador coloca-se uma solução de KOH (ou NaOH) para absorver CO<sub>2</sub>. Assim, o órgão consome O<sub>2</sub> na

respiração e o CO<sub>2</sub> liberado neste processo é capturado pela solução de KOH. Em consequência, o número de moléculas de gás na câmara diminui, causando uma redução proporcional pressão do ar (Δp). Assim, Δp multiplicado pelo volume de ar contido na câmara (V<sub>M</sub>) e dividido pela pressão barométrica local (pB) é uma estimativa do consumo respiratório de oxigênio. O volume de ar contido na câmara (V<sub>M</sub>) é o volume da câmara, menos o volume do produto, menos o volume da solução de KOH e menos o volume da placa perfurada do dessecador.

O CO<sub>2</sub> capturado na solução de KOH inicialmente conhecida também pode ser determinado por titulação, o que é um método considerado trabalhoso. Fazendo uso de hidróxido de bário, Afferden *et al.* (2006) desenvolveu um método muito sensível baseado na mesma idéia, porém fazendo uso de medição de condutividade da solução de hidróxido de bário ao invés de utilizar titulação. Além de medir por manometria, a câmara hermética pode também ser ligada a uma pipeta e neste caso utiliza-se volumetria a pressão e temperatura constante para fazer a medição de respiração.

**Tabela 1.** Solubilidade do CO<sub>2</sub> ( $\alpha_{CO_2}$ ) e do O<sub>2</sub> ( $\alpha_{O_2}$ ) em Litro/Litro e em moles por litro sob uma atmosfera de pressão do gás sob consideração.

Temperatura °C	$\alpha_{CO_2}$		$\alpha_{O_2}$	
	ml CO <sub>2</sub> /ml H <sub>2</sub> O atm	mol CO <sub>2</sub> / L H <sub>2</sub> O atm	ml O <sub>2</sub> /ml H <sub>2</sub> O atm	mol O <sub>2</sub> / L H <sub>2</sub> O atm
0	1,713	0,07647	0,04872	0,002175
10	1,194	0,05142	0,03793	0,001633
15	1,019	0,04312	0,03441	0,001456
20	0,878	0,03652	0,03091	0,001286
25	0,759	0,03104	0,02822	0,001154
30	0,665	0,02675	0,02612	0,001051
35	0,592	0,02343		
40	0,530	0,02064		

\* Baseado em dados de Umbreit *et al.* (1972)

### Quais são os cuidados necessários para o uso das técnicas de manometria e volumetria?

Estas manometrias e volumetrias requerem pelo menos os seguintes cuidados para a obtenção de resultados satisfatórios:

(1) nos primeiros 10 minutos após o fechamento da câmara, a pressão (ou o volume) varia mais por aumento do número de moléculas de vapor de água do que pela própria respiração. Assim, a variação de pressão inicial enquanto o sistema entra em equilíbrio de temperatura e de pressão de vapor deve ser descontada, o que pode se feito desconectando-se o tubo que liga a câmara hermética ao manômetro.

(2) o local do ensaio não deve ser sujeito à incidência direta de luz do sol, que aumenta a temperatura e causa erro de aumento de pressão do ar, e aumento de pressão de vapor de água, causados por aumento da temperatura.

(3) preferencialmente, deve-se montar também uma câmara hermética sem o produto e utilizá-la para corrigir a leitura para variações de temperatura e de pressão barométrica que ocorram durante o ensaio. Câmara hermética de referência deve ser utilizada tanto em respirômetro de manometria a volume e temperatura constantes, quanto em respirômetro de volumetria a pressão e temperatura constantes.

Mesmo com estes cuidados estas manometrias e volumetrias, assim como outros métodos de medir trocas gasosas, mesmo o IRGA e o cromatógrafo a gás, podem apresentar erros na estimativa da taxa de respiração devido aos volumes gasosos intercelulares e, principalmente, devida à solubilidade do CO<sub>2</sub> e do O<sub>2</sub> na água e nos demais componentes moleculares dos órgãos vegetais.

## Estimativas e conversões de unidades em medições de respiração

Bulbos de cebola armazenados em um armazém a 30 °C estão respirando a uma taxa de 20 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Qual é a estimativa da perda de matéria seca por quilo de cebola após 1 mês de armazenamento?

Inicialmente, a massa de CO<sub>2</sub> liberada pela respiração de um quilo de cebola durante um mês é dada por:

$$\text{Massa de CO}_2 = 30 \text{ dias} \times 24 \text{ horas/dia} \times 20 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1} = 1.440 \text{ mg} = 14,4 \text{ g}$$

A respiração em mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> pode ser relacionada com a perda de matéria seca sabendo-se que a massa de um mol de hexose [C<sub>6</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>] consumida na respiração é 180 g mol<sup>-1</sup> e que a massa de cada um dos seis moles de CO<sub>2</sub> produzidos é 264 g mol<sup>-1</sup>. De modo que a perda de matéria seca, por outro lado, é dada por:

$$\text{Perda de matéria seca} = 14,4 \text{ g/kg mês CO}_2 \times 180 / (\text{mol de glicose}) \times 264 / (\text{mol de CO}_2) = 9,82 \text{ g/kg mês.}$$

Neste exemplo, a perda de matéria seca da cebola é igual a 19,6% da matéria seca inicial contida caso fosse um cultivar com 5,0% de matéria seca.

Diferentemente, a perda de matéria seca seria de apenas 7,0% caso fosse uma cultivar de elevada capacidade de armazenamento, que contivesse inicialmente 14% de matéria seca.

Qual é a taxa de respiração em ml kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, em cal kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> e em watts kg<sup>-1</sup> de frutos de tomate maduros com taxa de respiração de 10 mg kg<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>?

Um mol de gás ideal (CO<sub>2</sub>) ocupa 22,4 litros a 0 °C e 1 atm de pressão. Caso a temperatura seja 15 °C, então nesta temperatura o mol de CO<sub>2</sub>, tomado como gás ideal ocupa um volume (v<sub>1</sub>)

proporcionalmente maior dado por:

$$v_1 = 22,4 \text{ L/mol} \times [(273,14 + 15) \text{ °C}] / [(273,14 + 0) \text{ °C}] = 23.6 \text{ L/mol}$$

Também por proporcionalidade, sabendo-se que a massa de um mol de CO<sub>2</sub> é 44 g, então se calcula que 10 mg de CO<sub>2</sub> ocupam v<sub>2</sub> dado por:

$$v_2 = 10 \text{ mg} \times (44.000 \text{ mg} / 23.600 \text{ ml}) = 18,6 \text{ ml CO}_2 / 10 \text{ mg}$$

Vê-se assim que a respiração expressa em ml kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> é 18,6 ml kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Um problema de se expressar respiração em ml kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> é que a taxa de respiração passa a requerer correção para a temperatura, uma dificuldade que não ocorre quando a respiração é expressa em mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> ou em mol kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

A segunda parte da resposta é a taxa de respiração em watts kg<sup>-1</sup>. Para isto precisa-se saber que na combustão ou respiração, de 1 mol de hexose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) ocorre a liberação de 686 kcal e de 6 moles de CO<sub>2</sub>. Com este dado, tem-se que 1 mol ou 44 g de CO<sub>2</sub> liberados correspondem a 1/6 vezes a liberação de calor da glicose, isto é, 114,3 kcal. Deste modo 10 mg de CO<sub>2</sub> corresponde a 26 cal e a respiração é de 26 cal kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

Caloria por hora é uma unidade de potência que pode ser convertida para watts, que também é unidade de potência. Para esta a conversão precisa-se saber que uma caloria corresponde a 4,18 joules e que watts é dado em joule por segundo. Deste modo, calcula-se que a respiração de 10 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> equivale a uma dissipação de uma potencia calorífica de 0,0302 watts kg<sup>-1</sup>.

## Métodos simples e demonstrativos para medir respiração

A solubilidade do CO<sub>2</sub> em água é cerca de 30 vezes maior do que a solubilidade do O<sub>2</sub>. Aproveitando-se desta diferença de solubilidade (Tabela 1), Calbo e Nery (1994) desenvolveram um método para medir a respiração de órgãos volumosos intactos como tomate, maçã e batata utilizando manometria a volume constante.

À época os autores sabiam que procedimento análogo também poderia ser feito por volumetria à pressão constante, que é ainda mais simples. Estes dois métodos ilustrados na Figura 2 são formas de quantificar e de evidenciar que a respiração ocorre de acordo com a difusão nos volumes gasosos intercelulares e da solubilização do CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> na água da fase líquida das células vegetais.

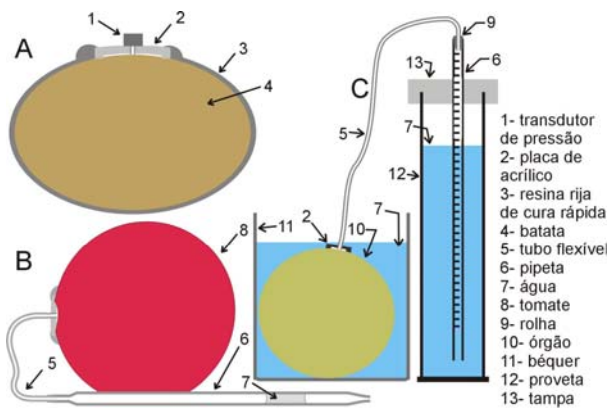


Figura 2- Alguns sistemas de acoplamento de órgãos vegetais para a medição de respiração por manometria (A) a volume constante e por volumetria (B, C) a pressão constante.

## Manometria direta em órgãos volumosos

Na Figura 2, está ilustrado um sistema de manometria a volume constante fazendo uso de um transdutor de pressão, que é acoplado ao órgão com auxílio de uma

placa de acrílico e de uma resina de cura rápida, massa plástica com catalisador, com o qual se aplica o método de Calbo e Nery (1994) para medir respiração com muita facilidade. A manometria a volume constante para órgãos relativamente rijos, de baixo volume gasoso intercelular, bem hidratados pode ser utilizada com mais facilidade ainda em órgãos como a batata, batata-doce, inhame e cenoura, substituindo-se a massa plástica/catalisador por simples massa de calafetar plástica.

Neste método a taxa de respiração é dada por uma relação linear (Eq. 2):

$$R_{O_2} = k_2 \Delta H / (\Delta t M) \quad \text{eq. 2}$$

onde  $R_{O_2}$  é a respiração expressa em moles de O<sub>2</sub> consumido por quilo e por hora,  $\Delta H$  é a variação de pressão lida no transdutor de pressão (Figura 1) em atmosferas,  $\Delta t$  é o intervalo de tempo em horas,  $M$  é a massa do órgão em quilos (kg) e  $k_2$  é um parâmetro de proporcionalidade que possibilita a estimativa da taxa de respiração.

O parâmetro  $k_2$  depende do produto e da temperatura e é dado pela relação:

$$k_2 = (\alpha_{O_2} V_L + V_G/RT) (\alpha_{CO_2} + V_G/V_L RT) / (\alpha_{O_2} - \alpha_{CO_2}) \quad \text{eq. 3}$$

onde a solubilidade do CO<sub>2</sub> ( $\alpha_{CO_2}$ ) e do O<sub>2</sub> ( $\alpha_{O_2}$ ) são dados em moles por litro de água (Tabela 1),  $V_L$  é o volume de água,  $V_G$  o volume gasoso intercelular do órgão em litros e  $R$  a constante dos gases de valor igual a 0,082 atm L K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>.

O volume gasoso pode, por exemplo, ser tomado de Calbo (2007), e os valores do parâmetro  $k_2$  para cálculo da respiração para diversas temperaturas e volumes gasosos são apresentados na Tabela 2.

Em um exemplo de cálculo de respiração utilizando-se a manometria a volume constante, conforme a Figura 2A, para

um segmento de batata-doce é apresentado a seguir. Sendo os dados do ensaio  $M=0,180$  kg,  $T=25$  °C,  $\Delta t=0,18$ h,  $V_G/V_L=0,06$  e  $\Delta H=0,0085$  atm, então para calcular a taxa de respiração com a equação 2 entra-se na Tabela 2, a 25 °C, com  $V_G/V_L=0,06$  e encontra-se que o parâmetro  $k_2$  é igual a  $0,00404$  mol atm<sup>-1</sup>. Deste modo substituindo os valores tem-se:  $R_{O_2} = 0,0035 \times 0,0085 / (0,167 \times 0,18) = 0,00114$  mol kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, ou multiplicando-se por 44000 mg, que é a massa molecular do CO<sub>2</sub>, tem-se a taxa de respiração em miligrama de CO<sub>2</sub> por quilo e por hora do segmento de batata-doce, no caso **50,3 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>**.

## Volumetria direta em órgãos volumosos

Com uma pipeta também se pode estimar a respiração, neste caso por volumetria a pressão constante (Figura 2B ou 2C). O volume de O<sub>2</sub> consumido por unidade de tempo é calculado de acordo com o volume de ar consumido, multiplicado pelo parâmetro  $q_2$  conforme a equação 4:

$$R_{O_2} = q_2 \Delta V / (\Delta t M) \quad \text{eq. 4}$$

Onde  $q_2$  é um parâmetro que converte a variação de volume de ar  $\Delta V$  na pipeta em quantidade de O<sub>2</sub> consumido,  $\Delta V$  é o volume de ar consumido em litros no intervalo de tempo  $\Delta t$  horas e  $M_0$  é a massa do órgão em quilogramas. O parâmetro  $q_2$  possibilita o cálculo da taxa de respiração, que também depende de

$V_L$ ,  $V_G$  e da solubilidade do CO<sub>2</sub> ( $\alpha_{CO_2}$ ) e do O<sub>2</sub> ( $\alpha_{O_2}$ ) na água à temperatura do ensaio. O valor do parâmetro  $q_2$  é sumariado na tabela 3 para diferentes temperaturas e razões  $V_G/V_L$ .

O valor do parâmetro  $q_2$  da tabela 3 foi calculado de acordo com a expressão:

$$q_2 = (P_b/V_G)(\alpha_{O_2} V_L + V_G/RT) (\alpha_{CO_2} + V_G/V_L RT) / (\alpha_{O_2} - \alpha_{CO_2}) \quad \text{eq. 5}$$

Onde  $P_b$  é a pressão barométrica local. As equações que representam  $q_2$  e  $k_2$  estão relacionadas pelo fator  $(P_b/V_G)$ , que converte valores de variação de pressão  $\Delta H$  a volume constante em valores de  $\Delta V$  a pressão constante, o que une conceitualmente os métodos de manometria a volume constante e volumetria a pressão constante.

Um exemplo de cálculo de respiração utilizando-se a volumetria a pressão constante, conforme a Figura 2B ou 2C, para um fruto de tomate é apresentado a seguir. Sendo os dados do ensaio  $M=0,110$  kg,  $T=25$  °C,  $\Delta t=10$  min,  $V_G/V_L=0,06$  e  $\Delta V=0,00025$  L (0,25ml), então para calcular a taxa de respiração com a equação 4 entra-se na tabela 3, a 25 °C, com  $V_G/V_L=0,06$  e encontra-se que o parâmetro  $q_2$  é igual a  $0,0674$  mol L<sup>-1</sup>. Deste modo substituindo os valores tem-se:  $R_{O_2} = 0,0674 \times 0,00025 / (0,11 \times 0,18) = 0,00085$  mol kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, ou multiplicando-se por 44000 mg, que é a massa molecular do CO<sub>2</sub>, tem-se a taxa de respiração do fruto de tomate em miligrama de CO<sub>2</sub> por quilo e por hora, no caso **37,4 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>**.



**Tabela 2.** Valores do parâmetro  $k_2$  ( $\text{mol atm}^{-1}$ ) para estimar respiração por manometria a volume constante (eq. 2). O parâmetro  $k_2$  foi calculado usando a equação 3 que é uma função da temperatura, solubilidade do  $\text{O}_2$  e do  $\text{CO}_2$  em água e do volume gasoso intercelular ( $V_G$ ), expresso como fração do volume de líquido ( $V_L$ ), pela razão  $V_G/V_L$ .

$V_G/V_L$	Temperatura (°C)						
	0	5	10	15	20	25	30
0,00	0,00224	0,00196	0,00169	0,00151	0,00133	0,00120	0,00109
0,02	0,00319	0,00290	0,00262	0,00243	0,00225	0,00210	0,00199
0,04	0,00417	0,00391	0,00387	0,00339	0,00320	0,00305	0,00293
0,06	0,00517	0,00486	0,00457	0,00438	0,00419	0,00404	0,00393
0,08	0,00619	0,00588	0,00559	0,00540	0,00522	0,00508	0,00498
0,10	0,00723	0,00692	0,00664	0,00646	0,00628	0,00616	0,00607
0,12	0,00829	0,00799	0,00773	0,00755	0,00616	0,00729	0,00722
0,16	0,01048	0,01019	0,00998	0,00985	0,00973	0,00967	0,00966
0,20	0,01276	0,01250	0,01235	0,01227	0,01222	0,01224	0,01231
0,25	0,01572	0,01552	0,01548	0,01550	0,01555	0,01570	0,01590
0,30	0,01882	0,01870	0,01879	0,01895	0,01913	0,01944	0,01980
0,35	0,02205	0,02202	0,02230	0,02260	0,02295	0,02346	0,02402
0,40	0,02542	0,02551	0,02598	0,02648	0,02702	0,02776	0,02856
0,45	0,02892	0,02915	0,02986	0,03056	0,03134	0,03233	0,03340
0,50	0,03255	0,03295	0,03392	0,03486	0,03590	0,03719	0,03856
0,60	0,04022	0,04100	0,04260	0,04411	0,04575	0,04774	0,04982
0,70	0,04843	0,04968	0,05202	0,05422	0,05659	0,05941	0,06235
0,80	0,05717	0,05897	0,06219	0,06518	0,06841	0,07220	0,07613
0,90	0,06644	0,06888	0,07310	0,07700	0,08121	0,08611	0,09117
1,00	0,07625	0,07941	0,08476	0,08969	0,09499	0,10113	0,10747

\* A solubilidade de  $\text{CO}_2$  e de  $\text{O}_2$  para a aplicação da equação 4 foram os de Umbreit *et al.* (1972).

## Considerações sobre os novos métodos (Figura 2)

Os métodos de volumetria e manometria de órgãos volumosos (Figura 2) não podem ser utilizadas para medir a respiração de frutos diretamente acondicionados em frascos de vidro tampados pois estes possuem um grande volume gasoso e neste caso conforme Calbo e Nery (1994) demonstraram não ocorrem variações substanciais de pressão ou de volume sem o uso de absorvedores de  $\text{CO}_2$ , como se faz nos métodos mais antigos considerados anteriormente.

Outro aspecto relevante é que a manometria a volume constante para órgãos volumosos é uma técnica mais exata que a volumetria a pressão constante para órgãos volumosos porque a dedução da equação da volumetria a pressão constante para órgãos volumosos envolve os seguinte pressupostos adicionais:

(1) o número de moléculas amostradas é muito menor que o total de moléculas contidas no órgão;

**Tabela 3.** Valores do parâmetro  $q_2$  ( $\text{mol L}^{-1}$ ) para estimar respiração por volumetria a pressão constante (Eq. 4). O parâmetro  $q_2$  foi calculado usando a equação 5, como função da temperatura, solubilidade do  $\text{O}_2$  e do  $\text{CO}_2$  em água e do volume gasoso intercelular ( $V_G$ ), expresso como fração do volume de líquido ( $V_L$ ), pela razão  $V_G / V_L$ .

$V_G / V_L$	Temperatura (°C)						
	0	5	10	15	20	25	30
0,005	0,4950	0,4391	0,3834	0,3468	0,3114	0,2840	0,2626
0,01	0,2714	0,2431	0,2149	0,1963	0,1784	0,1644	0,1535
0,02	0,1597	0,1452	0,1309	0,1214	0,1122	0,1051	0,0994
0,04	0,1043	0,0968	0,0895	0,0846	0,0799	0,0734	0,0714
0,06	0,0861	0,0811	0,0762	0,0729	0,0763	0,0674	0,0655
0,08	0,0774	0,0735	0,0699	0,0675	0,0652	0,0635	0,0622
0,10	0,0723	0,0692	0,0664	0,0646	0,0628	0,0616	0,0607
0,12	0,0691	0,0666	0,0644	0,0630	0,0616	0,0607	0,0602
0,16	0,0655	0,0637	0,0624	0,0615	0,0608	0,0605	0,0604
0,20	0,0638	0,0625	0,0617	0,0614	0,0611	0,0612	0,0615
0,25	0,0629	0,0621	0,0619	0,0620	0,0622	0,0628	0,0636
0,30	0,0627	0,0623	0,0626	0,0632	0,0638	0,0648	0,0660
0,35	0,0630	0,0629	0,0637	0,0646	0,0656	0,0670	0,0686
0,40	0,0635	0,0638	0,0650	0,0662	0,0676	0,0694	0,0714
0,45	0,0643	0,0648	0,0664	0,0679	0,0696	0,0719	0,0742
0,50	0,0651	0,0659	0,0678	0,0697	0,0718	0,0744	0,0771
0,60	0,0670	0,0683	0,0710	0,0735	0,0762	0,0796	0,0830
0,70	0,0692	0,0710	0,0743	0,0775	0,0808	0,0849	0,0891
0,80	0,0715	0,0737	0,0777	0,0815	0,0855	0,0903	0,0952
0,90	0,0738	0,0765	0,0812	0,0856	0,0902	0,0957	0,1013
1,00	0,0763	0,0794	0,0848	0,0897	0,0950	0,1011	0,1075
1,20	0,0812	0,0853	0,0919	0,0980	0,1046	0,1121	0,1199
1,40	0,0863	0,0912	0,0992	0,1064	0,1142	0,1231	0,1323
1,60	0,0915	0,0972	0,1064	0,1149	0,1239	0,1342	0,1448
1,80	0,0967	0,1033	0,1138	0,1234	0,1336	0,1453	0,1573

\* A solubilidade de  $\text{CO}_2$  e de  $\text{O}_2$  para a aplicação da equação 4 foram os de Umbreit *et al.* (1972).

(2) o ar externo que entra nos volumes gasosos intercelulares não tem tempo suficiente para equilibrar-se com o restante dos gases da atmosfera interna do órgão.

O segundo pressuposto parece mais evidente que o primeiro, caso se considere que em um órgão o tempo de meio equilíbrio para que o ar externo entre em contato apenas com uma pequena fração da superfície do fruto é inversamente proporcional a esta fração multiplicada pelo  $t_{1/2}$ , que se calcula de acordo com a resistência difusiva ou constante de conversão Calbo e Sommer (1987).

Assim, por não envolver estes pressupostos adicionais, a manometria a volume constante é, conceitualmente, superior apesar. No entanto, sob o ponto de vista prático é uma técnica um pouco mais difícil de utilizar, visto que requer um transdutor de pressão e a aplicação de uma resina de endurecimento rápido, caso não se queira utilizar o complicado dispositivo empregado originalmente por Calbo e Nery (1994).

## Referências

- AFFERDEN, M. van; HANSEN, A. M.; KAISE, C.; CHAPELAIN, N. Laboratory test system to measure microbial respiration rate. **International Journal of Environment and Pollution**, Geneva, v. 26, n. 1/2/3, p. 220-233, 2006.
- ARMSTRONG, W. Aeration in higher plants. **Advances in Botanical Research**, London, v. 7, p. 225-32, 1979.
- CALBO, A. G. ; NERY, A. A. ; HERRMANN, P. S. P. Intercellular deformations in compressed organs. **Annals of Botany**, London, v. 76, p. 365-370, 1995.
- CALBO, A. G. ; NERY, A. A. Methods for measurement of gas volume of fruits and vegetables. **Journal of The American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 120, n. 2, p. 217-221, 1995.
- CALBO, A. G. ; NERY, A. A. Methods to measure gaseous volume in plants. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, DF, v. 6, n. 2, p. 153-162, 1994.
- CALBO, A. G. Adaptação de um fluxcentro para estudos de trocas gasosas e um método de aferição de capilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 24, n. 6, p. 733-739, 1989.
- CALBO, A. G. **Respiração de frutas e hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2007. (Embrapa Hortaliças. Comunicado Técnico 46).
- CALBO, A. G.; SOMMER, N. F. Intercellular volume and resistance to mass air flow of fruits and vegetables. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 112, p. 131-134, 1987.
- CLAYPOOL, L. L.; KEEFER, R. M. A colorimetric method for CO<sub>2</sub> determination in respiration studies. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 40, p. 177-186, 1942.
- LENCKI, R. W.; ZHU, M.; CHU, C. Comparison of unsteady- and steady-state methods for produce respiration rate determination. 1. Model development and validation. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 31, p. 229-238, 2004.
- PHARR, D. M.; KATTAN, A. A. Effects of air flow rate, storage temperature, and harvest maturity on respiration and ripening of tomato fruits. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 48, p. 53-55, 1971.
- UMBREIT, W. W.; BURRIS, R. H.; STAUFFER, F. J. **Manometric and biochemical techniques: a manual describing methods applicable to the study of tissue metabolism**. 5<sup>th</sup> ed. Minneapolis: Burgess, 1972.



Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



**Comunicado  
Técnico, 47**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
Embrapa Hortaliças  
BR 060 km 9 Rod. Brasília-Anápolis  
C. Postal 218, 70359-970 - Brasília-DF

[www.cnph.embrapa.br](http://www.cnph.embrapa.br)  
Telefone: (61) 3385-9110  
Fax: (61) 3385-9042  
E-mail: [sac@cnph.embrapa.br](mailto:sac@cnph.embrapa.br)

1ª edição  
1ª impressão (2007): 50 exemplares

**Comitê de  
Publicações:**

Presidente: Gilmar P. Henz  
Secretária-Executiva: Fabiana S. Spada  
Editor Técnico: Flávia A. de Alcântara  
Supervisor Editorial: Sieglinde Brune  
Membros: Alice Maria Quezado Duval  
Edson Guiducci Filho  
Milza M. Lana

**Expediente** Normalização Bibliográfica: Rosane M. Parmagnani