

EFEITO DA “MANCHA-CHOCOLATE” NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E QUÍMICAS DE FRUTOS DE ABACAXIZEIRO-‘PÉROLA’¹

NEIDE BOTREL², VÂNIA DÉA DE CARVALHO³, ELIAZAR FELIPE OLIVEIRA⁴ E
ANTÔNIO GOMES SOARES⁵, SÉRGIO AGOSTINHO CENCI²

RESUMO - A “mancha-chocolate” constitui-se de um novo problema surgido na cultura do abacaxi, cuja causa não foi ainda determinada. Caracteriza-se pelo escurecimento da polpa, tornando o fruto impróprio para a comercialização. A proposta desse trabalho foi caracterizar as transformações físico-químicas e químicas que ocorrem em um fruto afetado pela “mancha-chocolate” a fim de subsidiar futuras pesquisas. Estudaram-se frutos da cultivar Pérola, provenientes de Miranorte - Tocantins, em quatro estádios de maturação (estádio 1 - verde; estádios 2 e 3 - intermediários; e o estágio 4 - maduro). Todos os frutos foram cortados no sentido vertical, sendo posteriormente efetuada uma avaliação visual das lesões decorrentes da “mancha-chocolate”, separando-se frutos afetados e aparentemente sadios. Os frutos afetados foram separados em três categorias: frutos com manchas fracas (MF), frutos com manchas moderadas (MM) e frutos com manchas intensas (MI). Foram feitas as seguintes avaliações: teores de compostos fenólicos, polifenoloxidase, peroxidase, vitamina C, acidez titulável, sólidos solúveis, pH, açúcares totais, redutores e não redutores. Verificou-se que os sintomas da “mancha-chocolate” se intensificaram nos frutos mais maduros e caracterizavam-se por apresentar um aumento acentuado no teor de compostos fenólicos e maiores atividades para as enzimas polifenoloxidase e peroxidase, o que conferiu ao problema um distúrbio de natureza fisiológica. Menores teores de vitamina C e de açúcares totais também foram observados nos frutos com manchas severas, quando comparados aos frutos com manchas fracas e os aparentemente sadios.

Termos para indexação: *Ananas comosus*, desordem fisiológica, transformações físico-químicas e químicas.

THE EFFECT OF “CHOCOLATE-STAIN” IN PHYSICAL-CHEMICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTIC OF FRUITS OF PINEAPPLE-‘PÉROLA’.

ABSTRACT - There has been an injury problem in the brazilian pineapple harvesting of unknown origin, called “chocolate stain”. It is a browning of the pulp, making the fruit unfit for commercialization. The purpose of this work was to verify the physical chemical and chemical changes that take place in a fruit affected by “chocolate stain”, in order to support future researches. Fruits of Perola cultivar from Miranorte-Tocantins were studied in four mature stages (stage 1 – green; stage 2 and 3 intermediates and stage 4 – ripe or mature). The fruits were all vertically sliced and a visual analysis of the injury was made. The healthy and affected fruits were separated. The affected fruits were separated in three categories: fruits with light stains (LS); fruits with moderate stains (MS); and fruits with hard stains (HS). The following evaluations were made: phenolic compounds, polyphenoloxidases and peroxidases enzymes, vitamin C, total titratable acidity, soluble solids, pH, total sugars, reductors and non reductors sugars. It was noted that the “chocolate stains” disorders were stronger in ripe fruits. There was a sharp increase of phenolic compounds and higher activity of polyphenoloxidases and peroxidases enzymes. These problem can be characterized as a disturb of physiological nature. Less contents of vitamin C and total sugars were noted in fruits with hard stains compared to those fruits with light stains (apparently healthy).

Index terms: *Ananas comosus*, physiological disease, physical chemical and chemical changes.

INTRODUÇÃO

A “mancha-chocolate” constitui-se em um novo problema surgido na abaxicultura brasileira, cuja causa ainda é desconhecida. Tem-se detectado este problema em abacaxis produzidos nos Estados do Tocantins, Maranhão e Pará. Apesar de a ocorrência da “mancha-chocolate” restringir-se a estas regiões e à cultivar Pérola, que é a única explorada nestas regiões, poderá futuramente tornar-se uma ameaça à abacaxicultura

brasileira.

Os sintomas da “mancha-chocolate” caracterizam-se pelo escurecimento da polpa, tornando o fruto impróprio para a comercialização. De acordo com observações de produtores, o problema acontece no início do período chuvoso, o que corresponde aos meses de outubro e novembro, e começou a surgir em meados da década passada. Foram feitos alguns estudos, porém não foram publicados. Segundo relatos de alguns pesquisadores, não há indicações de que o problema seja de

¹ (Trabalho 166/2000). Recebido: 31/07/2000. Aceito para publicação: 03/01/2002.

² DS, Pesquisador EMBRAPA- Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Guaratiba 23020-470 Rio de Janeiro, RJ. nbotrel@ctaa.embrapa.br e cenci@ctaa.embrapa.br

³ Eng. Agr., DS, Prof. Adjunto do Dep. Ciência dos Alimentos/UFLA, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, MG. vaniadea@ufla.br

⁴ Eng. Agr., Pesquisador EMEPA, eliazar@zipmail.com.br

⁵ MS, Pesquisador EMBRAPA- Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Guaratiba 23020-470 Rio de Janeiro, RJ. agomes@ctaa.embrapa.br

causa biótica, uma vez que nenhum possível patógeno foi isolado a partir de frutos sintomáticos.

A suscetibilidade ao escurecimento ou a tendência ao escurecimento enzimático em frutas e hortaliças tem sido relacionada diretamente ao teor de polifenoloxidase presente, à concentração de compostos fenólicos endógenos no tecido ou a uma combinação específica destes fatores (Esckin, Henderson e Townsend, 1971).

A expansão da produção brasileira e o incremento da exportação de frutas frescas mostram a necessidade e o interesse de estudos básicos de preservação da qualidade do fruto no sentido de garantir uma oferta contínua, e com um padrão de qualidade que atenda às exigências do comprador. Partindo-se do princípio de que ainda não se sabe a causa da “mancha-chocolate”, torna-se importante o conhecimento das transformações físico-químicas e químicas que ocorrem no fruto afetado, a fim de oferecer subsídios às pesquisas objetivando o seu controle.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi escolhida uma lavoura de abacaxi-‘Pérola’ afetada pela “mancha-chocolate”, localizada no Município de Miranorte-TO. Foram colhidos, aleatoriamente, 340 frutos da cultivar Pérola. Foram selecionados 320 frutos em 4 estádios de maturação aparente, sendo considerado o estádio 1- verde; estádios 2 e 3 – intermediários; e o estádio 4- maduro. Todos os frutos foram cortados no sentido vertical, sendo então efetuada uma avaliação visual das lesões decorrentes da “mancha-chocolate”, separando-se frutos afetados e aparentemente saudáveis. Os frutos afetados foram separados em três categorias: frutos com manchas fracas (MF), frutos com manchas moderadas (MM) e frutos com manchas intensas (MI). Todos os frutos foram picados, separando-se a região com sintomas. Da amostra composta, foram retiradas 4 amostras que compuseram as repetições. Após serem congeladas em nitrogênio líquido, foram transportadas, sob refrigeração, até o Laboratório de Pós-Colheita da Universidade Federal de Lavras, onde foram feitas as seguintes avaliações:

- a) Acidez titulável total (%) – ATT, determinada por titulação com NaOH 0,1N, de acordo com a técnica preconizada pela AOAC (1992) e expressa em porcentagem de ácido cítrico por 100 mL de suco;
- b) pH - determinado por potenciometria em eletrodo de vidro, segundo técnica da AOAC (1992);
- c) Sólidos solúveis totais (%) – SST, determinados por refratometria, conforme as normas da AOAC (1992), utilizando-se de refratômetro digital, com compensação de temperatura automática;
- d) Açúcares totais, redutores e não redutores - extraídos pelo método de Lane - Enyon, citado pela AOAC (1992) e determinados pela técnica de Somogy, adaptada por Nelson (1944);
- e) Vitamina C total (mg/100g) - determinada pelo método colorimétrico de Roe e Kutether, citado por Strohecker e Henning (1967);
- f) Compostos fenólicos totais (mg/100g) - extraídos e doseados segundo a técnica de Goldstein e Swain (1963), com algumas

modificações. Foram feitas três extrações sucessivas, usando como meio extrator o metanol 80% e determinados pelo método de Follin-Denis, conforme recomendação da AOAC (1992);

g) Atividade peroxidase (PER) - a extração da enzima e determinação da sua atividade foram realizadas pelo método preconizado por Matsuno e Uritani (1972). A atividade da enzima foi expressa em unidade por minuto por grama de tecido fresco (U/min/g);

h) Atividade polifenoloxidase (PFO) - a extração foi feita de acordo com método proposto por Matsuno e Uritane (1972), sendo a atividade expressa em unidade por minuto por grama de tecido fresco (U/min/g), segundo método proposto por Teisson (1979). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 12 tratamentos, compostos da seguinte forma: a) frutos saudáveis estágio 1; b) frutos saudáveis estágio 2; c) frutos saudáveis estágio 3; d) frutos saudáveis estágio 4; e) frutos MF estágio 2; f) frutos MF estágio 3; g) frutos MF estágio 4; h) frutos MM estágio 2; i) frutos MM estágio 3; j) frutos MM estágio 4; k) frutos MI estágio 3; l) frutos MI estágio 4. Foram utilizadas três repetições, perfazendo um total de 36 tratamentos.

Os valores obtidos de cada variável foram submetidos à análise de variância e a comparação das médias foi realizada utilizando-se do teste de Scott & Knott, ao nível de 1% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 320 frutos avaliados, divididos em 4 lotes de 80 frutos referentes aos 4 estádios de maturação (1; 2; 3 e 4), constatou-se a “mancha-chocolate” em um percentual de 0; 20; 31 e 54 %, respectivamente. Tais resultados confirmam relatos de produtores que observaram que a incidência do problema se intensifica à medida que o fruto vai amadurecendo.

Os teores médios de compostos fenólicos totais apresentaram-se significativamente mais altos nos frutos mais afetados pela “mancha-chocolate”. Observou-se um maior valor naqueles pertencentes ao estádio 4 (maduro), nos quais as manchas apresentavam-se mais severas, e menores nos frutos de estádio 1 (verde), sem sintomas (Figura 1).

As enzimas polifenoloxidase e peroxidase também apresentaram maiores atividades nos frutos com grau de maturação mais avançado (sintomas severos) e menores nos frutos aparentemente saudáveis. Entretanto, verificou-se também que a polifenoloxidase foi mais ativa no processo de escurecimento da polpa, atingindo um valor máximo de 146,97 U/g/min nos frutos mais atacados pela “mancha-chocolate”, enquanto a enzima peroxidase apresentou atividade de 86,40 U/g/min. Demonstrou-se, dessa forma, que dentre as duas enzimas avaliadas, a polifenoloxidase aparentemente é a que, tem um maior envolvimento com a presença dos sintomas (Figura 1). Perante tais resultados, pode-se inferir que a “mancha-chocolate” é um distúrbio fisiológico causado por oxidação de compostos fenólicos e catalisada pela ação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase. Este trabalho está de acordo com Esckin et al. (1971), que citam que a suscetibilidade ao escurecimento ou a tendência ao escurecimento enzimático em frutas e hortaliças têm sido relacionadas diretamente com uma maior atividade da polifenoloxidase, maior concentração de compostos fenólicos

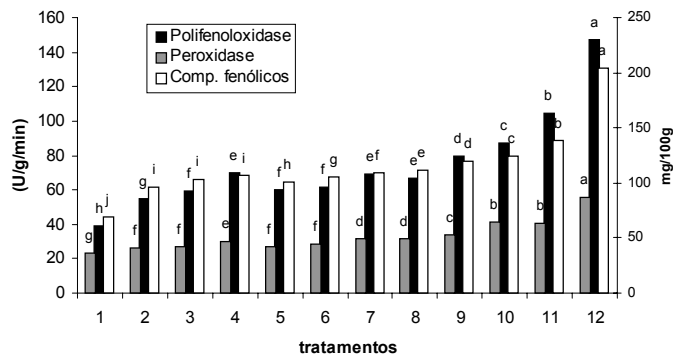


FIGURA 1 - Comparação dos valores das atividades médias da polifenoloxidase, peroxidase e teores de compostos fenólicos totais, em frutos de abacaxi-‘Pérola’, em diferentes níveis de maturação e de severidade de sintomas da “mancha-chocolate”.

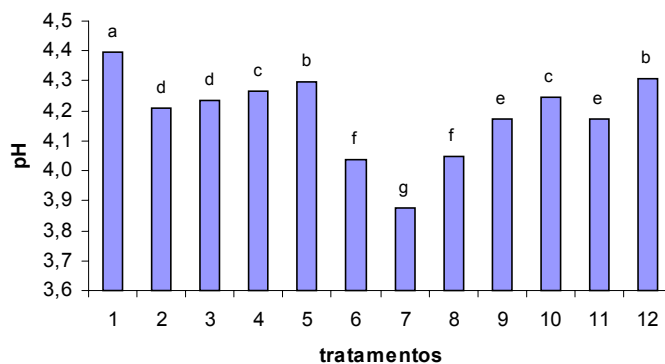


FIGURA 4 - Comparação dos valores de pH em frutos de abacaxi-‘Pérola’, em diferentes níveis de maturação e de severidade de sintomas da “mancha-chocolate”.

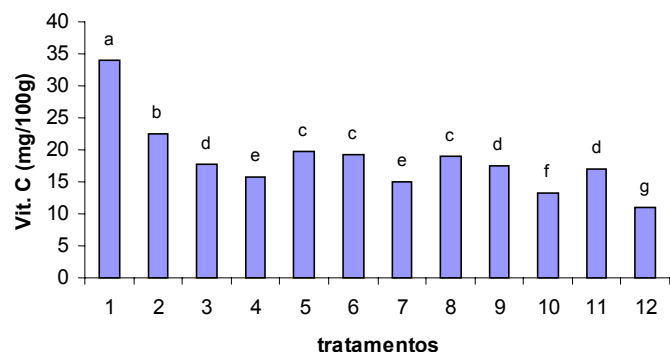


FIGURA 2 - Comparação dos teores médios da vitamina C em frutos de abacaxi-‘Pérola’, em diferentes níveis de maturação e de severidade de sintomas da “mancha-chocolate”.

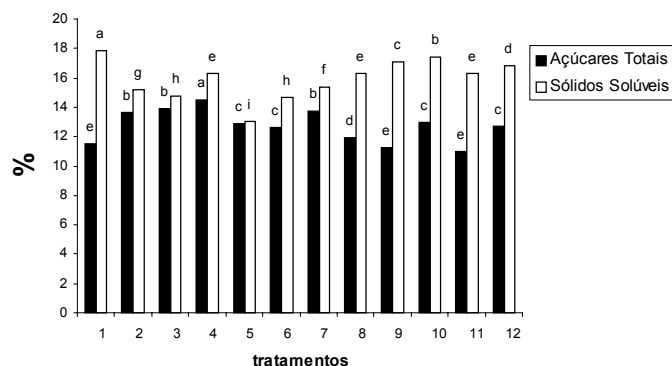


FIGURA 5 - Comparação dos teores médios de açúcares totais e sólidos solúveis totais em frutos de abacaxi-‘Pérola’, em diferentes níveis de maturação e de severidade de sintomas da “mancha-chocolate”.

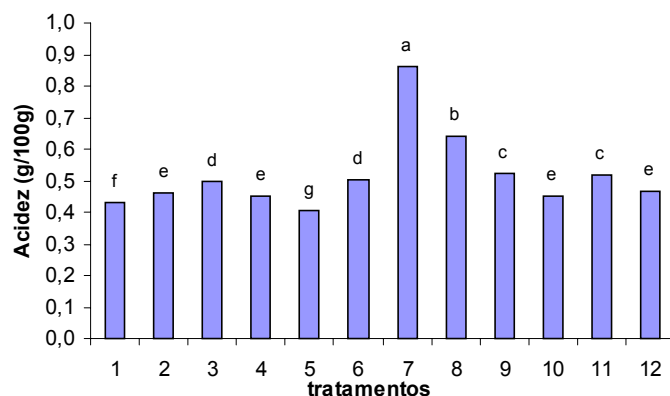


FIGURA 3 - Comparação dos teores de acidez titulável total em frutos de abacaxi-‘Pérola’, em diferentes níveis de maturação e de severidade de sintomas da “mancha-chocolate”.

endógenos no tecido ou uma combinação específica destes fatores.

O escurecimento dos tecidos vegetais deve-se ao rompimento da membrana celular, liberando as enzimas que entram em contato com os substratos (fenólicos), havendo, assim, uma oxidação descontrolada dos mesmos com utilização do oxigênio molecular. A principal enzima que tem sido detectada no escurecimento da polpa do abacaxi, decorrente de armazenamento em baixas temperaturas, é a polifenoloxidase, que apresenta a



FIGURA 6 - Sintomas da “mancha-chocolate” em abacaxi-‘Pérola’ no estágio 4 de maturação.

capacidade de oxidar inicialmente monofenóis para o-difenóis, com posterior oxidação de o-difenóis para o-quinonas, formando pigmentos escuros que vão depreciar o produto (Scoot e Wills, 1975; Wheatley, 1982; Paull e Rohrbach, 1985; Botrel, 1992 e Gonçalves, 1998). A oxidação de fenóis pode resultar também da atividade da peroxidase, cuja oxidação se dá em presença de peróxido de hidrogênio. A acumulação dos produtos das reações das peroxidases pode ocorrer durante a senescência dos frutos (Dilley, 1979; Wheatley, 1982; Awad, 1993). Apesar de a “mancha-

chocolate” ser uma desordem observada no campo, verifica-se que, de forma similar ao distúrbio causado pelo frio, há rompimento de membrana celular e maior contato das enzimas oxidativas com seus substratos, resultando dessa forma no escurecimento do tecido vegetal.

A polifenoloxidase é encontrada praticamente em todos os tecidos vegetais. Sua atividade pode variar em função da espécie, variedade, estágio de maturação, condições de cultivo e mesmo com as práticas de manuseio e armazenamento adotados. Estima-se que 50% das perdas de frutas tropicais no mundo devem-se à sua ação, que resulta na formação de pigmentos escuros, proporcionando mudanças indesejáveis na aparência e nas características organolépticas dos produtos (Fenema, 1993). Verificou-se, nesse trabalho, que os frutos nos estádios mais avançados de maturação apresentaram-se mais suscetíveis à “mancha- chocolate”, tornando-os totalmente inaceitáveis à comercialização.

No que se refere ao teor de vitamina C, verifica-se, através da Figura 2, que os frutos mais maduros e, conseqüentemente, mais afetados pela “mancha- chocolate”, apresentaram menores teores de vitamina C. Os maiores teores desta vitamina foram detectados nos frutos verdes e aparentemente sadios, sendo que o inverso ocorreu com os frutos em estágio de maturação mais avançada, nos quais se verificou uma maior expressão dos sintomas. A vitamina C é um antioxidante natural encontrado nos vegetais que, na sua forma reduzida, recebe nome de ácido ascórbico. O abacaxi não é um fruto rico em ácido ascórbico; entretanto, a sua concentração tem sido associada aos distúrbios de escurecimento causado pelo “chilling”, podendo variar de acordo com a cultivar, estágio de maturação, peso do fruto, nutrição mineral e tratamentos pós-colheita (Miller e Marsteller, 1953; Teisson e Combres, 1979; Paull e Rohrbach, 1982; Botrel, 1991, Abreu, 1995). Diante do exposto e dos resultados alcançados, verifica-se que os níveis de ácido ascórbico também demonstraram exercer influência na intensidade do escurecimento causado pela “mancha-chocolate”, notando-se estreita relação entre os níveis de vitamina C e a intensidade da desordem dos sintomas.

Em relação à acidez titulável total, não se verificou relação direta com a incidência da “mancha-chocolate”, detectando -se oscilações nos valores entre os diversos tratamentos analisados (Figura 3). Quanto ao pH, verificou-se uma tendência de os frutos aparentemente sadios apresentarem valores mais elevados (Figura 4). De acordo com Salunke e Desai (1984), a injúria causada por “chilling” em abacaxis está relacionada, entre outros fatores, a decréscimos no pH, o que de forma similar pode-se observar nos frutos com sintomas da “mancha- chocolate”.

O teor de açúcares totais foi maior nos frutos mais maduros (estádio 4), com uma certa redução do mesmo à medida que a intensidade dos sintomas foi tornando-se mais acentuada. Obteve-se um valor de 14,55 % nos frutos aparentemente sadios, 13,70 % nos frutos com manchas fracas, 12,98% nos frutos com manchas moderadas e 12,72% no frutos com manchas intensas (Figura 5). Esta constatação coincide com relatos de Van Lelyveld e De Bruyn (1976) e Vukomanovic (1988), que observaram que os sintomas da injúria de “chilling”, que também causa escurecimento da polpa, se encontram associados a valores mais baixos de açúcares totais. Quanto ao teor de açúcares não redutores, verificou-se um aumento deste nos frutos sem

sintomas, do estágio 1 para o estágio 4, ao passo que, nos frutos afetados pela desordem, foi observado o inverso. A concentração de sacarose apresentou-se maior nos frutos mais afetados. Não foi observada relação entre o teor de sólidos solúveis totais e os sintomas da desordem.

CONCLUSÕES

- 1) Os sintomas da “mancha-chocolate” foram mais intensos nos frutos mais maduros e caracterizaram-se por um aumento acentuado no teor de compostos fenólicos e maiores atividades para as enzimas polifenoloxidase e peroxidase, o que sugeriu ao problema características de um distúrbio de natureza fisiológica.
- 2) Menores teores de vitamina C e de açúcares totais também foram observados nos frutos com manchas severas, quando comparados aos frutos com manchas fracas e com os aparentemente sadios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C.M.P.de. **Efeito da embalagem de polietileno e da refrigeração no escurecimento interno e composição química durante a maturação do abacaxi c.v. Smooth Cayenne**. 1995. 94f. Tese – (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of the Agricultural Chemists**. 12 ed. Washington: A.O.A.C., 1992.
- AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114p.
- BOTREL, N. **Efeito do peso do fruto no escurecimento interno e qualidade do abacaxi ‘Smooth cayenne’**. 1991. 81f. Dissertação - (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991
- DILLEY, D.R. Enzymes. In: HULME, A.C. (Ed) **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1979. v.1, cap.8, p. 179 -204.
- ESCKIN, N.A.M.; HENDERSON, H.M.; TOWNSEND, R.J. Reações de escurecimento nos alimentos. In: **Bioquímica de alimentos**. New York: Academic Press, 1971. p.97-144
- ESKIN, N.A.M. ; HENDERSON, H.M.; TOWNSED, R.J. **Biochemistry of foods**. New York: Academic Press, 1971. 292p.
- FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acriba, 1993. p. 501-503
- GOLDSTEIN, J.L.; SWAIN, T. Changes in tannis in ripening fruits. **Phytochemistry**, Oxford, v.2, p.371-383, 1963.
- MATSUNO, H. ; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isosymes in sweet potato root tissue injured by cutting

- or with black rot. **Plant and cell Physiology**, Tóquio, v.13, p. 1091-1101, 1972.
- MILLER, E.V.; MARSTELLER, R.L. The effect of parachrophenoxy acetic on physiological breakdown of the fruits of the pineapple (*Ananas comosus* [L] Merr.). **Food Research**, Chicago, v.18, n.4, p.421-425, July/Aug. 1953.
- NELSON, N.A. A photometric adaptation of Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.135, p.136-175, 1944.
- PAULL, R.E.; ROHRBACH, K.G. Symptom development of chilling injury in pineapple fruit. **Journal of the American Society Horticultural Science**, Alexandria, v.110, n.1, p.100-105, 1985.
- SALUNKE, D.K.; DESAI, B.B. **Postharvest Biotechnology of fruits**. Boca Raton: CRC Press, 1984. v.2, 194p.
- SCOOT, K.J.; WILLS, R.B.H. Postharvest application of calcium as a control for storage breakdown of apples. **HortScience**, Alexandria, v.10, p.75, 1975.
- STROHECKER, R.; HENNING, H.M. **Análises de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.
- TEISSON, C. Le brunissement interne de l'ananas. I- Historique. II-Material e méthodes. **Fruits**, Paris, v.34, n.4, p.245-281, Apr. 1979.
- TEISSON, C.; COMBRES, J.C. Le brunissement interne de l'ananas. III - Symptomatologie. **Fruits**, Paris, v.34, n.5, p. 315-329, May 1979.
- VAN LELYVELD, L.J.; DE BRUYN, J.A. Sugars and organic acids associated with blackheart in cayenne pineapple fruits. **Agrochemophysics**, South Africa, v.4, n.8, p.65-68, Dec. 1976.
- VUKOMANOVIC, C.R. **Efeito da maturação e da baixa temperatura na composição química e no escurecimento interno do abacaxi**. 1988. 80p. Dissertação - (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1988.
- WHEATLEY, C.C. **Studies on Cassava (*Manihot esculenta* GRANTZ) root post-harvest physiological deterioration**. Wye College: Lond, University of London, 1982. 246p.