

TÉCNICAS DE ANÁLISE MULTIVARIADA NA AVALIAÇÃO DE INJÚRIAS PELO FRIO EM MANGAS CV. TOMMY ATKINS¹

ANA CAROLINA ALMEIDA MIGUEL², JOSÉ FERNANDO DURIGAN³,
ANTONIO SERGIO FERRAUDO⁴

RESUMO – Este trabalho objetivou identificar as variáveis que se associam às injúrias pelo frio e determinar as diferenças nos parâmetros de qualidade que melhor caracterizam mangas ‘Tommy Atkins’ submetidas à condição de injúria pelo frio, utilizando-se da análise de fatores em componentes principais e a análise de agrupamentos. Frutos colhidos no estádio “de vez” foram cuidadosamente transportados, selecionados, padronizados quanto a coloração, tamanho e ausência de injúrias, e tratados com fungicida antes de serem armazenados a 2 °C (74,8% UR), 5 °C (75,4% UR) e 12 °C (76,4% UR), por até 28 dias. Os frutos foram avaliados semanalmente quanto à ocorrência de danos pelo frio, coloração da casca e da polpa, firmeza da polpa, teores de sólidos solúveis, acidez titulável, açúcares solúveis e redutores, ácido ascórbico e atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase. A análise estatística multivariada dos fatores em componentes principais e agrupamentos permitiram melhor compreensão do efeito do armazenamento, sob condição de *chilling*, no metabolismo de mangas ‘Tommy Atkins’ e indicaram que o dano está intimamente relacionado com a casca e que a resposta da polpa ao estresse ocorre de forma tardia.

Termos para indexação: *Mangifera indica*; pós-colheita; análise multivariada; armazenamento refrigerado; injúria pelo frio.

MULTIVARIATE ANALYSIS THAT CAN BE USED TO EVALUATE THE CHILLING INJURY IN MANGOES CV. TOMMY ATKINS

This study aimed to identify the variables associated with chilling injury and to determine the differences in quality parameters that better characterize mangoes ‘Tommy Atkins’ under condition of chilling injury, through the use of factor and cluster analysis. Semi-ripe fruits were harvested and carefully transported, selected and standardized for color, size and absence of injuries, and treated with fungicide, before storage at 2 °C (74,8% RH), 5 °C (75,4% RH) and 12 °C (76,4% RH) for 28 days. Fruits were evaluated weekly for the occurrence of chilling injury, peel and pulp color firmness, soluble solids, titratable acidity, soluble and reducing sugars, and ascorbic acid content. Activities of peroxidase, polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia-lyase were determined, as well. The multivariate statistic analysis helped to better understand the storage effect in the metabolism of mangoes ‘Tommy Atkins’ under chilling condition, and indicated that the damage is closely related to the peel, and that the pulp response to the stress occurs later.

Index terms: *Mangifera indica*; postharvest; multivariate analysis; refrigerated storage; chilling injury.

INTRODUÇÃO

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma das frutas tropicais de maior expressão econômica nos mercados brasileiro e internacional (BRANDÃO et al., 2003). Das cultivares de importância comercial, a ‘Tommy Atkins’ é a mais cultivada e exportada pelo Brasil, dada sua boa produtividade, boa capacidade de adaptação a diferentes ambientes de cultivo, tolerância a doenças e boa conservação pós-colheita (CARVALHO et al., 2004).

Apesar de o Brasil ter uma participação razoável na exportação desta fruta, sua presença no mercado internacional ainda é muito pequena (FAO, 2011). Dentre os vários fatores que prejudicam o aumento de sua exportação, estão a baixa qualidade dos frutos, os problemas com podridões pós-colheita, o transporte e o manuseio inadequados e sua suscetibilidade a injúrias pelo frio, sob temperaturas abaixo de 7-13 °C (COCOZZA, 2003; KADER, 2002).

Sob temperaturas promotoras de injúrias, há o desenvolvimento de desordens fisiológicas que

¹Trabalho Sinfruit 107 - Simpósio Internacional de Fruticultura - Avanços na Fruticultura (17 a 21 Outubro)

²Doutoranda em Agronomia Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV/UNESP, Jaboticabal. E-mail: anaamiguel@yahoo.com.br.

³Prof. do Departamento de Tecnologia da FCAV/UNESP, Jaboticabal. E-mail: jfduri@fcav.unesp.br.

⁴Prof. do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP, Jaboticabal. E-mail: fsajago@gmail.com.

podem comprometer, completamente, a qualidade dos frutos. Essas desordens compreendem depressões na epiderme, descoloração, degenerescência interna e perda de sabor, aroma e capacidade de amadurecer. A severidade dos sintomas depende da temperatura e do tempo de exposição (CANTWELL; KASMIRE, 2002).

Métodos de análise univariada são normalmente empregados visando à identificação das diferenças entre tratamentos, considerando individualmente cada atributo avaliado. Tais métodos não consideram o efeito simultâneo dos parâmetros. As análises estatísticas multivariadas, como a fatorial em componentes principais são ferramentas que permitem condensar todas as informações contidas em um determinado número de variáveis originais em conjuntos menores, denominados fatores, cujas combinações lineares explicam o máximo da variância contida nas variáveis originais.

Outra técnica multivariada de grande aplicabilidade é a análise de agrupamento (*cluster*), cujo objetivo é repartir os indivíduos em grupos homogêneos, de modo que cada grupo seja bem identificado. Normalmente, o resultado é uma hierarquia, representada por um dendrograma. O exame do dendrograma induz ao privilégio de partições supostamente consistentes e à rejeição de outras (VOLLE, 1993), permitindo a definição dos grupos distintos. Conhecendo-se a classificação dos grupos, podem-se estabelecer partições em maior ou menor número de classes (BOUROCHE; SAPORTA, 1981; ALEIXO et al., 2007). O estabelecimento dos grupos de indivíduos permite verificar os parâmetros que evidenciam as características homogêneas dentro de um grupo e também as principais diferenças entre esses grupos (HAIR et al., 2006).

Este trabalho objetivou identificar as variáveis que se associam às injúrias pelo frio e determinar as diferenças nos parâmetros de qualidade que melhor caracterizam mangas ‘Tommy Atkins’ submetidas à condição de injúria pelo frio através do uso de análise de fatores em componentes principais (ACP) e da análise de agrupamento (*cluster*).

MATERIAL E MÉTODOS

Mangas ‘Tommy Atkins’ colhidas no estádio “de vez”, em pomar comercial localizado no município de Monte Alto-SP, foram imediatamente transportadas ao Laboratório de Tecnologia dos Produtos Agrícolas, do Departamento de Tecnologia da FCAV/UNESP, onde tiveram seus pedúnculos padronizados em 10-20 mm, foram lavadas com detergente neutro, enxaguadas em água corrente e novamente seleciona-

das, eliminando-se as danificadas ou desuniformes. Em seguida, os frutos foram tratados por imersão em fungicida Magnate 500 EC[®] (Imazalil a 50%) a 200 mL 100 L⁻¹, a 10 °C por 2 min., e armazenados a 2±1 °C (74,8±15,9% UR), 5±1,2 °C (75,4±13,2% UR) e 12±1,1 °C (76,4±14,2% UR), com avaliações aos 0;7; 14; 21 e 28 dias.

Os frutos foram avaliados quanto à ocorrência de *injúrias pelo frio*, através de observação visual e atribuição de notas: 5= severo (>50% da superfície dos frutos injuriada); 4= moderado (25-50% da superfície injuriada pelo frio); 3= brando/suave (até 25% da superfície contendo depressões e escaldadura); 2= leve (2-5% da superfície danificada); 1= sem sintomas visíveis de injúria (WHANGCHAI et al., 2000).

A *coloração da casca e da polpa* foi determinada utilizando-se de colorímetro Minolta CR 400b, com os resultados expressos em luminosidade (L), ângulo hue (Hue) e cromaticidade (Croma). A *firmeza da polpa* foi determinada utilizando-se de penetrômetro, aplicado em dois pontos opostos na região equatorial do fruto, com os resultados expressos em Newton (N).

Na polpa dos frutos, foram determinados os *teores de sólidos solúveis (SS)* em refratômetro digital e os de *acidez titulável (AT)*, de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (2005), além dos *teores de ácido ascórbico (AA)* e de *açúcares solúveis (AS)* e *redutores (AR)*, segundo Strohecker e Henning (1967), Dubois et al. (1956) e Villela et al. (1973), respectivamente. Também se quantificou a atividade das enzimas *polifenoloxidase (PPO)* e *peroxidase (PER)*, conforme o indicado por Allain et al. (1974), bem como a da *fenilalanina amônia-liase (PAL)* (CAHILL; McCOMB, 1992).

Para a aplicação das análises multivariadas, o conjunto de dados foi padronizado de modo que cada variável foi mantida com média nula e variância unitária. Os dados originais foram inicialmente submetidos a uma análise fatorial, o que permitiu identificar os fatores que podiam ser usados para representar as relações entre um conjunto de variáveis interrelacionadas. A análise de agrupamento hierárquica foi processada utilizando-se como coeficiente de semelhança a medida de dissimilaridade euclidiana. O método de agrupamento aplicado para identificar a similaridade entre grupos foi o de Ward. A análise de agrupamentos não hierárquica foi processada utilizando-se do método de k-means, sendo que k corresponde ao número de grupos indicados na análise de agrupamento hierárquica (SNEATH; SOKAL, 1973). As variáveis foram processadas no *software* Estatística, versão 7.0 (STATSOFT, 2010),

permitindo a identificação dos componentes principais e a realização das análises de agrupamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de agrupamentos, o parâmetro dano pelo frio não foi considerado, por se tratar de uma variável categórica, ou seja, de característica não numérica.

Aplicando-se o método da análise fatorial em componentes principais, foram analisados os três primeiros fatores, com 70,92% da variância total (Tabela 1), demonstrando a importância dos fatores, e que o Fator 1 reúne dez variáveis com grau adequado de correlação.

Este Fator 1 explica 38,53% da variância total da análise e está fortemente vinculado às consequências do binômio tempo x temperatura no metabolismo dos frutos. Este Fator mostrou que a variável sólidos solúveis (SS) se correlacionou diretamente com os atributos Cromo_casca, L_casca, açúcares redutores (AR) e açúcares solúveis (AS) e, inversamente com a firmeza, L_polpa, Hue_polpa e atividade da peroxidase (PER) e da fenilalanina amônia-liase (PAL). Tais resultados indicam que o aumento no teor de sólidos solúveis é acompanhado pelo incremento nos teores de açúcares redutores e solúveis, bem como pela síntese de pigmentos na casca, que se torna mais amarelada. Concomitantemente a estes eventos, ocorre redução na firmeza, escurecimento e desenvolvimento da coloração característica da polpa, expressa pela cor amarelo-alaranjada. Tal comportamento remete às alterações associadas com os eventos de amadurecimento e senescência dos frutos, evidenciadas pela menor atividade das enzimas PER e PAL.

O segundo Fator em ordem de importância explicou 17,67% da inércia total e esteve relacionado às variáveis Hue_casca, Hue_polpa, Cromo_polpa e acidez titulável (AT). A análise deste Fator mostrou que o parâmetro Hue_casca correlacionou-se positivamente com o Cromo_polpa e, inversamente, com Hue_polpa e AT. Estes resultados sugerem que frutos em estágio menos avançado de amadurecimento são caracterizados pelos maiores teores de acidez, por polpa com coloração creme pouco intensa (maior ângulo hue e menor de cromaticidade), além de casca com coloração arroxeadada (menor ângulo hue).

O Fator 3 relacionou-se com o dano pelo frio, que caracteriza os frutos mantidos sob condição de injúria e reteve 14,72% da variância total. Observou-se que as enzimas PPO e PAL apresentaram comportamento inverso à manifestação dos sintomas de *chilling*, indicando que a atividade destas enzimas

foi limitada durante o armazenamento refrigerado ou que o impacto dos danos sofridos é atenuado na polpa.

Complementando os resultados obtidos na análise fatorial em componentes principais, foram realizadas as classificações, hierárquica e não hierárquica. A análise de agrupamentos hierárquica, representada por um dendograma, distinguiu a formação de quatro grupos (Figura 1).

Observa-se que o Grupo 1 (G1) é formado pelos frutos oriundos do armazenamento inicial (dia 0) e que as variáveis que melhor os caracterizaram foram as altas atividades da PAL, PER e PPO, o Hue e L da casca, o Cromo da polpa e o teor de SS (Figura 2). Essas mangas apresentavam reduzidos teores de sólidos solúveis, casca verde-clara (maior luminosidade e maior ângulo hue) e polpa com cor creme-clara (baixa cromaticidade). Apresentavam, também, elevada atividade das enzimas peroxidase (PER) e da polifenoloxidase (PPO), sinalizando que estes frutos se encontravam em processo de amadurecimento, pois estas enzimas estão intimamente relacionadas com este evento (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A elevada ação da PAL indica a produção de ligninas nestes frutos.

O Grupo 2 (G2) foi formado pelos frutos armazenados a 2 °C e 5 °C por 7 e 28 dias, os quais se caracterizaram por altas atividades da PAL e PER, baixos valores de luminosidade da casca e reduzidos teores de sólidos solúveis (SS) e de ácido ascórbico (AA). Tais resultados sinalizam que a casca se tornou escurecida, como resultado da ocorrência de *chilling* e da ação da PAL, que é ativada em condições de estresse. Como consequência destes eventos, ocorreu perda de ácido ascórbico, que é oxidado em caso de injúria e comprometimento da síntese de açúcares. Verificou-se que o Grupo 3 (G3) foi formado pelos frutos armazenados a 2 °C e a 5 °C por 14 e 21 dias, os quais se assemelharam ao mantidos a 12 °C por 7 dias. Estes se caracterizaram por polpa descolorida (maior luminosidade e ângulo hue, e baixa cromaticidade), casca pobre em pigmentos (cromaticidade baixa), baixos teores de sólidos solúveis (SS) e de açúcares redutores (AR) e solúveis (AS), além de retenção da firmeza e elevados teores de acidez (AT) e de ácido ascórbico (AA), paralelo à baixa atividade da PER e da PAL. Esses resultados indicam que o armazenamento prolongado das mangas sob condição de injúria alterou o amadurecimento dos frutos. O Grupo 4 (G4) foi composto pelos frutos mantidos a 12 °C por 14 a 28 dias e caracterizou-se pela baixa atividade das enzimas PAL e PPO, pelos elevados teores de SS e de açúcares (AR e AS) e pela acidez reduzida. Exibiram também casca com coloração in-

tensa (L e Cromo elevados) e polpa de cor alaranjado-escurecida (L e Hue reduzidos e Cromo elevado) e apresentaram polpa amolecida. Essas alterações

indicam que os frutos conservados a 12 °C, por 14; 21 ou 28 dias, amadureceram normalmente.

TABELA 1 - Coeficientes de correlação das variáveis para mangas ‘Tommy Atkins’ armazenadas a 2 °C (74,8 %UR), 5 °C (75,4 %UR) e 12 °C (76,4 %UR), por até 28 dias.

Variável	Fator 1	Fator 2	Fator 3
Dano	0,280586	0,054296	0,758181
PAL	0,575592	0,335727	-0,503633
PPO	0,227650	0,206822	-0,842849
PER	0,515007	0,394394	-0,021099
AS	-0,873761	0,185187	0,153705
AR	-0,884689	-0,026530	0,018221
L_casca	-0,688220	0,487589	-0,061840
Hue_casca	0,076767	0,652398	-0,193985
Croma_casca	-0,855401	0,152434	-0,279795
L_polpa	0,861764	-0,321448	0,066766
Hue_polpa	0,574824	-0,671383	0,051827
Croma_polpa	-0,287304	0,722730	-0,056492
Firmeza	0,743002	-0,306121	0,038759
AA	0,173965	-0,142734	0,766259
AT	0,234907	-0,774970	0,270885
SS	-0,941874	0,033594	0,024218
Variância exploratória	6,164703	2,827795	2,355978
Proporção da variância total (%)	38,53	17,67	14,72

Obs.: Variáveis indicadas em negrito têm importância significativa para o respectivo fator. Sinais iguais indicam relação direta, e contrários, indireta.

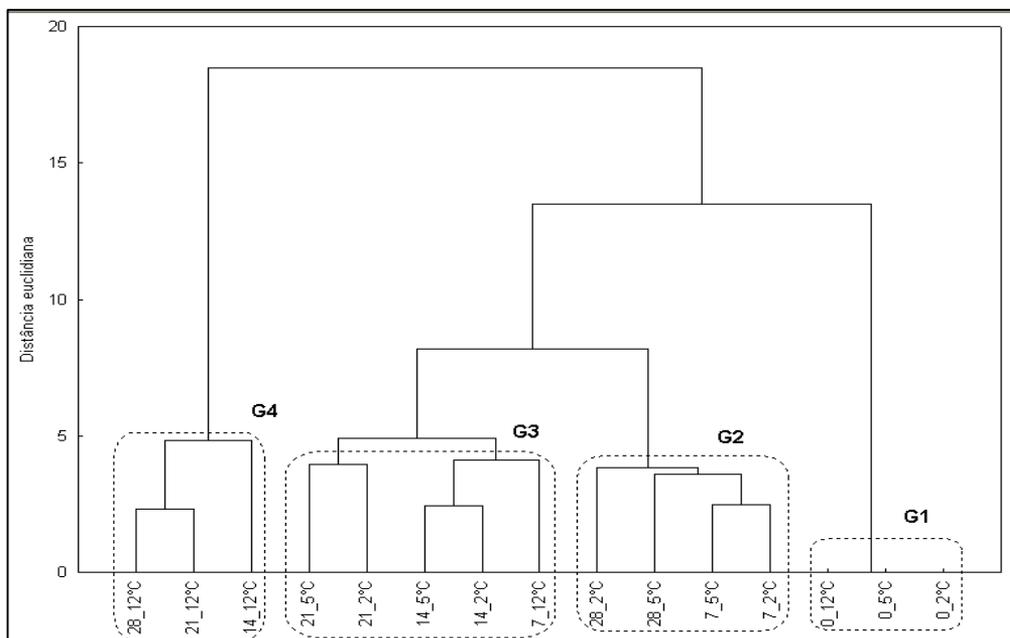


FIGURA 1 - Análise de agrupamentos hierárquica contendo a ordenação dos períodos de armazenamento de mangas ‘Tommy Atkins’ mantidas a 2 °C (74,8 %UR), 5 °C (75,4 %UR) e 12 °C (76,4 %UR), por até 28 dias. (Os números 0; 7; 14; 21 e 28 representam o período de armazenamento em dias).

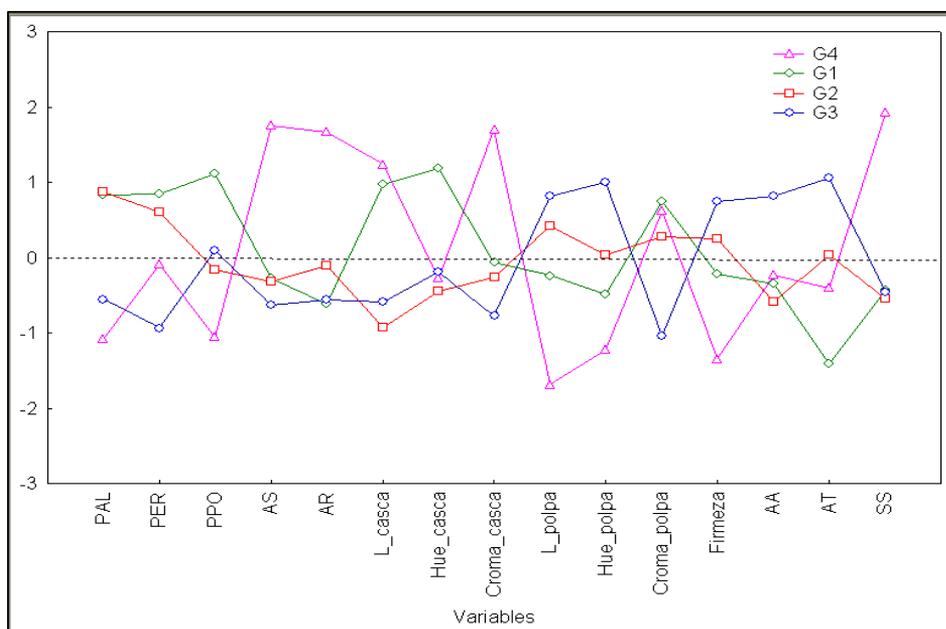


FIGURA 2 - Análise de agrupamentos não hierárquica contendo a ordenação dos períodos de armazenamento de mangas 'Tommy Atkins' mantidas a 2 °C (74,8 %UR), 5 °C (75,4 %UR) e 12 °C (76,4 %UR), por até 28 dias. (Os números 0; 7; 14; 21 e 28 representam o período de armazenamento em dias).

CONCLUSÕES

- 1 - As análises multivariadas, fatorial em componentes principais e de agrupamento, permitiram a melhor compreensão do impacto do armazenamento no metabolismo de mangas 'Tommy Atkins' mantidas sob condição de *chilling*.
- 2 - Esta análise sugere que, nas mangas cv. Tommy Atkins, o dano está intimamente relacionado com a casca e que a resposta ao estresse, na polpa, ocorre de forma tardia e é pouco prejudicada no desenvolvimento de sua coloração característica. As enzimas fenilalanina amônia-liase e polifenoloxidase não se correlacionaram com a manifestação dos sintomas de dano pelo frio.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro (Proc. nº 09/51977-9).

REFERÊNCIAS

ALEIXO, S.S.; SOUZA, J.G.; FERRAUDO, A.S. Técnicas de análise multivariada na determinação de grupos homogêneos de produtores de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 6, p. 2168-2175, 2007.

ALLAIN, C.C.; POON, L.; CHAN, C.S.G.; RICHMOND, W.; FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 120, p. 470-475, 1974.

AOAC. **Official methods of analysis**. 18th ed. Gaithersburg, 2005. p. 10-11.

BOUROCHE, J.M.; SAPORTA, L. **L'analyse des données**. Paris: Presses Universitaires de France, 1981. 127p.

BRANDÃO, M.C.C.; MAIA, G.A.; LIMA, D.P.; PARENTE, E.J.S.; CAMPELLO, C.C.; NASSU, R.T.; FEITOSA, T.; SOUSA, P.H.M. Análise físico-química, microbiológica e sensorial de frutos de manga submetidos à desidratação osmótica solar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n.1, p. 38-41, 2003.

CAHILL, D.M.; McCOMB, J.A. A comparison of changes in phenylalanine ammonia-lyase activity, lignin and phenolic synthesis in the roots of *Eucalyptus calophylla* (field resistant) and *E. marginata* (susceptible) when infected with *Phytophthora cinnamomi*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 40, n. 2, p. 315-332, 1992.

- CANTWELL, M.I.; KASMIRE, R.E. Postharvest handling systems: fruit vegetables. In: KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. Oakland: University of California, 2002. p. 407-421.
- CARVALHO, C.R.L.; ROSSETTO, C.J.; MANTOVANI, D.M.B.; MORGANO, M.A.; CASTRO, J.V. de; BORTOLETTO, N. Avaliação de cultivares de mangueira selecionadas pelo Instituto Agronômico de Campinas comparadas a outras de importância comercial. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 264-271, 2004.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.
- COCOZZA, F.M. **Maturação e conservação de manga 'Tommy Atkins' submetida à aplicação pós-colheita de 1-metilciclopropeno**. 2003. 226 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Pós-colheita) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 2, n. 3, p. 350-356, 1956.
- FAO. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. Disponível em: <<http://www.fao.org/>>. Acesso em: 09 jun. 2011.
- HAIR, J.R.; ANDERSON, R.E.; TATHAM, R.L.; BLACK, W. **Análise multivariada de dados**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2006. 600 p.
- KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. California: University of California Agriculture and Natural Resources Communications Services, 2002. 535 p.
- STROHECKER, R.; HENNING, H.M. **Análisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p.
- SNEATH, P.H.; SOKAL, R.R. **Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification**. San Francisco: W.H. Freeman, 1973. 573 p.
- STATSOFT. **Statistica (data analysis software system), version 7.0**. Disponível em: <www.statsoft.com>. Acesso em: 17 mar. 2010.
- VILLELA, G.; BACILA, M.; TASTALDI, H. **Técnicas e experimentos de bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1973. 552 p.
- VOLLE, M. **L'analyse des données**. 3rd ed. Paris: Économica, 1993. 323p.
- WHANGCHAI, K.; GEMMA, H.; IWAHORI, S.; UTHAIBUTRA, J. Endogenous polyamines in 'Nam Dok Mai' mangoes with different ripening stages and its relation to chilling injury during storage. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 509, p. 429-433, 2000.