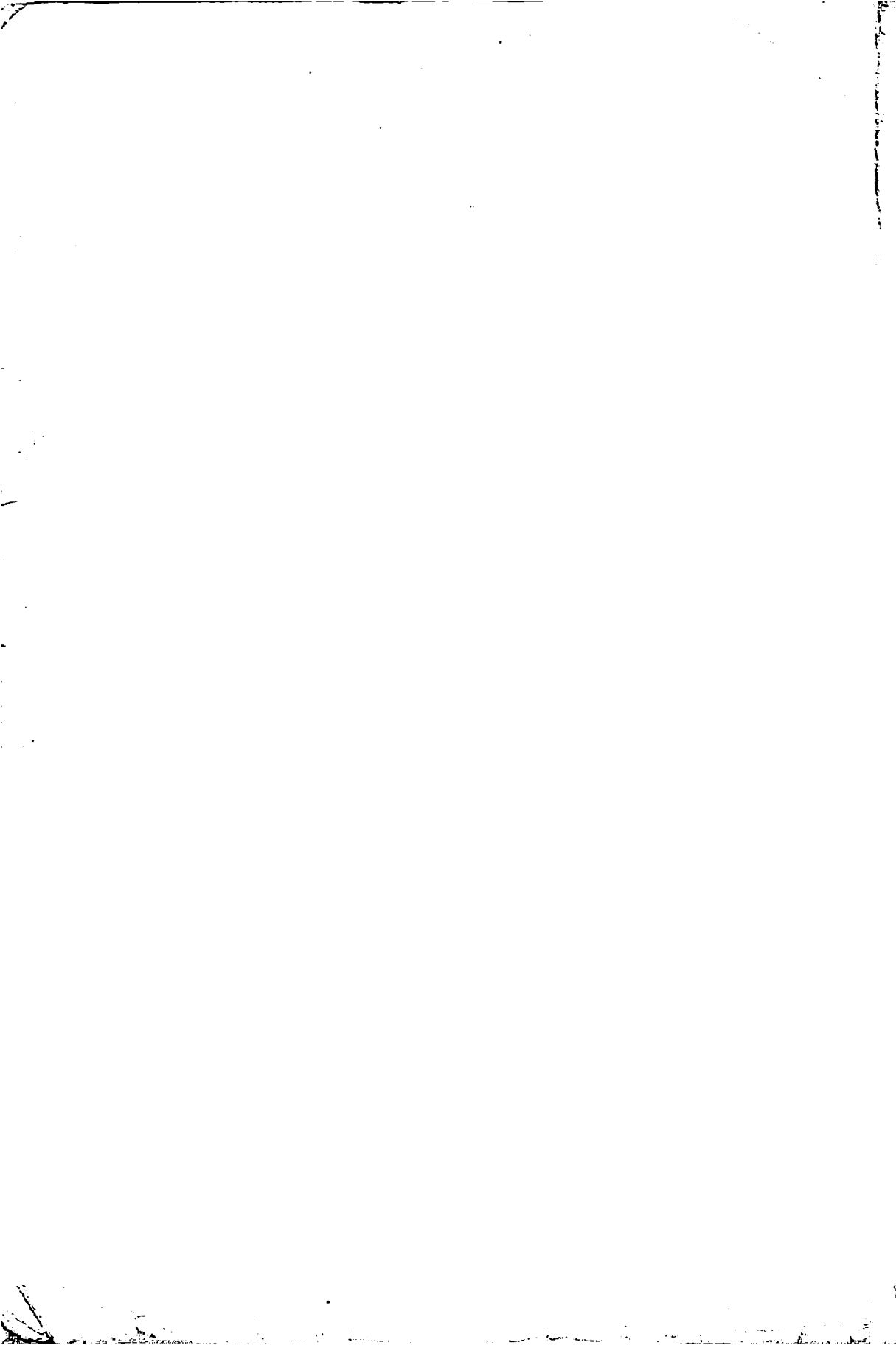


**EFEITO DA APLICAÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO ASSOCIADO  
AO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO SOBRE A COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA E SUSCETIBILIDADE AO ESCURECIMENTO INTERNO  
DO ABACAXI c.v. *Smooth Cayenne***

NEIDE BOTREL GONÇALVES



NEIDE BOTREL GONÇALVES

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO ASSOCIADO  
AO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO SOBRE A COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA E SUSCETIBILIDADE AO ESCURECIMENTO INTERNO  
DO ABACAXI c.v. *Smooth Cayenne***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de "Doutor".

Orientadora

Profa. Dra. Vânia Déa de Carvalho

LAVRAS  
MINAS GERAIS-BRASIL  
1998

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da  
Biblioteca Central da UFLA

Gonçalves, Neide Botrel

Efeito da aplicação de cloreto de cálcio associado ao tratamento hidrotérmico sobre a composição química e suscetibilidade ao escurecimento interno do abacaxi C. V. Smooth Cayenne / Neide Botrel Gonçalves.--Lavras : UFLA, 1998.

101 p. : il.

Orientador: Vânia Déa de Carvalho.

Tese (Doutorado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Abacaxi. 2. Armazenamento refrigerado. 3. Desordem fisiológica. 4. Cálcio 5. Cloreto de cálcio. 6. Composição química. 7. Escurecimento interno. 8. Tratamento hidrotérmico. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-664.853

-664.804774

NEIDE BOTREL GONÇALVES

EFEITO DA APLICAÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO ASSOCIADO  
AO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO SOBRE A COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA E SUSCETIBILIDADE AO ESCURECIMENTO INTERNO  
DO ABACAXI c.v. *Smooth Cayenne*

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de "Doutor".

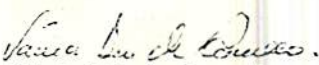
APROVADA

Profa. Dra Janice Guedes de Carvalho UFLA

Prof. Dr. Augusto Ramalho de Moraes UFLA

Prof. Dr. Flávio Alencar D'Araujo Couto UFV

Profa. Dra. Celeste Maria Patto de Abreu UFLA

  
Profa. Dra. Vânia Déa de Carvalho  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais Acácio (*in memoriam*)  
e Maria, que retiraram da terra  
o nosso sustento.

Aos meus irmãos e sobrinhos por tudo  
que representam para mim.

### **OFEREÇO**

Ao meu querido marido, Jorge Ricardo,  
precioso presente, pelo amor e companheirismo

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus, pela força e a bênção da vida.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro.

À EMATER de Monte Alegre de Minas, na pessoa do Eng. Agrônomo José Roberto da Silva pela cooperação, competência e amizade.

À SITAGRO e aos IRMÃOS CURL, pela doação dos frutos.

A professora Dra. Vânia Déa de Carvalho, pela orientação, incentivo e amizade incondicional.

Ao Prof. Dr. Flávio Alencar D'Araujo Couto, pelos primeiros conhecimentos adquiridos na pesquisa frutícola, e pela sincera amizade.

Ao Prof. Dr. Augusto Ramalho de Moraes, pela orientação nas análises estatísticas, e pela amizade.

À Profa Eliana Pinheiro, Coordenadora da Pós-Graduação, e Giselda, Secretária, pela eficiência e amizade.

À Sandra, Tina e Gustavo, pelas análises laboratoriais e amizade.

À memória de Sr. Ismael, pela bondade, cooperação e amizade.

Aos colegas de Curso, em especial aos amigos Helenice e Eduardo, pelo convívio e cooperação. Aos demais colegas Josivan, Luís Carlos, Poliana, Rogério, Regina e Rose.

# SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	ix
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Aspectos Gerais.....	4
2.2 Armazenamento sob baixas temperaturas.....	5
2.3 Composição físico-química e química do abacaxi.....	8
2.4 Modificações químicas durante a maturação e após a refrigeração...	10
2.4.1 Compostos fenólicos e fenilalanina amônio liase (FAL).....	11
2.4.2 Polifenoloxidase e peroxidase.....	13
2.4.3 Ácido ascórbico e vitamina C total.....	17
2.4.4 Pectinas e enzimas pectolíticas.....	19
2.4.5 Acidez e pH.....	21
2.4.6 Açúcares totais, redutores, não redutores e sólidos solúveis totais.	22
2.5 Tratamento hidrotérmico.....	24
2.6 Cálcio.....	27



<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
3.1 Origem, colheita e transporte.....	34
3.2 Seleção dos frutos, execução dos tratamentos e armazenamento.....	34
3.3 Avaliações realizadas nos frutos.....	36
3.3.1 Escurecimento interno.....	36
3.3.1.1 Número de frutos afetados.....	36
3.3.1.2 Índice de escurecimento interno (IE).....	36
3.3.2 Temperatura do fruto.....	37
3.3.3 Avaliações físico-químicas e químicas.....	37
3.4 Análise estatística.....	41
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
4.1 Abacaxis analisados no dia da colheita.....	42
4.2 Escurecimento interno.....	45
4.3 Cálcio total.....	49
4.4 Cálcio ligado.....	52
4.5 Temperatura do fruto.....	54
4.6 Pectina total, pectina solúvel e % de pectina total em relação a total (solubilidade).....	55
4.7 Pectinametilesterase (PME) poligalacturonase (PG).....	58
4.8 Vitamina C Total.....	61
4.9 Fenólicos totais.....	62
4.10 Atividade fenil alanina amônio liase (FAL).....	64
4.11 Atividade peroxidásica (PER).....	66
4.12 Atividade polifenoloxidásica (PFO).....	68
4.13 Acidez titulável total (ATT).....	70
4.14 pH.....	72

4.15 Sólidos solúveis totais (SST).....	73
4.16 Relação sólidos solúveis totais/acidez titulável total(SST/ATT).....	75
4.17 Açúcares totais.....	76
4.18 Considerações gerais.....	77
5 CONCLUSÕES.....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
ANEXOS.....	97

## RESUMO

GONÇALVES, Neide Botrel. Efeito da aplicação de cloreto de cálcio associado ao tratamento hidrotérmico sobre a composição química e suscetibilidade ao escurecimento interno do abacaxi cv. *Smooth Cayenne*. Lavras: UFLA, 1998. 98p. (Tese - Doutorado em Ciência dos Alimentos).

O abacaxi está sujeito a injúrias causadas pelo frio durante o armazenamento refrigerado. A aplicação pós-colheita de cálcio pode contribuir para reduzir vários tipos de desordens fisiológicas. Neste trabalho verificou-se a influência da aplicação pós-colheita de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associado ao tratamento hidrotérmico (38° e 40° C) por 10 e 20 minutos de imersão, sobre a composição química e a suscetibilidade ao escurecimento interno do abacaxi. Os frutos foram provenientes de Prata -MG, armazenados a  $9^\circ\text{C}\pm 2$  e umidade relativa de  $90\pm 3$  por um período de 15 dias. As avaliações foram efetuadas 7 dias após a retirada dos frutos das condições de refrigeração. O tratamento dos frutos com  $\text{CaCl}_2$  a 2% reduziu o índice de escurecimento interno em relação ao fruto-controle, conferindo ainda um maior teor de cálcio ligado, menor solubilização das pectinas e menores atividades para as enzimas poligalacturonase, polifenoloxidase, peroxidase e fenilalanina amônio liase. A aplicação de  $\text{CaCl}_2$  foi associada ao tratamento hidrotérmico, independente do tempo de imersão, diminuiu a solubilização de pectinas, as atividades da peroxidase e polifenoloxidase, indicando o efeito da integridade celular da parede celular e da temperatura no decréscimo das atividades das enzimas oxidativas que levam às reações de escurecimento interno. A utilização de  $\text{CaCl}_2$  independente da associação com o tratamento térmico, não exerceu influência nas características físico-químicas (acidez titulável, pH e sólidos solúveis) e açúcares totais, que são medidas da qualidade e maturação de frutos.

---

Comitê Orientador: Vânia Déa de Carvalho - UFLA (Orientadora), Augusto Ramalho de Moraes, Celeste Maria Patto de Abreu, Flávio Alencar D'Araujo Couto, Janice Guedes de Carvalho.

## ABSTRACT

### **EFFECT OF THE APPLICATION OF CALCIUM CHLORIDE ASSOCIATED WITH HIDROTHERMICAL TREATMENT ON THE CHEMICAL COMPOSITION AND SUSCEPTIBILITY TO THE INTERNAL BROWING OF PINEAPPLE CV. SMOOTH CAYENNE**

Pineapple is subjected to injuries caused by low temperature during the refrigerated storage. The post-harvest application of calcium can contribute to reduce a number of physiological disorders. In this work, the influence of the postharvest application of 2% CaCl<sub>2</sub> associated with the hydrothermal treatment (38 and 40°C) for 10 and 20 minutes, soaking on the chemical composition and susceptibility to internal browning of pineapple. The fruits, from Prata-MG, were stored at 9°C ±2 and relative humidity of 90±3 for a period of 15 days. The evaluations were performed 7 days after removal of the fruits from the refrigeration conditions. The treatments of the fruits with 2% CaCl<sub>2</sub> reduced the index of internal browning relative to the control fruit, still conferring a greater bound calcium content lesser pectin solubilization and lesser activities for the enzymes polygalacturonase, polyphenoloxidase, peroxidase and phenilalanine amonium lyase. Application of CaCl<sub>2</sub> was associated with the hydrothermic treatment regardless the soaking time, decreased pectin solubilization the activities of peroxidase and polyphenoloxidase, denoting the effect of the cellular integrity of the cell wall and temperature on decreasing activities of oxidative enzymes which lead to internal browning reations. Use of CaCl<sub>2</sub> independent of the association with the heat treatment did not have any influence on the physical-chemical characteristics (titrable acidity, pH and soluble solids) and total sugars which are measure of the quality and maturation of fruits.

---

Guidance Committee: Vânia Déa de Carvalho - UFLA (Orientadora), Augusto Ramalho de Moraes, Celeste Maria Patto de Abreu, Flávio Alencar D'Araujo Couto, Janice Guedes de Carvalho.

## 1 INTRODUÇÃO

A fruticultura constitui, dentro da economia agrícola, um dos setores de grande importância. A elevada lucratividade que pode ser obtida por unidade de superfície, confere aos fruticultores um nível econômico dificilmente alcançado por outros grupos integrantes da atividade agrícola. Entretanto, não somente a produtividade é responsável pelo progresso neste setor, mas sobretudo a qualidade dos produtos obtidos, principalmente na sua preservação da lavoura até a mesa do consumidor. Em se tratando de exportação, as exigências são ainda maiores; admite-se que poucos setores da fruticultura estão suficientemente organizados para atender aos padrões exigidos pelos países importadores. A exportação de frutas de qualidade adequada, homogênea e constante, ao longo do tempo, contribui de forma decisiva para o desenvolvimento e manutenção do prestígio dos mercados-alvo.

A qualidade das frutas depende, em grande parte, da tecnologia utilizada na pré-colheita, colheita e pós-colheita. Porém, é necessário enfatizar que os métodos empregados nas duas últimas fases não melhoram a qualidade da fruta, mas retardam o processo de senescência, garantindo melhor conservação e, conseqüentemente, oferecendo um tempo mais prolongado para comercialização.

O Brasil destaca-se, na América do Sul, como o maior produtor de abacaxi. Entre os principais Estados produtores estão a Paraíba, Minas Gerais e Bahia. De acordo com levantamento da FIBGE (1997)<sup>1</sup>, houve uma redução de 24,8% na área plantada e 17,1% na produção de frutos em Minas Gerais no ano

---

<sup>1</sup>FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola-LSPA. Belo Horizonte, 1997.

de 1997, refletindo, sobremaneira, na produção nacional. Também as exportações que atingiram cifras bastante significativas no início desta década têm decrescido, de acordo com informações BRASIL (1997)<sup>2</sup>, as exportações de abacaxis que tiveram desempenhos expressivos em 1993, atingindo um volume de 33 mil toneladas, vêm apresentando um comportamento decrescente, atingindo 11,5 mil toneladas em 1996. Em 1997, levantamentos realizados até outubro, divulgaram que apenas 5 mil toneladas de abacaxis foram exportadas. Entre as causas dessa queda nas exportações de frutas frescas, Savitici et al. (1996)<sup>3</sup> citam que os países do Mercosul, que eram responsáveis por 91% das importações, passaram a representar apenas 35% do volume exportado em 1994.

Diante da situação relatada, reforça-se a necessidade de buscar meios para se produzir frutos de qualidade adequada e técnicas pós-colheita para manutenção da qualidade, a fim de se competir com os países exportadores.

Dentre os diversos fatores que constituem entraves às exportações brasileiras, o abacaxi apresenta um distúrbio fisiológico denominado escurecimento interno, causado pelo transporte à baixas temperaturas.

Estudos relacionados com a desordem fisiológica sugerem que condições climáticas, estádios de maturação, diferenças varietais, peso do fruto e condições inadequadas de armazenamento exercem influência acentuada na composição química do abacaxi, com conseqüente efeito no grau de escurecimento interno da polpa.

Vários trabalhos têm sido feitos na área de pós-colheita a fim de minimizar os prejuízos causados por essa desordem, tais como: métodos de

---

<sup>2</sup>BRASIL. Ministério da Indústria, do Comércio e do Turismo. Secretaria do Comércio Exterior. Abacaxis (Ananás) frescos ou secos. Brasília: SECEX, 1997. (Fax: 225.5098).

<sup>3</sup>SAVITICI, L.A.; GASPARINO, J.F.; LEITE, R.S.S.F.; BLISKA, F.M.M. Packing house e mercado para o abacaxi. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamentos de Alimentos, Curitiba, v.14, n.2, p.181-204, jun/dez. 1996.

embalagem, aplicação de ceras, influência do estágio de maturação e do tamanho dos frutos.

Uma técnica bastante efetiva que tem sido utilizada para controlar desordens fisiológicas e retardar o processo de senescência em frutos, é a aplicação de produtos à base de cálcio na fase pré e pós-colheita. O aumento dos níveis de cálcio no fruto proporciona uma maior resistência na parede celular, com conseqüente aumento da vida útil dos frutos. A aplicação de cálcio pode ser potencializada quando associada ao tratamento hidrotérmico, uma vez que a elevação da temperatura pode favorecer a penetração do elemento através da epiderme do fruto.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da aplicação de  $\text{CaCl}_2$  na fase pós-colheita, associado ao tratamento hidrotérmico sobre a composição química do abacaxi, e sua influência na suscetibilidade dos frutos ao escurecimento interno.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Aspectos gerais

Os principais países exportadores de abacaxi *in natura*, são as Filipinas e a Costa do Marfim, os quais exportam principalmente para os respectivos mercados do Japão e Europa. Quantidades substanciais de fruto fresco são também exportadas pela Costa Rica e República Dominicana para os Estados Unidos (Scaffer e Andersen, 1994).

O Brasil, apesar de ter apresentado uma taxa de crescimento das exportações de frutas nos últimos anos, com o incremento da produção no nordeste, especificamente na área irrigada do Vale do Rio São Francisco, ainda apresenta uma modesta pauta de exportação frente ao seu potencial. Entre as principais frutas brasileiras exportadas, destaca-se o abacaxi, com suas excepcionais características organolépticas e nutricionais (Faria, 1994).

O abacaxizeiro *Ananas comosus* (L.) Merr. é uma planta monocotiledônea, herbácea perene, da família Bromeliaceae. O abacaxi é um fruto composto, do tipo sorose, formado de 100 a 200 frutos simples do tipo baga, inseridos sobre uma haste central ou miolo, em disposição espiralada e intimamente soldados entre si. A parte comestível do fruto é a polpa suculenta formada pelas paredes das lojas dos frutinhos e pelo tecido parenquimatoso que os ligam entre si (Collins, 1960).

A taxonomia do gênero *Ananas* engloba 5 grupos varietais (Cayenne, Queen, Spanish, Pernambuco e Mordilonus-Peroloera-Maipure). O grupo mais importante é o Cayenne, do qual faz parte a cultivar *Smooth Cayenne*, que



apresenta peculiaridades que atendem tanto o consumo ao natural, como a indústria e as exigências de países importadores (Py, Lacoluilhe e Teisson, 1984).

Entre os diversos fatores que contribuem para a manutenção da qualidade e incidência de perdas pós-colheita em frutos, destacam-se: a) a qualidade inicial do produto; b) a temperatura na qual o produto foi manuseado, armazenado, transportado e distribuído; c) a umidade relativa do ambiente pós-colheita; d) o uso de atmosfera controlada ou modificada durante o armazenamento e o transporte; e) tratamentos químicos utilizados para o controle de desordens fisiológicas; f) tratamento à quente para o controle de perdas e g) embalagens e sistemas de manuseio (Harvey, 1978).

## **2.2 Armazenamento sob baixas temperaturas**

O armazenamento sob condições de baixas temperaturas é um dos mais efetivos e práticos métodos utilizados no prolongamento da vida útil de frutos e hortaliças frescos. A temperatura de armazenamento é, portanto, o fator ambiental mais importante, uma vez que regula as taxas de todos os processos fisiológicos e bioquímicos dos vegetais, otimizando o tempo para comercialização. Entretanto, quando o produto é submetido a temperaturas fora de sua faixa fisiológica aceitável, seu metabolismo é alterado e seus tecidos são danificados. Existe uma temperatura mínima de segurança (TMS), abaixo da qual ocorrerão distúrbios fisiológicos em frutos tropicais, como é o caso do abacaxi, cuja TMS está situada entre 7 e 12°C. Embora o uso de baixa temperatura seja um fator importante na redução das perdas pós-colheita, em alguns casos apenas o abaixamento da temperatura não é suficiente para prolongar a vida útil pós-colheita e evitar mudanças indesejáveis na qualidade (Bleinroth, 1987).

De acordo com Garcia et al. (1996), o armazenamento e transporte do abacaxi deve ser realizado em condições de umidade relativa que varia de 85 a 90% e temperatura de 7 a 13°C, apresentando, dessa forma, vida útil de 2 a 4 semanas. Em geral, os frutos são dispostos na embalagem em posição vertical, mas também podem ser dispostos na posição horizontal, alternando fruto e coroa. O número de frutos por embalagem vai depender do tipo ou classe, sendo o mais usado no mercado importador, um número de 8 frutos no caso do tipo A (>1,5 kg), 12 para o tipo B e C (0,8-1,5 kg) e 20 frutos para o tipo D (<0,8kg). As embalagens sugeridas para exportação é a de papelão ondulado tipo normal (0201), com frutos na vertical, e a telescópica, com frutos na horizontal.

Os distúrbios fisiológicos ocasionados pelo frio, também conhecido como "*chilling*", diferem do congelamento porque não formam cristais de gelo nas células, e sim alterações metabólicas que conduzem a diferentes sintomas, detrimenais à qualidade dos produtos e, conseqüentemente, à sua comercialização. A partir do momento em que o produto é submetido à temperatura abaixo do nível crítico, o distúrbio é inevitável, mas a velocidade de ocorrência dos sintomas é variável, dependendo da temperatura, tempo de exposição e estágio fisiológico e metabólico do tecido (Wang, 1994). Esses distúrbios são resultados do efeito das baixas temperaturas nas membranas celulares. Os lipídios que fazem parte das membranas e participam de seu estado físico-químico são flexíveis e fluido cristalinos nas temperaturas superiores àquelas que provocam o "*chilling*". Quando a temperatura fica abaixo da crítica, os lipídios mais saturados mudam de fase e tornam-se gelatinosos e firmes. Essa mudança provoca uma separação de fases em certas áreas das membranas e afeta consideravelmente suas propriedades físicas, químicas e bioquímicas e sua

integridade, alterando vários processos tais como: transferência de substratos, atividade de enzimas, transferência de sais e ions, etc (Awad, 1993).

O abacaxi é, assim como a maioria dos produtos de origem tropical, muito sensível a baixas temperaturas, desenvolvendo sintomas característicos de "*chilling*". Um dos principais problemas apresentados pelo abacaxi, durante e após o armazenamento ou transporte, é o distúrbio fisiológico causado pela exposição a baixas temperaturas, que é denominado escurecimento interno ("*bruissement interne*" ou "*internal browning*") (Swete Kelly e Bagshaw, 1993 e Paull, 1993). Esse sintoma tem sido constatado em todos os países que produzem e exportam o abacaxi. Os sintomas são caracterizados pelo aparecimento de pequenas manchas escuras no ponto de inserção dos frutinhos, ao longo do cilindro central, que corresponde a uma degradação do tecido, revelada pelo aumento de translucidez e de sua condutividade elétrica. As partes afetadas estendem-se progressivamente ao longo do cilindro central, podendo, em estágios mais avançados da injúria, invadir toda a polpa do fruto (Teisson, 1979; Py, Lacoeyllhe e Teisson, 1984 e Kader, 1992).

O desenvolvimento dos sintomas de escurecimento interno pode ser dividido em duas fases: a primeira, ocorre durante o armazenamento em temperaturas de "*chilling*" e não possui sintomas evidentes, a segunda fase desenvolve-se a partir da remoção das baixas temperaturas para a temperatura ambiente (20 a 25° C), quando, então, os sintomas se tornam visíveis. Enquanto os frutos permanecem em baixas temperaturas, o distúrbio pode levar mais tempo para ser evidente, embora mudanças nos processos metabólicos já estejam se processando (Teisson, 1979).

Nenhum sintoma da desordem pode ser evidenciado externamente, e o fruto afetado, portanto, não pode ser selecionado sem que se avalie a polpa

(Teisson, Martin-Prevel e Combres, 1978; Smith, 1983). O aparecimento dos sintomas pode demorar alguns dias, devido à lenta acumulação de compostos fenólicos e baixa atividade da polifenoloxidase (Vanlelyveld e De Bruyn, 1977). De acordo com Akamine et al. (1975), Wang (1990) e Abreu (1991), os sintomas de escurecimento interno no abacaxi manifestam-se após o quarto dia da retirada dos frutos da câmara fria e, subsequente exposição em temperaturas de "nonchilling". Já Teisson (1972) verificou o aparecimento dos sintomas após o terceiro dia. Abreu (1995) observou sintomas de escurecimento interno ainda mais precocemente, no segundo dia após a retirada dos frutos das condições de refrigeração. Ocasionalmente, há injúrias de "chilling" nos frutos ainda no campo, durante os meses de inverno intenso, como acontece na Austrália, Tailândia e África. Há relatos de ocorrência de injúrias em temperaturas abaixo de 21°C (Smith, 1983), mas a temperatura crítica situa-se abaixo de 10 a 12°C (Paull e Rohrbach, 1985).

A sensibilidade ao escurecimento interno está estreitamente ligada à composição química do fruto. Sabe-se que condições climáticas, estádios de maturação, peso do fruto, diferenças varietais e nutrição mineral exercem influência acentuada na composição química do abacaxi, com conseqüente efeito no grau de escurecimento interno dos frutos (Py, Lacoeyllhe e Teisson, 1984; Dull, 1971; Vukomanovic, 1988; Botrel, 1991 e Carvalho et al., 1994).

### 2.3 Composição físico-química e química do abacaxi

O abacaxi recém-colhido apresenta, em média, 80% de água, 12 a 15% de açúcares, 0,6% de ácidos, 0,4% de proteína, 0,5% de cinzas, 0,1% de gordura, algumas fibras e vitaminas, principalmente A e C (Salunke e Desai, 1984). A sacarose representa, em média, 66% dos açúcares, correspondentes a teores de

5,9 a 12%, sendo, no abacaxi, muito mais importante que os açúcares redutores (glicose 1-3,2% e frutose 0,6-2,3%). Ressaltando-se, ainda, que o abacaxi é um dos frutos que apresenta maior teor de sacarose. Por outro lado, o amido apresenta-se em valores mínimos (0,002%), Dull (1971). De acordo com Kader (1992), durante a maturação os abacaxis aumentam, principalmente em peso, sólidos solúveis e pigmentos carotenóides, até os frutos adquirirem qualidade comestível.

De um modo geral, a acidez varia de 0,6 a 1,62% no abacaxi e os resultados são expressos como porcentagem de ácido cítrico. Na polpa, a acidez aumenta da base para o ápice (topo), no decorrer da maturação e a um mesmo nível de altura e, também, mais acentuada na região próxima à casca comparada à região do cilindro central. Na literatura, são citados teores de acidez de 4mg/ml para a região do cilindro central e 10mg/ml para a região periférica (Dull, 1971).

Segundo Sgarbiere (1966), a consistência da polpa do abacaxi depende do conteúdo de certos constituintes carboidratos de elevado peso molecular, tais como: hemicelulose, pectinas e protopectina. As pectinas correspondem a uma cadeia linear de ácido poligacturônico, unidas por ligações  $\alpha,1-4$  de ácido galacturônico, esterificados ou não, cuja linearidade é interrompida pela inserção de resíduos de ramnose, aos quais se ligam cadeias de açúcares neutros, principalmente arabinose e galactose (Fishman, 1992). Os grupos carboxílicos livres podem também estar ligados ao cálcio, formando pectato de cálcio, que é insolúvel em água e também denominada de protopectina. As pectinas encontram-se nos frutos em formas diversas, caracterizadas por diferentes solubilidades, dependendo do estágio de maturação, cada uma apresentando-se com possíveis funções na textura. Com o amadurecimento dos frutos, há predominância das formas solúveis, resultantes da ação de enzimas que estão envolvidas na

modificação da textura, como a poligalacturonase e pectinametilsterase (Lyons, 1973).

A polpa do abacaxi é constituída de provitaminas lipossolúveis (caroteno) e vitaminas hidrossolúveis, tais como; riboflavina, nicotinamida, ácido ascórbico e ácido pantotênico. As vitaminas são, portanto, representadas em bom número, porém, em quantidades pequenas (Bleinroth, 1987).

O abacaxi não possui alto teor de ácido ascórbico (vitamina C), entretanto, seus níveis são bastante importantes, pois eles têm sido associados à intensidade dos sintomas de escurecimento interno. O ácido ascórbico é o inibidor natural do escurecimento interno, devido à sua capacidade antioxidante, e seus níveis variam com a cultivar, peso do fruto, estágio de maturação e nutrição mineral. O mecanismo de inibição pelo ácido ascórbico pode ocorrer através da redução da ortoquinona ao substrato fenólico original, impedindo sua polimerização que leva à formação de pigmentos escuros, ou agindo diretamente sobre a atividade das enzimas responsáveis pelo distúrbio inibindo-as. Os frutos afetados pelo escurecimento interno apresentam menores teores de ácido ascórbico e essa diminuição precede a aparição dos sintomas (Teisson, 1972 e 1979).

Foi constatado que, apesar do baixo conteúdo de lipídeos na fruta, esses componentes exercem uma função muito importante na manutenção da textura, do "flavor" e dos demais componentes químicos (Mattoo et al., 1975).

#### **2.4 Modificações químicas durante a maturação e após a refrigeração**

Durante a maturação do fruto, uma série de mudanças químicas e bioquímicas acontecem tornando-o mais palatável. A maturação é a etapa intermediária entre o final do desenvolvimento e o início da senescência, sendo um

processo irreversível; porém, pode ser retardado com a utilização de métodos adequados, tais como a refrigeração. Entretanto, transformações bioquímicas também ocorrem durante o armazenamento refrigerado, influenciando na qualidade final do produto.

#### **2.4.1 Compostos fenólicos e fenilalanina amônio liase(FAL)**

A estrutura fenilpropanóide  $C_6C_3$  é muito importante em frutos, pois constitui a unidade básica construtora dos fenólicos. Quase todos os fenólicos são formados a partir do fosfoenolpiruvato (PEP) e eritrose-4-P, através da via do ácido shiquímico. O aminoácido aromático fenilalanina é um intermediário central que é desaminado e hidroxilado, resultando no ácido *p*-hidroxicinâmico. Esse ácido é precursor de inúmeros compostos encontrados naturalmente no tecido vegetal, como a lignina, flavonóides e outros compostos fenólicos. A enzima que cataliza essa reação é a fenilalanina amônio liase, intensamente estudada no metabolismo de plantas, devido à sua importância na biossíntese de fenilpropanóides (Rhodes, 1983).

Os compostos fenólicos estão largamente distribuídos em plantas e são proeminentes em frutos, nos quais exercem influência na cor, flavor e resistência, Van Buren (1970). Esses compostos e seus precursores têm sido associados aos distúrbios causados pelas baixas temperaturas em várias espécies vegetais. A refrigeração induz modificações nos compostos fenólicos, que podem agir como substratos, co-fatores ou inibidores da atividade enzimática, Lacoeyllie (1982). Os compostos fenólicos são importantes, pois o escurecimento nos frutos envolvem monofenóis, os quais são orto-hidroxilados (atividade cresolásica) e também oxidados para orto-quinonas (atividade catecolásica), resultando em

pigmentos escuros. Ambas as reações utilizam o oxigênio molecular. Os pigmentos escuros formados pela oxidação de ortoquinonas não contém nitrogênio e, portanto, são diferentes das melaninas (Miller, 1951; Van Lelyveld e De Bruyn, 1977; Paull e Rohrbach, 1985).

No abacaxi, o maior conteúdo de compostos fenólicos nas formas solúveis presentes nos frutos verdes tem sido associado à maior suscetibilidade ao escurecimento interno, quando comparados aos maduros (Miller, 1951; Miller e Heilman, 1952; Pantástico, 1975; Teisson, 1979). Foi verificado por Van Lelyveld e De Bruyn (1977) que os frutos com escurecimento interno apresentaram maiores teores de fenólicos que os frutos sadios, destacando-se, em ordem de significância quantitativa, o ácido p-cumárico, ácido caféico, ácido ferrúlico e compostos derivados do ácido cinâmico.

A atividade da enzima fenilalanina amônio liase aumenta quando várias espécies vegetais são injuriadas por temperaturas de “*chilling*” e os exemplos incluem tomate, maçã, batata e batata-doce, sendo também sugerido para o abacaxi (Graham e Paterson, 1972; Paull e Rohrbach, 1985). Em estudos realizados por Vukomanovic (1988) e Abreu (1995), os abacaxis com maior índice de escurecimento interno apresentaram, além de maiores teores de fenólicos, maior atividade da enzima fenilalanina amônio liase.

Os abacaxis amarelos, em geral, são mais ricos em compostos fenólicos, por isso são mais sujeitos ao distúrbio de *chilling* (Teisson, 1979). Foi observado por Goldstein e Swain (1963) que o aumento de compostos fenólicos nos frutos com escurecimento se dá em função da própria defesa à injúria. Abreu (1991, 1995) e Botrel (1991) encontraram maiores quantidades de fenólicos nos frutos mais suscetíveis ao escurecimento interno.



#### 2.4.2 Polifenoloxidase e peroxidase

Existem numerosas enzimas oxidativas que promovem alterações nos alimentos. Nos vegetais, a peroxidase, ácido ascórbico oxidase, tirosinase e polifenoloxidase podem causar reações químicas não desejáveis. O escurecimento dos tecidos de frutos se dá principalmente pela oxidação enzimática dos compostos fenólicos, reação essa catalisada por duas enzimas: a polifenoloxidase e a peroxidase (Braverman, 1967; Teisson, 1979).

A enzima peroxidase, ao combinar com o peróxido de hidrogênio, produz um complexo ativado que pode reagir com uma grande variedade de moléculas doadoras. Algumas dessas reações causam mudanças indesejáveis no flavor, aroma e cor, ocorrendo também perda de nutrientes e a coloração escura. A acumulação dos produtos das reações das peroxidases pode ocorrer durante a senescência dos frutos. A formação desses produtos, desde seu início até o fim, produz radicais livres que, provavelmente, causam danos nas organelas e membranas. Esses radicais também podem reagir com outros compostos que removem o hidrogênio, além de uma variedade de reações adicionais (Hemeda e Klein, 1990).

Das três classes de peroxidases existentes, as que incluem as plantas superiores são as peroxidases ferriprotoporfirínicas, que possuem ferriprotoporfirina III ( $Fe^{+++}$ ) como grupo prostético: Essa realiza reações oxidativas, podendo ter como substrato o ácido ascórbico na presença de oxigênio. O estudo dessa enzima é de grande importância, pois ela pode interferir na qualidade dos produtos tanto para indústria como para consumo "in natura", podendo até mesmo influenciar na deterioração de alimentos quando armazenados à temperatura de congelamento, por desenvolver sabores e odores indesejáveis nos produtos (Lee e Hammes, 1979).

A peroxidase também está associada ao mecanismo de autoproteção da planta através da formação de lignina. Essa enzima protege os tecidos contra os efeitos do  $H_2O_2$  formado durante o metabolismo celular. No entanto, a atividade da enzima pode levar à destruição da vitamina C e a descoloração de carotenóides e antocianinas, além de catalisar a degradação não enzimática de ácidos graxos insaturados, com a conseqüente formação de compostos voláteis, estando, por esse motivo, relacionado ao aparecimento de “flavor” estranho durante o armazenamento dos produtos. Tem pH ótimo de 3 a 7 e, como inibidor principal, o metabissulfito, o qual tem ação na destruição do  $H_2O_2$ , bloqueando a atividade pela manutenção do substrato (doador de hidrogênio) na sua forma reduzida (Araújo, 1995).

Quando o fruto é exposto a temperaturas de “chilling”, ocorre o rompimento da membrana celular, liberando as enzimas que entram em contato com o substratos fenólicos, havendo, assim, uma oxidação descontrolada dos mesmos com utilização do oxigênio molecular. A função mais importante da polifenoloxidase é a 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). As orto-quinonas formadas podem interagir com grupos amina e tiol, reduzindo a disponibilidade de lisina, metionina, tiamina e outros nutrientes essenciais. Os substratos mais comuns em tecidos vegetais são a tirosina e o ácido clorogênico (Reed, 1975; Araújo, 1995).

A polifenoloxidase é encontrada praticamente em todos os tecidos vegetais; concentrações especialmente altas são apresentadas por cogumelos, batatas, pêssegos, maçãs, banana, manga, folhas de chá, abacate e café. Sua atividade pode variar em função da espécie, variedade, estágio de maturação,

condições de cultivo e mesmo com as práticas de manuseio e armazenamento adotadas. Estima-se que 50% das perdas de frutas tropicais no mundo deve-se à sua ação, resultando na formação de pigmentos escuros, proporcionando mudanças indesejáveis na aparência e nas características organolépticas dos produtos. Embora indesejável na maioria dos casos, em virtude da alteração da coloração, perda de nutrientes e formação de sabor indesejável, o escurecimento oxidativo em chá, café, cacau, ameixa seca, cerveja é desejável (Fenema, 1993).

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 uma combinação específica destes fatores (Esckin, Henderson e Townsend, 1971).

A polifenoloxidase ocorre em formas múltiplas. Essas formas denominadas isoenzimas apresentam diferenças em suas propriedades físicas, químicas e cinéticas como, por exemplo, mobilidade eletroforética, especificidade pelo substrato, pH ótimo, temperatura ótima, efeito inibidor de diversos agentes. O pH para a atividade ótima da polifenoloxidase varia com a fonte (espécie e variedade), grau de maturação, substrato doador, composição de isoenzimas, pureza da enzima e solução tampão utilizada. Na maioria dos casos, este valor situa-se entre 4 e 7. Quanto à temperatura ótima de atividade da enzima, essa tem sido bem menos investigada. Os resultados, até então obtidos, indicam que a temperatura ótima depende essencialmente dos mesmos fatores que o pH. Como exemplo, a polifenoloxidase de batata, utilizando como substrato o catecol, tem sua atividade máxima a 22°C (Fenema, 1993).

Vários trabalhos confirmaram que os abacaxis menos sensíveis ao escurecimento interno apresentaram menores atividades dessas enzimas;

sobretudo da polifenoloxidase, quando comparados aos mais suscetíveis (Botrel, 1991; Abreu, 1991; Vukomanovic, 1988).

Existem muitos inibidores da atividade da polifenoloxidase, os quais são caracterizados por propriedades anti-oxidantes, destacando-se, entre eles, o ácido ascórbico, cisteína, glutatona e o 2-mercaptobenzotiazol, que é o inibidor mais efetivo da polifenoloxidase em banana (Wheatley, 1982). Para o abacaxi, de acordo com Das, Bhat e Gowda (1997), o ácido ascórbico é o inibidor mais efetivo da polifenoloxidase, seguido da cisteína e do metabissulfito de potássio.

A oxidação de fenóis pode resultar também da atividade da peroxidase, cuja oxidação se dá em presença de peróxido de hidrogênio (Wheatley, 1982; Awad, 1993; Dilley, 1979). Os distúrbios causados pelas baixas temperaturas em abacaxis, de acordo com Van Lelyveld e De Bruyn (1977), Teisson (1979) e Paull e Rohrbach(1985), parecem ser precedidos por uma solubilização das peroxidases; contudo, não observaram conexão com o escurecimento interno. Já Abreu (1991 e 1995), verificou que os frutos que apresentaram maiores índices de escurecimento interno também expressaram maiores atividades para a enzima peroxidase.

A partir de estudos e de conhecimentos básicos, tem-se procurado desenvolver métodos visando a prevenir ou a minimizar o escurecimento de vegetais através da inativação de enzimas, tais como a polifenoloxidase . Entre os métodos utilizados, destaca-se o tratamento hidrotérmico. Não obstante, a quantidade de calor requerido para inativar completamente as polifenoloxidases, freqüentemente resulta em perdas de sabor, aroma e textura. O tempo necessário para inativação da enzima pelo calor depende da quantidade da enzima presente no fruto e do tipo de fruto (Reed, 1975).

### 2.4.3 Ácido ascórbico e vitamina C total

A vitamina C é uma poderosa substância redutora e, por consequência, facilmente oxidada. A oxidação do ácido ascórbico acontece na presença de oxigênio molecular e, muitas vezes, o processo é acelerado na presença de metais, especialmente o cobre, que faz parte da estrutura de diversas enzimas. O armazenamento ou a cocção de produtos vegetais causam perdas da vitamina C em sua constituição (Braveman, 1967 e Roig, Rivera, Kennedy, 1993).

A vitamina C é encontrada largamente nos frutos e vegetais e recebe o nome de ácido ascórbico (forma reduzida), sendo o ácido L-ascórbico a sua forma principal e, biologicamente ativo. Após oxidar-se, o ácido ascórbico transforma-se em ácido dehidroascórbico, que também é ativo. Essa oxidação se dá pela ação da enzima ácido ascórbico oxidase (Braverman, 1967).

Segundo Eskin, Henderson e Townsend (1971), acredita-se que o modo de ação do ácido ascórbico de dê de três maneiras: 1) Sobre a fenolase, seqüestrando o metal. A polifenoloxidase precisa do cobre como grupo prostético para poder atuar, mas o ácido ascórbico, estando presente nos tecidos, vai seqüestrar o cobre da enzima, que fica inativada e, então, o escurecimento não ocorre. 2) Como redutor de quinonas produzidas pela polifenoloxidase ou peroxidase. O ácido ascórbico torna-se oxidado a ácido dehidroascórbico e as quinonas reduzidas, de modo que a polimerização da quinona e o escurecimento não podem ocorrer, pois esta tornou-se reduzida. c) Através do sistema de citocromo.

O conteúdo de vitamina C natural de muitos frutos depende de muitos fatores, incluindo variedades, estágio de maturação, condições de cultivo e época de colheita. Também a duração e as condições de armazenamento pós-colheita

podem influenciar de forma decisiva no conteúdo deste constituinte (Roig, Rivera e Kennedy, 1993).

O abacaxi não é um fruto rico em ácido ascórbico e suas concentrações realmente variam 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; Abreu, 1995).

No abacaxi, o ácido ascórbico apresenta-se em maior quantidade na parte superficial, logo abaixo da casca (Sgabieri, 1966). Foram observados por Miller e Hall (1953) maiores concentrações de ácido ascórbico e acidez titulável na porção apical do fruto, decrescendo progressivamente até a base, e que, a uma mesma altura do fruto, os teores de ácido ascórbico decrescem da região próxima à casca para do cilindro central. Diante disso, pode-se explicar o fato dos sintomas de escurecimento interno se manifestarem na região próxima ao cilindro central.

Diante do exposto, os níveis de ácido ascórbico têm sido associados à intensidade do escurecimento interno. Quando a concentração é suficientemente elevada, pode impedir o desenvolvimento dos sintomas nos prazos normais de comercialização (Lacoeuilhe, 1982). Vukomanovic (1988) e Abreu (1995) também verificaram que o ácido ascórbico, quando encontrado em concentrações elevadas, contribuiu para diminuir os sintomas de escurecimento interno em abacaxis cv. *Smooth Cayenne*. Botrel (1991), estudando abacaxis refrigerados de diferentes classes de peso, verificou que os frutos maiores, cujo teor de ácido ascórbico era menor, foram os mais sensíveis ao escurecimento interno.

#### 2.4.4 Pectinas e enzimas pectolíticas

As propriedades mecânicas e a resistência dos tecidos de frutos dependem das características estruturais do conglomerado celular. De acordo com Pantastico (1975), a textura depende da coesividade, tamanho, forma e turgidez das células que compõem o tecido. O componente mais resistente do tecido é a parede celular, que consiste de microfibrilas de celulose embebidas em uma matriz polissacarídica flexível. As células são mantidas unidas pela lamela média, constituída principalmente por substâncias pécnicas, que fornece a coesão necessária para manter a unidade estrutural do conglomerado. Como as pectinas contribuem para a resistência mecânica da parede celular e para a adesão entre células, qualquer modificação nas suas características resulta em alterações na textura dos frutos (Van Buren, 1979).

As pectinas de vários frutos e hortaliças variam em quantidade e qualidade, dependendo do vegetal e do estágio de maturação, podendo variar também seu teor de metoxilas, grau de polimerização, esterificação e, conseqüentemente, suas propriedades físicas (Brett e Waldron, 1990).

A solubilidade das pectinas está associada ao número de cadeias simples de ácidos galacturônicos que estão ligados entre si por ligações glicosídicas  $\alpha$  (1-4), resultando em maior ou menor peso molecular da pectina. Quanto maior o peso molecular da pectina menor a sua solubilidade (Sgarbieri, 1966).

Mudanças texturais provenientes do amadurecimento normal de frutos ou decorrentes de danos de qualquer natureza estão intimamente relacionadas à degradação de pectinas. Essas modificações envolvem a ação de enzimas capazes de degradar componentes específicos. A degradação da fração pécica nos frutos ocorre principalmente pela ação de duas enzimas: a poligalacturonase-PG e pectinametilsterase-PME (Lyons, 1973). A primeira catalisa a hidrólise de

ligações  $\alpha$  (1-4) entre dois resíduos adjacentes de ácido galacturônico, e a segunda promove a desmetilação na posição C<sub>6</sub> de resíduos de ácido metilgalacturônico. A PG é mais ativa na degradação de pectinas parcialmente desmetiladas. Portanto, a PME parece ter um papel importante para determinar a extensão na qual a pectina é acessível à degradação pela PG (Fisher e Bennet, 1991).

As pectinas estão relacionadas à injúria de “chilling”, via ativação das enzimas responsáveis pela degradação da fração péctica, como a PME e PG (Lyons, 1973). Em trabalhos realizados por Vukomanovic (1988) e Abreu (1995), verificou-se que os abacaxis mais sensíveis ao escurecimento interno apresentaram maiores valores de pectina solúvel, sendo também verificado maiores atividades da PG e PME pelo último autor, nesses mesmos frutos.

O papel do grau de esterificação das pectinas durante o amadurecimento tem sido questionado, uma vez que ainda não foi esclarecido se o aumento ou a diminuição pode explicar melhor o amaciamento e a solubilização de pectinas (Fisher, Arrigoni e Amadó, 1994). Um alto grau de esterificação leva à fraca interação iônica dos polímeros com cálcio e menor coesão na lamela média. Knee (1978a,b) observou, em maçãs, um aumento no grau de esterificação da pectina solúvel em água, sem alteração no grau de esterificação global da parede. Ele sugeriu que, durante o amadurecimento, a pectina da lamela média, uma vez degradada, pode ser substituída por uma nova, altamente esterificada. Por outro lado, uma diminuição no grau de esterificação poderia favorecer a ação da PG, que quebra ligações glicosídicas  $\alpha$ (1-4) adjacentes a resíduos não esterificados de ácido galacturônico. Entretanto, as correlações entre PG e PME ainda não estão completamente esclarecidas. Da mesma forma, até o presente, ainda não foram



explicadas as relações entre PME, grau de esterificação e amadurecimento (Fisher, Arrigoni e Amadó, 1994).

#### 2.4.5 Acidez e pH *Sum*

A acidez orgânica total, que é a soma de todos os ácidos orgânicos livres e aqueles presentes sob a forma de sais, tende a aumentar com o decorrer do crescimento do fruto até o seu completo desenvolvimento fisiológico, quando, então, começa a decrescer, à medida que ele vai amadurecendo. Esse declínio é favorecido pelas reações químicas, nas quais ocorre a oxidação dos ácidos orgânicos, com produção de gás carbônico e água (Sigrist, 1988). No início da formação do fruto, o conteúdo de ácido málico é superior ao do cítrico, mas com o decorrer do processo de maturação e, principalmente após o mesmo, o teor de ácido cítrico chega a ser cerca de três vezes maior que o do málico, contribuindo com 80% da acidez do fruto, enquanto o málico contribui com 20%. Bartolomé e Fúster (1995) encontraram valores de 0,85% para o ácido cítrico e 0,38% para o ácido málico para a cultivar *Smooth Cayenne*. A velocidade das reações químicas depende da temperatura, ocorrendo em menor grau durante o armazenamento refrigerado (Wankier, Salunke e Campell, 1970). A acidez é calculada com base no principal ácido presente, expressando-se o resultado em percentagem de acidez titulável total. No abacaxi, como já mencionado, o principal ácido presente é o ácido cítrico.

Alguns autores relacionam o distúrbio causado pelas baixas temperaturas no abacaxi com decréscimo na acidez dos frutos afetados. Paull e Rohrbach (1982), Teisson (1979) encontraram decréscimos significativos nos ácidos cítrico e málico nos frutos afetados pelo escurecimento interno,

respectivamente 10,0 e 1,1 meq/100ml de suco, quando comparados a 21,0 e 2,8 meq/100ml de suco para o ácido cítrico e málico nos frutos sadios.

Vukomanovik (1988), estudando o escurecimento interno em abacaxis refrigerados em vários estádios de maturação, verificou que o teor mais elevado de acidez titulável encontrado nos frutos em estágio intermediário de maturação contribuiu para decréscimos nos sintomas de escurecimento interno.

O potencial hidrogeniônico (pH) determina a concentração hidrogênioica da solução. Em abacaxis, os valores de pH oscilam no intervalo de 3,0 a 4,0 (Chadha et al., 1972) e Py, Lacoeuilhe e Teisson (1984). De acordo com Salunke e Desai (1984), a injúria causada pelo “*chilling*” em abacaxis está relacionada, entre outros fatores, a decréscimos de pH. Porém, Abreu (1991) encontrou acréscimos de pH nos frutos mais sensíveis ao escurecimento interno.

#### **2.4.6 Açúcares totais, redutores, não redutores e sólidos solúveis totais**

A diminuição da temperatura reduz os processos fisiológicos pós-colheita; no entanto, essa redução deve ser suficiente para manter as células vivas, preservando sua qualidade durante o período de armazenamento. Os principais substratos da respiração são os açúcares e os ácidos orgânicos. Estes últimos são produtos intermediários nos processos metabólicos e estão diretamente envolvidos no crescimento, maturação, amadurecimento e senescência dos frutos e vegetais. Entre as reações químicas que ocorrem durante a maturação, uma das mais proeminentes é a modificação dos carboidratos. Estes abrangem um dos maiores grupos de compostos orgânicos que desempenham importantes características na estrutura, sabor e valor nutricional dos frutos. Considerado como o mais importante substrato do metabolismo energético de plantas, os carboidratos sofrem mudanças qualitativas e quantitativas durante o

desenvolvimento, em decorrência da atividade enzimática, as quais podem também ser afetadas pelas condições de armazenamento (Huddar, Bharali e Thimaraju, 1988).

O amadurecimento, em geral, conduz a uma maior doçura, devido ao aumento nos teores de açúcares simples decorrentes de processos biossintéticos ou degrativos dos polissacarídeos presentes nos frutos.

Os principais açúcares solúveis presente nos frutos são a glicose, frutose e a sacarose. Os açúcares do abacaxi representam uma fração muito importante da parte comestível, são responsáveis pela doçura, pelo "flavor", através do balanço de ácidos, pela cor atrativa, como derivados das antocianinas e pela textura, quando combinados com polissacarídeos estruturais. A sacarose contribui com 66% dos açúcares presentes no abacaxi e os 34% restantes são representados pelos açúcares redutores, glicose e frutose (Bleinroth, 1987).

O aumento no teor de açúcares e a diminuição no teor de fenólicos e ácidos, associados à produção de compostos voláteis como aldeídos, cetonas, ésteres e álcoois, são responsáveis pelo agradável flavor do fruto quando maduro. Com as variações nos teores desses constituintes, atinge-se a qualidade comestível do fruto, que pode ser avaliada mediante análise sensorial, sólidos solúveis, odor e textura. O aroma é resultado de uma mistura complexa de vários compostos orgânicos que diferem individualmente, de acordo com sua estrutura molecular, solubilidade e volatilidade (Ramteke, Gipeson e Patwardhan, 1990).

Os teores de açúcares normalmente são representados pela porcentagem de sólidos solúveis, podendo diferir em seu conteúdo entre variedades, frutos de uma mesma variedade e até mesmo entre porções da polpa (Py, Lacoeuilhe e Teisson, 1984). Paull e Rohrbach (1982) observaram um leve aumento dos sólidos solúveis totais relacionado a uma redução no escurecimento interno, mas

no trabalho de Miller e Heilmann (1952) não foi observado diferença significativa entre os teores de sólidos solúveis de frutos sadios com os afetados pelo escurecimento interno.

A suscetibilidade do abacaxi ao escurecimento interno tem sido associada a uma baixa quantidade de açúcares totais e individuais (Paull e Rohrbach, 1985). As condições climáticas durante o cultivo têm papel preponderante nos teores de açúcares. Os frutos que iniciam o seu desenvolvimento no final do verão, quando a temperatura é elevada, apresentarão baixos teores de açúcares, uma vez que o amadurecimento destes frutos ocorre no inverno. Ao contrário, quando a maturação ocorre na primavera e início de verão, quando a luminosidade é alta, ocorre uma produção mais intensa de açúcares (Teisson, 1979).

Van Lelyveld e De Bryn (1976) verificaram que os abacaxis afetados pelo escurecimento interno apresentaram menor quantidade de açúcares totais e individuais quando comparado aos frutos sadios. Vukomanovic (1988) também observou uma diminuição nos teores de açúcares totais nos frutos com maior desenvolvimento de escurecimento interno. Já Botrel (1991) e Abreu (1995) não verificaram associação entre o índice de escurecimento interno e os teores de açúcares totais e individuais.

## 2.5 Tratamento hidrotérmico

A utilização de calor é um método que vem sendo estudado em vários tipos de frutos. Oferece a vantagem de apresentar baixo custo, necessitar de equipamento relativamente simples, natureza não tóxica e diversidade de benefícios. O calor é, geralmente, transferido a um produto pelo ar ou pela água. O conteúdo de água no ar influencia extremamente a transferência de calor e o ar úmido aquecido é mais eficiente em erradicar ou atenuar infecções imperceptíveis

causadas por fungos patogênicos. Entretanto, deve-se utilizar o tratamento térmico, quer seja isoladamente ou associado a fungicidas, criteriosamente, tendo em vista que a intensidade do calor requerida para controlar a doença é muito próxima, ao limite de injúria do hospedeiro (Eckert, 1977). Além do mais, podem ocorrer perda d'água elevada, escaldadura, descoloração, aumento de suscetibilidade à contaminação por microorganismos e conseqüente decréscimo na vida de armazenamento.

De acordo com Rodov et al. (1995), o tratamento hidrotérmico é fácil de ser implementado e pode ser combinado com procedimentos regulares no *packing house*. Evidencia-se que a origem do fruto pode influenciar a tolerância ao tratamento térmico. Os frutos tropicais podem ser mais tolerantes ao calor que frutos de zona temperada (Couey, 1989).

Um outro benefício obtido pelo tratamento térmico pré-armazenamento é a redução dos danos causados por outras desordens fisiológicas, incluindo injúria pelo frio. Akamine (1976) verificou que o escurecimento interno da polpa do abacaxi pode ser minimizado pela exposição dos frutos a 38°C por 24 horas, antes de serem armazenados ou transportados à temperatura de 10 a 12°C. Esse efeito benéfico se deve à inativação de enzimas responsáveis pela injúria. Ressalta-se, neste trabalho, que o tratamento térmico não afetou a coloração da casca do abacaxi, a perda de peso, o escurecimento da coroa, a senescência, a incidência de doenças, a translucidez e o aroma. Porém, a polpa apresentou uma coloração mais para o amarelo do que as frutas não tratadas.

McCollum et al. (1995) relataram que o tratamento hidrotérmico pode ser um método efetivo na redução das injúrias de "*chilling*", podendo ser mais adaptável às operações comerciais que o ar quente. McCollum e MacDonald (1992) constataram que o pepino suporta a imersão em água a 42°C por 30

minutos, e que tal procedimento aumenta a tolerância ao “chilling”. A sensibilidade ao “chilling” também foi reduzida em cítricos, quando utilizou-se o tratamento hidrotérmico a 53°C por 2 a 3 minutos, antes do armazenamento (Rodov et al., 1995).

Tratamentos pós-colheita a quente têm sido usados para controlar a podridão de frutos, Jones e Burton (1973). Imersão por 2,5 minutos, em água a 52°C, tem controlado efetivamente a podridão em pêssegos, causada por *Molinia fruticola* e *Rhizopus stolonifer*.

Para a manga, o tratamento hidrotérmico vem sendo utilizado em escala comercial no Brasil, com o objetivo de destruir insetos, larvas e ovos da mosca-das-frutas (*Ceratitis capitata* Wild). Para tanto, as mangas são mergulhadas a uma profundidade mínima de 12cm em relação à superfície da água, que é mantida à temperatura de 46,1°C durante 70 a 90 minutos, dependendo da cultivar e do peso. Para se controlar a antracnose, causada pelo fungo *Collectotrichum gloeosporioides* Penz, a água deve ser mantida constante a 55°C e os frutos submersos por 5 minutos (Gorgatti Netto et al., 1994).

A expansão da produção brasileira e o incremento da exportação de frutas frescas mostram a necessidade e o interesse de estudos básicos de preservação do fruto. Perante os resultados potenciais apresentados por diversos frutos, com a utilização do tratamento hidrotérmico, é plausível que se tente utilizá-lo para o abacaxi, a fim de contribuir para o aumento da sua vida útil, assim como minimizar as perdas ocasionadas pelo “chilling”.

## 2.6 Cálcio

O cálcio ocorre em tecidos na forma livre ou ligado a grupos carboxílicos, fenólicos e fosforílicos. A maior parte do cálcio nos tecidos encontra-se imobilizado no apoplasto, vacúolos ou em associação com as membranas e certas organelas, como mitocôndrias e cloroplastos (Hepler e Wayne, 1985).

O cálcio ligado à parede celular parece ser um fator importante no desencadear do processo de maturação; assim, um decréscimo no teor de cálcio ligado à parede celular facilita a produção de etileno e aumenta a permeabilidade das membranas, que são etapas essenciais da maturação (Ricardo, 1983).

A ação do cálcio em retardar a senescência, proporcionar uma textura mais firme aos frutos e a outros órgãos vegetais, conferindo-lhes maior resistência às injúrias de natureza fisiológica, microbiana e mecânica, é devida, segundo Bramlage, Drake e Lord (1980), à sua influência na permeabilidade e manutenção da integridade celular, assim como na atividade energética da membrana celular. Os teores de cálcio na célula, sua distribuição celular e os níveis de cátions competidores podem influenciar acentuadamente a relação ADP/ATP e, conseqüentemente, a taxa respiratória.

Quando há deficiência de cálcio ou senescência do fruto, a membrana torna-se mais viscosa e perde sua seletividade a minerais e outros solutos. O aumento da polarização da membrana é devido ao aumento da microviscosidade, levando à descompartimentalização pela ruptura da membrana. O cálcio é extensivamente associado à regulação do amadurecimento de frutos. Especificamente, a manutenção de concentrações de cálcio, relativamente altas nos tecidos dos frutos, resulta em retardamento do amadurecimento e amaciamento da polpa, baixas taxas respiratórias e baixa produção de etileno

(Lurie e Klein, 1992). Frutos com teores mais elevados de cálcio amolecem mais lentamente (Poovaih, 1986).

A importância do cálcio na manutenção da qualidade pós-colheita de frutos têm sido bastante estudada, com obtenção de excelentes resultados. O cálcio atua formando ligações covalentes entre as moléculas de pectina da parede celular e da lamela média, formando pectato de cálcio, o qual limita a ação de enzimas como a pectinametilsterase e poligalaturonase e, conseqüentemente, o amolecimento dos frutos. Em trabalhos realizados com maçãs e tomates, foi verificado menor atividade dessas duas enzimas nos frutos com teores mais elevados de cálcio. O cálcio também atua inibindo a conversão do ácido 1-aminociclopropanocarboxílico (ACC) para etileno (Mattoo e Suttle, 1991; Shear, 1975). Em trabalho de Zambrano e Manzano (1995), foi verificado a influência do cálcio sobre a maturação e conservação de mangas após a colheita, constatando-se que a aplicação de cálcio prolongou o tempo de armazenamento dos frutos por, aproximadamente, uma semana, retardando o processo de maturação e reduzindo as perdas pós-colheita.

No abacaxi, o cálcio aplicado na pré-colheita pode exercer influência na resistência a doenças, diminuindo a incidência de fusariose e de mancha-negra, causadas pelos fungos *Fusarium moniliforme* e *Penicillium funiculosum*, respectivamente, em razão de sua ação na resistência da parede celular. Na deficiência desse elemento, os frutos ficam com a aparência gelatinosa, com ausência de cor e a frutificação é prematura (Py, Lacoeyilhe e Teisson, 1984).

Uma grande variedade de desordens tem sido associada à deficiência de cálcio, e esses problemas surgem após a colheita e durante o armazenamento, sendo os frutos, as raízes tuberosas, os tubérculos e as estruturas foliares compactas, tais como, alface e couves-de-bruxelas os produtos mais atingidos.



Freqüentemente, essas desordens envolvem a degradação de tecidos específicos, enquanto que outras partes permanecem intactas. A maioria dos sintomas de deficiência mineral em frutos, normalmente é atribuída ao cálcio, devido a sua baixa mobilidade através do floema. Com isso, o aumento dos níveis de cálcio nos tecidos podem reduzir as desordens fisiológicas (Ricardo, 1983 e Carvalho e Chalfoun, 1991).

Visando a controlar as desordens fisiológicas de maçãs, através do aumento de níveis de cálcio nos frutos, foi constatado que pulverizações com sais de cálcio nas plantas e sua absorção pelos frutos são altamente efetivas, enquanto que o incremento de cálcio nos frutos, via aplicação no solo, é menos eficaz (Scoot e Wills, 1975). Resultados de pesquisa têm demonstrado que a incidência de "black heart" em vegetais tem sido controlada por pulverizações foliares de nitrato e cloreto de cálcio (Shear, 1975).

Sharples e Johnson (1977) demonstraram, em macieiras, que a aplicação de sais de cálcio (nitrato de cálcio a 1%) pulverizados em intervalos de 28 dias, eliminou a incidência de "lenticel blotch" e "senescent breakdown" e uma redução parcial de "bitter pit" nos frutos. Já Perring e Jackson (1975) verificaram o efeito de infiltrações de sais de cálcio nos frutos e constataram que, quando a concentração de cálcio nos frutos foi aumentada de 3,3 para 15,0 mg/100g, os frutos não apresentaram "bitter pit" e "senescent breakdown" e tornaram-se mais firmes e verdes após 12 semanas de armazenamento a 3,5°C, comparadas aos frutos-controle.

Os tratamentos pós-colheita com cálcio em maçãs, pêssegos e batatas têm diminuído as desordens fisiológicas, "pitting", senescência e amolecimento do fruto durante o armazenamento refrigerado (Conway e Sams, 1987; Hardenburg e Handerson, 1981). De acordo com Wang (1990), o efeito do cálcio em reduzir a

injúria causada por “*chilling*” varia com o fruto e a concentração de cálcio utilizada.

Gerasopoulos, Chouliaras e Lionakis (1996) observaram um proporcional aumento na concentração de cálcio em kiwis pulverizados com 0,375; 0,75; 1,125; 1,5%  $\text{CaCl}_2$  na fase pré-colheita, exibindo também maior firmeza, maior acidez, menor sólidos solúveis e, conseqüentemente, aumento na sua vida útil.

A qualidade de pêssegos armazenados a 3°C durante 7 semanas, após aplicações pré e pós-colheita de  $\text{CaCl}_2$ , foi determinada por Ochei, Basiounyc e Woods (1993), que observaram aumentos no conteúdo de cálcio, firmeza, sólidos solúveis, redução na acidez e maior vida pós-colheita.

Burns e Pressey (1987) observaram que a maior parte do cálcio introduzido em tecidos de frutos acumula-se no complexo parede celular-lamela média. Rigney e Wills (1981), medindo o teor de cálcio nesse complexo durante o amadurecimento de tomates, constataram que a solubilização do cátion coincidia com estádios iniciais do amadurecimento.

A membrana celular é altamente impermeável ao cálcio, que para ser transportado, necessita da ativação da bomba de cálcio. Assim, o cálcio deve-se ligar a um receptor protéico não enzimático chamado calmodulina. Quatro íons de cálcio ligam-se à calmodulina, causando sua mudança conformacional, ativando-a e tornando-a capaz de reconhecer o receptor protéico enzimático, ligando-se a ele e, conseqüentemente, desencadeando uma resposta. Enzimas como a Ca-ATPase, NAD-Kinase, fosfato sintetase são ativadas dessa forma. Uma vez ativada, a calmodulina pode influenciar no processo celular direta ou indiretamente. Estudos com maçãs armazenadas mostraram que os níveis de cálcio e calmodulina regulam a fosforilação de diferentes proteínas, afetando os

estádios de amadurecimento do fruto (Poovaih, 1986 e Malavolta, 1989).

O cálcio é essencial na estrutura, função da parede celular e membranas. De acordo com Poovaih (1988), concentrações de 1 a 5 mM ocorrem na região da parede celular. Essas concentrações são essenciais para proteger a membrana plasmática e manter a integridade estrutural da parede celular. O cálcio desempenha um papel especial na manutenção da estrutura da parede celular de frutos e outros órgãos de armazenamento, através da interação com o ácido pectico para formar pectato de cálcio. Sams et al. (1993) ressaltaram que a formação de ligações cruzadas de cálcio e ácidos urônicos pode tornar a parede celular menos acessível a enzimas pectolíticas, que são responsáveis pelo amadurecimento dos frutos, ou então, a enzimas degradadoras da parede celular, que são produzidas por patógenos fúngicos. Rigney e Wills (1981) apresentaram a hipótese de que a solubilização do cálcio facilita a ação da poligalacturonase, resultando na degradação da parede celular, ativando, por sua vez, o sistema de produção de etileno. Há evidências de que o mecanismo molecular de ação do cálcio no amadurecimento e senescência dos frutos é, em parte, devido ao seu efeito na integridade de membranas (Paliyath e Droillard; 1992; Lester, 1995, 1996).

A proporção de  $\text{Ca}^{2+}$  ligado à parede celular parece ser um fator importante no decorrer do processo de maturação. Em tomates, o  $\text{Ca}^{2+}$  total do pericarpo mantém-se constante ao longo do desenvolvimento, verificando-se, no entanto, um decréscimo na razão Ca ligado/Ca livre, à medida que a maturação se aproxima (Ricardo, 1983). Nos tomates mutantes, nos quais o amadurecimento não acontece, essa razão e o teor de cálcio total aumentam marcadamente (Poovaiiah e Nukaya, 1979). Em abacaxis, Vilas Boas et al. (1996) verificaram que o cálcio foi eficientemente absorvido pela parede celular, com a aplicação de

**CaCl<sub>2</sub> a 42°C, contribuindo para manutenção do grau de esterificação e níveis de substâncias pécticas; porém, sem modificações relevantes nos teores de celulose, hemicelulose e proteínas da parede celular.**

**Em frutos tratados com cálcio na pós-colheita, a penetração desse elemento se dá principalmente através de lenticelas (Glenn, Poovaiah e Rasmussen, 1985); entretanto, fendas na cutícula e epiderme podem, também, favorecer a sua absorção pela polpa do fruto. Segundo Clements, 1935, citado por Roy et al. (1994), em maçãs, as fendas cuticulares podem ser importantes para penetração de cálcio na fase pós-colheita.**

**Os tratamentos pós-colheita que visam a aumentar o teor de cálcio em frutos e hortaliças podem ser realizados por meio de imersões, pulverizações e infiltrações sob pressão reduzida. Além disso, diferentes compostos e formulações comerciais, contendo cálcio, podem ser utilizados. Glenn e Poovaiah (1985), estudando a permeabilidade cuticular a formulações contendo cálcio, em maçãs 'Golden Delicious', verificaram maior efetividade do cloreto de cálcio, quando comparado a outras formas testadas e, ainda, que a temperatura mais elevada da solução favorecia ainda mais a penetração do elemento cálcio. Com respeito à técnica de aplicação de cálcio nos frutos, Zambrano e Manzano (1995) aconselham a de imersão, uma vez que técnica de infiltração pode danificá-los. Wills e Mahendra (1989) verificaram que a infiltração a vácuo de uma solução de cálcio, a 2% em pêssegos não maduros, retardou o tempo de amadurecimento a 20°C, aumentando a sua vida útil em cerca de 30%; porém, induziu a injúrias na casca.**

**Há relatos da associação de tratamento hidrotérmico e aplicação de cálcio em outros frutos, tais como pêssegos 'Biuti' (Holland, 1993), nos quais a absorção do cálcio foi mais eficiente quando os frutos foram imersos numa**



solução de cloreto de cálcio a 49°C. Lurie e Klein (1992) observaram excelentes resultados quando se utilizou-se como tratamento pós-colheita de maçãs, cloreto de cálcio a 3% em solução aquecida a 38°C, observando-se maior firmeza, com menor teor de pectina solúvel e maior de pectina insolúvel na parede celular.

Trabalho recente foi realizado por Botrel et al. (1996) com abacaxis, no qual se avaliou a influência do  $\text{CaCl}_2$  em 4 concentrações (0, 1, 2 e 3%), associado ao tratamento hidrotérmico (42°C) por um tempo de imersão de 30 minutos sobre o escurecimento interno da polpa. A utilização de  $\text{CaCl}_2$  demonstrou-se um efetivo tratamento na redução do escurecimento interno, porém apresentou uma importante restrição: houve depreciação do produto pela manifestação de injúrias na casca e ressecamento da coroa.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Origem, colheita e transporte dos frutos**

Foram utilizados abacaxis, cultivar *Smooth Cayenne*, provenientes do município de Prata, Estado de Minas Gerais, situado a 19°18'32" de latitude sul, e 48°55'32" de longitude, a uma altitude de 603m. A precipitação média anual é de 1300mm e a temperatura média do ar de 23°C. De acordo com a classificação de Koppen, o clima da região classifica-se no tipo Aw. O solo onde foram coletados os frutos é do tipo Latossolo Amarelo Distrófico, com textura média.

A colheita foi realizada em 17 de dezembro de 1996, sendo os frutos colhidos no estádio de maturação 2, conforme descrito por Giacomelli (1982), ou seja, região basal do fruto amarela, sem atingir, porém, mais que duas fileiras de olhos; foram escolhidos abacaxis com tamanho uniforme e peso médio de 1.700 kg. Os frutos foram transportados até o Laboratório de Produtos Vegetais do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

#### **3.2 Seleção dos frutos, formação dos tratamentos e armazenamento**

Foram selecionados 400 frutos, com eliminação dos doentes, injuriados e mal formados. Esses frutos foram divididos em grupos de 10, os quais compuseram a parcela experimental com quatro repetições. Foram avaliadas quatro parcelas de 10 frutos, a fim de se obter uma amostra padrão no dia da colheita. Os demais frutos foram submetidos aos seguintes tratamentos:

- 1 - Controle (sem tratamento);

2 - Imersão em água (à temperatura ambiente (23,85°C) por 10 minutos (SCa10);

3 - Imersão em água à temperatura ambiente (23,85°C) por 20 minutos (SCa20);

4 - Imersão em solução sem aquecimento, contendo cloreto de cálcio a 2%, por 10 minutos (CCa10);

5 - Imersão em solução sem aquecimento, contendo cloreto de cálcio a 2%, por 20 minutos (CCa20);

6 - Imersão em solução a 38°C, contendo cloreto de cálcio a 2%, por 10 minutos (CCa38°C10);

7 - Imersão em solução a 38°C, contendo cloreto de cálcio a 2%, por 20 minutos (CCa38°C20);

8 - Imersão em solução a 40°C, contendo cloreto de cálcio a 2%, por 10 minutos (CCa40°C10);

9 - Imersão em solução a 40°C, contendo cloreto de cálcio a 2%, por 20 minutos (CCa40°C20).

A água utilizada na execução dos tratamentos apresentou uma temperatura natural de 23,85°C e 8,8 mg de cálcio/litro. A solução contendo cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) a 2% apresentou uma concentração de cálcio de 52,76 mg/l (43,96mg/l + 8,8 mg/l). Os frutos, após a realização dos respectivos tratamentos, receberam um corte no pedúnculo, com posterior tratamento desses pedúnculos em uma solução contendo Benomyl a 4000 ppm, a fim de protegê-los contra podridão negra causada pelo fungo *Ceratocystis paradoxa*. Em seguida, foram armazenados em câmara fria a 9°C  $\pm$  2 e umidade relativa de 90%  $\pm$  3 por um período de 15 dias. Após terem sido retirados das condições de armazenamento refrigerado, os frutos foram colocados em temperatura ambiente

por 7 dias, afim de se avaliar os sintomas de escurecimento interno. As condições ambientais apresentaram temperatura média de 21°C e 75% de umidade relativa, registrados por termohigrógrafo.

### **3.3 Avaliações realizadas nos frutos**

#### **3.3.1 Escurecimento interno**

Foram avaliados o número de frutos afetados e o índice de escurecimento interno.

##### **3.3.1.1 Número de frutos afetados**

Os frutos foram descascados e cortados longitudinalmente, contando-se o número de frutos afetados em cada parcela experimental.

##### **3.3.1.2 Índice de escurecimento (IE)**

Multiplicou-se a porcentagem de área afetada pela intensidade do escurecimento interno (EI) apresentada em cada fruto.

$$IE = \% \text{ de área afetada} \times \text{intensidade de EI}$$

Para se avaliar a porcentagem de escurecimento interno, utilizou-se o seguinte método topográfico: os frutos foram descascados e cortados longitudinalmente, os contornos das manchas provenientes do escurecimento interno da polpa de cada fruto foram copiadas em folhas transparentes, com auxílio de uma caneta apropriada. Essas folhas foram fotocopiadas e a porcentagem de área afetada e área total de cada fruto foram recortadas e pesadas em balança analítica, calculando-se, a seguir, a porcentagem de polpa que apresentou a injúria.



A intensidade de escurecimento interno foi determinada por uma escala de notas de 0 a 3, sendo 0- ausência de escurecimento interno; 1- coloração marrom-clara; 2- coloração marrom-médio; 3- coloração marrom-escuro.

### **3.3.2 Temperatura do fruto**

Utilizou-se termômetro específico para medir a temperatura interna do fruto, sendo amostrados, de maneira aleatória, três frutos por parcela

### **3.3.3 Avaliações físico-químicas e químicas**

Os frutos de cada parcela experimental foram descascados e as polpas cortadas em pedaços representativos dos 10 frutos da parcela, obtendo-se uma amostra composta. Uma parte dessa amostra foi congelada imediatamente em nitrogênio líquido para análises das atividades enzimáticas e extração do material de parede celular. A outra parte da amostra foi destinada às análises de pH, acidez titulável total, sólidos solúveis totais e extração da vitamina C, e o restante armazenado em condições de congelamento para execução das outras análises.

#### **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**

Determinado por refratometria, conforme as normas da AOAC (1992), utilizando-se o refratômetro digital, com compensação de temperatura automática.

**d) Açúcares totais**

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)**

Determinado pelo método colorimétrico de Roe e Kutether, citado por Strohecker e Henning (1967).

**f) Compostos fenólicos (mg/100g)**

Foram 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) Substâncias pécticas (mg/100g)**

A pectina total e solúvel foram extraídas segundo a técnica padronizada por McCready e McComb (1952), e o doseamento, utilizando-se a técnica de Bitter e Muir (1962), sendo os resultados expressos em mg de ácido galacturônico/100g de peso fresco. Pela porcentagem de pectina solúvel em relação à pectina total, obteve-se a porcentagem de solubilidade.

#### **h) Pectinametilsterase (PME) - U/min/g**

A extração e o doseamento foram feitos pela técnica empregada por Ratner, Goren e Monselise (1969). Uma unidade de atividade de pectinametilsterase foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação de pectina, correspondente a um nanomol de NaOH por minuto, nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidade por minuto por grama de peso fresco.

#### **i) Poligalacturonase (PG) - U/min/g**

Extraída segundo os métodos descritos por Pressey e Avants (1973) e Jen e Robinson (1984). A unidade de atividade de poligalacturonase foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a formação de um nanomol de grupos redutores por minuto, nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades por minuto por grama de peso fresco

#### **j) Peroxidase (PER) - U/min/g**

A extração e determinação da atividade enzimática 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.

#### **k) Polifenoloxidase (PFO) - U/min/g**

A extração foi feita de acordo com método proposto por Matsuno e Uritane (1972) e a atividade expressa em unidade por minuto por grama de tecido fresco, segundo método proposto por Teisson (1979).

#### **l) Fenilalanina amônio liase (FAL) - U/h/g**

A extração foi feita baseada na técnica preconizada por Rhodes e Woollorton (1971). A atividade enzimática foi expressa em U/h/g, definida como conteúdo de enzima que produz um aumento na absorção a 290nm de 0,01 por hora (Zucker, 1965).

#### **m) Cálcio total (%)**

A polpa foi liofilizada, triturada em moinho tipo Wiley e homogeneizada. O cálcio total foi determinado, após digestão nitroperclórica, por espectrofotometria de absorção atômica, conforme metodologia descrita por Sarruge e Haag (1974). Os resultados foram expressos em porcentagem de cálcio na matéria seca da polpa.

#### **n) Extração do material de parede celular-**

A parede foi extraída do tecido mesocárpico, como descrito por Mitcham e McDonald (1992), com algumas modificações. O mesocarpo (300g) foi triturado em liquidificador com metanol 80% (300ml). O resíduo foi lavado com tampão fosfato 50mM, pH 6,8 (600ml) e filtrado sob vácuo. Adicionou-se 200 ml de fenol:ácido acético:água (2:1:1 v/v) e manteve-se em repouso por 20 minutos. Lavou-se novamente o resíduo com tampão fosfato 50mM, pH 6,8 (600ml). Em seguida, a parede foi sucessivamente lavada com 200ml de clorofórmio:metanol (1:1 v/v) e acetona (3 porções de 200ml), seguida de secagem sob vácuo à temperatura ambiente.

#### **o) Cálcio ligado à parede celular-**

Foi determinada pela mesma técnica empregada para o cálcio total, porém, utilizando-se a amostra extraída da parede celular. Os resultados foram expressos em porcentagem de cálcio ligado à parede celular, contidos em 100g de matéria seca da polpa.

### **3.4 Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 9 tratamentos e 4 repetições. Os valores observados de cada variável foram submetidos à análise de variância, de acordo com o seguinte esquema:

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>
Tratamentos	8
Resíduo	27
Total	35

As comparações entre as médias dos tratamentos foram realizadas utilizando-se o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Foi utilizado o programa de computador Sanest para a realização das análises estatísticas.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Abacaxis analisados no dia da colheita

Os resultados referentes aos abacaxis analisados no dia da colheita encontram-se na Tabela 1. Esta amostragem teve como finalidade a caracterização inicial dos frutos utilizados no experimento.

Os valores médios encontrados para as avaliações físico-químicas no dia da colheita foram os seguintes: acidez titulável total (ATT) 0,67% de ácido cítrico, pH 3,70, sólidos solúveis totais (SST) 15,70 e para a relação SST/ATT 23,4. Segundo relatos de Carvalho e Botrel (1996), a acidez no abacaxi pode variar de 0,6 a 1,62 de ácido cítrico. Nota-se que os frutos apresentaram uma acidez relativamente baixa. Como a temperatura é o fator mais importante que influencia a acidez do abacaxi, decrescendo com o aumento da temperatura (Py, Lacoecilhe e Teissen, 1984), era de se esperar uma baixa acidez, tendo em vista que na região onde se coletou os frutos, a data da colheita (17/12) coincidiu com um dos períodos mais quentes do ano. Para o pH Chada et al. (1972) citaram que, no abacaxi o valor pode variar de 3,0 a 4,0, constatando-se que o valor médio encontrado situa-se nessa faixa. Os sólidos solúveis, que também são influenciados pela época de colheita, apresentaram um valor médio relativamente alto (15,70), quando comparados aos de Botrel (1991) e Silva (1997), cujos valores variaram de 11 a 14,25. Tal observação indica que os frutos se encontravam mais maduros do que aparentavam pela coloração externa da casca (estádio 2 de maturação). Também a relação sólidos SST/ATT demonstrou-se elevada (23,4), baseando-se na citação de Bleinroth (1996), na qual os valores superiores a 16,0 já são considerados altos.

TABELA 1. Valores médios e desvios-padrão da ATT (% de ácido cítrico), pH, SST (%), SST/ATT, açúcares totais (% de glicose), vitamina C total (mg de ácido ascórbico/100g), pectina total e pectina solúvel (mg de ácido galacturônico/100g), solubilidade (%) da pectina, % de cálcio total, fenólicos (mg de ácido tânico/100g), poligalacturonase (U/min/g), fenilalanina amônio liase (FAL-U/h/g tecido), peroxidase (U/min/g), polifenoloxidase (U/min/g) dos frutos analisados no dia da colheita.

Variáveis	Valor mínimo	Valor máximo	Média geral	Desvios padrão
Acidez titulável	0,65	0,72	0,67	± 0,03
PH	3,64	3,73	3,70	± 0,04
Sólidos solúveis	15,0	16,50	15,70	± 0,68
SST/ATT	20,80	25,38	23,4	± 1,55
Açúcares totais	13,45	15,84	14,57	± 1,05
Vitamina C	13,91	15,40	14,79	± 0,63
Pectina total	87,46	106,66	93,11	± 0,11
Pectina solúvel	25,07	28,35	27,24	± 1,48
Solubilidade (%)	25,87	32,20	29,42	± 2,79
% de Cálcio total	0,11	0,13	0,12	± 0,008
Fenólicos	46,92	53,82	51,06	± 2,98
PG	10,34	12,06	11,02	± 0,99
FAL	360	460	405	± 52,60
Peroxidase	6,0	8,67	7,14	± 1,14
Polifenoloxidase	10,0	12,0	11,17	± 1,0

O teor médio de açúcares totais foi de 14,57% de glicose, valor este superior ao encontrado por Botrel (1991), que foi de 12,26 no dia da colheita. Porém, os frutos como o aumento dos sólidos solúveis reflete entre outros

constituíntes, sobretudo no aumento do conteúdo de açúcares, esses resultados encontram-se coerentes com o comportamento observado nos sólidos solúveis totais utilizados por Botrel (1991) foram provenientes de uma região com temperatura média anual inferior (19,3°C) as condições desse experimento, tornando-se plausível tais divergências, uma vez que a doçura se eleva com o aumento da temperatura.

O teor de vitamina C total encontrado nos frutos analisados no dia da colheita foi de 14,79mg/100g de polpa, similar àquele encontrado por Botrel (1991) nos frutos com peso médio de 1,5 a 1,8kg.

Os resultados relativos à pectina total e à pectina solúvel foram de 93,11 e 27,2mg de ácido galacturônico/100g de polpa, e a percentagem de pectina solúvel em relação à pectina total foi de 29,42%. Esses resultados, aliados às observações efetuadas nas variáveis discutidas anteriormente, leva a inferir que o processo de amadurecimento já estava acontecendo, uma vez que a solubilização das substâncias pécticas é um dos eventos mais marcantes nessa fase do ciclo vital dos frutos.

O teor de cálcio total encontrado foi de 0,12%, valor este influenciado, entre outros fatores, pela adubação realizada durante o cultivo. O valor encontrado situa-se na faixa de cálcio apresentada pelo abacaxi que, de acordo com Py, Lacoeyilhe e Teisson (1985), varia de 0,07 a 0,16%.

Os compostos fenólicos totais apresentaram valor médio de 51,06mg/100g. De acordo com Teisson (1972), as variedades de abacaxis de polpa amarela são mais ricas em compostos fenólicos, o que predispõe as mesmas a uma maior suscetibilidade às injúrias causadas pelo frio durante o armazenamento.



Com relação as análises enzimáticas realizadas nos frutos no dia da colheita (PME, PG, FAL, PER, PFO), verificaram-se que, excetuando-se a enzima pectinametilesterase, todas as demais apresentaram atividades. Demonstra-se, dessa forma, que essas enzimas já se encontravam presentes no dia da colheita. No que se refere à polifenoloxidase, esses resultados concordam com os de Botrel (1991) e Abreu (1995), que também detectaram atividade polifenoloxidásica nos frutos analisados no dia da colheita; porém, divergem dos de Teisson e Combres (1979), que concluíram que a atividade da PFO é praticamente nula no momento da colheita.

#### 4.2 Escurecimento interno

Verificaram-se efeitos altamente significativos dos tratamentos (Tabela 1A), sugerindo um comportamento diferenciado deles no índice de escurecimento interno.

Os abacaxis analisados no dia da colheita não apresentaram nenhum sintoma de escurecimento interno. Em contrapartida, independente dos tratamentos utilizados, todos os frutos submetidos ao armazenamento refrigerado, com posterior exposição durante 7 dias em temperatura ambiente, apresentaram sintomas da injúria de "chilling". Considerou-se, dessa forma, que 100% dos frutos foram afetados. Verifica-se, desse modo, que os tratamentos empregados não foram tão efetivos a ponto de evitar completamente a manifestação dos sintomas de escurecimento interno da polpa no abacaxi. Porém, observaram-se índices de escurecimento interno, diferenciados nos diversos tratamentos empregados (Figura 1). Verificou-se que os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$

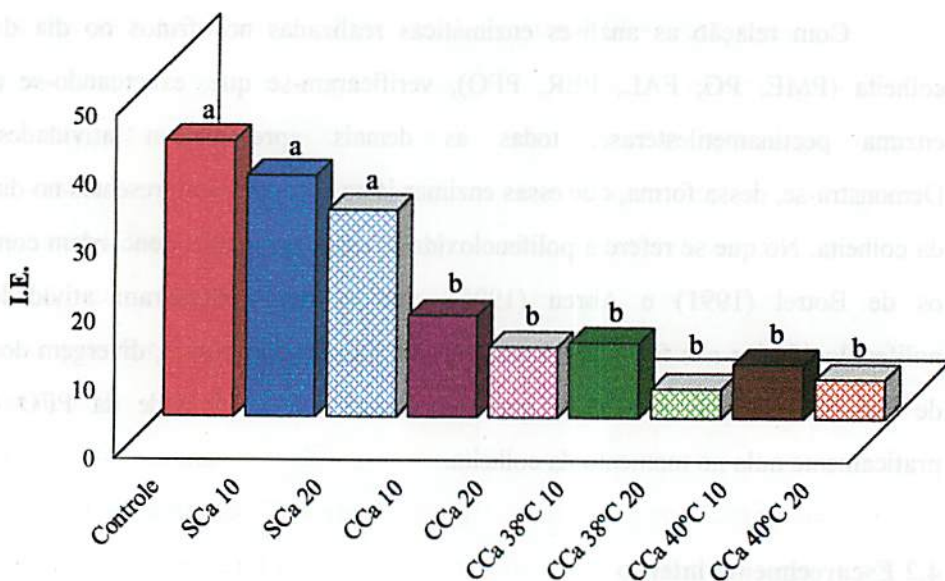


FIGURA 1. Representação gráfica e comparação dos valores do índice de escurecimento interno (I.E.) em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2% associado a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

demonstraram menor suscetibilidade ao escurecimento interno. Dessa forma, constatou-se a eficácia do tratamento à base de cálcio na redução dessa desordem fisiológica, que muitos prejuízos vêm causando às exportações brasileiras de abacaxi.

Com referência à influência da temperatura da solução de imersão e ao tempo em que os frutos permaneceram submersos, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi detectada. Entretanto, observou-se que, quando o

tempo de imersão foi de 20 minutos, houve uma tendência de redução dos sintomas de escurecimento interno, sobretudo quando se utilizou a solução  $\text{CaCl}_2$  aquecida. Os frutos que receberam os tratamentos em água pura também apresentaram, numericamente, menores sintomas da injúria em relação ao tratamento controle. Esse fato certamente ocorreu, tendo em vista a influência do resfriamento do fruto associado ao teor de cálcio apresentado pela água, que foi de 8,8 mg de cálcio por litro. Trabalho semelhante foi realizado por Botrel et al. (1996), os quais observaram uma efetiva redução no índice de escurecimento interno no abacaxi cv. *Smooth Cayenne*, quando os frutos foram imersos, por 30 minutos, em uma solução contendo  $\text{CaCl}_2$  e aquecida a 42°C. Apesar do benefício observado pelos autores, a utilização de  $\text{CaCl}_2$  aliado ao tratamento hidrotérmico por um período de imersão de 30 minutos, induziu a injúrias na casca e ressecamento da coroa, com conseqüente depreciação na aparência externa do fruto, que é um dos critérios de qualidade mais importantes para o consumidor. Em trabalho realizado por Holland (1993), verificou-se que os pêssegos cv. Biuti, quando tratados com  $\text{CaCl}_2$  associado com intermitência de temperatura, apresentaram menores índices de escurecimento interno.

Akamine (1976) evidencia que o escurecimento interno no abacaxi pode ser minimizado apenas pela exposição dos frutos a 38°C por 24 horas. Abreu (1995), sugeriu a utilização de embalagem de polietileno sem perfuração, a qual reduziu em 87,86% o grau de escurecimento e em 55% o número de frutos afetados. Silva (1997), também trabalhando com atmosfera modificada, verificou que os frutos que receberam aplicação de cera associada à utilização de embalagem com filme de cloreto de polivinila, apresentaram menor manifestação da injúria causada pelo frio. Já Teisson e Combres (1979) concluíram que, nas condições da Costa do Marfim, a melhor solução para se contornar o problema de

escurecimento interno no abacaxi consiste em melhorar a nutrição potássica, um pouco antes da indução floral, sobretudo pela utilização do cloreto de potássio como fonte do elemento, que confere aumentos na acidez titulável total e nos teores de ácido ascórbico com conseqüente redução do escurecimento.

A fim de complementar a discussão do índice de escurecimento interno apresentado pelos frutos, calculou-se o percentual de redução do índice de escurecimento interno do escurecimento interno apresentado pelos 8 tratamentos, em relação ao tratamento controle (Figura 2). Observa-se que quando se utilizou o tempo de imersão de 20 minutos houve uma tendência de redução do

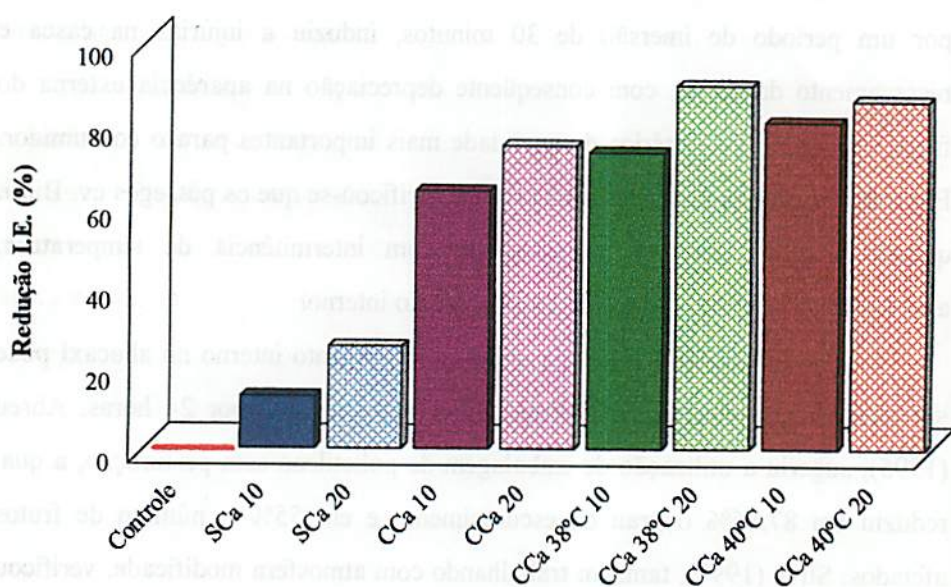


FIGURA 2. Representação gráfica das porcentagens de redução do escurecimento interno apresentadas pelos tratamentos em relação ao controle.

escurecimento interno, em todos os tratamentos. A utilização do tratamento com  $\text{CaCl}_2$  efetivamente contribuiu para reduzir os sintomas de escurecimento interno na polpa do abacaxi submetido à refrigeração. Os tratamentos com  $\text{CaCl}_2$  por 20 minutos de imersão dos frutos, com temperaturas de 38 e 40°C, apresentaram, respectivamente, os maiores percentuais de redução de escurecimento interno (89,54 e 85,81%) em relação ao controle. Verifica-se, dessa forma, que a associação da aplicação do  $\text{CaCl}_2$  ao tratamento hidrotérmico pode ter favorecido a penetração do cálcio na epiderme dos frutos, sobretudo quando o tempo de imersão foi maior. A redução no índice de escurecimento observado se assemelha ao encontrado por Abreu (1995), que observou que, quando utilizou-se a embalagem de polietileno sem perfuração para acondicionamento dos frutos, antes de submetê-los ao armazenamento refrigerado, houve uma redução de 87,86% no índice de escurecimento interno em relação ao controle.

Observa-se também que a imersão dos frutos durante 20 minutos favoreceu a redução do índice de escurecimento interno da polpa, mesmo sem a utilização do  $\text{CaCl}_2$ . Esse maior tempo de exposição dos frutos a condições diferentes daquelas utilizadas para o fruto controle, pode ter favorecido a eficácia do tratamento executado, alterando o seu metabolismo com o conseqüente benefício observado.

### 4.3 Cálcio total

Verificou-se efeitos significativos dos tratamentos (Tabela 1A), o que sugere um comportamento diferenciado da aplicação deles nos teores de cálcio total.

Os teores de cálcio total foram estatisticamente superiores nos frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$ , sobretudo quando associados ao tratamento hidrotérmico

(38 e 40°C), independente do tempo de imersão (Figura 3). Os frutos tratados com CaCl<sub>2</sub> sem aquecimento da solução, apresentaram valores intermediários; porém, estatisticamente semelhantes aos demais tratamentos. Holland (1993) verificou que houve absorção de cálcio nos pêssegos tratados com CaCl<sub>2</sub> a 2%, em solução aquecida a 49°C.

De acordo com Py, Lacoeuilhe e Teisson (1984), a polpa do abacaxi apresenta, em média, de 0,07 a 0,16% de cálcio. Verifica-se, neste trabalho, que os teores médios de cálcio encontrados nos frutos tratados com CaCl<sub>2</sub> atingiram um valor máximo de 0,19% (CCa 40°C 20'), enquanto que, os não tratados com

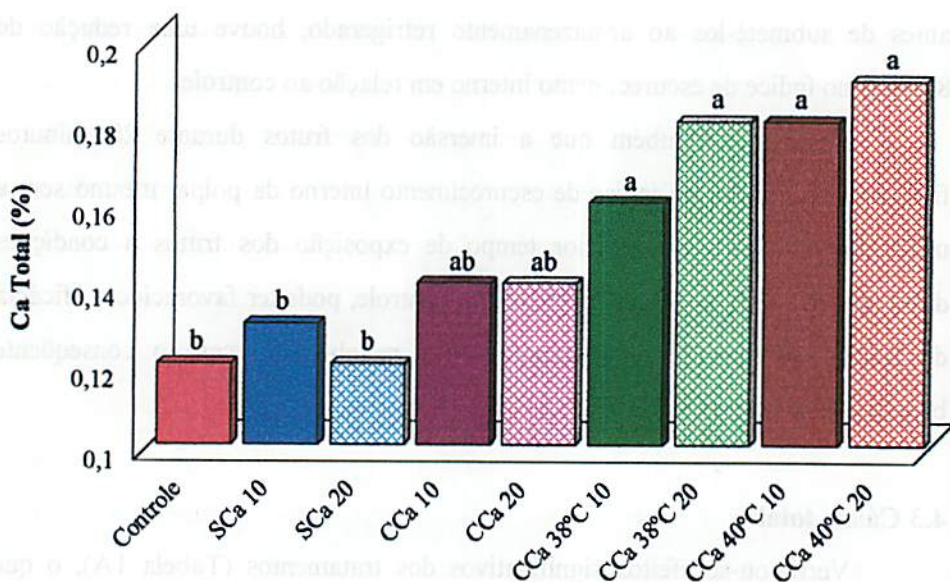


FIGURA 3. Representação gráfica e comparação dos teores médios de cálcio total em abacaxis submetidos à aplicação de CaCl<sub>2</sub> a 2%, associados a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

CaCl<sub>2</sub>, apresentaram um valor médio de 0,12%. Perante tal observação, verifica-se que o cálcio exógeno penetrou na epiderme do fruto, resultando em maiores teores nos frutos tratados. Ochei, Basiouny e Woods (1993) verificaram aumentos no teor de cálcio total em pêsegos, quando se aplicou CaCl<sub>2</sub> nas fases pré e pós-colheita. Lurie e Klein (1992) verificaram aumentos substanciais no teor de cálcio total em maçãs 'Anna', quando se aplicaram 3% de CaCl<sub>2</sub> na fase pós-colheita. Yuen, Caffin e Boonyakiat (1994), trabalhando com abacates 'Fuerte' e 'Hass', relataram que apesar da aplicação de CaCl<sub>2</sub> a 8% ter aumentado, o teor de cálcio nos frutos de ambas as cultivares, esses foram suficientes para suprimir a maturação comparando-se aos frutos que receberam o sal a 4%.

Segundo Poovaiah (1986), o aumento no teor de cálcio em frutos normalmente decresce a incidência de desordens fisiológicas. Jackman et al. (1988) também relataram que frutos contendo concentrações relativamente altas de cálcio são menos sensíveis à injúria causada pelo frio. Comparando-se a percentagem de escurecimento interno (Figura 1) às concentrações de cálcio apresentadas entre os diversos tratamentos deste trabalho (Figura 3), verifica-se que os frutos com maiores teores de cálcio tiveram menor incidência de escurecimento interno.

De acordo com trabalho de Bangerth, Dilley e Dewey (1972), a aplicação de CaCl<sub>2</sub> reduziu o desenvolvimento de escurecimento interno e retardou o amolecimento de maçãs, por um período de 19 meses a 2,2°C e 1 semana a 23°C. Em abacates 'Fuerte', a aplicação de CaCl<sub>2</sub> a vácuo reduziu os sintomas internos de "chilling"; porém, aumentou os sintomas externos (Eaks, 1985). Nesse trabalho, a aparência externa do abacaxi, aparentemente, não foi comprometida com a aplicação de CaCl<sub>2</sub> a 2%, via imersão.

#### 4.4 Cálcio ligado

Os teores de cálcio determinados na parede celular da polpa do abacaxi apresentaram-se bastante coerentes com os tratamentos efetuados. Observaram-se efeitos altamente significativos dos tratamentos (Tabela 1A). Através da Figura 4, pode-se observar que os frutos tratados com cálcio tiveram acréscimos significativos nos teores de cálcio ligado à parede celular, quando comparados aos teores apresentados pelos frutos não tratados. Deduz-se que, após a infiltração do cálcio na parede celular, esse elemento deve ter interagido com grupos carboxílicos livres das pectinas, formando pectato de cálcio e,

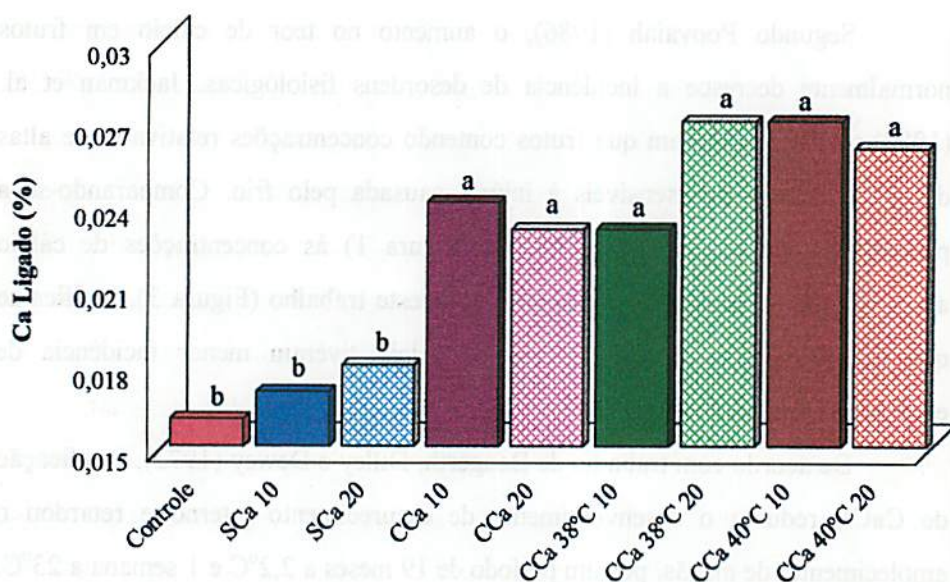


FIGURA 4. Representação gráfica e comparação das médias de cálcio ligado a parede celular em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associados a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.



conseqüentemente, proporcionando maior integridade à parede celular. Esses resultados reforçam aqueles obtidos por Vilas Boas et al. (1996), nos quais os abacaxis tratados com  $\text{CaCl}_2$  a  $42^\circ\text{C}$ , por 30 minutos, apresentaram maior teor de cálcio ligado à parede celular, com conseqüente manutenção do grau de esterificação e níveis de substâncias pécticas. O mesmo autor também verificou que houve penetração do cálcio ligado à parede celular em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$ , sobretudo quando a aplicação foi efetuada numa solução aquecida a  $42^\circ\text{C}$ . Os resultados encontrados nesse estudo podem também ser comparados àqueles obtidos por Conway, Sams e Watada (1995) em maçãs, e Scaloni (1996) em morangos, cuja infiltração e imersão dos frutos com 2% de  $\text{CaCl}_2$  resultaram em aumentos no conteúdo de cálcio ligado à parede celular.

A ligação cruzada dos polímeros pécticos mediada pelo cálcio tem sido citada como um mecanismo controlador do amolecimento em maçãs (Willey, 1977) e em tomates (Poovaiah e Nukaya, 1979). O decréscimo no teor de cálcio ligado à parede facilita a produção de etileno e aumenta a permeabilidade das membranas, que é um dos passos essenciais à maturação (Ricardo, 1983). Também tem-se estabelecido uma estreita relação entre os níveis de cálcio na parede celular do fruto e numerosas desordens fisiológicas e patológicas. Os maiores teores de cálcio ligados encontrados nos abacaxis tratados com cálcio, podem explicar parcialmente o aumento da resistência desses frutos ao escurecimento interno, tendo em vista que a presença do cálcio na parede celular, pode contribuir para a manutenção de sua rigidez e conseqüente compartimentalização de solutos que ao se reagirem acarretariam tal desordem.

Com relação ao efeito do tempo e temperatura de imersão dos frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$ , sugere-se que a absorção do cálcio ligado à parede celular foi potencializada quando a solução foi aquecida, constatando-se uma tendência

de teores de cálcio crescente nos frutos tratados a 38°C por 20 minutos e aqueles tratados a 40°C em ambos os tempos de imersão (10 e 20 minutos).

#### 4.5 Temperatura do fruto(°C)

Observou-se (Tabela 1A) efeitos altamente significativos entre os tratamentos, sugerindo um comportamento distinto entre eles.

Verifica-se pela Figura 5, que quando os frutos permaneceram submersos por 20 minutos em solução a 38 e 40°C contendo cálcio, houve uma tendência em aumentar a temperatura interna do fruto. Um pronunciado aumento,

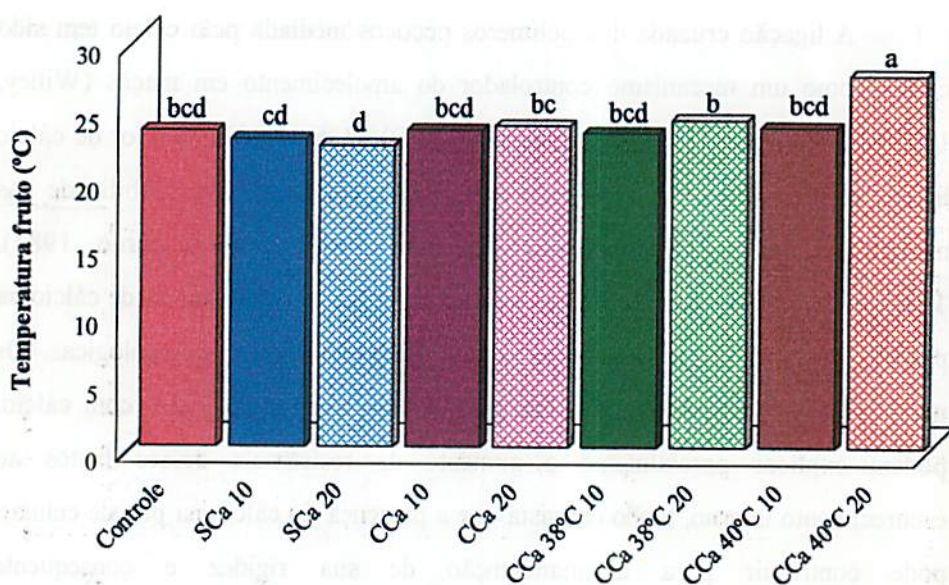


FIGURA 5. Representação gráfica e comparação dos valores médios da temperatura média dos frutos submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associada a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

estatisticamente superior aos demais, foi observado nos frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  a  $40^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Para os frutos tratados com apenas água, o inverso ocorreu, ou seja, com a imersão dos frutos por 20 minutos, houve uma tendência de abaixamento da temperatura interna dos frutos. O aumento da temperatura interna do fruto associada ao tratamento  $\text{CaCl}_2$  é interessante, uma vez que pode contribuir para reduzir a atividade de enzimas responsáveis pelo escurecimento da polpa e evitar a degradação das células.

#### 4.6 Pectina total, pectina solúvel e % de pectina solúvel, em relação a total (solubilidade)

Para a pectina total, não observou-se variação significativa quanto à influência dos tratamentos empregados (Figura 6 e Tabela 2A). Essa constatação

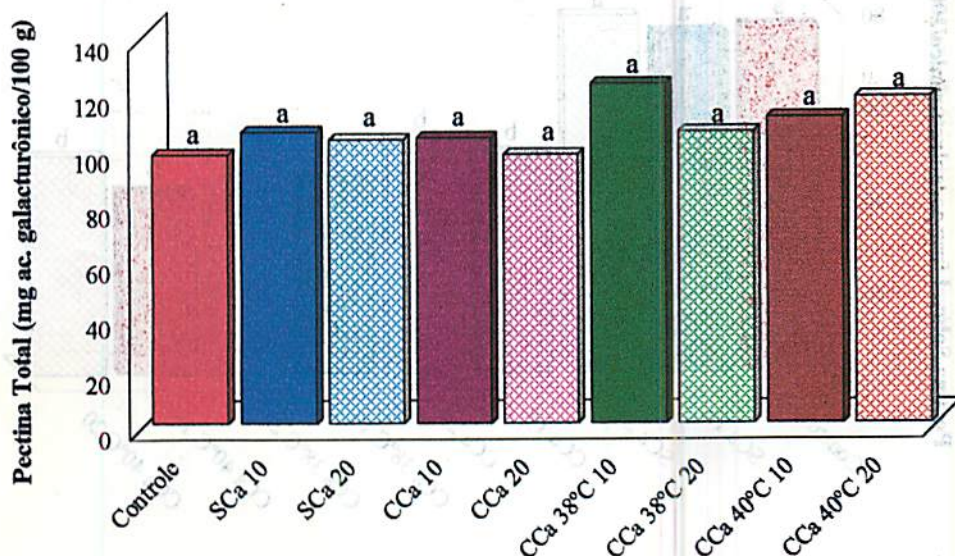


FIGURA 6. Representação gráfica e comparação dos teores médios de pectina total em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associados a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

apresentou semelhança com o trabalho realizado por Fernandes (1996), que também não verificou influência no teor de pectina total, quando se aplicou 2% de  $\text{CaCl}_2$  em melões. De acordo com Vukomanovic (1988) e Abreu (1995), maiores valores de pectina total são encontrados nos frutos menos sensíveis ao escurecimento interno. Neste trabalho, os teores de pectina total encontrados não permitem relacioná-los com os índices de escurecimento interno do fruto.

Analisando-se os resultados referentes à pectina solúvel (Figura 7), verifica-se que a aplicação de  $\text{CaCl}_2$  refletiu de maneira significativa nos teores dessa variável (Tabela 2A). Observou-se que, independente do tempo de imersão, os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  apresentaram menores teores de pectina solúvel.

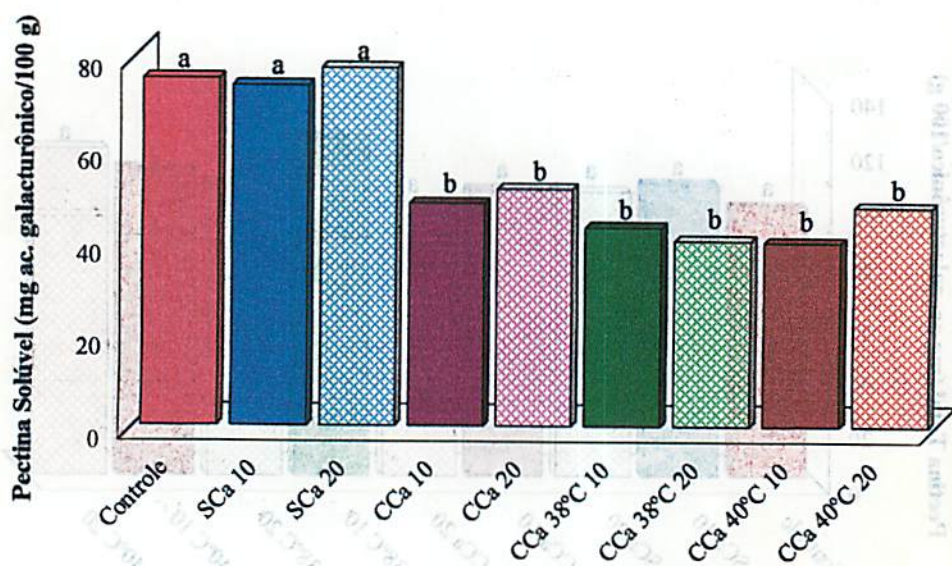


FIGURA 7. Representação gráfica e comparação dos teores de pectina solúvel em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associado a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

Quando se calculou a porcentagem de pectina solúvel em relação à pectina total (solubilidade), o mesmo comportamento foi observado, porém, com uma tendência em apresentar menores percentuais de solubilidade, quando a aplicação de  $\text{CaCl}_2$  foi efetuada, juntamente com o tratamento hidrotérmico (Figura 8). A comprovada influência do cálcio em reduzir a solubilização de substâncias pectínicas leva a inferir uma menor perda de firmeza da polpa nos frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$ , haja em vista que as pectinas contribuem em grande parte para a manutenção desse atributo de qualidade. Sams, Lewis e Ben-Shalom (1993) verificaram que quando trataram-se maçãs com  $\text{CaCl}_2$  a  $45^\circ\text{C}$ , as perdas

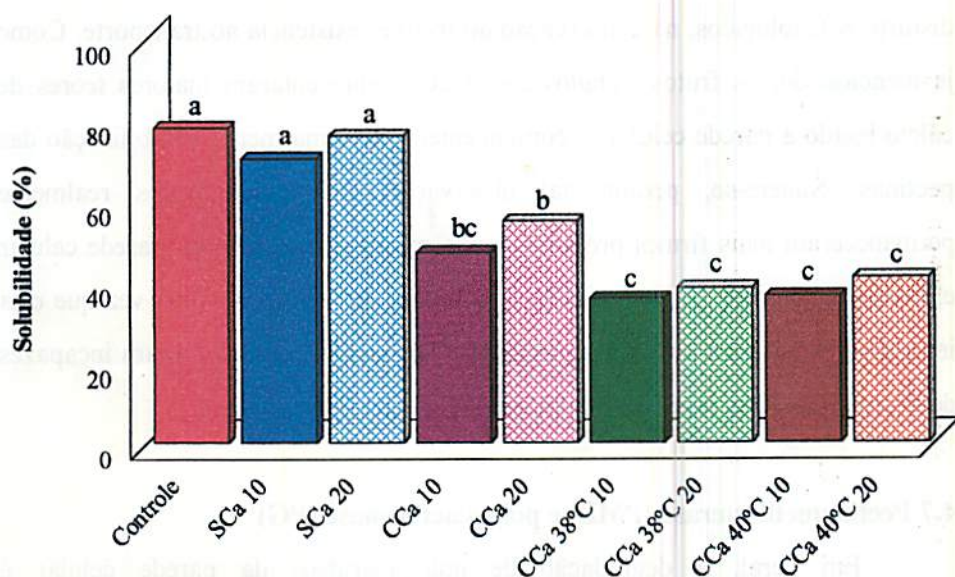


FIGURA 8. Representação gráfica e comparação da porcentagem de solubilidade de pectina em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associada a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

pós-colheita foram reduzidas e a firmeza foi mantida durante 6 meses de armazenamento. A menor solubilização das pectinas, observada neste trabalho, pode ter conferido uma maior resistência ao distúrbio de "chilling" por apresentar uma maior integridade celular, uma vez que esses frutos foram os mais resistentes. Vukomanovic (1988) e Abreu (1995) também relacionaram os maiores índices de escurecimento interno à maior solubilização das pectinas no abacaxi.

De acordo com Awad (1993), em decorrência da ligação do cálcio aos grupos carboxílicos das pectinas, efeitos positivos são produzidos tanto no adiamento da maturação e senescência, mediante diminuição da respiração e da produção de etileno no complexo membrana-parede celular, como no controle de distúrbios fisiológicos, na conservação do fruto e resistência ao transporte. Como já mencionado, os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$ , apresentaram maiores teores de cálcio ligado à parede celular e, conseqüentemente, uma menor solubilização das pectinas. Sugere-se, perante tal observação, que esses frutos realmente permaneceram mais firmes proporcionando menor degradação da parede celular e, conseqüentemente, maior resistência à injúria de "chilling", uma vez que esta injúria se caracteriza pelo enfraquecimento dos tecidos, que se tornam incapazes de desenvolver seus processos fisiológicos normais.

#### 4.7 Pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG)

Em geral, a degradação de polissacarídeos da parede celular é acompanhada por um aumento na atividade de hidrolases, tais como: poligalacturonases (enzimas responsáveis pela solubilização de pectinas) e pectinametilesterases (enzimas que catalisam a desesterificação de grupos carboxílicos livres) e endo- $\beta$  (1-4) glucanases. Das duas hidrolases pesquisadas,

PG e PME, apenas a primeira apresentou atividade. Huet (1958) reporta que a PME, que catalisa a hidrólise dos ésteres metílicos da pectina, exibe uma fraca atividade no abacaxi, e Guerra (1979) evidencia que nos estádios mais avançados de desenvolvimento do fruto cv. *Smooth Cayenne*, essa enzima não exibe quaisquer atividade. Esses relatos reforçam a ausência de atividade da PME nesse trabalho. Já para a PG, os frutos referentes aos respectivos tratamentos apresentaram atividades (Figura 9) com efeitos altamente significativos (Tabela 2A) entre os tratamentos. Nota-se que pela Figura 9, as maiores atividades para a PG foram observadas nos frutos não tratados. Esses mesmos frutos também

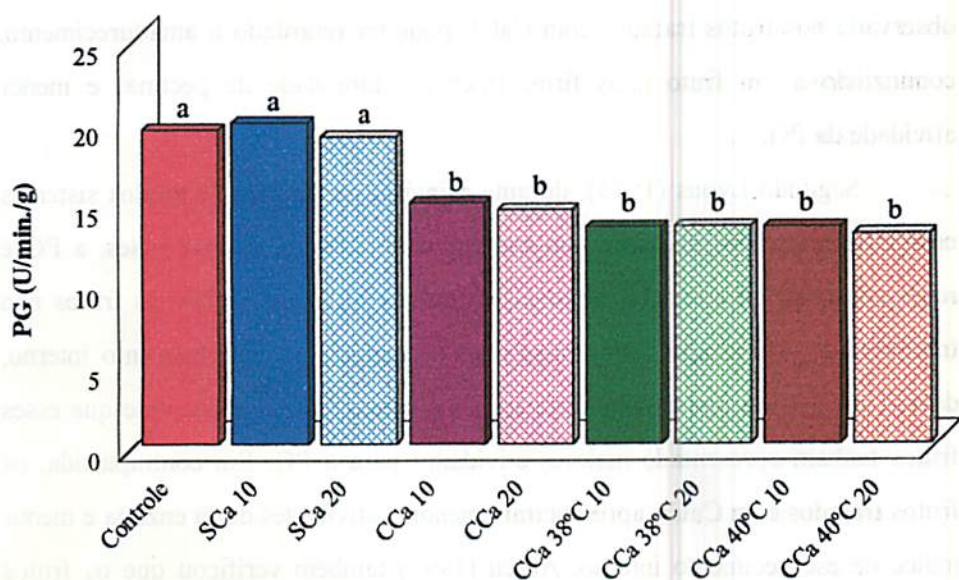


FIGURA 9. Representação gráfica e comparação das atividades médias da poligalacturonase em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associada a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

caracterizaram-se por apresentarem menores teores de cálcio ligado à parede celular e maiores teores de pectina solúvel e solubilidade (Figura 4, 7 e 8), como já discutido anteriormente. Um comportamento oposto foi observado nos frutos tratados com cálcio, ou seja, menor atividade para PG (Figura 9), menores teores de pectina solúvel e solubilidade (Figura 7 e 8) e maior teor de cálcio ligado (Figura 4). Esses resultados estão compatíveis com aqueles encontrados por Heppler e Wayne (1985), nos quais a presença do cálcio, além de conferir insolubilidade ao material péctico, inibiu a atividade da PG, uma vez que o pectato formado pela presença do cálcio é resistente à degradação por essa enzima, que atua, preferencialmente, na ligação glicosídica adjacente ao grupo carboxílico não esterificado. Deduz-se que, a mais alta concentração de cálcio observada nos frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  pode ter retardado o amadurecimento, conduzindo a um fruto mais firme (menor solubilidade de pectina) e menor atividade da PG.

Segundo Lyons (1973), durante a injúria de "chilling", muitos sistemas enzimáticos isolados apresentaram sua atividade alterada e, dentre eles, a PG é reportada com um aumento pronunciado em sua atividade. Como os frutos não tratados com cálcio apresentaram-se mais suscetíveis ao escurecimento interno, devido em parte à maior solubilização das pectinas, torna-se coerente que esses frutos tenham apresentado maiores atividades para a PG. Em contrapartida, os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  apresentaram menores atividades desta enzima e menor índice de escurecimento interno. Abreu (1995) também verificou que os frutos com maior desenvolvimento de sintomas de escurecimento interno caracterizaram por apresentar maior porcentagem de pectina solúvel e maior atividade para a PG, e os frutos menos suscetíveis, menor percentual de pectina solúvel e menor atividade para a PG.



#### 4.8 Vitamina C Total

Os teores de vitamina C total não se diferenciaram estatisticamente entre os tratamentos (Tabela 3A). Porém, como pode-se observar na Figura 10, os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  demonstraram uma tendência em apresentar maiores teores de vitamina C total. Poovaiah (1986); Glenn, Reddy e Poovaih (1988) citam que pulverizações na pré-colheita, com produtos à base de cálcio, em pêssegos e maçãs, aumentou o conteúdo de ácido ascórbico nos frutos. Entretanto, como neste trabalho determinou-se o teor de vitamina C total, que

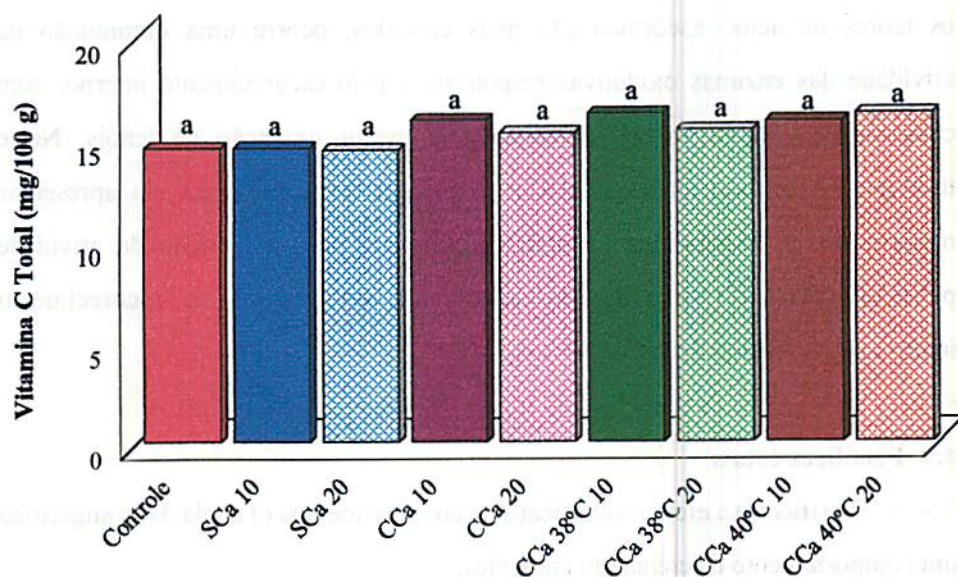


FIGURA 10. Representação gráfica e comparação dos teores médios de vitamina C total em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associados a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

inclui também a forma oxidada (ácido dehidroascórbico), isso pode ter impedido a evidência de uma melhor associação entre essas duas variáveis.

A utilização de técnicas que visam a aumentar o conteúdo de vitamina C total ou reduzir as perdas inerentes ao próprio processo de amadurecimento são de grande importância. Além do aspecto nutricional que é inquestionável, maiores teores de vitamina C podem contribuir para a redução da sensibilidade do abacaxi ao escurecimento interno. Em trabalhos realizados por Teisson e Combres (1979), Paull e Rouhrbach (1985), Botrel (1991) e Abreu (1995), foi verificado que os frutos mais sensíveis ao escurecimento interno apresentaram menores teores de ácido ascórbico. De acordo com Scoot e Wills (1975), quando os teores de ácido ascórbico são mais elevados, ocorre uma diminuição da atividade das enzimas oxidativas responsáveis pelo escurecimento interno, com conseqüente diminuição das quinonas pela menor oxidação de fenóis. Neste trabalho, os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  tiveram uma tendência em apresentar maiores teores de vitamina C total, contribuindo para a inibição da atividade polifenoloxidásica resultando em decréscimos nos índices de escurecimento interno nos referidos frutos.

#### 4.9 Fenólicos totais

Verificou-se efeitos significativos dos tratamentos (Tabela 3A), sugerindo um comportamento diferenciado entre eles.

Os teores médios de fenólicos totais encontram-se na Figura 11. Observam-se que os frutos-controle apresentaram maiores teores de fenólicos totais comparados àqueles que foram submetidos ao tratamento hidrotérmico com cálcio. Valores intermediários foram observados tanto nos frutos tratados apenas com água, quanto naqueles tratados com cálcio sem aquecimento da solução.

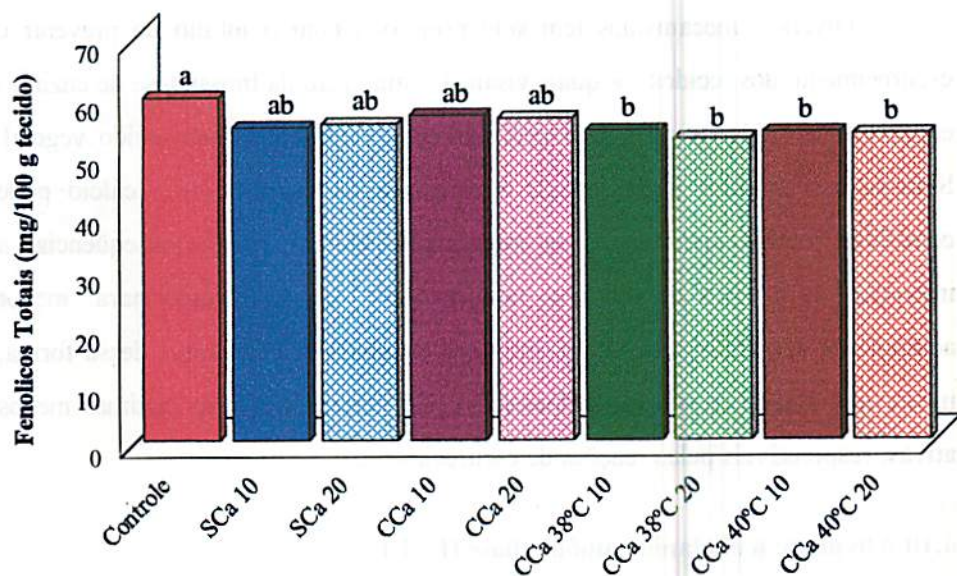


FIGURA 11. Representação gráfica e comparação dos valores médios de fenólicos totais em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associados a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

De acordo com Lacoëuilhe (1982), os compostos fenólicos e seus precursores têm sido associados aos distúrbios causados pelas baixas temperaturas em vegetais. A refrigeração induz a modificações nos compostos fenólicos, que podem agir como substratos, co-fatores ou inibidores da atividade enzimática. Wheatley (1982) cita que há aumentos nos teores de fenólicos nos frutos sensíveis à injúria de “chilling”. Os frutos mais sensíveis ao escurecimento interno tiveram uma tendência em apresentar maiores teores de fenólicos. Abreu (1995), Teisson, Martin-Prevel e Marchal (1979) também detectaram maiores teores de fenólicos nos frutos mais sensíveis ao escurecimento interno.

Diversos mecanismos têm sido propostos com o intuito de prevenir o escurecimento dos tecidos, os quais visam à diminuição da biossíntese de enzimas envolvidas e cuidados na manutenção da integridade celular do tecido vegetal. Sabe-se que o calor pode reduzir a atividade de enzimas, e o cálcio pode contribuir para a manutenção da integridade celular; como consequência, a interação entre esses dois fatores também pode ter contribuído para menor acúmulo de substratos nos tecidos da polpa do abacaxi, colocando dessa forma, menor quantidade de substrato (fenólicos) para interagir com as enzimas menos ativas, responsáveis pelas reações de escurecimento.

#### 4.10 Atividade fenilalanina amônio liase (FAL)

Observou-se efeitos altamente significativos entre os tratamentos (Tabela 3A), sugerindo um comportamento diferenciado entre eles.

Os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  apresentaram valores significativamente menores para a atividade da FAL, quando comparados aos frutos não tratados com  $\text{CaCl}_2$ . Tal comportamento foi independente do tempo de imersão e da associação com o tratamento hidrotérmico (Figura 12). A FAL catalisa a desaminação da L-fenilalanina para ácido trans-cinâmico e tem papel-chave na biossíntese de fenilpropanoides. Jones (1984) citou que a atividade da FAL é afetada por numerosos fatores, incluindo luz, temperatura, reguladores de crescimento, inibidores da síntese de RNA, proteína, infecção, fermentos e nutrição mineral. Neste trabalho, verificou-se que, também a aplicação de  $\text{CaCl}_2$  como tratamento pós-colheita em abacaxis, pode reduzir a atividade dessa enzima. Tem sido observado que em muitos tecidos vegetais, os níveis da FAL e de compostos fenólicos aumentam concomitantemente. Ritenour, Ahrens e Saltveit (1995) observaram que a atividade da FAL e o teor de compostos fenólicos aumentaram em alfaces expostas ao etileno, e também naquelas

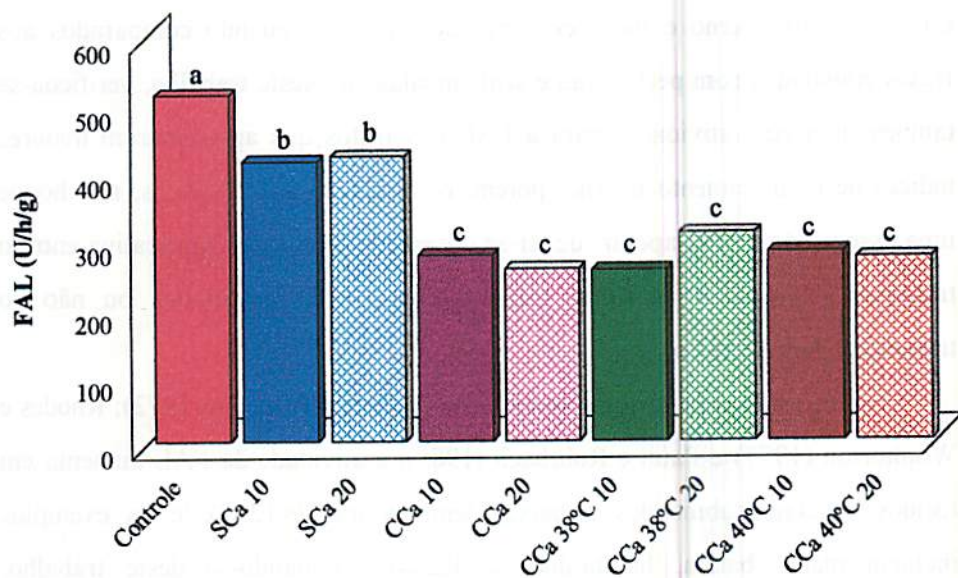


FIGURA 12. Representação gráfica e comparação das atividades médias da fenilalanina amônio liase em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associadas a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

transferidas de um armazenamento, a uma temperatura de  $5^\circ\text{C}$  para uma de  $20^\circ\text{C}$ . Os aumentos observados pelo autor nos compostos fenólicos e na atividade da FAL foram correlacionados com maior incidência de uma das mais importantes desordens fisiológicas da alface “russet spotting” que é caracterizada por manchas escuras. Em trabalho realizado por Abreu (1995), cujo objetivo foi verificar o efeito da utilização de embalagens de polietileno com e sem perfuração no grau de escurecimento interno e composição química do abacaxi cv. *Smooth Cayenne*, verificou-se que os abacaxis embalados com polietileno sem perfuração foram os que apresentaram menor atividade para a FAL, menor índice de

BQI

[REDACTED]

escurecimento interno e menores teores de fenólicos, quando comparados aos frutos embalados com perfuração e sem embalagem. Neste trabalho, verificou-se também maiores atividades para a FAL nos frutos que apresentaram maiores índices de escurecimento interno; porém, com relação aos fenólicos, não houve uma associação direta, apesar de ter-se observado diferença significativa entre o tratamento-controle e os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$ , associados ou não ao tratamento hidrotérmico.

De acordo com vários autores como Graham e Paterson (1972); Rhodes e Wooltorton (1977) e Paull e Rohrbach (1985), a atividade da FAL aumenta em tecidos vegetais submetidos a baixas temperaturas ( $<12^\circ\text{C}$ ), e os exemplos incluem maçã, batata, batata-doce e abacaxi. Tratando-se deste trabalho, verificaram-se que os frutos tratados com cálcio e submetidos à refrigeração apresentaram, sobremaneira, menores atividades para a FAL, demonstrando-se, efetivamente, a influência do cálcio em reduzir a atividade desta enzima e, conseqüentemente, o escurecimento interno. Nos frutos-controle, a atividade enzimática foi de 512 U/h/g e nos tratados com água durante 10 e 20 minutos de imersão, foi 413 e 420 U/h/g, respectivamente, indicando que na ausência do cálcio a atividade da FAL aumentou em conseqüência da refrigeração.

#### 4.11 Atividade peroxidásica (PER)

Verificou-se que os valores da atividade peroxidásica foram significativamente influenciados pelos tratamentos (Tabela 3A).

Os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  apresentaram atividade peroxidásica estatisticamente inferior aos frutos não tratados, com atividades substancialmente inferiores naqueles frutos que receberam também o tratamento hidrotérmico (Figura 13). Nota-se que a temperatura da solução ( $38$  e  $40^\circ\text{C}$ ) não interferiu

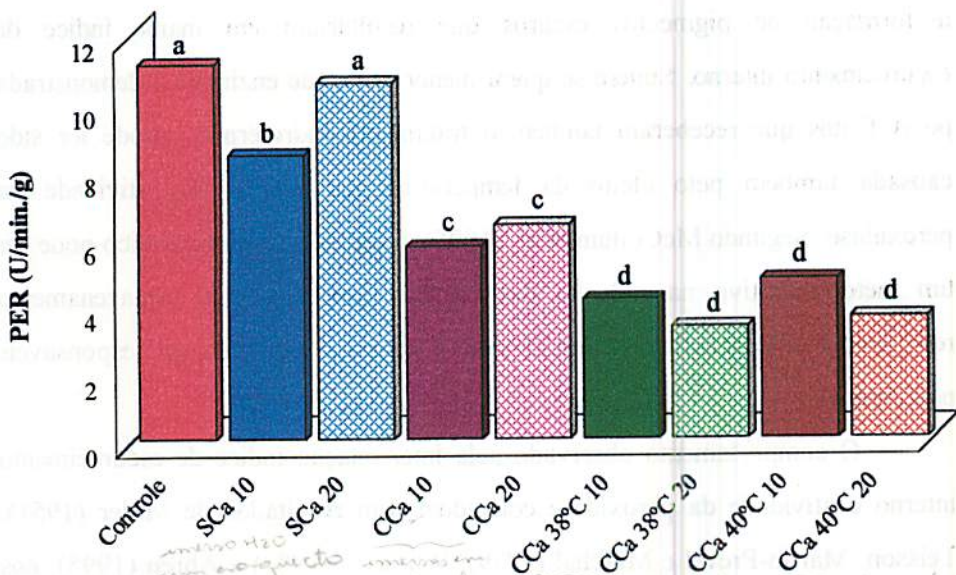


FIGURA 13. Representação gráfica e comparação das atividades médias da peroxidase em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associada a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

significativamente nos resultados. No que se refere ao tempo de imersão dos frutos (10 e 20 minutos), nenhuma influência marcante foi observada. Esses resultados sugerem uma associação da atividade peroxidásica com o índice de escurecimento interno, uma vez que os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  apresentaram menor escurecimento interno, sobretudo quando a solução foi aquecida. Certamente, a menor atividade peroxidásica apresentada pelos frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  foi devido à ação do cálcio na manutenção da integridade celular, evitando, desse modo, o contato enzima-substrato e, conseqüentemente reduzindo

a formação de pigmentos escuros que resultariam em maior índice de escurecimento interno. Sugere-se que a menor atividade enzimática demonstrada pelos frutos que receberam também o tratamento hidrotérmico, pode ter sido causada também pelo efeito da temperatura na redução da atividade da peroxidase. Segundo McCollum et al. (1995), o tratamento hidrotérmico pode ser um método efetivo na redução das injúrias causadas pelo armazenamento refrigerado, cujo benefício obtido se deve à inativação de enzimas responsáveis pela injúria.

O comportamento observado pela inter-relação índice de escurecimento interno e atividade da peroxidase coincidem com resultados de Miller (1951), Teisson, Martin-Prevel e Marchal (1979), Wheatley (1982) e Abreu (1995), nos quais maiores índices de escurecimento interno foram associados a maiores atividades da enzima.

#### **4.12 Atividade polifenoloxidásica (PFO)**

Houve diferença significativa entre os tratamentos estudados no que se refere à atividade polifenoloxidásica (Tabela 3A). Observa-se que quando associou-se a aplicação de  $\text{CaCl}_2$  ao tratamento hidrotérmico, a atividade polifenoloxidásica demonstrou-se inferior aos demais tratamentos. Em contrapartida, os frutos o tratamento-controle e os que não foram tratados com cálcio apresentaram atividades polifenoloxidásicas superiores a todos os outros tratamentos. Como a polifenoloxidase é considerada a mais importante enzima que cataliza a oxidação de fenólicos, resultando na polimerização de pigmentos escuros, é de se esperar que os frutos que não foram tratados com cálcio apresentassem maiores atividades para essa enzima, em face de terem sido os mais suscetíveis ao escurecimento interno (Figura 14).



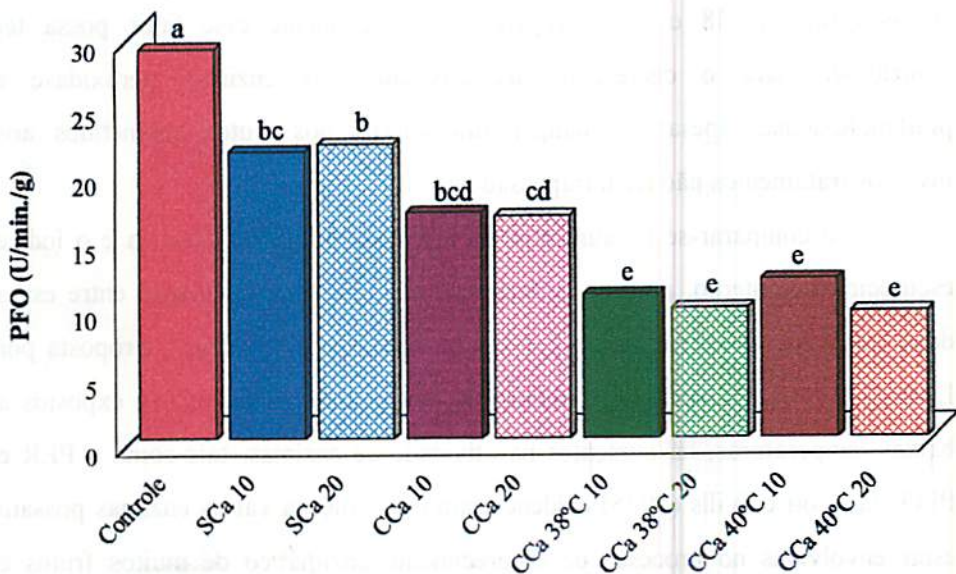


FIGURA 14. Representação gráfica e comparação das atividades médias da polifenoloxidasas em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associada a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

Diversos mecanismos têm sido propostos para prevenir e/ou retardar o escurecimento de tecidos vegetais causado pela ação das polifenoloxidasas. Infere-se que as menores atividades apresentadas nos tratamentos, nos quais utilizou-se o binômio cálcio/calor, foi devido à atuação do cálcio na manutenção da integridade celular do tecido da polpa, que foi facilitada pelo aquecimento da solução e pelo efeito do próprio calor na diminuição da atividade da enzima. Wills et al. (1989) reportam que a atividade de enzimas em frutos e hortaliças declina a temperaturas acima de  $30^\circ\text{C}$ , mas que a maioria das enzimas é inativada a  $40^\circ\text{C}$ . Neste trabalho, como as temperaturas utilizadas para tratamento dos

frutos foram de 38 e 40°C, sugere-se que realmente esse fator possa ter contribuído para o decréscimo da atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase, apesar da temperatura interna dos frutos submetidos aos diversos tratamentos não ter ultrapassado os 30°C (Figura 5).

Ao comparar-se os aumentos na atividade polifenoloxidásica e o índice escurecimento interno, pode-se deduzir que há uma estreita relação entre essas duas variáveis. Esses resultados confirmam a teoria de "chilling" proposta por Lyons (1973) e Morris (1982), relataram que, quando os frutos são expostos a baixas temperaturas, há aumentos na atividade de enzimas, tais como a PER e PFO. Já Scott e Wills (1975) evidenciaram que, embora várias enzimas possam estar envolvidas no processo de escurecimento enzimático de muitos frutos e vegetais, a polifenoloxidase apresenta-se como a mais importante. Os resultados encontrados foram similares aos de vários autores, tais como Paull e Rohrbach (1985), Vukomanovic (1988), Abreu (1991 e 1995) e Botrel (1991), que também obtiveram maior atividade polifenoloxidásica nos frutos mais sensíveis ao escurecimento interno.

#### **4.13 Acidez titulável total (ATT)**

Os teores de acidez titulável total variaram de 0,75 a 0,80% de ácido cítrico, conforme pode-se observar na Figura 15. Não obstante, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os tratamentos estudados (Tabela 1A). Demonstra-se, dessa forma, que a utilização do cálcio e o tempo de imersão não exerceram influência nessa variável. Holland (1993), trabalhando com pêssegos, verificou que a aplicação de  $\text{CaCl}_2$  propiciou um menor declínio da acidez titulável, quando comparado a outros tratamentos, nos

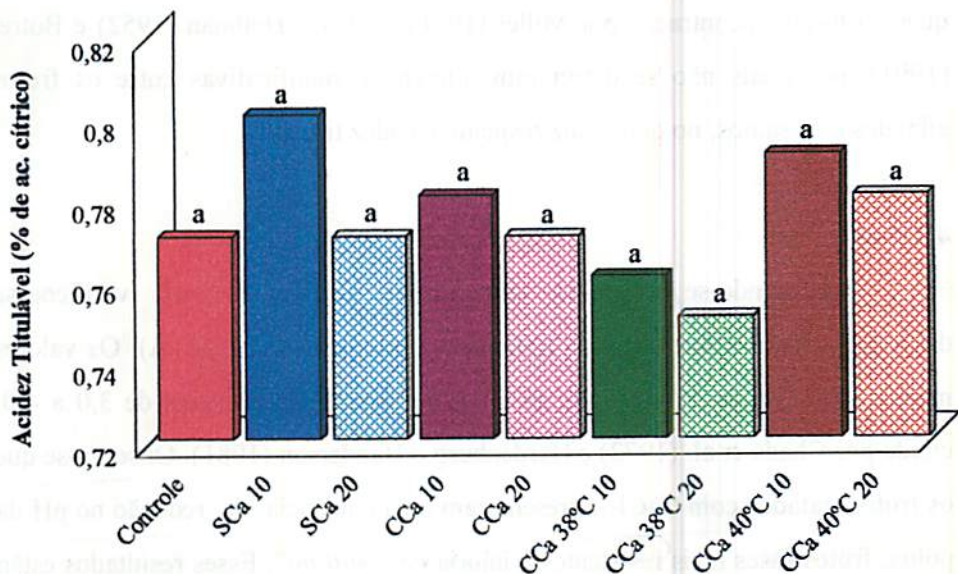


FIGURA 15. Representação gráfica e comparação dos teores de acidez titulável total (ATT) em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associados a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

quais não utilizou-se cálcio. Porém, quando se associou à intermitência da temperatura, o tratamento com cálcio não propiciou tal efeito.

Comparando-se os resultados da acidez titulável ao índice de escurecimento interno, verifica-se que a acidez titulável não exerceu influência na manifestação da injúria de "chilling". Van Lelyveld e De Bruyn (1976) constataram um significativo decréscimo nos ácidos cítrico e málico, com a manifestação da injúria de "chilling" em abacaxis, embora tenham evidenciado que a acidez titulável não desempenhe um importante papel no desenvolvimento do escurecimento interno do abacaxi. Resultados similares ao trabalho em

questão foram encontrados por Miller (1951), Miller e Heilman (1952) e Botrel (1991), nos quais não se detectaram diferenças significativas entre os frutos afetados e os sadios, no que se diz respeito à acidez titulável.

#### 4.1.4 pH

Procedendo-se à análise dos valores médios de pH, verificou-se diferenças significativas entre os tratamentos estudados (Tabela 1A). Os valores médios variaram de 3,54 a 3,40, os quais se enquadram na faixa de 3,0 a 4,0, citada por Chada et al. (1972) e Hardenburg e Handerson (1981). Observa-se que os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  apresentaram uma tendência de redução no pH da polpa, frutos esses mais resistentes à injúria de "chilling". Esses resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Teisson, Martin-Prevel e Marchal (1979) e Vukomanovic (1988), nos quais detectaram-se maiores valores de pH nos frutos mais sensíveis à injúria.

Analisando-se o tempo de imersão, apesar de não significativo, observou-se uma tendência de redução no pH quando o tempo de imersão foi aumentado de 10 para 20 minutos, mesmo nos tratamentos em que não se utilizou o cálcio.

Segundo Braverman (1967), o pH dos tecidos vegetais desempenha um importante papel nos fenômenos de escurecimento, e os decréscimos no pH natural diminuem apreciavelmente a velocidade de escurecimento. Neste trabalho, houve uma certa conexão entre os menores valores de pH e menores índices de escurecimento.

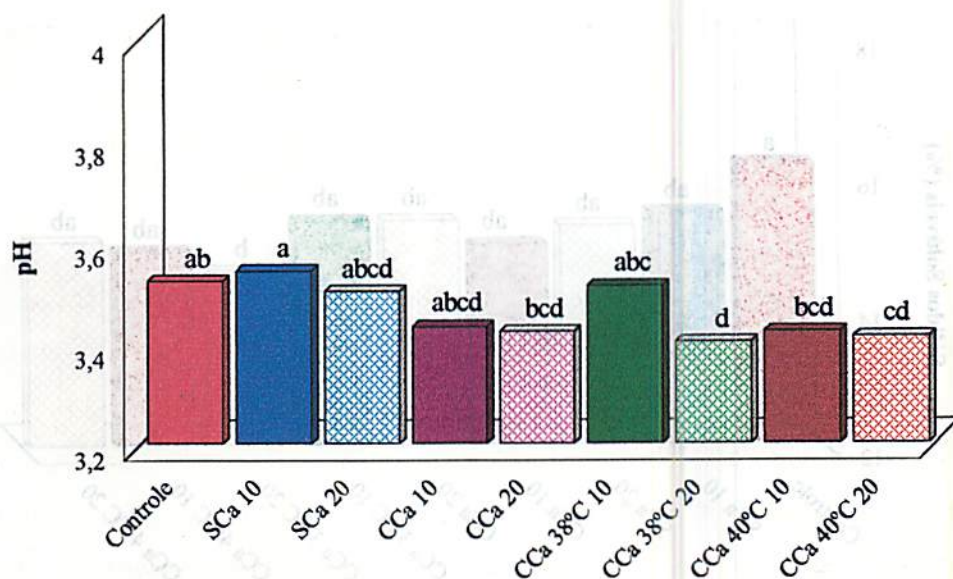


FIGURA 16. Representação gráfica e comparação dos pH em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associados a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

#### 4.15 Sólidos solúveis totais(SST)

Os teores de sólidos solúveis totais apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 1A). O menor valor de SST foi apresentado pelos frutos tratados com cálcio em temperatura de  $38^\circ\text{C}$  por 20 minutos (14,57%), mas valores similares foram apresentados pelos demais tratamentos, à exceção do controle, cujo valor foi superior ao do referido tratamento (Figura 17).

Quando se compara o índice de escurecimento interno ao teor SST, verifica-se que nos frutos-controle, o maior teor de SST encontra-se associado a maiores índices de escurecimento interno. Analisando trabalhos realizados por

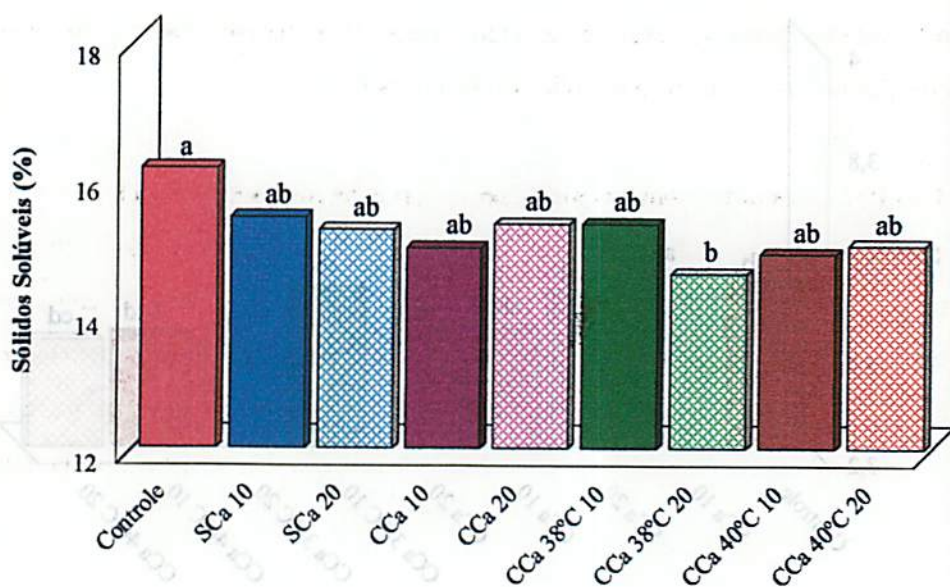


FIGURA 17. Representação gráfica e comparação dos teores de sólidos solúveis totais (SST) em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associadas a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

Miller (1951) e Miller e Heilman (1952) não se verificaram diferenças significativas no teor de sólidos solúveis entre os frutos sadios e os frutos afetados pela injúria. Todavia, Paull e Rohrbach (1982) detectaram decréscimos nos teores deste constituinte nos frutos afetados, citando que, apesar de não significativos, esse comportamento foi persistente nos vários experimentos realizados.

O valor observado para sólidos solúveis totais representa o conteúdo em açúcares, ácidos orgânicos e outros constituintes menores. Portanto, decréscimos

nos valores dessa variável representam teores mais baixos em um ou mais constituintes que compõem os sólidos solúveis totais.

#### 4.16 Relação sólidos solúveis totais/acidez titulável total (SST/ATT)

Conforme pode-se observar na Tabela 2A, a relação sólidos solúveis totais/acidez titulável total não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Demonstrando-se, dessa forma, que a imersão dos frutos em solução contendo ou não cálcio não influenciou nesta relação, mesmo quando comparada ao controle (Figura 18). A amplitude apresentada entre os tratamentos para a

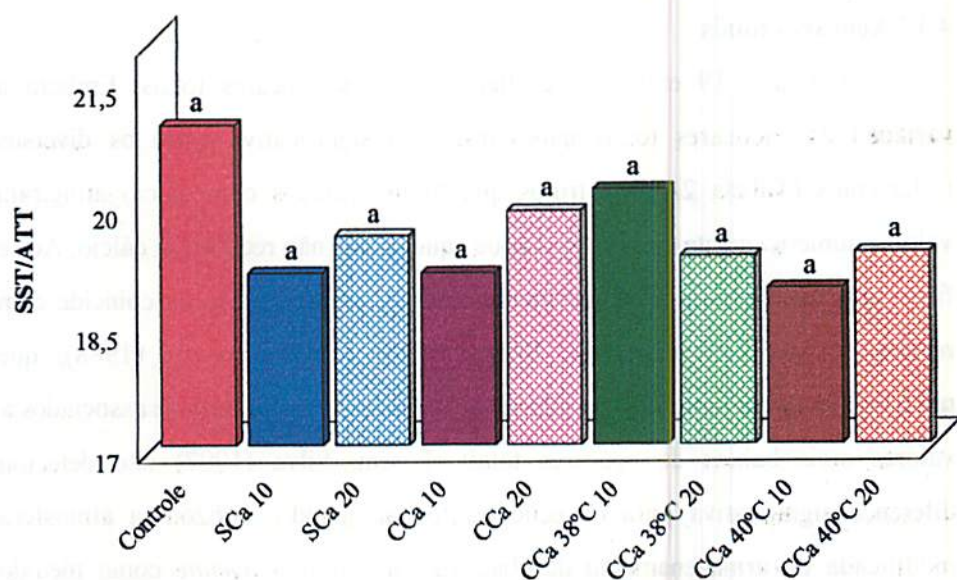


FIGURA 18. Representação gráfica e comparação da relação sólidos solúveis totais (SST) e acidez titulável (ATT) em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associada a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

relação sólidos solúveis/acidez titulável total foi de 18,92 a 20,94.

Entre os componentes químicos responsáveis pelo sabor e aroma do abacaxi, sobressai-se os açúcares e os ácidos, e o equilíbrio entre eles é fundamental e para sua aceitação no mercado consumidor. Os valores encontrados para essa relação, após o armazenamento dos frutos, podem ser considerados de médios (14,5-19,2) a altos (16,0-27,04), baseando-se na classificação de abacaxis citada por Bleinroth (1996). Tal resultado é considerado desejável, mesmo para os padrões europeus que têm preferido frutos de sabor mais doce.

#### 4.17 Açúcares totais

A Figura 19 exhibe os resultados para os açúcares totais. Embora a variação dos açúcares totais não tenha sido significativa entre os diversos tratamentos (Tabela 2A), os frutos que foram tratados com cálcio atingiram valores numericamente mais altos do que aqueles que não receberam cálcio. Ao se fazer um paralelo com o escurecimento interno, essa constatação coincide com relatos de Van Lelyveld e De Bruyn (1976) e Vukomanovic (1988), que observaram que os sintomas da injúria de "chilling" encontram-se associados a valores mais baixos de açúcares totais. Porém, Silva (1997) não detectou diferença significativa para os açúcares totais, quando utilizou a atmosfera modificada no armazenamento de abacaxis cv. *Smooth Cayenne* como método preventivo do escurecimento interno.

O escurecimento interno em maçãs, frequentemente se desenvolve durante o prolongado tempo de armazenamento, e está associado à acumulação de sorbitol no fruto. A aplicação de  $\text{CaCl}_2$  reduziu consideravelmente o teor de



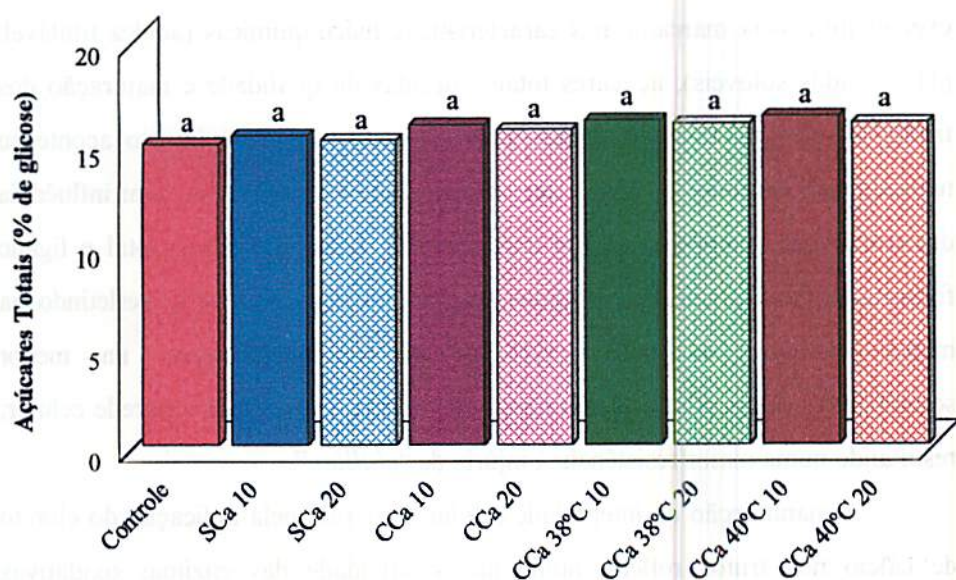


FIGURA 19. Representação gráfica e comparação dos teores de de açúcares totais em abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, associados a tratamentos hidrotérmicos por 10 e 20 minutos.

sorbitol e, conseqüentemente, o índice de escurecimento interno, além de retardar o amolecimento dos frutos quando os mesmos foram armazenados por 19 meses a 2,2°C e 1 semana a 23°C (Bangerth, Dilley e Dewey 1972). Neste trabalho, como não foi feita identificação dos açúcares, não foi possível relacionar o índice de escurecimento com os açúcares presentes.

#### 4.18 Considerações gerais

A utilização de  $\text{CaCl}_2$  como tratamento pós-colheita do abacaxi foi efetivo na redução do índice de escurecimento interno da polpa sem, contudo,

exercer influência marcante nas características físico-químicas (acidez titulável, pH e sólidos solúveis), açúcares totais, medidas da qualidade e maturação dos frutos. Perante tal comportamento, infere-se que o amadurecimento aconteceu naturalmente em todos os frutos que compuseram o experimento, sem influência dos tratamentos empregados. Em contrapartida, o teor de cálcio total e ligado foram significativamente aumentados com a utilização do  $\text{CaCl}_2$ , refletindo na menor atividade da poligalacturonase e, conseqüentemente, na menor solubilização das pectinas, conferindo, dessa forma, integridade à parede celular, resultando numa maior resistência à injúria de "chilling".

A manutenção da integridade celular conferida pela aplicação do cloreto de cálcio nos frutos refletiu numa menor atividade das enzimas oxidativas (peroxidase e polifenoloxidase), poligalacturonase e fenilalanina amônio liase, resultando em um menor índice de escurecimento, isso talvez devido à menor possibilidade de contato enzimas substratos e menores disponibilidade de fenólicos.

Como a utilização de  $\text{CaCl}_2$ , associado ao tratamento hidrotérmico, contribuiu para aumentar o teor de cálcio total, reduzir a porcentagem de pectina solúvel, as atividades da peroxidase e polifenoloxidase e uma tendência de reduzir, também, os teores de compostos fenólicos com conseqüente redução no índice de escurecimento interno dos frutos, sugere-se que novos trabalhos sejam realizados a fim de confirmar a sua eficácia. Paralelamente, pode ser relevante o estudo do efeito do  $\text{CaCl}_2$ , com ou sem associação ao tratamento hidrotérmico, como tratamento pós-colheita em abacaxis armazenados em temperatura ambiente, visando ao prolongamento da vida útil de frutos destinados à comercialização no mercado interno, uma vez que nesse caso os frutos não são refrigerados.

## 5 CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos nas condições experimentais do presente trabalho, conclui-se que:

- Os abacaxis analisados no dia da colheita não apresentaram nenhum sintoma de escurecimento interno.

- Após sete dias de armazenamento refrigerado todos os frutos apresentaram sintomas de escurecimento interno.

- A aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2% reduziu acentuadamente o índice de escurecimento interno em relação ao fruto-controle. Os percentuais de redução de escurecimento interno apresentado pelos frutos após 7 dias do término do armazenamento refrigerado foram S $\text{Ca}10$  12,77%, S $\text{Ca}20$  25,18%, C $\text{Ca}10$  63,49%, C $\text{Ca}20$  74,66%, C $\text{Ca}3810$  73,02%, C $\text{Ca}3820$  89,54%, C $\text{Ca}4010$  80,54% e C $\text{Ca}4020$  85,81%.

- O tratamento com  $\text{CaCl}_2$  a 2% aumentou os teores de cálcio total dos frutos e de cálcio ligado à parede celular, sendo o aumento no cálcio total mais acentuado quando associado ao tratamento hidrotérmico (38 e 40° C).

- O tratamento com  $\text{CaCl}_2$  conferiu aos frutos menor atividade poligalacturonase e menor solubilização de pectinas, indicando que o aumento no cálcio ligado propiciou maior integridade da parede celular, menor desestruturação da membrana e, conseqüentemente, menor escurecimento interno.

- Os frutos tratados com  $\text{CaCl}_2$  apresentaram menores atividades de PFO, PER e FAL e menores teores de compostos fenólicos, que são enzimas e substratos envolvidos nas reações oxidativas responsáveis pelo escurecimento dos frutos.

- O tratamento hidrotérmico associado à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  a 2%, independente do tempo de imersão, diminuíram a solubilização de pectinas, as atividades da PER e PFO, indicando o efeito do cálcio na integridade da parede celular, e da temperatura no decréscimo da atividade enzimática e, conseqüentemente, no escurecimento dos frutos.

- A aplicação de  $\text{CaCl}_2$ , independente da associação com tratamento hidrotérmico, não teve efeito na maturação dos frutos por não afetarem a ATT, SST, SST/ATT e açúcares totais (parâmetros medidores de maturação).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.M.P.de. Alterações no escurecimento interno e na composição química do abacaxi cv. Smooth cayenne durante seu amadurecimento com e sem refrigeração. Lavras: ESAL, 1991. 72p. (Tese Mestrado em Ciências dos Alimentos).

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. Lavras: UFLA, 1995. 94p. (Tese- Doutorado em Ciências dos Alimentos).

AKAMINE, E.K. Postharvest control of endogenous brown spot in fresh Australian roith heat. *HortScience*, Montvernon, v.11, n.6, p.568-578, Dec. 1976.

AKAMINE, E.K.; GOD, T.; STEEPY, T.; GREIDANUS, T.; IAOKA, N. Control of endogenous brown spot of fresh pineapple in postharvest handling. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.100, n.1, p.60-65, Jan. 1975.

ARAÚJO, J.M.A. Química de alimentos: teoria e prática. Viçosa: UFV, 1995. 335p.

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

BANGERTH, F., DILLEY, D.R., DEWEY, D.H. Effect of postharvest calcium treatment on internal breakdown and respiration of apple fruits. *Journal American Society Horticultural Science*, Alexandria, v.97, n.5, p.679-682. Sep. 1972

BARTOLOMÉ, A.P.; FÚSTER, C. Pineapples fruit: morphological characteristics, chemical composition and sensory analysis of Red Spanish and Smooth Cayenne cultivars. *Food Chemistry*, London, v. 53, p.75-79, 1995.

BITTER, V.; MUIR, H.M. A modified uronic acid carbazole reaction. *Analytical Biochemistry*, New York, v. 34, p.330-334, 1962.

BLEINROTH, E.W. Colheita e beneficiamento. In: GORGATTI NETTO et al. **Abacaxi para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita.** Ministério da Agricultura e Abastecimento, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais. Brasília: Embrapa-SPI, 1996. p.16-27. (Série Publicações Técnicas FRUPEX; 23).

BLEINROTH, E.W. Matéria prima. In: CAMPINAS. INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Abacaxi - Cultura, matéria prima, processamento e aspectos econômicos.** 2ed. rev. ampl. Campinas, 1987. p.133-164. (Série frutas tropicais,2).

BOTREL, N. **Efeito do peso do fruto no escurecimento interno e qualidade do abacaxi 'Somooth cayenne'.** Lavras: ESAL, 1991. 81p. (Tese - Mestrado em Fitotecnia).

BOTREL, N.; VILAS BOAS, E.V.B.; CARVALHO, V.D.de; TEIXEIRA, G.H.A. Influência do cálcio e tratamento hidrotérmico sobre o escurecimento interno do abacaxi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14, Curitiba, 1996. **Resumos...** Londrina: IAPAR, 1996. p.21.

BRAMLAGE, W.Y.; DRAKE, M.; LORD, W.J. The influence of mineral nutrition on quality and storage performance of pome fruits grown in North America, *Acta Horticultura*, The Hague, n.92, p.29-39, 1980.

BRASIL. Ministério da indústria, do Comércio e do Turismo. Secretaria do Comércio Exterior. **Abacaxi (Ananas) frescos ou secos.** Brasília: SECEX, 1997. 3p. (Fax: 225.5098).

BRAVERMAN, J.B.S. Vitaminas. In: **Introduction a la bioquímica de los alimentos.** Barcelona: Omega, 1967. cap. 14, p.206-39.

BRETT, C.; WALDRON, K. **Physiology and biochemistry of plant cell walls.** London: Unwin Hyman, 1990. 193p.

BURNS, J.K.; PRESSEY, R.  $Ca^{+2}$  in cell walls of ripening tomato and peach. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v.112, n.5, p.785-787, Sept. 1987.

CARVALHO, J.G.de.; OLIVEIRA JR., J.P.de.; PAULA, M.B.de.; BOTREL, N. **Influência dos nutrientes na qualidade de frutos.** **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.180, p.52-55, 1994.

CARVALHO, V.D.de.; BOTREL, N. **Características da fruta para exportação.** In: GORGATTI NETTO et al. **Abacaxi para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita.** Ministério da Agricultura e Abastecimento, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais. Brasília: Embrapa-SPI, p.16-27, 1996. (Série Publicações Técnicas FRUPEX, 23).

→ CARVALHO, V.D.de.; CHALFOUN, S.M.D.de. **Importância do cálcio na agricultura.** **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.15, n.170, p.17-28, 1991.

CHADHA, K.L.; MELANTA, K.R.; LODH, S.B.; SELVARAJ, Y. **Biochemical changes associated with growth and development of pineapple Kew. 1. Changes in physicochemical constituents.** **The Indian Journal of Horticulture**, Benglore, v.29, n.1, p.54-57, 1972.

COLLINS, J.L. **The pineapple. Botany, cultivation and utilization.** New York: World Crops Books, 1960. 294p.

CONWAY, W.S.; SAMS, C.E. **The effect of postharvest infiltration of calcium, magnesium, or strontium on decay, firmness, respiration, and ethylene production in apples.** **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 112, n.3, p. 300-303, May. 1987.

CONWAY, W.S.; SAMS, C.; WATADA, A.E. **Relationship between total and cell wall bound calcium in apples following postharvest pressure infiltration of calcium choride.** **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 398, p.31-39, 1995.

- COUEY, H.M.; Heat treatment for control of postharvest disease and insect pests of fruit. *HortScience*, Virginia, v.24, p.198-202, 1989.
- DAS, J.R.; BHAT, S.G.; GOWDA, L.R. Purification and characterization of indian pineapple fruit. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, Washington, n.45, p.2031-2035, 1997.
- 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.
- DULL, G.G. The pineapple: general. In: HULME, A.C. *The biochemistry of fruits and their products*. London: Academic Press, 1971. v.2, Cap.9A, p.303-324.
- EAKS, I.L. Effect of calcium on ripening, respiratory rate, ethylene production, and quality of avocado fruit. *Journal of American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.110, n.2, p.145-148, 1985.
- ECKERT, J.W. *Control of postharvest diseases, Antifungal compounds*. New York: Marcell Dekker, 1977. v.1, 600p.
- ESCKIN, N.A.M.; HENDERSON, H.M.; TOWNSEND, R.J. Reações de escurecimento nos alimentos. In: *Bioquímica de Alimentos*. New York: Academic Press, p.97-144. 1971.
- ESKIN, N.A.M. ; HENDERSON, H.M.; TOWNSED, R.J. *Biochemistry of Foods*. New York: Academic Press, 1971. 292p.
- FARIA, J.T.D.de. *Exportação de frutas e Hortaliças*. Lavras: ESAL, 1994. 37p. (Palestra Curso Pós-colheita de frutas e hortaliças).
- FENNEMA, O.R. *Química de los alimentos*. Zaragoza: Acriba, p.501-503. 1993.
- ¶ FERNANDES, P.M.G.C. *Armazenamento ambiente e refrigerado de melão, híbrido orange flesh, submetido à aplicação pós-colheita de cloreto de cálcio*. Lavras: UFV, 1996. 68p. (Tese - Mestrado em Fisiologia Vegetal).



- FISHER, M.; ARRIGONI, E.; AMADÒ, R. Changes in pectic substances of apples during development and postharvest ripening; part 2: Analysis of the pectic fractions. *Carbohydrate Polymers*, London, v.25, p.167-175, 1994.
- FISHER, R.L.; BENNET, A.B. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v.42, p.675-703, 1991.
- FISHMAN, M.L. Pectic substances. In: HUY, Y.H.(ed.). *Encyclopedia of Food Science and Tecnology*. New York: Wiley Interscience, 1992. v.3, p.2039-2043.
- FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola-LSPA*. Belo Horizonte, 1997.
- GARCIA, E.E.C.; GARCIA, A.E.; ARDITO, E.F.; BOLDIN, M.R. Embalagem. In: BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. *Abacaxi para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita*. Brasília: EMBRAPA, 1996. p.32-41.(Série Publicações Técnicas FRUPEX, 23).
- GERASOPOULOS, C.; CHOULIARAS, V.; LIONAKIS,S. Effects of preharvest calcium choride sprays on maturity and storability of Hayward kiwifruit. *Postharvest Biology and Tecnology*, Amsterdam, v.7, p.65-72, 1996.
- GIACOMELLI, E.J. *Expansão da abacaxicultura no Brasil*. Campinas: Fundação Cargill, 1982. 79p.
- GLENN, G.M.; POOVAIAH, B.W. Cuticular permeability to calcium compounds in 'Golden Delicious' apple fruit. *Journal of American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.110, n.2, p.192-195, 1985.
- GLENN, G.M.; POOVAIAH, B.W.; RASMUSSEN, H.P. Pathways of calcium penetration through isolated cuticles of 'Golden Delicious' apple fruit. *Journal of American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.110, n.2, p. 166-171, 1985.

GLENN, G.M.; REDDY, A.S.N.; POOVAIH, B.W. Effect of calcium on cell wall structure, protein phosphorylation and protein profile in senescence apples. *Plant and Cell Physiology*, Toquio, n.29, p.564-572, 1988.

GOLDSTEIN, J.L.; SWAIN, T. Changes in tannin in ripening fruits. *Phytochemistry*, Oxford, v.2, p.371-383, 1963.

GORGATTI NETTO, A.; GAYET, J.P.; BLEINROTH, E.W.; MATALLO, M.; GARCIA, A.E.; ARDITO, E.F.G.; GARCIA, E.E.C.; BORDIN, M.R. **Manga para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**, Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 44p. (Série Publicações Técnicas FRUPEX; 4)

GRAHAN, D.; PATERSON, B.D. Responses plants to low, nonfreezing temperatures: proteins, metabolism, and acclimation. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, v.33, p. 347-72, 1972.

GUERRA, N.B. **ABACAXI NO NORDESTE. Desenvolvimento, maturidade para colheita e fisiologia pós-colheita**. São Paulo: USP, 1979. 105p. (Doutorado em Ciência dos Alimentos).

HARDENBURG, R.E.; HANDERSON, R.E. Keeping qualities of "Stayman" and "Delicious" apples with calcium chloride, scald inhibitors, and other chemicals. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.106, p.6, n.776-779, Nov. 1981.

HARVEY, J.M. Reduction of losses in fresh market fruits and vegetables. *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto, v.16, p.321-341, 1978.

HEMEDA, H.M., KLEIN, B.P. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, Chicago, v.55, n.1, p.184-185, Jan/Feb. 1990.

→ HEPPLER, P.K.; WAYNE, R.O. Calcium and plant development. *Annual Review Plant Physiology*, Palo Alto, v.36, p.397-439. 1985.

- **HOLLAND, N. Conservação pós-colheita de pêssegos (cv. Biuti): interação entre cálcio e temperatura.** Lavras: ESAL, 1993. 116p. (Dissertação-Mestrado em Ciências dos Alimentos).
- HUDDAR, A.G.; BHARALI, B.C.; THIMARAJU, K.R.** Note on extension of storage of mango fruits by Tal-prolong. *Acta Horticulture*, Wageningen, v.231, n.2, p.668-669, 1988.
- HUET, R.** La composition chimique de l'ananas. *Fruits*, Paris, v.13, n.5, p.183-197, mai. 1958.
- ILKER, Y.; MORRIS, L.L.** Alleviation of chilling injury of okara. *HortScience*, Alexandria, v.10, p.324. 1975.
- JACKMAN, R.L.; YADA, R.Y., MARAGONI, A.; PARKIN, K.L.; STANLEY, D.W.** Chilling injury: a review of quality aspects. *Journal of Food Quality*, v.11, p.253-258, 1988.
- JEN, J.J.; ROBINSON, M.L.P.** Pectolytic in sweet Bell Peppers (*Capsicum annum* L.). *Journal of Food Science*, Chicago, v.9, n.4, p.1045-1087, 1984.
- JONES, A.L.; BURTON, C.** Heat and fungicide treatments to control postharvest brown rot of stone fruits. *Plant Disease Reporter*, Washington, v.57, n.1, p.62-66, 1973.
- JONES, D.H.** Phenylalanine ammonia lyase: Regulation of its induction, and its role in plant development. *Phytochemistry*, Oxford, v.23, p.1349-1359. 1984.
- KADER, A.A.** Postharvest Tecnoloy of Horticultural Crops. California: University California. 1992. 296p.
- KNEE, M.** Metabolism of polymethylgalacturonase in apple fruit cortical tissue during ripening. *Phytochemistry*, Oxford, v.17, n.5, p.1261-1264, 1978a.
- KNEE, M.** Properties of polygalacturonase and cell cohesion in apple cortical tissue. *Phytochemistry*, Oxford, v.17, n.5, p.1257-1260, 1978b.

LACOEUILHE, J.J. Cuidados com o fruto após a colheita In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ABACAXICULTURA, 1, Jaboticabal, 1982. Anais... Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal - UNESP, 1982. p.217-234.

LEE, Y.C.; HAMMES, J.K. Heat inactivation of peroxidase in corn on the cob. *Journal of Food Science*, Chicago, v.44, n.3, p.785-787, May/June. 1979.

LESTER, G. Calcium alters senescence rate of postharvest muskmelon fruit disks. *Postharvest Biology and Tecnology*, Amsterdam, v.7, p.91-96, 1996.

LESTER, G.E. Regulation of muskmelon fruit senescence by calcium. *Acta Horticulturae*, Wageningen, v. 398, p. 41-45, 1995.

LURIE, S.; KLEIN, J.D. Calcium and heat treatments to improve storability of 'Anna' apples. *HortScience*, Alexandria, v.27, n.1, p.36-39. 1992.

LYONS, J.M. Chilling injury in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, v.24, p.445-466, 1973.

MALAVOLTA, E. Função dos nutrientes na planta e qualidade dos produtos agrícolas. In: SIMPÓSIO SOBRE ADUBAÇÃO E QUALIDADE DOS PRODUTOS AGRÍCOLAS, 1, 1989, Ilha Solteira. Anais... Ilha Solteira: UNESP/ANDA/POTAFOS, 1989. p.1-41. (1ª Palestra).

MATAOO, A.K.; SUTTLE, C.J. *The plant hormone ethylene*. Florida: CRC Press, 1991. 337p.

MATOO, A.K.; MURATA, T., PANTASTICO, E.B.; CHACHIN, K.; OGATA, K.; PHAN, C.T. Chemical changes during ripening and senescence. In: *Postharvest Physiology Handling and Utilization of Tropical and Fruits and Vegetables*. Westport: The AVI Publishing, 1975. p.103-127.

no 3 (X) MATSUNO, H. ; URITANI, I. Physiological behaviorr of peroxidase isosymes in sweet potat root tissue injured by cuyting or with black rot. *Plant and cell Physiology*, Tóquio, v.13, p. 1091-1101, 1972.

- McCOLLUM, T.G.; DOOSTDAR, H.; MAYER, R.T.; Mc DONALD, R.E. Immersion of cucumber fruit in heated water alters chilling-induced physiological changes. *Postharvest Biological and Tecnology*, Amsterdam, v.6, p.55-64, 1995.
- McCOLLUM, T.G.; McDONALD, R.E. Tolerance of cucumbeer fruit to immersion in heated water and subsequent effects on chilling tolerance, *Acta Horticulture*, Wageningen, v.343, p.233-237, 1992.
- McCREADY, R.M.; McCOMB, E.A. Extraction and determination of total pectin materials in fruits. *Analytical Chemistry*, Washington, v.24, n.12, p.1586-1588, Dec. 1952.
- ⊗MILLER, E.V. Phisiological studies of fruits of the pineapple (*Ananas comosus* L. MEER. whith special reference to physiological breakdow. *Plant Physiology*, Washington, v.26, n.1,p.66-75, Jan. 1951.
- MILLER, E.V.; HALL, G.D. Distribution of the soluble solids, ascorbic acid, and bromelin activity of the natal pineapple. *Plant Physiology*, Washington, v.28, n.3, p.532-534, July. 1953.
- ⊗MILLER, E.V.; HEILMAN, A.S. Ascorbic acid and physiological breakdown in fruits of pineapple. *Science*, Washington, v.116, n.3019, p.505-506, Nov. 1952.
- 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.
- MITCHAM, E.J.; McDONALD, R.E. Cell wall modification during ripening of 'Keitt' and 'Tommy Atkins' mango fruit. *Journal of American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.117, n.6, p.919-924, 1992.
- MORRIS, L.L. Chilling injury of horticultural crops: an overview. *HortScience*, Mont Vernon, v.17, n. 2, p .161-165, Apr. 1982.
- 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.

OCHEI, C.O.; BASIOUNY, F.M.; WOODS, F.M. Calcium-mediated postharvest changes in storageability and fruit quality of peaches. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Delan, v.106, p.266-269, oct, 1993.

PALIYATH, G.; DROILLARD, M.J. The mecanisms of membrane deterioration and didassembly during de senescence. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.30, p.789-812, 1992.

PANTASTICO, E.B. Chilling injury. In: PANTASTICO, E.B. (Ed) **Postharvest physilogy, handling and utilization of tropical fruits and vegetables**. Westport: AVI, 1975. cap. 17, p.339-62.

PAULL, R.E. Postharvest handling of Smooth Cayenne pineapple in Hawaii for fresh fruit market. **Acta Horticulture**, Wageningen, n.334, p.273-285.1993.

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.

PAULL, R.E.; ROHRBACH, K.G. Juice caracteristecs and internal atmosfere of waxed Smooth cayenne pinneapple fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.107, n.3, p. 448-52, May 1982.

PERRING, M.A.; JACKSON, C.H. The mineral composition of apples. Calcium concentration and bitter pit in relation to mean mass per apple. **Journal of the Science of Food Agriculture**, Londres, v.26, p.1493-1502. 1975.

POOVAIAH, B.W.; NUKAYA, A. Polygalacturonase and cellulase enzymes in the rutgers and mutant rin tomato fruits and their relationship to the respiratory climateric. **Plant Phisiology**, Washington, v.64, p.534-537, 1979.

POOVAIH, B.W. Molecular and cellular aspects of calcium action in plants. **HortScience**, Alexandria, v.23, n.2, p. 267-271, Apr. 1988.

POOVAIH, B.W. Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. **Food Tecnology**, Chicago, p.86-89, May. 1986.

PRESSEY, R.; AVANTS, J.K. Separation and characterization the exopoligalacturonase and endopoligalacturonase from peaches. *Plant Physiology*, Washington, v. 52, p.252-256, 1973.

PY, C., LACOEUILHE, J.J.; TEISSON, C. L'ananas: sa culture ses produits. Paris: G.P. Maisonneuve et Larose, 1984.562p.

RAMTEKE, R.S.; GIPESON, W.; PARTWARDHAN, M.V. Behaviour of aroma volatiles during the evaporative concentration of some tropical fruit-juices and pulps. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v.50, n.3, p.399-405, 1990.

RATNER, A.R.; GOREN, R.; MONSELISE, S. Activity of pectinesterase and cellulase in the abscission zone of citrus leaf explants. *Plant Physiology*, Washington, v.44, p.1717-1723, 1969.

REED, G. *Enzyme in Food Processing*. New York, Academic Press. INC, 1975. 572p.

REED, G. *Enzymes in food processing*. New York: Academic Press, 1975. 573p.

RHODES, M.J.C. Enzyme activities and post harvest change. In: LIEBERMAN, M. ed. *Post Harvest*

RHODES, M.J.C.; WOOLTORTON, L.S.C. The effect of ethylene on the respiration and on the activity of phenylalanine ammonia lyase in swede and parship root tissue. *Phytochemistry*, Oxford, v. 10, p.1989-1997, 1971.

RHODES, M.J.C.; WOOLTORTON, L.S.C. Changes in the activity of enzymes of phenylpropanoid metabolism in tomatoes stored at low temperatures. *Phytochemistry*, Oxford, v.16 , n.6, p.655-6599, May. 1977.

→ RICARDO, C.P.P. Aspectos da fisiologia do cálcio nas plantas. *Garcia de orta, Série Estudos Agrônômicos*, Lisboa, v.10, n.1/2, p.65-76, 1983..

RIGNEY, C.J.; WILLS, R.B.H. Calcium movement, a regulating factor in initiation of tomato fruit ripening. *HortScience*, Alexandria, v.16, n.6,p.550-551, dec. 1981.

- RITENOUR, M.A.; AHRENS, M.J.; SALTVEIT, M.E. Effects of temperature on ethylene-induced phenylalanine ammonia lyase activity and russet spotting in harvest Iceberg lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.120, n.1, p.84-87. 1995.
- ROCHA, J.L. Colheita e fisiologia pós-colheita de abacaxi. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ABACAXICULTURA, 1. Jaboticabal, 1982. *Anais...* Jaboticabal: FCAV-UNESP, 1982. p.279-300.
- RODOV, V.; BEN-YEHOSHUA, R.; ALBAGLI, R.; FANG, D.Q. Reducing chilling injury and decay of stored citrus fruit by hot water dips. *Postharvest Biology and Tecnology*, Amsterdam, v. 5, p.119-127, 1995.
- ROIG, M.G.; RIVERA, Z.S.; KENNEDY, J.F. L-ascorbic acid: an overview. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, v.44, p.49-72. 1993.
- ROY, S.; CONWAY, W.S.; WATADA, A.E.; SAMS, C.E.; ERBE, E.F.; WERGIN, W.P. Heat treatment affects epicuticular wax structure and postharvest calcium uptake in 'Golden Delicious' apples. *HortScience*, v.29, n.9, p.1056-1058, 1994.
- SALUNKE, D.K.; DESAI, B.B. *Postharvest biotechnology of fruits*. Boca Raton: CRC Press, 1984. v.2, 194p.
- SAMS, C.E.; CONWAY, W.S.; ABBOTT, J.A.; LEWIS, R.J.; BEN-SHALOM, N. Firmness and decay of apples following postharvest pressure infiltration of calcium and heat treatment. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.118, n.5, p.623-627, Sept. 1993.
- SAMS, C.E.; LEWIS, R.J.; BEN-SHALOM, N. Firmness and decay of apples following postharvest pressure infiltration of calcium and heat treatment. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.118, n.5, p.623-627. 1993.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. *Análise Química de Plantas*. Piracicaba: ESALQ, 1974. 56p.
- SAVITICI, L.A.; GASPARINO, J.F.; LEITE, R.S.S.F.; BLISKA, F.M.M. Packing house e mercado para o abacaxi. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamentos de Alimentos*, Curitiba, v.14, n.2, p.181-204, jun/dez. 1996.



- SCALON, S.P.Q. **Qualidade do morango: efeito do  $\text{CaCl}_2$  sobre a parede celular e níveis residuais de benomil.** Lavras: UFLA, 1996, 105p. (Dissertação - Doutorado em Ciências dos Alimentos).
- SCHAFFER, B.; ANDERSEN, P.C.A. **Pineapple.** In: **Handbook of environmental physiology of fruit crops: Sub-tropical and tropical crops.** USA: CRC Press, 1994. v.2, p.243-293.
- 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.
- SGARBIERI, V.C. **Estudo da composição química do abacaxi.** *Boletim do Centro Tropical de Pesquisa e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, n.7, p.37-50, ago. 1966.
- SHARPLES, R.D.; JOHNSON, D.S. **The influence of calcium on senescence changes in apple.** *Annals of Applied Biology*, v.85, p.450-453,1977.
- SHEAR, C.B. **Calcium-related disorders of fruits and vegetables.** *HortScience*, Alexandria, v.10, n.4, p.361-365, 1975.
- SIGRIST, J.M. **Tecnologia de pós-colheita de frutos tropicais: manual técnico.** Campinas: ITAL, 1988. 220p.
- SILVA, E.C.da. **Efeito de doses de nitrogênio (nitrocálcio) e potássio (cloreto de potássio) na produção e em algumas características qualitativas dos frutos do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) cultivar Santa Clara, podado e adensado.** Lavras: ESAL, 1994. 92p. (Tese Mestrado).
- SILVA, J.M.da. **Uso de atmosfera modificada no armazenamento do abacaxi (*Ananas comosus* L. Merr.) cv. Smooth Cayenne.** Lavras: UFLA, 1997. 85p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- SMITH, L.G. **Cause and development of blackheart in pinneaples.** *Tropical Agriculture*, Trindad, v.60, n.1, p.31-5. Jan. 1983.
- SMITH, L.G. **Optmisation of fresh-market pineapple eating quality in Queensland.** *Acta Horticulture*, Wageningen, n.334, p.287-294. 1993.

- STROHECKER, R.; HENNING, H.M. **Analises de vitaminas: métodos comprobados.** Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.
- SWAIN, T.; HILLIS, W.G. The phenolic constituents of *Prunes doméstica*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.10, p.63-68, Jan. 1959.
- SWETE KELLY, D.E.; BAGSHA, W, J. Effect of fruit handling and fruit coatings on blachheart (internal brown spot) and other aspects of fresh pineapple quality. **Acta Horticulture**, Wageningen, n.334, p-305-316, 1993.
- TEISSON, C.; COMBRES, J.C. Le brunissement interne de l' ananas. III - Symptomatologie. **Fruits**, Paris, v.34, n.5, p. 315-329, May 1979.
- TEISSON, C.; MARTIN PREVEL, P.; COMRES, J.C. A propos du brunissement interne de l'ananas accident de la refrigeration. **Fruits**, Paris, v.33, n.1, p.48-50, jan. 1978.
- TEISSON, C. Etudes sur le brunissement interne de l'ananas. **Fruits**, Paris, v.27, n.9, p.603-612, sept. 1972.
- 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.; MARTIN-PREVEL, P.; MARCHAL, J. Le brunissement interne de l'ananas biochemique du phenomene. **Fruits**, Paris, v.34, n.5, p.329-339. mai 1979.
- VAN BUREN, J.P. The chemistry of texture in fruits and vegetables. **Journal of Texture Studies**, Westport, v.10, n.1, p.1-23, Jan. 1979.
- VAN BUREN, J. Fruits fenolics. In: HULME, A.C., ed. **The biochemistry of fruits and their products.** London: Academic press, 1970. v.1 p.269-304.
- VAN LELYVELD, L.J.; DE BRUYN, J.A. Sugars and organic acids associated with blachheart in cayenne pineapple fruits. **Agrochemophysica**, South Africa, v.4, n.8, p.65-68, Dec. 1976.

- VAN LELYVELD, L.J.; DE BRUYN, J.A. Polyphenoles, ascorbic acid and related enzyme activities associated with blackheart in cayenne pineapple fruit. *Agrochimica*, South Africa, v.9, n.1, p.1-6, Mar. 1977.
- VILAS BOAS, E.V.B.; BOTREL, N.; CARVALHO, V.D.de; CHITARRA, A.B.; TEIXEIRA, G.H.A. Modificações de componentes de parede celular do abacaxi submetido ao tratamento hidrotérmico com CaCl<sub>2</sub>. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14, Curitiba, 1996. Resumos... Londrina: IAPAR; 1996. p.22.
- VUKOMANOVIC, C.R. Efeito da maturação e da baixa temperatura na composição química e no escurecimento interno do abacaxi. Lavras: ESAL, 1988. 80p. (Dissertação Ciências dos Alimentos).
- WANG, C.Y. *Chilling injury of horticultural crops*. Boca Raton: CRC Press, 1990. 313p.
- WANG, C.Y. Chilling injury of tropical horticultural commodities. *HortScience*, Alexandria, v.29, n.9, 1994.
- WANKIER, B.N.; SALUNKE, D.K.; CAMPBELL, W.F. Effects of controlled atmosphere storage on biochemical changes in apricot and peach fruit. *Journal of the Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.95, n.5, p.604-609, 1970.
- WHEATLEY, C.C. *Studies on Cassava (Manihot esculenta GRANTZ) root post-harvest physiological deterioration*. Wye College: Lond, University of London, 1982. 246p.
- WIJERATNAM, R.S.; ABEYESAKERE, M.; SURJANI, P. Studies on black heart in pineapple varieties grown in Sri Lanka. *Acta horticulture*, Wageningen, n.334, p.317-324. 1993.
- WILLEY, R.C. Use of enzymes in and vegetable processing. IN: ORY, R.L.; ANGELO, A.J. *Enzymes in food and beverage processing*. Washington: ACS, 1977. p.198-208.
- WILLS, R.B.H.; MAHENDRA, M.S. Effect of postharvest application of calcium on ripening of peach. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, East Melbourne, v.29, p.751-753, 1989.

WILLS, R.B.H.; McGLASSON, W.B.; GRAHAM, D.; LEE, T.H.; HALL, E.G.  
Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit and  
vegetables. Cap.4, Effects of temperature, p.39-52, 1989. Cap.4, p.39-52.

YUEN, C.M.; CAFFIN, N.; BOONYAKIAT, D. Effect of calcium infiltration  
on ripening of avocados of different maturities. *Australian Journal of  
Experimental Agriculture*, v.34, p.123-126, 1994.

ZAMBRANO, J.; MANZANO, J. Influence du calcium sur la maturation et la  
conservation des mangues après leur récolte. *Fruits*, Paris, v.50, n.2, p.145-  
152, 1995.

ZUCKER, M. Induction of phenylalanine decarboxylase by light and its relation to  
chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. *Plant Physiology*,  
Baltimore, v.40, n.5, p.779-84, Sept. 1965.

1950

... ..  
... ..  
... ..  
... ..

**ANEXOS**

... ..  
... ..  
... ..

... ..  
... ..  
... ..  
... ..

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
A1	Resumo das análises de variância de escurecimento interno(E.I.), cálcio total, cálcio ligado, temperatura do fruto, acidez titulável (ATT) e sólidos solúveis (SST) apresentada pelos abacaxis submetidos à aplicação de CaCl <sub>2</sub> associado ao tratamento hidrotérmico.....	99
A2	Resumo das análises de variância de SST, SST/ATT, Açúcares totais , pectina total, pectina solúvel e % de pectina solúvel apresentada pelos abacaxis submetidos à aplicação de CaCl <sub>2</sub> associado ao tratamento hidrotérmico.....	100
A3	Resumo das análises de variância da poligalacturonase(PG), ácido ascórbico, fenólicos totais, fenilalanina amônio liase(FAL), peroxidase (PER), polifenoloxidase(PFO) apresentada pelos abacaxis submetidos à aplicação de CaCl <sub>2</sub> associado ao tratamento hidrotérmico.....	101

TABELA A1. Resumo das análises de variância de escurecimento interno (E.I.), cálcio total, cálcio ligado, temperatura do fruto, acidez titulável (ATT) e sólidos solúveis (SST) apresentada pelos abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  associado ao tratamento hidrotérmico.

Causas de variação	GL	Quadrados Médios					
		IE	cálcio total	cálcio ligado	temp.fruto	ATT	pH
Tratamento	8	754,7995**	0,0016*	0,000087**	9,0381**	0,0009 n.s	0,0123**
Resíduo	27	26,5648	0,0003	0,000006	0,3350	0,0005	0,0022
Média Geral		17,70	0,16	0,022	23,78	0,78	3,46
CV(%)		29,13	11,76	10,89	2,43	2,87	1,34

n.s., \*, \*\* não significativo e respectivamente significativo aos níveis de 5% e 1% de probabilidade pelo teste F.

TABELA A2. Resumo das análises de variância de sólidos solúveis (SST), relação sólidos solúveis/acidez titulável (SST/ATT), açúcares totais, pectina total, pectina solúvel e % de solubilidade apresentada pelos abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  associado ao tratamento hidrotérmico.

Causas de variação	GL	Quadrados Médios					
		SST	SST/ATT	Açúcares totais	pectina total	pectina solúvel	solubilidade
Tratamento	8	0,7574*	1,6053 n.s	0,7969 n.s.	267,6788 n.s.	986,5123**	1214,2543**
Resíduo	27	0,3667	1,1194	0,3989	100,7218	24,3278	26,6876
Média Geral		15,19	19,60	15,43	106,28	55,04	52,89
CV(%)		3,98	5,40	4,09	9,44	8,96	9,80

n.s., \*, \*\* não significativo e respectivamente significativo aos níveis de 5% e 1% de probabilidade pelo teste F.





TABELA A3. Resumo das análises de variância da polifenoloxidase (PFO), poligalacturonase (PG), vitamina C total, fenólicos totais, fenilalanina amônio liase (FAL), peroxidase (PER), polifenoloxidase (PFO) apresentada pelos abacaxis submetidos à aplicação de  $\text{CaCl}_2$  associado ao tratamento hidrotérmico.

Causas de variação	GL	Quadrados Médios					
		PFO	PG	Vitamina C	Fenólicos totais	FAL	PER
Tratamento	8	181,4797**	33,6110**	2,1622 n.s.	28,5399*	31604,0**	35.3966**
Resíduo	27	4,4781	1,3733	0,6135	6,7491	1670,3704	0,2480
Média Geral		16,26	15,61	15,38	54,07	328,33	6,40
CV(%)		13,01	7,51	5,09	4,80	12,45	7,81

n.s., \*, \*\* não significativo e respectivamente significativo aos níveis de 5% e 1% de probabilidade pelo teste F.