

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**JOILTON TAVARES CUNHA**

**QUALIDADE DOS FRUTOS DE SETE GENÓTIPOS DE ABACAXIZEIRO**

**VITÓRIA - ES**  
**2013**

**JOILTON TAVARES CUNHA**

**QUALIDADE DOS FRUTOS DE SETE GENÓTIPOS DE ABACAXIZEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, Área de Concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. José Aires Ventura

**VITÓRIA – ES**

**2013**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

C972q Cunha, Joilton Tavares, 1989-  
Qualidade dos frutos de sete genótipos de abacaxizeiro /  
Joilton Tavares Cunha. – 2013.  
66 f. : il.

Orientador: José Aires Ventura.  
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade  
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e  
Naturais.

1. Açúcares (Química orgânica). 2. Antioxidantes. 3.  
Odores. 4. Polpa de frutas. 5. Ananas. 6. Abacaxi. 7. Cultivar  
Vitória. I. Ventura, José Aires, 1954-. II. Universidade Federal  
do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. III.  
Título.

CDU: 57

---

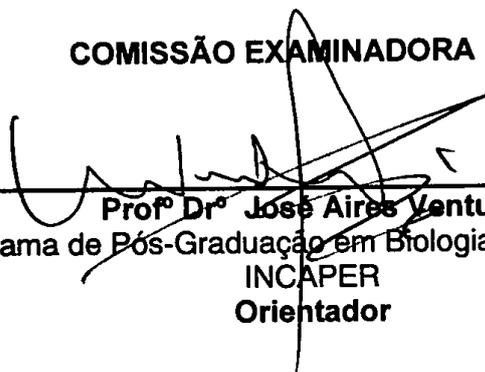
# JOILTON TAVARES CUNHA

## "Qualidade dos frutos de sete genótipos de abacaxizeiro",

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal na área de concentração Fisiologia Vegetal.

Aprovada em 22 de Fevereiro de 2013.

### COMISSÃO EXAMINADORA



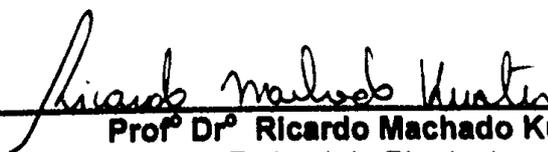
---

**Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> José Aires Ventura**  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal-UFES  
INCAPER  
Orientador



---

**Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Adelaide de Fátima Santana da Costa**  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - UFES  
INCAPER  
Examinador Interno



---

**Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Ricardo Machado Kuster**  
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ  
Examinador Externo

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo cuidado despretensioso e pela parceria desde muito pequeno.

Aos meus pais e ao meu irmão, por acreditarem tanto em mim, por terem me preparado para o mundo, por estarem tão próximos mesmo morando tão longe... Por toda a força que me dão em qualquer decisão que eu tome. Mal sabem eles que tudo o que eu sou é apenas o que eles me fizeram ser!

Aos meus avós, que quanto mais velhinhos ficam, mais significado tem pra mim. A minha vovó Quézia, por me fazer sentir tão bem, só pela sua presença.

Agradeço aos meus amigos por desempenharem essa função com tanto primor, por me fazerem cada vez mais dependente de cada um. Agradeço pelo ouvido e pelo ombro! E que sempre estejam por perto!

À turma do mestrado, pela amizade e pela troca de experiências. Agradeço muito ao Vini, ao Léo e à Thi, por formarmos um grupo tão divertido e tão mútuo e por nos tornarmos tão importantes um para o outro no Mestrado. Um salve especial pra Thi, pelas horas e horas de companhia no laboratório, no telefone, no carro, nos últimos seis anos! Você é pra sempre!

Aos Professores do PPGBV, em especial Do Carmo, Sílvia, Camilla, Valéria e Geraldo por cederem seus laboratórios, reagentes e equipamentos para que eu pudesse realizar meu experimento. Ao Ricardo, secretário do PPGBV, e à Bete, sempre pronta para o que der e vier, por cuidarem de nós nesses anos.

A toda a equipe do Laboratório de Alimentos e Nutrição Experimental da USP, pela recepção calorosa, pela ajuda nas análises e por me apresentarem Sampa! Agradeço muito ao Professor Eduardo Purgatto e à Lúcia, pela amizade e pelo conhecimento enriquecedor que me passaram sem hesitar.

Ao CNPq pelas bolsas, essenciais nesses dois anos.

Aos Professores Ricardo Kuster e Adelaide Costa por terem aceitado participar da banca avaliadora. Já agradeço pela contribuição valiosa.

Ao Professor Aires pela orientação de qualidade e pronto suporte.

*“Não vos conformeis com uma vida medíocre, sem grandes ideais”*

João Paulo II

## RESUMO

O abacaxizeiro exibe um mercado que movimenta anualmente cerca de US\$ 1 bilhão, é cultivado em mais de 50 países, sendo o Brasil o segundo produtor mundial. A expansão desse mercado está diretamente relacionada à produção de frutos de alta qualidade, o que exige esforços de pesquisadores na busca de genótipos superiores que agradem o consumidor pelo sabor, aroma, integridade da polpa e valor nutricional. O presente estudo caracterizou a polpa de diferentes genótipos de abacaxizeiro ('Smooth Cayenne', 'Pérola', 'Vitória', EC-117, EC-118, EC-119 e EC-122) com o objetivo de subsidiar a seleção de híbridos promissores e categorizar as cultivares já estabelecidas no mercado. Os frutos foram analisados quanto à composição de açúcares, acidez, umidade da polpa, perfil de elementos minerais, capacidade antioxidante total da polpa pelos métodos ABTS e DPPH, fenólicos totais, flavonoides e ácido ascórbico. Os frutos da cv. Vitória destacaram-se pelos maiores teores de potássio e ferro, pela grande quantidade de açúcares e pela polpa mais concentrada. Foram verificadas na cv. Pérola e no híbrido EC-119 frutos com baixa acidez e alto poder antioxidante, entretanto, a cv. Pérola mostrou-se a mais pobre nutricionalmente. O trabalho caracterizou os compostos voláteis dos três genótipos já inseridos no mercado, 'Vitória', 'Pérola' e 'Smooth Cayenne' e verificou que os frutos apresentam aromas semelhantes (com mais de 40 compostos) e os da cv. Pérola, uma maior concentração de notas cítricas. Em conjunto, o estudo avaliou as características associadas ao escurecimento interno da polpa desses genótipos. 'Vitória' e 'Smooth Cayenne' apresentaram o maior potencial de serem suscetíveis ao escurecimento interno da polpa visto que tiveram as menores concentrações de ácido ascórbico e enxofre e, conseqüentemente, menor atividade da polifenoloxidase e da peroxidase. Assim, evidenciou-se que dentre os sete genótipos, a cv. Vitória se destaca pelo sabor e riqueza de minerais na polpa, embora exija maiores cuidados para impedir o escurecimento interno e a cv. Pérola, mesmo mais resistente ao escurecimento, é pobre em minerais e tem baixo potencial de dulçor.

**Palavras-chave:** Açúcar, minerais, DPPH, aroma, polifenoloxidase (PPO), *browning*, *Ananas comosus*, cv. Vitória

## ABSTRACT

The pineapple shows a market that moves annually about US\$ 1 billion, is grown in over 50 countries, with Brazil being the world's second largest producer. The expansion of this market is directly related to the production of high quality fruit, which requires efforts of researchers in the pursuit of superior genotypes that delight the consumer by the taste, aroma, integrity and nutritional value of pulp. This study characterized the pulp of different genotypes of pineapple ('Smooth Cayenne', 'Pérola', 'Vitória', EC-117, EC-118, EC-119 and EC-122) with the aim of assisting the selection of promising hybrids and categorizes cultivars already established in the market. Fruits were analyzed as the composition of sugars, acidity, humidity pulp, mineral elements profile, pulp total antioxidant capacity by ABTS and DPPH methods, total phenolic, flavonoid and ascorbic acid. The fruits of cv. Vitória stood out by higher levels of potassium and iron, the large amount of sugars and the more concentrated pulp. Were observed in cv. Pérola and hybrid EC-119 fruit with low acidity and high antioxidant potential, however, cv. Pérola proved to be the most nutritionally poor. The study characterized the volatile compounds of three genotypes already in the market, 'Vitória', 'Pérola' and 'Smooth Cayenne' and found that the fruits have similar aromas (over 40 compounds) and cv. Pérola, a higher concentration of citrus notes. Together, the study evaluated characteristics associated with internal browning in this genotypes. 'Victory' and 'Smooth Cayenne' showed the highest potential to be susceptible to internal browning since it had the lowest concentrations of ascorbic acid and sulfur and, consequently, lower activity of polyphenol oxidase and peroxidase. Thus, it was evidenced that among the seven genotypes, cv. Vitória stands by taste and wealth of minerals in the pulp, although it requires greater care to prevent browning and cv. Pérola even more resistant to browning, is poor in minerals and has low sweetness potential.

**Keywords:** Sugar, minerals, DPPH, aroma, polyphenol oxidase (PPO), browning, *Ananas comosus*, cv. Vitória

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>ARTIGO 1: CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, BIOQUÍMICA E MINERAL, DO PERFIL DE AROMAS E DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DE SETE GENÓTIPOS DE ABACAXIZEIRO</b> .....	13
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
1    INTRODUÇÃO.....	15
2    MATERIAL E MÉTODOS.....	17
2.1    Material vegetal.....	17
2.2    Análises físico-químicas.....	17
2.3    Extração e determinação de açúcares.....	17
2.4    Extração e determinação de ácido ascórbico.....	18
2.5    Extração e determinação de fenólicos totais e flavonoides.....	18
2.6    Determinação da capacidade antioxidante.....	19
2.7    Extração e determinação de proteínas solúveis.....	19
2.8    Umidade da polpa e determinação de elementos minerais.....	20
2.9    Análise do perfil de aromas.....	20
2.10   Análises estatísticas.....	20
3    RESULTADOS.....	21
3.1    Açúcares e acidez.....	21
3.2    Compostos antioxidantes.....	22
3.3    Umidade da polpa, proteínas solúveis e perfil de minerais.....	23
3.4    Perfil de aromas.....	24
4    DISCUSSÃO.....	26
5    CONCLUSÕES.....	37
AGRADECIMENTOS.....	37
REFERÊNCIAS.....	38

<b>ARTIGO 2: AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOQUÍMICA DE FATORES ASSOCIADOS À PREDISPOSIÇÃO AO ESCURECIMENTO INTERNO EM FRUTOS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE ABACAXIZEIRO .....</b>	<b>44</b>
RESUMO.....	44
ABSTRACT.....	45
1    INTRODUÇÃO.....	46
2    MATERIAL E MÉTODOS.....	48
2.1    Material vegetal.....	48
2.2    Determinação de enxofre, cálcio e potássio.....	49
2.3    Extração e determinação de fenólicos totais.....	49
2.4    Extração e determinação de ácido ascórbico.....	49
2.5    Extração e determinação das atividades da PPO, POD e PAL.....	50
2.6    Análises estatísticas.....	51
3    RESULTADOS.....	51
3.1    Fenólicos totais e ácido ascórbico.....	51
3.2    Concentrações de enxofre, cálcio e potássio.....	52
3.3    Atividade enzimática.....	52
4    DISCUSSÃO.....	53
5    CONCLUSÕES.....	59
AGRADECIMENTOS.....	60
REFERÊNCIAS.....	60
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>64</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>65</b>

## INTRODUÇÃO

O abacaxi é apreciado em todo o mundo por sua qualidade sensorial, agradando a visão, o olfato e o paladar, além de apresentar reconhecido valor nutritivo e qualidades terapêuticas, o que tem determinado sua grande demanda e importância econômica (CUNHA; CABRAL; SOUSA, 1999; PINHEIRO; VILAS BOAS; LIMA, 2005). No cenário mundial de frutas, ele é um dos produtos tropicais mais famosos devido ao seu atrativo sabor e refrescante equilíbrio entre os gostos ácido e doce e a sua versatilidade de consumo *in natura* ou após processamento, na forma de: suco, suco concentrado, polpa, conserva, liofilizado, entre outros (BARTOLOMÉ; RUPEREZ; FUSTER, 1995; REINHARDT, 2004).

O abacaxizeiro é a terceira frutífera mais cultivada no mundo e exibe um mercado que movimenta anualmente cerca de US\$ 1 bilhão de dólares, é cultivado em mais de 50 países, sendo o Brasil o segundo produtor mundial (FAO, 2013). Este fato se relaciona às excelentes características qualitativas dos frutos que refletem em importância sócio-econômica (CARVALHO; BOTREL, 1996).

A produção mundial se desenvolveu a partir de 1500, quando o abacaxi foi levado da América para a Europa e de lá distribuído por todos os trópicos. O comércio internacional é dominado por poucas empresas multinacionais que desenvolveram a infraestrutura para processar e comercializar o fruto. A cultivar mais famosa é Smooth Cayenne, que da Guiana Francesa foi introduzida na Europa (BARTHOLOMEW; PAULL; ROHRBACH, 2003).

No Brasil, a produção está concentrada principalmente nas regiões Nordeste, Sudeste e Norte (IBGE, 2011) e as cultivares comerciais para consumo *in natura* mais produzidos são o 'Pérola' com maior área de cultivo predominantemente nos estados da região Nordeste, e o 'Smooth Cayenne' com grande importância econômica nos estados do Sudeste, principalmente em São Paulo e Minas Gerais (BENGOZI, 2006; SPIRONELLO, 2010; GONÇALVES, 2000).

A qualidade em frutas e hortaliças é um conceito de difícil definição por envolver diversos atributos como: aparência visual (frescor, coloração, defeitos, deterioração), textura (firmeza, resistência e integridade do tecido), sabor, aroma, valor nutricional, segurança do alimento e adequação a um determinado uso (ABOTT, 1999; KADER, 2002; BARRETT; BEAULIEU; SHEWFELT, 2010). No caso do abacaxi, a maior parte dos consumidores prioriza a coloração da fruta, seguida da firmeza da polpa, do tamanho e da aparência, tendo a acidez do fruto como a principal causa de descontentamento (MIGUEL et al., 2007). No campo nutricional, visto também seu potencial antioxidante, o abacaxi tem sido incluído em grupos de alimentos associados à prevenção de doenças (HOSSAIN; RAHMAN, 2011; MHATRE et al, 2009).

Após a colheita dos frutos, sintomas de muitas desordens fisiológicas têm sido descritos em abacaxi, e a maioria desses sintomas só é evidente durante o armazenamento (COLLINS, 1960; ROHRBACH; APT, 1986). Segundo Botrel (1994) alguns problemas precisam ser solucionados para que o abacaxi nacional melhore a sua posição no mercado exportador, a exemplo da coloração verde da casca mesmo quando a fruta está madura e do escurecimento interno da polpa, causado pela exposição da fruta a baixas temperaturas. Este último, muito relacionado ao controle da atividade de determinadas enzimas como a polifenoloxidase e a peroxidase (INNOCENTI et al., 2007; MANEENUAM et al., 2007). A cultivar Smooth Cayenne, por exemplo, é relativamente resistente, mas historicamente o escurecimento interno de sua polpa têm sido de importância econômica e ocorrência suficientes para justificar práticas de controle.

O *flavor* é característico e particular de cada fruto, uma combinação de sabor e aroma que resulta de uma mistura complexa de açúcares, ácidos, sais, compostos amargos, como alcaloides e flavonoides, e compostos voláteis (SONG; FORNEY, 2008). A caracterização das variantes qualitativas constituintes do *flavor*, não só da acidez e da doçura (frequentemente usados como determinantes da qualidade sensorial do fruto), permite selecionar melhor híbridos promissores e categorizar as cultivares já estabelecidas no mercado.

A expansão da produção brasileira de abacaxi e do seu potencial para exportação mostra a necessidade de estudos sobre a fisiologia pós-colheita dos cultivares, para estabelecer parâmetros de produção, obtenção de frutos com maior qualidade e competitivo aos frutos produzidos por países exportadores (GONÇALVES, 2000). Essa evolução passa, obrigatoriamente, pela oferta de frutos de qualidade para o mercado consumidor (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Assim, é necessário que os novos cultivares introduzidos no mercado, principalmente os resistentes à fusariose, sejam estudados, tomando-se como base a fisiologia do fruto refletida nas suas características de qualidade, principalmente no que se refere às características sensoriais e nutricionais.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade dos frutos de sete diferentes genótipos de abacaxizeiro por meio da caracterização da composição química, bioquímica e mineral, dos aromas, da capacidade antioxidante da polpa e da sua potencial suscetibilidade ao escurecimento interno. O estudo foi dividido e executado em dois experimentos paralelos e optou-se pela apresentação dos resultados no formato de artigo científico, utilizando-se como padrão os periódicos *Food Chemistry* (Artigo 1) e *Postharvest Biology and Technology* (Artigo 2).

## CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, BIOQUÍMICA E MINERAL, DO PERFIL DE AROMAS E DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DE SETE GENÓTIPOS DE ABACAXIZEIRO

### Resumo

Frutos de sete genótipos de abacaxizeiro foram analisados quanto a sua composição de açúcares, acidez titulável, umidade da polpa e perfil de elementos minerais. Em conjunto, determinou-se a capacidade antioxidante total da polpa pelos métodos ABTS e DPPH, o conteúdo de fenólicos totais, flavonoides e ácido ascórbico e o perfil de aromas. Os resultados mostraram que a cv. Vitória e o híbrido EC-122 possuem os frutos com a polpa mais doce, mais concentrada, além de uma desejável relação SS/AT para o consumo *in natura*. Os frutos de alguns genótipos destacaram-se como boas fontes nutricionais de ferro e potássio ('Vitória' e EC-118) e cálcio (EC-122), ao passo que a cv. Pérola mostrou-se a mais pobre nutricionalmente. Os conteúdos de fenólicos totais e ácido ascórbico foram menores nas cvs. Vitória e Smooth Cayenne que, paralelamente, também mostraram a polpa com menor capacidade antioxidante total. O açúcar predominante nos frutos de todos os genótipos foi a sacarose. Os métodos ABTS e DPPH mostraram alta correlação positiva com o conteúdo de compostos antioxidantes. Os frutos mostraram aromas semelhantes e a cv. Pérola apresentou maior concentração de notas cítricas.

Palavras-chave: Açúcar, minerais, ABTS, DPPH, aroma, cv. Vitória

**Abstract**

Fruits of seven pineapple genotypes were analyzed according to sugar composition, titratable acidity, pulp moisture and mineral elements profile. Concurrently, the total antioxidant capacity of pulp was determined by the ABTS and DPPH assays, the total phenolics, flavonoids and ascorbic acid, along with aroma profile. The results showed that cv. Vitoria and hybrid EC-122 have a sweeter and more concentrated pulp and also a desirable SS/TA ratio for fresh consumption. The fruits of some of the genotypes stood out as good dietary sources of potassium and iron ('Vitória' and EC-118) and calcium (EC-122), while cv. Pérola was the least nutritional value. Total phenolics and ascorbic acid content was lower in cvs. Vitória and Smooth Cayenne which, in parallel, also showed a reduced pulp total antioxidant capacity. The predominant sugar in fruits of all genotypes was sucrose. ABTS and DPPH assays showed high positive correlation with the content of antioxidant compounds. The fruits showed similar volatile profiles and the cv. Pérola showed higher concentration of citrus notes.

Keywords: Sugar, minerals, ABTS, DPPH, aroma, cv. Vitória

## 1. Introdução

O abacaxi é a terceira fruta mais importante cultivada nos trópicos e subtropicais, depois da banana e do citros (Rohrbach et al., 2002). Segundo dados da FAO, na primeira década do século XXI, o Brasil acumulou uma produção de mais de 23 mil toneladas, se configurando como o maior produtor mundial da fruta nessa década. É uma das frutas tropicais mais consumidas no mundo e seu cultivo se distribui por diferentes países da Ásia, Américas, África e Oceania (Santos e Filho, 2011). Dentre as cultivares mais plantadas no Brasil, a 'Pérola' e a 'Smooth Cayenne' se destacam, sendo a primeira a mais produzida, mas ambas susceptíveis à fusariose, maior problema fitossanitário da cultura. Cultivares resistentes à fusariose já foram desenvolvidas e lançadas no mercado, como a cv. Vitória lançada em 2006 pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural - Incaper (Ventura et al., 2009) e a cv. Imperial, desenvolvida em 2003 pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (Cabral e Matos, 2005).

A acidez e a doçura são os dois fatores mais importantes da qualidade sensorial do fruto e podem variar entre cultivares (Hodgson e Hodgson, 1993; Saradhulhat e Paull, 2007). O teor de açúcares aumenta gradualmente durante os últimos estágios do crescimento do fruto (Bartholomew e Paull, 1986) e concentrações mais altas se relacionam positivamente com a aceitabilidade pelo consumidor (Bartolomé et al., 1996). A quantidade de ácidos também aumenta durante o crescimento, mas declina quando o fruto começa a amadurecer, sendo representada em média por 80% ácido cítrico e 20% ácido málico (Bartholomew et al., 2003; Singleton e Gortner, 1965; Smith, 1988). No entanto, o sabor que o fruto apresenta é resultado da interação desses dois fatores: o ácido cítrico pode alterar a percepção da sacarose (Schifferstein e Fritjers, 1990), assim, genótipos de abacaxizeiro podem ter açúcares suficientes, que altas concentrações de ácido cítrico reduziriam a doçura. Esse mascaramento de sacarose resulta em uma fruta mais ácida, sendo percebida como sendo azeda (Saradhulhat e Paull, 2007). Além do sabor, o perfil de compostos voláteis, que caracteriza o aroma, exerce uma forte influência na preferência do consumidor, sendo essencial para determinar

os atributos tanto de frutos frescos quanto de processados (Wei et al., 2011). Dentre os mais de 280 compostos que já foram identificados como voláteis do abacaxi, cerca de 30 estão efetivamente ligados ao aroma do fruto (Tokitomo et al., 2005).

Estudos apontam que antioxidantes alimentares de frutos e vegetais têm mostrado aumento da capacidade antioxidativa do plasma (Kaur e Kapoor, 2001) e que o alto consumo desses alimentos se associa à redução na incidência de doenças degenerativas na população, incluindo câncer (Bajpai et al., 2009; Cheung et al., 2003). Nos últimos anos, os consumidores vêm mostrando um hábito alimentar rico em produtos vegetais, a fim de reduzir riscos e controlar sua saúde (Mhatre et al., 2009). O abacaxi se enquadra bem nesse grupo de alimentos por apresentar um alto valor nutricional com boa oferta de vitaminas, além de apresentar minerais como o potássio, cálcio, fósforo e metais (Hossain e Rahman, 2011). Estudos recentes tem mostrado que frutos de abacaxi, sua casca e seu suco, exibem efeitos pronunciados de capacidade antioxidante, relacionado ao seu conteúdo fenólico (Guo e Zhang, 2009). Nos vegetais em geral, um grande número de substâncias é conhecido por sua capacidade antioxidante, sendo que os flavonoides e outros compostos fenólicos representam o grupo com a maior contribuição para essa atividade (Kang et al., 2003), em conjunto com a vitamina C (Diplock, 1994).

Ao lado das substâncias metabólicas, os minerais são reguladores essenciais de processos fisiológicos em humanos, e frutas são fontes importantes desses reguladores (Mirdehghan e Rahemi, 2007). Dentre os minerais exigidos em grande quantidade pelo corpo está o cálcio, que confere rigidez aos ossos (sais de cálcio associados ao fósforo) e desempenha funções em muitos, se não na maioria, dos processos metabólicos; o potássio que se mostra essencial para a síntese de proteínas e crescimento; e o magnésio que se relaciona com o metabolismo energético e síntese de ácidos nucleicos, por exemplo (Al-Gamdhí et al., 1994; Brown e Hebert, 1997). Além disso, mais de um terço de todas as proteínas requerem íons de metal para funcionar, como o ferro, essencial para o transporte de oxigênio pelos tecidos (Mascott et al., 1995), e a falta desses

íons pode causar um impacto significativo na saúde humana (Bertiniet al., 2001).

Dada a importância do abacaxi na economia do Espírito Santo e a potencialidade de seus compostos metabólicos, este estudo buscou caracterizar a composição química, bioquímica e mineral, o perfil de aromas e a capacidade antioxidante de frutos de sete diferentes genótipos de abacaxizeiro.

## **2. Material e métodos**

### *2.1. Material vegetal*

Foram usados neste estudo frutos de sete genótipos de abacaxizeiro ('Smooth Cayenne', 'Pérola', 'Vitória', EC-117, EC-118, EC-119 e EC-122) produzidos pelo Incaper, na Fazenda Experimental de Sooretama, Espírito Santo, e colhidos no estágio de maturação 4 (Py et al., 1987). Os frutos foram transportados para o laboratório e armazenados em temperatura ambiente até serem processados. A região do terço mediano foi retirada e imediatamente congelada em nitrogênio líquido e as amostras mantidas em ultra-freezer (-80°C). Posteriormente, as amostras foram trituradas em almofariz com a utilização de nitrogênio líquido e armazenadas em tubos plásticos a -80°C até que as análises fossem realizadas.

### *2.2. Análises físico-químicas*

Os teores de sólidos solúveis (SS) foram analisados por leitura direta em refratômetro, a 22°C, e expressos em °Brix. A acidez titulável (AT) foi aferida por titulação com NaOH 0,1 N de uma suspensão de 10 g de polpa processados em 50 mL de água destilada, considerando o pH 8,2 como ponto de virada. O resultado foi expresso em porcentagem de ácido cítrico (AOAC, 1992). O *ratio* foi calculado a partir da relação SS/AT.

### *2.3. Extração e determinação de açúcares*

Os açúcares solúveis foram extraídos, a partir de 0,5 g da polpa dos frutos, com etanol 80%, a 80°C por três vezes, os sobrenadantes foram combinados e o volume foi levado a 25 mL. Uma alíquota de 1 mL do extrato etanólico foi concentrada a vácuo, a 45°C e o volume reconstituído com água. Os açúcares solúveis foram determinados por cromatografia a líquido com detecção por amperometria de pulso em um sistema Dionex DX-500, equipado com coluna CarboPac PA1 (4'250 mm) em corrida isocrática com fluxo de 1mL/min de NaOH 18 mM, durante 25 min (Mainardi et al., 2006). Os resultados foram expressos como mg/100g de massa fresca do fruto e foram utilizados para aferir a doçura relativa de acordo com Byrne et al. (1991), sendo esta a soma do conteúdo de sacarose (x 1,00), de frutose (x 1,73) e de glicose (x 0,74) e dividido por 10.

#### *2.4. Extração e determinação de ácido ascórbico*

Os teores de ácido ascórbico foram determinados como descrito por Pasternak et al. (2005). Foram homogeneizadas 0,3 g de polpa em 3 mL de solução de ácido metafosfórico 3%, centrifugadas por 20 min a 10000 x g e filtradas. Para as análises de ácido ascórbico total, 250 µL da amostra foram diluídos com 250 µL de solução de ditioneitol (DTT) 0,2 M em tampão Tris 0,2 M (pH ~6,0). Após 30 min, foram adicionados 500 µL de fase móvel (pH ~3). A leitura aconteceu nas seguintes condições: coluna µBondapak C18 (Waters) (300 x 4,6 mm), fase móvel cloreto de potássio 2 mM pH 2,5, fluxo isocrático 0,8mL/min, temperatura da coluna 30°C, detecção por UV em 245 nm. Os resultados foram expressos como mg/100g de massa fresca do fruto.

#### *2.5. Extração e determinação de fenólicos totais e flavonoides*

Amostras de 5 g de polpa foram maceradas em 30 mL de metanol 95% e a suspensão foi agitada por 3 h em mesa agitadora, a temperatura ambiente. O extrato foi filtrado e concentrado até o volume de 3 mL. A determinação de compostos fenólicos nos extratos foi feita usando reagente de Folin-Ciocalteu e calibração com ácido gálico segundo metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965). Adicionou-se a 30 µL de extrato, 0,2 mL de reagente de Folin-Ciocalteu em agitação. Depois de 4 min, 1 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 15% foi adicionado e

a mistura permaneceu por 2 h em temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 760 nm usando um espectrofotômetro ThermoScientific®, Genesys 10S. Uma curva de calibração foi feita utilizando-se ácido gálico como padrão e os resultados expressos em mg de ácido gálico/100g de massa fresca do fruto. O conteúdo de flavonoides totais foi determinado utilizando o método colorimétrico por cloreto de alumínio, como descrito por Willet (2002), com modificações. Extrato metanólico (500 µL), cloreto de alumínio 10% (100 µL), acetato de potássio 1 M (100 µL) e água destilada (700 µL) foram misturados e permaneceram em temperatura ambiente por 30 min. A absorbância foi medida a 415 nm utilizando um espectrofotômetro Thermo Scientific®, Genesys 10S. Quercetina foi usada para a curva de calibração e os resultados da concentração de flavonoides expressos em mg de quercetina/100g de massa fresca do fruto.

#### *2.6. Determinações da capacidade antioxidante*

A capacidade antioxidante total foi determinada utilizando o método ABTS, proposto por Arnao et al. (2001) com modificações; e utilizando o método DPPH, de acordo com Brand-Williams et al. (1995). O extrato para ambos os métodos foi obtido pela homogeneização de 1 g de polpa em 25 ml de metanol 70%, seguido de filtração. Para o método ABTS, as soluções estoque incluíram ABTS 7,4 mM e persulfato de potássio 2,6 mM. A solução de trabalho foi então preparada misturando as duas soluções estoque em quantidades iguais e incubando em temperatura ambiente por 12 h no escuro. 1 mL dessa solução foi diluído em 100 mL de metanol para obter em espectrofotômetro uma absorbância de 0,7 a 734 nm. Ao extrato metanólico dos frutos (20 µL) foram adicionados 2 mL de solução de ABTS<sup>•+</sup> que reagiram por 6 min e em seguida a absorbância foi lida a 734 nm. Para o método DPPH, utilizou-se solução metanólica de DPPH (50 mM). A absorbância da solução foi aferida e calibrada até apresentar o valor de 0,5 a 517 nm. Em microplaca, 200 µL de solução de DPPH foram adicionados a 40 µL de extrato e incubados no escuro por 20 min. A absorbância foi lida a 517 nm. Os resultados de ambos os testes foram expressos em mM de Trolox/g de massa fresca do fruto.

### 2.7. Extração e determinação de proteínas solúveis

O conteúdo de proteínas solúveis na polpa dos frutos foi extraído como descrito por Wang et al. (2007) e determinado de acordo com Bradford (1976) usando albumina de soro bovino (BSA) como padrão. Os resultados foram expressos como mg/g de massa fresca do fruto.

### 2.8. Umidade da polpa e determinação de elementos minerais

Amostras de 100 g de polpa dos frutos, descascados, foram reservados para secagem em estufa a 70°C até peso constante. A porcentagem de água no fruto foi calculada. Estas amostras secas foram preparadas para as análises dos elementos minerais em espectrofotômetro de absorção atômica no Laboratório de Química de Solos e Tecidos Vegetais do Incaper no CRDR-CS, utilizando metodologia própria para cada elemento mineral.

### 2.9. Análise do perfil de aromas

Para análise de voláteis utilizou-se a técnica de micro-extração em fase sólida (SPME) empregando uma fibra de polidimetilsiloxano de 100µm de espessura da Supelco®. As amostras das polpas de abacaxi foram preparadas e armazenadas em *vials* específicos para esta técnica, onde os componentes voláteis foram extraídos do *headspace*.

Foi utilizado o cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 6890 acoplado a um detector seletivo de massas da mesma empresa modelo 5973. A coluna cromatográfica empregada foi a Supelcowax 10 (tamanho 30 m, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura do filme). O programa de temperatura utilizado foi: 50°C até 150°C seguindo uma rampa de temperatura de 2°C por minuto permanecendo por 5 minutos. A temperatura da interface entre o cromatógrafo e o detector seletivo de massas foi de 230°C e a ionização foi feita por impacto de elétrons (70 eV) com a fonte de íons mantida a 150°C, com faixa de varredura de 50 a 550 m/z. A amostra foi dessorvida da fibra pela exposição ao calor do injetor do cromatógrafo (200°C) por 15 minutos.

A identificação dos componentes detectados foi feita através da comparação dos espectros de massas obtidos com os dados da biblioteca NIST98, sendo considerados com identificação positiva aqueles com índice de similaridade acima de 70%.

### 2.10. Análises estatísticas

No experimento, foram analisados oito frutos de cada genótipo sendo que estes compuseram duas amostras compostas, representando quatro frutos cada. As análises foram feitas com três repetições por amostra composta e os resultados apresentados pelas médias das leituras realizadas em triplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,01$ ). As análises de correlação foram realizadas pelo método de Pearson utilizando o software PAST – Paleontological Statistics, v 2.16 (Hammer et al., 2001). Para traçar o perfil de aromas, preparou-se um *pool* de três frutos para cada um das cultivares, que foram lidos em triplicata. Apenas as três cultivares já inseridas no mercado foram analisadas: 'Vitória', 'Smooth Cayenne' e 'Pérola'. Toda a análise desse perfil foi feita utilizando o software MetaboAnalyst 2.0 (Xia et al., 2012) e nas análises de componentes principais (PCA), os valores das áreas foram normalizados pela mediana.

## 3. Resultados

### 3.1. Açúcares e acidez

A cv. Vitória e o híbrido EC-122 apresentaram grandes teores de sólidos solúveis em °Brix e, paralelamente, os níveis mais elevados de açúcares totais, cerca de 200mg/g de massa fresca do fruto. Os outros cinco genótipos mostraram, entre si, quantidades de açúcares totais semelhantes (Tabela 1).

**Tabela 1.** Componentes sensoriais dos frutos de sete genótipos de abacaxizeiro: sólidos solúveis, açúcares totais, acidez titulável, *ratio*.

Genótipo	Sólidos solúveis	Açúcares totais	Acidez titulável	<i>Ratio</i>
	°Brix	mg/g	%	

EC-118	20,2 <sup>1</sup> ± 0,53 a	170,8 ± 4,7 b	0,97 ± 0,03 a	18,8 ± 0,6 c
Vitória	20,1 ± 0,32 a	205,8 ± 7,7 a	1,03 ± 0,03 a	19,4 ± 0,9 c
EC-122	19,3 ± 0,39 a	214,0 ± 10,5 a	0,79 ± 0,03 b	23,4 ± 1,1 b
EC-117	18,8 ± 0,50 a	177,1 ± 4,9 b	0,69 ± 0,04 b	29,0 ± 1,6 b
EC-119	16,6 ± 0,21 b	173,9 ± 5,9 b	0,28 ± 0,02 c	56,8 ± 2,9 a
Pérola	15,4 ± 0,28 b	158,6 ± 7,9 b	0,24 ± 0,01 c	60,4 ± 2,4 a
S.Cayenne	15,0 ± 0,21 b	158,1 ± 3,9 b	0,72 ± 0,02 b	19,5 ± 0,8 c
Média	17,9 ± 0,84	179,7 ± 8,3	0,67 ± 0,12	17,9 ± 0,84

<sup>1</sup>Médias de três repetições. Os valores estão acompanhados pelo respectivo erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,01$ ).

A cv. Vitória também mostrou o maior valor para acidez titulável, acompanhada pelo híbrido EC-118. Inversamente, a cv. Pérola e o híbrido EC-119 apresentaram os valores mais baixos para essa determinação, cerca de 60% menos acidez titulável que a média entre todos os genótipos. O *ratio* foi consideravelmente mais elevado para as cvs. Pérola e para o híbrido EC-119, dado os reduzidos valores de AT (Tabela 1). Sacarose foi identificado como o principal açúcar nos frutos, representando cerca de 75% do total (Tabela 2). O teor de frutose não variou entre os genótipos e o teor de glicose variou em pequenas proporções, sendo assim, a sacarose o açúcar responsável pelas diferenças vistas no teor total de açúcares. A doçura relativa foi maior para a cv. Vitória e para o híbrido EC-122 (Tabela 2).

**Tabela 2.** Conteúdo de açúcares em frutos de sete genótipos de abacaxizeiro e doçura relativa.

Genótipo	Açúcar (mg/g)			Doçura relativa <sup>2</sup>
	Sacarose	Glicose	Frutose	
EC-122	167,0 <sup>1</sup> ± 7,9 a	23,3 ± 0,8 ab	23,6 ± 1,8 a	22,5 ± 1,2 a
Vitória	163,2 ± 6,7 a	19,1 ± 0,5 c	23,5 ± 0,7 a	21,8 ± 0,8 ab
EC-117	129,6 ± 4,0 b	22,2 ± 0,5 abc	25,2 ± 0,7 a	19,0 ± 0,5 bc
EC-118	126,3 ± 3,5 b	19,9 ± 1,2 bc	24,6 ± 1,0 a	18,4 ± 0,5 c
EC-119	122,1 ± 3,4 b	25,7 ± 0,6 a	26,0 ± 0,7 a	18,6 ± 0,6 bc
Pérola	115,2 ± 5,7 b	20,7 ± 1,1 bc	22,7 ± 1,2 a	17,0 ± 0,9 c
S.Cayenne	114,4 ± 2,7 b	20,0 ± 1,4 bc	23,7 ± 1,0 a	17,0 ± 0,4 c
Média	134,0 ± 8,3	21,6 ± 0,90	24,2 ± 0,40	19,2 ± 0,8

<sup>1</sup>Médias de três repetições. Os valores estão acompanhados pelo respectivo erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,01$ ).

<sup>2</sup>Calculado como a soma do conteúdo de sacarose (x 1,00), de frutose (x 1,73) e de glicose (x 0,74) e dividido por 10.

### 3.2. Compostos antioxidantes

A concentração de antioxidantes variou entre os genótipos de forma que, de maneira geral, a cv. Pérola e os híbridos EC-117, EC-118 e EC-119 apresentaram os maiores teores para fenólicos, flavonoides e ácido ascórbico (Tabela 3). Dentre os três compostos antioxidantes determinados, o teor de fenólicos foi o que mais contribuiu para o conteúdo total dessas substâncias. As cvs. Vitória e Smooth Cayenne mostraram as menores concentrações de fenólicos totais e ácido ascórbico na polpa.

**Tabela 3.** Conteúdo de fenólicos totais, flavonoides e ácido ascórbico total; e atividade antioxidante total pelos métodos DPPH e ABTS em frutos de sete genótipos de abacaxizeiro.

Genótipo	mg/100g			μM Trolox/g	
	Fenólicos	Flavonoides	Ácido Ascórbico	DPPH	ABTS
EC-118	30,6 <sup>1</sup> ± 0,48 a	1,43 ± 0,05 bc	8,63 ± 0,08 b	2,55 ± 0,05 ab	3,27 ± 0,05 b
EC-119	30,0 ± 1,22 a	1,61 ± 0,05 ab	8,80 ± 0,16 b	2,51 ± 0,08 ab	3,4 ± 0,07 ab
Pérola	29,7 ± 0,60 a	1,65 ± 0,08 a	8,13 ± 0,19 b	2,58 ± 0,13 a	3,66 ± 0,06 a
EC-117	29,0 ± 0,48 a	1,27 ± 0,06 cd	10,2 ± 0,43 a	2,58 ± 0,03 ab	3,38 ± 0,05 b
EC-122	28,7 ± 0,51 a	1,15 ± 0,02 de	6,01 ± 0,09 c	2,22 ± 0,04 b	2,61 ± 0,05 c
S.Cayenne	19,1 ± 0,46 b	1,03 ± 0,04 e	3,20 ± 0,14 d	1,24 ± 0,08 c	1,70 ± 0,09 d
Vitória	16,7 ± 0,45 b	1,31 ± 0,02 cd	4,07 ± 0,14 d	1,43 ± 0,07 c	1,64 ± 0,07 d
Média	26,2 ± 2,2	1,35 ± 0,09	7,01 ± 0,99	2,16 ± 0,22	2,81 ± 0,32

<sup>1</sup>Médias de três repetições. Os valores estão acompanhados pelo respectivo erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,01$ ).

Os testes realizados para aferir a capacidade antioxidante total das amostras, DPPH e ABTS, refletiram o mesmo padrão exibido pela concentração das substâncias antioxidantes quantificadas, com ambos os métodos mostrando que as cvs. Vitória e Smooth Cayenne possuem a menor capacidade antioxidante dentre os diferentes genótipos analisados.

### 3.3. Umidade da polpa, proteínas solúveis e perfil de minerais

O teor de umidade da polpa foi de aproximadamente 80% para a cv. Vitória e para o híbrido EC-122, e de 85% para os outros genótipos. Os maiores teores de proteínas solúveis foram encontrados na cv. Pérola e no híbrido EC-119; 'Vitória' e 'Smooth Cayenne' mostraram as menores concentrações (Tabela 4).

**Tabela 4.** Conteúdo de umidade relativa da polpa, proteínas solúveis e teor de potássio (K), cálcio (Ca), fósforo (P) e magnésio (Mg) em frutos de sete genótipos de abacaxizeiro.

Genótipo	Macronutrientes (mg/100g)					
	Umidade (%)	Proteína (mg/g)	K	Ca	P	Mg
S.Cayenne	84,7 <sup>1</sup> ± 0,52 a	1,50 ± 0,11 c	223 b	24 b	18 c	13 ab
Pérola	84,6 ± 0,32 a	2,83 ± 0,08 a	178 c	15 b	11 d	8 b
EC-118	84,0 ± 0,21 a	2,45 ± 0,07 b	258 a	24 b	25 ab	13 ab
EC-119	83,9 ± 0,27 a	2,82 ± 0,03 a	248 a	23 b	23 b	15 a
EC-117	83,9 ± 0,37 a	2,43 ± 0,12 b	263 a	24 b	19 c	11 ab
Vitória	79,8 ± 0,33 b	1,57 ± 0,05 c	239 ab	24 b	11 d	10 ab
EC-122	78,5 ± 0,33 b	2,53 ± 0,05 ab	187 c	57 a	26 a	12 ab
Média	82,8 ± 0,95	2,30 ± 0,21	228	27	19	12

<sup>1</sup>Médias de três repetições. Para a umidade da polpa e proteínas, os valores são seguidos pelo erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,01$ ).

Dentre os macronutrientes, o que apareceu em maiores quantidades foi o potássio (K), seguido por cálcio (Ca), fósforo (P) e magnésio (Mg) (Tabela 4). Os híbridos EC-118 e EC-119 apresentaram os teores mais elevados de K, P e Mg. Para o híbrido EC-122, verificou-se o maior teor de Ca e para a cv. Pérola os menores teores de K, P e Mg dentre os diferentes genótipos avaliados.

Com relação ao teor de micronutrientes mostrado na Tabela 5, a cv. Vitória apresentou a maior concentração de manganês (Mn) e de ferro (Fe). A maior quantidade de zinco (Zn) foi verificada nos frutos do híbrido EC-117 e a maior concentração de cobre (Cu) na cv. Smooth Cayenne. A cv. Pérola mostrou o menor teor de Fe, Zn e Cu.

**Tabela 5.** Conteúdo dos micronutrientes: manganês (Mn), ferro (Fe), zinco (Zn) e cobre (Cu) em frutos de sete genótipos de abacaxizeiro.

Genótipo	Micronutrientes (mg/100g)			
	Mn	Fe	Zn	Cu
Vitória	1,92 <sup>1</sup> a	0,75 a	0,20 c	0,10 ab
S.Cayenne	1,52 ab	0,43 bc	0,16 d	0,10 ab
Pérola	1,30 b	0,35 c	0,13 e	0,07 c
EC-122	1,27 bc	0,64 a	0,20 c	0,11a
EC-119	1,12 bc	0,61 ab	0,23 b	0,09 bc
EC-117	1,06 bc	0,61 ab	0,27 a	0,07 c
EC-118	0,81 c	0,73 a	0,22 bc	0,10 ab
Média	1,29	0,59	0,20	0,09

<sup>1</sup>Médias de três repetições. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,01$ ).

### 3.4. Perfil de aromas

Foram identificados 44 compostos voláteis, levando em conta os critérios já citados no item 2.9, e todos apresentam características odoríferas, com as descrições dos odores apresentados na Tabela 6. Para avaliação desses resultados, no que diz respeito à caracterização do aroma das cvs. Vitória, Smooth Cayenne e Pérola, foi empregada a Análise de Componentes Principais (PCA) que reduz o número de variáveis e possibilita a visualização das correlações existentes entre elas.

**Tabela 6.** Substâncias voláteis detectadas por SPME em frutos de três cultivares de abacaxizeiro.

Substâncias detectadas	Vitória	Pérola	S. Cayenne	Descrição do odor <sup>1</sup>
Butanoato de metila	++	++	+++	Frutal, maçã
2-metilbutanoato de metila	++	+++	-	Floral
2-metilbutanoato de etila	++	-	-	Frutal, maçã
Pentanoato de metila	++	++	++	Frutal doce
Acetato de isoamila	++	+	-	Frutal, banana
Hexanoato de metila	++++	+++	++++	Frutal, abacaxi
Hexanoato de etila	++	+++	++	Frutal, alcoólico
4-hexenoato de metila	+	++	-	Frutal
Ocimeno	-	-	+	Floral
Hex-3-enoato de metila (E)	++	++	++	Frutal verde
Hex-3-enoato de metila (Z)	+	++	++	Frutal, floral
Heptanoato de metila	++	+++	++	Frutal doce
Hex-3-enoato de etila	+	-	-	Frutal doce
Heptanoato de etila	+	-	-	Frutal, abacaxi
Hept-4-enoato de metila	-	+	-	Frutal, abacaxi
Hept-3-enoato de metila	-	-	+	Frutal

Caprilato de metila	+++	++++	+++	Cítrico
Oct-4-enoato de metila	-	+	-	Frutal, abacaxi
Oct-3-enoato de metila (Z)	-	++++	++	Frutal, pera
Oct-3-enoato de metila	+	++	+	Frutal, fresco
1,3,5,8-undecatetraeno	+	+	+	Fresco
Octenoato de etila	++	+	+	Cera
$\alpha$ -cubebene	-	-	+	Herbáceo
Nonanoato de metila	-	+	-	Frutal, pera
Oct-2-enoato de metila	-	+	-	Frutal, pera
<hr/>				
Malonato de dimetila	++	++	++	Frutal
3-metilmercaptopropionato de metila	++++	+++	+++	Picante, acre
Linalool	+	+	+	Floral, cítrico, frutal
3-(Metiltio)propionato	++	++	++	Vegetal, cebola, alho
2-hidroxicaproato de metila	-	-	+	Frutal verde
3-acetoxibutanotato de etila	+	-	-	Frutal, abacaxi
Metoxifuraneol	++	-	+	Azedo, mofo
Decanoato de metila	+	++	+	Frutal
4-terpineol	+	-	-	Amadeirado, picante
Dec-4-enoato de metila	+	+	+	Frutal, manga, pera
3-hidroxiexanoato de etila	-	-	++	Cítrico, abacaxi
3-metiltio-(E)-prop-2-enoato de metila	+	+	-	Frutal
Acetato de benzila	+	+	-	Floral, doce, frutal
2-fenilacetato de metila	+	+	-	Mel
3-hidroxiocetanoato de metila	-	+	-	Frutal, abacaxi
Hidroxitolueno de butila	+	+	+	Cânfora
$\gamma$ -Octalactona	++	+	+	Coco, pera

3-ciclohexeno-1-carboxilato de metila	-	+	-	Frutal
δ-Octalactona	+	+	-	Coco, pera

+ (<10x10<sup>6</sup> unidades de área), ++ (>10x10<sup>6</sup> e < 10x10<sup>7</sup> unidades de área), +++ (> 10x10<sup>7</sup> e <10x10<sup>8</sup> unidades de área), ++++ (>10x10<sup>8</sup>), - (não detectado).

<sup>1</sup>Fonte: <http://www.thegoodscentscompany.com/>

#### 4. Discussão

O conteúdo de açúcares é um dos mais importantes componentes para determinar a qualidade de frutos e vegetais (Hong et al., 2013), incluindo o abacaxi, onde desempenha um importante papel na percepção da qualidade e na aceitabilidade do consumidor (Bartolomé et al., 1996; Nadzirah et al., 2013). Os principais açúcares solúveis encontrados em frutos de abacaxi são glicose, frutose e sacarose (Salunkhe e Desai, 1984). Durante o desenvolvimento do fruto, glicose e frutose são os açúcares predominantes, até seis semanas antes da colheita quando a sacarose começa a se acumular rapidamente e excede as concentrações dos monossacarídeos (Joomwong, 2006; Ladaniya e Mahalle, 2011). Dentre os sete genótipos, a cv. Vitória e o híbrido EC-122 apresentaram os maiores teores de açúcares totais, notavelmente mais elevados que os outros (Tabela 1) e as análises mostraram que a proporção de glicose, frutose e sacarose na polpa foi de aproximadamente 1:1:6 para a maioria dos genótipos (Tabela 2), valores superiores aos encontrados na literatura onde o total de sacarose em abacaxi varia em torno de dois-terços do total de açúcares (Bartolomé et al., 1996; Hong et al., 2013).

O teor de sólidos solúveis (SS) medidos em °Brix apresenta alta correlação positiva com o teor de açúcares totais e é aceito como importante fator de qualidade (Silva et al., 2003; Tehrani et al., 2011). Cerca de 98% dos sólidos solúveis totais nos sumos de frutos são hidratos de carbono, constituídos, fundamentalmente, por glicose, frutose e sacarose (Silva et al., 1999). Neste trabalho (Tabela 1) essa correlação foi verificada e os valores mais elevados de SS também foram para a cv. Vitória e para o híbrido EC-122, o que confere a estes genótipos uma qualidade superior (Bartholomew et al., 2003). Apesar de os outros genótipos apresentarem concentrações mais baixas de SS, todos são

comercializáveis dentro do estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através de portaria regulamentada em 2002 que restringe apenas a comercialização de frutos de abacaxi com teor de SS abaixo de 12 °Brix (MAPA, 2002; CQH, 2003).

Byrne et al. (1991) afirmou que a doçura do fruto é altamente dependente da composição de açúcares, porque diferentes açúcares diferem entre si em seu potencial de dulçor: enquanto a sacarose, tomada como referência, tem potencial igual a 1, a frutose tem um potencial igual a 1,73 e a glicose 0,74. A cv. Vitória e o híbrido EC-122, novamente, exibiram os maiores valores para a doçura relativa (Tabela 2). A doçura relativa dos frutos se correlacionou totalmente com o conteúdo total de açúcares ( $r = 1$ ) ao passo que apresentou uma correlação parcial com os valores de SS ( $r = 0,73$ ). Os valores de SS refletem a presença de todos os compostos opticamente ativos e, por isso, podem não se relacionar muito com a doçura do item analisado, como verificado por Byrne et al. (1991) e Echeverria e Ismail (1990).

A acidez em frutas e hortaliças está relacionada com a presença de ácidos orgânicos, que são substratos para a respiração e encontram-se dissolvidos nos vacúolos das células, tanto na forma livre, como combinados com sais, ésteres, glicosídeos (Camara, 2011). Os ácidos orgânicos refletem a qualidade do fruto por contribuírem, além da acidez, para o aroma característico devido à volatilidade de alguns componentes (Chitarra e Chitarra, 2005). Os dois principais ácidos presentes no abacaxi são o cítrico e o málico: 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 de quatro vezes maior que o do málico, contribuindo com 80% da acidez do fruto enquanto o málico com 20% (Bartholomew et al., 2003; Cunha e tal., 1999). Além desses, ainda são encontrados o ascórbico e o oxálico, porém em concentrações bem mais baixas (Carvalho e Cunha, 1999). Por isso, a acidez nos frutos é expressa, usualmente, como acidez titulável (AT) em porcentagem de ácido cítrico, que varia no abacaxi de 0,32% a 1,22% (Bleinroth, 1987), dependendo da cultivar, estágio de maturação do fruto, fatores climáticos e nutrição mineral (Carvalho

et al. 1998). Os frutos que apresentaram os maiores valores de AT foram da cv. Vitória e do híbrido EC-118, por volta de 1% (Tabela 1). Valores de AT relativamente baixos (geralmente, pouco abaixo de 1%) são considerados características que elevam o nível da qualidade dos frutos, no entanto, a acidez muito baixa também pode reduzir a qualidade (Sideris e Krauss, 1933), resultando em frutas com sabor brando, indesejadas para aqueles consumidores de frutos com níveis mais elevados de ácido. Os frutos do híbrido EC-119 e da cv. Pérola mostraram uma AT abaixo da média, e esta última mostrou a menor AT dentre os genótipos, 0,24%, o que pode estar conferindo a ela um sabor, como sugerido por Sideris e Krauss (1933), brando. A cv. Vitória e o híbrido EC-122 apresentaram maiores teores de SS, somados aos maiores valores de AT, atributos positivos para o seu uso na indústria de sucos e também para o consumidor do fruto *in natura* (Reinhardt et al., 2004).

Comercialmente, relação açúcar/ácido é considerada a medida mais real do sabor do fruto e, por isso, está entre os principais fatores que influenciam na aceitabilidade do consumidor (Joomwong, 2006; Saradhulhat e Paull, 2007). Smith (1988) destacou que a razão SS/AT, dentre nove parâmetros testados por ele, mostrou a maior correlação com a aceitabilidade, pois altos valores para a concentração de açúcares podem não sugerir necessariamente boa qualidade do fruto, visto que altas quantidades de citrato suprimem o sabor conferido pelos açúcares (Schifferstein e Fritjers, 1990). Como pontuado pelo trabalho de Singleton e Gortner (1965), frutos de abacaxi com razões SS/AT mais altas tenderam a ser melhor aceitos pelos consumidores (considerando o consumo *in natura*), especialmente os que apresentam valores aproximados a 22-23. Os dados apresentados na Tabela 1 mostraram que os frutos do híbrido EC-122 melhor se enquadraram nas faixas propostas, podendo ser considerados mais saborosos pelos consumidores. As cvs. Vitória e Smooth Cayenne também mostraram valores próximos, enquanto que a cv. Pérola e o híbrido EC-119 valores excessivamente altos, típicos de frutos de sabor brando.

Os consumidores desejam reduzir o risco de doenças ou controlar problemas específicos de saúde por meio de uma dieta balanceada (Pandhair e Sekhon,

2006). Grande consumo de frutas e vegetais tem sido associado a uma baixa incidência de doenças degenerativas (Bajpai et al., 2009). Os efeitos defensivos dos antioxidantes de frutas e vegetais estão relacionados com três grandes grupos: vitaminas, fenólicos e carotenoides. Ácido ascórbico e fenólicos são antioxidantes hidrofílicos, enquanto carotenoides são lipofílicos (Choi e Lee, 2009; Diplock, 1994; Halliwell, 1996). Estes antioxidantes estão frequentemente envolvidos na inibição de algumas condições clínicas incluindo problemas cardiovasculares e cânceres (Renaud et al., 1998; Temple, 2000). Plantas contribuem nessa área primariamente devido à atividade antioxidante de compostos fenólicos (Higdon e Frei, 2003; Jacob et al., 2008). Os dados apresentados na Tabela 3 permitem verificar que os frutos das cvs. Vitória e Smooth Cayenne mostraram as menores concentrações de fenólicos comparando com frutos dos outros genótipos. Dentre os compostos fenólicos, os flavonoides são considerados como um dos principais grupos, presentes principalmente como pigmentos e funcionando como antioxidantes potentes em vários níveis (Terao et al., 1994). As determinações feitas no trabalho (Tabela 3) apontaram que os flavonoides representam uma pequena parcela do total de fenólicos, pouco mais de 5%. Com relação aos teores de ácido ascórbico total (vitamina C), Gardner et al. (2000) verificaram que o abacaxi, em comparação com outras frutas, como citros por exemplo, possui um reduzido teor dessa vitamina e que ela contribui com cerca de 1% da capacidade antioxidante que ele possui. Dentre os sete genótipos analisados, cvs. Vitória e Smooth Cayenne apresentaram as menores concentrações de vitamina C, da mesma forma que nos fenólicos (Tabela 3). Os outros genótipos variaram de forma que o híbrido EC-117 teve o maior teor, 10,2mg/100g de massa fresca do fruto.

Atualmente, um amplo grupo de ensaios espectrofotométricos tem sido adotado para medir a capacidade antioxidante de frutas, vegetais e seus derivados (Floegel et al., 2011; Thaipong et al., 2006). Os mais populares vêm sendo os ensaios com ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) e com o 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), além do ensaio da capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) e da habilidade férrico redutora do plasma (FRAP) (Kim et al., 2002; Leong e Shui, 2002; Ou et al.,

2002; Thaipong et al., 2006). A Tabela 3 mostra a capacidade antioxidante total dos sete genótipos, em  $\mu\text{M}$  Trolox/g de massa fresca, medida utilizando os métodos ABTS e DPPH. Os resultados mostraram que as cvs. Vitória e Smooth Cayenne tem a menor capacidade antioxidante total dentre genótipos analisados, o que se relacionou com o conteúdo de fenólicos e também de ácido ascórbico. A polpa dos frutos da cv. Pérola mostrou a maior atividade antioxidante dentre os genótipos avaliados, que foi verificada também para os híbridos EC-117, EC-118, EC-119 e, em menor proporção, EC-122. A Tabela 7 mostra a correlação existente entre a capacidade antioxidante total das amostras e o conteúdo de fenólicos e de ácido ascórbico, todos com índice de correlação acima de 90%.

A capacidade antioxidante mostrada pelos dois testes se correlacionou mais fortemente com os fenólicos totais do que com o conteúdo de flavonoides, como verificado em trabalhos anteriores (Chun et al., 2003; Floegel et al., 2011; Kim et al., 2003). Kin et al. (2003), trabalhando com ameixa, mostraram que a capacidade antioxidante medida pelo ensaio com ABTS se correlacionou com o conteúdo de fenólicos, mas não se correlacionou com o conteúdo de flavonoides. Os teores de ácido ascórbico também mostraram correlação positiva com a atividade antioxidante total. Os métodos mostraram uma sensibilidade semelhante, com correlação alta entre si ( $r = 0,97$ ), resultado semelhante com o verificado por Dudonné et al. (2009) analisando 30 extratos vegetais, onde os testes com ABTS e DPPH mostraram uma forte correlação positiva, com um coeficiente de correlação de Pearson de  $r = 0,91$ . Dessa forma, os testes ABTS e DPPH se mostraram boas ferramentas para estimar a concentração de fenólicos e ácido ascórbico em polpa de abacaxi haja vista os resultados de correlação.

**Tabela 7.** Coeficiente de correlação de Pearson entre as capacidades antioxidantes medidas em ensaio por ABTS e DPPH e o total de ácido ascórbico, fenólicos e flavonoides de sete genótipos de abacaxizeiro.

	ABTS	DPPH	Ácido ascórbico	Fenólicos	Flavonoides
ABTS	1	-	-	-	-
DPPH	0,97	1	-	-	-
Ácido ascórbico	0,94	0,94	1	-	-
Fenólicos	0,94	0,96	0,87	1	-

Flavonoides	0,73	0,65	0,61	0,55	1
-------------	------	------	------	------	---

A umidade relativa da polpa dos frutos foi de 80% para cv. Vitória e o híbrido EC-122 e de 85% para os demais genótipos (Tabela 4). Esses valores se correlacionaram negativamente com a quantidade de açúcares totais presente nos genótipos, com um coeficiente de correlação de Pearson de  $r = -0,98$ . Os frutos da cv. Vitória e do híbrido EC-122 acumularam, a cada 100g de polpa, 5g a mais de açúcares e, paralelamente, 5g a menos de água que os outros genótipos, mostrando uma potencialidade desses genótipos para uma boa aceitação comercial por apresentarem uma polpa mais concentrada.

Em se tratando de proteínas, a maioria frutas apresenta uma reduzida quantidade, se configurando com fontes não muito boas dessas moléculas e seguindo essa regra está o abacaxi, que possui apenas 0,4% de conteúdo proteico (Young e Pellett, 1994). A análise feita (Tabela 4) mostra que a concentração de proteínas solúveis na polpa dos frutos variou entre os genótipos, com maiores valores para a cv. Pérola e para o híbrido EC-119. As cvs. Vitória e Smooth Cayenne apresentaram as menores concentrações. Os genótipos tiveram uma média de 0,23% de conteúdo proteico (Tabela 4).

As hortaliças e frutas são sabidamente ricas em minerais, conforme os resultados disponíveis nas tabelas de composição de alimentos, como as propostas por Mendez et al. (2003), Franco (2004), NEPA/UNICAMP (2006) e BRASILFOODS/USP (2008). Nos frutos de abacaxi analisados, o potássio (K) foi o nutriente com maior concentração na polpa (Tabela 4), e dentre os genótipos, os híbridos EC-117 e EC-118 e EC-119 apresentaram as maiores quantidades desse mineral. O *Dietary Reference Intakes* (DRI), elaborado pelo *Institute of Medicine of the National Academies*, recomenda a ingestão diária de 4,7 g de K, e de acordo com os resultados, a ingestão de uma fatia de 100g dos frutos desses híbridos ofereceria cerca de 5,5% do recomendado para uma ingestão diária (Tabela 8). Os genótipos com menores concentrações, cv. Pérola e o híbrido EC-122, ofereceria menos de 4%. Outras frutas, consideradas boas fontes de potássio, possuem uma quantidade comparável com o abacaxi, como a banana com cerca de 450mg/100g, a goiaba com

350mg/100g (Leterme et al., 2006) e o abacate com 308mg/100g de parte comestível (Sanchez-Castillo et al., 1998). Com relação ao Ca, o híbrido EC-122 apresentou uma concentração, quase três vezes maior que os outros genótipos, 100g da polpa desse híbrido supriria aproximadamente 6% do necessário de Ca em um indivíduo adulto; frutos deste genótipo, diferente dos demais, superariam quantidades de cálcio verificadas por Laterne et al. (2006) em maracujá, acerola e goiaba (53, 38 e 29mg/100g de parte comestível) e também em mamão, 24mg/100g de parte comestível (*United States Department of Agriculture*, 2007). De acordo com o DRI, a ingestão diária de P e Mg devem ser de 0,7 g e 0,4g, respectivamente. Dessa forma, os frutos dos genótipos analisados, de um ponto de vista nutricional, não se configuram como uma boa fonte desses minerais (FAO/WHO, 2002). A cv. Pérola mostrou-se ainda mais pobre em P e Mg.

**Tabela 8.** Valores de ingestão diária recomendada (IDR) de minerais para adultos do sexo masculino e contribuição mineral dos frutos para IDR em relação a 100 g de polpa de cada um dos sete genótipos de abacaxizeiro.

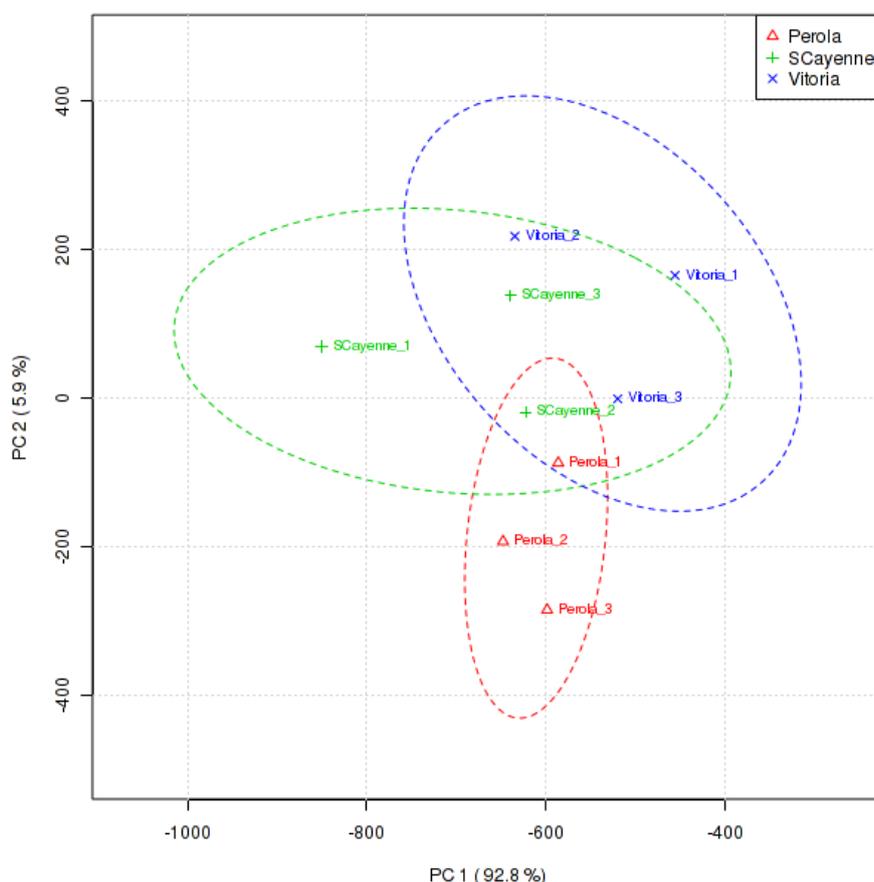
Nutriente	IDR <sup>1</sup> mg/dia	Contribuição relativa de cada genótipo para o IDR (%)						
		Vitória	Pérola	S.Cayenne	EC-117	EC-118	EC-119	EC-122
K	4700	5,12	3,76	4,75	5,60	5,50	5,28	3,97
Ca	1000	2,42	1,54	2,42	2,42	2,40	2,28	5,72
P	700	1,62	1,58	2,54	2,68	3,62	3,26	3,73
Mg	400	2,53	1,92	3,18	2,68	3,33	3,69	3,13
Mn	2,3	83,44	56,63	66,27	45,98	35,13	48,89	55,36
Fe	8	9,41	4,36	5,39	7,57	9,15	7,65	7,99
Zn	11	1,80	1,14	1,41	2,46	1,96	2,12	1,85
Cu	0,9	10,77	7,98	11,31	8,05	10,96	10,14	12,72

<sup>1</sup>FONTE: *Food and Nutrition Board, Institute of Medicine of the National Academies, 2011.*

A análise de micronutrientes (Tabela 5) mostrou que a cv. Vitória apresenta as maiores quantidades de Mn, 1,92mg/100g de parte comestível, se configurando uma ótima fonte desse mineral, suprimindo mais de 80% do exigido diariamente. Todos os outros genótipos apresentaram boas quantidades de Mn. A cv. Vitória e o híbrido EC-118 mostraram as maiores concentrações de Fe, superiores às

encontradas em manga e semelhantes às encontradas em maracujá (Laterme et al., 2006), mas inferiores às encontradas por Almeida et al. (2009) em graviola. Uma porção de 100g de algum desses dois abacaxis supriria em mais de 9% a necessidade diária desse nutriente (Tabela 8). As concentrações de Zn e Cu variaram em torno de 0,2 e 0,1mg/100g de parte comestível, respectivamente. De acordo com o DRI, a oferta de zinco desses frutos é baixa, comparado ao recomendado (11mg/dia), mas os mesmos se mostraram boas fontes de cobre, contribuindo em alguns genótipos em mais de 10% do exigido diariamente.

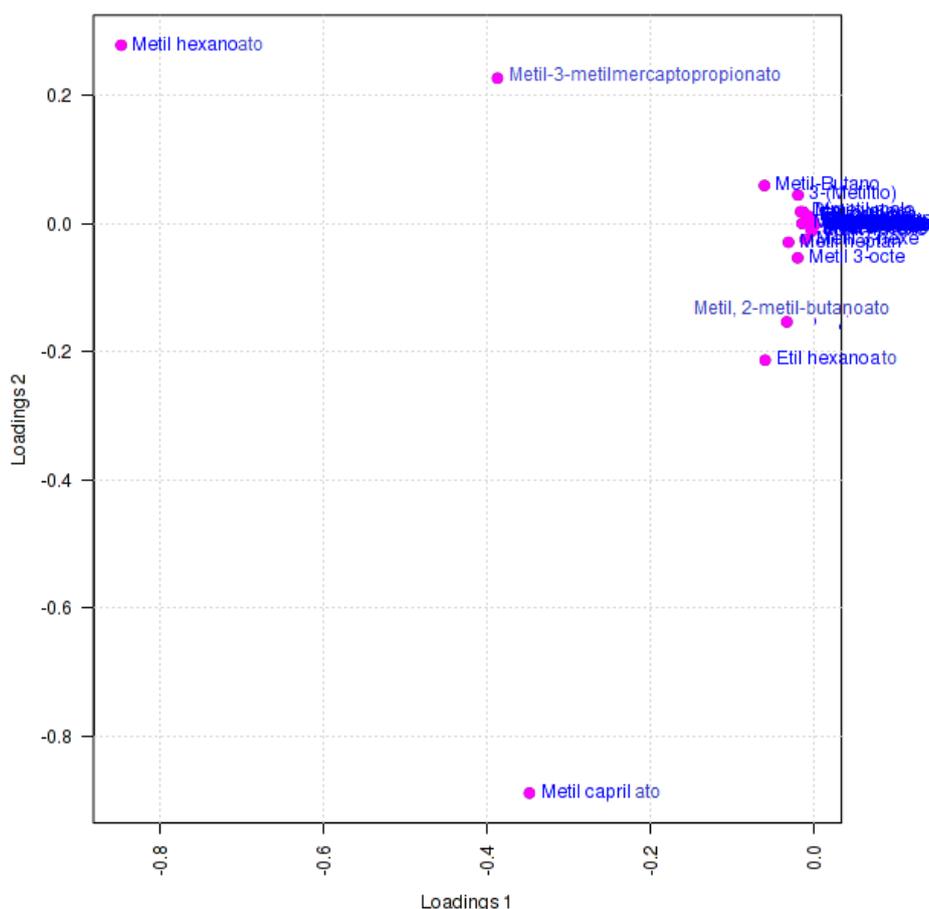
A determinação do perfil de aromas se procedeu por meio da análise de componentes principais (PCA) das amostras. A distribuição bidimensional dos dados sobre os fatores está representada graficamente na Figura 1.



**Figura 1.** Análise de Componentes Principais (PC 1 e PC 2) obtidos a partir das áreas normalizadas dos compostos voláteis identificados em abacaxi 'Vitória', 'Pérola' e 'Smooth Cayenne', cada cultivar sendo representada por três amostras.

A Figura 1 indica que os aromas das três cultivares se assemelham. Há uma sobreposição parcial entre as cultivares, não ficando isoladas com cada grupo separado uns dos outros. No conjunto de compostos do aroma, a maior diferença é para a cv. Pérola, embora uma das amostras tenha ficado inserida nas elipses das cvs. Vitória e Smooth Cayenne. Estas duas últimas tem compostos de aromas em variedade e quantidade mais próximas.

A Figura 2 mostra a distribuição dos 44 compostos detectados por SPME. A maioria está junta na região central direita do gráfico. Os cinco compostos que se afastam deste grupo são aqueles cuja variação, entre as três amostras, mais contribuiu para a separação das cultivares nos grupos apresentados na Figura 1.

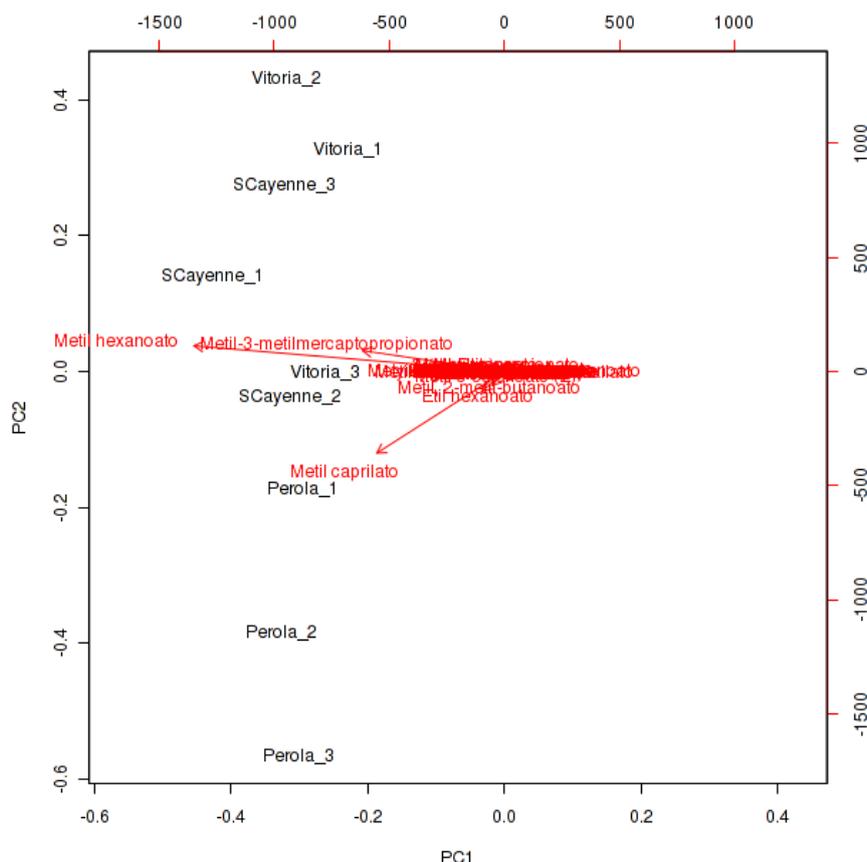


**Figura 2.** Distribuição dos 44 compostos encontrados por SPMC, de acordo com a Análise de Componentes Principais obtidos a partir das áreas normalizadas dos compostos voláteis identificados em abacaxi 'Vitória', 'Pérola' e 'Smooth Cayenne'.

A Figura 2 ajuda a entender porque as amostras não se separaram formando grupos isolados na Figura 1, mas ficaram sobrepostas. Apenas cinco compostos tem uma diferença mais significativa: metil,2-metil-butanoato (1), etil hexanoato (2), metil-3-metilmercaptopropionato (3), metil hexanoato (4), metil caprilato (5).

A cv. Pérola apresentou as maiores concentrações dos compostos 1, 2 e 5, com notas aromáticas floral, frutal e cítrica, respectivamente. As cvs. Vitória e Smooth Cayenne apresentaram grande concentração do composto 4, com fórmula e aroma muito parecidos com o composto 2. O composto 3, com aroma picante, foi o diferenciador da cv. Vitória. Essas são as substâncias mais abundantes encontradas nas amostras e que, no conjunto de compostos, tiveram um peso maior na análise. É grande a possibilidade de que estas substâncias tenham contribuído expressivamente para o aroma destes abacaxis, mesmo assim, dados referentes a aromas exigem cuidado, pois mesmo uma substância em pequena quantidade pode contribuir para o aroma de maneira substancial (Brückner, 2008).

A sobreposição dos dados apresentados na Figura 1 com os dados da Figura 2 mostra as substâncias mais relacionadas a cada cultivar e que, por isso, tiveram maior peso na diferenciação (Figura 3). Todas as amostras estão deslocadas do centro do gráfico, onde um grande grupo de 41 substâncias se localiza. Isso mostra que o aroma das três cultivares compartilha muitas características, se assemelhando bastante entre si.



**Figura 3.** Análise de Componentes Principais (PC 1 e PC 2) obtidos a partir das áreas normalizadas dos compostos voláteis identificados em abacaxi ‘Vitória’, ‘Pérola’ e ‘Smooth Cayenne’ (cada cultivar sendo representada por três amostras) com sobreposição dos 44 compostos encontrados.

Ainda na Figura 3 os compostos afastados dos demais contribuirão mais expressivamente para a distribuição das amostras no espaço do gráfico. O metil-3-metilmercaptopropionato e o metil hexanoato se posicionaram mais próximos das cvs. Vitória e Smooth Cayenne. O metil caprilato, de odor cítrico, contribuiu para a separação da cv. Pérola das demais.

## 5. Conclusões

Para o consumo *in natura* e para o processamento industrial, os frutos da cv. Vitória destacaram-se com elevados teores de potássio e ferro, grande quantidade de açúcares, polpa mais concentrada e relação SS/AT desejável.

Estas três últimas características também elevaram a qualidade do híbrido EC-122, que, por sua vez, ainda mostrou destaque nos elevados teores de cálcio na polpa. Características visadas pela indústria foram verificadas na cv. Pérola e no híbrido EC-119, como baixa acidez e alto poder antioxidante, entretanto, dentre todos os genótipos, a cv. Pérola se mostrou a mais pobre nutricionalmente. Os híbridos EC-117 e EC-118 também mostraram elevada capacidade antioxidante e, no caso do EC-118, somou-se a ele altas concentrações de potássio e ferro. A cv. Smooth Cayenne mostrou os menores teores de antioxidantes e valores intermediários para as demais características avaliadas. O perfil de aromas das três cultivares já inseridas no mercado se assemelhou bastante e a cv. Pérola que apresentou como diferenciador maior concentração de notas cítricas.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem o suporte técnico dado pelo Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Universidade de São Paulo, pela contribuição dada pela técnica Lúcia Helena Justino e agradecem também pelas análises de elementos minerais feitas pelo Dr. André Guarçoni Martins no Laboratório de Química de Solos e Tecidos Vegetais do Incaper.

### **Referências**

- Al-Ghamdi, S.M., Cameron, E.C., Sutton, R.A., 1994. Magnesium deficiency: pathophysiologic and clinical overview. *American Journal of Kidney Disease* 24, 737-754.
- Almeida, M.M.B., Sousa, P.H.M., Fonseca, M.L., Magalhães, C.E.C., Lopes, M.F.G., Lemos, T.L.G., 2009. Avaliação de macro e microminerais em frutas tropicais cultivadas no nordeste brasileiro. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 29, 581-586.
- Arnao, M.B., Cano, A., Acosta, M., 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry* 73, 239–244.
- Association of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis: method 942.15 acidity (titratable) of fruit products, indicator method. Washington, 1992.p. 10.

- Bajpai, V.K., Yoon, J.I., Kang, S.C., 2009. Antioxidant and antidermatophytic activities of essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *Food and Chemical Toxicology* 47, 1355–1361.
- Bartholomew, D., Pauli, R.E., Rohrbach, K., 2003. The pineapple. Botany, production and uses, Cambridge, MA, USA: CABI Publishing.
- Bartholomew, D.P., Paull, R.E., 1986. Pineapple. In: Monselise, P. (Ed.), *CRC Handbook of Fruit Set and Development*. CRC Press, Boca Raton, Flórida, pp. 371–388.
- Bartolomé, A.P., Rupékez, P., Fúster, C., 1996. Changes in soluble sugars of two pineapple fruit cultivars during frozen storage. *Food Chemistry* 56, 163–166.
- Bertini, I., Sigel, A., Sigel, H., 2001. *Handbook of metalloproteins*. New York: MarcelDeker Inc.
- Bleinroth, E.W. Matéria-prima. In: MEDINA, J.C. et al. (Ed.) *Abacaxi: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos*. 2. ed. Campinas: ITAL, 1987. p. 133–164.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248–54.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 28, 25–30.
- BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº1, de 1º-02-2002. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para a Classificação do Abacaxi.
- BRASILFOODS/USP. Tabela brasileira de composição de alimentos – TBCA/USP. Versão 5.0. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tabela/index.asp>>. Acesso em: 20 Janeiro 2013.
- Brown, E.M., Hebert, S.C., 1997. Calcium-receptor-regulated parathyroid and renal function. *Bone* 20, 303–309.
- Brückner, B. *Fruit and Vegetable Flavour: Recent Advances and Future Prospects*. Abington Hall, Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, 2008.
- Byrne, D.H., Nikolic, A.N., Burns, E.E., 1991. Variability in sugars, acids, firmness and colour characteristics of 12 peach genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116, 1004–1006.
- Cabral, J.R.S., Matos, A.P., 2005. *Imperial, Nova Cultivar de Abacaxi*. Cruz das Almas, Bahia: Embrapa, 4p. (Embrapa Comunicado Técnico, 114).
- Camara, F.M., 2011. *Características qualitativas do abacaxi "Smooth Cayenne" comercializado na CEAGESP*. Dissertação, Piracicaba, 178p.
- Carvalho, V.D., Abreu, C.M.P., Gonçalves, N.B., 1998. Qualidade e industrialização de abacaxi. *Informe Agropecuário*, 195, 67–69.

- Carvalho, V.D., Cunha, G.A.P., 1999. Produtos e usos. In: Cunha, G.A.P., Cabral, J.R.S. Souza, L.F.S. (org). O abacaxizeiro. Cultivo, agroindústria e economia. Brasília: EMBRAPA Comunicação para Transferência de Tecnologia. p: 389-402.
- Cheung, L.M., Cheung, P.C.K., Ooi, V.E.C., 2003. Antioxidant activity and total phenolic of edible mushroom extracts. *Food Chemistry* 81, 249–55.
- Chitarra, M.I., Chitarra, A.B., 2005. Pós-colheita de Frutos e Hortaliças: Fisiologia e manuseio. 2° ed. Lavras: UFLA, 785p.
- Choi, Y., Lee, J., 2009. Antioxidant and antiproliferative properties of a tocotrienol rich fraction from grape seeds. *Food Chemistry* 114, 1386–1390.
- Chun, O.K., Kim, D.O., Moon, H.Y., Kang, H.G., Lee, C.Y., 2003. Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7240–7245.
- CQH (Centro de Qualidade em Horticultura - CEAGESP). Programa brasileiro para a modernização da horticultura. Normas de Classificação do Abacaxi. São Paulo: CEAGESP, 2003. (CQH. Documentos, 24)
- Cunha, G.A.P., Cabral, J.R.S., Souza, L.F., 1999. O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia. Embrapa Mandioca e Fruticultura. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 480p.
- Diplock, A.T., 1994. Antioxidants and disease prevention. *Molecular Aspects of Medicine* 15, 293-376.
- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., Merillon, J.M., 2009. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 1768–1774.
- Echeverria, E., Ismail, M., 1990. Sugars unrelated to brix changes in stored citrus fruits. *HortScience* 25, 710.
- Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S.I., Chun, O.K., 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 24, 1043-1048.
- Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Human Vitamin and Mineral Requirements. Report of a joint FAO/WHO expert consultation. Rome: Food and Agriculture Organization, 2002.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2012). Production - Crops. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/index.html#VISUALIZE>>. Acesso em 5.1.13.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies. 2011. Dietary Reference Intakes (DRI's): Recommended Dietary Allowances and Adequate Intakes, Elements Washington, DC, National Academy Press.
- Franco, G., 2004. Tabela de composição química dos alimentos. 9ª ed. São Paulo: Atheneu, 307 p.

- Gardner, P.T., White, T.A.C., McPhail, D.B., Duthie, G.G., 2000. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry* 68, 471–474.
- Guo, Q.L., Zhang, L.H., 2009. Study on polysaccharides extraction and ability to scavenge hydroxyl radicals from pineapple. *Chinese Agricultural Science Bulletin* 25, 122–125.
- Halliwel, B., 1996. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition* 16, 33–50.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4, 9.
- Higdon, J.V., Frei, B., 2003. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism and antioxidant functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43, 89–143.
- Hodgson, A.S., Hodgson, L.R., 1993. Pineapple juice. In: *Fruit Juice Processing Technology*, eds S. Nagy, C.S. Chen, P.E. Shaw. Ag Science, Inc., Aubumdale, Florida, pp. 378-435.
- Hong, K., Xu, H., Wang, J., Zhang, L., Hu, H., Jia, Z., Gu H., He, Q., Gong, D., 2013. Quality changes and internal browning developments of summer pineapple fruit during storage at different temperatures. *Scientia Horticulturae* 151, 68–74
- Hossain, M.A., Rahman, S.M.M., 2011. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. *Food Research International* 44, 672-676.
- Jacob, J.K., Hakimuddin, F., Paliyath, G., Fisher, N., 2008. Antioxidant and antiproliferative activity of polyphenols in novel high-polyphenol grape lines. *Food Research International* 41, 327–340.
- Joomwong, A., 2006. Impact of cropping season in Northern Thailand on the quality of Smooth Cayenne pineapple. II. Influence on physicochemical attributes. *International Journal of Agricultural Biology* 8, 330-336.
- Kang, D.G., Yun, C.K., Lee, H.S., 2003. Screening and comparison of antioxidant activity of solvent extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of Ethnopharmacology* 87, 231–236.
- Kaur, C., Kapoor, H.C., 2001. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology* 36, 703-725.
- Kim, D.-O., Chun, O.K., Kim, Y.J., Moon, H.Y., Lee, C.Y., 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 6509–6515.
- Kim, D.-O., Lee, K.W., Lee, H.J., Lee, C.Y., 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3713–3717.
- Ladaniya, M.S., Mahalle, B.C., 2011. Fruit maturation and associated changes in 'Mosambi' orange (*Citrus sinensis*). *Indian Journal of Agricultural Sciences* 81, 494-499.
- Leong, L.P., Shui, G., 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry* 76, 69–75.

Leterme, P., Buldgen, A., Estrada, F., Londoño, A.M., 2006. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. *Food Chemistry* 95, 644-652.

Mainardi, J.A., Purgatto, E., Vieira, A. Jr., Bastos, W.A., Cordenunsi, B.R., Nascimento, J.R.O., Lajolo, F.M., 2006. Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene (1-MCP) on gene expression and activity profile of alpha-1,4-glucan-phosphorylase during banana ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 7294-98.

Mascotti, D.P., Rup, D., Thach, R.E., 1995. Regulation of iron metabolism: Translational effects mediated by iron, heme and cytokines. *Annual Review of Nutrition* 15, 239-261.

Mendez, M.H.M., 2003. Tabela de composição de alimentos. Niterói: Ed. UFF, 41 p.

Mhatre, M., Tilak-Jain, J., De, S., Devasagayam, T.P.A., 2009. Evaluation of the antioxidant activity of non-transformed and transformed pineapple: A comparative study. *Food and Chemical Toxicology* 47, 2696-2702.

Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., 2007. Seasonal changes of mineral and phenolics in pomegranate (*Punicagranatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae* 111, 120-127.

Nadzirah, K.Z., Zainal, S., Noriham, A., Normah, I., SitiRoha, A.M., Nadya, H., 2013. Physico-chemical properties of pineapple variety N36 harvested and stored at different maturity stages. *International Food Research Journal* 20, 225-231.

National Nutrient Database for Standard – USDA. Release 20 (2007). Disponível em: <[http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list\\_nut\\_edit.pl](http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl)>. Acesso em: 21 Janeiro 2013.

NEPA/UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO. Versão 2. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco>>. Acesso em: 20 Janeiro 2013.

Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Deemer, E.K., 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3122-3128.

Pandhair, V., Sekhon, B.S., 2006. Reactive oxygen species and antioxidants in plants: an overview. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 15, 71.

Pasternak, T., Potters, G., Caubergs, R., Jansen M.A.K., 2005. Complementary interactions between oxidative stress and auxins control plant growth responses at plant, organ, and cellular level. *Journal of Experimental Botany* 56, 1991-2001.

Py, C., Lacoeylhe, J.J., Teisson, C., 1987. The pineapple: cultivation and uses. G.P. Maisonneuveet Larose, Paris, 568p

Reinhardt, D.H., Medina, V.M., Caldas, R.C., Cunha, G.A.P., Estevam, R.F.H., 2004. Gradientes de Qualidade em abacaxi 'pérola' em função do tamanho e do estágio de maturação do fruto. *Revista Brasileira de Fruticultura* 26, 544-546.

Renaud, S.C., Gueguen, R., Schenker, J., d'Houtaud, A., 1998. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. *Epidemiology* 9, 184-188.

- Rohrbach, K.G., Leal, F., d'Eeckenbrugge, G.C., 2002. History, distribution and world production. In: *The Pineapple: Botany, Production and Uses* (Bartholomew D. P., Paull R. E., Rohrbach K. G., eds.), CABI, Honolulu, 1–12.
- Salunkhe, D.K., Desai, B.B., 1984. *Postharvest Biotechnology of Fruits*, vol. 2. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA, pp. 70–75.
- Sanchez-Castillo, C., Dewey, P., Aguirre, A., Lara, J., Vaca, R., LeondelaBarra, P., 1998. The mineral content of Mexican fruits and vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* 11, 340–356.
- Santos, N.M., Filho, P.E.M., 2011. Evaluation of Pineapple Genotypes for Resistance to the Pineapple Mealybug Wilt-Associated Virus. *Newsletter of the Pineapple Working Group of the International Society for Horticultural Science* 18, 12.
- Saradhulhat, P., Paull, R.E., 2007. Pineapple organic acid metabolism accumulation during fruit development. *Scientia Horticulturae* 112, 297–303.
- Schifferstein, H.N.J., Fritjers, J.E.R., 1990. Sensory integration in citric acid/sucrose mixtures. *Chemical Senses* 15, 87–109.
- Sideris, C.P., Krauss, B.H., 1933. Physiological studies on the factors influencing quality of pineapple fruits. I. Physico-chemical variations in the tissue of ripe pineapple fruits. *Pineapple Quarterly* 3, 82-98.
- Silva, B.M., Seabra, R.M., Andrade, P.B., Oliveira, M.B., Ferreira, M.A., 1999. Adulteração por adição de açúcares a sumo de frutos: uma revisão. *Ciência y Tecnologia Alimentaria* 2, 184-191.
- Silva, P.S., Menezes, J.B., Oliveira, O.F., Silva, P.I.B., 2003. Distribuição do teor de sólidos solúveis totais no melão. *Horticultura Brasileira* 21, 31-33.
- Singleton, V.L., Gortner, W.A., 1965. Chemical and physical development of the pineapple fruit. II. Carbohydrate and acid constituents. *Journal of Food Science* 30, 19-23.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144–158.
- Smith, L.G., 1988. Indices of physiological maturity and eating quality in Smooth Cayenne pineapples. II. Indices of eating quality. *Queensland Journal of Agricultural and Animal Science* 45, 219-28.
- Tehrani, M., Chandran, S., Sharif Hossain, A.B.M., Nasrulhaq-Boyce, A., 2011. Postharvest physico-chemical and mechanical changes in jambu air (*Syzygiumaqueum alston*) fruits. *Australian Journal of Crop Science* 5, 32-38.
- Temple, N.J., 2000. Antioxidants and disease: more questions than answers. *Nutrition Research* 20, 449–459.
- Terao, J., Piskula, M., Yao, Q., 1994. Protective effect of epicatechin, epicatechingallate, and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 308, 278–284.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Hawkins Byrne, D., 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating

antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 669–675.

Tokitomo, Y., Steinhaus, M., Büttner, A., Schieberle, P., 2005. Odor-Active Constituents in Fresh Pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) by Quantitative and Sensory Evaluation. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 69, 1323-1330.

Ventura, J.A., Cabral, J.R.S., Matos, A.P., Costa, H., 2009. 'Vitoria': new pineapple cultivar resistant to fusariose. *Acta Horticulturae* 882, 51–56.

Wang, Y., Chen, J.Y., Jiang, Y.M., Lu, W.J., 2007. Cloning and expression analysis of phenylalanine ammonia-lyase in relation to chilling tolerance in harvested banana fruit. *Postharvest Biology and Technology* 44, 34–41.

Wei, C.B., Liu, S.H., Liu, Y.G., Lv, L.L., Yang, W.X., Sun, G.M., 2011. Characteristic Aroma Compounds from Different Pineapple Parts. *Molecules* 16, 5104-5112.

Willet, W.C., 2002. Balancing life-style and genomics research for disease prevention. *Science* 296, 695–698.

Young, V.R., Pellett, P. L., 1994. Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 59, 1203-1212.

Xia, J., Mandal, R., Sinelnikov, I., Broadhurst, D., Wishart, D.S., 2012. MetaboAnalyst 2.0 - a comprehensive server for metabolomic data analysis . *Nucleic Acids Research* 40, 1-7.

## **AValiação QuÍmica e BioquÍmica de Fatores Associados À PREDISPOSIÇÃO AO ESCURECIMENTO INTERNO EM FRUTOS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE ABACAXIZEIRO**

### **Resumo**

O escurecimento interno do abacaxi é uma das mais importantes desordens fisiológicas da fruta em pós-colheita e está relacionada com uma série de fatores químicos e bioquímicos da polpa. O objetivo do trabalho foi avaliar frutos de sete genótipos de abacaxizeiro quanto às características químicas e bioquímicas potencialmente associadas ao escurecimento interno, que incluíram as concentrações de fenólicos totais e ácido ascórbico; teores de enxofre, teores de cálcio e potássio; e atividade das enzimas polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POD) e fenilalanina amônio liase (PAL). A cultivar Pérola e os novos híbridos EC-117, EC-118, EC-119 e EC-122 apresentaram as maiores concentrações de ácido ascórbico e enxofre que, por sua vez, se relacionaram negativamente com as atividades da PPO e POD. As cultivares Vitória e Smooth Cayenne apresentaram elevada atividade da PPO e da POD e as menores concentrações de ácido ascórbico e enxofre. O grupo formado pela cv. Pérola e os quatro híbridos, por apresentar menor atividade das enzimas oxidativas e maior concentração de seus inativadores, é potencialmente menos suscetível à desordem. O híbrido EC-122 mostrou o maior teor de cálcio na polpa, contribuindo para a tolerância desse híbrido ao escurecimento interno.

Palavras-chave: Polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POD), ácidos orgânicos, *browning*, *Ananas comosus*

## Abstract

Internal browning of the pineapple fruit is one of its the most important physiological disorders and relates to many chemical and biochemical factors in pulp. The aim of this research was to evaluate fruits of seven pineapple genotypes according to the chemical and biochemical characteristics potentially associated with internal browning, which includes: total phenolics and ascorbic acid contents; sulfur, calcium and potassium levels; polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD) and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity. 'Perola' and new hybrids EC-117, EC-118, EC-119 and EC-122 had the highest contents of ascorbic acid and sulfur which, were negatively correlated with the activities of PPO and POD. Inversely, 'Vitória' and 'Smooth Cayenne' had high activities of PPO and POD and the lowest ascorbic acid and sulfur concentrations. The cvs. Pérola and the four hybrids, have lower oxidative enzyme activity and increased concentration of its inhibitors, is potentially less susceptible to browning. EC-122 showed the highest calcium tissue content, increasing their tolerance to internal browning.

Keywords: Polyphenol oxidase (PPO), Peroxidase (POD), organic acids, browning, *Ananas comosus*

## 1. Introdução

O escurecimento interno também conhecido como brunimento interno, *browning* ou *blackheart*, é uma importante desordem fisiológica do abacaxi induzida pela exposição do fruto a baixas temperaturas 5 -12°C, principalmente em pós-colheita (Pusittigul et al., 2012; Selvarajah et al., 2001). Nos estádios mais avançados, os frutos podem apresentar a polpa com grandes áreas escuras, por toda a extensão do talo (cilindro central) até as regiões mais próximas da casca (Py et al., 1987) provocando importantes perdas sensorial e nutricional (Franck et al., 2007).

As práticas logísticas e de exportação do abacaxi, com temperaturas abaixo de 10 °C, necessárias durante o transporte e armazenamento para reduzir a senescência e o desenvolvimento de doenças, são limitantes e induzem o escurecimento interno (Rinaldo et al., 2010; Selvarajah et al., 2001). Como nenhuma evidência externa é observada nos frutos com escurecimento, frutos doentes não são detectados até que sejam cortados, o que resulta em uma considerável insatisfação do consumidor e em desperdício durante o processamento do fruto (Stewart et al., 2002).

O escurecimento em frutas e vegetais é resultado da oxidação enzimática e polimerização de compostos fenólicos envolvendo a atividade da polifenoloxidase (PPO, EC 1.10.3.1e 1.10.3.2) e, em menor proporção, da peroxidase (POD, EC. 1.11.1.7) (Yingsanga et al., 2008). PPO catalisa a oxidação de fenóis a quinonas na presença de oxigênio molecular e estas, por reações não enzimáticas, polimerizam formando pigmentos de cor marrom; a POD também oxida fenóis a quinonas, mas na presença de peróxido de hidrogênio (Pourcel et al., 2006). Os compostos fenólicos apresentam um importante papel na atribuição de cor e sabor aos frutos e, por serem o substrato para a catálise da PPO e POD, a concentração desses compostos é importante fator envolvido no escurecimento enzimático (Nicolas et al., 1994). A fenilalanina amônio liase (PAL, EC 4.3.1.5), considerada uma enzima chave na biossíntese fenólica, se associa com o acúmulo de fenóis nos tecidos vegetais

(substrato de atuação da PPO e POD), e por isso relaciona-se também com o distúrbio do escurecimento interno (Zhou et al., 2003).

Em condições sem o escurecimento (“saudáveis”), as enzimas e seus substratos estão distribuídos em diferentes compartimentos subcelulares, com a PPO associada aos plastídios e seus substratos fenólicos localizados nos vacúolos (Walker e Ferrar, 1998). As reações de oxidação ocorrem apenas com a chegada do envelhecimento celular ou com fatores externos estressantes (como ataques de patógenos, injúrias mecânicas e, no caso do abacaxi, baixas temperaturas) que desorganizam a célula, provocando sua descompartimentalização e destruição das barreiras biológicas entre as enzimas e seus substratos (Walker e Ferrar, 1998; Yoruk e Marchal, 2003).

O produto da catálise da PPO e POD é a *o*-quinona, altamente reativa com aminoácidos, peptídeos e proteínas na formação de polímeros pigmentados (Stewart et al., 2002; Franck et al., 2007). Algumas moléculas, com alto poder redutor, podem capturar moléculas de *o*-quinona e reduzi-las de volta a fenóis evitando a sua polimerização, e assim reduzindo a eficiência da atividade da PPO e POD. O ácido ascórbico é reconhecido como um forte agente redutor, e está envolvido nessas reações, exercendo grande influência na redução da incidência de escurecimento interno (Matheis e Whittaker, 1984). Outras moléculas com essa propriedade são as proteínas e aminoácidos que apresentam enxofre em sua composição, especialmente a cisteína (Friedman e Molnar-Perlt, 1990). A *o*-quinona, intermediária na reação do escurecimento, pode ser preferencialmente capturada por essas moléculas com uma rapidez cerca de 200 vezes maior do que seria a reação de polimerização, prevenindo o escurecimento enzimático (Robert et al., 1996).

Dentre os minerais, o cálcio pode se relacionar com perdas na qualidade em pós-colheita de frutos, haja visto que o cálcio ajuda na adesão de células vizinhas e na manutenção da integridade das membranas celulares (Hewajulige et al., 2003). Wijeratnam et al. (2006) relataram que abacaxizeiros da cultivar “Mauritius” tratados com cálcio na pré-colheita elevaram a concentração desse mineral no fruto e reduziram a incidência de

escurecimento interno a níveis comercialmente aceitáveis. Além do cálcio, existem indícios consistentes de que o potássio é um elemento mineral que exerce grande importância para a qualidade em pós-colheita do abacaxi; além de se relacionar com o sabor do fruto, estudos mostram que este elemento contribui para elevar os teores de ácido ascórbico (Teisson, 1972) e reduzir a concentração de compostos fenólicos na polpa (Soares et al., 2005). Como ambos os fatores estão diretamente ligados à redução da incidência de escurecimento enzimático pela PPO, maiores níveis de potássio na polpa podem indicar maior tolerância à desordem.

A intensidade do escurecimento interno dos frutos em pós-colheita tem um forte componente genético e difere entre as cultivares (Pusittigul e Siriphanich, 2008). Com o desenvolvimento de novos híbridos e lançamento para o mercado de cultivares de abacaxi resistentes à fusariose, é importante conhecer o possível risco da incidência e severidade do escurecimento interno nos frutos. Este trabalho teve como objetivo avaliar em frutos de sete diferentes genótipos de abacaxizeiro, selecionados nos programas de melhoramento genético e com resistência à fusariose, as características químicas e bioquímicas potencialmente associadas ao escurecimento interno.

## **2. Material e métodos**

### *2.1. Material vegetal*

Frutos de sete diferentes genótipos de abacaxizeiro foram usados no experimento, sendo três cultivares já presentes no mercado consumidor ('Smooth Cayenne', 'Pérola' e 'Vitória') e quatro novos híbridos resistentes à fusariose, em fase final de melhoramento (EC-117; EC-118; EC-119; EC-122). Os frutos foram produzidos na Fazenda Experimental de Sooretama, do Incaper, localizada no município de Sooretama, Espírito Santo, e colhidos no estágio de maturação 4 (Py et al., 1987). Depois de colhidos, os frutos foram transportados para o laboratório e armazenados em temperatura ambiente até serem processados. Os frutos foram descascados, a região do terço mediano

foi imediatamente congelada em nitrogênio líquido, e mantidos em ultra-freezer (-80°C). Posteriormente, as amostras foram trituradas em almofariz com a utilização de nitrogênio líquido e armazenadas em tubos plásticos no ultra-freezer até que as análises fossem realizadas.

### *2.2. Determinação de enxofre, cálcio e potássio*

Amostras de 100 g de polpa dos frutos, descascados, foram reservados para secagem em estufa a 70°C e preparação das amostras para as análises dos elementos minerais em espectrofotômetro de absorção atômica no Laboratório de Química de Solos e Tecidos Vegetais do Incaper no CRDR-CS, utilizando metodologia própria para cada elemento.

### *2.3. Extração e determinação de fenólicos totais*

Amostras de 5 g de polpa foram maceradas em 30 mL de metanol 95% e a suspensão foi agitada por 3 h em mesa agitadora, em temperatura ambiente. O extrato foi filtrado e concentrado até o volume de 3 mL. A determinação de compostos fenólicos nos extratos foi feita usando reagente de Folin-Ciocalteu e calibração com ácido gálico. Adicionou-se a 30 µL de extrato, 0,2 mL de reagente de Folin-Ciocalteu em agitação. Depois de 4 min, 1 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 15% foi adicionado e a mistura permaneceu por 2 h na temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 760 nm usando um espectrofotômetro Thermo Scientific®, Genesys 10S. Uma curva de calibração foi feita utilizando-se ácido gálico como padrão e os resultados expressos em mg de ácido gálico/100g de massa fresca do fruto (MF).

### *2.4. Extração e determinação de ácido ascórbico*

Os teores de ácido ascórbico foram determinados como descrito por Pasternak et al. (2005). Foram homogeneizadas 0,3 g de polpa em 3 mL de solução de ácido metafosfórico 3%, centrifugadas por 20 min a 10000 x g e filtradas. Para as análises de ácido ascórbico total, 250 µL da amostra foram diluídos com 250 µL de solução de ditioneitol (DTT) 0,2 M em tampão Tris 0,2 M (pH ~6,0). Após

30 minutos, foram adicionados 500  $\mu\text{L}$  de fase móvel (pH  $\sim$ 3). A leitura aconteceu nas seguintes condições: coluna  $\mu\text{Bondapak C18}$  (Waters) (300 x 4,6 mm), fase móvel cloreto de potássio 2 mM pH 2,5, fluxo isocrático 0,8mL/min, temperatura da coluna 30°C, detecção por UV em 245 nm. Os resultados foram expressos como mg/100g de massa fresca do fruto (MF).

### *2.5. Extração e determinação das atividades da PPO, POD e PAL*

Amostras de 1 g de polpa dos frutos foram homogeneizadas em um meio de extração contendo 2 mL de tampão fosfato de sódio 100 mM, pH 7,8 e 0,01 g de polivinilpirrolidona (PVPP) para o experimento das atividades da PPO e POD. Para a atividade da PAL, as amostras foram extraídas num meio contendo 2 mL de tampão borato de sódio 50 mM, pH 8,8, com 5 mM  $\beta$ -mercaptoetanol e 2 mM de EDTA. Os extratos foram centrifugados a 12000  $\times$  g por 25 min, a 4°C e os sobrenadantes foram usados para o ensaio enzimático.

As atividades da PPO e da POD foram analisadas como descrito por Jiang (2000) e Zhang et al. (2005), respectivamente, com adequações. Para a análise da PPO, 20  $\mu\text{L}$  de sobrenadante foram misturados em 1 mL de tampão fosfato de sódio (100 mM, pH 6,8) e 1 mL de catecol (100 mM). Mudanças na absorbância a 420 nm foram medidas em espectrofotômetro Thermo Scientific®, Genesys 10S. Uma unidade de atividade da PPO foi definida como a quantidade de enzima que causou a mudança de 0,01 em  $A_{420} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína. A atividade da POD foi determinada em um meio de reação constituído de 100  $\mu\text{L}$  de sobrenadante e 2 mL de tampão fosfato de sódio (100 mM, pH 7,0) com guaiacol 100 mM. O aumento na absorbância a 470 nm foi medido em espectrofotômetro depois da adição de 100  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio 20 mM. Uma unidade de atividade da POD foi definida como a quantidade de enzima que causou a mudança em 0,01 em  $A_{470} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína.

A atividade da PAL foi realizada de acordo com Yingsanga et al. (2008), com algumas modificações. Uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  de sobrenadante foi adicionado

a 1 mL de tampão borato de sódio (200 mM, pH 8,8) e 500 µL de L-fenilalanina 10 mM e incubado em banho-maria a 37°C por 60 min. O trans-cinamato formado nessa reação foi verificado em espectrofotômetro a 290 nm. Uma unidade de atividade da PAL foi definida como a quantidade de enzima que causou a mudança em 0,01 em  $A_{290} \text{ h}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína.

As concentrações de proteína nos extratos foram determinadas usando albumina de soro bovino (BSA) como padrão (Bradford, 1976).

### 2.6. Análises estatísticas

No experimento, foram analisados oito frutos de cada genótipo sendo que estes compuseram duas amostras compostas, representado quatro frutos cada. As análises foram realizadas com três repetições por amostra composta e os resultados apresentados pelas médias das leituras realizadas em triplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,01$ ). As análises de correlação foram realizadas pelo método de Pearson e para determinar a similaridade entre os genótipos foi realizada a análise de *cluster*, segundo o método de Bray-Curtis, ambas utilizando o software estatístico PAST- Paleontological Statistics, v 2.16 (Hammer et al., 2001).

## 3. Resultados

### 3.1. Fenólicos totais e ácido ascórbico

As cvs. Vitória e Smooth Cayenne apresentaram as menores concentrações de compostos fenólicos dentre os genótipos analisados, abaixo de 20mg/100g MF. Os híbridos e a cv. Pérola apresentaram quantidades consideravelmente maiores que as duas primeiras cultivares, com o maior valor de 30,6mg/100g MF para o híbrido EC-118 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Conteúdo de compostos fenólicos totais, ácido ascórbico em frutos de sete genótipos de abacaxizeiro.

Genótipo	Fenólicos totais	Ácido ascórbico
----------	------------------	-----------------

	mg/100g MF	
EC-118	30,6 <sup>1</sup> ± 0,48 a	8,6 ± 0,08 b
EC-119	30,0 ± 1,22 a	8,8 ± 0,16 b
Pérola	29,7 ± 0,60 a	8,1 ± 0,19 b
EC-117	29,0 ± 0,48 a	10,2 ± 0,43 a
EC-122	28,7 ± 0,51 a	6,0 ± 0,09 c
S. Cayenne	19,1 ± 0,46 b	3,2 ± 0,14 d
Vitória	16,7 ± 0,45 b	4,1 ± 0,14 d

<sup>1</sup>Médias de três repetições. Os valores são seguidos pelo erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,01$ ).

Os frutos do híbrido EC-117 tiveram os maiores níveis de ácido ascórbico, 10,2mg/100g MF, seguido pela cv. Pérola e pelos híbridos EC-118 e EC-119 com concentrações de 8,0g/100g MF, enquanto que as cvs. Vitória e Smooth Cayenne apresentaram as quantidades mais reduzidas desse ácido orgânico, com 4,1g/100g MF e 3,2g/100g MF, respectivamente (Tabela 1).

### 3.2. Concentrações de enxofre, cálcio e potássio

A concentração de enxofre foi maior nos híbridos EC-117 e EC-119, seguidos pela cv. Pérola e pelo híbrido EC-118, todos com valores superiores a 0,06g/100g MS (Tabela 2). As menores concentrações desse mineral foram encontradas nas cvs. Vitória e Smooth Cayenne. Dentre os sete genótipos, o teor de cálcio só foi diferente no híbrido EC-122 que teve a maior concentração desse mineral, 0,27g/100g MS. Por outro lado, esse híbrido apresentou o menor valor para a concentração de potássio na polpa dos frutos (0,87g/100g MS). As cvs. Vitória e Pérola também mostraram valores reduzidos para o potássio: 1,18g/100g MS e 1,15g/100g MS, respectivamente. Os híbridos EC-117 e EC-118 foram os genótipos com as maiores concentrações deste mineral (acima de 1,6g/100g MS), seguidos por EC-119 e Smooth Cayenne (Tabela 2).

**Tabela 2.** Conteúdo de enxofre, cálcio e potássio na polpa de frutos de sete genótipos de abacaxizeiro.

Genótipo	Enxofre	Cálcio		Potássio
		g/100g MS		
EC-117	0,065 <sup>1</sup> ± 0,002 a	0,15 ± 0,03 b		1,63 ± 0,04 a
EC-119	0,063 ± 0,003 a	0,14 ± 0,01 b		1,54 ± 0,07 ab
Pérola	0,062 ± 0,002 ab	0,10 ± 0,00 b		1,15 ± 0,03 c

EC-118	0,060 ± 0,000 ab	0,15 ± 0,01 b	1,62 ± 0,04 a
EC-122	0,055 ± 0,002 bc	0,27 ± 0,01 a	0,87 ± 0,01 d
S. Cayenne	0,048 ± 0,002 cd	0,16 ± 0,01 b	1,46 ± 0,04 b
Vitória	0,042 ± 0,002 d	0,12 ± 0,01 b	1,18 ± 0,01 c

<sup>1</sup>Médias de três repetições. Os valores são seguidos pelo erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,01$ ).

### 3.3. Atividade enzimática

A maior atividade da enzima PPO foi observada nas cvs. Smooth Cayenne e Vitória, com 32,9 e 27,7U/mg de proteína, respectivamente. Os demais genótipos mostraram reduzida atividade da PPO e não apresentaram diferenças significativas (Tabela 3). Os resultados obtidos da POD mostraram também a maior atividade enzimática para a cv. Vitória (4,5U/mg de proteína) e, em seguida, a 'Smooth Cayenne' (3,2U/mg de proteína). A atividade desta enzima foi menor nos outros genótipos e consideravelmente baixa no híbrido EC-117. Uma correlação positiva foi encontrada entre a atividade da PPO e da POD ( $r = 0,74$ ), além disso, as atividades da PPO e da POD apresentaram correlação negativa com os teores de ácido ascórbico ( $r = -0,83$  e  $r = -0,84$ ) e de enxofre ( $r = -0,82$  e  $r = -0,92$ ).

Para a PAL, o híbrido EC-118 destacou-se dos demais com o maior valor para a atividade desta enzima, 4,0U/mg de proteína. As cvs. Vitória e Smooth Cayenne também apresentaram elevados valores para a atividade da PAL (Tabela 3). Por outro lado, uma baixa atividade foi verificada para a cv. Pérola e os híbridos EC-117 e EC-119, abaixo de 2,0U/mg de proteína.

**Tabela 3.** Atividade da polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POD) e fenilalanina amônio liase (PAL) em polpa de frutos de sete genótipos de abacaxizeiro.

Genótipo	PPO	POD	PAL
	U/mg de proteína		
S. Cayenne	32,9 <sup>1</sup> ± 4,46 a	3,2 ± 0,26 b	2,8 ± 0,24 bc
Vitória	27,7 ± 2,32 a	4,5 ± 0,29 a	3,2 ± 0,10 b
EC-117	17,7 ± 2,04 b	0,5 ± 0,00 d	2,1 ± 0,07 d
EC-122	16,9 ± 1,95 b	1,6 ± 0,03 c	2,6 ± 0,09 c
EC-118	16,5 ± 3,58 b	2,1 ± 0,10 c	4,0 ± 0,11 a
EC-119	15,8 ± 2,33 b	1,8 ± 0,07 c	1,8 ± 0,03 d
Pérola	11,6 ± 0,82 b	1,6 ± 0,08 c	1,7 ± 0,05 d

<sup>1</sup>Médias de três repetições. Os valores são seguidos pelo erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,01$ ).

#### 4. Discussão

O escurecimento interno em frutos de abacaxi é uma das mais importantes desordens fisiológicas na fruta em pós-colheita e a sua ocorrência está associada com uma resposta ao estresse por baixa temperatura (Lu et al., 2011; Py et al. 1987). A ocorrência deve-se à oxidação enzimática de compostos fenólicos pela PPO, produzindo quinonas, que se polimerizam e formam pigmentos de cor marrom (Yoruk e Marchal, 2003). Importantes fatores envolvidos no escurecimento enzimático são: (i) a concentração de compostos fenólicos, (ii) a atividade PPO e (iii) outros fatores, tais como o ácido ascórbico e aminoácidos sulfurados (capazes de converter *o*-quinonas de volta a difenol) e peroxidases (que também reagem com fenóis utilizando  $H_2O_2$  como co-substrato) (Friedman e Molnar-Perlt, 1990; Nicolas et al, 1994).

Polifenóis estão presentes em abundância na polpa de muitos frutos e frequentemente se relacionam com a predisposição destes ao escurecimento, dessa forma, variações individuais em determinado tipo fenólico apontam maior ou menor suscetibilidade de maneira mais eficaz que variações no conteúdo total de fenólicos (Amiot et al., 1995). Em maçã e pera, o escurecimento da polpa e a suscetibilidade à desordem estão associados principalmente com o conteúdo de ácido clorogênico, mas não se relacionam ao conteúdo de compostos fenólicos totais (Khanizadeh et al., 2007). Em abacate, níveis de escurecimento da polpa se relacionam com os níveis de catecol (substrato em que a PPO no abacate tem maior atividade) e também com os níveis de fenólicos totais (Gómez-López, 2002). A especificidade da enzima a determinado substrato fenólico varia entre frutos e também entre cultivares (Zhou et al., 2003). Stewart et al. (2002), trabalhando com abacaxi 'Smooth Cayenne', verificaram que diferentes níveis de escurecimento interno da polpa não se relacionam com os teores de fenólicos totais, que permaneceram inalterados com a evolução do distúrbio, o que sugere outros fatores envolvidos. Os dados apresentados na Tabela 1 mostram que as cvs. Vitória e

Smooth Cayenne apresentaram menores concentrações de compostos fenólicos que os outros genótipos, porém, isso não necessariamente sugere que estas cultivares sejam mais resistentes ao escurecimento em comparação com as demais. Sabe-se que no fruto de abacaxi a maior afinidade da enzima PPO é com o substrato catecol (Das et al., 1997), portanto, variações específicas deste composto podem sugerir uma maior ou menor suscetibilidade dos frutos de cada genótipo ao escurecimento interno.

A enzima chave envolvida na biossíntese de fenóis em frutos é a PAL, que pode ser induzida por várias condições de estresse e rapidamente sintetizada *de novo* por diferentes estímulos (Zhou et al., 2003). Em muitos trabalhos têm-se relatado que o escurecimento em frutos e vegetais está relacionado com aumento na atividade da PAL e consequente aumento dos níveis de compostos fenólicos (Fujita et al., 2006; Nguyen et al., 2003). Porém, aumento em sua atividade não se relaciona necessariamente com aumento da incidência do escurecimento (Yingsanga et al., 2008), fato esperado visto que a especificidade do composto fenólico produzido é pré-requisito para o escurecimento enzimático promovido pela PPO (Zhou et al., 2003). No abacaxi, a atividade da PAL é estimulada por várias condições de estresse como baixas temperaturas de estocagem (6-14°C), sendo tal condição estressante essencial para o incremento em sua atividade (Nguyen et al., 2003; Zhou et al., 2003). No presente trabalho, onde os frutos dos diferentes genótipos ficaram armazenados em temperatura ambiente, aparentemente sem terem sofrido nenhum tipo de injúria mecânica, a atividade da PAL (Tabela 3) não se relacionou com o conteúdo de fenólicos totais. Em tais condições constantes de temperatura, a atividade da PAL é estável e por vezes, pode não se relacionar com o conteúdo de fenólicos totais (Rinaldo et al., 2010), tampouco com o escurecimento interno da polpa. Uma menor atividade da PAL para a cv. Pérola e para os híbridos EC-117 e EC-119 poderia sugerir que uma menor concentração de compostos fenólicos estaria presente nesses genótipos, e consequentemente, teriam uma menor propensão ao escurecimento, entretanto, os teores de fenóis totais encontrados não se relacionaram à atividade da sua enzima produtora.

A qualidade de muitas frutas sofre um enorme impacto provocado pela ação catalítica da enzima PPO, que resulta em alteração de cor, sabor, textura e valor nutricional, sua principal atividade compreende a oxidação de difenóis a *o*-quinonas com o oxigênio como o oxidante primário (Yoruk e Marchal, 2003). Além da PPO, a enzima POD também catalisa a oxidação de compostos fenólicos a *o*-quinonas, sendo assim, participante dos distúrbios de escurecimento interno da polpa, incluindo em frutos de abacaxi (Jiang e Li, 2001). Entretanto, a contribuição da atividade da POD para o escurecimento de frutos é menor que da PPO, devido à limitada ou insuficiente disponibilidade de peróxido de hidrogênio endógeno (Nicolas et al. 1994). A atividade da PPO e da POD teve um comportamento parecido entre si, em cada um dos sete genótipos ( $r = 0,74$ ), sendo os frutos das cvs. Vitória e Smooth Cayenne com maior atividade específica dessas enzimas. Em vários frutos, incluindo abacaxi, a alta atividade da PPO e POD está diretamente relacionada com maior incidência de escurecimento interno da polpa (Lichanporn et al., 2009; Nguyen et al., 2003). Stewart et al. (2001) verificaram que frutos de abacaxi com maior incidência de escurecimento se tiveram alta atividade da PPO e Weeraheva e Adikaran (2005) verificaram uma correlação positiva entre a atividade da POD e desenvolvimento de escurecimento na cv. Smooth Cayenne. Isso sugere que os frutos das cvs. Vitória e Smooth Cayennes são mais propensas que as demais ao desenvolvimento dessa desordem, caso sejam submetidas a situações de estresse por frio.

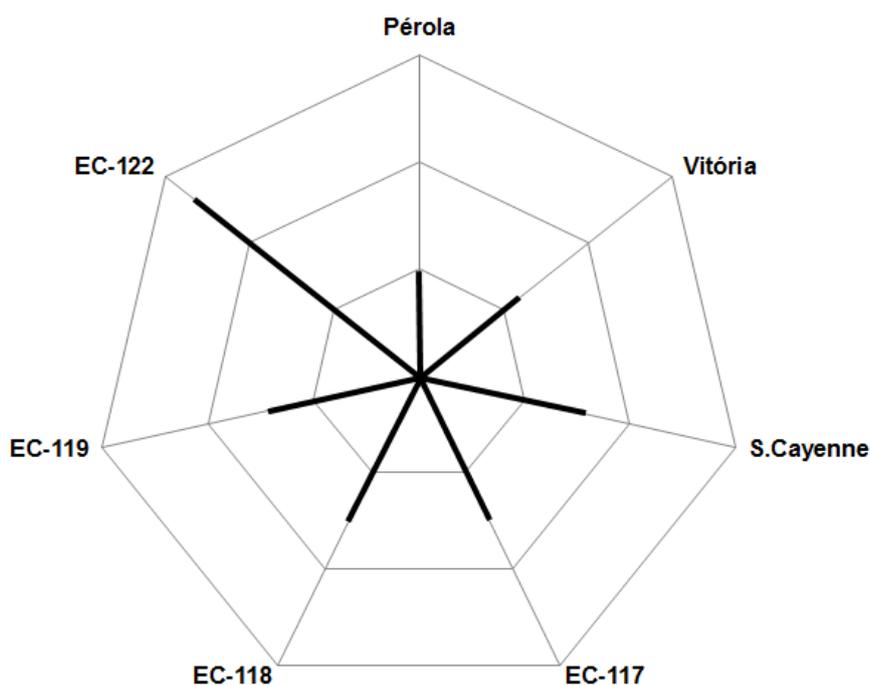
As duas enzimas produzem *o*-quinonas, que por reações não enzimáticas, originam os polímeros de coloração marrom. O ácido ascórbico pode prevenir a formação desses polímeros pela redução da *o*-quinona, produto da catálise da PPO e POD, de volta a difenol, seu produto de origem (Matheis e Whittaker, 1984; Teisson, 1972). As atividades da PPO e da POD relacionaram-se com os teores de ácido ascórbico mostrados na Tabela 1 e apresentaram uma correlação negativa forte com esta molécula ( $r = -0,83$  e  $r = -0,84$ , respectivamente). Esses dados mostram que a presença deste ácido na polpa tem grande influência na atividade de ambas as enzimas, reduzindo a concentração do produto resultante de suas catálises como mostrado por

Yoruk e Marshall (2003), relacionando altas concentrações de ácido ascórbico com menor incidência de desordens em polpa de abacaxi. Pelo mesmo mecanismo de ação do ácido ascórbico, atuam aminoácidos contendo enxofre, como a cisteína. Esses aminoácidos, em conjunto com proteínas ricas nesse mineral, são fortes agentes redutores e evitam a formação de polímeros de quinonas pela captura e conversão dessas moléculas de volta a difenóis (Friedman e Molnar-Perlt, 1990), reduzindo o escurecimento da polpa. Nas plantas, o enxofre tem função estrutural e encontra-se majoritariamente nas proteínas e em seus aminoácidos essenciais (Trivelin et al., 2002), altas concentrações desse mineral na polpa dos frutos, refletem altas concentrações desses aminoácidos nas células. A relação encontrada entre a concentração de enxofre na polpa dos frutos (Tabela 2) e a atividade da PPO e da POD (Tabela 3) foi inversamente proporcional, mostrando elevados valores de correlação negativa:  $r = -0,82$  e  $r = -0,92$ , respectivamente. O enxofre, associado ao ácido ascórbico, mostrou grande potencial de interferência na atividade das enzimas de escurecimento na cv. Pérola e nos quatro híbridos analisados, sugerindo que esses genótipos têm menor predisposição ao escurecimento interno.

Sabendo que a PPO, principal enzima associada ao escurecimento, e seu substrato estão localizados em diferentes compartimentos celulares (plastídios e vacúolo, respectivamente), o escurecimento enzimático da polpa é uma consequência direta da desintegração da membrana (Franck et al., 2007). Assim, a manutenção da integridade celular é um mecanismo potencialmente eficiente contra a ocorrência de escurecimento. Injúrias provocadas por exposição de frutos de abacaxi a baixas temperaturas foram observadas nas regiões do fruto onde estão as menores concentrações de cálcio (Hewajulige et al., 2003), da mesma forma que muitas desordens fisiológicas e senescência precoce foram relacionadas com baixas concentrações de cálcio em frutos de maçã, kiwi e abacate (Gerasopoulos et al., 1996). Youryon et al. (2013) associaram positivamente a resistência ao escurecimento da polpa do abacaxi com maiores concentrações de cálcio tecidual. Os frutos do híbrido EC-122, que tem como parentais as cvs. Perolera e Pérola, apresentaram

comparativamente com os outros genótipos as maiores concentrações de cálcio na polpa (Tabela 2 e Figura 1), sugerindo para esse genótipo uma boa característica de tolerância ao escurecimento da polpa.

A incidência de escurecimento na polpa também é, por vezes, relacionada às concentrações de potássio nos frutos (Teisson, 1972). O potássio atua de duas formas: reduzindo a concentração de fenólicos e elevando as quantidades de ácido ascórbico na polpa (Soares et al., 2005). Alguns trabalhos, inclusive, sugerem que se aumente a adubação potássica para promover uma maior resistência dos frutos ao escurecimento (Botrel et al., 2004). Neste trabalho, a concentração de potássio na polpa (Tabela 2) não se relacionou com nenhum dos dois fatores, mostrando ausência ou baixa interação entre esse mineral e os fatores relacionados à potencialidade dos genótipos ao escurecimento.

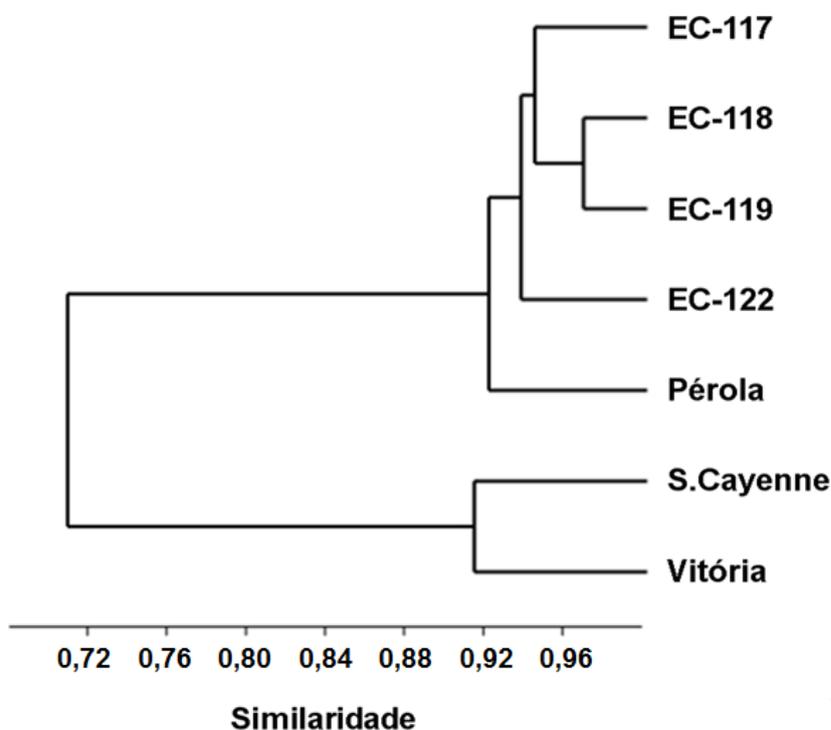


**Figura 1.** Proporcionalidade entre as quantidades de cálcio (barra preta sobre os eixos) nos sete genótipos de abacaxizeiro. A quantidade de cálcio apresentada pela cv. Pérola foi tomada como referência e considerada como sendo a unidade (1) e os demais genótipos variam a partir dessa unidade.

O agrupamento dos genótipos em relação às características potencialmente associadas ao escurecimento interno em frutos de abacaxi possibilitou

organizar em dois grupos os frutos estudados, sendo um grupo com mais de 92% de similaridade que inclui a cv. Pérola e os quatro novos híbridos resistentes à fusariose, considerados com maior tolerância ao escurecimento interno e outro compreendendo as cvs. Smooth Cayenne e Vitória, como as potencialmente mais suscetíveis (Figura 2).

A influência genética exercida pelos parentais dos híbridos pode ser vista nas características presentes nos genótipos produzidos e relacionadas à resistência ao escurecimento interno. A cv. Perolera usada como um dos parentais dos híbridos EC-122, EC-117, EC-118 e EC-119, é descrita na literatura com altos níveis de ácido ascórbico (Loison-Cabot, 1987). Esta característica da cv. Perolera foi herdada pelos híbridos, conferindo-lhes maior tolerância ao escurecimento. A cv. Vitória que tem como parental a cv. Smooth Cayenne, com baixo teor de ácido ascórbico, apresentou com ele uma similaridade de 90% (Figura 2).



**Figura 2.** Agrupamento (*cluster*) entre os frutos dos sete genótipos de abacaxizeiro, obtido pelo índice de similaridade usando o método de Bray-Curtis.

Esses dois grupos mostraram similaridade de 70% entre si, e a diferença existente entre eles é traduzida na possível maior predisposição dos frutos de 'Smooth Cayenne' e 'Vitória' ao escurecimento interno em relação à cv. Pérola e os demais híbridos.

## **5. Conclusões**

Os resultados evidenciaram nos frutos das cvs. Vitória e Smooth Cayenne um maior potencial de serem suscetíveis ao escurecimento interno da polpa por apresentarem menores concentrações de ácido ascórbico e enxofre, fortes inibidores da atividade das enzimas PPO e POD. A atividade destas duas enzimas foi menor na cv. Pérola e nos quatro novos híbridos resistentes à fusariose, o que permite considera-los potencialmente tolerantes ao escurecimento interno. Dentre os genótipos menos propensos à desordem, o híbrido EC-122 apresenta também o maior teor de cálcio tecidual, sugerindo para esse genótipo outra característica de tolerância. As características apresentadas pelos quatro novos híbridos referem-se ao padrão exibido pelo parental 'Perolera' e o comportamento apresentado pela cv. Vitória refere-se em grande parte ao seu parental, a cv. Smooth Cayenne.

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem pelo suporte técnico dado pelo Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Universidade de São Paulo, pela contribuição dada pela técnica Lúcia Helena Justino e agradecem também pelas análises de elementos minerais feitas pelo Dr. André Guarçoni Martins no Laboratório de Química de Solos e Tecidos Vegetais do Incaper/CRDR-ES.

## **Referências**

- Amiot, M.J., Tacchini, M., Aubert, S.Y., Oleszek, W., 1995. Influence of cultivar, maturity stage, and storage conditions on phenolic composition and enzymatic browning of pear fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 1132-1137.
- Botrel, N., Souza, L.F.S., Soares, A.G., Medina V.M., Freitas S.C., 2004. Influência do potássio na suscetibilidade ao escurecimento interno do abacaxi 'Pérola' (*Ananas comosus* L.). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 6, 17-23.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-54.
- Das, J.R., Bhat, S.G., Gowda, L.R., 1997. Purification and characterization of a polyphenol oxidase from the Kew cultivar of Indian pineapple fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 2031-2035.
- Franck C., Lammertyn, J., Ho, Q.T., Verboven, P., Verlinden, B., Nicolai., B.M., 2007. Review: Browning disorders in pear fruit. *Postharvest Biology and Technology* 43, 1–13.
- Friedman, M., Molnar-Perl, I., 1990. Inhibition of browning by sulfur amino acids. 1. Heated amino acid-glucose systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38, 1642-1647.
- Fujita, N., Tanaka, E., Murata, M., 2006. Cinnamaldehyde inhibits phenylalanine ammonia-lyase and enzymatic browning of cut lettuce. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 70, 672–676.
- Gerasopoulos, D., Chouliaras, V., Lionakis, S., 1996. Effect of preharvest calcium chloride sprays on maturity and storability of Hayward kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology* 7, 65-72.
- Gómez-López, V. M., 2002. Some biochemical properties of polyphenol oxidase from two varieties of avocado. *Food Chemistry* 77, 163-169.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaentologia Electronica* 4, 9.
- Hewajulige, I., Wijeratnam, R.W., Wijesundera, R.M.A., 2003. Fruit calcium concentration and chilling injury during low temperature storage of pineapple. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 1451–1454.
- Jiang, Y.M., 2000. Role of anthocyanins, polyphenol oxidase and phenols in lychee pericarp browning. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 305–310.
- Jiang, Y.M., Li, Y.B., 2001. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chemistry* 73, 139-143.
- Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., DeEll, J., 2007. Phenolic composition and antioxidant activity of selected apple genotypes. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 5, 61-66.
- Lichanporn, I., Srilaong, V., Wongs-Aree, C., Kanlayanarat, S., 2009. Postharvest physiology and browning of longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.) fruit under ambient conditions. *Postharvest Biology and Technology* 52, 294-299.
- Loison-Cabot, C. (1987) Practice of pineapple breeding. *Acta Horticulturae* 196, 25–36

- Lu, X., Sun, D., Li, Y., Shi, W., Sun, G., 2011. Pre- and post-harvest salicylic acid treatments alleviate internal browning and maintain quality of winter pineapple fruit. *Scientia Horticulturae* 130, 97-101.
- Matheis, G., Whitaker, J.R., 1984. Modification of proteins by polyphenol oxidase and peroxidase and their products. *Journal of Food Biochemistry* 8, 137–162.
- Nguyen, T.B.T., Ketsa, S., Van Doorn, W.G., 2003. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology* 30, 187-193.
- Nicolas, J.J., Richard-Forget, F.C., Goupy, P.M., Amiot, M., Aubert, S., 1994. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 34, 109–157.
- Pasternak, T., Potters, G., Caubergs, R., Jansen M.A.K., 2005. Complementary interactions between oxidative stress and auxins control plant growth responses at plant, organ, and cellular level. *Journal of Experimental Botany* 56, 1991–2001.
- Pérez, A.G., Olías, R., Espada, J., Olías, J.M., Sanz, C., 1997. Rapid determination of sugars, nonvolatile acids, and ascorbic acid in strawberry and other fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 3545-3549.
- Pourcel, L., Routaboul, J.M., Cheynier, V., Lepiniec, L., Debeaujon, I., 2006. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science* 12, 29–36.
- Pusittigul, I., Siriphanich, J., 2008. Relationship between calcium content and internal browning of pineapples. *Agriculture Science Journal* 39 (Especial), 176–179.
- Pusittigul, I., Kondod, S., Siriphanicha, J., 2012. Internal browning of pineapple (*Ananas comosus* L.) fruit and endogenous concentrations of abscisic acid and gibberellins during low temperature storage. *Scientia Horticulturae* 146, 45–51.
- Py, C., Lacoeyulhe, J.J., Teisson, C., 1987. The pineapple: cultivation and uses. Trad. D Goodfellow. Paris, FR, Editions G.-P. Maisonneuve e Larose. 568 p.
- Rinaldo, D., Mbéguié-A-Mbéguié, D., Fils-Lycaon, B., 2010. Advances on polyphenols and their metabolism in sub-tropical and tropical fruits. *Trends in Food Science & Technology* 21, 599-606.
- Robert, C., Richard-Forget, F., Rough, C., Pabion, M., Cadet, F., 1996. A kinetic study of the inhibition of palmito polyphenol oxidase by L-cysteine. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 28, 457-463.
- Selvarajah, S., Bauchot, A.D., John, P., 2001. Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology* 23, 167–170.
- Soares, A.G., Trugo, L.C., Botrel, N., 2005. Reduction of internal browning of pineapple fruit (*Ananas comosus* L.) by preharvest soil application of potassium. *Postharvest Biology and Technology* 35, 201-207.
- Stewart, R.J., Sawyer, B.J.B., Robinson, S.P., 2002. Blackheart development following chilling in fruit of susceptible and resistant pineapple cultivars. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 42, 195-199.

- Teisson, C., 1972. Studies on internal browning of pineapple. *Fruits*, 27, 603-612.
- Trivelin, P.C.O., Bendassolli, J.A., Muraoka, T., Carneiro Júnior, F., 2002. Sulfur utilization by rice and *Crotalaria juncea* from sulfate - 34S applied to the soil. *Scientia Agricola* 59, 205-207.
- Walker, J.R., Ferrar, P.H., 1998. Diphenol oxidases, enzyme-catalysed browning and plant disease resistance. *Biotechnology and Genetic Engineering Review* 15, 457-498.
- Weerahewa, D., Adikaram, N.K.B., 2005. Some biochemical factors underlying the differential susceptibility of two pineapple cultivars to internal browning disorder. *Ceylon Journal of Science* 34, 51-59.
- Wijeratnam, R.S.W., Hewajulige, I.G.N., Wijesundera, R.L.C., Abeysekere, M., 2006. Fruit calcium concentration and chilling injury during low temperature storage of pineapple. *Acta Horticulturae* 702, 203-208.
- Yingsanga, P., Srilaong, V., Kanlayanarat, S., Noichinda, S., McGlasson, W.B., 2008. Relationship between browning and related enzymes (PAL, PPO and POD) in rambutan fruit (*Nephelium lappaceum* Linn.) cvs. Rongrien and See-Chompoo. *Postharvest Biology and Technology* 50, 164-168.
- Yoruk, R., Marshall, M.R., 2003. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *Journal of Food Biochemistry* 27, 361-422.
- Youryou, P., Wongs-Aree, C., McGlasson, W.B., Glahan, S., Kanlayanarat, S., 2013. Alleviation of internal browning in pineapple fruit by peduncle infiltration with solutions of calcium chloride or strontium chloride under mild chilling storage. *International Food Research Journal* 20, 239-246.
- Zhang, Z., Pang, X., Xuwu, D., Ji, Z., Jiang, Y., 2005. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry* 90, 47-52.
- Zhou, Y., Dahler, J.M., Underhill, S.J.R., Wills, R.B.H., 2003. Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. *Food Chemistry* 80, 565-572.

## CONCLUSÃO

Os frutos da cv. Vitória destacaram-se pelos maiores teores de potássio e ferro, pela grande quantidade de açúcares e pela polpa mais concentrada, sendo que estas duas últimas características também elevaram a qualidade do híbrido EC-122, que, por sua vez, ainda mostrou destaque nos elevados teores de cálcio na polpa. Características favoráveis foram verificadas na cv. Pérola e no híbrido EC-119 como frutos com baixa acidez e alto poder antioxidante, entretanto, dentre todos os genótipos, a cv. Pérola mostrou-se a mais pobre nutricionalmente. Os híbridos EC-117 e EC-118 também mostraram elevado potencial antioxidante, somado às altas concentrações de potássio e ferro no EC-118. Dentre os sete genótipos analisados, 'Vitória' e 'Smooth Cayenne' apresentaram o maior potencial de serem suscetíveis ao escurecimento interno da polpa visto que tiveram as menores concentrações de ácido ascórbico e enxofre e, conseqüentemente, menor atividade da PPO e da POD. Os frutos mostraram aromas semelhantes, sendo que os da cv. Pérola mostraram uma maior concentração de notas cítricas. Dentre os sete genótipos, a cv. Vitória se destaca pelo sabor e riqueza de minerais na polpa, embora exija maiores cuidados para impedir o escurecimento interno. A cv. Pérola - a mais produzida no Brasil - mesmo mais resistente ao escurecimento, é pobre em minerais e tem baixo potencial de dulçor comparada com as demais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOTT, J.A. Quality measurement of fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 15, p. 207-225, 1999.

BARRETT, D.M.; BEAULIEU, J.C.; SHEWFELT, R. Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 5, p. 369-389, 2010.

BARTHOLOMEW, R.E.; PAULL, R.E.; ROHRBACH, K.G. **The pineapple: botany, production, and uses**. London: CABI Publishing, 2003. 301 p.

BARTOLOMÉ, A.P.; RUPEREZ, P.; FUSTER, C. Pineapple fruit morphological characteristics, chemical composition and sensory analysis of Red Spanish and Smooth Cayenne cultivars. **Food Chemistry**, Berkshire, v. 53, p. 75–79, 1995.

BENGOZI, F.J. Procedência, sazonalidade e qualidade físico-química do abacaxi comercializado na CEAGESP – São Paulo. 2006. 151 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2006.

BOTREL, N.; PATTO DE ABREU, C.M. Colheita, cuidados e fisiologia pós-colheita do abacaxi. **Informe Agropecuário**, v. 17, p. 33-40, 1994.

CARVALHO, V.D.; BOTREL, N. Características da fruta para exportação. In: GORGATTI NETTO, A. et al. **Abacaxi para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996. 41p. (FRUPEX. Publicações Técnicas, 23).

CHITARRA, M.I.; CHITARRA, A.B. **Pós-Colheita de frutos e hortaliças: Fisiologia e Manuseio**. 2. ed. Ver. ampliada. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

COLLINS, J. L. **The pineapple: Botany, cultivation, and utilization**. Interscience Publishers Inc, New York, 1960. 294 p.

CUNHA, G.A.P.; CABRAL, J.R.S. SOUSA, L.F.S. (orgs). **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Cruz das Almas, p. 17-51, 1999.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical Yearbook 2013. World food and agriculture**. Rome 2013.

GONÇALVES, N.B. (org.). **Abacaxi: pós-colheita**. Embrapa Agroindústria de Alimentos. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 45 p. (Frutas do Brasil 5).

HOSSAIN, M.A.; RAHMAN, S.M.M. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. **Food Research International**, Canada, v. 44, p. 672-676, 2011.

INNOCENTI, E.D.; PARDOSSI, A.; TOGNONI, F.; GUIDI, L. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarone' and 'rocket salad' when stored as fresh cut products. **Food Chemistry**, Berkshire, v. 104, p. 209–215, 2007.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Banco de dados agregados. SIDRA: Sistema IBGE de recuperação automática. Levantamento sistemático da produção agrícola. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 31 jan. 2013.

KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. 3. ed. Califórnia, University of California, 2002. 535 p.

MANEENUAM, T.; KETSA, S.; VAN DOORN, W.G. High oxygen levels promote peel spotting in banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 43, p. 128–132, 2007

MHATRE, M.; TILAK-JAIN, J.; DE, S.; DEVASAGAYAM, T.P.A. Evaluation of the antioxidant activity of non-transformed and transformed pineapple: A comparative study. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 47, p. 2696–2702, 2009.

MIGUEL, A.C.A.; SPOTO, M.H.F.; ABRAHÃO, C.; SILVA, P.P.M. Aplicação do método QFD na avaliação do perfil do consumidor de abacaxi 'Pérola'. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, p. 563-569, 2007.

PINHEIRO, A.C.M.; VILAS BOAS, E.V.B.; LIMA, L.C. Influência do CaCl<sub>2</sub> sobre a Qualidade pós-colheita do abacaxi cv. Pérola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p. 32-36, 2005.

REINHARDT, D.H. **Abacaxi**: produção, pós-colheita e mercado. Fortaleza: Instituto Frutal, 2004. 139 p.

ROHRBACH, K.G.; APT, W.J. Nematode and disease problems of pineapple. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 70, p. 81–87, 1986.

SONG J.; FORNEY C.F. Flavour volatile production and regulation in fruit. **Journal of Plant Science**, Canadá, v. 88, p. 537-550, 2008.

SPIRONELLO, A. Abacaxi. In: DONADIO, L.C. (org.). **História da Fruticultura Paulista**. Jaboticabal: Maria de Lourdes Brandel – ME, 2010. cap. 3. p. 61-82.