

# Le brunissement interne de l'ananas.

## I - Historique.

## II - Matériel et méthodes.

**C. TEISSON\***

LE BRUNISSEMENT INTERNE DE L'ANANAS

C. TEISSON (IRFA)

*Fruits*, avril 1979, vol. 34, n° 4, p. 245-261.

RESUME.

HISTORIQUE.- Après un bref rappel sur les brunissements des organes végétaux induits par le froid et leur mécanisme enzymatique, l'auteur rappelle les données déjà acquises sur le brunissement interne de l'ananas. Cette anomalie est connue depuis fort longtemps et dans toutes les zones de production.

MATERIEL ET METHODES.- Rappel des conditions de culture de l'ananas en Côte d'Ivoire, de la constitution et de la composition du fruit de l'ananas. Méthodes d'observation du brunissement interne et de dosage des différents constituants chimiques.

### AVANT-PROPOS

*L'ensemble des résultats sur le brunissement interne de l'ananas, exposés dans les différents articles à paraître dans FRUITS, sont extraits d'une thèse de Doctorat d'État présentée à l'Université d'Abidjan le 23 mars 1977 devant MM. les Professeurs LOROUGNON-GUEDE, ATTIAS, d'AUZAC, LAMBERT et ULRICH.*

*Dans un premier temps, ne sont publiés que les résultats obtenus sur l'étude symptomatologique, sur l'approche biochimique et sur les moyens de lutte. Les travaux entrepris sur les aspects enzymologiques du problème seront publiés ultérieurement par ailleurs.*

*Un travail de cette ampleur n'a évidemment pas été réalisé par un chercheur unique, ont participé en particulier :*

*- à l'élaboration des programmes : MM. MARTIN-PRÉVEL et PY en tant que Directeurs scientifiques,*

*- à l'élaboration des protocoles expérimentaux et à leur réalisation : MM. COMBRES, LACOEUILHE, LOSSOIS et MARCHAL, chacun dans leur spécialité respective : bioclimatologie, nutrition minérale, biométrie et analyses minérales.*

## INTRODUCTION

La culture de l'ananas est, pour la Côte d'Ivoire, une des principales sources de revenus. En 1974, avec dix milliards de francs CFA, elle fournissait le cinquième produit en valeur d'exportation (*Marchés tropicaux*, 9 mai 1975). La production d'ananas frais, qui représente le tiers de cette valeur (*Bulletin d'Afrique Noire* n° 825), a subi une progression spectaculaire : 16.000 tonnes en 1970, 39.000 en 1972, 71.000 en 1974 et 80.000 en 1975.

L'exportation se fait presque exclusivement sur l'Europe, dont la Côte d'Ivoire est, de loin, le principal fournisseur : en 1974, avec 30.000 tonnes, les ananas ivoiriens ont couvert 84 p. 100 du marché français de l'ananas frais (*Bulletin d'Afrique Noire* n° 843).

Les travaux de l'IRFA sur l'ananas ont débuté très tôt en Côte d'Ivoire. Ils ont porté essentiellement sur l'étude de la croissance de la plante et les techniques culturales, en particulier la nutrition minérale avec l'appui du diagnostic foliaire et la mise au point de l'induction florale artificielle. L'incidence des facteurs climatiques et agronomiques sur la qualité des fruits a également retenu l'attention de nombreux chercheurs. Les recherches entreprises ont permis à la Côte d'Ivoire d'être un des pays où le niveau technique et la productibilité des plantations sont parmi les plus élevés.

Cependant, de nouveaux pays producteurs tentent de s'implanter sur le marché européen, en particulier en sacrifiant la qualité au profit d'un bas prix de revient. Aussi, de l'avis même des responsables ivoiriens, «il est essentiel que l'ananas de Côte d'Ivoire consolide sa place sur les marchés, en s'attachant à résoudre un certain nombre de problèmes liés surtout à la qualité» (*Bulletin d'Afrique Noire* n° 843).

Parmi ceux-ci, celui du brunissement interne de la pulpe, qui survient après la mise au froid du fruit, est primordial.

## HISTORIQUE

### LES BRUNISSEMENTS DE VÉGÉTAUX DUS AU FROID

Les brunissements anormaux, superficiels ou profonds, outre ceux d'origine parasitaire, sont des causes très fréquentes de dépréciation des végétaux et des fruits en particulier.

Un traumatisme physique (FIDLER et COURSEY, 1969) est souvent à l'origine de ces phénomènes :

- directement dans le cas de blessures par mise en contact d'enzymes et de substances normalement séparées dans la cellule,
- indirectement lors de la mise au froid, volontaire ou non, par modifications physico-chimiques induisant des perturbations métaboliques.

Bien qu'essentiellement saisonnier, il peut affecter plus de 40 p. 100 de la production et a pu entraîner l'interdiction momentanée des importations dans certains pays européens. Cette anomalie existe dans tous les pays producteurs, mais c'est en Côte d'Ivoire qu'elle semble la plus grave. Les producteurs, inquiets de cette situation, ont fourni, de 1973 à 1975, un financement particulier pour intensifier les recherches de l'IRFA entreprises dès 1970 sur ce sujet. Devant l'importance du problème et l'intérêt des résultats, les travaux se sont poursuivis jusqu'à maintenant et le seront vraisemblablement, tant qu'une solution définitive n'aura pas été trouvée.

Le brunissement interne de l'ananas n'ayant jamais été étudié de manière approfondie, nous avons voulu aborder ce problème sous tous ses aspects, dans un double but de compréhension du phénomène et de mise au point de moyens pratiques de lutte. Dans un brunissement survenant après récolte et induit par le froid, les facteurs intervenant sont très nombreux, puisqu'ils comprennent aussi bien les conditions de culture - variétés, sols, climats, nutrition minérale ... - que celles de traitement du fruit après récolte - température et durée de conservation, composition de l'atmosphère ...

Une étude exhaustive du problème exigeait donc des études agronomiques, technologiques, mais aussi biochimiques et enzymatiques, pour essayer de mieux appréhender les mécanismes mis en jeu. Une telle approche nécessitait un travail en équipe et plusieurs chercheurs de divers centres IRFA ont participé à l'élaboration des programmes et nous ont assisté dans la réalisation d'une partie d'entre eux.

Malgré cela, le présent travail ne peut être considéré que comme une approche forcément incomplète et nous verrons qu'il existe de nombreux points à éclaircir, d'autant plus que le mécanisme biochimique de ce brunissement présente certaines originalités.

Les brunissements ne sont, dans ce dernier cas, qu'une des expressions possibles du «chilling injury», terme anglo-saxon qualifiant tous les accidents physiologiques survenant à température basse, mais supérieure au point de congélation. Ils peuvent se produire immédiatement à basse température ou uniquement après remise à température plus élevée (SMITH, 1940 et 1947, TING et ATTAWAY, 1971).

Les produits végétaux tropicaux ou subtropicaux sont très sensibles à ces accidents (FIDLER et COURSEY, 1969, LYONS, 1973). Leurs températures de conservation sont donc plus élevées et leurs temps de stockage possibles, sauf dans le cas des agrumes, beaucoup plus brefs que dans le cas des fruits tempérés (Institut International du Froid, 1967). Cette sensibilité est évidemment un très grave inconvénient pour les fruits devant être transportés loin de leur lieu de production.

Accidents physiologiques dus aux basses températures.

● Symptomatologie.

Les symptômes peuvent être très variés : ULRICH (1954) cite sept types d'accidents sur pommes, cinq sur poires ... Les symptômes superficiels, nécroses ou décolorations, sont très fréquents, ainsi qu'une maturation anormale ou avortée après retour à température plus élevée. Les exemples de la banane (WARDLAW, 1961 et MURATA, 1969) et de l'avocat (BIALE, 1941) sont parmi les plus connus.

Les brunissements sont également fréquents : dans les patates douces (LEWIS et MORRIS, 1956, LIEBERMAN et al., 1958), la pomme de terre (MAPSON et al., 1963), la pomme (ULRICH, 1954 ; HULME et al., 1964), la poire (ULRICH, 1954).

La sensibilité est fonction des variétés et de l'âge physiologique de l'organe (WEURMAN et SWAIN, 1955, MACHEIX, 1970). Elle dépend aussi de facteurs intervenant avant la récolte (WILKINSON, 1970) : pratiques culturales, nutrition minérale, point de maturité et surtout conditions climatiques. Ainsi, Mac GLASSON, d'après PALMER (1971), a observé qu'en Australie, les bananes étaient d'autant plus sensibles que le climat de la zone de production était plus chaud. APELAND (1966) est arrivé aux mêmes conclusions sur le concombre.

En général, l'intensité des désordres induits augmente si la température diminue et si le temps d'exposition a allongé. Dans certains cas cependant (prunes, pomelos; WILKINSON, 1970), des températures trop basses les ralentissent. PLANK et DAVIES (cités par LYONS, 1975), parlent d'un équilibre entre deux facteurs thermosensibles agissant en sens inverse, l'un contrôlant l'induction et l'autre l'expression des symptômes. Le premier devient plus important lorsque la température diminue et le second lorsqu'elle croît. Cette double exigence peut être stricte dans le cas des anomalies ne se développant qu'après remise à température plus élevée.

L'importance du choc thermique est très grande. Dans le cas du concombre (APELAND, 1966) et de la banane (PANTASTICO et al., 1967), les accidents, lorsqu'ils sont à un niveau potentiel très faible, peuvent être diminués en exposant au préalable les fruits à des températures intermédiaires. Dans de nombreux autres cas (prunes : SMITH W.H., 1947 et SMITH A.J.M., 1950 ; pommes : HULME et al., 1964 ; patates douces : LIEBERMAN et al., 1958), ils peuvent être pratiquement évités par une interruption momentanée de la température d'induction. Les auteurs expliquent cet effet par l'arrêt, lors de la remise à température plus élevée, soit de l'accumulation d'un composé toxique ou même d'un produit intervenant directement dans le brunissement, soit de la perte d'un inhibiteur.

● Aspects physiologiques.

Les modifications survenant au cours des accidents dus au froid sont nombreuses. Elles concernent en premier lieu la respiration, qui est en général fortement diminuée ; les

symptômes observés se rapprochent d'ailleurs de ceux dus à une suboxygénation des tissus (KIDO et WEST, 1927). Des expériences sur mitochondries isolées (LYONS et RAISON, 1970) ou non (LIEBERMAN et al., 1958 ; MINAMIKAWA et al., 1961) ont prouvé que cet effet pourrait être dû à une perte de cytochrome C.

Dans certains cas cependant, on observe au contraire une respiration anormalement élevée (LEWIS, 1956 ; LEWIS et MORRIS, 1956 ; EAKS et MORRIS, 1956, EAKS 1960 ; MURATA, 1969). Il peut être rappelé à ce propos, qu'une augmentation de la nutrition calcique entraîne une diminution à la fois des accidents physiologiques et de la respiration des fruits (FAUST, 1974) et qu'une amélioration de cette nutrition peut diminuer certains brunissements de pommes (BANGERTH et al., 1974 ; DRAKE, 1974).

Les changements observés dans les métabolites sont également nombreux. Des pertes importantes en acide ascorbique ont été fréquemment observées : dans les patates douces (LIEBERMAN et al., 1958), l'ananas (MILLER et HEILMAN, 1952) et la banane (MURATA et OGATA, 1966). Par contre, les teneurs en composés phénoliques et en particulier en acide chlorogénique augmentent souvent (LIEBERMAN et al., 1958 ; WANG et MELLENTHIN, 1973).

Le froid provoque également de très nombreuses modifications quantitatives et qualitatives d'activité enzymatique. Nous ne citerons que les plus proches de nos préoccupations concernant les peroxydases (HOARD et TIMBIE, 1973 ; TAO et KHAN, 1976) et en particulier leur activité AIA oxydasique (BOLDUC et al., 1970).

Tous les phénomènes ne sont cependant qu'une conséquence du phénomène primaire qui est, selon LYONS (1973), la dégradation des membranes, par suite de la solidification de leurs lipides.

Mécanisme biochimique du brunissement des fruits.  
Facteurs limitants et contrôle.

Les brunissements des denrées alimentaires peuvent être dus à plusieurs types de réaction (ESKIN et al., 1971), mais dans le cas des brunissements *in vivo* des fruits, c'est surtout l'oxydation enzymatique des phénols qui est mise en cause (JOSLYN et PONTING, 1951 ; MATHEW et PARPIA, 1971).

Deux types d'enzymes peuvent théoriquement intervenir : les phénoloxydases et les peroxydases. On considère en général que ces dernières interviennent peu par manque de peroxydase (PONTING et JOSLYN, 1948 ; JOSLYN et PONTING, 1951) ; leur action oxydative, comme dans le cas de l'oxydation de l'AIA (RICARD et JOB, 1974) n'ayant jamais été pressentie.

Les recherches sur les activités enzymatiques *in vivo*, en liaison avec la sensibilité réelle au brunissement, n'est donc porté que sur les phénoloxydases.



MACHEIX (1970), à la suite d'autres auteurs (WEURMAN et SWAIN, 1956 ; WALKER 1962), définit ainsi :

- le brunissement actuel, qui est en fait la mesure d'une augmentation de densité optique d'un jus emmené au pH optimum d'activité des P.O. et où barbote un courant d'air ou d'oxygène,
- le brunissement potentiel, dans lequel est apporté en plus un excès de substrats oxydables.

En fait, même dans le premier type de mesure, les conditions expérimentales sont si éloignées de la réalité (jus au lieu de cellules entières, pH, disponibilité en O<sub>2</sub>) qu'il s'agit d'un brunissement potentiel.

L'activité *in vivo* dépend non seulement de la concentration ou de la quantité d'enzymes, de substrats, d'activateurs ou d'inhibiteurs naturels, mais aussi des caractéristiques anatomiques et cytologiques du milieu. Ceux-ci, en effet, conditionnent la mise en contact entre les différents composés, chacun pouvant être séparé des autres par une barrière physique, et l'approvisionnement en oxygène. La mesure de l'activité exacte *in vivo* est donc bien évidemment impossible. Il est possible cependant de déterminer le facteur limitant primaire, qui peut être :

- le pH : celui des jus de fruits, compris entre 2 et 4 (ULRICH, 1970), est bien souvent incompatible avec une activité P.O. dont l'optimum se situe toujours au-dessus de pH 5 (REYES et LUH, 1960 ; WALKER et HULME, 1965 ; BENJAMIN et MONTGOMERY, 1973). Cependant, le pH d'un jus de fruits représente surtout le pH de la vacuole et non celui de l'environnement du site actif de la protéine.
- la teneur en substrats : cas de la tyrosine dans la pomme de terre (MAPSON et al., 1963) ou de l'acide chlorogénique dans la pomme (WALKER, 1962), tout particulièrement à certains stades de développement (MACHEIX, 1970). Les fruits jeunes, en général plus riches en composés phénoliques, sont d'ailleurs plus sujets au brunissement.
- les teneurs en enzymes : cas de la pomme (HAREL et al., 1966 ; MACHEIX, 1970). Dans la banane, ce serait plutôt la disponibilité en enzymes qui interviendrait, puisque les anomalies dues au froid semblent être précédées par une solubilisation des Per Ox (HAARD et TIMBIE, 1973).
- les teneurs en inhibiteurs naturels, dont l'acide ascorbique qui est de loin le plus important et qui peut intervenir à deux niveaux :
  - en réduisant en phénols les quinones formées par oxydation enzymatique. Tant qu'il existe de l'acide ascorbique en quantité suffisante, la transformation des quinones en produits colorés ne peut avoir lieu et le brunissement proprement dit est retardé (ASHRAF EL BAYOUMI et FRIEDEN, 1957 ; PIERPOINT, 1966 ; ULRICH et DELAPORTE, 1970),
  - en agissant directement sur les phénoloxydases qui seraient dénaturées (BARUAH et SWAIN, 1953).

De nombreux auteurs (WALKER, 1962 ; MACHEIX,

1970) n'ont cependant trouvé aucune corrélation nette entre le brunissement et la teneur en acide ascorbique d'un fruit.

Lorsque le brunissement intervient au cours d'une transformation industrielle du fruit, l'incidence du brunissement enzymatique peut être diminuée par différentes méthodes (ESKIN et al., 1971 ; PECH et FALLOT, 1972) :

- par la chaleur : les phénoloxydases sont en effet très thermolabiles,
- par les composés sulfureux ou sulfurylés : SO<sub>2</sub>, thiourée, cystéine qui sont des réducteurs très puissants ou empêchent la polymérisation des quinones,
- par les inhibiteurs habituels des phénoloxydases : acide ascorbique et agents chélateurs du cuivre,
- par des applications de solutions d'acides, citrique et borique en particulier, qui abaissent le pH et diminuent donc l'activité enzymatique.
- par l'exclusion de l'oxygène,
- par des corps polyvinylpyrrolidone et N-vinyl-2-pyrrolidone - qui, en adsorbant les substrats, les soustraient à l'action de l'enzyme.

Mais, lorsque le brunissement intervient sur des organes dont il faut respecter l'intégrité, les moyens d'action sont beaucoup plus limités. On peut citer cependant les résultats de BUCHANAN et al. (1969), qui ont obtenu une diminution du brunissement des pêches par des applications, au verger, d'acide 2-chloroéthylphosphonique et d'acide gibbérélique, sans pouvoir expliquer leur mode d'action.

#### Données bibliographique sur le BI de l'ananas.

Les travaux sur le BI de l'ananas sont relativement rares, la plupart anciens et publiés uniquement dans des revues à diffusion locale. De plus, les termes employés pour désigner, semble-t-il, le BI, sont très variables : «endogenous brown spot» (LINFORD, 1932 et 1944), «physiological breakdown» (MILLER, 1951 ; MILLER et al., 1952 et 1953), «black heart» et «black heart disease» (SHON KUNG SUN, 1971 ; LEVERINGTON, 1973). DULL (1971) fait une distinction entre les brunissements observés par MILLAR et LINFORD, mais, d'après les descriptions qu'il en donne, ils peuvent correspondre tous deux aux BI tel que nous l'observons et n'en sont, à notre avis, que deux faciès différents.

Des travaux sud-africains contemporains de nos recherches ont été récemment publiés et leurs résultats concordent en grande partie avec les nôtres (L.J. VAN LELYWELD et J.A. de BRUYN, 1976 et 1977).

#### ● En Océanie.

Aux Hawaii et en Australie, le BI peut apparaître au champ, mais ne revêt vraisemblablement pas la même importance économique qu'en Côte d'Ivoire. Les premiers travaux sur le sujet ont été réalisés aux Hawaii, ils semblaient arrêtés depuis plusieurs années sans qu'une solution ait été trouvée.

Toutefois, une publication récente (AKAMINE et al., 1975) fait mention d'une diminution de l'«endogenous brown spot» par un léger réchauffement des fruits avant ou après transport.

LINFORD (1932) et LINFORD et al. (1944), aux Hawaii, ont montré que l'«endogenous brown spot» est d'origine non parasitaire et qu'il est :

- limité dans l'espace et dans le temps aux zones les moins ensoleillées et aux fruits produits en hiver,
- plus fréquent à l'intérieur d'une même parcelle dans les lignes les plus ombragées,
- associé à des réserves amylacées faibles dans la tige de la couronne,
- influencé par la nutrition minérale avec tendance à l'augmentation par l'azote et à la diminution par la potasse.

Tous ces résultats n'ont cependant pas été officiellement publiés, ils proviennent d'études préliminaires dont les éventuels prolongements sont inconnus, du fait du caractère privé de la recherche aux Hawaii.

LEVERINGTON a résumé, dans une communication personnelle (1973), les différents résultats obtenus au Queensland qui, nous le verrons, correspondent souvent aux nôtres :

- dans certains cas, mais pas toujours, une défoliation partielle et un ombrage généralisé des plants accroissent le brunissement interne,
- le brunissement interne est augmenté par la sécheresse, mais n'est pas réduit par des irrigations hebdomadaires,
- des modifications de la nutrition azotée ou potassique entraînent des résultats contraires suivant les essais,
- des applications de cuivre, bore, zinc ou manganèse n'ont aucun effet,
- les fruits verts sont en général plus sensibles que les fruits mûrs, mais l'inverse est parfois observé,
- les fruits atteints semblent moins riches en sucres réducteurs, ils sont surtout moins acides et moins riches en acide ascorbique,
- les fruits du premier cycle semblent plus sensibles,
- il n'y a aucune relation nette entre le port du fruit (versé ou non), l'état du pédoncule et le BI. Il est à noter que les recherches semblent avoir été nombreuses dans ce sens en Australie et aux Hawaii,
- des pulvérisations d'ANA et de 4-CPA avant récolte n'ont eu aucun effet.

#### ● En Amérique.

IVANOFF (1946) est le premier à signaler la liaison entre l'apparition de ce brunissement non parasitaire sur ananas du Mexique et le transport au froid après récolte.

MILLER et al., (1951, 1952 et 1953) observent ce brunissement à la fois sur des fruits produits en hiver et sur ceux produits en été s'ils ont été transportés au froid.

Comme les chercheurs australiens, ils notent une plus grande sensibilité des fruits verts et surtout une disparition de l'acide ascorbique dans les fruits bruns. Ils caractérisent également ces fruits par l'apparition d'une activité ascorbate oxydase, absente dans les fruits frais. Ils ont montré d'autre part, sur la variété 'Pernambuco', que la disparition de l'acide ascorbique dans les fruits précède l'apparition des symptômes. Dans une dernière étude enfin, ces auteurs parviennent, contrairement aux Australiens, à diminuer sensiblement le brunissement interne par des pulvérisations sur la plante, une dizaine de jours avant récolte, d'acide parachlorophénoxyacétique (4-CPA) à la concentration de 400 à 800 ppm.

#### ● En Asie.

A Formose, le brunissement interne apparaît aussi bien sur pied lorsque la température moyenne descend au-dessous de 12 à 13°C, qu'après transport en bateau frigorifique (SHON KUNG SUN, 1971). A certaines époques, les pertes dues à cette anomalie atteignent 60 p. 100. SHON KUNG SUN induit, en les exposant à des températures alternées de 12 à 30°C, le BI sur des tranches d'ananas. Il observe, dans les cellules des fruits atteints, des «grains de mélanine» dont le nombre augmente après incubation en présence de tyrosine. Dans les mêmes conditions, des fragments de fruits sains ne produisent pas de mélanine. L'auteur conclut donc à la présence d'une plus grande quantité de tyrosine (ou polyphénoloxydase) dans les fruits atteints de BI et la présence de mélanine sous-entend que le substrat naturel est un dérivé de la tyrosine.

Cet auteur obtient d'autre part une inhibition notable du BI en immergeant les fruits dans divers inhibiteurs des tyrosinases : cyanure, thiourée, acide oxalique et ascorbique.

#### ● En Côte d'Ivoire.

Il faut attendre 1966 pour que les différents importateurs européens signalent du BI sur les ananas de Côte d'Ivoire. Il est vraisemblable que le problème existait auparavant mais qu'il ne soit devenu facilement perceptible qu'à partir de cette date, par suite de l'augmentation spectaculaire du tonnage d'ananas exportés, du nombre croissant des zones de consommation éloignées des ports de débarquement et de la diminution relative des autres affections de la chair (*Thielaviopsis paradoxa* en particulier). La confusion avec les tâches noires a pu également retarder la prise de conscience de l'importance du BI véritable.

M.A. et Renée TISSEAU (1970-1971) ont entrepris, en Côte d'Ivoire, les premières études sur ce sujet. Ils ont démontré que :

- au moment de la coupe, il est impossible d'observer des symptômes précurseurs,
- le BI n'apparaît que si les fruits ont subi une mise au froid, ce qui a lieu dans la pratique au cours du transport en bateau à 8°C. Le développement des symptômes n'a cependant pas lieu à cette température, il ne se produit que si les fruits sont replacés à température plus élevée. Les tempéra-

tures, en Côte d'Ivoire, sont bien évidemment trop élevées pour que le phénomène soit déclenché sur pied,

- les fruits les plus gros et les plus verts sont les plus sensibles,

- cette anomalie est saisonnière, elle correspond à la période de la plus faible acidité des fruits (Renée TISSEAU, 1963) pendant laquelle survient également le maximum d'accidents aux fruits : «taches noires» et «jaune» (PY et TISSEAU, 1965). Les mêmes auteurs ont obtenu, dans certaines expériences, une légère diminution du BI par des applications de potasse après traitement de floraison (M.A. TISSEAU, 1971). Les résultats obtenus n'ont malheureusement pas été constants.

Ils ont en outre établi une échelle de notation de l'intensité des symptômes, dont nous nous sommes inspirés pour nos travaux.

Enfin, du brunissement interne a été signalé dans d'autres zones de production, au Cameroun et au Honduras en particulier, par plusieurs chercheurs de l'IRFA et au Guatemala par FLORES DE MADRID (1973).

En conclusion les travaux précédents ont donc montré que :

- Le BI est général pratiquement en tous les pays producteurs d'ananas,

- il est induit par des basses températures subies soit avant, soit après la coupe du fruit,

- les symptômes ne se développent cependant pas à température basse et constante, il y a donc exigence de deux phases thermiques et existence de deux facteurs thermosensibles,

- les fruits les plus verts sont les plus sensibles,

- le BI est lié à une faible acidité du fruit et surtout à une faible teneur en acide ascorbique, ainsi qu'à sa disparition,

- la nutrition minérale des plants semble influencer la sensibilité des fruits, mais aucun résultat très net n'a été obtenu,

- pratiquement aucun moyen de lutte n'a été mis en évidence.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Rappel des données sur la plante et sa culture en Côte d'Ivoire.

### ● La plante.

La variété 'Cayenne lisse' de l'espèce *Ananas comosus* est la plus cultivée dans le monde et la seule qui le soit à grande échelle en Côte d'Ivoire.

La morphologie et la croissance de cette Broméliacée ont été décrites par de nombreux auteurs (KRAUSS, 1948 et 1949 ; COLLINS, 1960 ; PY et TISSEAU, 1965). Nous rappellerons simplement quelques points pouvant intervenir sur la qualité du fruit.

La morphologie et le métabolisme mixte, mésophytique et crassulacéen de l'ananas lui confèrent une assez bonne résistance à la sécheresse. La balance entre ces deux types de métabolisme est régie par les conditions climatiques et, en particulier, par les variations thermiques journalières (AUBERT, 1973a ; CHEN et LIAW, 1968 ; BARTHOLOMEW et KADZIMANN, 1975). Il en résulte une très grande variation de la composition, surtout en acides organiques.

L'induction florale, réalisée artificiellement par des applications d'éthylène ou d'acétylène permet de planifier parfaitement la production et de récolter à toute époque de l'année. Suivant les impératifs commerciaux et le biotope de culture, le traitement est effectué sur des plants d'âge et de taille différents. Tous ces facteurs influent considérablement sur la composition des fruits (PY et SILVY, 1954 ; HUET, 1958 ; PY, 1961).

La récolte pouvant être réalisée tout au long de l'année, les conditions climatiques sont une autre source de variations possibles de la composition du fruit. La connaissance des conditions culturales en Côte d'Ivoire est donc indispensable à toute recherche sur la qualité du fruit.

### ● Conditions de culture en Côte d'Ivoire.

- Milieu naturel.

En Côte d'Ivoire, la production d'ananas pour l'exportation en frais est concentrée entre 5 et 6° de latitude nord. Parmi les gros pays producteurs, seule la Malaisie occupe une situation aussi nettement équatoriale. Dans ces conditions géographiques, la croissance de l'ananas est très rapide et la production très importante, mais les teneurs en sucres et en acides organiques ne sont pas à d'aussi bons niveaux que sous les climats de caractère plus nettement tropical (PY, 1965 ; GUYOT et al., 1974).

On peut distinguer deux zones de production : la zone côtière autour d'Abidjan et la zone intérieure, plus septentrionale, autour de Tiassalé et Agboville.

L'amplitude thermique est très faible, surtout dans la région côtière, et les températures moyennes dépassent souvent 27°C. Il en résulte une acidité des fruits en général trop basse. On estime en effet que l'optimum est atteint pour des températures moyennes de 25°C (PY, 1965 ; HUET, 1958).

L'ensoleillement est également trop faible pour permettre une bonne coloration des fruits. Il est plus important dans la zone de Tiassalé.

La pluviométrie se caractérise par deux saisons humides et deux saisons sèches d'inégales durées. Très abondante sur la côte (2.000 mm), elle est plus faible à l'intérieur (1.400 à 1.600 mm), où la saison sèche est beaucoup plus rigoureuse.

Le long des côtes, les plantations sont établies sur des sables tertiaires très meubles, très perméables, mais très pauvres. A l'intérieur, les sols issus soit de schistes, soit de granites, sont beaucoup plus argileux et plus riches en ca-



tions, principalement en calcium et magnésium. Tous ces sols sont du type ferrallitique. Ils sont très pauvres et la nutrition de la plante doit être assurée en quasi-totalité par les engrais.

- Techniques culturales.

La culture de l'ananas, de la plantation à la récolte, en passant par le traitement de floraison, demande des techniques relativement élaborées.

La croissance étant rapide, l'intervalle plantation-récolte peut être très court (douze mois) et les densités élevées (60 à 70.000 plants par hectare). Dans de bonnes conditions phytosanitaires et nutritionnelles, la production peut dépasser soixante tonnes de fruits par hectare. Le poids moyen optimum recherché est de 1,2 à 1,5 kg par fruit.

La fumure est appliquée sous deux formes : solide avant plantation pour le phosphore, le calcium et le magnésium, en pulvérisations fractionnées au maximum pour la potasse et l'azote apportés sous forme de sulfate de potasse et d'urée. Les quantités d'éléments minéraux apportées par plant sont très importantes :

N	4 g	K <sub>2</sub> O	10 g	CaO 5 à 7 g
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	2 g			

Aucun apport d'engrais n'est habituellement réalisé après le traitement de floraison, pendant le développement du fruit. De tels apports ont une incidence assez faible sur la récolte (TISSEAU, 1971 ; TEISSON, 1973a), sauf s'ils sont appliqués juste après le traitement d'induction florale. Des apports d'azote seul, réalisés à ce moment, diminuent l'acidité du fruit déjà trop faible en moyenne en Côte d'Ivoire.

Il n'est fait aucune application d'oligo-éléments et en particulier de fer ou de zinc comme aux Hawaii (PY et al., 1956 ; AUBERT, 1973b), où elles sont indispensables étant donné la nature des sols cultivés.

A l'approche de la récolte, les fruits sont protégés contre les coups de soleil par divers procédés d'ombrage et l'apex de la couronne est détruit mécaniquement pour qu'elle n'atteigne pas un volume excessif.

- Conditions de récolte et d'exportation.

Bien que la différenciation florale de tous les plants d'une parcelle ait lieu vraisemblablement le même jour, celui du traitement de floraison, la récolte s'étale sur deux semaines. Les fruits les plus gros mûrissent toujours avant les plus petits.

L'emploi de produits libérant de l'éthylène pour grouper la récolte (AUDINAY, 1970 ; POIGNANT, 1971), bien que très efficace, n'est pas généralisé.

La qualité et le conditionnement des fruits sont réglementés par Arrêtés Ministériels (1971). Seuls les fruits pesant entre 0,7 et 2,3 kg peuvent être exportés. Pour pouvoir être transportés, les fruits sont coupés peu avant l'optimum de leurs qualités organoleptiques. Trois catégories sont définies suivant la hauteur atteinte par la coloration jaune

de la peau :

- inférieure au quart de la hauteur M<sub>1</sub>
- comprise entre le quart et la moitié M<sub>2</sub>
- supérieure à la moitié M<sub>3</sub>

Bien que conformes aux recommandations de l'Organisation internationale de Normalisation (ISO, 1970), ces catégories définissent la coloration externe, qui ne correspond pas forcément à la maturation réelle des fruits.

Les cartons d'emballage comprennent de six à vingt fruits, suivant leur grosseur. Ils présentent des perforations pour faciliter la ventilation et la réfrigération. En général, les fruits sont embarqués vingt-quatre heures après leur coupe, mais des délais plus longs peuvent fréquemment être observés. Le transport en cale réfrigérée à 8°C jusqu'au port européen dure environ dix jours. Les fruits sont ensuite distribués et commercialisés dans des conditions thermiques et avec des durées extrêmement variables.

Le fruit : description et développement.

#### ● Description.

Le fruit (figure 1) est un syncarpe de fruits individuels sessiles, disposés autour d'un axe central (ou coeur ou cylindre central), qui est un simple prolongement du pédoncule et où se trouvent les vaisseaux. A l'origine, l'inflorescence devait être un épi ou un panicule (OKIMOTO, 1948). Dans ce qui suit, nous appellerons fruit cet ensemble de fruits individuels. Les fruits individuels sont alignés le long de huit spirales, leur nombre sur chacune d'elles déterminant la grosseur du fruit. A maturité, l'ensemble devient charnu et sucré. Les parties comestibles sont constituées essentiellement par les ovaires et les bases des sépales et bractées. Le cylindre central, bien que s'enrichissant lui aussi en sucres, reste très fibreux.

Les fruits individuels se caractérisent par l'existence de locules, profondes chambres pénétrant jusqu'à proximité du cylindre central et contenant les ovules avortés. A maturité, ces locules deviennent plus étroits, mais restent toujours aussi longs. Le volume de gaz interne est donc très important, de 6 à 10 p. 100 du volume total. Les échanges gazeux avec l'extérieur, dont on connaît l'importance dans la physiologie des fruits, peuvent donc intéresser très rapidement même les tissus les plus profonds. Ces échanges peuvent être facilités par les lésions qui apparaissent dans les parois cellulaires à maturité (OKIMOTO, 1948) et en particulier dans l'épiderme des glandes nectarifères. L'opacité des fruits verts est due d'ailleurs à la présence de poches d'air qui diminuent avec la maturation, rendant le fruit plus translucide.

Il est possible enfin que le métabolisme du fruit soit influencé par celui de la couronne et, en particulier, par ses échanges gazeux. Ce facteur n'a cependant jamais été étudié.

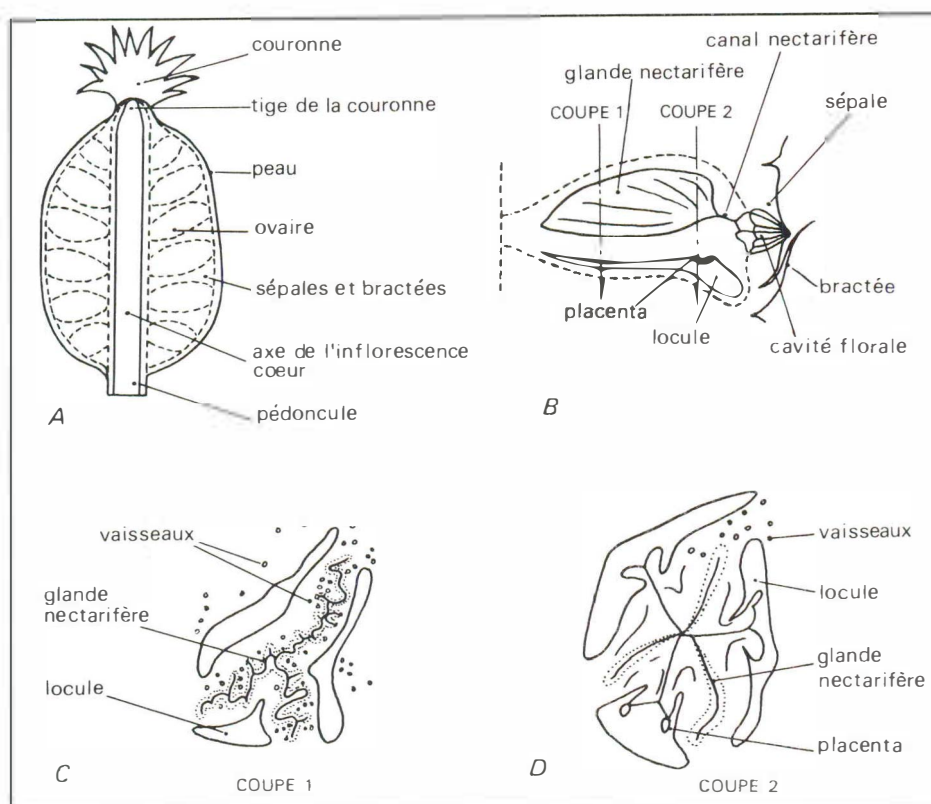


Figure 1 - Morphologie et anatomie de l'ananas (selon OKIMOTO, 1948)

A : coupe longitudinale schématique

B : coupe longitudinale d'un fruit individuel

C et D : coupes transversales d'un oeil à deux niveaux.

#### ● Développement.

Les différentes variétés cultivées sont autostériles et le développement des fruits est parthénocarpique. Comme dans la majorité des fruits (BOLLARD, 1970), il se fait par multiplication cellulaire jusqu'à l'anthèse, puis uniquement par accroissement isodiamétrique du volume des cellules. Celles-ci sont complètement distendues et atteignent  $19.10^4 \text{ mm}^3$  (SINGLETON, 1965).

Les fruits individuels se différencient successivement ; leur âge physiologique est donc différent, les plus vieux se trouvant à la base de l'inflorescence. Cette différence persiste pendant toute la croissance du fruit et tous les fruits individuels de l'inflorescence ne sont jamais à un même stade physiologique. Les différences sont particulièrement sensibles à l'approche de la récolte où l'évolution est rapide. Lors de celle-ci, les fruits individuels de la base sont donc à un stade de maturation beaucoup plus avancé que ceux du haut, et ce d'autant plus que le fruit est plus gros.

La durée du développement de l'inflorescence est fonction des conditions climatiques. Elle est de cent soixante cinq jours environ en Côte d'Ivoire (TEISSON, 1973b), mais de deux cent quinze jours aux Hawaii (KERNS et al., 1936), où le climat est moins chaud et moins humide.

Un stade très important de la vie du fruit a pu être distingué vingt à quatorze jours avant la récolte théorique du fruit (SINGLETON, 1965 ; SINGLETON et GORTNER, 1965 ; TEISSON, 1973b). Il se caractérise par des modifications morphologiques sur l'inflorescence - arrêt du développement de la couronne, flétrissement du pédoncule - et chimiques dans le fruit - arrêt de l'afflux de saccharose, augmentation des sucres réducteurs, maximum d'acidité, début de dégradation de la chlorophylle de la peau, synthèse des caroténoïdes dans la chair. Il correspond sans doute au début vrai de la maturation. Cette phase peut être particulièrement critique pour le fruit et une relation a été démontrée entre la climatologie de cette période et la teneur en acide malique (GORTNER, 1962) et ascorbique (SINGLETON et GORTNER, 1965) à la récolte.

Le stade de maturité est déterminé par la coloration de la peau. Celle-ci est due à une simple disparition des chlorophylles, sans qu'il y ait synthèse de caroténoïdes (GORTNER, 1965). Du fait de la constitution de l'inflorescence, la coloration jaune débute au bas du fruit, puis gagne peu à peu en hauteur. La relation entre la coloration extérieure et la maturité réelle de la chair appréciée par sa propre coloration, sa translucidité et le volume des locules, dépend des conditions climatiques, de la grosseur du fruit et de la



fumure reçue par le plant (PY et TISSEAU, 1965). Il y a retard de la maturité intérieure par rapport à la coloration extérieure pour les fruits très petits ou récoltés en période sèche et fraîche ou ayant reçu une fumure potassique ou magnésienne importante (MARTIN PRÉVEL et al., 1961 et 1962). L'appréciation de la maturité de l'ananas apparaît donc encore plus délicate que celle d'autres fruits, pourtant déjà sujette à de nombreuses critiques (ULRICH, 1952). Ceci d'autant plus que l'ananas, même en considérant les fruits individuels, ne présente pas de crise climactérique (DULL et al., 1967) qui puisse être utilisée comme repère chronologique.

Le fruit : composition.

● Aspect général.

Les études sur la composition chimique de l'ananas sont assez rares. Elles sont le fait d'un nombre restreint d'auteurs ; la plupart ont été réalisées aux Hawaii sous financement privé et les publications sont donc peu nombreuses ou tardives. La majorité des données présentées ci-dessous porte évidemment sur la variété 'Cayenne lisse'.

GORTNER et al., en se basant sur l'évolution des critères de la maturité de l'ananas (figure 2), ont proposé une terminologie rigoureuse pour les différentes phases de développement des fruits : pré-maturation, maturation - dont la phase de «mûrissement» («ripening») ne constitue que la dernière partie -, puis sénescence.

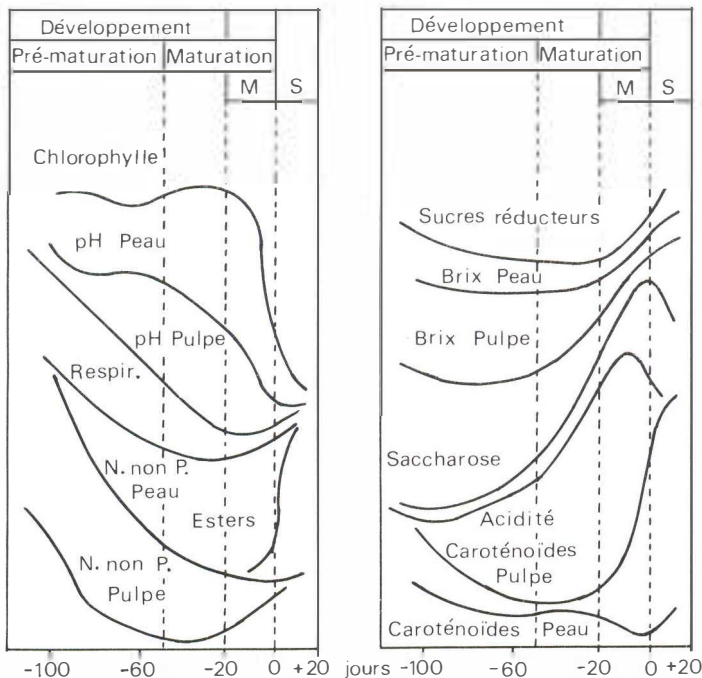


Figure 2 - Évolution des caractères physico-chimiques de l'ananas (d'après GORTNER et al., 1967).

Respir. : respiration  
 N. non P. : azote non protéique  
 Brix : teneur en m.s. estimée par réfractométrie  
 O : jour optimal de la coupe  
 M : mûrissement S : sénescence

TABLEAU 1 - Analyse générale de la chair d'ananas mûr, DULL, 1971.

constituants	p. 100 poids frais	ppm poids frais
eau	81,2 - 86,2	
extrait sec par réfractométrie	10,8 - 17,5	
acidité titrable en ac. citr.	0,6 - 1,62	
cendres	0,30 - 0,42	
fibres	0,30 - 0,61	
azote	0,045 - 0,115	
esters		1,0 - 2,50
carotènes		0,2 - 2,5

Bien que DULL (1971) résume les données de l'analyse globale d'un fruit à maturité (tableau 1), la majorité des études, réalisées en partie dans une optique industrielle, porte sur le jus et non sur le fruit dans son ensemble. Pour les constituants principaux, le jus peut être considéré comme représentant assez bien le fruit entier ; sa teneur en matière sèche, avec des variations de 11 à 18 p. 100, représente environ 80 à 95 p. 100 de celle de la pulpe du fruit. Cependant, les analyses sur jus ne peuvent tenir compte des constituants propres aux structures subcellulaires et aux vaisseaux. Ces derniers forment des fibres particulièrement nombreuses (tableau 1) et dont la grande résistance mécanique pose un problème lors de la préparation des extraits.

#### ● Les sucres.

Leur répartition, selon DULL (1971), est donnée par le tableau 2. Le saccharose, représentant en moyenne 66 p. 100 des sucres, est plus important que les sucres réducteurs, ce qui est assez rare dans les fruits. Mis à part la datte, l'ananas est le fruit qui présente la plus grande teneur en saccharose ; les teneurs en glucose et en fructose sont, par contre, assez faibles (WHITTING, 1970). A aucun moment de la vie du fruit, il n'y a formation de réserves amylacées et la teneur en amidon reste toujours très faible.

TABLEAU 2 - Constituants glucidiques de la pulpe d'ananas mûr (DULL, 1971).

sucres	p. 100 de poids frais
glucose	1,0 - 3,2
fructose	0,6 - 2,3
saccharose	5,9 - 12,0
amidon	< 0,002

Dans le jus, les sucres sont estimés couramment par une simple lecture au réfractomètre, qui donne la teneur en matière sèche en p. 100 de saccharose ou degré Brix. Celui-ci augmente rapidement juste avant, mais aussi après, la date optimale de récolte (figure 2).

A l'intérieur d'un même fruit, MILLER et al. (1953) et HUET (1958) ont trouvé des gradients supérieurs à 4° Brix. Le haut du fruit, de maturité moins avancée, est toujours moins sucré que le bas. Pour un même niveau, la zone médiane est plus riche que le cylindre central et que la zone sous-épidermique.

L'indice réfractométrique des jus de fruits varie en fonction des facteurs climatiques et édaphiques, mais beaucoup moins que l'acidité. Il a tendance à diminuer en saison sèche et lorsque l'alimentation potassique est insuffisante (MARTIN-PRÉVEL et al., 1961, TISSEAU, 1963).

#### ● Acides titrables.

Les acides citrique et malique forment respectivement 80 et 20 p. 100 de l'acidité totale en moyenne. L'acide oxalique n'est présent qu'à l'état de traces (DULL, 1971).

L'acidité libre représente environ 70 p. 100 de l'acidité totale. Comme tous les jus de fruits, le jus d'ananas est un milieu très tamponné, dont le pH est compris habituellement entre 3,7 et 3,9 (HUET, 1959 ; SINGLETON et GORTNER, 1965).

Les auteurs américains expriment en général l'acidité libre en équivalent d'acide citrique en g. p. 100, alors que les auteurs français l'expriment en méq/100 ml.

L'acidité d'un fruit à la récolte peut varier dans de larges proportions et dépend beaucoup de son point de coupe exact. En effet, lors du développement du fruit, elle atteint son maximum une dizaine de jours avant la récolte normale, puis baisse brutalement. Ces variations proviennent surtout de l'acide citrique (SINGLETON et GORTNER, 1965). Chez les fruits une telle évolution est exceptionnelle. Dans la majorité des cas (pommes, poires, mangues, citrus ...), l'acidité diminue régulièrement bien avant la maturation (ULRICH, 1970 ; DULL, 1971).

A l'intérieur d'un même ananas, l'acidité augmente régulièrement du bas vers le haut, toujours en raison des gradients de maturité, mais surtout de l'intérieur vers l'extérieur. HUET (1958) trouve, à une même hauteur, des acidités de 4 méq/100 ml pour le cylindre central et de 10 méq/100 ml pour la zone périphérique. C'est donc loin des vaisseaux et près de la surface du fruit que l'acidité est maximale. Ce gradient, contraire à celui que l'on trouve d'habitude (pomme et raisin, ULRICH, 1970), peut laisser supposer que les acides organiques ne sont pas apportés par la sève, mais synthétisés sur place dans le fruit.

A maturité égale, l'acidité varie en sens inverse du poids du fruit (HUET, 1958). Elle est surtout fonction des conditions climatiques et varie de 5 à 12 méq/100 ml suivant les époques de récolte en Côte d'Ivoire. Deux périodes peuvent être distinguées : une à acidité faible pendant la plus grosse partie de la saison sèche puis au début de la saison des pluies, soit de janvier à juin, et l'autre à acidité forte de juillet à décembre.

Il est toujours difficile d'isoler, comme responsable, un seul facteur climatique parmi tous ceux intervenant à une époque donnée. En général (PY et TISSEAU, 1965), on estime qu'une augmentation de l'insolation, de la température et du déficit hydrique entraînent une diminution de l'acidité ; mais ces variations sont en général concomitantes et il est difficile de préciser leur importance relative. En Martinique, c'est dans les zones d'altitude, à la fois plus fraîches, moins ensoleillées et plus humides, que l'on récolte les ananas les plus acides (LACOEUILHE et GIC-QUIAUX, 1971).

HAMMER et NIGHTINGALE (1946) relient les variations de l'acidité du fruit à celles de la température de l'air dans les six semaines précédant la récolte. HUET (1958) arrive aux mêmes conclusions en Guinée, où l'acidité passe, de décembre à avril, de 12 à 7 méq/100 ml alors que la température moyenne augmente de 25,9 à 27,1°C. La pluviométrie de ces deux périodes est cependant très différente :

décembre est particulièrement sec, alors qu'avril correspond à la reprise des pluies (PY et al., 1957).

GORTNER (1962), par ailleurs, a mis en évidence une corrélation inverse entre la teneur en acide malique et l'évapotranspiration une à deux semaines avant récolte. L'auteur attribue cet effet aux variations du métabolisme crassulacéen, dont l'acide malique est un des principaux maillons. BRANDON (1967) a montré, sur d'autres plantes crassulacéennes, que, par de simples différences d'optimum thermique des trois enzymes prédominant dans le métabolisme du malate (PEP carboxylase, malate déshydrogénase, enzyme malique), la synthèse de l'acide malique l'emporte nettement sur sa disparition pour des températures peu supérieures à 15°C, mais que c'est l'inverse vers 35°C. LAKSO et KLIEWER (1975) sont arrivés à la même conclusion sur le raisin. Cependant, dans le cas précis de l'ananas, la PEP carboxykinase interviendrait à la place de la PEP carboxylase (DITTRICH et al., 1973) et on ne connaît pas sa réponse aux variations de température.

Enfin, la nutrition minérale modifie aussi considérablement l'acidité du fruit. Une forte alimentation en cations l'augmente; le potassium, dont l'ananas a des besoins élevés, est de loin le plus efficace (PY et al., 1956; MARTIN-PRÉVEL et al., 1961; GAILLARD, 1970). Dans certains cas, un doublement de la teneur en potassium de la feuille s'accompagne d'un doublement de l'acidité (LACOEUILHE, 1975; TEISSON, 1973 a).

#### ● Acide ascorbique.

L'ananas n'est pas un fruit particulièrement riche en acide ascorbique (ULRICH, 1951; MAPSON, 1970). Ses teneurs sont très variables (tableau 3). La variété 'Cayenne lisse' est une des variétés les plus pauvres en acide ascorbique (MILLER et HEILMAN, 1952; MILLER et HALL, 1953).

A l'intérieur du fruit, les gradients en acide ascorbique sont absolument identiques à ceux de l'acidité titrable (KERNS et al., 1936). HAMMER et NIGHTINGALE (1946) ont calculé d'ailleurs un coefficient de corrélation de 0,956 entre l'acidité totale et l'acide ascorbique de l'ananas. PEYNAUD et MAURIE (1950) avaient également mis en évidence une proportionnalité presque exacte entre acides ascorbique et citrique dans différents fruits. SINGLETON

et GORTNER (1965) ont trouvé une relation directe entre le rayonnement global deux à trois semaines avant la récolte et la teneur en acide ascorbique.

L'influence de la nutrition minérale sur l'acide ascorbique dans l'ananas a été moins étudiée sur le fruit que sur les feuilles (SIDERIS et al., 1944, 1945 et 1948). Cependant, SU (1969) a montré que l'augmentation de la nutrition potassique améliorerait la teneur en acide ascorbique des fruits.

#### ● Acides aminés libres.

Le tableau 4 représente les principaux acides aminés selon DULL (1971). GORTNER et SINGLETON (1965) ont étudié leurs variations en fonction de l'âge du fruit. La maturation se caractérise par l'apparition de la méthionine et la sénescence par une augmentation très forte en glycine et en alanine.

#### ● Enzymes.

Relativement peu de travaux ont été réalisés sur ce sujet. D'après DULL (1971), la broméline, enzyme protéolytique caractéristique de la famille des Broméliacées, représente la moitié des protéines du fruit, soit 0,2 p. 100 du poids du fruit (ELMER HANSEN, 1970). C'est surtout cette enzyme qui a été étudiée (MARCILLAT, 1974).

WATTS et GRISWALD (1953) n'ont trouvé ni activité ascorbate oxydase, ni activité polyphénoloxydase. Ils ont mis en évidence de nombreuses activités déshydrogénases et surtout une activité peroxydase, dont ils ont étudié quelques caractéristiques. GORTNER et SINGLETON (1965) ont montré que cette activité diminuait régulièrement au cours du développement du fruit.

BRUNEL (1949) parle incidemment d'une activité catalasique qui augmente au cours de la maturation, mais ne cite ni techniques de dosage, ni résultats.

Bien qu'elles ne portent pas sur le fruit, il nous faut mentionner ici les recherches sur l'activité AIA oxydase de l'apex de l'ananas en liaison avec la floraison. Nous verrons en effet que le mécanisme enzymatique du BI peut présenter des analogies avec celui du catabolisme auxinique. GORTNER et KENT (1953 et 1958) ont montré que l'apex d'ananas était l'une des sources les plus riches du monde

TABLEAU 3 - Différentes teneurs en acide ascorbique observées dans la chair d'ananas.

Auteurs	acide ascorbique $\mu\text{M}$	facteurs d'influence
HAMMER et NIGHTINGALE, 1946	165-727	température brunissement
MILLER, 1951	0-1096	
MILLER et MARSTELLER, 1953	812-2307	brunissement
HUET, 1958	619	
SINGLETON et GORTNER, 1965	114-1136	rayonnement global
DULL, 1971	568-1420	



TABLEAU 4 - Principaux acides aminés dans la pulpe d'ananas mûr selon DULL, 1971.

acides aminés en ppm de poids frais			
alanine	407	isoleucine	23
$\gamma$ -aminobutyrique	124	leucine	24
arginine	46	lysine	46
asparagine	1251	méthionine	134
aspartique	293	phénylalanine	40
cystine	20	proline	31
glutamique	90	serine	256
glutamine	256	thréonine	78
glycine	65	tyrosine	58
histidine	48	valine	39

végétal en AIA oxydase et qu'il contenait un coenzyme et un inhibiteur phénoliques, qui pourraient être respectivement des dérivés de l'acide p.coumarique et de l'acide férulique. Cependant, suivant ces auteurs eux-mêmes, l'acide chlorogénique, comme tous les o.diphénols, a *in vitro* un pouvoir inhibiteur supérieur à celui de l'acide férulique.

- Composés phénoliques.

Aucune donnée n'existe sur le fruit, mais DULL (1971)

suppose qu'il contient de l'acide férulique. Les teneurs en acides p. coumarique et férulique, dans l'apex de la plante en cours de végétation, augmentent avec le déficit hydrique du sol (GORTNER et KENT, 1958 ; GORTNER, 1965).

- Composition minérale.

Les teneurs en éléments minéraux peuvent varier suivant les conditions édaphiques dans des limites considérables. Le jus représente correctement l'ensemble du fruit pour K, Mg

TABLEAU 5 - Comparaison de la composition minérale du jus et de l'ensemble de la pulpe d'un même fruit.

éléments minéraux	I. pulpe mg/100 g	II. jus mg/100 g
azote	63	46
calcium	7,7	5,5
fer	0,21	0,10
magnésium	19	19
manganèse	0,20	0,19
phosphore	6,1	4,4
potassium	141	142

TABLEAU 6 - Variations de la composition minérale de la pulpe d'ananas aux Hawaii et du jus en Côte d'Ivoire

éléments minéraux	pulpe (Hawaii) DULL, 1971 mg/100 g	jus (côte d'Ivoire) MARCHAL, 1974* mg/100 g
azote	0-120	30-50
calcium	7-16	3-7,5
chlore	46	
fer	0,3	0,5-0,15
iode	0,006-0,107	
magnésium	11	10-19
manganèse	0,03	0,1-0,2
phosphore	6-21	3,8-7
potassium	11-330	120-160
silice	11-69	
sodium	14	
soufre	7	

\* - communication personnelle.

et Mn, moins pour N, P et Ca et très mal pour Fe, dont la moitié reste incluse dans les débris solides (tableau 5).

Par rapport à ceux des Hawaii, les ananas de Côte d'Ivoire sont plus pauvres en Ca, P et surtout Fe, mais plus riches en Mn (tableau 6). Ces différences peuvent provenir des pulvérisations de fer réalisées aux Hawaii et de l'antagonisme, très fort dans l'ananas, entre cet élément et le manganèse (SIDERIS et YOUNG, 1949 ; MARCHAL, 1971).

● Évolution et échanges gazeux après récolte.

L'acidité d'un fruit après récolte augmente s'il est conservé à basse température (7-8°C - SINGLETON, 1957 et 1959 ; HUET et TISSEAU, 1959). En général chez les fruits, une évolution dans ce sens est tout à fait exceptionnelle (ULRICH, 1952) et prouve, là encore, la remarquable particularité du métabolisme acide de l'ananas. Les parts respectives des acides citrique et malique dans cette augmentation ne sont pas précisées. L'acide ascorbique a, lui aussi, tendance à augmenter, tandis que le degré Brix, qui diminue, a une évolution plus classique.

Récolté à un stade normal, le fruit a un taux de production de CO<sub>2</sub> à 20°C de 15 mg/kg/heure ; ce taux tend à augmenter après la coupe (DULL et al., 1967). D'après ces auteurs, l'ananas ne serait pas un fruit climactérique, mais BOSE et al. (1962) arrivent à une conclusion inverse.

L'intérêt de la distinction des fruits suivant ce critère est cependant remis en question. Les derniers travaux de PRATT (1974) montrent qu'il n'y a pas de différence radicale entre les fruits climactériques ou non, mais simplement une différence quantitative dans l'intensité de la crise respiratoire, fonction par ailleurs du taux de production d'éthylène.

L'ananas, qui a une crise respiratoire assez faible, présente effectivement, d'après BURG et BURG (1962), des teneurs internes et des émissions d'éthylène relativement peu élevées.

Matériel utilisé, simulation de transport et notation.

● Matériel végétal.

Sauf mention particulière, nous avons toujours utilisé des ananas de la variété 'Cayenne lisse', homogènes du point de vue poids et maturité : 1,3 à 1,5 kg et jaunes extérieurement sur la moitié de leur hauteur, et provenant de l'exploitation IRFA d'Anguédédou. Chaque traitement observé comprend au moins vingt-quatre fruits.

● Conditions de transport.

Dans les circuits de commercialisation simulée, on distingue :

- la phase de transport, correspondant au transport en bateau frigorifique du port ivoirien au port européen,
- la phase de commercialisation, qui correspond à l'intervalle entre le déchargement du bateau et la consommation

du fruit.

Les caractéristiques de la première phase sont assez bien définies dans la pratique et ont été reproduites dans le schéma expérimental. Elle débute un jour après la coupe, pour respecter le temps d'acheminement des fruits de la plantation au port et le chargement du bateau, et dure dix jours. La température est maintenue à 8°C plus ou moins 0,2 et l'humidité relative à environ 90 p. 100. La chambre froide employée pour réaliser cette température a un volume utile d'environ 10 m<sup>3</sup> et une réfrigération par plancher soufflant, comme sur la majorité des navires. Elle admet un renouvellement d'air égal à deux fois son volume par heure.

Les autres températures de transport ont été réalisées soit en pièces climatisées, soit dans des armoires frigorifiques.

Les caractéristiques de la deuxième phase, par contre, varient suivant l'époque, le lieu et le moyen de distribution, dans des limites considérables qu'il est impossible de reproduire fidèlement. Dans nos essais, cette deuxième phase a lieu en pièce climatisée, à une température variant entre 17 et 23°C et dure sept jours. La température retenue - assimilée à une température de 20°C - peut paraître trop élevée pour une grande partie de l'année en Europe, mais elle correspond à peu près à la température à l'intérieur des magasins ou des habitations.

Les autres températures ont été réalisées soit dans des pièces chauffées par infra-rouge, soit dans les armoires frigorifiques précitées.

● Notation.

Le jour de l'observation, les fruits sont coupés longitudinalement et l'intensité du BI notée suivant une échelle pré-établie allant de 0,5 pour les traces les plus légères à 5 pour les fruits intégralement atteints (figure 3). Les notes sont attribuées à un demi-point près.

Mesures physiques et climatiques.

La température interne des fruits a été mesurée par thermocouples avec un potentiomètre portatif MECI-ESPM.

Les teneurs en oxygène et en gaz carbonique ont été estimées à l'aide d'analyseurs Fyrite : 0 à 22 p. 100 pour O<sub>2</sub> et 0 à 8 p. 100 pour CO<sub>2</sub>.

Les données climatiques sont celles recueillies sur le parc météorologique de la Station d'Anguédédou (normes ASEC-NA). Pour le calcul du déficit hydrique cumulé (DHC), ne connaissant pas l'évapotranspiration réelle de l'ananas, nous avons utilisé comme référence celle d'un bac d'eau libre enterré de type Colorado, situé au Centre ORSTOM, à 6 km de notre Station.

Etant donné qu'une pluie de 40 mm ramène nos sols à la capacité de rétention au champ dans la couche explorée par les racines, nous avons considéré pour le calcul :

- qu'une pluie de plus de 40 mm était égale à 40 mm,

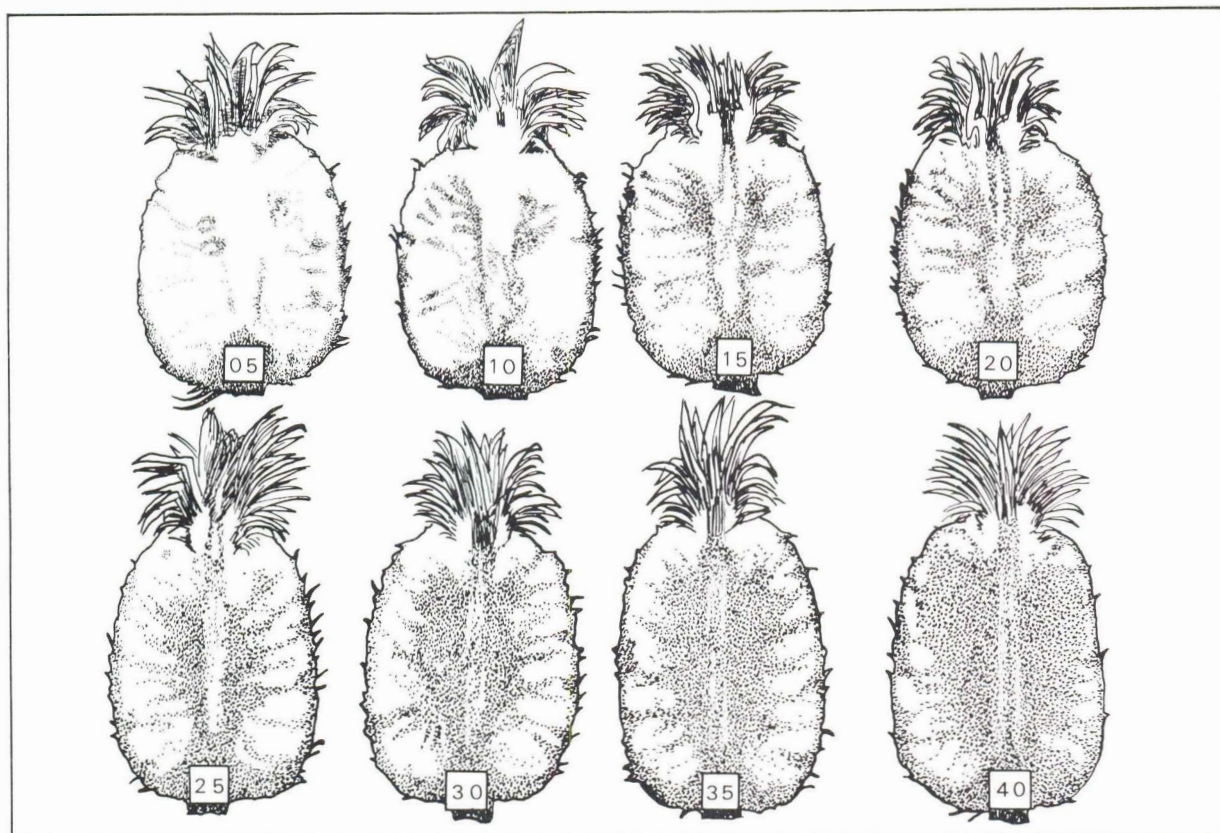


Figure 3 - Échelle de notation de l'intensité du brunissement interne (d'après photo).

- qu'en présence de pluies successives, le DHC ne pouvait pas diminuer de plus de 40 mm par rapport au niveau atteint avant les pluies.

#### Échantillonnage, préparation des extraits.

La pulpe des fruits est broyée, à température du laboratoire, dans un broyeur ménager, puis filtrée sur étamine ; une aliquote est immédiatement diluée deux fois dans de l'acide métaphosphorique 2 p. 100, pour le dosage ultérieur de l'acide ascorbique. L'acide métaphosphorique est en effet le meilleur agent pour prévenir l'oxydation de l'acide ascorbique (DELAPORTE, 1967 ; DELAPORTE et MACHEIX, 1968). Cet échantillon, ainsi que le reste du jus réparti en plusieurs aliquotes, sont congelés jusqu'à leur analyse.

Pour certaines études, deux zones ont été distinguées dans le fruit : la zone I ou zone intérieure, ou débute le BI, et la zone II comprenant tout le reste du fruit (figure 4) et où le brunissement n'apparaît qu'en fin d'évolution des symptômes.

Pour les dosages enzymatiques, une partie de la pulpe est congelée sous forme de morceaux de 5 à 10 cm<sup>3</sup> environ, en vue d'un broyage ultérieur en milieu neutre à basse

température.

#### Dosages chimiques quantitatifs.

##### ● Acidité titrable et pouvoir tampon.

La détermination du pH et de l'acidité titrable est réalisée avec un pHmètre Tacussel TS 50 N, d'une précision de 0,01 unité pH.

L'acidité titrable libre ou acidité libre (AL) est dosée sur 2 ml de jus brut par neutralisation avec de la soude N/50 jusqu'au pH de 8,0, qui correspond bien au point de neutralisation (figure 5).

L'acidité titrable totale ou acidité totale (AT) est déterminée de la même manière sur 1 ml de jus, après passage sur 2 ml de Dowec 50 sous forme H<sup>+</sup> et rinçage de la colonne par 10 ml d'eau.

L'acidité titrable est exprimée en méq/100 ml, unité généralement employée pour le jus d'ananas.

Au cours du dosage de l'acidité libre (AL), on peut relever le volume de soude nécessaire pour augmenter le pH du fruit d'exactly 1,0 unité : c'est le pouvoir tampon (PT), qu'on exprime également en méq/100 ml. Nous avons



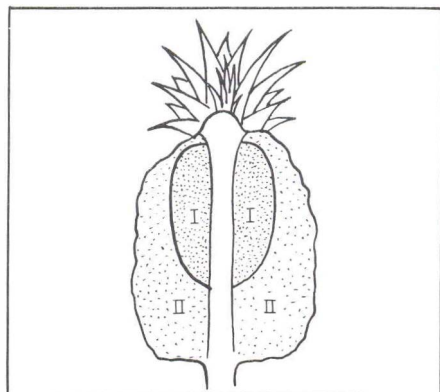


Figure 4 - Echantillonnage des fruits en deux zones.  
I = zone brune ou équivalente  
II = zone saine ou équivalente.

appelé pouvoir tampon relatif (PTR) le rapport  $PT/AL$ .

- Azote aminé et ammoniacal.

On effectue d'abord le dosage de l'acidité titrable libre sur 5 ml de jus non dilué, à l'aide de soude 0,1 N exempte de carbonate et en s'arrêtant exactement au pH 8,00. Puis on ajoute 3 ml de formol neutralisé à pH 8,0 qui, en masquant les ions ammonium et les fonctions aminés libres, libère une activité que l'on détermine à nouveau par la soude 0,1 N jusqu'à pH 8,00. On a ainsi la somme azote ammoniacal plus azote aminé libre. Ces opérations sont effectuées mécaniquement à une burette doseuse SCRIPTO-BURAP.

L'azote ammoniacal est déterminé directement sur le jus en colorimétrie automatisée avec l'auto-analyseur TECHNICON : par la réaction de BERTHELOT ; coloration bleue en milieu fortement alcalin avec le phénol et l'hypochlorite de sodium. Les gammes étalon sont réalisées avec le sulfate d'ammonium.

L'azote aminé libre est obtenu par différence.

- Potentiel d'oxydo-réduction.

Ne pouvant être déterminé sur le lieu d'échantillonnage, le potentiel d'oxydo-réduction était mesuré dès la première décongélation de l'échantillon.

On fait tremper dans le broyat ou le jus un thermomètre et trois électrodes (verre, référence calomel, platine) reliées à un pHmètre TACUSSEL d'une précision de 1 mv. Pour éviter les calculs de correction de température, on a toujours relevé le potentiel et le pH au moment où la température atteignait une valeur de 19°C.

- Acide citrique.

L'acide citrique est dosé suivant la méthode de SAFRAN et DENSTEDT (1948) : 2,5 ou 1,25 ml de jus, selon l'acidité, sont déprotéinisés par un volume égal d'acide trichlo-

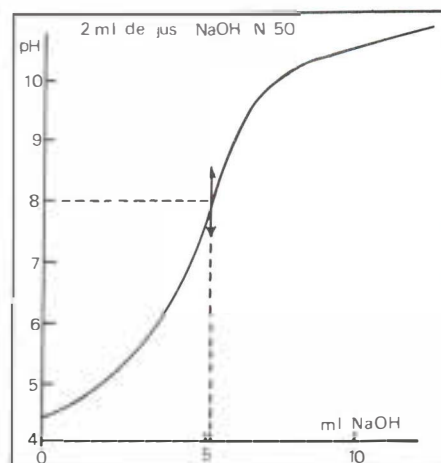


Figure 5 - Courbe de neutralisation du jus d'ananas par la soude.

racétique à 10 p. 100. Après centrifugation 10 mn à 9.200 g, le surnageant est amené à 25 ml avec de l'eau. A 0,5 ml de cette solution, on ajoute 4 ml d'anhydride acétique, puis, après chauffage à 60° pendant 10 mn dans un tube bouché et refroidissement, 0,5 ml de pyridine. Après un nouveau chauffage de 40 mn à 60°, le tube est refroidi dans la glace. La D.O. de la solution est déterminée à 425 nm.

La gamme étalon va de 1 à 5  $\mu$ m. Les résultats sont exprimés en mM.

- Acide ascorbique.

Le jus, dilué deux fois dans l'acide métaphosphorique, est centrifugé 10 mn à 9.200 g. Le culot est redispersé dans de l'acide métaphosphorique 1 p. 100 et recentrifugé. Le surnageant obtenu est rajouté au premier. L'ensemble est amené, par de l'acide métaphosphorique 1 p. 100, à volume connu diluant cinq fois le jus initial.

20 ml de ce jus dilué, clarifié, sont titrés par une solution de 2-4 dichlorophénol indophénol à 200 mg/l jusqu'à coloration rose persistante. Cette méthode, très classique, n'est pas sans critique (DELAPORTE, 1967), mais s'est avérée, dans nos conditions matérielles, la plus facile à mettre en oeuvre et d'une bonne fidélité.

Une gamme étalon de 0,28 à 3,4  $\mu$ m est réalisée à chaque série de dosages. Les résultats sont exprimés en  $\mu$ M.

- Phénols totaux.

Les phénols totaux sont dosés suivant la méthode classique au réactif de Folin-Denis (RIBEREAU-GAYON, 1968).

A 10 ml de jus brut dilué cinquante fois, on rajoute 1 ml de réactif de Folin et 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 20 p. 100. Après mise au bain-marie à 60° pendant 15 mn, les tubes sont refroidis et complétés à 25 ml avec de l'eau. La D.O. de la solution est déterminée à 730 nm.

La gamme étalon est réalisée avec 20 à 100  $\mu$ g de caté-

chol. Les résultats sont exprimés en équivalent de catéchol en  $\mu\text{g/ml}$ .

Des spectres d'absorption en ultraviolet ont également été déterminés sur un extrait hydroalcoolique après dépigmentation à la benzine de pétrole (50 à 70°C) et séparation des phénols par la méthode de FLEURIOT et MACHEIX (1972). Dans cette technique, l'extrait est acidifié à pH 2,5 par de l'acide métaphosphorique à 2 p. 100 et sa force ionique augmentée par l'adjonction d'un volume égal de sulfate d'ammonium à 20 p. 100. Les composés phénoliques sont alors extraits par cinq fois un volume égal d'acétate d'éthyle ; les extraits sont évaporés à sec et repris par de l'alcool à 80 p. 100.

Les spectres sont tracés à l'aide d'un spectrophotomètre à double faisceau LERES S 180.

#### ● Orthodiphénols.

Leur dosage est réalisé d'après la méthode de MAPSON et al. (1963) après dépigmentation des jus à l'éther de pétrole.

20 ml de jus sont extraits deux fois dix minutes par 20 ml d'éther de pétrole. A 3,5 ml du résidu aqueux, on rajoute 1,25 ml d'éthanol pur et 1 ml d'une solution de molybdate de sodium à 5 p. 100 dans de l'éthanol à 50 p. 100. La lecture de la D.O. obtenue est réalisée à 370 nm, contre un témoin sans molybdate de sodium.

La gamme étalon est effectuée avec 10 à 50  $\mu\text{g}$  d'acide chlorogénique. Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide chlorogénique en  $\mu\text{g/ml}$ .

#### ● Protéines.

Les protéines ont été dosées par la méthode de LOWRY, modifiée par SCHACTERLE et POLLACK (1973). A 1 ml d'échantillon, on ajoute 1 ml de réactif cuivrique, puis 10 mn après, 4 ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Les tubes sont placés 5 mn à 55°. Après refroidissement, la D.O. est lue à 650 nm.

Le réactif cuivrique est une solution à 10 p. 100 de carbonate de sodium, 0,1 p. 100 de tartrate de potassium et 0,05 p. 100 de sulfate de cuivre dans de la soude 0,5 N. Le réactif de Folin-Ciocalteu est du réactif du commerce (Sigma) dilué seize fois.

La gamme étalon est effectuée entre 6,25 et 1000 g de protéines avec une solution de sérum d'albumine bovine. Le jus brut est dilué cent fois pour le dosage. Les résultats sont exprimés en mg/ml.

#### ● Azote total.

4 ml de jus ou 4 g de pulpe sont minéralisés dans un matras de Kjeldahl de 150 ml par plusieurs heures d'ébullition dans 10 ml d'acide sulfurique concentré additionné d'acide salicylique et de catalyseur de Dumazert et Marcellet. On poursuit le chauffage au moins une heure après

décoloration complète. Après refroidissement, le volume est amené à 50 ml par addition d'eau et on dose le sulfate d'ammonium formé par colorimétrie automatisée, comme pour l'azote ammoniacal.

#### ● Autres éléments minéraux.

Selon le nombre et la nature des éléments à doser, la prise d'essai varie entre 5 et 20 ml de jus (ou 5 à 20 g de pulpe). Elle est évaporée à sec dans une capsule de silice, puis calcinée pendant deux heures à 520°C. Les cendres sont reprises par de l'acide chlorhydrique 6 N, évaporées de nouveau à sec pour insolubiliser la silice, reprises de nouveau par de l'acide chlorhydrique dilué à chaud. La solution acide est filtrée sur papier sans cendres à grain fin et amenée à 20 ml avec les eaux de lavage (eau bidistillée). Toutes les déterminations se font par comparaison, sur des enregistrements graphiques, avec des gammes étalon du même élément, en colorimétrie ou photométrie de flamme automatisées.

Le phosphore et le potassium sont déterminés simultanément sur auto-catalyseur TECHNICON à deux canaux : colorimétrie au bleu de molybdène pour le phosphore après formation de phosphomolybdate et réduction à l'acide aminonaphtosulfonique, photométrie d'émission dans une flamme propane-oxygène pour le potassium en présence de lithium comme étalon interne.

Le calcium, le magnésium, le fer, le manganèse, le zinc et le cuivre sont déterminés un à un par photométrie d'absorption atomique dans la flamme sur un appareil TECHTRON AA 3 à module IM 5, muni chaque fois de la lampe à cathode creuse appropriée. La dilution, éventuellement nécessaire, et l'injection dans la flamme acétylène-air sont effectuées automatiquement par un distributeur-diluteur-préleveur réalisé à partir d'éléments de colorimétrie automatisée AUTOLAB. Pour le dosage de certains éléments, la dilution se fait avec une solution de chlorure de lanthane, afin d'éliminer les interférences.

Le bore est déterminé sur une prise d'essai spéciale, traitée par calcination en milieu protégé (acétate de calcium), centrifugation et colorimétrie automatisée à l'azométhane.

#### Mesure des activités enzymatiques.

Pour les analyses enzymatiques, la pulpe préalablement découpée en morceaux et congelée est broyée en présence d'un tiers de son volume de tampon Trisoglycine 0,25 M de pH 8,4. Le jus recueilli est filtré sur gaze et centrifugé 10 mn à 8.000 g.

#### ● Activité polyphénoloxidasique (P.O.).

La méthode de LANCE (1963) est utilisée. On complète un volume d'extrait - de 0,1 à 1 ml - à 4 ml par du tampon phosphate-citrate 0,1 M de pH 5. Au temps 0, on rajoute 1 ml de solution aqueuse à 1,9 p. 100 de DL 3-4 dihydroxyphénylalanine (DL Dopa). A des temps variant de 5 à 20

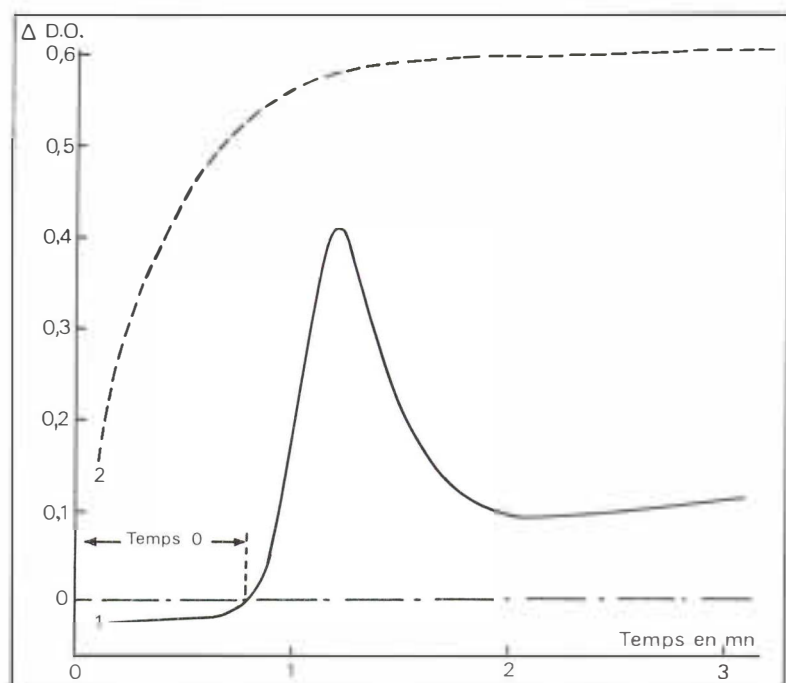


Figure 6 - Activité peroxydasique optimale «in situ»

1 : fruit frais 2 : fruit brun

minutes, la D.O. de cette solution est lue à 370 nm contre un témoin où la solution de Dopa est remplacée par du tampon.

L'activité est exprimée en  $\Delta D.O./h/mg$  de protéines.

● Activité peroxydasique (Per Ox).

Cette activité est dosée par une méthode très classique en utilisant, sauf exception précisée, le gaïacol comme substrat (COLOWICK et KAPLAN, 1955). Le milieu réactionnel, d'un volume total de 2 ml, comprend 20 à 100  $\mu l$  d'extrait, du tampon phosphate-citrate pH 5,5, 0,5 ml de gaïacol à 1,24 p. 100 et de l'eau oxygénée à la concentration finale de 10 mM. La D.O. à 470 nm est réglée à 0 au moment de l'adjonction d'eau oxygénée et l'activité est déterminée par l'augmentation de D.O. par minute, par mg de protéines. Celle-ci est obtenue soit par enregistrement sur enregistreur SEFRAM SERVOTRACE couplé à un spectrophotomètre PERKIN ELMER 46, soit par mesures ponctuelles.

● Activité peroxydasique optimale *in situ*.

Sur d'autres fruits, la mesure de l'activité enzymatique optimale *in situ* a été utilisée surtout pour l'activité phénoloxydasique (MACHEIX, 1970). Elle est alors déterminée par l'augmentation de D.O. d'un extrait, contenant enzymes et substrats, dans lequel on fait barboter de l'oxygène ou de l'air.

Nous avons appliqué le même principe aux peroxydases, mais en remplaçant évidemment le barbotage de gaz par l'adjonction d'eau oxygénée exogène dans un jus brut. Une telle mesure permet d'intégrer les effets de la concentration en enzymes, donneurs d'hydrogène (phénols susceptibles de brunir), cofacteurs et inhibiteurs, seul l'approvisionnement en substrat primaire (eau oxygénée) n'étant pas limitant.

Dans notre cas, nous avons suivi, en continu à l'aide d'un enregistreur à la vitesse de 5 cm/mn, l'augmentation de D.O. à 475 nm, après l'addition, dans 2,5 ml de jus brut, de 50  $\mu l$  d'eau oxygénée 0,5 N. La longueur d'onde de lecture a été choisie arbitrairement, les composés formés ne montrant aucun maximum net d'absorption.

Les variations de la D.O. présentent alors (figure 6), surtout pour les jus de fruits frais, une allure très caractéristique, qui nous a amené à introduire trois mesures :

- le temps 0 : temps mis par la D.O. pour réatteindre sa valeur initiale après la légère diminution due à la dilution par adjonction d'eau oxygénée,
- la valeur maximale de l'augmentation de la D.O. :  $\Delta D.O. \text{ max.}$ ,
- la valeur de l'augmentation de D.O. à stabilité : à 3 mn.

(à suivre)

