

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

**Respostas fisiológicas e bioquímicas de diferentes cultivares de batatas ao
processamento mínimo**

Maria Carolina Dario Vitti

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de
Plantas**

Piracicaba

2007

Maria Carolina Dario Vitti
Engenheiro Agrônomo

**Respostas fisiológicas e bioquímicas de diferentes cultivares de batatas ao processamento
mínimo**

Orientador:
Prof. Dr. RICARDO ALFREDO KLUGE

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de
Plantas

Piracicaba
2007

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Vitti, Maria Carolina Dario

Respostas fisiológicas e bioquímicas de diferentes cultivares de batatas ao processamento mínimo / Maria Carolina Dario Vitti. - - Piracicaba, 2007.
97 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Antioxidantes 2. Batata 3. Carboidratos 4. Enzimas 5. Fisiologia pós-colheita 6. Microbiologia de alimentos 7. Processamento de alimentos I. Título

CDD 664.80521

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

*Aos meus pais, Vail e Nidia,
Aos meus irmãos, Gabi, Pati e Tiago,
Aos meus cunhados, Raphael e Nuno
À pequena, Rafaella*

Pelo amor, grande cumplicidade, constante incentivo e apoio!

*Ao meu marido Caio Rossano que é a razão
da minha felicidade!*

*Ao meu filho Heitor que é a minha mais bela
e importante conquista!*

*Estes são os presentes de Deus na minha vida e
que partilham comigo desta **Vitória** alcançada...*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre presente em minha vida me guiando e iluminando, possibilitando-me mais uma vitória.

À Coordenação do PPG-Fisiologia e Bioquímica de Plantas pela oportunidade de realização deste curso.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

À FAPESP pelo suporte financeiro do projeto.

Especialmente ao Prof. Dr. Ricardo Alfredo Kluge pela orientação, credibilidade, amizade, apoio e principalmente pela compreensão. Muito obrigada Ricardo por todas as oportunidades durante quase 7 anos de convívio!

Ao Prof. Dr. Angelo Pedro Jacomino pela consideração, amizade e principalmente por liberar a estrutura de seu laboratório.

Ao Pesquisador Científico da EMBRAPA-Hortaliças, Dr. Celso Luiz Moretti, pela oportunidade ao sugerir esta linha de pesquisa, consideração e apoio na redação desta tese.

Aos Profs. Dr. Fernando Broetto e Dra Giuseppina Pace Pereira Lima pela prontidão e gentileza, além dos grandes ensinamentos transmitidos na área de bioquímica.

À querida estagiária Patrícia Miguel que sempre se mostrou muito atenciosa e prestativa em todos os momentos que necessitei. Obrigada Pati por toda ajuda, apoio, dedicação e interesse por esta pesquisa!

À amiga Eliane Bassetto por toda força, apoio dedicado, amizade verdadeira e pela ajuda especial na formatação deste trabalho. Valeu Katotinha!!!

À minha grande amiga Maitê Portes pelo auxílio nas análises de carboidratos e, principalmente pelo imenso apoio, grande carinho, incansáveis conselhos e extrema preocupação. Má querida muito obrigada por cada palavra de incentivo!

Às amigas Fabiana-Baguiña (queridinha), Maria Luiza-Di e Dani Vitti por cada sorriso, por cada ajuda e por cada gesto de amizade durante esta caminhada.

À técnica do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita, Graça, pela ajuda nas mais diversas situações, além da amizade.

A Ivan Sestari por disponibilizar seu tempo e ajudar nas discussões dos resultados deste trabalho.

Aos alunos de pós-graduação e estagiários (ex e atuais) do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita pela agradável convivência e prontidão em ajudar.

Aos amigos Ana Helena, Aninha Luísa, Camila Jordão, Claudia Coelho, Cecília Arruda, Henrique, Jú Gobbo, Marcos Trevisan, Marilda Foranceli, Renatinha (Bulie), Rogerinho, Silvana (Sutil) e Vanessa Weber, o meu muito obrigada.

À Maria Solizéte, secretária do PPG em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, pelas inúmeras vezes que me auxiliou.

Aos funcionários e professores do Depto de Ciências Biológicas pelo agradável convívio.

Às bibliotecárias Eliana e Silvia, da Divisão de Biblioteca e Documentação da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela atenção dedicada durante a revisão desta tese.

A todos, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	08
ABSTRACT	09
1 INTRODUÇÃO	10
Referências	11
2 ATIVIDADE RESPIRATÓRIA E ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE TRÊS CULTIVARES DE BATATAS MINIMAMENTE PROCESSADAS ARMAZENADAS EM DIFERENTES TEMPERATURAS.....	13
Resumo	13
Abstract	14
2.1 Introdução	15
2.2. Desenvolvimento	16
2.2.1 Revisão bibliográfica	16
2.2.2 Materiais e Métodos	18
2.2.3 Resultados e Discussão	24
2.3 Considerações finais	30
Referências	30
3 ATIVIDADE DE ENZIMAS ASSOCIADAS AO ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO DE BATATAS MINIMAMENTE PROCESSADAS.....	34
Resumo	34
Abstract.....	35
3.1 Introdução	36
3.2 Desenvolvimento	37
3.2.1 Revisão bibliográfica	37
3.2.2 Materiais e Métodos	40
3.2.3 Resultados e Discussão	42
3.3 Considerações finais.....	50
Referências	51
4 CARBOIDRATOS NÃO ESTRUTURAIS EM DIFERENTES CULTIVARES DE BATATAS MINIMAMENTE PROCESSADAS E ARMAZENADAS EM DUAS TEMPERATURAS DE ARMAZENAMENTO.....	56

Resumo	56
Abstract	57
4.1 Introdução	58
4.2. Desenvolvimento	59
4.2.1 Revisão bibliográfica	59
4.2.2 Materiais e Métodos	60
4.2.3 Resultados e Discussão.....	61
4.3 Considerações finais.....	68
Referências	68
5 TRATAMENTOS COMBINADOS DE ANTIOXIDANTES EM DIFERENTES CULTIVARES DE BATATAS MINIMAMENTE PROCESSADAS.....	72
Resumo	72
Abstract	73
5.1 Introdução	74
5.2. Desenvolvimento	74
5.2.1 Revisão bibliográfica	74
5.2.2 Materiais e Métodos	76
5.2.3 Resultados e Discussão	79
5.3 Considerações finais.....	89
Referências	89
ANEXOS.....	94

RESUMO

Respostas fisiológicas e bioquímicas de diferentes cultivares de batatas ao processamento mínimo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar aspectos fisiológicos e bioquímicos de batatas cv. Ágata, Asterix e Monalisa minimamente processadas. Primeiramente foram estudadas variáveis fisiológicas e microbiológicas de batatas armazenadas a 5, 15 e 25°C. As batatas 'Asterix' apresentaram as maiores taxas respiratórias em relação a 'Ágata' e 'Monalisa', independente da temperatura de armazenamento. As contagens de bactérias psicotróficas e coliformes totais, para todas as cultivares armazenadas a 5°C durante 9 dias de armazenamento, mantiveram-se dentro dos padrões aceitáveis. O armazenamento a 5°C foi eficiente no controle da atividade metabólica e na segurança de batatas minimamente processadas. No segundo experimento, o ensaio enzimático realizado teve como objetivo verificar o efeito de diferentes cultivares e de temperaturas de armazenamento (5 e 15°C) sobre a atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). As atividades enzimáticas aumentaram para todas as cultivares na temperatura de 15°C. Batatas 'Ágata' e 'Asterix' são mais indicadas para processamento mínimo do que 'Monalisa', sendo esta mais susceptível ao escurecimento enzimático. O terceiro experimento avaliou os níveis de carboidratos não estruturais em batatas minimamente processadas e armazenadas a 5 e 15°C. A maior degradação de amido em batatas 'Asterix' armazenadas a 5°C esteve relacionada com o aumento do teor de açúcares solúveis verificado para este tratamento. Foi observado um aumento nos teores de amido para a cultivar 'Ágata' armazenada a 5°C. Os teores de sacarose decresceram para todas as cultivares armazenadas a 5°C e houve manutenção nos teores deste carboidrato quando armazenadas a 15°C. No quarto experimento foram testadas diferentes combinações de antioxidantes nas três cultivares armazenadas a 5°C. Batatas 'Monalisa' apresentaram os maiores teores de fenóis totais e valores de atividade da PAL, POD e PPO independente do tratamento. Batatas 'Ágata' tratadas com ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% apresentaram os menores valores de atividade da PAL, POD e PPO. Para as cultivares Asterix e Monalisa os melhores resultados obtidos foram nas combinações com 4-hexilresorcinol e cisteína, respectivamente.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L.; Minimamente processado; Fisiologia; Microbiologia; Escurecimento; Enzimas; Carboidratos; Antioxidantes

ABSTRACT

Physiological and biochemical responses of different potato cultivars to minimal processing

The purpose of the present work was to evaluate physiological and biochemical aspects of minimally processed Agata, Asterix and Monalisa potato cultivars. First physiological and microbiological variables of fresh-cut potatoes stored at 5, 15 and 25°C were evaluated. Potatoes 'Asterix' showed the highest respiratory rates when compared to potatoes cv. Agata and Monalisa, regardless of the storage temperature. Psychrotrophic bacteria and total coliforms counts were within acceptable limits for all cultivars stored at 5°C during 9 days of storage. Storage at 5°C was effective to control the metabolic activity and to keep food safety of minimally processed potatoes. In a second experiment, the effect of different cultivars and storage temperatures (5 and 15°C) on the enzymatic activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) was studied. Enzymatic activity increased in all cultivars at 15°C. 'Agata' and 'Asterix' potatoes were more suitable for minimal processing than 'Monalisa'. This last cultivar is more susceptible to enzymatic browning. The third experiment was aimed at evaluating non-structural carbohydrates levels in minimally processed potatoes stored at 5 and 15°C. The highest starch degradation rate was observed in potatoes 'Asterix' stored at 5°C, which was related to the increase in the soluble sugar amount verified in this experiment. There was an increase in starch content in 'Agata' potatoes stored at 5°C. Sucrose contents decreased in all cultivars stored at 5°C and remained constant in cultivars stored at 15°C. In a fourth experiment, different combinations of antioxidants in the three potato cultivars stored at 5°C were studied. Potatoes 'Monalisa' showed the highest total phenol amounts and the highest activities of PAL, PPO and POD, regardless of treatment. 'Agata' potatoes treated with ascorbic acid 2% + cysteine 0.5% and cysteine 0.5% + 4-hexylresorcinol 0.01% showed the lowest values activities of PAL, POD and PPO. For the Asterix and Monalisa cultivars, the best results were obtained when combinations of 4-hexylresorcinol and cysteine were used, respectively.

Keywords: *Solanum tuberosum* L.; Minimally processed; Physiology; Microbiology; Browning; Enzymes; Carbohydrates; Antioxidants

1 INTRODUÇÃO

A batata, quarto alimento mais consumido no mundo, é considerada um dos dez principais produtos agrícolas brasileiros e a hortaliça mais importante para a economia nacional (IBGE, 2002). Os produtos à base de batata têm alcançado importante e rápida diversificação no mercado, embora o processamento mínimo dos tubérculos ainda seja muito pouco explorado.

O interesse por frutas e hortaliças minimamente processadas vem aumentando significativamente nos últimos anos. Este processo está sendo desenvolvido pela aplicação dos conhecimentos da ciência dos alimentos e o apoio da tecnologia e da engenharia, sendo considerado uma alternativa de consumo, além de contribuir para um maior desenvolvimento da agroindústria no País.

O aumento da demanda por produtos minimamente processados traz consigo grandes desafios no que se refere ao desenvolvimento de tecnologias para um maior período de conservação e armazenamento. Esses produtos apresentam maior taxa de deterioração em relação ao produto inteiro, devido a descompartimentação celular provocada pelo corte, expondo também, dessa maneira, os tecidos internos do vegetal, e conseqüentemente acelerando o seu metabolismo (WILEY, 1994).

O controle da temperatura é uma das técnicas mais importantes para minimizar os efeitos das injúrias em hortaliças minimamente processadas, por reduzir a respiração, o crescimento microbiano e as deteriorações (BRECHT, 1995).

A sanitização dos produtos minimamente processados é extremamente importante, uma vez que a refrigeração é utilizada para manter a qualidade dos produtos e, isoladamente, não provém adequada proteção contra microorganismos patogênicos, já que várias bactérias patogênicas sobrevivem, e até mesmo se reproduzem sob refrigeração (HURST, 1995).

Quando o produto é minimamente processado, há um desbalanço na seqüência das reações metabólicas, com a liberação das enzimas compartimentalizadas que, em contato com os substratos, promovem o escurecimento de vários produtos hortícolas (CHITARRA, 1998).

Um dos principais problemas que reduz a vida pós-colheita de batatas minimamente processadas é a suscetibilidade ao escurecimento enzimático ocasionado pelo processo de corte. Esta deterioração tem grande importância no impacto visual do produto, pois prejudica sua aceitação sensorial e qualidade comercial, reduzindo também o valor nutricional do alimento.

Para aumentar o período de comercialização dos tubérculos, pode-se armazená-los em baixas temperaturas. Porém, a refrigeração de batatas apresenta o inconveniente de aumentar os níveis de açúcares redutores e essa situação afeta a qualidade do processamento e conseqüentemente seu valor comercial. Os altos níveis de açúcares redutores nos tubérculos são os principais responsáveis pelo escurecimento não enzimático de produtos processados (WILSON; WORK; BUSHWAY, 1981), sendo este o maior obstáculo da batata destinada à fritura. O acúmulo de açúcares em baixa temperatura é o resultado da conversão do amido em açúcares (REES; DIXON; POLLOCK, 1981).

Em meio à introdução de novas técnicas de conservação, a implementação do uso de antioxidantes representa um importante recurso com a finalidade de prolongar a vida de prateleira dos produtos minimamente processados. Por apresentarem grande perecibilidade, tais produtos precisam de conservantes que auxiliam na manutenção de suas qualidades visuais e nutricionais. Tanto os conservantes químicos quanto os naturais são utilizados no controle das alterações bioquímicas e fisiológicas das frutas e hortaliças minimamente processadas (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

O processamento mínimo de batatas é uma alternativa para agregar valor à batata brasileira, proporcionando a especialização do mercado deste tubérculo visando um novo nicho de mercado e reduzindo a importação do produto congelado. Apesar desses desafios, é grande o potencial de comercialização da batata minimamente processada, considerando o consumo *per capita* de batata no País de 14kg hab⁻¹ano⁻¹ (FAO, 2001), e a sua importância social e econômica. No entanto, há necessidade de estudos, focados para a obtenção de um produto com praticidade e qualidade e, que atendam às exigências do mercado consumidor (MORETTI, 2004; PINELI; MORETTI, 2007).

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo determinar as respostas fisiológicas e bioquímicas associadas ao processamento mínimo de batata. Para determinar estas respostas e propor novas tecnologias vários fatores foram estudados como: temperatura de armazenamento, cultivares e antioxidantes.

Referências

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. Uso de aditivos. In: **Fundamentos de tecnologias de alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 1998. 317p.

BRECHT, J.K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v.30, n.1, p.18-22, 1995.

CHITARRA, M.I.F. **Processamento mínimo de frutos e hortaliças**. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, 1998. 88 p.

FAO. Statistical databases: **food suply 2001**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/faostat/collectionsversion=ext&hasbullk=0&subset=nutrition> Acesso em 24 fev. 2007.

HURST, W.C. Sanitation of lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v.30, n.1, p.22-24, 1995.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Sistema IBGE de recuperação automática. produção agrícola municipal 2002**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.aspe=v&p=pa&z=t&o=11> Acesso em 21 mar. 2006.

MORETTI, C. L. Processamento mínimo: uma alternativa de agregação de valor para a bataticultura brasileira. **Batata Show**, Itapetininga, n.9, p.31- 32, 2004.

PINELI, L.C.O. & MORETTI, C.L. Processamento mínimo de batata. In: Moretti, C.L. (ed). **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: SEBRAE, 2007. cap.1. p. 343-372.

REES, T.; DIXON, W.L.; POLLOCK, C.J. Low temperature sweetening of higher plants. In: FRIEND, J.; RHODES, M.J.C. (eds). **Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables**. London: Academic Press, 1981. chap.2, p.41-61.

WILEY, R.C. **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables**. New York: Chapman & Hall, 1994. 368p.

WILSON, A.M.; WORK, T.M.; BUSHWAY, A.A. HPLC determination of fructose, glucose and sucrose in potatoes. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, n. 2, p.300-301, 1981.

2 ATIVIDADE RESPIRATÓRIA E ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE TRÊS CULTIVARES DE BATATAS MINIMAMENTE PROCESSADAS ARMazenADAS EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Resumo

A batata enquadra-se no grupo das hortaliças que possuem as características para o processamento mínimo. Dois obstáculos a serem enfrentados durante processamento mínimo de frutas e hortaliças são a escolha correta da cultivar e a manutenção da baixa temperatura durante o período de comercialização. O presente trabalho teve como objetivo avaliar aspectos fisiológicos e microbiológicos de diferentes cultivares de batatas minimamente processadas. Batatas cv. Ágata, Asterix e Monalisa foram selecionadas, classificadas, lavadas e descascadas por abrasão, sendo em seguida cortadas em cubos, sanitizadas e centrifugadas. A seguir foram colocadas em frascos herméticos e armazenadas a 5, 15 e 25°C. Os frascos permaneceram fechados por 30 minutos. Determinou-se a atividade respiratória e a produção de etileno imediatamente após o processamento e a cada hora, durante 10 horas. As análises microbiológicas foram realizadas no dia do processamento e após 1, 5 e 9 dias de conservação a 25, 15 e 5°C, respectivamente. Observou-se que as batatas 'Asterix' apresentaram maiores taxas respiratórias em relação a 'Ágata' e 'Monalisa', independente da temperatura de armazenamento. Nas temperaturas de 15°C e 25°C, as batatas 'Ágata' e 'Monalisa' apresentaram comportamentos semelhantes entre si. As contagens de bactérias psicrotróficas e coliformes totais, para todas as cultivares armazenadas a 5°C mantiveram-se dentro dos limites aceitáveis durante 9 dias de armazenamento. Não foi detectada presença de coliformes a 45°C e *Salmonella*. Ficou evidenciada a eficiência do armazenamento a 5°C no controle da atividade metabólica e segurança de batatas minimamente processadas.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L.; Taxa respiratória; Microbiologia; Processamento mínimo

RESPIRATORY ACTIVITY AND MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF THREE MINIMALLY PROCESSED POTATO CULTIVARS STORED AT DIFFERENT TEMPERATURES

Abstract

Potatoes are vegetable crops that present ideal characteristics for minimal processing. Two hurdles to be overcome during minimal processing of fruits and vegetables are choosing the right cultivar and the maintenance of low temperatures during the commercialization period. The purpose of the present work was to evaluate physiological and microbiological aspects of different minimally processed potatoes cultivars. Potatoes cv. Agata, Asterix and Monalisa were selected, graded, washed and abrasion peeled before being diced, sanitized and centrifuged. They were then placed in hermetically sealed flasks and stored at 5, 15 and 25°C. Flasks remained closed for 30 minutes. Respiratory activity and ethylene production were determined immediately after processing and every hour for 10 hours. Microbiological analyses were carried out on the processing day and at after 1, 5 and 9 days of storage at 25, 15 and 5°C, respectively. Potatoes 'Asterix' showed the highest respiratory rates when compared to potatoes 'Agata' and 'Monalisa', regardless of the storage temperature. Potatoes 'Agata' and 'Monalisa' behaved similarly to each other at 15°C and 25°C. Psychrotrophic bacteria and total coliforms counts for all cultivars were within acceptable limits at 5°C for 9 days of storage. The presence of coliforms at 45°C and *Salmonella* was not detected. Storage at 5°C was effective to control the metabolic activity and to keep food safety of minimally processed potatoes.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., Respiratory rate, Microbiology, Minimal processing

2.1 Introdução

A batata é a quarta cultura na ordem de importância no mundo, depois do trigo, do arroz e milho, sendo um dos principais alimentos da humanidade e consumida por mais de um bilhão de pessoas (FNP, 2006). Este tubérculo enquadra-se no grupo das hortaliças que possuem as características para o processamento mínimo devido à sua pouca conveniência durante o preparo para as refeições.

O processamento mínimo é definido como qualquer alteração física causada em frutos ou hortaliças que mantém o estado fresco desses produtos. Inclui as operações de seleção, lavagem, corte, sanitização, centrifugação, embalagem, armazenamento e comercialização (IFPA, 1999; MORETTI, 1999).

Frutas e hortaliças minimamente processadas mantêm seus tecidos vivos, porém não exibem a mesma resposta fisiológica que o tecido inteiro (WILEY, 1994). Estes produtos geralmente são mais perecíveis do que os inteiros, considerando que são submetidos a severos estresses físicos, advindos, principalmente, do descascamento e do corte. Esses danos mecânicos aumentam o metabolismo, com conseqüente aumento da taxa respiratória e da síntese de etileno, causando maior velocidade de deterioração. O etileno proveniente do corte (etileno de “ferimento”) contribui para a biossíntese de enzimas envolvidas em alterações fisiológicas e bioquímicas associadas à senescência (BRECHT, 1995).

A temperatura tem importante papel na conservação dos alimentos, já que sua diminuição da temperatura retarda as transformações provocadas por reações bioquímicas e diminui disseminação de bactérias e fungos (ROLLE; CHISM, 1987). Temperaturas baixas reduzem o metabolismo e a taxa de respiração das hortaliças, além de retardarem outros processos fisiológicos, bioquímicos e microbiológicos causadores de deterioração.

O processamento mínimo tem sido uma das alternativas para agregar valor à batata brasileira e reduzir a importação do produto congelado. Considerando a importância econômica deste vegetal, existe uma lacuna na literatura consultada no que diz respeito a avaliação de cultivares nacionais com potencialidade de uso na forma minimamente processada (PINELI et al., 2006). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade respiratória e produção de etileno, bem como aspectos microbiológicos de três cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas em diferentes temperaturas.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Revisão Bibliográfica

A intensidade da respiração é um dos fatores determinantes na longevidade dos produtos hortícolas após a colheita, considerando que a respiração é um processo oxidativo das substâncias de reserva, levando o órgão à senescência (WILLS; LEE; GRAHAM, 1981).

Os principais fatores que influenciam a intensidade da taxa respiratória são: a espécie, a cultivar, o órgão, o estágio de desenvolvimento, as condições ambientais e os estresses físicos e químicos (MORETTI; CALBO; HENZ, 2000).

A conservação de hortaliças minimamente processadas é um processo especialmente complexo, do qual participam as células vegetais danificadas, as intactas e as inativadas. Em outras palavras, algumas células se encontram respirando em velocidade normal, enquanto que as danificadas respiram a velocidades maiores (ROLLE; CHISM, 1987).

O efeito do corte e outras injúrias, provocadas durante as etapas do processamento mínimo, tem como consequência o rompimento de organelas, modificação da permeabilidade das membranas, desorganização celular, ativação da síntese do etileno e aumento na respiração (CHITARRA, 1998).

A ascensão respiratória caracteriza-se pelo aumento no consumo de O_2 e na liberação de CO_2 (YANG, 1985). A taxa respiratória, além de servir como indicador da atividade metabólica, determina a capacidade de armazenamento (GLENN; REDDY; POOVAIAH, 1988). Assim, quanto maior a taxa respiratória do produto, menor é a sua conservação.

Segundo Kader (2002), a perda de reserva nos vegetais durante a respiração significa o aparecimento do processo de senescência do produto, quando as reservas para manter a fruta ou hortaliça viva estão sendo exauridas, reduzindo o valor energético do produto, provocando perda de sabor e aroma, especialmente doçura, e perda de matéria seca. Os principais substratos utilizados na respiração dos tubérculos de batata são os carboidratos provenientes da hidrólise dos grânulos de amido armazenados nos amiloplastos.

O controle da respiração é fundamental para os produtos minimamente processados, o que obriga a sua comercialização sob refrigeração. Segundo Cantwell (1992), a taxa respiratória dos produtos minimamente processados é superior ao do produto inteiro. Portanto, mesmo os órgãos de reserva, como raízes, bulbos, rizomas e tubérculos, que naturalmente possuem uma vida pós-

colheita relativamente longa, passam a ser altamente perecíveis, com uma vida de prateleira muito curta quando submetidos ao processamento mínimo (KASMIRE; CANTWELL, 1992).

A respiração apresenta-se mais alta logo após a colheita dos tubérculos de batata, especialmente naqueles imaturos, sendo cerca de três vezes superior à de tubérculos colhidos após a senescência das plantas (FONTES; FINGER, 1997).

No processo respiratório, cerca de 40% da energia gerada pela quebra das cadeias de carbono é utilizada pelo tecido vegetal para manutenção celular. Os outros 60% da energia gerada são perdidos na forma de calor vital. Portanto, frutas e hortaliças geram calor e, se colocadas em ambiente fechado, tendem a aumentar a temperatura do ambiente. O calor gerado pela batata à temperatura de 0°C é de 0,062 kJ kg⁻¹ h⁻¹, a 10°C é de 0,071-0,11 kJ kg⁻¹ h⁻¹ e a temperatura de 20°C é de 0,088-0,176 kJ kg⁻¹ h⁻¹ (HONÓRIO; MORETTI, 2002).

Diante disso, o uso de armazenamento refrigerado é uma técnica importante para minimizar o efeito das injúrias provocadas pelo processamento mínimo de frutas e hortaliças. Segundo Brecht (1995) a taxa respiratória e a produção de etileno, bem como outras reações associadas ao processamento, são reduzidas quando o produto é preparado sob baixas temperaturas.

Watada, Abe e Yamuchi (1990), ao compararem a taxa respiratória de vários frutos inteiros e minimamente processados armazenados sob diversas temperaturas, observaram que, na maioria das vezes, a taxa respiratória era maior nos frutos minimamente processados e que quanto maior a temperatura, maior era a taxa respiratória.

A exposição do produto minimamente processado em gôndolas abertas de resfriamento tem reduzido com frequência a vida de prateleira dos produtos, pois nestas gôndolas, a maior parte do frio é perdida, sendo comum observar temperaturas na faixa de 10 a 15°C, o que provoca o aumento da deterioração dos produtos. Os microrganismos deterioradores e patogênicos podem se desenvolver nos produtos minimamente processados, em razão do manuseio e do aumento das injúrias nos tecidos (WILEY, 1994), ao contrário do que ocorre com as frutas e hortaliças intactas, que são parcialmente protegidas da invasão microbiana pela casca (SHEWFELT, 1987).

Através da contagem dos microrganismos psicrotróficos é possível avaliar as condições microbiológicas do processamento de alimentos refrigerados. Já que estes microrganismos normalmente contribuem para uma diminuição do tempo de vida útil do alimento, principalmente por comprometerem a segurança alimentar (HAJDENWURCEL, 1998).

De acordo com Nguyen e Carlin (1994), tem sido encontrado um grande número de microrganismos em produtos minimamente processados, incluindo leveduras, coliformes, coliformes fecais, microbiotas mesofílicas, bolores, etc. Estes autores afirmam que o controle da temperatura de armazenamento, a desinfecção química e o uso de atmosfera modificada diminuem consideravelmente o desenvolvimento destes microrganismos.

Neste sentido é imprescindível a sanitização de toda a área de processamento, inclusive dos instrumentos e equipamentos utilizados, bem como a utilização de luvas, máscaras, aventais e botas por parte dos operadores, o uso de água clorada para a lavagem das hortaliças e um controle bastante rigoroso da temperatura. Além disso, amostras de hortaliças minimamente processadas, desde a produção até a distribuição em nível de consumidor, devem sofrer análises microbiológicas freqüentes (SIGRIST, 1998).

Hiraushi e Horie (1982) afirmam que os coliformes são bons indicadores de contaminação fecal em alimentos. De acordo com a Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods – ICMSF (1978), a presença de coliformes em alimentos indica manipulação inadequada durante o processamento, uso de equipamentos em más condições sanitárias ou ainda utilização de matéria-prima contaminada.

De acordo com a Resolução RDC nº 12 de 02/01/2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde, a legislação sanitária de alimentos exige, para hortaliças frescas, “in natura”, preparadas, sanitizadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto a ausência de *Salmonella* (em 25g de amostra), e, no máximo, 10^2 NMP de coliformes a 45°C g^{-1} de produto para a preservação da saúde pública.

Vanetti (2000) comenta que o prolongamento da vida útil dos produtos minimamente processados é dependente, além do retardamento dos processos fisiológicos, do retardamento da proliferação microbiana, o que garante a segurança para o consumo e a aceitabilidade dos mesmos. Neste aspecto, a higienização e o controle das condições de armazenamento desempenham papel fundamental no controle do crescimento microbiano.

2.2.2 Material e Métodos

Obtenção do material experimental

As batatas, cvs. Ágata, Asterix e Monalisa, colhidas na região de Itapetininga-SP, foram levadas para o laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita do Departamento de Ciências

Biológicas da ESALQ/USP onde foram selecionadas quanto à firmeza (utilizaram-se tubérculos firmes) e ausência de danos mecânicos e infecção fúngica. As batatas foram pré-lavadas em água corrente com o objetivo de retirar as impurezas vindas do campo (vide ANEXO A).

Processamento mínimo

As etapas de processamento mínimo foram realizadas em câmara fria a 10°C, sobre mesa de aço inoxidável, devidamente higienizada. Os operadores utilizaram roupas protetoras (botas, aventais, luvas, máscaras e toucas), como parte das condições mínimas de assepsia.

As etapas de processamento constaram de:

- a) Descascamento: as batatas foram descascadas mecanicamente por descascadora industrial (Skymesen) com disco abrasivo para retirada da película externa dos tubérculos.
- b) Resfriamento rápido: os tubérculos foram imersos em água resfriada (5°C) por 2 minutos, para reduzir a atividade metabólica antes do processamento.
- c) Corte: as batatas foram cortadas na forma de cubos, por meio de uma processadora industrial (Robot Coupe) com disco de corte de 1,0x1,0x1,0cm.
- d) Enxague e Sanitização: após o corte, o material foi enxaguado em água potável e sanitizado por 5 minutos em água clorada (200ppm de Dicloro-S- Triazinatriona Sódica Diidratada - SUMAVEG®), com o objetivo de reduzir riscos de contaminação.
- e) Centrifugação: realizada em centrífuga doméstica a 2200rpm durante 10 minutos para a retirada do excesso de umidade do produto.
- f) Pesagem e Embalagem: foram confeccionadas embalagens de 300g de batata minimamente processada. Os cubos foram colocados em filme plástico de nylon multicamadas (14x20cm de largura e comprimento, respectivamente) e seladas a vácuo.

Tratamentos

As batatas cv. Ágata, Asterix e Monalisa minimamente processadas foram armazenadas nas temperaturas de 5±1°C; 15±1°C e 25±1°C e umidade relativa (UR) de 85%. A temperatura de 5°C foi escolhida por estar próxima da temperatura de armazenamento ideal (2-5°C), recomendada por vários autores. A temperatura de 15°C foi utilizada por ser a temperatura comumente encontrada nas gôndolas dos supermercados para conservação dos produtos minimamente processados. Escolheu-se a temperatura de 25°C, pois é a temperatura de

armazenamento que comumente é considerada como ambiente (ou seja, sem refrigeração) na análise do metabolismo dos produtos.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado adotando-se, para a cada temperatura, um esquema fatorial 3x10, tendo, como fatores, cultivares (em 3 níveis) e tempo de armazenamento (em 10 níveis). Para cada tratamento foram utilizados cinco repetições de 150g do produto.

Determinações

Taxa respiratória

Aproximadamente 150g do produto minimamente processado foram colocados em frascos de vidro com capacidade de 600mL, permanecendo fechados durante 30 minutos antes de cada coleta. Em cada tampa dos frascos foi colocado um septo de silicone através do qual eram retiradas as amostras (figura 1). Com auxílio de uma seringa de vidro foi coletada uma amostra de 1mL de cada frasco e injetada em um cromatógrafo a gás (Thermofinigan modelo GC Trace 2000) equipado com coluna Porapack N de 4 m de comprimento para detecção de CO₂ e 1,8 m para detecção de C₂H₄, metanador, e detector de ionização de chama (FID), tendo hidrogênio como gás de arraste a um fluxo de 25mL minuto⁻¹. As temperaturas foram 80°C na coluna, 100°C no injetor, 250°C no detector e 350°C no metanador. O CO₂ foi quantificado previamente pela calibração com padrões de 2150 e 29900 µL CO₂ L⁻¹. Os resultados expressos em ppm de CO₂ foram transformados para % de CO₂ e utilizados para ao cálculo da taxa respiratória, sendo levado em consideração o volume livre do frasco, o tempo que o mesmo permaneceu fechado e a massa das batatas minimamente processadas. As leituras foram feitas em intervalos de uma hora por um período de 10 horas. O resultados foram expressos em mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

Produção de etileno

Os procedimentos para determinação de etileno foram semelhantes ao utilizado para a determinação da taxa respiratória, no que se refere a coleta da amostra de gás, porém os frascos permaneceram fechados por um período de 2 horas. A amostra de gás foi injetada em cromatógrafo a gás sendo as temperaturas da coluna, injetor e detector foram de 80°C, 100°C e

100°C, respectivamente. O etileno foi quantificado após a prévia calibração do equipamento com padrão de $1.94 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ L}^{-1}$. Os resultados foram expressos em $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.



Figura 1- Batatas minimamente processadas acondicionadas em frascos herméticos para determinação da respiração e etileno em cromatógrafo a gás

Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no dia do processamento e após 1, 5 e 9 dias de conservação a 25, 15 e 5°C, respectivamente. A microflora contaminante da batata minimamente processada foi avaliada pela contagem total de bactérias psicotróficas, número mais provável (NMP) de coliformes totais e fecais (ou coliformes a 45°C) e presença ou ausência de *Salmonella*, conforme estabelecida pela Resolução RDC nº12 de 02/01/2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

As análises para contagem de bactérias psicotróficas e para o NMP de coliformes foram efetuadas em porções de 50g de batatas para cada repetição, que foram pesadas assepticamente e colocadas em erlenmeyers contendo 450mL de água peptonada (0,1%) estéril, constituindo a diluição 10^{-1} . Da diluição de 10^{-1} , obteve-se a diluição de 10^{-2} , pipetando-se 10mL da solução 10^{-1} em colocando e 90mL de água peptonada (0,1%) esterilizada e a partir da diluição de 10^{-2} , obteve-se a diluição de 10^{-3} pelo mesmo processo.

-Contagem total de bactérias psicotróficas

Optou-se por realizar a contagem de bactérias psicotróficas, pois como as batatas iriam ser armazenadas sob refrigeração, nestas temperaturas, se não houver crescimento de bactérias psicotróficas, conseqüentemente não irá haver crescimento das bactérias mesófilas. Para contagem de bactérias psicotróficas, utilizou-se o meio Ágar Padrão para Contagem (PCA). O princípio desta metodologia baseia-se na capacidade que cada célula microbiana, presente na amostragem, tem de formar uma colônia visível e isolada, uma vez fixada em um meio de cultura sólido para seu desenvolvimento (Silva et al., 2001).

A partir da diluição de 10^{-1} até a 10^{-3} as amostras de batatas minimamente processadas foram plaqueadas em profundidade colocando-se 1mL de cada diluição em duplicata, utilizando-se 20mL de meio de cultivo PCA. Após o plaqueamento, as placas permaneceram em repouso até completa solidificação do meio, sendo, então invertidas e incubadas, em geladeira, a 7°C por 10 dias.

Decorrido o tempo de incubação foram selecionadas as placas e fez-se a contagem das mesmas, com auxílio do contador de colônias tipo Quebec. Os resultados foram expressos em UFC g^{-1} (vide ANEXO B).

-NMP (Número Mais Provável) de coliformes

Os coliformes foram determinados pelo método do NMP, por meio da técnica de Tubos Múltiplos.

Essa técnica possui duas etapas distintas: i) teste presuntivo, onde se busca detectar a presença de microrganismos fermentadores de lactose e onde é possível recuperar células injuriadas; ii) teste confirmativo, através do qual pode se determinar a população real de coliformes totais e a 45°C .

Para o teste presuntivo foram utilizadas três séries de cinco tubos de ensaios, os quais continham cada um, um tubo de Durham (invertido) e 15mL de Caldo Lactosado (CL), um meio cuja fonte de carbono é a lactose que é fermentada pelas bactérias do grupo coliforme, com produção de ácido e gás. Na primeira série, colocou-se 1mL da diluição 10^{-1} (anteriormente citada) em cada um dos 5 tubos de ensaio, sendo realizado o mesmo procedimento para as demais séries de tubos com as diluições de 10^{-2} e 10^{-3} .

Todos os tubos foram incubados em estufa termostaticada a $35-37^{\circ}\text{C}$, por 24-48 horas. Após 24 e 48 horas de incubação verificou-se a positividade dos resultados, os tubos positivos

apresentaram o esvaziamento do meio de cultura dos tubos de Durham, devido à produção de gás pelas bactérias do grupo coliforme ao fermentarem a lactose.

Em caso de positividade do teste presuntivo, alíquotas de 1mL dos tubos positivos do teste presuntivo foram transferidas para o teste confirmativo, verificando-se, assim, se realmente tratavam-se de bactérias do grupo coliforme.

Utilizando-se alça de níquel-cromo, foram inoculados tubos de Caldo Verde Brilhante Lactose Bile (CVBLB), em concentração simples, e tubos de Caldo EC, correspondentes aos tubos positivos da fase anterior.

Os tubos de CVBLB foram incubados em estufa termostaticada à temperatura de 35-37°C durante 24-28h, sendo verificada, após esse período, a formação ou não de gás nos tubos de Durham. A formação de gás em CVBLB confirma a presença de bactérias do grupo coliforme totais.

Os tubos de EC, uma vez inoculados, foram incubados em banho-maria termostaticado à temperatura de 45°C por 24 horas. Após o período de incubação, a formação de gás em EC confirma a presença de coliformes a 45°C.

A partir do número de tubos positivos em cada série de ambos os meios, consultando-se seus valores correspondentes na tabela da Associação Brasileira de Normas Técnicas MB 3463, obteve-se o NMP de coliformes totais (CVBLB) e coliformes a 45°C (Caldo EC), por grama de batata minimamente processada (vide ANEXO C).

-Detecção de *Salmonella*

Para detecção de *Salmonella*, utilizou-se o Kit '1-2 Test', fabricado pela Biocontrol/USA. Trata-se de um método oficial aprovado pela AOAC (Association of Analytical Chemists Internacional) para utilização em todos os tipos de alimentos.

Foi feito um pré-enriquecimento de cada amostra analisada, colocando-se 25g da batata minimamente processada em um erlenmeyer contendo 225mL de água peptonada tamponada esterilizada. Os erlenmeyers foram incubados em estufa termostaticada, a 35°C por 24 horas. O pré-enriquecimento é possível pela exigência de ausência de *Samonella* em 25g de qualquer alimento para consumo humano analisado. Deste modo se a bactéria estiver presente no alimento, não importando o número de bactérias, o alimento é considerado impróprio para consumo humano. Com o pré-enriquecimento, a multiplicação da bactéria é favorecida, facilitando a

detecção na análise, uma vez que tal patógeno encontra-se normalmente em níveis baixos nos alimentos.

Decorrido o período de incubação, do pré-enriquecimento, fez-se o preparo dos kits, compostos, cada um, de dois compartimentos. A amostra pré-enriquecida (0,1mL) foi colocada na câmara de incubação onde, primeiramente foi adicionada uma gota de solução de iodo-iodeto e depois removido o tampão desta câmara com auxílio de uma pinça estéril. A outra câmara, de motilidade, contém um meio de motilidade não seletivo, a base de peptona. Esta câmara é fechada por uma pequena ponteira (que foi removida) para formar um vão no gel, em seguida, adicionou-se uma gota da solução de anticorpos polivalente anti-*Salmonella*. Os kits foram incubados a 35°C por 24 horas. Após a incubação foi realizada a leitura dos resultados.

A possível presença de *Salmonella* é caracterizada pela formação de uma imunobanda na metade superior do gel na câmara da motilidade. Trata-se de uma banda branca em forma de U formada pela aglutinação das células da bactéria com a solução de anticorpos.

Análise dos resultados

Os resultados das análises fisiológicas foram submetidos à análise de variâncias. As médias foram comparadas pelo teste de diferença mínima significativa por meio de testes de comparações múltiplas de médias, onde as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois desvios padrões foram consideradas significativas (SHAMAILA; POWRIE; SKURA, 1992). Na avaliação dos aspectos microbiológicos os resultados foram expressos em UFC g⁻¹ de produto para bactérias psicotróficas, NMP g⁻¹ para coliformes totais e fecais e presença/ausência de *Salmonella* em 25g de produto.

2.2.3 Resultados e Discussão

Taxa Respiratória

Independente da cultivar observou-se que as batatas armazenadas a 5°C apresentaram as menores taxa respiratória em relação as demais cultivares (Figura 2). A taxa respiratória da cultivar Asterix foi a mais alta em todas as temperaturas de armazenamento, apresentando valores em torno de 12, 16 e 25 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 5, 15 e 25°C, respectivamente. Por outro lado, a cultivar Monalisa apresentou a menor taxa respiratória tendo sido este fato bastante evidente na

temperatura de 5°C (Figura 2A). A 15 e 25°C esta cultivar pouco diferiu da cultivar Ágata, principalmente nas primeiras 4 horas após o processamento (Figura 2B e C). O efeito da redução da temperatura de 15°C para 5°C foi mais pronunciado na cv. Monalisa, aproximadamente 50% a menos que a verificada a 15°C na avaliação realizada 1 hora após o corte. Já na cv. Ágata armazenada a 25°C houve uma elevação na atividade respiratória, sendo aproximadamente três vezes maior do que as armazenadas a 5°C (Figura 2A e C). Observou-se uma estabilização nos valores de atividade respiratória durante todo período avaliado independente da cultivar nas temperaturas de 15 e 25 °C (Figura 2B e C).

O comportamento respiratório diferente entre as cultivares talvez seja decorrente de diferenças existentes na quantidade de matéria seca presentes nos diferentes genótipos. Assim, maiores teores de matéria seca podem significar maior fonte de substratos respiratórios. Almeida (2005), estudando batata na forma de palito, verificou que o teor de matéria seca da batata 'Bintje' foi menor que da cultivar 'Asterix'.

Deve ser ressaltado que este estudo foi realizado até 10 horas após o processamento e que, após esse período, pode ocorrer menor atividade respiratória devido à estabilização no metabolismo. Sabe-se que quanto maior atividade respiratória menor é a vida de prateleira dos produtos, devido ao consumo das reservas energéticas. Considerando que a matéria seca é um atributo importante para a qualidade da batata frita, o maior teor de matéria seca influencia na qualidade final do produto, conferindo-lhe menor absorção de óleo. Assim, quanto maior o teor de matéria seca melhor é o rendimento de fritura (HEEMST, 1986).

De forma semelhante, Moretti et al. (2002) observaram comportamento distinto na taxa respiratória de diferentes cultivares de batata-doce minimamente processadas e armazenadas a 3°C. Pineli et al. (2004a), estudando a atividade respiratória de batatas 'Ágata' minimamente processadas, observaram que as batatas armazenadas a 15°C apresentam taxa de evolução de CO₂ 66% maior do que as armazenadas a 5°C. Este comportamento pode ser verificado neste trabalho para a cv. Monalisa com a redução da temperatura de 15°C para 5°C.

Por outro lado, em estudo feito com batatas cv. Asterix minimamente processada, Almeida et al. (2004) constataram apenas um pequeno aumento na taxa respiratória de tubérculos armazenados a 15°C em relação aos armazenados a 5°C.

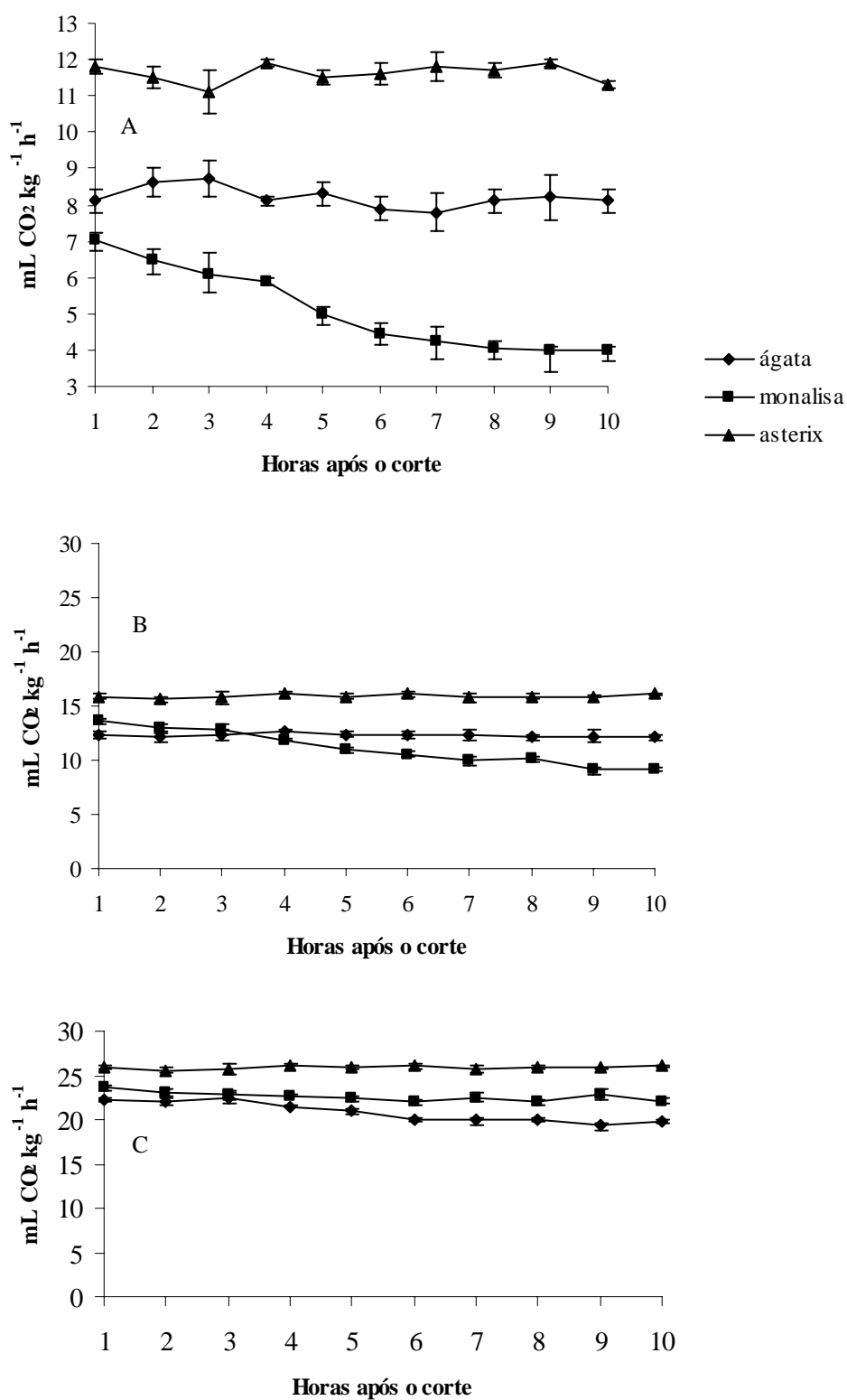


Figura 2 –Taxa respiratória de batatas cultivares Ágata, Monalisa e Asterix, minimamente processada e armazenadas a 5 (A), 15 (B) e 25°C (C) e 85% UR

Pineli et al. (2004b), estudando a atividade respiratória de batatas cultivar Monalisa minimamente processadas e armazenadas a 5°C, também verificaram uma redução significativa na taxa de evolução de CO₂, passando de 6,44 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, após a primeira hora, para 3,45 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ ao final de quatro horas. Resultados semelhantes foram obtidos neste trabalho para a mesma cultivar na mesma temperatura.

Watada, Abe e Yamuchi (1990), ao avaliar o comportamento da taxa respiratória em frutas e hortaliças pré-cortadas e refrigeradas a 0, 5, 10 e 20°C, também observaram que estes produtos geralmente apresentaram valores mais elevados conforme aumenta-se a temperatura de armazenamento.

Vários têm sido os estudos (HONG; KIM, 2001; SIGRIST, 2002; SASAKI, 2006) que mostram a influência da temperatura na atividade metabólica dos vegetais minimamente processados confirmando que as taxas respiratórias destes produtos aumentam com a elevação da temperatura fato este proporcionado pela condição mais adequada de atividade das enzimas envolvidas no processo respiratório, sendo que o grau deste aumento varia em função do material vegetal.

A atividade respiratória é incrementada em tecidos injuriados, como é o caso do processamento mínimo. O descascamento e o corte efetuado nos produtos minimamente processados elevam a taxa respiratória dos mesmos devido às reações fisiológicas e bioquímicas se tornarem mais ativas, em resposta ao estresse (WATADA; ABE; YAMUCHI, 1990).

Produção de Etileno

O etileno não foi detectado em nenhuma das cultivares e temperaturas de armazenamento. Isso se deve, provavelmente, à baixa sensibilidade do cromatógrafo utilizado na medição ($\geq 0,1$ ppm) e à baixa produção de etileno do produto.

Em outras hortaliças minimamente processadas também não foi possível detectar etileno, como em couve-flor e rúcula (SIGRIST, 2002).

Análise Microbiológica

O crescimento da população de bactérias psicrotróficas foi retardado pela redução da temperatura de armazenamento (Tabela 1). As batatas armazenadas a 5°C, independente da cultivar mantiveram a contagem total de bactérias psicrotróficas dentro do limite tolerado chegando em torno de $5,0 \times 10^4$ UFC g⁻¹ no 9º dia de armazenamento. Na temperatura de 15°C as batatas apresentaram contagem de $4,0 \times 10^5$ UFC g⁻¹ já no 5º dia de armazenamento. Embora ainda esteja dentro de limites aceitos, a recomendação para consumo deste produto com tal contagem é perigosa, pois aumenta a probabilidade de desenvolvimento de microrganismos patogênicos. As batatas mantidas a 25°C apresentaram contagem de $4,5 \times 10^6$ UFC g⁻¹, no 0º dia de armazenamento, e de $7,2 \times 10^7$ UFC g⁻¹ no 1º dia de armazenamento, sendo esta muito elevada, o que torna o produto impróprio para o consumo, devido aos riscos de contaminação.

Piagentini; Pirovani e Guemes (1997) verificaram aumento na população de microrganismos psicrotróficos em repolho minimamente processado, de 10^2 para 10^5 UFC g⁻¹, após quatro dias de armazenamento a 4°C. García-Gimeno e Zurera-Cosano (1997) notaram aumento de 10^5 para 10^7 UFC g⁻¹ na contagem de microrganismos psicrotróficos em amostras de saladas de hortaliças minimamente processadas armazenadas a 4°C.

Izumi e Watada (1994) estudaram o crescimento microbiano em cenouras minimamente processadas armazenadas nas temperaturas de 0, 5 e 10°C durante 28, 21 e 11 dias, respectivamente. Os autores notaram que a contagem microbiológica total foi maior para a temperatura mais alta. Após 15 dias, o produto estava com uma população de bactérias mesófilas totais de 7,0 log UFC g⁻¹ a 0°C e acima de 8,01 log UFC g⁻¹ a 5°C. Enquanto as cenouras armazenadas a 10°C apresentavam contagem de 8,01 log UFC g⁻¹ já no 11º dia de armazenamento.

Estes resultados evidenciam que a temperatura de armazenamento é, provavelmente, o fator mais importante que afeta o crescimento dos microrganismos nos produtos minimamente processados (BRACKETT, 1999; KING JUNIOR; BOLIN, 1989; NGUYE; CARLIN, 1994).

Embora não existam, na legislação brasileira vigente, padrões para bactérias psicrotróficas totais e coliformes totais, no que diz respeito à quantidade de microrganismos presentes em um alimento, pode-se afirmar que quantidades elevadas ($>10^5$ UFC g⁻¹) são indesejáveis, pelas seguintes razões: risco do alimento estar estragado, perda real ou potencial das qualidades organolépticas e comprometimento da aparência do alimento. Quanto maior o número de

microrganismos em um alimento, maiores são as probabilidades de presença de patógenos e/ou deterioradores (CARUSO; CAMARGO, 1984).

Não foi detectada *Salmonella*, nem o crescimento de coliformes totais e coliformes a 45°C nas temperaturas de armazenamento testadas.

Os resultados obtidos para a microbiologia estão dentro do limite estabelecido pela resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério de Saúde, que estabelece a ausência de *Salmonella* (em 25g de produto) e permite um máximo de 10^2 NMP de coliformes a 45°C g⁻¹, em hortaliças *in natura*, frescas, sanitizadas, preparadas, refrigeradas ou congeladas.

Tabela 1 - Contagem total de bactérias psicotróficas em batatas cvs Ágata, Monalisa e Asterix, minimamente processadas, e armazenadas em diferentes temperaturas

Cultivares	Dias após corte	
	0	9
Ágata 5°C	$3,8 \times 10^2$	$5,0 \times 10^4$
Monalisa 5°C	$4,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^4$
Asterix 5°C	$4,1 \times 10^2$	$5,2 \times 10^4$
Cultivares	Dias após corte	
	0	5
Ágata 15°C	$7,1 \times 10^3$	$4,0 \times 10^5$
Monalisa 15°C	$7,0 \times 10^3$	$4,8 \times 10^5$
Asterix 15°C	$7,2 \times 10^3$	$4,6 \times 10^5$
Cultivares	Dias após corte	
	0	1
Ágata 25°C	$4,5 \times 10^6$	$7,2 \times 10^7$
Monalisa 25°C	$4,9 \times 10^6$	$7,9 \times 10^7$
Asterix 25°C	$4,7 \times 10^6$	$7,2 \times 10^7$

Segundo Wiley (1994), a qualidade microbiológica é um dos fatores mais importantes na qualidade de frutas e hortaliças minimamente processadas e refrigeradas, pois os microrganismos podem afetar de forma adversa tanto a qualidade sensorial quanto a segurança destes produtos.

Os resultados obtidos no presente trabalho evidenciam a eficiência dos cuidados higiênicos tomados durante o processamento, e que o processo de sanitização pode ter sido eficiente na eliminação destes patógenos.

2.3 Considerações finais

A temperatura de armazenamento tem efeitos significativos nos processos fisiológicos e microbiológicos de batatas minimamente processadas que podem variar de acordo com as diferentes cultivares. Observou-se que as batatas ‘Asterix’ apresentaram as maiores taxas respiratórias em relação a ‘Ágata’ e ‘Monalisa’, independente da temperatura de armazenamento. Nas temperaturas de 15°C e 25°C as batatas cv. Ágata e Monalisa apresentaram comportamentos semelhantes entre si. Além disso, ficou comprovado que quanto mais baixa a temperatura de armazenamento menor é a taxa respiratória do produto.

Pelas análises microbiológicas, principalmente a contagem de bactérias psicotróficas, ficou demonstrada a importância de se manter a cadeia de frio durante o processamento e comercialização do produto, o que favorece uma maior conservação do mesmo. Como não foram observadas presenças de coliformes totais, coliformes a 45°C e *Salmonella* nas amostras analisadas em todos os tratamentos, ficou evidenciado a eficiência dos cuidados higiênico-sanitários tomados durante as etapas do processamento do produto, adequando-o nos padrões microbiológicos vigentes no País.

Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. <http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=limite%20Microbiológico>. Acesso em 16 out.2006.
- ALMEIDA, G.C. **Qualidade de batatas palito minimamente processadas**. 2005. 119p. Dissertação (Mestre em Ciências)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.
- ALMEIDA, G.C.; PINELI, L.L.O; MORETTI, C.L.; GOMES, A.N.B. Comportamento fisiológico da batata cultivar asterix minimamente processada e intacta armazenada a 5 e 15^o C. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 3, 2004, Viçosa. **Palestras...** Viçosa: CEE, 2004, p.197.
- BRACKETT, R.E. Incidence, contributing factors, and control of bacterial pathogens in produce. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.15, n.3, p.305-311, 1999.
- BRECHT, J.K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n. 1, p. 18-22, 1995.
- CANTWELL, M. Postharvest handling systems: minimally processed fruits and vegetables. In: KADER, A.A. (Ed.) **Postharvest technology of horticultural crops**. 2nd ed. Davis: University of California, 1992. chap.32. p.277-281.

CARUSO, J.G.B; CAMARGO, R. Microbiologia de alimentos. In: CAMARGO, R. (Ed.). **Tecnologia dos produtos agropecuários-alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. cap.1, p.35-49.

CHERVIN, C.; TRIANTAPHYLIDES, C.; LIBERT, M.F.; SIADOUS, R.; BOISSEAU, P. Reduction of wound induced respiration and ethylene production in carrot root tissues by gamma irradiation. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.2, n.1, p.7-17, 1992.

CHITARRA, M.I.F. **Processamento mínimo de frutos e hortaliças**. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, 1998. 88p.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Agrianual 2006**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2006. p.200-204: Batata.

FONTES, P. C. R.; FINGER, F. L. **Pós-colheita do tubérculo de batata**. Viçosa, MG: Imprensa Universitária da UFV, 1997. 32 p.

GARCÍA-GIMENO, R.M., ZURERA-COSANO, G. Determination of ready-to-eat vegetable salad shelf-life. **Internation Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.36, n.1, p.31-38, 1997.

GLENN, G.M.; REDDY, A.S. N.; POOVAIAH, B.W. Effect of calcium on cell wall structure, protein phosphorylation and protein profile in senescence apples. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v.29, n.4, p.565-572, 1988.

HAJDENWURCEL, J.R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte, 1998. 66p.

HEEMST, H. D. J. van. The distribution of dry matter during growth of potato crop. **Potato Reserch**, Wageningen, v. 29, n. 1, p. 55-66, 1986.

HIRAUSHI, A.; HORIE, S. Species composition and growth temperature characteristics of coliforms in relation to their sources. **Journal of General and Applied Microbiology**, Tokyo, v.28, n. 2, p.139-154, 1982.

HONG, S.; KIM, D. Influence of oxygen concentration and temperature on respiratory characteristics of fresh-cut green onion. **International Journal of Food Science and Technology**, Chicago, v.36, n.3, p.283-289, 2001.

HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L. Fisiologia pós-colheita de frutas e hortaliças In: CORTEZ, L. A. B.; HONÓRIO, L. S.; MORETTI, C. L. (Ed.) **Resfriamento de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliça, 2002. p. 96-139.

INTERNACIONAL FRESH CUT PRODUCT ASSOCIATION. **Fresh-cut produce handling guidelines**. 3^{ed} Newark: Produce Marketing Association, 1999. 39p.

IZUMI, H.; WATADA, A.E Calcium treatments affect storage quality of shredded carrots. **Journal of Food Science**, Chicago, v.59, n.1, p.106-109, 1994.

KADER, A. A. Postharvest biology and technology: an overview. In: KADER, A. A. (Ed.) **Postharvest technology of horticultural crops**. California: University of California and Natural Resources, 2002. p. 39-47.

KASMIRE, R.F.; CANTWELL, M. Postharvest handling systems: underground vegetables (roots, tubers and bulbs). In: KADER, A.A. (Ed.) **Postharvest technology of horticultural crops**. Okland: University of California, 1992. cap.14, p. 271-275.

KING JUNIOR, A.D.; BOLIN, H.R. Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v.43, n.2, p.132-135, 1989.

MORETTI, C.L. Processamento mínimo de hortaliças: alternativa viável para a redução de perdas pós-colheita e agregação de valor ao agronegócio brasileiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.17, n.2, p.1, 1999.

MORETTI, C.L.; CALBO, A.G.; HENZ, G.P. Metabolismo respiratório na pós-colheita de frutas e hortaliças. **Universa**, Brasília, v.8, n.1, p.259-274, 2000.

MORETTI, C.L.; ARAUJO, A.L.; MAROUELLI, W.A.; SILVA, W.L.C. Respiratory activity and browning of minimally processed sweetpotatoes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n. 3, p.497-500, 2002.

NGUYEN, C.; CARLIN, F. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, n.4, p. 371-401, 1994.

PIAGENTINI, A.M.; PIROVANI, M.E.; GUEMES, D.R. Survival and growth of *Salmonella hadar* on minimally processed cabbage as influenced by storage abuse condition. **Journal of Food Science**, Chicago, v.62, n.3, p.616-618, 1997.

PINELI, L.L.O; ALMEIDA, G.C.; MORETTI, C.L.; ONUKI, A.C.A. Atividade respiratória de batatas ágata minimamente processadas armazenadas sob diferentes temperaturas. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 3, 2004a, Viçosa. **Palestras...Viçosa:CEE**, 2004a, p.200.

PINELI, L.L.O; ALMEIDA, G.C.; MORETTI, C.L.; GOMES, A.N.B. Atividade respiratória de batatas monalisa minimamente processadas e armazenadas em diferentes temperaturas. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 3, 2004b, Viçosa. **Palestras...Viçosa:CEE**, 2004b, p.199.

PINELI, L.L.O; MORETTI, C.L.; ALMEIDA, G.C.; SANTOS, J.Z.; ONUKI, A.C.A.; NASCIMENTO, A.B.G. Caracterização química e física de batatas ágata e monalisa minimamente processadas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.1, p. 127-134, 2006.

ROLLE, R; CHISM, G.W. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**, Wastport, v.10, n.5, p.157-165, 1987.

SASAKI, F.F. **Processamento mínimo de abóbora** (*Cucurbita moschata* Duch): alterações fisiológicas, qualitativas e microbiológicas. 2004.161 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

SHAMAILA, M.; POWRIE, W.D.; SKURA, B.J. Sensory evaluation of strawberry fruit stored under modified atmosphere packaging (MAP) by quantitative descriptive analysis. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n.2, p.1168-1172, 1992.

SHEWFELT, R.L. Postharvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v. 2, n.5, p.70-80, 1987.

SIGRIST, J.M.M. Hortaliças minimamente processadas e fatores que afetam sua qualidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 38., 1998, Petrolina. **Anais...Petrolina: SOB**,1998.

SIGRIST, J.M.M. **Estudos fisiológicos e tecnológicos de couve-flor e rúcula minimamente processadas**. 2002. 112p. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 317p.

VANETTI, M.C.D. Controle microbiológico e Higiene no Processamento Mínimo. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2, 2000, Viçosa. **Palestras...Viçosa: CEE**, 2000. p.44-52.

WATADA, A.E.; ABE, K.; YAMUCHI, N. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v.44, n.4, p.116-122, 1990.

WILEY, R.C. **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables**. New York: Chapman & Hall, 1994. 368p.

WILLS, R.H.H.; LEE T.H.; GRAHAM, W.B. et al. **Postharvest-in introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables**. Kensington: New South Wales University Press, 1981. 161p.

YANG, S.F. Biosynthesis and action of ethylene. **HortScience**, Alexandria, v.20, n.1, p. 41-45, 1985.

3 ATIVIDADE DE ENZIMAS ASSOCIADAS AO ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO DE BATATAS MINIMAMENTE PROCESSADAS

Resumo

Um dos grandes problemas para o uso de batata como produto minimamente processado é a suscetibilidade deste tubérculo ao escurecimento oxidativo. A fenilalanina amônia-liase (PAL) é a enzima chave da rota do metabolismo dos fenilpropanóides. O acúmulo de compostos fenólicos pode aumentar o escurecimento por serem substratos da oxidação por polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). O objetivo deste ensaio enzimático foi verificar o efeito de diferentes cultivares e de temperaturas de armazenamento sobre a atividade específica das enzimas PAL, PPO e POD em batatas minimamente processadas. Batatas das cultivares Ágata, Asterix e Monalisa foram selecionadas, lavadas, descascadas, cortadas em cubos, sanitizadas, centrifugadas, embaladas em nylon multi-camadas a vácuo e armazenadas a 5 e 15°C, por um período de 9 e 5 dias, respectivamente. As atividades enzimáticas aumentaram para todas as cultivares na temperatura de 15°C. Batatas 'Ágata' e 'Asterix' a 5°C não diferiram significativamente quanto à atividade da PAL, PPO e POD. Batatas 'Monalisa' armazenadas a 15°C apresentaram valores de PAL duas vezes maiores do que as demais cultivares. A atividade da PPO e POD também foram superiores nesta cultivar. As atividades da PAL, PPO e POD foram influenciadas pela temperatura de armazenamento. As cultivares Ágata e Asterix são mais indicadas para processamento mínimo do que 'Monalisa', sendo esta mais susceptível ao escurecimento oxidativo.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L.; Fenilalanina amônia-liase; Polifenoloxidase; Peroxidase; Processamento mínimo

ACTIVITY OF ENZYMES ASSOCIATED TO THE ENZYMATIC BROWNING OF MINIMALLY PROCESSED POTATOES

Abstract

One of the major problems of minimally processed potatoes is their susceptibility to oxidative browning. The enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL) is the key enzyme in the phenylpropanoids metabolic pathway. The accumulation of phenolic compounds, which are substrates to polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) oxidations, may intensify the browning of potatoes. The purpose of the present work was to evaluate the effect of different potato cultivars and storage temperatures on the specific activity of PAL, PPO and POD in minimally processed potatoes. Potatoes cultivars Agata, Asterix and Monalisa were selected, washed, peeled, diced, sanitized, centrifuged, vacuum-packed in a multilayer nylon film and stored at 5°C and 15°C for 9 and 5 days, respectively. There was an increase in the enzymatic activity in all cultivars stored at 15°C. Potatoes Agata and Asterix stored at 5°C did not differ significantly between them as for the PAL, PPO and POD activities. Potatoes Monalisa stored at 15°C showed PAL values twice as large as those for the other cultivars. PPO and POD activities were also higher for Monalisa cultivar. The PAL, PPO and POD activities were also influenced by the storage temperature. The cultivars Agata and Asterix are more suitable for minimal processing than 'Monalisa', which is more susceptible to oxidative browning.

Keywords: *Solanum tuberosum* L.; Phenylalanine ammonia-lyase; Polyphenol oxidase; Peroxidase; Minimal processing

3.1 Introdução

O escurecimento enzimático é um dos principais fatores limitantes da vida útil pós-colheita de muitos produtos hortícolas minimamente processados. A intensidade de escurecimento é influenciada, principalmente, pela atividade oxidativa e concentração de substrato. As principais enzimas envolvidas nas reações oxidativas de compostos fenólicos são a polifenoloxidase (PPO-EC 1.14.18.1) e a peroxidase (POD-EC 1.11.1.9) (COELHO, 1992; CLEMENTE; PASTORE, 1998).

Segundo Saltveit (2000), o aumento na atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (PAL- EC 4.3.1.5), PPO e POD é uma das respostas dos tecidos ao estresse sofrido pelo corte, causando redução de vida de prateleira. Weller et al. (1997) afirmam que o escurecimento da superfície cortada é de grande importância quando se pretende utilizar o produto em pedaços ou tiras, sendo que o contato dos fenóis com as PPOs endógenas e a facilitada difusão do oxigênio para o interior do tecido são os responsáveis por esta característica indesejável ao produto.

A batata é um dos principais alimentos consumidos no mundo, considerada bastante nutritiva. É um alimento funcional apresentando substâncias biologicamente ativas com efeitos benéficos a saúde, proporcionando, além das funções nutricionais básicas, a redução de doenças crônicas degenerativas (MACHADO; TOLEDO, 2004). Entretanto, o escurecimento desta olerácea, após seu descascamento e corte, consiste numa alteração indesejável e fator limitante primário para sua comercialização.

O grau de escurecimento varia de acordo com a cultivar. Moretti et al. (2002) verificaram, em batatas-doce minimamente processadas embaladas à vácuo e armazenadas a 3°C, que as cultivares Brazlândia Roxa e Brazlândia Branca foram menos suscetíveis ao escurecimento do que a cultivar Princesa.

Para Nunes; Emond e Brecht (2001), a exposição do produto minimamente processado a variações de temperatura é um fator que influencia no aumento do escurecimento dos mesmos. Temperaturas superiores às recomendadas influenciam a taxa de escurecimento. Freire Junior; Deliza e Chitarra (2002) concluíram que, em alface minimamente processada, a temperatura de 2°C foi eficiente para evitar o escurecimento até o décimo dia, o que não ocorreu a 10°C.

Considerando os fatores acima citados, a importância deste tubérculo no agronegócio brasileiro e a falta de informação na literatura relativa ao estudo desta hortaliça minimamente processada focalizando escurecimento enzimático, realizou-se o presente trabalho com o objetivo

de verificar o efeito das cultivares e de temperaturas de armazenamento sobre a atividade das enzimas PAL, PPO e POD em batatas minimamente processadas.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Revisão Bibliográfica

A manutenção da qualidade de hortaliças minimamente processadas é um processo muito complexo. Embora o produto vegetal esteja com seu metabolismo ativo, algumas células estão em atividade normal, outras estão danificadas e, por isso, em atividade acelerada.

Baldwin et al. (1995) afirmaram que as alterações por deterioração fisiológica nos produtos minimamente processados ocorrem especialmente devido às injúrias nos tecidos. Nessa ocasião ocorre maior contato entre substratos e enzimas, induzindo reações enzimáticas indesejáveis, perda de íons e de outros compostos celulares, além da perda de umidade.

O escurecimento enzimático consiste basicamente na oxidação de substratos fenólicos e a subsequente polimerização não enzimática das *o*-quinonas, que são moléculas muito reativas que se condensam rapidamente, combinando-se com grupos aminos ou sulfídricos das proteínas e dos açúcares redutores e formando pigmentos escuros de alto peso molecular denominados melaninas (ARAÚJO, 1995).

O processo de escurecimento é desencadeado quando ocorre a operação de corte durante o processamento. Nesta ocasião, os substratos fenólicos, de localização vacuolar, entram em contato com as enzimas catalizadoras das reações de oxidações dos polifenóis. O escurecimento enzimático ocorre quando os substratos fenólicos, as enzimas, o íon metálico e o oxigênio se encontram em condições ideais de pH, temperatura e atividade da água (ARTES; CASTAÑER; GIL, 1998).

Os vegetais possuem ampla variedade de compostos fenólicos. Entretanto, apenas uma parte relativamente pequena destes fenóis serve como substratos das enzimas oxidativas. A extensão na qual estes substratos fenólicos contribuem com o escurecimento enzimático depende da sua localização e concentração do substrato, assim como da intensidade de cor dos pigmentos macromoleculares obtidos das quinonas (VÁMOS-VIGYÁGO, 1981).

Os compostos fenólicos atuam no mecanismo de defesa dos vegetais. Os fenóis exercem ação protetora e antioxidante. Os fenóis incluem isoflavonas, ácidos cinâmicos, derivados do

ácido benzóico, antocianinas, chalconas, flavonóides, sendo produzidos na rota do ácido chiquímico.

A PAL é a primeira enzima da rota do metabolismo fenólico. Sua atividade é induzida em condições de estresse. Ela catalisa uma reação de desaminação da L-fenilalanina (aminoácido aromático) em ácido *trans*-cinâmico e íons de amônia livres. Esta reação é o primeiro passo da rota que biossintetiza os fenilpropanóides (JONES, 1984).

Acredita-se que a atividade da PAL aumente durante o processamento mínimo devido às injúrias provocadas nas células (SALTVEIT, 1997). Em consequência, o aumento da atividade da PAL provoca o incremento da concentração de compostos fenólicos, os quais são substratos para as enzimas oxidativas, tais como PPO e POD.

Nas células de plantas, as PPOs encontram-se em mitocôndrias, peroxissomas, citossol, plastídios como nos amiloplastos de tubérculos de batata, e ligada a membrana do tilacóide dos cloroplastos (ZAWISTOWSKI; BILIDERIS; ESKIN, 1991).

O escurecimento de batatas minimamente processadas começa a ocorrer depois que todo o ácido ascórbico foi oxidado (SMITH, 1977). As PPOs, também conhecidas como tirosinases, cresolases, catecolases, difenolases e fenolases, catalisam dois tipos de reações, ambas envolvendo oxigênio. A primeira reação corresponde à hidroxilação de monofenóis formando *o*-difenóis e a segunda, à oxidação de *o*-difenóis, formando *o*-quinonas. As PPOs atuam sobre uma grande variedade de substratos, tais como *p*-cresol, tirosina, ácido *p*-cumárico catecol, dihidroxifenilalanina e ácido clorogênico (GOMES et al., 2001).

As PPOs são encontradas em quase todas as plantas cultivadas, incluindo trigo, batata, pepino, alcachofra, alface, pêra, mamão, uva, pêssogo, manga, maçã e sementes de cacau (MARTINEZ ; WHITAKER, 1995).

Smith (1977) relatou que a atividade da PPO diminui com a redução da concentração de oxigênio e com o aumento do peso específico da batata. A maior descoloração de batatas com maior peso específico pode estar mais relacionada com o alto teor de compostos fenólicos do que com a atividade da PPO. Belkaap, Vayda e Park (1994) relataram que a maior atividade da PPO na região mais externa do tubérculo de batata, deve-se, provavelmente, ao fato desta estar em condições ambientais adversas.

Outra enzima envolvida na oxidação de fenóis em plantas é a POD. As PODs são um grupo de enzimas que contem ferro em seu grupo prostético e catalisam a oxidação dos

compostos fenólicos à quinonas, em presença de peróxido de hidrogênio (DUNFORD; STILLMAN, 1976). A atividade dessa enzima pode ser constatada quando ocorre algum ferimento, estresse fisiológico e infecções nos vegetais. A POD é uma enzima que está relacionada com processos de cicatrização, como, por exemplo, a lignificação (CANTOS et al., 2002; LÓPEZ-SERRANO; RÓS-BARCELO, 1995). Estas enzimas são responsáveis também pelo aparecimento de sabores e odores estranhos, porém, sua atividade no processo de escurecimento é muito limitada devido à disponibilidade de peróxido de hidrogênio no interior das células vegetais. Robinson (1991) relata que a atividade da enzima POD já foi detectada no vacúolo, tonoplasto, plasmalema e mitocôndria.

A liberação de peróxido de hidrogênio na oxidação de alguns compostos fenólicos, catalisada pela PPO pode indicar uma possível ação sinérgica entre essas duas enzimas, o que sugere a participação da POD nos processos de escurecimento (SUBRAMANIAN et al., 1999). Embora a POD possa também contribuir para o escurecimento enzimático, sua função ainda continua questionável (GARCIA; BARRETT, 2002).

A POD apresenta uma alta atividade na região basal da batata. Sua atividade é maior durante o período de florescimento da planta. A atividade dessa enzima aumenta com o crescimento da planta, ocorrendo uma diminuição na sua atividade no final do período de desenvolvimento (SMITH, 1977).

Diversos fatores podem contribuir para o desenvolvimento do escurecimento enzimático, como práticas culturais, tipo de solo, fertilizante, clima e condições nas quais são colhidas as frutas e as hortaliças. Além disso, a concentração enzimática ativa, os compostos fenólicos presentes, o pH, a temperatura e a concentração de oxigênio no tecido também são fatores que podem influenciar negativamente na qualidade final do produto minimamente processado (LAURILA; KERVINEN; AHVENAINEN, 2002).

Assim, a seleção do material para o processamento precisa ser muito bem avaliada. A suscetibilidade para o escurecimento pode variar também de cultivar para cultivar. Alguns tecidos podem apresentar atividades enzimáticas elevadas ou ainda altas concentrações de substratos fenólicos, que sob condições apropriadas, podem aumentar o escurecimento (GARCIA; BARRETT, 2002). O ideal é selecionar cultivares com baixa atividade de enzimas oxidativas e ou com baixos níveis de substratos fenólicos. A correta escolha da cultivar é particularmente importante para alguns vegetais tais como, cenouras, batatas e cebolas. Em batatas, a escolha da

cultivar se dá em função da finalidade de consumo: se para preparo de saladas e purê pode-se ter baixa porcentagem de matéria seca, enquanto que se destinada para o preparo de batatas na forma frita ou desidratada é importante que a cultivar apresente um alto teor de matéria seca e baixa concentração de açúcares redutores (ALMEIDA, 2005).

Além da escolha correta de cultivares, a temperatura de armazenamento dos produtos minimamente processados é uma das técnicas mais importantes para a manutenção de sua qualidade.

A exposição do produto minimamente processado em gôndolas abertas de resfriamento tem reduzido, com frequência, a vida de prateleira dos produtos, pois nestas gôndolas, a maior parte do frio é perdida, sendo comum observar temperaturas na faixa de 10 a 15°C, o que favorece o aumento deterioração dos produtos (PUSCHMANN et al, 2001)¹.

De acordo com Pineli et al. (2006), batatas ‘Ágata’ e ‘Monalisa’ minimamente processadas e armazenadas a 5°C apresentam melhor conservação do que as armazenadas a 15°C durante 9 dias de armazenamento. Almeida (2005) estudou o efeito da temperatura de armazenamento na conservação de batatas palito cv. Asterix e Binjte e observou que estas podem ser conservadas por apenas 3 dias a 15°C e 9 dias quando armazenadas a 5°C. A temperatura de 5°C foi mais efetiva do que 15°C em preservar a qualidade sensorial de fatias de mangas minimamente processadas (ALLONG; WICKHAM; MOHAMMED, 2000).

3.2.2 Material e Métodos

Tubérculos de batatas cv. Ágata, Asterix e Monalisa (Figura 1), foram obtidas de um produtor da região de Itapetininga-SP. As batatas foram selecionadas quanto a firmeza e ausência de danos mecânicos e infecção fúngica, foram pré-lavadas em água corrente com o objetivo de retirar as impurezas vindas do campo e colocadas em câmara fria a 10°C para serem posteriormente minimamente processadas.

O produto (separado por cultivar) foi descascado mecanicamente em descascadora industrial (Skymesen) com disco abrasivo e imerso em água resfriada (5°C) por 2 minutos. A função desta imersão em água resfriada é reduzir a atividade metabólica do produto antes do processamento. A seguir foram submetidas a etapa de corte na forma de cubos. Utilizou-se uma

¹ PUSCHMANN, R.; SILVA, E.O.; CARNELOSSI, M.A.G.; TELES, C.S. Processamento mínimo de hortaliças. Campinas, 2001. Palestra ministrada no Seminário sobre frutas e hortaliças minimamente processadas.

processadora (Robot Coupe) com disco de corte de 1,0x1,0x1,0cm. Após esta etapa, o produto foi enxaguado em água potável e sanitizado por 5 minutos em água clorada (200ppm de Dicloro-S-Triazinatriona Sódica Diidratada -SUMAVEG®), com o objetivo de reduzir riscos de contaminação. Em seguida, foram centrifugadas (2200rpm) em centrífuga doméstica durante 10 minutos para a retirada do excesso de umidade.

Todos os tratamentos foram acondicionados (300g de produto por embalagem) em filme plástico a vácuo de nylon multi-camadas (14x20cm) e armazenados a 5 e 15°C e 85% de umidade relativa (vide ANEXO A).



Figura 1- Caracterização das diferentes cultivares de batata utilizadas no experimento

O período de armazenamento foi de 9 e 5 dias, sendo que as avaliações foram realizadas diariamente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado adotando-se, para a temperatura de 5°C, um esquema fatorial 3x9, tendo, como fatores, cultivares (em três níveis) e tempo de armazenamento (em nove níveis). Para a temperatura de 15°C foi utilizado um fatorial 3x5, com três cultivares e cinco períodos de armazenamento. Para cada tratamento foram utilizados três repetições de 300g do produto.

As variáveis bioquímicas dosadas foram: a) atividade da Fenilalanina amônia-liase –PAL (EC 4.3.1.5): determinada conforme metodologia modificada de Peixoto et al. (1996). Para reação foi misturado 1mL de extrato, 1mL tampão borato 0,2M e 1mL fenilalanina. Após 60 minutos em banho-maria a 36°C, acrescentou-se 0,1mL de HCl 6N, para cessar a reação enzimática. A determinação foi realizada em espectrofotômetro com leitura a 290nm. Os resultados foram expressos em mmoles min^{-1} . b) atividade da Polifenoloxidase –PPO (EC 1.14.18.1): A atividade da PPO foi determinada através do método descrito por Cano et al. (1997). A mistura de 0,3mL do extrato bruto, 1,75mL de solução tampão fosfato de sódio 0,05M pH 6 e 0,05mL de solução de catecol 0,1M foi incubada a 30°C por 30 minutos. Em seguida,

adicionou-se 0,7mL de ácido sulfúrico 5% para a parada da reação enzimática (adaptado de KRUGER, 2003) e a absorbância medida foi 395nm. Os resultados foram expressos em μMoles de catecol transformado $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$. c) atividade da Peroxidase –POD (EC 1.11.1.9): foi determinada conforme metodologia adaptada de Lima (1994). Para a reação foi misturado 0,2 mL do extrato enzimático concentrado com 0,5mL de solução de aminoantipirina e fenol e 0,5mL de solução de peróxido de hidrogênio 29%, ambas diluídas em água deionizada. A determinação foi realizada em espectrofotômetro com leitura a 505nm. Os resultados foram expressos em μMoles de H_2O_2 decomposto $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$. d) proteínas solúveis: foi determinada para cálculo da atividade específica das três enzimas avaliadas. O teste de Bradford (1976) foi empregado para quantificação do conteúdo total de proteínas das amostras. Para tanto, foram adicionados a cada 0,1mL do sobrenadante, sob agitação, 5mL do reagente de Bradford. Após 5 min, foi efetuada a leitura da absorbância a 595nm em espectrofotômetro. e) teor de fenóis totais: conforme metodologia adaptada de Lu e Foo (1997) através do método de Folin-Ciocalteu onde retirou-se 0,1mL de cada extrato e dilui-se em 50mL de água destilada. Retirou-se uma alíquota de 0,5mL. A alíquota foi adicionada a 4mL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu 10% e 4mL de carbonato de cálcio 7,5%. Deixou-se 60 minutos em banho-maria a 30°C e 60 minutos a 0 °C. Procedeu-se de forma semelhante para a soluções-padrão de dopamina e o branco. A determinação foi realizada em espectrofotômetro com leitura a 760nm. Os resultados foram expressos em mg dopamina 100g^{-1} massa fresca.

Os resultados das análises bioquímicas foram submetidos à análise de variâncias. As médias foram comparadas pelo teste de diferença mínima significativa por meio de testes de comparações múltiplas de médias, onde as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois desvios padrões foram consideradas significativas (SHAMAILA; POWRIE; SKURA, 1992).

3.2.3 Resultados e Discussão

As batatas ‘Monalisa’ apresentaram os maiores valores de atividade de PAL na temperatura de 5°C, até o 3º dia, mas a partir daí pouco diferiu das outras cultivares. Além disso, foi observado que o valor da atividade inicial desta cultivar foi o dobro das demais. Já as cvs Ágata e Asterix na mesma temperatura apresentaram um leve aumento até o 4º dia e depois declinaram (Figura 2A).

As batatas armazenadas a 15°C puderam ser conservadas apenas por 5 dias, independente do tratamento (Figura 2B). Isso foi devido ao acúmulo de água no interior da embalagem com a emanção de odor desagradável e do elevado grau de pontuações escuras no produto.

Em ambas as temperaturas de armazenamento observou-se uma maior atividade da PAL para a cultivar Monalisa, sendo que na temperatura de 15°C esta cultivar obteve valores duas vezes maiores que as demais cultivares estudadas. Nesta temperatura também foi observado estabilização dos valores de atividade da PAL para todas cultivares durante o período avaliado. E que as batatas ‘Ágata’ e ‘Asterix’ não diferiram significativamente entre si (Figura 2B).

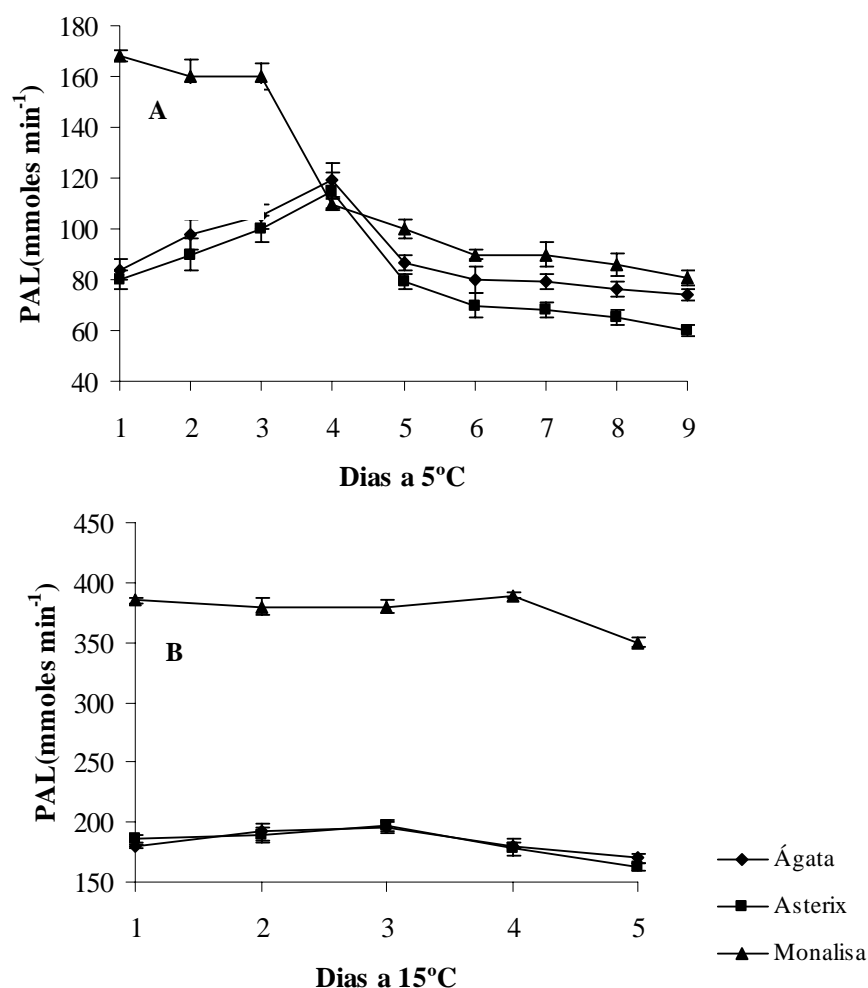


Figura 2- Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) em diferentes cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas a 5°C (A) e 15°C (B). As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3)

A PAL é enzima chave e regulatória da rota fenilpropanóides, sendo que sua atividade é aumentada durante os processos de injúrias de tecidos decorrente do processamento mínimo. Tal elevação provoca aumento na concentração de compostos fenólicos, os quais são substratos das enzimas oxidativas, como a PPO e POD (JONES , 1984).

Cantos et al. (2002) observaram diferença na atividade da PAL de 5 diferentes cultivares de batatas minimamente processadas, sendo que, para a cultivar Spunta, também foi verificado queda na atividade da PAL após 4 dias de armazenamento. Comportamento semelhante foi observado neste experimento para batatas ‘Monalisa’ armazenadas a 5°C.

Possivelmente, a maior atividade inicial da PAL na cv. Monalisa seja devido aos altos níveis latentes desta enzima pré-existentes nos tecidos. A alta atividade inicial da PAL na cultivar Monalisa e o acréscimo observado nas cultivares Ágata e Asterix, na temperatura de 5°C, deve-se provavelmente a indução seqüencial de RNAm desta enzima, fato este já verificado em batatas cortadas (ISHIZUKA et al., 1984). Já a redução subsequente da atividade da PAL (a partir do 5º dia) para todas as cultivares talvez esteja relacionada à auto-regulação da atividade metabólica.

A maior atividade da POD foi verificada para a cultivar Monalisa em ambas temperaturas de armazenamento (Figura 3). Não foi verificada diferença significativa entre as cultivares Ágata e Asterix na temperatura de 5°C (Figura 3A). Na temperatura de 15°C foi verificado uma pequena oscilação nos valores de POD para todas as cultivares durante todo armazenamento. Observou-se ainda que a atividade da cv. Monalisa armazenada a 15°C foi em média 24% superior em relação às batatas ‘Asterix’ (Figura 3B).

Estes resultados encontrados para essa variável estão de acordo com os encontrados por Pineli et al. (2006) que também verificaram que a atividade da enzima POD em batatas minimamente processadas na forma de minibatatas a 5°C foi maior para a cultivar Monalisa do que para batatas ‘Ágata’.

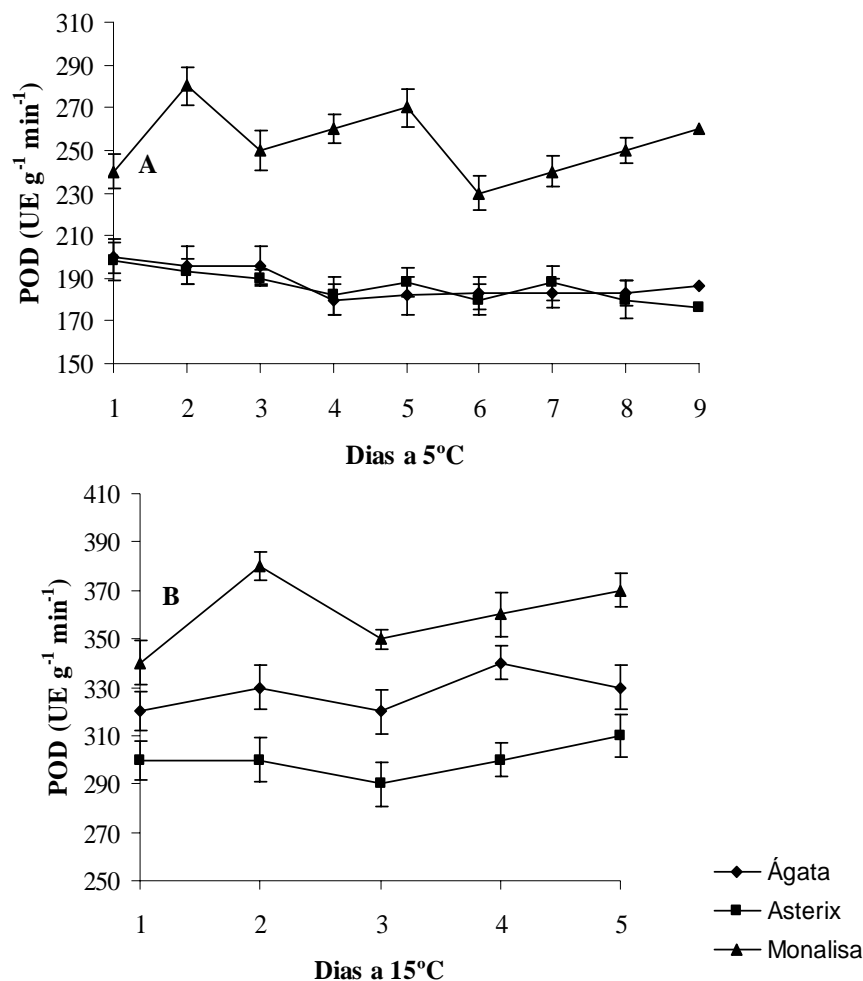


Figura 3- Atividade da peroxidase (POD) em diferentes cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas a 5°C (A) e 15°C (B). As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3)

Na figura 4A observou-se que o comportamento da PPO foi semelhante ao da POD na mesma temperatura, porém em menores valores. As batatas ‘Monalisa’ apresentaram a maior atividade de PPO durante todo armazenamento, representando valores em torno de 16% superiores aos da atividade desta enzima para as demais cultivares. As cultivares Ágata e Asterix não diferiram significativamente entre si durante o armazenamento.

Na temperatura de 15°C foi verificado que as batatas ‘Ágata’ e ‘Monalisa’ não apresentaram diferença significativa no 2º, 3º e 4º dia de armazenamento. A cv. Asterix

apresentou os menores valores de PPO até o 4^o dia de armazenamento, sendo que no último dia de avaliação foi verificado um aumento nos valores de PPO a qual não diferiu significativamente da cv. Ágata (Figura 4B).

Resultados discordantes a estes foram obtidos por Pineli et al. (2006) em relação a atividade da PPO. Os autores verificaram que batatas da cultivar Monalisa, apresentaram, comparativamente a 'Ágata', menor incremento da atividade da PPO quando comparada a atividade em relação as temperaturas de 5 e 15°C.

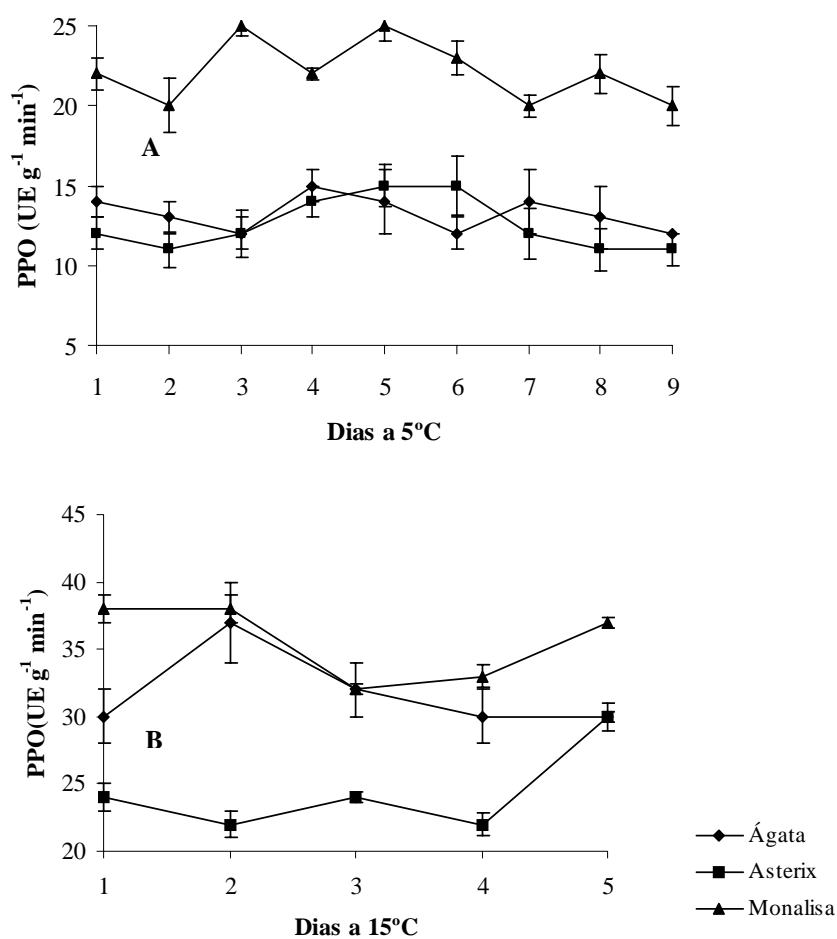


Figura 4- Atividade da polifenoloxidase (PPO) em diferentes cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas a 5°C (A) e 15°C (B). As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3)

Zorzella et al. (2003), em um trabalho de caracterização física, química e sensorial de genótipos da batata processados na forma chips, observaram também diferenças na atividade da

PPO em diferentes cultivares. Os valores apresentados por estes autores são semelhantes aos verificados no presente trabalho.

Os baixos valores de PPO encontrados neste trabalho estão de acordo com estudos realizados anteriormente os quais verificaram pouca influência da atividade da PPO sobre a susceptibilidade ao escurecimento enzimático em tubérculos de batata (WALTER; PURCELL, 1980; SAPERS et al., 1989; STARCK et al., 1985). A mesma falta de correlação entre a atividade da PPO e susceptibilidade ao escurecimento foi observada também em alfaces minimamente processadas (HEIMDAL et al., 1995; CANTOS; ESPÍN; TOMÁS-BARBERÁN, 2001).

Almeida (2005) obteve valores mais altos em relação aos encontrados neste trabalho para a atividade da PPO e POD em batatas ‘Asterix’ minimamente processadas.

O estresse provocado pelas operações de descascamento e corte justifica os elevados valores na atividade da POD, porém não creditam a ela um maior envolvimento com o fenômeno de escurecimento. A atividade da POD no processo de escurecimento enzimático tem sido questionada devido à baixa disponibilidade de peróxido de hidrogênio nas células de frutas e vegetais. No entanto, pode ter ocorrido uma ação sinérgica das enzimas PPO e POD, devido à liberação de peróxido de hidrogênio na oxidação de alguns compostos fenólicos, catalisada pela PPO (SUBRAMANIAN et al., 1999).

A descompartimentação celular envolve a ativação de eventos em “cascata”, incluindo a ativação da PPO latente e/ou indução sistêmica *de novo* dessa enzima bem como a indução da POD (HYODO; TANAKA; SUZUKI, 1991; KETSA; ATANTEE, 1998). Os danos mecânicos talvez provoquem a síntese *de novo* da PAL. Cantos; Espín e Tomas-Barberan (2001) verificaram que a ativação da PPO latente promove a ativação da PAL e POD, além do aparecimento de isoformas da PPO e POD em cultivares de alface cortadas.

Cantos et al. (2002) avaliaram o efeito do processamento mínimo sobre a atividade das enzimas PAL, POD e PPO em 5 cultivares de batata. Os autores não encontraram correlação significativa entre a taxa de escurecimento nas variáveis investigadas. Entretanto, o aumento da POD confirmou a indução da atividade desta enzima em resposta a situações de estresse. Os autores sugerem que, para melhor compreensão dos fatores limitantes do desenvolvimento de escurecimento em batatas minimamente processadas, estudos adicionais, como estabilidade de membrana, teor de cálcio e atividade das proteases sejam necessários. Estes mesmos autores também estudaram a ocorrência de escurecimento e verificaram que batatas ‘Monalisa’ são mais

susceptíveis ao escurecimento. Os mesmos não recomendam a utilização desta cultivar para processamento mínimo, em vista de seu potencial de escurecimento.

Verificou-se que o teor de fenóis totais foi superior para a cultivar Monalisa em ambas temperaturas de armazenamento (Figura 5). Foi observado, também, que houve um pequeno aumento no teor de fenóis após 1^o dia de armazenamento independente da cultivar e da temperatura. As cultivares Ágata e Asterix não diferiram significativamente entre si quanto ao conteúdo de fenóis totais para ambas temperaturas de armazenamento.

Foi verificado um leve aumento nos teores de fenóis totais na temperatura de 15°C, durante todo armazenamento, para todas as cultivares. Os teores de fenóis totais para a cv. Monalisa foi em torno de duas vezes maior que os teores encontrados nas batatas 'Ágata' e 'Asterix' (Figura 5B).

Os fenóis são metabólicos secundários presentes nas plantas, sendo sintetizados na rota do ácido shiquímico e apresentando diferentes estruturas químicas e propriedades biológicas. Esses compostos podem influenciar a aparência, aroma e sabor e a segurança de alimentos processados. A refrigeração tem efeitos positivos e negativos no aparecimento de fenóis. Em alguns casos, a baixa temperatura tem ação benéfica, aumentando a quantidade de antocianinas (antioxidante) em morangos e ameixas. No processamento, o aumento de compostos fenólicos desencadeia um incremento no escurecimento de tecidos de alguns produtos (TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001). Os fenóis são substratos das enzimas oxidativas (PPO e POD). A PPO é capaz de oxidar vários substratos, sendo um deles a dopamina (YANG et al., 2000).

Segundo Talburt; Schwimmer e Burr (1975); Mondy; Chandra e Evans (1985) e Torres; Mau-Lastovicka e Rezaaiyan (1987), os compostos fenólicos podem estar envolvidos na regulação do crescimento dos tubérculos, na resistência a doenças e pragas, e no metabolismo das plantas estressadas fisiologicamente e/ou mecanicamente. Mondy; Chandra e Evans (1985) e Dao e Friedman (1992) relatam que as concentrações de fenóis variam entre 100 e 900 mg dopamina 100g⁻¹ de peso úmido em batata. Portanto, as concentrações encontradas neste trabalho estão dentro do limite de variação, sendo uma característica não desejada, pois os compostos fenólicos são substratos para as enzimas PPO e POD, responsáveis pelo escurecimento enzimático dos genótipos de batata.

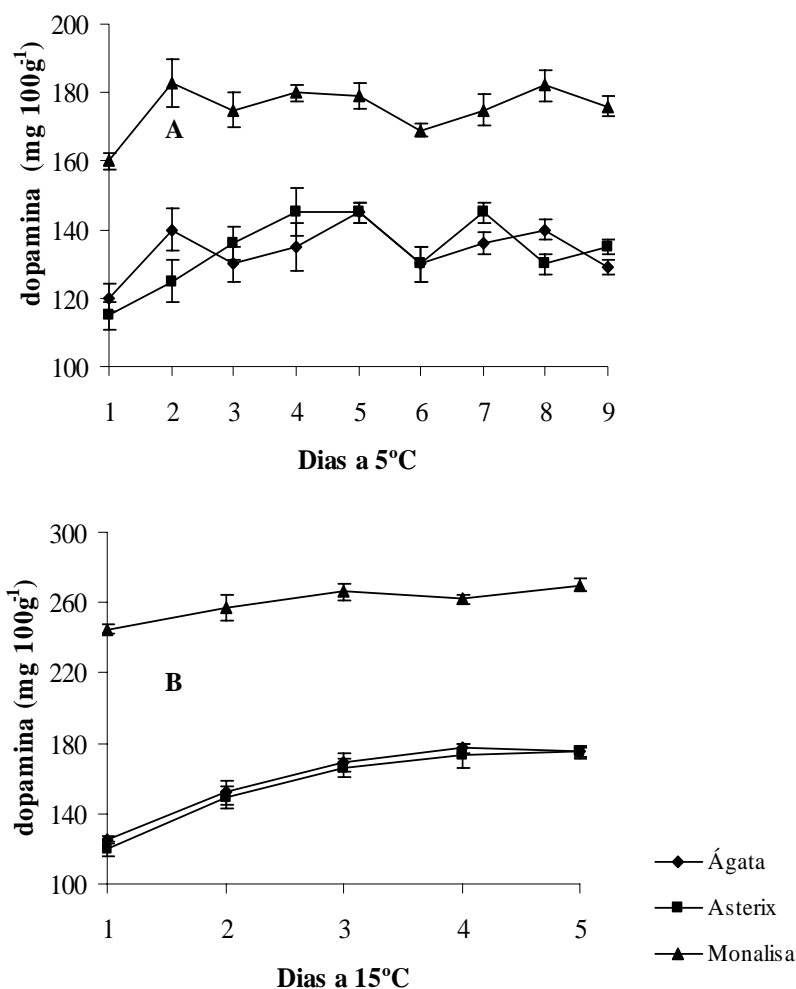


Figura 5- Teor de fenóis totais em diferentes cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas a 5°C (A) e 15°C (B). As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3)

Rocha; Coulon e Morais (2003) observaram um incremento do teor de fenóis totais após 1 dia de armazenamento de batatas minimamente processadas cv. Desireé. Ke e Saltveit (1989) observaram que as operações de corte nas folhas de alfaces provocaram um aumento no teor de fenóis totais. Howard e Griffin (1993) verificaram que o aumento de fenóis em cenouras minimamente processadas está associado ao aumento na atividade da enzima PAL em condições de estresse.

Como pode ser observado no presente trabalho houve diferença no grau de susceptibilidade ao estresse entre as cultivares. Neste sentido, a cv. Monalisa por apresentar alta atividade da PAL, conseqüentemente ocasionou maior acúmulo de fenóis totais e por conseqüência houve maior atividade das enzimas POD e PPO. Supõe-se ainda que a elevada

atividade inicial da PAL na cv. Monalisa em relação às demais cultivares estudadas, seja devido a maior quantidade de PAL latente presente nos tecidos do genótipo Monalisa.

Observou-se que a menor temperatura de armazenamento contribuiu de maneira significativa para manutenção da qualidade de batatas minimamente processadas independente da cultivar. Da mesma forma, a redução na temperatura de armazenamento ocasionou diminuição na atividade das enzimas PAL, POD e PPO e nos teores de fenóis totais.

3.3 Considerações finais

O escurecimento enzimático é um sério problema no processamento mínimo. Em células intactas de tubérculos de batata, as enzimas oxidativas e substratos fenólicos estão espacialmente separados. Tão logo as células são rompidas, essas enzimas e esses substratos entram em contato ocorrendo formação de produtos de coloração indesejável. O escurecimento resulta não somente numa indesejável formação de cor, mas também pode resultar na perda da qualidade nutricional e proporcionar modificações no sabor.

No presente trabalho, batatas armazenadas a 5°C apresentaram melhor conservação, no que diz respeito à manutenção da qualidade das características químicas durante o armazenamento. Batatas 'Ágata' e 'Asterix' armazenadas a 5°C não diferiram significativamente entre si quanto a atividade das enzimas PAL, PPO e POD. As batatas 'Monalisa' armazenadas a 15°C obtiveram valores de PAL duas vezes maiores do que as demais cultivares. A atividade da PPO e POD também foram superiores nesta cultivar. Portanto, a menor susceptibilidade ao escurecimento oxidativo das cultivares Ágata e Asterix em armazenamento a 5°C deve ser levada em consideração, uma vez que o impacto visual do produto é um ponto crucial para a comercialização e aceitação do mesmo. Assim, estas são cultivares mais indicadas para processamento mínimo em relação à 'Monalisa'.

O escurecimento enzimático é um fenômeno complexo e bastante negativo para a batata na forma minimamente processada. A ação efetiva das enzimas e compostos fenólicos ligadas ao processo de escurecimento, bem como a identificação de isoformas e rotas oxidativas necessitam de estudos mais aprofundados. Além disso, outras pesquisas de caráter mais técnico como utilização de novas cultivares, atmosferas modificadas e revestimentos comestíveis podem trazer respostas favoráveis.

Referências

- ALMEIDA, G.C. **Qualidade de batatas palito minimamente processadas**. 2005. 119p. Dissertação (Mestre em Ciências)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.
- ALLONG, R.; WICKHAM, L.D.; MOHAMMED, M. The effect of cultivar, fruit ripeness, storage temperature and duration on quality of fresh-cut mango. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.509, p.487-494, 2000.
- ARAÚJO, J.M. de A. **Escurecimento enzimático em alimentos**. Viçosa: Imprensa Universitária. 1995. 14p.
- ARTES, F.; CASTAÑER, M.; GIL; M.I. El pardeamiento enzimático en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. **Food Science and Technology International**, Chicago, v. 4, n.6, p.377-389, 1998.
- BALDWIN, E. A.; NISPEROS, M. O.; CHEN, X.; HAGENMAIER, R. D. Improving storage life of cut potato apple and potato with edible coating. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 151-163, 1996.
- BELKAAP, W. R.; VAYDA, M. E.; PARK, W. D. **The molecular and cellular biology of the potato**. London: CAB International, 1994. 215p.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.72, n.2, p.248-254, 1976.
- CANO, M.P.; DE ANCOS, B.; MATAALLANA, M.C.; CAMARA, M.; REGLERO, G.; TABERA, J. Differences among spanish and latin-american banana cultivars: morphological, chemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, Guildford, v.59, n.3, p. 411-419, 1997.
- CANTOS, E.; ESPÍN, J.E.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Effect of wounding on phenolic enzymes in six minimally processed lettuce cultivars upon storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.49, n.3, p.322-330, 2001.
- CANTOS, E.; TUDELA, J.A.; GIL, M.I.; ESPIN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh cut potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.50, n.2, p.3015-3023, 2002.
- CLEMENTE, E.; PASTORE, G.M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 32, n.2, p. 167-171, 1998.
- COELHO, A.H.R. **Efeito da idade de colheita sobre o grau de deterioração fisiológica composição química das raízes de três cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. 1992. 107p. Tese (Doutor em Agronomia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1992.

COUTURE, R.; CANTWEEL, M.I.; KE, D.; SALTVEIT, M.E. Physiological attributes related to quality attributes and storage of minimally processed lettuce. **HortScience**, Alexandria, v.28, n.1, p.723-725, 1993.

DAO, L.; FRIEDMAN, M. Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.40, n.11, p. 2152 – 2158, 1992.

DUNFORD, H. B.; STILLMAN, J. S. On the function and mechanism of action of peroxidases. **Coordination Chemistry Reviews**, Lausanne, v. 19, n. 3, 187-251, 1976.

FREIRE JUNIOR, M.; DELIZA, R.; CHITARRA, A.B. Alterações sensoriais em alface hidropônica cv. Regina minimamente processada e armazenada sob refrigeração. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.1, p.63-66, 2002.

GARCIA, E.; BARRETT, D. M. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. In: LAMIKANRA, O. **Fresh-cut fruits and vegetable**. Florida: CRC PRESS, 2002. cap. 13. p.268-303.

GOMES, M. R. A.; OLIVEIRA, M. G.; ALMEIDA, A.; CARNEIRO, G. E. S.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Propriedades físico-químicas de polifenoloxidase de feijão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 69-72, 2001.

HEIMDAL, H.; KUHN, B.F.; POLL, L.; LARSEN, L.M.; Biochemical changes and sensory quality of shredded and MA-packaged iceberg lettuce. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n.1, p. 1265-1276, 1995.

HYODO, H.; TANAKA, K.; SUZUKI, T.; Wound induced ethylene synthesis and its involvement in enzyme induction in mesocarp tissue of *Curcubita maxima*. **Postharvest Biological and Technology**, Amsterdam, v.1, n. 3, p. 127 – 136, 1991.

HOWARD, L.R.; GRIFFIN, L.E Lignin formation and surface discoloration of MP carrot sticks. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n.1, p. 1065-1067, 1993.

ISHIZUKA, M.; YAMADA, F.; TANAKA, Y.; TAKEUCHI, Y.; TMASEKI, H. Sequential induction of mRNA for phenylalanine ammonia-lyase in slices of potato tuber. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v.32, p.57-64, 1991.

JONES, H. D. Phenylalanine ammonia lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry**, New York, v.23, n.1, p. 1349-1355, 1984.

KE, D.; SALTVEIT, M.E. Wound induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. **Plant Physiology**, Rockville, v.76, n. 1, p. 412-418, 1989.

- KETSA, S.; ATANTEE, S. Phenolics, lignin, peroxidase activity and increased firmness of mangosteen fruit after impact. **Postharvest Biological and Technology**, Amsterdam, v.14 , n. 4, p. 117 – 124, 1998.
- KRUGER, F.G.Q. **Adubação mineral, orgânica e biodinâmica de Yacon (*Polymnia sonchifolia* POEP&ENDL): rendimento, qualidade e armazenamento.** 2003. 211p. Tese (Doutor em Agronomia). Faculdade de Ciências Agronômicas -Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2003.
- LAURILA, E. K.; KERVINEN, R.; AHVENAINEN, R. **The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetables and fruits.** VTT Biotechnology and Food Research. Finland, 2002. <http://hort.cabweb.org/Postharv/Reviews/Laurila.htm>. Acesso em 28 out . 2006.
- LIMA, G. P.P. **Efeito do cálcio sobre o teor de poliaminas e atividade da peroxidase e redutase do nitrato em calos de arroz (*Oriza sativa* L. cv. IAA 4440).** 1994. Tese (Doutor em Ciências). Instituto de Biociências- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 1994
- LÓPEZ-SERRANO, M.; RÓS-BARCELO, A. Peroxidase in unripe and processing strawberries. **Food Chemistry**, Guildford, v. 52, n. 2, p. 157-160, 1995.
- LU, Y.; FOO, L.Y. Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. **Food Chemistry**, Guildford, v.59, n.2, p.187-194, 1997.
- MACHADO, R.M.D.; TOLEDO, M.C.F. Determinação de glicoalcalóides em batatas in natura comercializadas na cidade de Campinas, Estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.1, p. 47-52, 2004.
- MARTINEZ, M. V.; WHITAKER, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 6, n.6, p.195-200, 1995.
- MONDY, N. I.; CHANDRA, S.; EVANS, W. D. Enzymatic discoloration and phenolic content of potato tubers from cultivars resistant and susceptible to the golden nematode. **American Potato Journal**, Orono, v. 62, n. 5, p. 207 - 213, 1985.
- MORETTI, C.L.; ARAUJO, A.L.; MAROUELLI, W.A.; SILVA, W.L.C. Respiratory activity and browning of minimally processed sweetpotatoes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n. 3, p.497-500, 2002.
- NUNES, M. C.N.; EMOND, J.P.; BRECHT, J.K. Temperature abuse during ground and inflight handling operations affects quality of snap beans. **HortScience**, Alexandria, v.36, n.2, p. 510 , 2001.
- PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT’ANNA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.11, n.3, p.137-143, 1999.

- PINELI, L.L.O.; MORETTI, C.L.; ALMEIDA, G.C.; SANTOS, J.Z.; ONUKI, A.C.A.; NASCIMENTO, A.B.G. Caracterização química e física de batatas ágata e monalisa minimamente processadas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.1, p. 127-134, 2006.
- ROBINSON, D.S. Peroxidases and Catalases in foods. In: ROBINSON, D.S.R.; ESKIN, N.A.M. (Ed.) **Oxidative enzymes in foods**, London: Elsevier Applied Sciences, 1991, p. 1-47.
- ROCHA, A.M.C.N.; COULON, E.C.; MORAIS, A.M.M.B. Effects of vacuum packing on the physical quality of minimally processed potatoes. **Food Service Technology**, Chicago, v.3, p.81-88, 2003.
- SALTVEIT, M.E. Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetable. In: TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; ROBIN, R.D. (Ed.) **Phytochemistry of fruits and vegetables**. Oxford: Oxford University Press, 1997, cap. 13, p.205-220.
- SALTVEIT, M.E. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.21, n.1 p.61-69, 2000.
- SAPERS, G.M.; DOUGLAS, F.W.; BILYK, A.; HSU, A.F. DOWER, H.W.; GARZARELLA, L.; KOZEMPEL, M. Enzymatic browning in Atlantic potatoes and related cultivars. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, p. 362-365, 1989.
- SHAMAILA, M.; POWRIE, W.D.; SKURA, B.J. Sensory evaluation of strawberry fruit stored under modified atmosphere packaging (MAP) by quantitative descriptive analysis. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, p.1168-1172, 1992.
- STARCK, J.C.; CORSINI, D.L.; HURLEY, P.J.; DWELLE, R.B. Biochemical characteristics of potato clones differing in blackspot susceptibility. **American Potato Journal**, v.62, p. 657-666, 1985.
- SMITH, O. **Potatoes: production, storing, processing**. Westport: The Avi Publishing, 1977. 121p.
- SUBRAMANIAN, N.; VENKATESH, P.; GANGULI, S.; SINKAR, V. P. Role of polyphenol oxidase and peroxidase in the generation of black tea theaflavins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n. 7, p. 2571- 2578, 1999.
- TALBURT, W.F; SCHWIMMER, S.; BURR, K. Structure and chemical composition of potato tuber. In: TALBURT, W.F.; SMITH, O. (Ed.) **Potato processing**. Westport: The Avi Publishing, 1975. 75p.
- TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; ESPÍN, J.E. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 81, n. 7, p. 853-876, 2001.

TORRES, A. M.; MAU-LASTOVICKA, T.; REZAAIYAN, R. Total phenolics and high-performance liquid chromatography of phenolic acids of avocado. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 35, n. 6, p.921-925 , 1987.

VÁMOS-VIGYÁZO L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **Food Science and Nutrition**, Chicago, v.15, n.1, p. 49-127, 1981.

WALTER, W.M.; PRUCELL, A.E. Effect of substrate levels and polyphenol oxidase activity on darkening in sweet potato cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 28, n. 1, p. 941-944, 1980.

WELLER, A.; SIMS, C.A.; MATTHEWS, R.F.; BATES, R.P.; BRECHT, J.K. Browning susceptibility and changes in composition during storage of carambola slices. **Journal of Food Science**, Chicago, v.62, n.2, p. 256-260, 1997.

ZAWISTOWSKI, J.; BILIDERIS, C.G.; ESKIN, N.A.M. Polyphenol oxidase. In: ROBINSON, D.S.R.; ESKIN, N.A.M. (Ed.) **Oxidative enzymes in foods**, London: Elsevier Applied Sciences, 1991, cap. 7, p. 217-273.

ZORZELLA, C. A.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; TREPTOW, R. O.; ALMEIDA, T. L. Caracterização física, química e sensorial de genótipos de batata processados na forma de chips. **Brazilian Journal of Food Technology**, Londrina, v. 6, n. 1, p. 15-24, 2003.

ZORZELLA, C. A.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; TREPTOW, R. O. Qualidade sensorial de “chips” de diferentes genótipos de batatas (*Solanum tuberosum* L.), cultivos de primavera e outono no rio grande do sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 1, p. 57-63, 2003.

YANG, C-P.; FUJITA, S.; ASHRAFUZZMAN, M.D.; NAKAMURA, N.; HAYASHI, N. Purification and characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa sapientum* L.) pulp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 7, p. 2.732-2.735, 2000.

4 CARBOIDRATOS NÃO ESTRUTURAIS EM DIFERENTES CULTIVARES DE BATATAS MINIMAMENTE PROCESSADAS E ARMAZENADAS EM DUAS TEMPERATURAS

Resumo

Em tubérculos de batata submetidos a baixas temperaturas é comum o aumento nos teores de açúcares redutores, os quais, no momento da fritura, provocam escurecimento não enzimático do produto, inviabilizando-o comercialmente. O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de carboidratos não estruturais em diferentes cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas em duas temperaturas de armazenamento. Batatas das cultivares Ágata, Asterix e Monalisa foram selecionadas, lavadas, descascadas, cortadas em cubos, sanitizadas, centrifugadas, embaladas e armazenadas a 5 e 15°C, por um período de 9 e 5 dias, respectivamente. Avaliaram-se os teores de açúcares totais e redutores, sacarose e amido. Batatas 'Asterix' armazenadas a 5°C apresentaram um aumento de 11% no conteúdo de açúcares solúveis totais e maior teor de açúcares redutores ao final de nove dias. Em batatas 'Monalisa' foi verificado uma redução de aproximadamente 14% no conteúdo de açúcares totais no mesmo tempo de armazenamento. Houve redução no teor de sacarose para todas as cultivares a 5°C e manutenção desses teores para as armazenadas a 15°C. A maior degradação de amido em batatas 'Asterix' a 5°C foi relacionado ao incremento do teor de açúcares solúveis. Foi verificado um aumento nos teores de amido para a cultivares Ágata e Monalisa armazenadas a 5°C. A temperatura de armazenamento de 5°C para batatas acarreta em maiores modificações metabólicas do que a 15°C.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L.; Açúcares; Amido; Sacarose; Processamento mínimo

NON-STRUCTURAL CARBOHYDRATES IN DIFFERENT MINIMALLY PROCESSED POTATO CULTIVARS AND STORED AT TWO TEMPERATURES

Abstract

Potato tubers submitted to low temperatures commonly show increased amounts of reducing sugars that lead to non-enzymatic browning during the frying process, making the product unsuitable for commercialization. The purpose of this work was to evaluate non-structural carbohydrates levels in different minimally processed potato cultivars at two storage temperatures. Potato cultivars Agata, Asterix and Monalisa were selected, washed, peeled, diced, sanitized, centrifuged, packed and stored at 5 and 15°C for 9 and 5 days, respectively. The amounts of total sugar, reducing sugar, sucrose and starch were evaluated. Potato 'Asterix' stored at 5°C showed an increase of 11% in the total soluble sugar amount, as well as a higher reducing sugar amount by the end of nine days. 'Monalisa' potato presented a reduction of nearly 14% in total sugar amount after the same storage period. There was a decrease in the sucrose amount in all cultivars stored at 5°C, while the sucrose amount remained constant in those stored at 15°C. The highest starch degradation rate was observed in potato 'Asterix' at 5°C and is related to increased amounts of soluble sugars. Potato cultivars Agata e Monalisa stored at 5°C showed an increase in starch amounts. Storage at 5°C leads to greater metabolic modifications in potatoes than storage at 15°C.

Keywords: *Solanum tuberosum* L.; Sugars; Starch; Sucrose; Minimal processing

4.1 Introdução

A batata é uma das hortaliças mais plantadas no Brasil, com grande expressão econômica em diversos Estados e regiões. Apesar disso, ainda não figura com destaque no setor de processamento mínimo.

As dificuldades no armazenamento doméstico, descascamento, fritura ou cozimento da batata tem levado alguns países a aumentar a sua industrialização. O armazenamento dos tubérculos em baixas temperaturas é realizado para inibir a brotação, reduzir a infecção por microorganismos e diminuir a perda de massa fresca (BURTON, 1982; ISHERWOOD, 1973). Porém, quando a temperatura é inferior a 8°C, ocorrem incrementos nos níveis de açúcares solúveis totais o que torna os tubérculos impróprios à fritura (BURTON, 1989). Considerando que a glicose e a frutose podem reagir com os aminoácidos em altas temperaturas (Reação de Maillard), o resultado é um produto de coloração escura e sabor amargo, de baixa qualidade e aceitação comercial.

Os altos níveis de açúcares redutores nos tubérculos são os principais responsáveis pelo escurecimento indesejável dos produtos processados. O acúmulo de açúcares redutores em baixas temperaturas é o resultado da conversão do amido em açúcares (REES; DIXON; POLLOCK, 1981). Este processo de acúmulo de açúcares envolve a interação de muitas vias metabólicas (DUPLESSIS; MARANGONI; YADA, 1996), entretanto, estas vias não estão ainda plenamente elucidadas.

Segundo Parkin e Schwobe (1990), Coffin; Yada e Parkin (1987), Sherman e Ewing (1983) e Schwobe e Parkin (1990), a hidrólise do amido em açúcares pode provocar o escurecimento não enzimático do produto processado. Algumas cultivares são mais resistentes ao armazenamento refrigerado, apresentando menor acúmulo de açúcares redutores.

Com objetivo de ampliar o conhecimento e atender as novas demandas do mercado por hortaliças minimamente processadas, este trabalho teve como objetivo verificar o efeito de diferentes cultivares e temperaturas de armazenamento nos níveis de carboidratos não estruturais em batatas minimamente processadas.

4.2 Desenvolvimento

4.2.1 Revisão Bibliográfica

A batata é um dos alimentos mais consumidos no mundo devido a sua composição, versatilidade gastronômica e tecnológica, e baixo preço.

As batatas estão sujeitas a consideráveis perdas durante o armazenamento. Por isso, ao contrário do que é comumente praticado com os grãos, não é possível estocar, sem qualquer controle atmosférico, o excedente de uma boa safra de batatas para garantir o produto numa época de baixa produção. A fim de se controlar o fluxo de mercado e aumentar o período de conservação dos tubérculos, o armazenamento em baixa temperatura tem sido recomendado. A refrigeração aumenta a vida útil dos tubérculos, porém, tem o inconveniente de aumentar os níveis de açúcares redutores, o que pode provocar o escurecimento não enzimático dos tecidos (REES; DIXON; POLLOCK, 1981; PEREIRA; COFFIN; YADA, 1993; WILSON; WORK; BUSHWAY, 1981). Este é o problema primário da batata associada à fritura.

Segundo Low et al. (1989), o escurecimento não enzimático ou reação de Maillard é um problema sério nos produtos de batata. A reação de Maillard envolve uma série de passos que se iniciam com a reação entre o grupamento carbonila ou cetona do açúcar redutor e o grupo amino de aminoácidos, peptídeos ou proteínas em altas temperaturas. É a maior contribuidora da cor escura dos produtos alimentares, nos quais as melanoidinas pigmentadas são os produtos finais.

Quando os tubérculos de batata são submetidos a baixa temperatura ocorre o acúmulo de açúcares, tornando-os impróprios a produção de batata frita (BURTON, 1989). Este processo, chamado de adoçamento pelo frio, é resultado da conversão do amido em açúcares (REES; DIXON; POLLOCK, 1981), e envolve a interação de muitas vias metabólicas (DUPLESSIS; MARANGONI; YADA, 1996).

O adoçamento pelo frio, caracterizado pelo acúmulo de polissacarídeos quebrados, não é um fenômeno universal no reino vegetal, pois ocorre apenas em dez espécies vegetais. Além de batata, uma outra espécie bastante conhecida que apresenta este processo é o tangor 'Murcott'. Em batatas, o início da degradação de amido em açúcares dá-se em três horas após armazenamento em baixas temperaturas (REES; DIXON; POLLOCK, 1981).

As condições de baixa temperatura resultam em acúmulo de ATP no tecido de batata e acarretam a ativação da via alternativa oxidase que diminui os níveis de ATP e simultaneamente

incrementa as concentrações de sacarose. A sacarose torna-se o substrato da invertase ácida vacuolar que originará o acúmulo de açúcares redutores. O controle da via oxidase, ou em combinação com o controle da atividade da invertase ácida, pode proporcionar informações sobre o fenômeno de adoçamento induzido pelo frio em tubérculos de batata armazenados (DUPLESSIS; MARANGONI; YADA, 1996).

Segundo Zhou e Solomos (1998), há uma relação temporal entre o acúmulo de açúcar e a atividade da enzima invertase envolvida na interconversão amido-açúcar. Por outro lado, Ohad; Friedberg e Ne'man (1971) sugeriram que a deterioração das membranas do amiloplasto em baixas temperaturas é a causa do adoçamento, alterando a distribuição de metabólitos entre o citossol e os amiloplastos. O'Donoghue; Yada e Marangoni (1995) também verificaram o efeito de baixas temperaturas sobre a senescência das membranas do amiloplasto da batata, e sugeriram que isto pode estar associado ao fenômeno do adoçamento em baixa temperatura. Esses autores observaram também o efeito da cultivar no grau de adoçamento. Isherwood (1976) também observou que as membranas do amiloplasto tornaram-se mais frágeis devido ao estresse por baixas temperaturas.

Durante o armazenamento por diversos meses, o aumento nos teores de açúcares solúveis também pode ocorrer com a idade fisiológica dos tubérculos, sendo chamado, neste caso, de adoçamento senescente (BURTON, 1989).

O conteúdo de açúcares redutores geralmente aceito é de 0,1% de massa fresca do tubérculo com um limite máximo de 0,33%, sendo que valores inferiores deixam o produto mais branco (DAVIES; VIOLA, 1992).

4.2.2 Material e Métodos

Tubérculos de batatas 'Ágata', 'Asterix' e 'Monalisa' foram obtidos de um produtor da região de Itapetininga-SP, sendo posteriormente selecionados quanto à firmeza e ausência de danos mecânicos e infecção fúngica. Em seguida, foram pré-lavados em água corrente com o objetivo de retirar as impurezas vindas do campo e colocados em câmara fria a 10°C para serem minimamente processados.

O produto foi descascado mecanicamente em descascadora industrial (Skymesen) com disco abrasivo e imerso em água resfriada (5°C) por 2 minutos. A seguir, os tubérculos foram submetidos ao corte em forma de cubos, utilizando-se uma processadora (Robot Coupe) com

disco de corte de 1,0x1,0x1,0cm. Após esta etapa, o produto foi enxaguado em água potável e sanitizado por 5 minutos em água clorada (200ppm de produto a base de cloro) utilizando o Dicloro-S- Triazinatriona Sódica Diidratada (SUMAVEG®). Em seguida, foi centrifugado (2200rpm) em centrífuga doméstica durante 10 minutos para a retirada do excesso de umidade presente no produto.

Todos os tratamentos foram acondicionados em filme plástico a vácuo de nylon multicamadas (14x20cm) e armazenados a 5 e 15°C e 85% de umidade relativa (vide ANEXO A).

O período de armazenamento foi de 9 e 5 dias, sendo que as avaliações foram realizadas diariamente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado adotando-se, para a temperatura de 5°C, um esquema fatorial 3x9, tendo, como fatores, cultivares (em três níveis) e tempo de armazenamento (em nove níveis). Para a temperatura de 15°C foi utilizado um fatorial 3x5, com três cultivares e cinco períodos de armazenamento. Para cada tratamento foram utilizados três repetições de 300g do produto.

As variáveis analisadas foram: a) açúcares totais: determinados pelo método fenol-sulfúrico descrito por Dubois et al. (1956); b) açúcares redutores: determinados pelo método redumétrico de Somogy-Nelson (SOUTHGATE, 1991); c) amido: a determinação foi realizada a partir do método de McCready; Guggolz e Wens (1950), com extração dos açúcares por etanol 80% a quente, em três estágios e hidrólise ácida com ácido perclórico 52%, e posterior determinação dos açúcares pelo método de fenol-sulfúrico; d) sacarose: foi determinada por meio de reação com antrona fria, após a adição de KOH (PASSOS, 1996).

Os resultados das análises bioquímicas foram submetidos a análise de variâncias. As médias foram comparadas pelo teste de diferença mínima significativa por meio de testes de comparações múltiplas de médias, onde as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois desvios padrões foram consideradas significativas (SHAMAILA; POWRIE; SKURA, 1992).

4.2.3 Resultados e Discussão

No armazenamento a 5°C, as batatas cv. Asterix apresentaram aumento de 11% no conteúdo de açúcares solúveis totais ao final de nove dias de armazenamento, enquanto que cv. Monalisa foi verificada uma redução de aproximadamente 14% ao final do armazenamento. Observou-se, em batatas 'Ágata', um aumento até o quinto dia com subsequente retorno aos valores iniciais (Figura 1A).

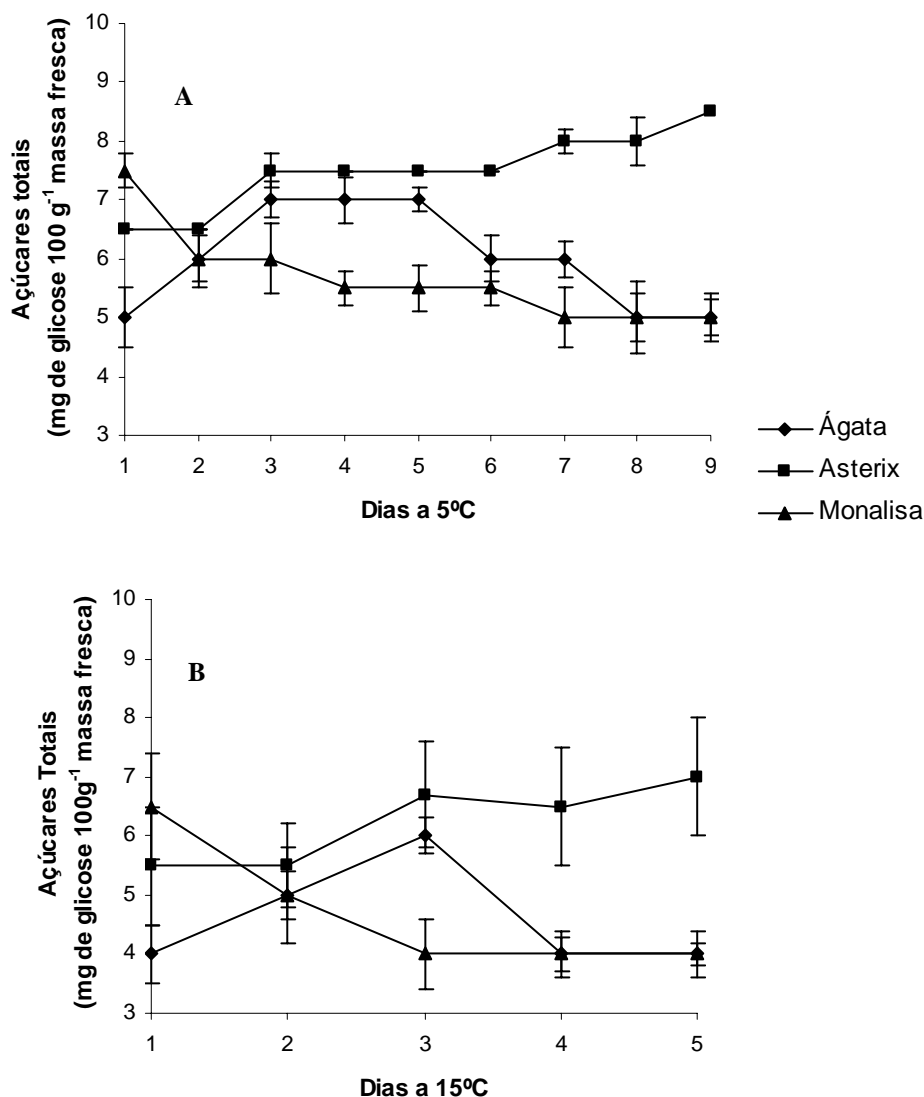


Figura 1- Teores de açúcares totais em diferentes cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas a 5°C (A) e 15°C (B). As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3)

As batatas minimamente processadas armazenadas na temperatura de 15°C duraram apenas 5 dias independente do tratamento em função do acúmulo de água no interior da embalagem com a emanção de odor desagradável e do elevado grau de pontuações escuras no produto. Nesta temperatura foi verificado que as batatas ‘Asterix’ tiveram o conteúdo de açúcares totais aumentado. Já para cv. Ágata observou-se, um incremento nos teores de açúcares totais até

o 3º dia de armazenamento com posterior declínio. Ao contrário do que foi verificado para cv. Ágata, as batatas ‘Monalisa’ apresentaram redução nos teores de açúcares totais que até o 3º dia com subsequente estabilização dos valores (Figura 1B).

Verificou-se que os tratamentos nas duas temperaturas obtiveram comportamentos semelhantes, porém com menores valores para o armazenamento a 15°C (Figura 1). Tal fato indica a possível conversão de amido em açúcares solúveis totais, processo este comum em tubérculos armazenados em baixas temperaturas.

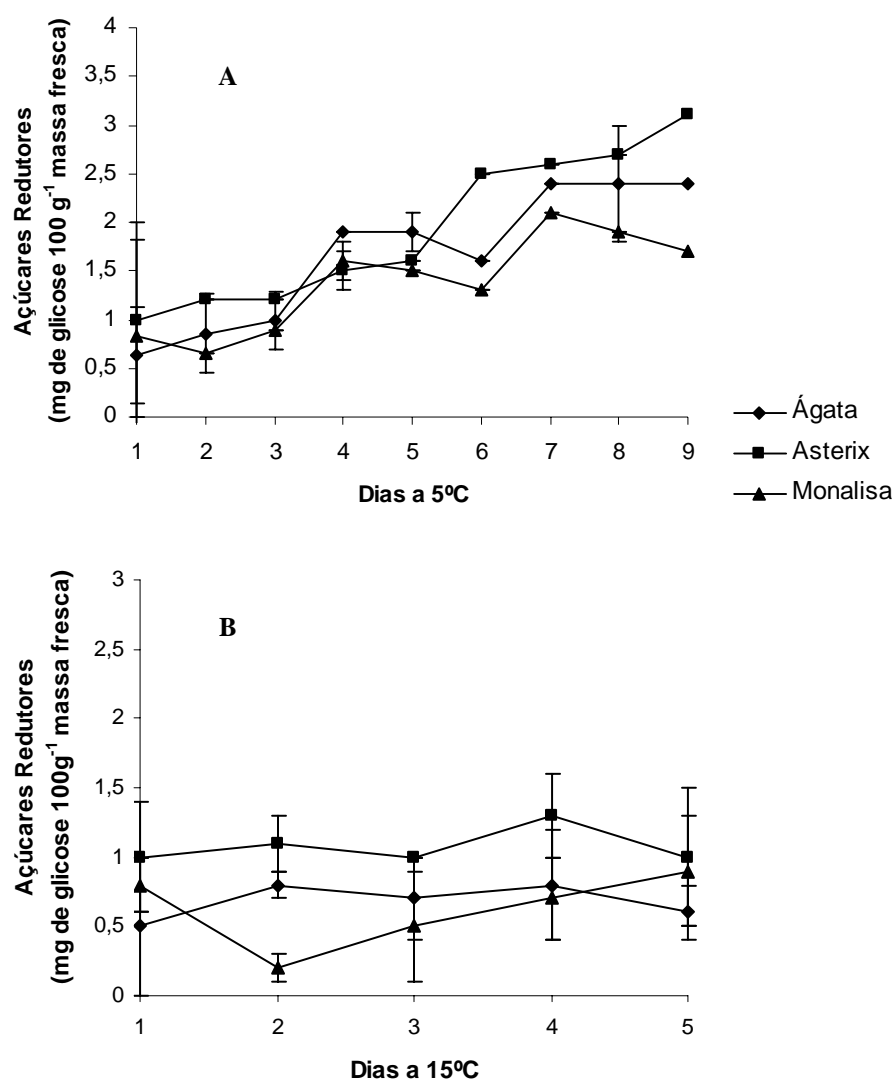


Figura 2- Teores de açúcares redutores em diferentes cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas a 5°C (A) e 15°C (B). As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3)

Todas as cultivares apresentaram um aumento nos teores de açúcares redutores após 9 dias de armazenamento a 5°C, sendo que a cultivar Asterix apresentou os maiores valores em ambas as temperaturas (Figura 2).

Verificou-se uma pequena oscilação, na temperatura de 15°C, para os teores de açúcares redutores em comparação ao armazenamento a 5°C (Figura 2B), evidenciando a influência da baixa temperatura no fenômeno de adoçamento.

Resultados compatíveis foram encontrados por Chapper et al. (2002), que também observaram aumento no teor de açúcares redutores de diferentes cultivares de batatas armazenadas a 5°C e manutenção dos teores nas armazenadas a 20°C.

Observou-se redução nos teores de sacarose para todos os tratamentos armazenados a 5°C. As cvs. Ágata e Monalisa não diferiram significativamente entre si para os teores deste carboidrato (Figura 3A). Na Figura 3B observou-se que as cultivares apresentaram um comportamento mais constante durante o armazenamento a 15°C.

A sacarose é o principal carboidrato translocado pelas plantas, sendo também reconhecida como tendo uma importante função na regulação metabólica, sinalizando processos na expressão de genes e na determinação do desenvolvimento e diferenciação de plantas (CHOUREY et al., 1995).

O comportamento da sacarose e dos açúcares redutores verificados neste trabalho são semelhantes aos resultados encontrados por Nourian; Ramaswamy e Kushalappa (2003). Esses autores relatam que o aumento dos açúcares redutores e redução dos teores de sacarose está diretamente relacionada com o tempo de armazenamento, enquanto que a degradação do amido ocorre rapidamente com a diminuição da temperatura.

As condições de baixa temperatura resultam em acúmulo de ATP no tecido de batata e acarretam a ativação da via alternativa oxidase que diminui os níveis de ATP e simultaneamente incrementa as concentrações de sacarose. A sacarose torna-se o substrato da invertase ácida vacuolar que originará o acúmulo de açúcares redutores (DUPLESSIS; MARANGONI; YADA, 1996). O aumento da atividade da invertase e a rápida velocidade de degradação da sacarose para açúcares redutores ocorrem somente em temperaturas inferiores a 8°C (DEITING et al., 1998).

Outros trabalhos também mostraram este comportamento nos teores de sacarose em diferentes cultivares de batatas. Pastorini et al. (2003) verificaram redução nos teores de sacarose

para as batatas ‘Atlantic’ e ‘Perola’, enquanto Chapper et al. (2002), observaram maior redução nos teores de sacarose nos tubérculos ‘Atlantic’ do que em tubérculos ‘Perola’.

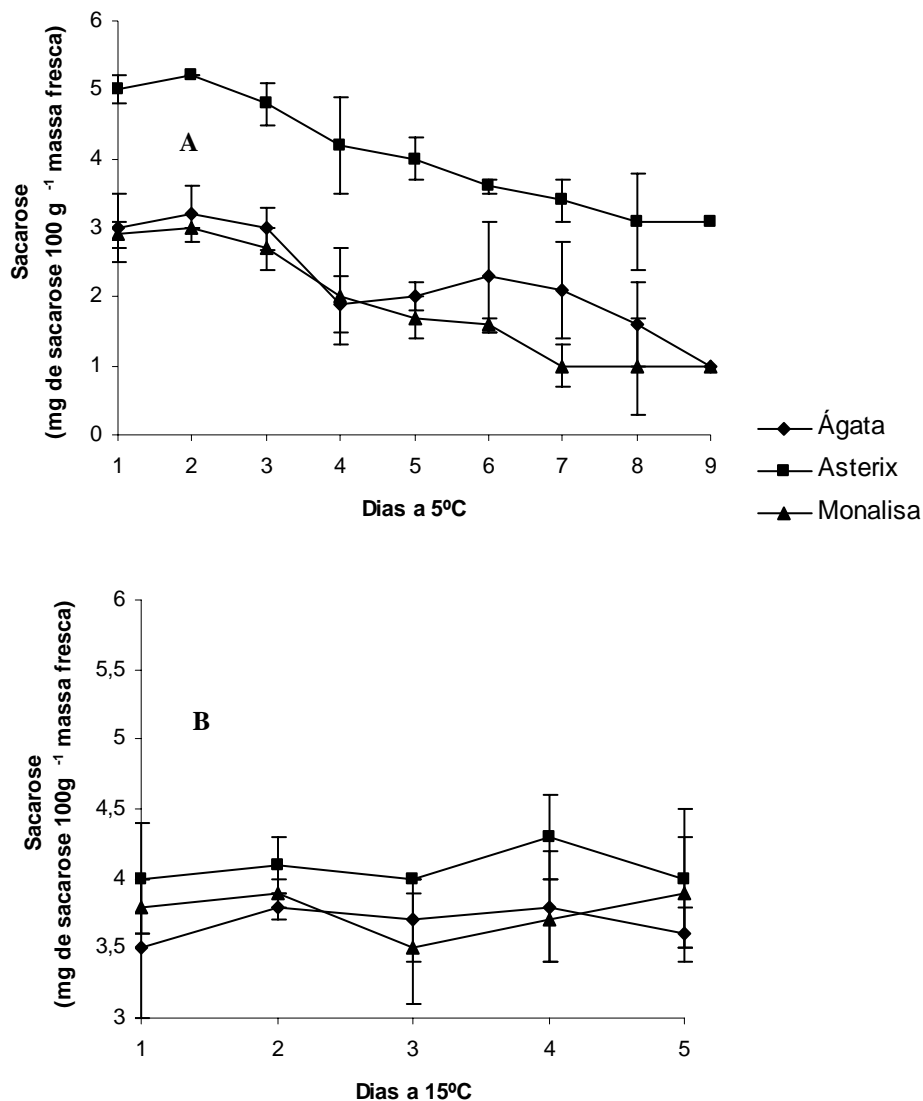


Figura 3- Teores de sacarose em diferentes cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas a 5°C (A) e 15°C (B). As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3)

Observou-se um aumento nos teores de amido para as cvs. Ágata e Monalisa armazenadas a 5°C. A maior degradação de amido em batatas cv. Asterix pode estar relacionado com o incremento do teor de açúcares totais verificado para este tratamento (Figura 4A).

Na temperatura de 15°C observou-se, para batatas ‘Asterix’, uma pequena redução nos teores de amido até o 4º dia de armazenamento. Os maiores teores de amido foram obtidos para a cv. Ágata, a qual no 5º dia não diferiu significativamente da cv. Monalisa (Figura 4B).

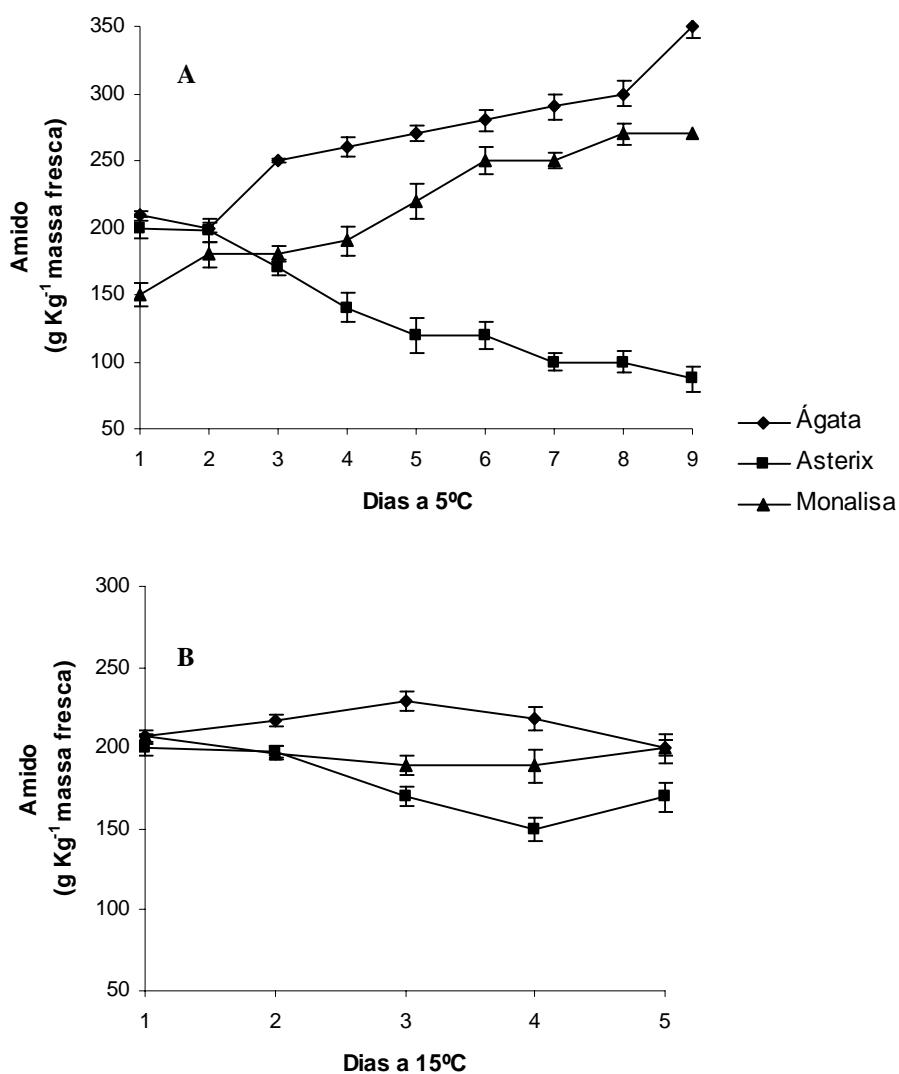


Figura 4- Teor de amido em diferentes cultivares de batatas minimamente processadas e armazenadas a 5°C (A) e 15°C (B). As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3)

Estes resultados não estão de acordo com Borgstrom (1946), que encontrou valores inferiores para os teores de amido em batatas. Os teores de amido encontrados por este autor variam de 90 a 180g Kg⁻¹ de matéria fresca.

Segundo Heemst (1986), diferentes quantidades de amido podem ser observadas entre cultivares, entre a própria cultivar e até mesmo entre tubérculos de uma mesma planta. Essa variação é causada porque nem todos os tubérculos iniciam seu desenvolvimento concomitantemente, devido aos aspectos genéticos e também a diferenças no crescimento das hastes principais às quais os tubérculos estão ligados.

Almeida (2005) observou que batatas ‘Asterix’ minimamente processadas armazenadas a 15°C apresentaram maior teor de amido do que as armazenadas a 5°C, resultados compatíveis com os obtidos neste trabalho.

A atividade da sacarose sintetase (enzima envolvida na síntese de amido) geralmente é maior em tubérculos jovens (PRESSEY, 1966). Tal fato pode em parte explicar o aumento verificado nos teores de amido para alguns tratamentos deste experimento onde foram utilizados tubérculos jovens.

Apesar da conversão amido em açúcares ser um fenômeno reversível (ISHERWOOD, 1973), o aumento nas cvs. Ágata e Monalisa pode estar relacionada tanto a maior atividade enzimática dos tubérculos jovens quanto à perda de água constatada visualmente no produto. Segundo Pinelli et al. (2006), a maior perda de água em batatas ‘Ágata’ e ‘Monalisa’ pode estar relacionada com o alto teor centesimal (88% e 85%, respectivamente) deste componente nas referidas cultivares.

O aumento dos teores de amido observados neste trabalho pode ainda estar relacionado com a redução dos teores de sacarose. De acordo com Akazawa et al. (1995), a quebra enzimática da sacarose em órgãos dreno, como tubérculos, pode ser de grande importância para o mecanismo de conversão em amido. O acoplamento da sacarose sintetase com a UDP-glicose dependente de pirofosfato (PPi) produz glicose-1-fosfato, catalisando o primeiro passo da biossíntese de amido. A baixa taxa de sacarose pode causar aumento no nível de trioses fosfato e reduzir PPi no citoplasma. Como resultado, o carbono é desviado para a síntese de amido. A taxa de formação de sacarose pode, desse modo, regular indiretamente a taxa de formação de amido (GUERIN; CARBONERO, 1982).

Coelho (1998), observando durante 90 dias o comportamento de duas cultivares de batatas armazenadas a 8°C, verificou o aumento do teor de amido para uma das cultivares no final do armazenamento. De acordo com Smith (1977), em tubérculos que sofreram algum tipo de injúria, ocorre um aumento na síntese de amido.

Os resultados encontrados neste trabalho com relação aos teores de amido são semelhantes aos observados por Pinelli et al. (2005) em batatas minimamente processadas.

Segundo Kader (2002), o ideal é armazenar a batata em temperatura de 10 a 15°C, pois a temperatura afeta o equilíbrio do balanço amido/açúcar em batata. Temperaturas de armazenamento inferiores a 10°C favorecem o acúmulo de açúcares solúveis, em detrimento do acúmulo de amido durante o armazenamento (FONTES; FINGER, 1997). Em batata, o acúmulo de açúcares solúveis é indesejável, pois causa o escurecimento não enzimático dos produtos durante a fritura, devido às reações entre aminoácidos e açúcares livres (FONTES; FINGER, 1997).

4.3 Considerações finais

Na cultivar Asterix armazenada a 5°C foi verificado os maiores teores de açúcares totais durante o armazenamento. Esse comportamento não é desejado, pois para batatas destinadas à fritura o ideal é que não haja aumento nos teor de açúcares totais durante o armazenamento. Mesmo assim, é uma cultivar que apresenta alto teor de matéria seca, caracterizando-se como boa para fritura.

A baixa temperatura de armazenamento para batatas provoca modificações metabólicas e altera os teores de carboidratos não estruturais. A temperatura de 5°C provocou maiores alterações nos parâmetros analisados, enquanto que na temperatura de 15°C as respostas bioquímicas obtidas apresentaram pouca variação.

Apesar de ser um mecanismo bem elucidado, o fenômeno de adoçamento pelo frio ainda requer estudos avançados com investigações na rotas metabólicas, influência enzimática e cultivares adequadas.

Referências

ALMEIDA, G.C. **Qualidade de batatas palito minimamente processadas**. 2005. 119p. Dissertação (Mestre em Ciências)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

AKAZAWA, T.; LIN, C.H.; LIN, J.H.; SMITH, N. Sucrose-starch transition in plant cells. In: POINTS, H.G.; SALERMO, G.L. ECHEVERRIA (Ed.) **Sucrose metabolism, biochemistry, physiology and molecular biology**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 1995. chap. 14. p. 115-127.

BORGSTROM, G. **Principles of food science**. 2^{ed}. Connecticut: Food and Nutrition Press, 1946. 397p.

BURTON, W.G. **Post-harvest physiology of food crops**. London: Longman scientific and technical, 1982. 339p.

BURTON, W.G. **The potato**. Harlow: Longman scientific and technical, 1989. 742p.

CHAPPER, M.; BACARIN, M.A.; PEREIRA, A.S.; TERRIBILE, L.C. Carboidratos não estruturais em tubérculos de dois genótipos de batata armazenados em duas temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.4, p.583-588, 2002.

CHOUREY, P.S.; CHENG, W.H.; TALIERCIO, E.W.; IM, K.H. Genetic aspects of sucrose metabolizing enzymes in developing maize seed. In: MADORE, A.M.; LUCAS, W.J. (Ed.) **Carbon partitioning and source sink interections in plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 1995. chap. 2. p. 239-245.

COELHO, A. H. R. **Alterações químicas e qualidade de fritura de duas cultivares de batata (*Solanum tuberosum* L.) armazenadas em atmosfera modificada em temperatura ambiente e sob refrigeração**. 1998. 145 p. Tese (Doutor em Ciências) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

COFFIN, R. H.; YADA, R. Y.; PARKIN, K. L. Effect of low temperature storage on sugar concentrations and chip color of certain processing potato cultivars and selection. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.1, p.639-645, 1987.

DAVIES, H.V.; VIOLA, R. Regulation of sugar accumulation in stores potato tubers. **Postharvest News and Information**, Oxon, v.3, n.1, p. 97-100, 1992.

DUBOIS M.; GILLES K.A.; HAMILTON J.K.; REBERS PA; SMITH F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, n. 3, p.350-356, 1956.

DUPLESSIS, P.M.; MARANGONI, A.G.; YADA, R.Y. A mechanism for low temperature induced sugar accumulation in stored potato tubers: The potential role of the alternative pathway and invertase. **American Potato Journal**, Orono, v. 73, n. 3, p. 483-494, 1996.

FONTES, P. C. R.; FINGER, F. L. **Pós-colheita do tubérculo de batata**. Viçosa: Imprensa Universitária da UFV, 1997. 32 p.

GUERIN, J.; CARBONERO, P. The spatial distribution of sucrose synthase isozymes in barley. **Plant Physiology**, Rockville, v. 114, n.1, p. 55-62, 1997.

HEEMST, H. D. J. van. The distribution of dry matter during growth of potato crop. **Potato Reserch**, Wageningen, v. 29, n.1, p. 55-66, 1986.

- HUBER, S.C; ISRAEL, D.W. Biochemical basis for partitioning of photosynthetically fixed carbon between starch and sucrose in soybean leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 69, n.1, p. 691-696, 1982.
- ISHERWOOD, F.A. Starch-sugar interconversion in *Solanum tuberosum*. **Phytochemistry**, New York, v.15, n.1, p.33-41, 1976.
- KADER, A. A. Postharvest biology and technology: an overview. In: KADER, A. A. **Postharvest technology of horticultural crops**. California: University of California and Natural Resources, 2002. p. 39-47.
- LOW, N.; JIANG, B.; DOKHANT, S. Redution of glucose content in potatoes with glucose oxidase. **Journal of Food Science**, Chicago, v.54, n.2, p.118-121, 1989.
- McREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; WENS, H.S. Determination of starch and amylase in vegetables. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 22, n. 1, p.1156-1158, 1950.
- NOURIAN, F.; RAMASWAMY, H.S.; KUSHALAPPA, A.C. Kinetics of quality change associated with potatoes stored at different temperatures. **Lebensmittel Wiss Und Technologie**, London, v.36, n.1, p.49-65, 2003.
- O'DONOGHUE, E.P.; YADA, R.Y.; MARANGONI, A.G. Low temperature sweetening in potato tubers: the role of the amyloplast membrane. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.145, n.2, p.335-341, 1995.
- OHAD, I.; FRIEDBERG, I.; NE'MAN, Z. Biogenesis and degradation of starch. I. The fate of the amyloplast membranes during maturation and storage of potato tubers. **Plant Physiology**, Rockville, v.47, n.4, p.465-477, 1971.
- PARKIN, K.L.; SCHWOBE, M.A. Effects of low temperature and modified atmosphere on sugar accumulation and chip color in potatoes (*Solanum tuberosum*). **Journal of Food Science**, Chicago, v.55, n.5, p.1341-1344, 1990.
- PASSOS, L.P.M. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: Embrapa Gado de leite, 1996. 223p.
- PASTORINI, L.H, BACARIN, M.A., TREVIZOL, F.C.; BERVALD, C.M.P.; FERNANDES, H.S. Produção e teor de carboidratos não estruturais em tubérculos de batata obtidos em duas épocas de plantio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.21, n.4, p.660-665, 2003.
- PEREIRA, A.S.; COFFIN, R. H.; YADA, R.Y.. Inheritance patterns of reducing sugars in potato tubers after storage at 12°C and 4°C followed by reconditioning. **American Potato Journal**, Orono, v.70, n.1, p.71-76, 1993.
- PINELI, L.L.O; MORETTI, C.L.; ALMEIDA, G.C.; NASCIMENTO, A.B.G.; ONUKI, A.C.A. Associação de atmosfera modificada e antioxidantes reduz o escurecimento de batatas Ágata minimamente processadas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.993-999, 2005.

PRESSEY, R. Invertase inhibitor from potatoes purification, characterization and reactivity with plant invertases. **Plant Physiology**, Rockville, v.42, n.1, p.1780-1786, 1966.

REES, T.; DIXON, W.L.; POLLOCK, C.J. Low temperature sweetening of higher plants. In: FRIEND, J.; RHODES, M.J.C. (Ed.) **Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables**. London: Academic Press, 1981. chap.2. p.41-61.

RICHARDSON, D.L.; DAVIES, H.V.; ROSS, H.A. Invertase activity and its relation to hexose accumulation in potato tubers. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.41, n.222, p. 95-99, 1990.

SHAMAILA, M.; POWRIE, W.D.; SKURA, B.J. Sensory evaluation of strawberry fruit stored under modified atmosphere packaging (MAP) by quantitative descriptive analysis. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n.1, p.1168-1172, 1992.

SHERMAN, M.; EWING, E. E. Effects of temperature and low oxygen atmosphere on respiration, chip color, sugars and malate of stored potatoes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.108, n.1, p.129-133, 1983.

SCHWOBE, M. A.; PARKIN, K. L. Effect of low temperature and modified atmosphere on sugar accumulation in potatoes (*Solanum tuberosum* L.). **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v.14, n.3 p.241-252, 1990.

SMITH, O. **Potatoes: production, storing, processing**. Westport: The Avi Publishing, 1977. 121p.

SOUTHGATE, D.A.T. **Determination of foods carbohydrates**. London: Elsevier Applied Science, 1991. 232p.

VENDRUSCOLO, J. L. **Avaliação e melhoria das qualidades tecnológicas e sensoriais de genótipos de batata (*Solanum tuberosum* L.) para a industrialização e consumo de mesa**. Pelotas: CPTA/EMBRAPA, 1998. 6 p.

WILSON, A.M.; WORK, T.M.; BUSHWAY, A.A. HPLC determination of fructose, glucose and sucrose in potatoes. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, n.1, p.300-301, 1981.

ZHOU, D.; SOLOMOS, T. Effect of hypoxia on sugar accumulation, respiration, activities of amylase and starch phosphorylase, and induction of alternative oxidase and acid invertase during storage of potato tubers (*Solanum tuberosum* cultivar Russet Burbank) at 1°C. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 104, n.2, p. 255-265, 1998.

5 TRATAMENTOS COMBINADOS DE ANTIOXIDANTES EM DIFERENTES CULTIVARES DE BATATAS MINIMAMENTE PROCESSADAS

Resumo

A batata é uma hortaliça bastante apreciada pelos consumidores. No entanto, um dos grandes obstáculos para uso de batata minimamente processada é o rápido escurecimento da superfície cortada. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes combinações de antioxidantes na prevenção do escurecimento enzimático de batatas cvs. Ágata, Asterix e Monalisa minimamente processadas. As batatas foram selecionadas, lavadas, descascadas, cortadas em cubos, sanitizadas, tratadas com antioxidantes, centrifugadas, embaladas em nylon multi-camadas a vácuo e armazenadas a 5°C, por um período de 12 dias. Foram utilizadas seguintes as combinações: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1%; ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%; ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%; ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%; ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5%; cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%. Batatas 'Monalisa' apresentaram os maiores teores de fenóis totais e valores de atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL), peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO), independente do tratamento. Batatas 'Ágata' tratadas com ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% apresentaram os menores valores de PAL, POD e PPO. Para as cultivares Asterix e Monalisa os melhores resultados obtidos foram nas combinações com 4-hexilresorcinol e cisteína, respectivamente.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L.; Processamento mínimo; Escurecimento enzimático; Metabolismo fenólico

COMBINED ANTIOXIDANT TREATMENTS IN DIFFERENT MINIMALLY PROCESSED POTATO CULTIVARS

Abstract

Potato is a vegetable highly appreciated by consumers. However, one of the biggest problems in minimally processed potatoes is the fast browning of cut surfaces. The purpose of this work was to evaluate the effect of different antioxidant combinations on the prevention of the enzymatic browning in minimally processed potatoes cv Agata, Asterix and Monalisa. Potatoes were selected, washed, peeled, diced, sanitized, treated with antioxidants, centrifuged, vacuum-packed in a multilayer nylon film and stored at 5°C for 12 days. The following antioxidant combinations were used: citric acid 1% + ascorbic acid 1%, citric acid 2% + 4-hexylresorcinol 0.01%, ascorbic acid 2% + 4-hexylresorcinol 0.01%, citric acid 2% + cysteine 0.5%, ascorbic acid 2% + cysteine 0.5%, and cysteine 0.5% + 4-hexylresorcinol 0.01%. Potato 'Monalisa' showed the highest total phenol amounts and the highest enzymatic activities of phenylalanine ammonia-lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD), regardless of treatment. Potato 'Agata' treated with ascorbic acid 2% + cysteine 0.5% and cysteine 0.5% + 4-Hexilresorcinol 0.01% showed the lowest enzymatic activities of PAL, POD and PPO. For the 'Asterix' and 'Monalisa' cultivars, the best results were obtained when mixtures of 4-hexilresorcinol and cysteine were used, respectively.

Keywords: *Solanum tuberosum* L.; Minimal processing; Enzimatic browning; Phenolic metabolism

5.1 Introdução

As operações visando o preparo de frutas e hortaliças minimamente processadas produzem um impacto fisiológico tanto maior quanto mais elevado o grau de processamento, aumentando a velocidade com que se deterioram e reduzindo sua vida útil em relação ao produto inteiro. Os ferimentos causados pelo descascamento e corte estimulam a atividade respiratória e produção de etileno, a qual induz a biossíntese de enzimas associadas a várias reações bioquímicas responsáveis pela mudança de cor, aroma, textura e valor nutricional (CANTWELL, 1992; ARTES; CASTAÑER; GIL, 1998).

Dentre as possíveis modificações indesejáveis que este conjunto de processos pode acarretar, o escurecimento é um dos problemas mais importantes em hortaliças minimamente processadas, sendo uma das principais causas de perdas de qualidade (CANTWELL, 1992).

Os antioxidantes previnem o escurecimento através da redução das *o*-quinonas formadas enzimaticamente, a difenóis incolores correspondentes, podendo também reagir irreversivelmente com as *o*-quinonas formando compostos incolores estáveis. Como exemplo destas substâncias antioxidantes, destacam-se o ácido ascórbico e cítrico (ARTES; CASTAÑER; GIL, 1998). Pelo fato de serem naturais, estes antioxidantes são utilizados em larga escala na indústria de alimentos, sendo uma alternativa de uso na indústria de batatas na forma minimamente processada. A utilização de outros compostos como 4-hexilresorcinol e cisteína vem se tornando cada vez mais frequente.

Assim, o objetivo deste trabalho foi testar diferentes combinações de antioxidantes na busca de tentar minimizar a reação de escurecimento enzimático em batatas minimamente processadas.

5.2 Desenvolvimento

5.2.1 Revisão Bibliográfica

Existem diversos métodos de prevenção e inibição de escurecimento que podem ser adotados com relativo sucesso. Os conservantes que servem como antioxidantes são de grande importância no processo de prevenção das reações de escurecimento, bem como, nas descolorações dos pigmentos, perda do 'flavor', da textura e do valor nutricional, conseguindo desta forma prolongar a vida útil dos produtos processados.

A eficácia dos antioxidantes é dependente de diversos fatores, como espécie vegetal, pH do meio, atividade da água, temperatura, luz, tipo de atividade do sistema enzimático do produto, atmosfera gasosa do meio, etc. O uso dos antioxidantes deve ser feito de maneira segura para garantir a qualidade dos produtos comercializados durante o armazenamento e consumo (CANTWELL, 1992).

Mosalve-Gonzalez et al. (1993) verificaram os efeitos de diversos antioxidantes para inibir o escurecimento enzimático em fatias de maçã durante o armazenamento sob quatro temperaturas e observaram as soluções combinadas tem efeito inibitório maior do que o uso isolado de antioxidantes.

O ácido ascórbico utilizado isolado ou em conjunto com outros ácidos, como o ácido cítrico, é usado como antioxidante em frutas, vegetais e sucos, afim de prevenir reações oxidativas (BAUERNFEIND; PINKERT, 1970; ARAÚJO, 1999). O ácido ascórbico tem como característica agir como agente redutor, capaz de promover a redução química dos precursores do pigmento responsável pelo escurecimento. Além disso, o ácido ascórbico atua através da redução da *o*-benzoquinona a *o*-diidroxifenol ou pela inativação irreversível da PPO, sendo portanto consumido no processo. Adicionalmente, o ácido ascórbico remove O₂ do meio, convertendo-se a ácido dehidroascórbico, o qual promove a regeneração de antioxidantes, além de atuar sinergisticamente com agentes complexantes (ARAÚJO, 1999).

O ácido cítrico é um agente quelante que atua sinergisticamente com o ácido ascórbico e seus sais neutros, sendo capaz de complexar íons, como o cobre do centro ativo da PPO, inativando-os (ARAÚJO, 1999). É o principal ácido orgânico de frutas e vegetais (WILEY, 1994; GARDNER, 1966). A aplicação desse ácido, via imersão, associado a outros ácidos em batatas minimamente processadas, tem produzido resultados positivos (LAURILA; KERVINEN; AHVENAINEN, 2002; MATTILA; AHVENAINEN; HURME 1995).

O 4-hexilresorcinol é um antioxidante que tem ação inibitória específica, pois interage com a PPO, impedindo-a de catalisar as reações oxidativas, com bons resultados em maçãs, batatas e alface (MONSALVE-GONZÁLEZ et al., 1993; WHITAKER; LEE, 1995; CASTAÑER et al., 1996).

Luo e Barbosa-Cánovas (1996), ao estudarem os efeitos do ácido ascórbico e do 4-hexilresorcinol na conservação de maçã 'Red Delicious' minimamente processadas, relataram

que o uso conjunto dos dois produtos inibiram significativamente o escurecimento de fatias armazenadas a vácuo, e que apenas o ácido ascórbico não foi efetivo para evitar o escurecimento.

Luo e Barbosa-Canovas (1997) trabalharam com diversas cultivares de fatias de maçã e utilizando 4-hexilresorcinol em combinação com ácido ascórbico e cloreto de cálcio. Verificaram que o escurecimento foi inibido pelo ácido ascórbico e pela associação do ácido ascórbico com 4-hexilresorcinol.

A cisteína é um aminoácido sulfurado utilizado como conservante para prevenir o escurecimento. A cisteína contém um grupo tiol, com ação redutora e seu poder de inibição varia de acordo com a razão de concentração cisteína/fenólico (RICHARD-FORGET et al., 1992). Três diferentes mecanismos de atuação de cisteína são propostos: redução das *o*-quinonas a *o*-dihidroxifenóis (KAHN, 1989), inibição direta da atividade da PPO (DUDLEY; HOTCLKISS, 1989) e reação com *o*-quinonas dando origem a compostos incolores cis-quinona (RICHARD-FORGET et al., 1991).

A aplicação de aminoácidos sulfurados em combinação com outros agentes tem sido amplamente estudada. Segundo Gunes e Lee (1997), a combinação de 0,5% de cisteína com 2% de ácido cítrico em batatas minimamente processadas refrigeradas e embaladas numa atmosfera com injeção de nitrogênio permitiu a inibição do escurecimento e manutenção da qualidade por 3 semanas.

Batatas fatiadas, submetidas a tratamento de imersão em soluções com várias concentrações combinadas de 4-hexilresorcinol, N-acetilcisteína e ácido cítrico, e armazenadas a 5°C, permaneceram sem escurecimento ou perda de firmeza por mais de 21 dias (BUTA; MOLINE, 2001).

Pêras minimamente processadas também são produtos que requerem a aplicação de tratamentos de antioxidantes para controlar o escurecimento enzimático (GORNÝ; GIL; KADER 1998). Sapers e Miller (1998), trabalhando com pêra minimamente processada, relataram que o tratamento combinado de antioxidantes com atmosfera modificada reduziu o escurecimento e manteve a qualidade de frescor das cultivares Bartlett e d'Anjo por 14 dias.

5.2.2 Material e Métodos

Batatas cvs. Ágata, Asterix e Monalisa foram colhidas na região de Itapetininga-SP e levadas para o laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita do Departamento de Ciências

Biológicas da ESALQ/USP, onde foram selecionadas quanto à firmeza (utilizaram-se tubérculos firmes) e ausência de danos mecânicos e infecção fúngica. As batatas foram pré-lavadas em água corrente com o objetivo de retirar as impurezas vindas do campo (vide ANEXO A).

As etapas de processamento mínimo foram realizadas em câmara fria a 10°C, sobre mesa de aço inoxidável, devidamente higienizada. Os operadores utilizaram roupas protetoras (botas, aventais, luvas, máscaras e toucas), como parte das condições mínimas de assepsia.

As etapas de processamento constaram de:

- a) Descascamento: o produto foi descascado mecanicamente por descascadora industrial (Skymesen) com disco abrasivo para retirada da película externa dos tubérculos.
- b) Resfriamento rápido: os tubérculos foram imersas em água resfriada (5°C) por 2 minutos. A função desta imersão em água resfriada é reduzir a atividade metabólica do produto antes do processamento mínimo.
- c) Corte: as batatas foram cortadas na forma de cubos, por meio de uma processadora industrial (Robot Coupe) com disco de 1,0x1,0x1,0cm.
- d) Enxague e Sanitização: após o corte, o material foi enxaguado em água potável e sanitizado por 5 minutos em água clorada (200ppm de Dicloro-S- Triazinatriona Sódica Diidratada - SUMAVEG[®]), com o objetivo de reduzir riscos de contaminação.
- e) Centrifugação: realizada em centrífuga doméstica a 2200rpm durante 10 minutos para a retirada do excesso de umidade do produto.
- f) Pesagem e Embalagem: foram confeccionadas embalagens de 300g de batata minimamente processada. Os cubos foram colocados em filme plástico de nylon multicamadas a vácuo com dimensões 14x20cm de largura e comprimento, respectivamente.

Após a sanitização, realizou-se a imersão em soluções antioxidantes durante 3 minutos. Além do tratamento controle (T1), as soluções antioxidantes utilizadas foram: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1% (T2); ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T3); ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T4); ácido cítrico 2% + cisteína 0,5% (T5); ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6); cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7).

O período de armazenamento foi de 12 dias a 5°C e 85% de umidade relativa.

Para cada cultivar foi utilizado um delineamento experimental inteiramente ao acaso, em fatorial 7x5, sendo 7 tratamentos antioxidantes e 5 períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9 e 12

dias). Foram utilizados três repetições de 300g do produto minimamente processado por tratamento.

As variáveis analisadas foram: a) atividade da Fenilalanina amônia-liase –PAL (EC 4.3.1.5): foi determinada conforme metodologia modificada de Peixoto et al. (1996). Para reação foi misturado 1mL de extrato, 1mL tampão borato 0,2M e 1mL fenilalanina. Após 60 minutos em banho-maria a 36°C, acrescentou-se 0,1mL de HCl 6N, para cessar a reação enzimática. A determinação foi realizada em espectrofotômetro com leitura a 290nm. Os resultados foram expressos em mmoles min^{-1} . b) atividade da Polifenoloxidase –PPO (EC 1.14.18.1): A atividade da PPO foi determinada através do método descrito por Cano et al. (1997). A mistura de 0,3mL do extrato bruto, 1,75mL de solução tampão fosfato de sódio 0,05M pH 6 e 0,05mL de solução de catecol 0,1M foi incubada a 30°C por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,7mL de ácido sulfúrico 5% para a parada da reação enzimática (adaptado de KRUGER, 2003) e a absorbância medida foi 395nm. Os resultados foram expressos em $\mu\text{Moles de catecol transformado min}^{-1} \text{ g}^{-1}$. c) atividade da Peroxidase –POD (EC 1.11.1.9): foi determinada conforme metodologia adaptada de Lima (1994). Para a reação foi misturado 0,2 mL do extrato enzimático concentrado com 0,5mL de solução de aminoantipirina e fenol e 0,5mL de solução de peróxido de hidrogênio 29%, ambas diluídas em água deionizada. A determinação foi realizada em espectrofotômetro com leitura a 505nm. Os resultados foram expressos em $\mu\text{Moles de H}_2\text{O}_2 \text{ decomposto min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ d) proteínas solúveis: foi determinada para cálculo da atividade específica das três enzimas avaliadas. O teste de Bradford (1976) foi empregado para quantificação do conteúdo total de proteínas nas amostras. Para tanto, foram adicionados a cada 0,1mL do sobrenadante, sob agitação, 5mL do reagente de Bradford. Após 5 min, foi efetuada a leitura da absorbância a 595nm em espectrofotômetro. e) teor de fenóis totais: conforme adaptação de Lu e Foo (1997) através do método de Folin-Ciocalteu, onde retirou-se 0,1mL de cada extrato e dilui-se com água destilada 50mL. Retirou-se uma alíquota de 0,5mL. A alíquota foi adicionada a 4 mL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu 10% e 4mL de carbonato de cálcio 7,5%. Deixou-se 60 minutos em banho-maria a 30°C e 60 minutos a 0°C. Procedeu-se de forma semelhante para a solução-padrão de dopamina e o branco. A determinação foi realizada em espectrofotômetro com leitura a 760nm. Os resultados foram expressos em $\text{mg dopamina } 100\text{g}^{-1} \text{ massa fresca}$.

Os resultados das análises foram submetidos à análise de variâncias. As médias foram comparadas pelo teste de diferença mínima significativa por meio de testes de comparações

múltiplas de médias, onde as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois desvios padrões foram consideradas significativas (SHAMAILA; POWRIE; SKURA, 1992).

5.2.3 Resultados e Discussão

Na figura 1A verifica-se que batatas ‘Ágata’ tratadas com ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) apresentaram os menores valores de atividade de PAL durante 12 dias de armazenamento.

As batatas ‘Asterix’ tratadas com soluções antioxidantes de ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T3), ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T4) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) obtiveram os menores valores de PAL durante todo armazenamento. Também foi verificado para todos os tratamentos desta cultivar um aumento gradual na atividade da PAL até o 9º dia com subsequente redução (Figura 1B).

A cultivar Monalisa apresentou os menores valores de atividade da PAL para as combinações de ácido cítrico 2% + cisteína 0,5% (T5), ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6); cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7), sendo que dentre as cultivares estudadas essa cultivar apresentou os maiores valores de PAL independente do tratamento. Foi verificado para batatas ‘Monalisa do tratamento controle (T1) um declínio na atividade da PAL após o 3º dia de armazenamento. Os demais tratamentos apresentaram um comportamento mais constante durante todo armazenamento (Figura 1C).

A fenilalanina é um importante intermediário na formação da maioria dos compostos fenólicos. A PAL, situada nas ramificações entre os metabolismos primário e secundário, é a enzima responsável pela catalisação dessa etapa reguladora. A atividade da PAL é aumentada em condições de estresse (TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001). Esse aumento provoca aumento na concentração de compostos fenólicos, os quais são substratos das enzimas oxidativas, como a PPO e POD (JONES, 1984).

A resposta inicial de estresse em alfaves é a síntese *de novo* ou aumento da atividade da PAL (CAMPOS-VARGAS et al. 2004).

Como pode ser observado na figura 1, o tratamento controle na cv. Monalisa apresentou o dobro de atividade inicial da PAL quando comparada ao controle das demais cultivares. Este comportamento possivelmente seja devido a indução sequencial de RNAm desta enzima (ISHIZUKA et al., 1984) e/ou aos altos níveis latentes pré-existentes nos tecidos da cv. Monalisa.

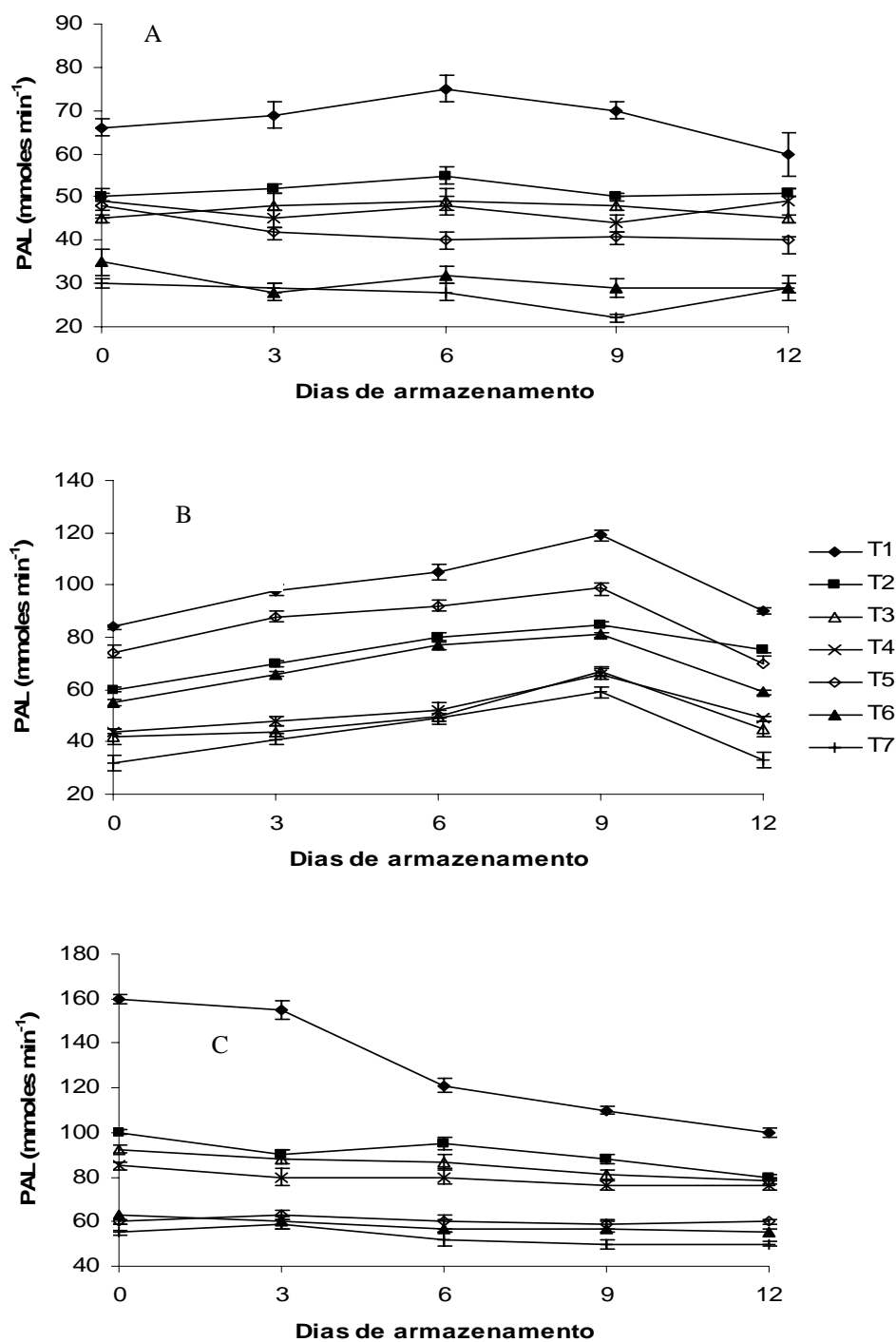


Figura 1- Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) em batatas cv. Ágata (A), Asterix (B) e Monalisa (C) minimamente processadas. As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3). T1: controle, T2: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1% , T3: ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T4: ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T5: ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%, T6: ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e T7: cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%

Os tratamentos, nas batatas 'Ágata', com as combinações de ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) foram mais eficazes na inibição da POD, que se apresentava 1,7 e 1,4 vezes menor do que a média dos demais tratamentos, no dia do processamento e após 12 dias de armazenamento, respectivamente. Foi verificado que esta cultivar obteve os menores valores de POD, dentre as cultivares estudadas e independente dos tratamentos (Figura 2A).

Para batatas 'Asterix' verificou-se um leve aumento da POD, durante todo armazenamento, em todos os tratamentos analisados. As batatas 'Asterix' tratadas com soluções antioxidantes de ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T3), ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T4) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) obtiveram os menores valores de POD durante todo armazenamento (Figura 2B).

As batatas 'Monalisa' apresentaram os menores valores de atividade da POD para as combinações de ácido cítrico 2% + cisteína 0,5% (T5), ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6); cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7), sendo que dentre as cultivares estudadas essa cultivar apresentou os maiores valores de POD independente do tratamento. Foi verificado aumento da POD, no 6º e 12º dia de armazenamento, para todos os tratamentos dessa cultivar (Figura 2C).

A peroxidase, enzima indicadora de senescência de vegetais é importante do ponto de vista nutricional, de coloração e de sabor. A atividade desta enzima pode levar à destruição da vitamina C e descoloração de carotenóides e antocianinas, além de catalisar a degradação de ácidos graxos insaturados, com conseqüente formação de compostos voláteis que conferem sabor oxidado. A atividade dessa enzima pode ser constatada quando ocorre algum fermento ou estresse fisiológico (LAMIKANRA, 2002).

Os altos valores de POD encontrados neste trabalho confirmam a indução da atividade desta enzima em resposta a situações de estresse. Além disso, como não foi verificado a formação de pontuações escuras nas batatas submetidas ao tratamento com soluções antioxidantes, sugere-se que a peroxidase não esteja ligada ao escurecimento enzimático. Segundo Garcia & Barrett (2002), embora a peroxidase possa, também, contribuir para o escurecimento enzimático, sua função ainda continua questionável.

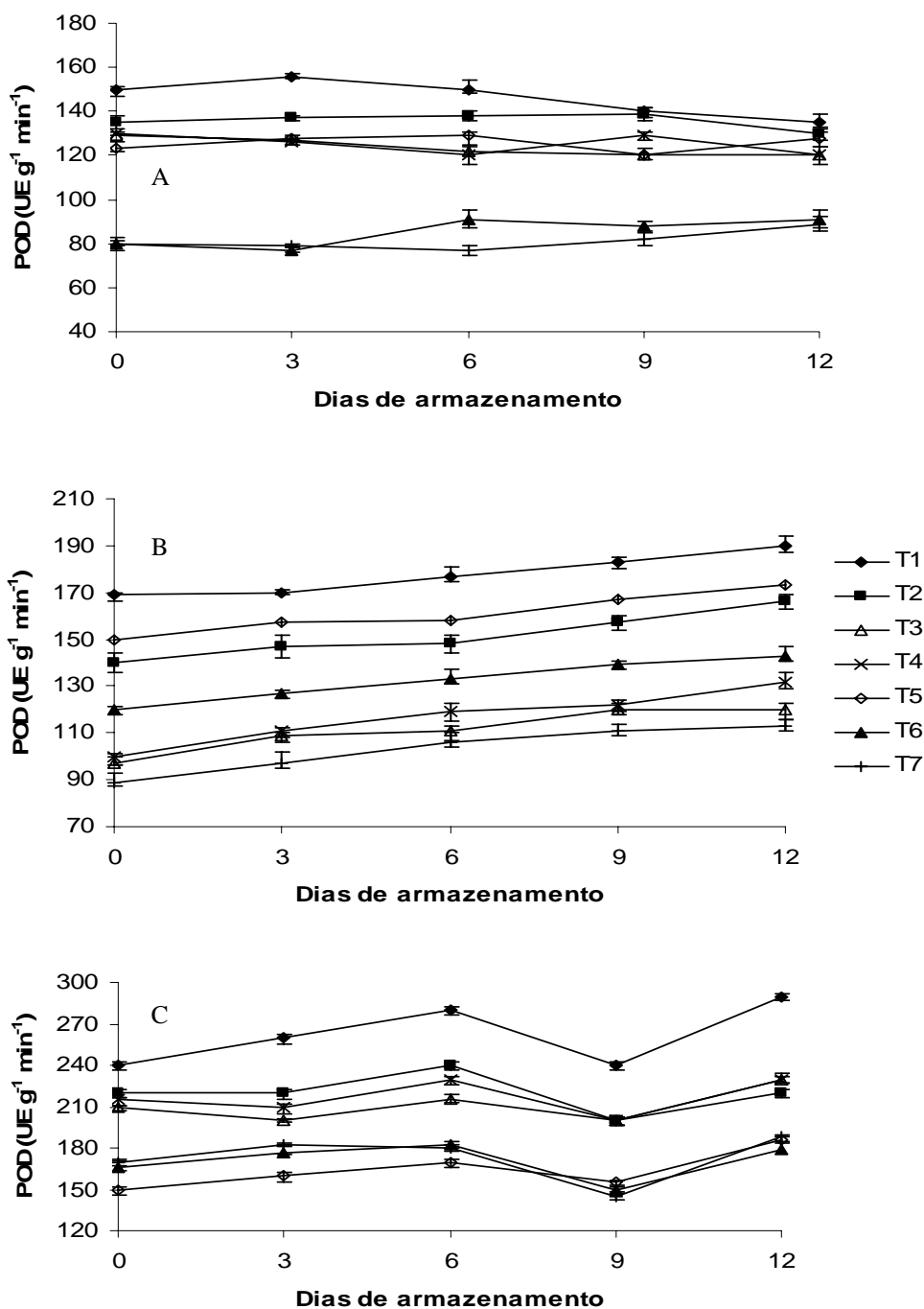


Figura 2- Atividade da peroxidase (POD) em batatas cv. Ágata (A), Asterix (B) e Monalisa (C) minimamente processadas. As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3). T1: controle, T2: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1% , T3: ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T4: ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T5: ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%, T6: ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e T7: cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%

As batatas 'Ágata' tratadas com ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) apresentaram os menores valores de PPO durante o armazenamento, sendo que este comportamento é semelhante ao da atividade da PAL e POD para a referida cultivar. Assim como, esta cultivar também obteve os menores valores de PPO, entre as cultivares estudadas e independente do tratamento (Figura 3A).

Na figura 3B, observa-se valores muito próximos de atividade da PPO para todos os tratamentos com combinações de antioxidantes. Para batatas 'Asterix' no tratamento controle (T1) foi verificado aumento da atividade da PPO apenas no 12º dia de armazenamento.

A cv. Monalisa obteve os maiores valores de PPO no tratamento controle quando comparada ao controle das demais cultivares. Os tratamentos que continham cisteína (T5, T6 e T7) na solução antioxidantes foram os que apresentaram os menores valores de atividade de PPO para esta cultivar (Figura 3C).

Pineli et al. (2005) verificaram que batatas 'Ágata' minimamente processadas tratadas com diferentes combinações de antioxidantes (3% ácido cítrico + 5% ácido eritórbico) e armazenadas em atmosfera modificada ativa tiveram controle mais eficaz na atividade da POD e PPO do que o uso combinado ou isolado de antioxidantes associado a atmosfera passiva.

Almeida (2005) estudando batatas 'Bintje' minimamente processadas não observou diferença significativa entre o tratamento controle e de ácido cítrico 2% para a atividade da POD. No mesmo estudo o uso de antioxidantes isolados (ácido cítrico 2% e eritórbico 3%) reduziram os valores de PPO em relação ao controle.

Gunes e Lee (1997) observaram que a mistura de 0,5% de L-cisteína e 2% de ácido cítrico apresentou o melhor resultado em relação ao valor L (intensidade de cor) em batatas descascadas, quando comparadas com outras substâncias antioxidantes. Rocculi et al. (2007) em estudo com batatas minimamente processadas também verificaram que os tratamentos com cisteína apresentaram alto poder de redução no escurecimento enzimático. Assim como, os resultados encontrados neste trabalho para a cultivar Monalisa.

Os resultados apresentados nas Figuras 1, 2 e 3 mostram que os menores valores de atividade enzimática, nas diferentes cultivares, foram sempre para os mesmos tratamentos, independente do tipo de enzima verificado (PAL, POD ou PPO).

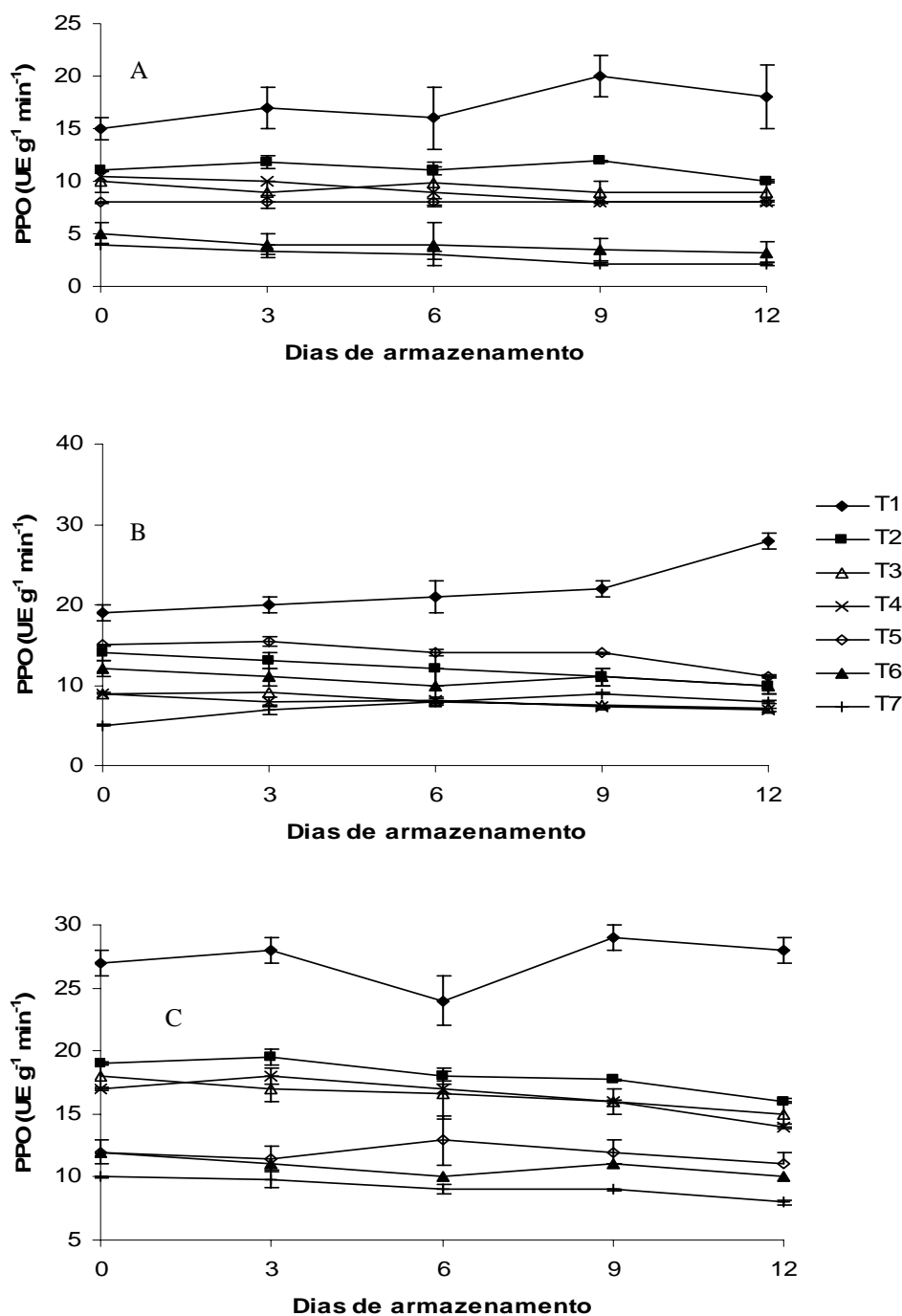


Figura 3- Atividade da polifenoloxidase em batatas (PPO) cv. Ágata (A), Asterix (B) e Monalisa (C) minimamente processadas. As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3). T1: controle, T2: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1% , T3: ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T4: ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T5: ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%, T6: ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e T7: cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%

Na figura 4, observa-se que os teores de fenóis totais forma menores para os tratamentos com misturas que continham 4-hexilresorcinol e cisteína nas cultivares Asterix e Monalisa, respectivamente. Já para as batatas 'Ágata' os melhores resultados obtidos foram para os tratamentos de ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7).

Os compostos fenólicos são metabólicos secundários produzidos pelas plantas sem apresentarem função direta no seu crescimento e desenvolvimento (STRACK, 1997). Também, podem estar envolvidos na regulação do crescimento dos tubérculos, na resistência a doenças e pragas, e no metabolismo de plantas inferiores estressadas fisiologicamente e/ou mecanicamente (TALBURT; SCHWIMMER, BURR 1975; MONDY; CHANDRA, EVANS 1985; TORRES; MAU-LASTOVICKA, REZAAIYAN,1987).

Durante as operações de descascamento e corte, os substratos fenólicos são oxidados pelas enzimas oxidativas (PPO e POD) dando origem as quinonas, que se polimerizam e combinam-se com grupos aminos ou sulfidricos das proteínas e dos açúcares redutores e formam pigmentos escuros de alto peso molecular denominados melaninas (ARAÚJO, 1995).

Mondy; Chandra e Evans (1985) e Dao e Friedman (1992) relataram que as concentrações de fenóis variam entre 100 a 900 mg dopamina 100g⁻¹ de peso úmido de batata. Portanto as concentrações encontradas no trabalho estão dentro da faixa de variação, sendo uma característica não desejada, pois os compostos fenólicos são substratos para as enzimas, responsáveis pelo escurecimento.

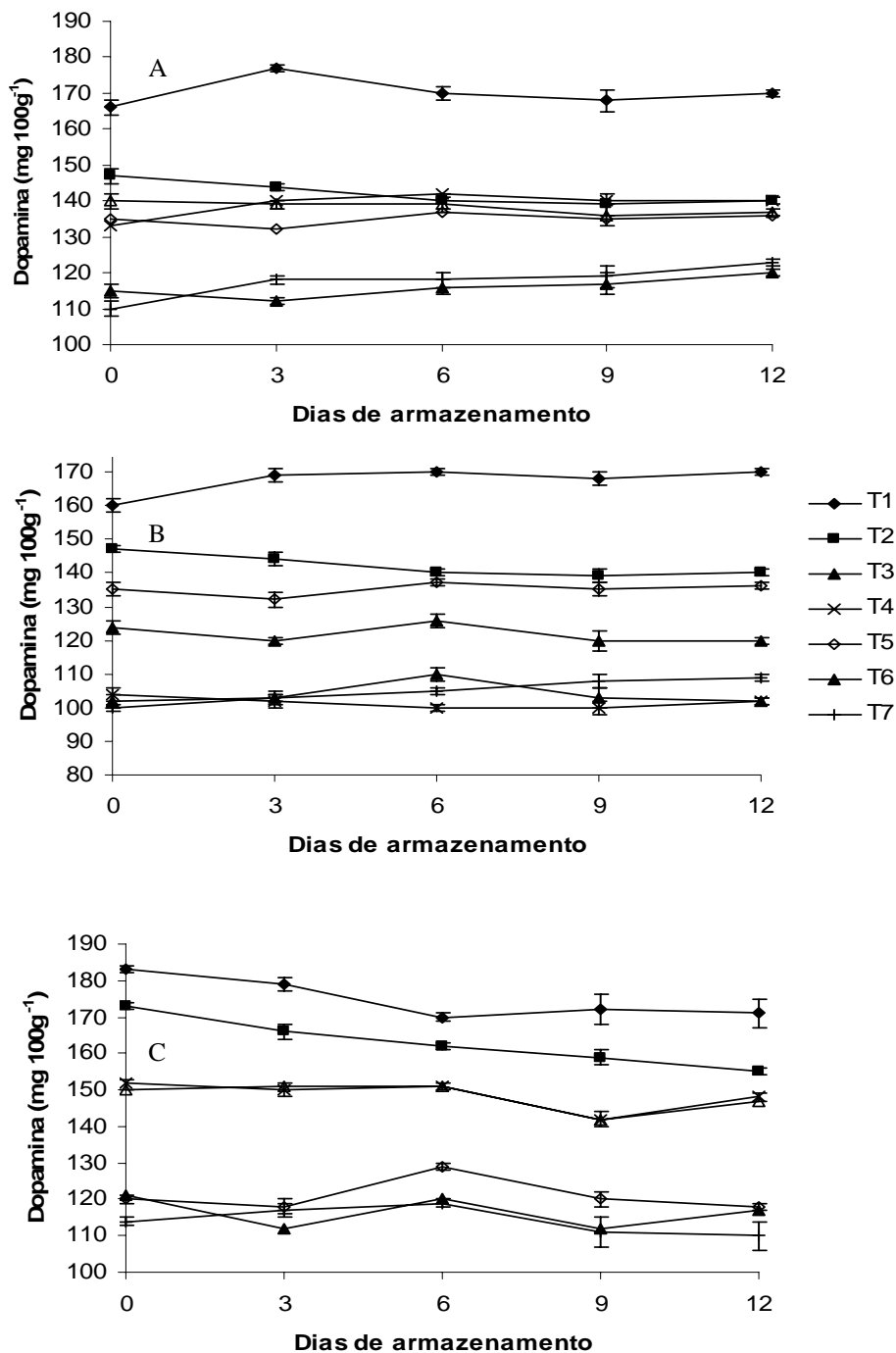


Figura 4- Teor de fenóis totais em batatas cv. Ágata (A), Asterix (B) e Monalisa (C) minimamente processadas. As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3). T1: controle, T2: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1% , T3: ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T4: ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T5: ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%, T6: ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e T7: cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%

Batatas ‘Ágata’ apresentaram acúmulo de água no produto e perda de vácuo constatado visualmente em todos os tratamentos estudados, a partir do 6º dia de armazenamento. Notou-se uma maior perda de água nos tratamentos combinados em relação ao tratamento controle (Figuras 5 e 6A).

Para a cultivar Asterix os melhores tratamentos foram T3, T4 e T7. Todos continham 4-hexilresorcinol na solução antioxidante. Notou-se acúmulo de água no interior das embalagens do tratamento T4 e T7 (Figura 6B).

Observou-se, visualmente, para batatas ‘Monalisa’ que os tratamentos mais escurecidos foram o T1 e T2. A melhor aparência visual foi obtida pelos tratamentos T5, T6 e T7 sendo que todos continham cisteína como uma das soluções antioxidantes. Também foi verificado no tratamento T7 grande acúmulo de água interior da embalagem e perda do vácuo (Figura 6C).

O acúmulo de água no interior das embalagens de batatas ‘Ágata’ e ‘Monalisa’ provavelmente está relacionado com o alto teor centesimal (88% e 85%, respectivamente) deste componente nas referidas cultivares (PINELI et al., 2006).



Figura 5-Aspecto visual de batatas cv. Ágata minimamente processadas após 6 dias de armazenamento. T1: controle e T7: cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%.

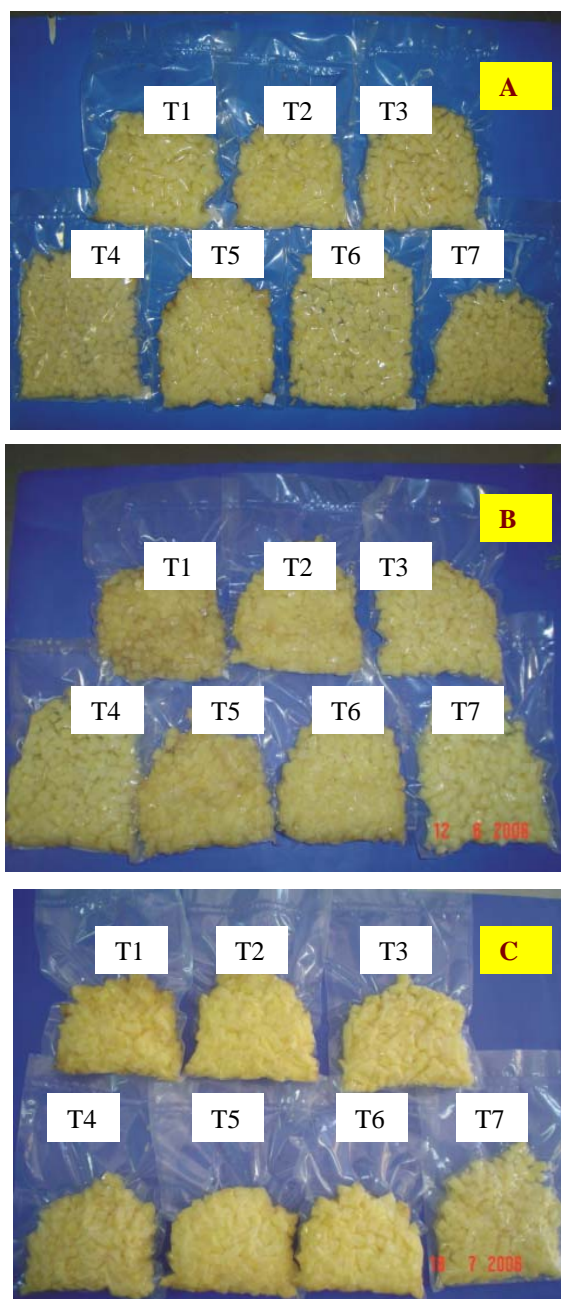


Figura 6- Aspecto visual de batatas cv. Ágata (A), Asterix (B) e Monalisa (C) minimamente processadas após 12 dias de armazenamento. T1: controle, T2: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1% , T3: ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T4: ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T5: ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%, T6: ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e T7: cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%

Provavelmente, a cv. Asterix deve ter menor conteúdo de PAL latente em relação à 'Monalisa'. Devido o antioxidante 4-hexilresorcinol apresentar uma ação inibitória específica, interagindo diretamente com a PPO é eficaz na redução do escurecimento em 'Asterix'. Por outro lado, como ficou constatado uma alta atividade inicial da PAL na cv. Monalisa pressupõe-se que a mesma tenha um maior conteúdo de PAL latente. Neste caso, o antioxidante cisteína é mais eficiente para este genótipo, pois apresenta diferentes formas de atuação antioxidante.

5.3 Considerações finais

No presente estudo, a cultivar Monalisa obteve os maiores teores de fenóis totais e atividades enzimáticas independente do tratamento. Portanto, o uso de batatas 'Monalisa' não é indicada na forma minimamente processada. As cultivares Ágata e Asterix apresentaram menor escurecimento. De maneira geral, independente da cultivar testada o melhor tratamento foi a associação de cisteína 0,5%+4-hexilresorcinol 0,01% (T7).

Vários métodos podem ser utilizados para controlar a atividade de enzimas ligadas ao escurecimento. O uso de soluções antioxidantes tem efeitos significativos nos processos bioquímicos em batatas minimamente processadas. A utilização de soluções combinadas de antioxidantes é eficaz na redução de escurecimento enzimático. Soluções combinadas com cisteína e 4-hexilresorcinol apresentam grande potencial de utilização na indústria de batatas, mas fazem-se necessários estudos com outras cultivares e soluções combinadas de antioxidantes.

Referências

ALMEIDA, G.C. **Qualidade de batatas palito minimamente processadas**. 2005. 119p. Dissertação (Mestre em Ciências)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

ARAÚJO, J.M. de A. **Escurecimento enzimático em alimentos**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1995. 14p.

ARAÚJO, J. M. **Química de alimentos** – teoria e prática. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 416 p.

ARTES, F.; CASTAÑER, M.; GIL; M.I. El pardeamiento enzimático en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. **Food Science and Technology International**, Chicago, v.4, n.6, p.377-389, 1998.

BAUERFEIND, J. C.; PINKERT, D. M. Food processing with added ascorbic acid. **Advances in Food Research**, n.18, p.220-315, 1970.

- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.72, n. 1, p.248-254, 1976.
- BUTA, J. G.; MOLINE, H. E. Prevention of browning of potato slices using polyphenol oxidase inhibitors and organic acids. **Journal of Food Quality**, Wastport, v.24, n.4, p.271-282, 2001.
- CAMPOS-VARGAS, R., NONOGAKI, H., SUSLOW, T., SALTVEIT, M.E. Isolation and characterization of a wound inducible phenylalanine ammonia-lyase gene (LsPAL1) from Romaine lettuce leaves. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 121, n. 2, p. 429–438, 2004.
- CANO, M.P.; DE ANCOS, B.; MATAALLANA, M.C.; CAMARA, M.; REGLERO, G.; TABERA, J. Differences among spanish and latin-american banana cultivars: morphological, chemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, Washington, v.59, n.3, p. 411-419, 1997.
- CANTOS, E.; ESPÍN, J.E.; TOMAS-BARBERAN, F.A. Effect of wounding on phenolic enzymes in six minimally processed lettuce cultivars upon storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.49, n.2, p.322-330, 2001.
- CANTOS, E.; TUDELA, J.A.; GIL, M.I.; ESPIN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh cut potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.50, n.1, p.3015-3023, 2002.
- CANTWELL, M. Postharvest handling systems: minimally processed fruits and vegetables. In: KADER, A.A. (Ed.) **Postharvest technology of horticultural crops**. 2nd ed. Davis: University of California, 1992. cap.32, p.277-281.
- CASTAÑER, M.; GIL, M. I.; ARTÉS, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Inhibition of browning of harvested head lettuce. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n.2, p.314-316, 1996.
- CHOI, Y.J.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; SALTVEIT, M.E. Wound-induced phenolic accumulation and browning in lettuce (*Lactuca sativa* L.) leaf tissue is reduced by exposure to *n*-alcohols. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 37, n. 4, p.47–55, 2005.
- GARDNER, W. H. **Food acidulants**. New York: Allied Chemistry, 1996. 44p.
- DAO, L.; FRIEDMAN, M. Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 40, n.11, p. 2152 – 2158, 1992.
- DUDLEY, E. D.; HOTCHKISS, J. H. Cystein as an inhibitor of polyphenol oxidase. **Journal of Food Biochemistry**, Magalia, v.13, n.7, p.65-69, 1989.
- GARCIA, E.; BARRETT, D. M. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. In: LAMIKANRA, O. **Fresh-cut fruits and vegetable**. Florida: CRC PRESS, 2002. cap. 13, p. 268-303.

GORNY, J. R.; GIL M.I.; KADER, A.A. Postharvest physiology and quality maintenance of fresh-cut pears. **Acta horticulturae**, Leuven, v. 2, n. 3, p.197-199, 1998.

GUNES,G.; LEE, C.Y. Color of minimally processed potatoes as affected by modified atmosphere packing and antibrowning agents. **Journal of Food Quality**, Wastport,v. 582, n.4, p.572-575, 1997.

HYODO, H.; TANAKA, K.; SUZUKI, T.; Wound induced ethylene synthesis and its involvement in enzyme induction in mesocarp tissue of *Curcubita maxima*. **Postharvest Biological and Technology**, Amsterdam, v.1, n. 3, p. 127 – 136, 1991.

ISHIZUKA, M.; YAMADA, F.; TANAKA, Y.; TAKEUCHI, Y.; TMASEKI, H. Sequential induction of mRNA for phenylalanine ammonia-lyase in slices of potato tuber. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v.32, p.57-64, 1991.

JONES, H. D. Phenylalanine ammonia lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry**, New York, v.23, n.1, p. 1349-1355, 1984.

KAHN, V. Effect of proteins, protein hydrolyzates and amino acids on o- dihydroxyphenolase activity of polyphenoloxidase of mushroom, avocado and banana. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, n. 1, p.111-115 1985.

KETSA, S.; ATANTEE, S. Phenolics, lignin, peroxidase activity and increased firmness of mangosteen fruit after impact. **Postharvest Biological and Technology**, Amsterdam, v.14 , n. 4, p. 117 – 124, 1998.

KRUGER, F.G.Q. **Adubação mineral, orgânica e biodinâmica de Yacon (*Polymnia sonchifolia* POEP&ENDL): rendimento, qualidade e armazenamento**. 2003. 211p. Tese (Doutor em Agronomia). Faculdade de Ciências Agronômicas -Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2003.

LAMIKANRA, O. Fresh-cut fruits and vegetables: Science, Technology, and market. Boca Raton: CRC Press. 2002.449p.

LAURILA, E. K.; KERVINEN, R.; AHVENAINEN, R. **The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetables and fruits**. VTT Biotechnology and Food Research. Finland, 2002. <http://hort.cabweb.org/Postharv/Reviews/Laurila.htm>. Acesso em 28 out . 2006.

LIMA, G. P.P. **Efeito do cálcio sobre o teor de poliaminas e atividade da peroxidase e redutase do nitrato em calos de arroz (*Oriza sativa* L. cv. IAA 4440)**. 1994. Tese (Doutor em Ciências). Instituto de Biociências- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 1994.

LU, Y.; FOO, L.Y. Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. **Food Chemistry**, Guildford, v.59, n.2, p.187-194, 1997.

LUO, Y. BARBOSA-CANOVAS, G.V. Enzymatic browning and its inhibition in new apple cultivars slices using 4-hexylresorcinol in combination with ascorbic acid.

Food Science and Technology International, Chicago, v.3, n.3, p. 195-201, 1997.

LUO, Y.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Preservation of apple slices using ascorbic acid and 4-hexilresorcinol. **Food Science and Technology International**, Chicago, v.2, n.5, p.315-321, 1996.

MATTILA, M.; AHVENAINEN, R.; HURME, E. Prevention of browning of pre-peeled potato. In: BAERDEMAEKER, J. de; MCKENNA, B.; JANSSENS, M; THOMPSON, A.; ARTÉS CALERO, F.; HÖHN, E.; SOMOGYI, Z. (Ed.) Post harvest treatment of fruit and vegetables. In: Workshop on systems and operations for post harvest quality. Leuven, Belgium: 14-15 September 1993. Commission of the European Communities. **Proceedings...** 1995. p. 225-234.

MONDY, N. I.; CHANDRA, S.; EVANS, W. D. Enzymatic discoloration and phenolic content of potato tubers from cultivars resistant and susceptible to the golden nematode. **American Potato Journal**, Orono, v. 62, n. 5, p. 207 - 213, 1985.

MONSALVE-GONZÁLEZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; CAVALIERI, R. P.; MCEVILY, A.; IYENGAR, R. Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods. 4- hexylresorcinol as anti-browning agent. **Journal of Food Science**, Chicago, v.58, n. 1, p.797-800, 1993.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminium effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.11, n.3, p.137-143, 1999.

PINELI, L.L.O; MORETTI, C.L.; ALMEIDA, G.C.; NASCIMENTO, A.B.G.; ONUKI, A.C.A. Associação de atmosfera modificada e antioxidantes reduz o escurecimento de batatas Ágata minimamente processadas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.993-999, 2005.

PINELI, L.L.O; MORETTI, C.L.; ALMEIDA, G.C.; SANTOS, J.Z.; ONUKI, A.C.A.; NASCIMENTO, A.B.G. Caracterização química e física de batatas ágata e monalisa minimamente processadas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.1, p. 127-134, 2006.

RICHARD-FORGET, F.C.; GOUPY, P.M.; NICOLAS, J.J. Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning. 2. kinetic studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 40, n. 11, p. 2.108-2.113, 1992.

RICHARD-FORGET, F.C.; GOUPY, P.M.; NICOLAS, J.J.; LACOMBE, J-M; PAIVA, A.A. Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning. 1. isolation and characterization of addition compounds formed during oxidation of phenolics by apple polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 39, n. 5, p. 841-847, 1991.

ROCCULI, P.; GALINDO, F.G.; MENDOZA, F.; WADS, L.; ROMANI, S.; ROSA, M. D.; OHOLM, I.S. Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 43, n.1, p.151–157, 2007.

SAPERS, G. M.; MILLER, R. L. Control of enzymatic browning in pre-peeled potatoes by surface digestion. **Journal of Food Science**, Chicago, v.58, n.3, p.1076-1078, 1993.

SAPERS, G.M.; MILLER, R.L. Browning inhibition in fresh-cut pears. **Journal of Food Science**, Chicago, v.63, n.2, p. 342-346, 1998.

SHAMAILA, M.; POWRIE, W.D.; SKURA, B.J. Sensory evaluation of strawberry fruit stored under modified atmosphere packaging (MAP) by quantitative descriptive analysis. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n.1, p.1168-1172, 1992.

SMITH, O. **Potatoes: production, storing, processing**. Westport: The Avi Publishing, 1977. 121p.

STRACK, D. Phenolic metabolism. In: DEY, P.M.; HARBOME, J.B. (Ed.) **Plant Biochemistry**. London: Academic Press, 1997. p. 387-416.

TALBURT, W.F; SCHWIMMER, S.; BURR, K. Structure and chemical composition of potato tuber. In: TALBURT, W.F.; SMITH, O. (Ed.) **Potato Processing**. Westport: The Avi Publishing, 1975. 75p.

TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; ESPÍN, J.E. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 81, n. 7, p. 853-876, 2001.

TORRES, A. M.; MAU-LASTOVICKA, T.; REZAAIYAN, R. Total phenolics and high-performance liquid chromatography of phenolic acids of avocado. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 35, n. 6, p.921-925 , 1987.

WHITAKER, J. R.; LEE, C. Y. Recent advances in chemistry of enzymatic browning, In: LEE, C. Y.; WHITAKER, J. R. (Ed.). **Enzymatic browning and its prevention**. Washington DC: ACS Symposium Series, 1995. chap. 4. p.2-7.

WILEY, R.C. **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables**. New York: Chapman & Hall, 1994. 368p.

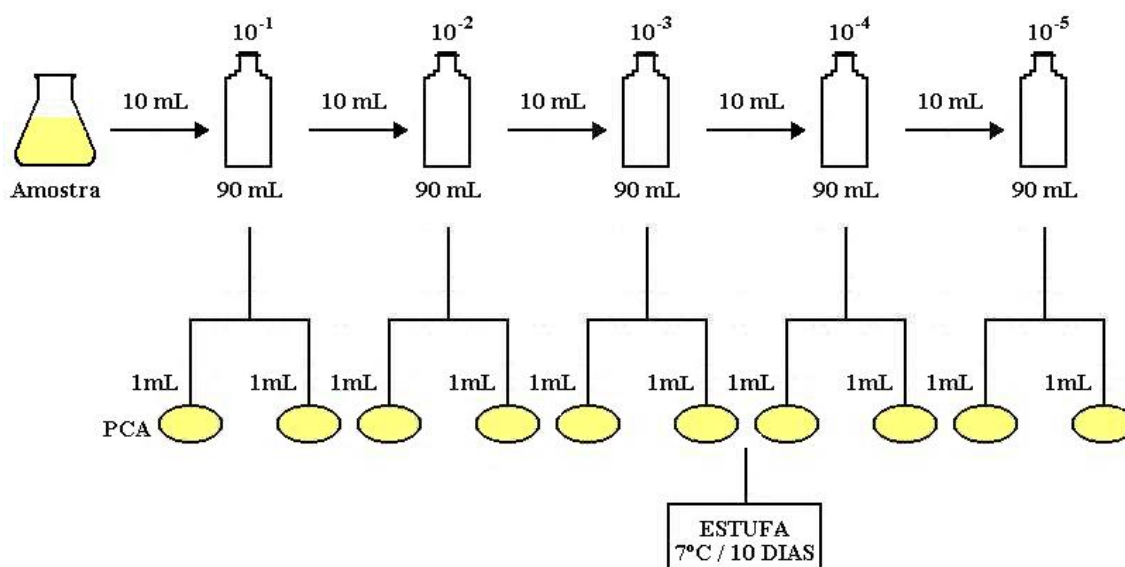
ANEXOS

ANEXO A – Sequência de processamento mínimo de batata





ANEXO B – Procedimentos para contagem de bactérias psicrotróficas



ANEXO C – Procedimento para contagem de coliformes totais e coliformes a 45°C

