

ARIANA MOTA PEREIRA

**QUALIDADE DA BATATA CV. INNOVATOR DESTINADA À INDÚSTRIA DE
PROCESSAMENTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Fernando Luiz Finger

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2019**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P436q
2019 Pereira, Ariana Mota, 1991-
 Qualidade da batata cv. Innovator destinada à indústria de
 processamento / Ariana Mota Pereira. – Viçosa, MG, 2019.
 61 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Fernando Luiz Finger.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Batata - Fisiologia pós-colheita. 2. Batata -
Armazenamento. 3. Batata - Resfriamento. 4. Batata - Perdas
pós-colheita - Prevenção. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia. II. Título.

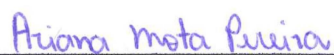
CDD 22. ed. 635.2168

ARIANA MOTA PEREIRA

**QUALIDADE DA BATATA CV. INNOVATOR DESTINADA À INDÚSTRIA DE
PROCESSAMENTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 16 de julho de 2019.



Ariana Mota Pereira

Autora



Fernando Luiz Finger

Orientador

AGRADECIMENTOS

Obrigada a todos que de alguma forma puderam contribuir para a finalização de mais essa etapa em minha vida.

De modo especial quero agradecer aos meus pais João Bosco Pereira de Souza e Nilza da Silva Mota Pereira e minha irmã Larissa Mota Pereira pelo apoio e carinho.

Ao meu namorado Mateus de Paula Gomes pelo companheirismo e amor.

A toda minha família, em especial às minhas avós.

Ao professor Fernando Luiz Finger, meu orientador, pela oportunidade, apoio, ensinamento e confiança.

Ao professor Edgard Picoli pela ajuda e ensinamento.

À Universidade Federal Viçosa (UFV), Departamento de Fitotecnia e Programa de Pós - Graduação em Fitotecnia pela oportunidade de realização desse curso e ao Conselho Nacional Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

À equipe do Laboratório de Pós - Colheita pelo apoio e amizade.

Aos amigos pelo companheirismo e por tornar os dias mais alegres, em especial a Ana Izabella, Camila, Dreice, Gessica, Jessica, Kharen, Luciana, Maria Eduarda, Patricia e Renata.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	7
REFERÊNCIAS.....	9
CAPÍTULO I - TEMPERATURA E TEMPO DE ARMAZENAMENTO AFETAM A QUALIDADE DA BATATA CV. INNOVATOR PARA O PROCESSAMENTO	
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	15
4. CONCLUSÃO.....	21
5. REFERÊNCIAS.....	21
CAPÍTULO II - QUALIDADE DE BATATA CV. INNOVATOR SUBMETIDO AO ARMAZENAMENTO MAIS RECONDICIONAMENTO	
RESUMO.....	24
ABSTRACT.....	25
1. INTRODUÇÃO.....	26
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	29
4. CONCLUSÃO.....	34
5. REFERÊNCIAS.....	34
CAPÍTULO III - DANO MÊCANICO E TEMPERATURA DE CURA NA QUALIDADE DE BATATA CV. INNOVATOR	
RESUMO.....	37
ABSTRACT.....	38
1. INTRODUÇÃO.....	39
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
4. CONCLUSÃO.....	58
5. REFERÊNCIAS.....	58

RESUMO

PEREIRA, Ariana Mota, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2019. **Qualidade da batata cv. Innovator destinado à indústria de processamento**. Orientador: Fernando Luiz Finger.

Para aumentar a autonomia das indústrias de processamento de batata no Brasil é preciso realizar o armazenamento refrigerado prolongado para o fornecimento do produto de acordo com a demanda. No entanto, a exposição dos tubérculos a baixas temperaturas podem ocasionar o escurecimento enzimático e não enzimático, devido ao metabolismo de carboidratos e das enzimas oxidativas, tornando os tubérculos inadequados para a indústria de batata pré-frita. Essas alterações fisiológicas variam com a cultivar, temperatura e tempo de armazenamento e podem ser revertidos com o acondicionamento dos tubérculos em temperaturas mais elevadas. Outro problema das indústrias são os danos mecânicos nas etapas de pós-colheita por ocasionar elevadas perdas, que podem ser reduzidas com a cura dos tubérculos. Para que a cura mantenha a qualidade para a indústria, a temperatura utilizada deve permitir boa regeneração da periderme de dano e não causar escurecimento enzimático e não enzimático. Diante disso, foram realizados três experimentos. O primeiro avaliou os efeitos da redução da temperatura e do tempo de armazenamento na qualidade dos tubérculos cv. Innovator destinados à fritura. Os tubérculos foram armazenados a 6, 7 e 8 °C por 150 dias. A redução da temperatura de armazenamento para 6 °C prolongou o período de dormência, reduziu a perda de massa fresca, aumentou o teor de açúcares redutores e o escurecimento não enzimático. No segundo experimento determinou-se a eficiência do armazenamento mais acondicionamento, onde os tubérculos foram armazenados a 6, 7 e 8 °C por 30, 60, 90, 120 e 150 dias e acondicionados a 15 °C por 15 dias. A redução da temperatura de armazenamento seguido de acondicionamento não retardou o início da brotação, mas reduziu o tamanho dos brotos, manteve os níveis de açúcares adequados mas promoveu o escurecimento não enzimático. O terceiro experimento foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito do dano mecânico e temperatura de cura nas alterações cito e histológicas, metabolismo de carboidratos e atividade de enzimas oxidativas. Os tubérculos do tratamento sem dano mecânico (controle) e com dano mecânico por escoriação foram submetidos à cura a 8, 14 e 20 °C por 15 dias. O estímulo físico decorrente do dano mecânico desencadeou a formação do felogênio traumático e a regeneração da periderme de dano foi mais rápida nas temperaturas mais elevadas, levando a menor taxa de perda de massa fresca e não ocasionou escurecimento enzimático e não enzimático.

ABSTRACT

PEREIRA, Ariana Mota, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2019. **Quality of potato cv. Innovator for the processing industry.** Adviser: Fernando Luiz Finger.

In order to increase the autonomy of the potato processing industries in Brazil, it is necessary to carry out extended refrigerated storage to supply the product according to the demand. However, exposing the tubers to low temperatures may cause enzymatic and non-enzymatic browning caused by the carbohydrate and oxidative enzyme metabolism, making the tubers unsuitable for the pre-fried potato industry. These physiological changes vary according to the cultivar, temperature and storage time and it can be reversed by reconditioning the tubers at higher temperatures. Another issue faced by the industries is the mechanical damage in the postharvest stages due to high losses, which can be reduced by curing the tubers. The cure will maintain the quality required by the industry if the temperature allow adequate regeneration of the damage on the periderm and do not cause enzymatic and non-enzymatic browning. Therefore, three experiments were performed. The first evaluated the effects of reduction in the temperature and storage time on the quality of tubers cv. Innovator intended for frying. The tubers were stored at 6, 7 and 8°C for 150 days. The reduction in the storage temperature to 6°C prolonged the dormancy period, diminished fresh mass loss, increased reducing sugar content and non-enzymatic browning. In the second experimente, the efficiency of storage plus reconditioning was determined, where the tubers were stored at 6, 7 and 8°C for 30, 60, 90, 120 and 150 days and reconditioned at 15°C for 15 days. Reduction in storage temperature followed by reconditioning did not delay the onset of sprouting, but reduced the size of sprouts, maintained adequate sugar levels, promoting non-enzymatic browning, however. The third experiment was carried out to evaluate the effect of mechanical damage and cure temperature on cytological and histological changes, carbohydrate metabolism and oxidative enzyme activity. Tubers in the treatment with no mechanical damage (control) and mechanical damage by excoriation were cured at 8, 14 and 20 °C for 15 days. Physical stimulation resulting from mechanical damage triggered the formation of traumatic felogen and damage peridermis regeneration was faster at higher temperatures, resulting in lower rate of fresh mass loss. In addition, it did not cause enzymatic and non-enzymatic browning.

INTRODUÇÃO GERAL

A batata (*Solanum tuberosum L.*) pertence à família *Solanaceae*, originária da região dos Andes, sul do Peru e norte da Bolívia. É o quarto alimento com maior importância econômica e social (ABBA, 2017) e estima-se um crescimento da produção mundial de batata de 4,58 % ao ano (WISE GUY REPORTS, 2017). Seu consumo deve-se a composição nutricional (FERNANDES et al., 2010), versatilidade de formas de preparo e elevada produtividade.

Devido às mudanças no hábito alimentar da população, o consumo de batata processada está em crescimento (DUARTE-DELGADO et al., 2016). Para aumentar a autonomia da indústria no Brasil são necessárias pesquisas relacionadas com a escolha de cultivares com formato e tamanho adequado ao tipo de fatiamento, ausência de distúrbios fisiológicos, elevado teor de sólidos solúveis, massa seca e coloração clara após a fritura (KEIJBETS, 2008). Além de boas características agrônômicas, como alta produção e resistência a doenças.

A cultivar Innovator atende esses requisitos com boa aceitação no mercado. Foi obtida pelo cruzamento da variedade norte americana Shepody com um clone holandês (RZ-84-2580) (HZPC, 2017). Seus tubérculos são grandes, ovais para ovais alongados, com forma regular, ideal para a produção de batata palito, com coloração da casca e polpa amarelo claro (HZPC, 2017). Possui resistência à requeima da folha, à mancha negra interna e sensibilidade média à sarna comum e a *Fusarium* (HZPC, 2017).

A ‘Innovator’ apresenta elevado potencial para o processamento de batata no Brasil, já sendo utilizada por várias empresas, como na fábrica da McCain na Argentina que representa mais de 50 % da batata processada (ABBA, 2017).

Além da escolha de cultivares adequada à indústria, são necessários estudos de armazenamento refrigerado por longos períodos para possibilitar a distribuição dos tubérculos de acordo com a demanda.

O armazenamento dos tubérculos é geralmente realizado entre 8 e 10 °C (WIBERLEY-BRADFORD et al., 2016). No entanto, nesta faixa de temperatura ocorre alta incidência de doença e brotação (WIBERLEY-BRADFORD et al., 2016), sendo necessário realizar o armazenamento a temperaturas mais baixas.

Porém, o armazenamento em baixas temperaturas pode levar ao escurecimento antes e durante a fritura. O escurecimento dos palitos antes da fritura pode ser devido à ação das enzimas oxidativas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). A POD utiliza

os compostos fenólicos como doadores de elétrons, e o H_2O_2 como oxidante (BARBOSA et al., 2014) formando o-quinonas que produzem melaninas, resultando em pigmentos marrons, avermelhados ou negros, dependendo do composto fenólico presente no tecido (DINCER et al., 2002). Além disso, as o-quinonas reagem com aminoácidos, peptídeos e proteínas, causando alterações estruturais e funcionais que reduzem o valor nutricional dos alimentos (DINCER et al., 2002).

O escurecimento durante a fritura é denominado de não enzimático e pode ser devido ao “after cooking browning” que consiste na oxidação do ácido ascórbico (vitamina C) ou pela reação de Maillard (FRANCISQUINI et al., 2017).

A reação de Maillard ocorre devido ao acúmulo de açúcares (PELUCCHI et al., 2011). Onde ocorre a condensação do grupo carbonila do açúcar redutor com o grupamento amino livre de aminoácidos, peptídeos ou proteínas, formando a base de Schiff que sofre rearranjos produzindo Amadori (açúcar aldose) ou Heyns (açúcar cetose) que sofrem desidratação, enolização e retroaldolização formando dicarbonílicos, redutonas e produtos da degradação de Strecker (FRANCISQUINI et al., 2017). Esses compostos polimerizam com resíduos de lisina ou arginina em proteínas, resultando em pigmentos escuros conhecidos como melanoidinas (FRANCISQUINI et al., 2017) podendo tornar o produto inaceitável para a indústria devido a coloração escura dos palitos durante a fritura. Além da questão de segurança alimentar, pois, em uma reação lateral a de Maillard ocorre à formação de acrilamida, produto carcinógeno (PELUCCHI et al., 2011).

O acúmulo de açúcares com a exposição a baixas temperaturas é um mecanismo de sobrevivência dos tubérculos aos invernos rigorosos do seu centro de origem, onde os açúcares funcionam como crioprotetor, protegendo os tecidos biológicos contra os danos causados pelo frio (STITT e HURRY, 2002), no qual ocorre à ativação das enzimas de degradação do amido, síntese de sacarose (ANR), e clivagem em glicose e frutose (AR) (BACARIN et al., 2005). O menor consumo de sacarose devido a menor atividade respiratória e a perda de seletividade das membranas do amiloplasto devido à exposição prolongada a baixas temperaturas também contribui para aumentar o teor de açúcares nos tubérculos (BACARIN et al., 2005).

O acondicionamento dos tubérculos a temperaturas mais elevadas após o armazenamento refrigerado pode ser uma alternativa para reverter o metabolismo de carboidratos, reduzindo assim o escurecimento não enzimático. No entanto, a eficácia

do condicionamento depende da cultivar, temperatura e duração do armazenamento (KNOWLES et al., 2009).

Outro problema enfrentado pela indústria são os danos mecânicos, que aumentam as perdas por prejudicar a aparência dos tubérculos, aumentar a perda de água, taxa respiratória e favorecer a entrada de micro-organismos, reduzindo a vida útil (SILVA e PILON, 2016).

A realização da cura é fundamental para reduzir os efeitos dos danos mecânicos, pois permite adequada formação da periderme (WANG et al., 2015). Em tubérculos maduros, o felogênio cessa sua divisão celular e ocorre o engrossamento da parede celular das células, onde os tubérculos se tornam resistentes ao dano mecânico (SABA e LULAI, 2005).

Os processos de divisão celular e suberização são sensíveis à temperatura, sendo a taxa de cicatrização de feridas mais rápida em temperaturas mais elevadas (WANG et al., 2015). No entanto, temperaturas baixas de cura são necessárias para inibir a brotação, perda de água e infecção por micro-organismos, porém podem levar ao escurecimento dos tecidos durante a fritura, reduzindo a qualidade do produto.

REFERENCIAS

ABBA. Associação brasileira da batata. Novas variedades da HZPC no Brasil. Disponível em : <http://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista18_015.htm> Acessado em: 12 jul 2017.

BACARIN, M. A.; FERREIRA, L. S.; DEUNER, S.; BERVALD, C. M. P.; ZANATTA, E. R.; LOPES, N. F. Carboidratos não estruturais em tubérculos de batata reconicionados após o armazenamento sob diferentes temperaturas. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.3, p.799-804, 2005.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M de. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n.3, p.453-460, 2014.

DINCER, B.; COLAK, A.; AYDIN, N.; KADIOGLU, A.; GÜNER, S. Characterization of polyphenoloxidase from Medlar fruits (*Mespilus germanica* L., Rosacea). **Food Chemistry**, v. 77, n. 01, p.1-7, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00359-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00359-4).

DUARTE-DELGADO, D.; ÑÚSTÉZ-LÓPEZ, C. E.; NARVÁEZ-CUENCA, C. E.; RESTREPO-SÁNCHEZ, L. P.; MELO, S., SARMIENTO, F.; KUSHALAPPAD, A.C.; MOSQUERA-VÁSQUEZ, T. Natural variation of sucrose, glucose and fructose contents in Colombian genotypes of *Solanum tuberosum* Group Phureja at harvest. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96: p. 4288–4294, 2016. DOI 10.1002/jsfa.7783.

FERNANDES, A. M.; SORATTO, R. P.; EVANGELISTA, R. M.; NARDIN, I. Qualidade físico-química e de fritura de tubérculos de cultivares de batata na safra de inverno. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p.299-304, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362010000300010>.

FRANCISQUINI, J. A.; MARTINS, E.; SILVA, P. H. F.; SCHUCK, P.; PERRONE, I. T.; CARVALHO, A. F. Reação de Maillard: uma revisão. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 1, p. 48-57, 2017.

HZPC. Innovator. Disponível em : <http://web.hzpc-holland.com/teeltbeschrijving/innovator_c_pt_french%20fries.pdf> Acessado em 12 jun 2017.

KEIJBETS, M. J. H. Potato processing for the consumers: developments and future challenges. **Potato Research**, v. 51, p. 271-281, 2008.

KNOWLES, N. R.; DRISKILL, J. R.; KNOWLES, L. O. Sweetening responses of potato tubers of different maturity to conventional and non-conventional storage temperature regimes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, p. 49-61, 2009.

PELUCCHI, C.; VECCHIA, C.; BOSETTI, C.; BOYLE, P.; BOFFETTA, P. Exposure to acrylamide and human cancer-a review and metanalysis of epidemiologic studies. **Annals of Oncology**, v. 22, p. 1487 – 1499, 2011.

SABA, R. P.; LULAI, E. C. Immunocytological analysis of potato tuber periderm and changes in pectin and extensin epitopes associated with periderm maturation. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 130, p. 936-942, 2005.

SILVA, G. O. da; PILON, L. 2016. Colheita e pós-colheita. In: **Sistema de Produção da Batata**. Embrapa Hortaliças, p. 252. 2016.

STITT, M. HURRY, V. A plant for all seasons: alterations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in Arabidopsis. **Current Opinion in Plant Biology**, v.5, p.199–206, 2002.

WANG, Q.; CAO, Y.; JIANG, C. Z.; FENG, Y. WEI, S. Effects of postharvest curing treatment on flesh colour and phenolic metabolism in fresh-cut potato products. **Food Chemistry**, v.169, p. 246-254, 2015.

WIBERLEY-BRADFORDA, A. E.; BUSSEB, J. S.; BETHKE, P. C. Temperature dependent regulation of sugar metabolism in wild-type and low-invertase transgenic chipping potatoes during and after cooling for low-temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 115, p. 60-71, 2016.

WISE GUY REPORTS. Global Potato Chips Market 2017-2021. 2017. Disponível em : <https://www.wiseguyreports.com/report-info.pdf?report_id=2284907>. Acessado em 11 ago 2018.

CAPÍTULO I - TEMPERATURA E TEMPO DE ARMAZENAMENTO AFETAM A QUALIDADE DA BATATA CV. INNOVATOR PARA O PROCESSAMENTO

RESUMO

Quanto menor a temperatura de armazenamento da batata maior será o atraso na brotação e maior o período de fornecimento dos tubérculos para o processamento. No entanto, pode ocasionar o escurecimento enzimático antes da fritura e não enzimático durante a fritura. Diante disso, o objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da redução da temperatura e do tempo de armazenamento na qualidade dos tubérculos cv. Innovator destinados à fritura. Os tubérculos de batata foram armazenados a 6, 7 e 8 °C por 150 dias. Foram realizadas às análises de açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR), açúcares redutores (AR), coloração pós-fritura, perda de massa fresca (PMF), início da brotação, atividade da peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO). Os teores de AST, ANR e AR foram maiores nos tubérculos armazenados a 6 °C, sendo classificados na categoria 3, enquanto 7 e 8 °C, na categoria 2. O tempo de armazenamento teve efeito nas concentrações de açúcares apenas nos tuberculos a 6 °C. A 6 °C a PMF foi menor e a brotação foi retardada em 30 dias. Independente da temperatura e tempo de armazenamento não houve escurecimento enzimático, devido à atividade da POD e PPO. Conclui-se que a redução da temperatura de armazenamento para 6 °C prolonga o período de dormência, reduz a perda de massa fresca, aumenta o teor de açúcares redutores e o escurecimento não enzimático.

Palavras-chave: reação de Maillard, açúcares redutores, brotação

ABSTRACT

The lower the potato storage temperature, the longer the sprouting delay and the more the supply of tubers for processing. However, it may cause enzymatic browning before frying and non-enzymatic browning over frying. Therefore, the objective of this study was to determine the effects of reduction in the temperature and storage time on the quality of cv. Innovator intended for frying. Potato tubers were stored at 6, 7 and 8 °C for 150 days. This study analyzed the total soluble sugars (TSS), non-reducing sugars (NRS), reducing sugars (RS), post-frying coloring, fresh mass loss (FML), sprouting onset, peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO) activity. The TSS, NRS and RS contents were higher in tubers stored at 6 °C, classified in category 3, while at 7 and 8 °C, it was classified in category 2. Storage time had an effect on sugar concentrations only in tubers at 6 °C. Also at 6 °C, the FML was lower and sprouting was delayed by 30 days. Regardless of temperature and storage time, there was no enzymatic darkening due to POD and PPO activity. It is concluded that reducing the storage temperature to 6 °C prolongs the dormancy period, reduces fresh mass loss, increases reducing sugar content and non-enzymatic browning.

Keywords: maillard reaction, reducing sugars, sprouting

INTRODUÇÃO

A batata é a quarta cultura agrícola mais importante do mundo (HAAN e RODRIGUES, 2016), com uma área plantada de 19.204.609 hectares e produção anual de 386 milhões de toneladas (ABBA, 2017). Estando entre os alimentos economicamente e socialmente mais importantes devido à alta produtividade, composição nutricional e versatilidade de processamento (EVANGELISTA et al., 2011).

Para o fornecimento constante de tubérculos para as indústrias de processamento e a redução da produção de verão, que apresenta maiores custos, especialmente em países subtropicais e tropicais, é necessário realizar o armazenamento refrigerado dos tubérculos por períodos prolongados.

Os tubérculos são geralmente armazenados a temperaturas entre 8-10 °C (WIBERLEY-BRADFORD et al., 2016). No entanto, nesta faixa de temperatura ocorre alta brotação e incidência de doenças (WIBERLEY-BRADFORD et al., 2016). Os brotos tornam os tubérculos fisicamente inadequados para processamento e podem induzir o acúmulo de açúcares, o que não é adequado para o processamento (XIAO et al., 2018).

Temperaturas mais baixas podem ser usadas para retardar a brotação (XIAO et al., 2018). No entanto, o armazenamento abaixo de 8 °C, podem aumentar o escurecimento durante a fritura, devido ao acúmulo de açúcares (DUARTE-DELGADO et al., 2016). O grupo carbonila ou cetona das moléculas de açúcares redutores reage com o grupo amino de aminoácidos, como a asparagina, resultando melanoidinas durante a fritura por reação não-enzimática denominada de Maillard (AMY et al., 2016).

Além disso, o escurecimento pode ocorrer antes da fritura devido a ação da peroxidase (POD) e da polifenoloxidase (PPO) que aumentam sua atividade em condições de estresse, como o frio (SINGH e WADHWA, 2017).

O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da redução da temperatura e do tempo de armazenamento na qualidade dos tubérculos cv. Innovator destinados à fritura.

MATERIAL E METODOS

Tubérculos da cv. Innovator foram obtidos da área de produção comercial de Perdizes, Minas Gerais, Brasil (19° 21 '10 "S, 47° 17' 34" W e 1000 m). Os tubérculos foram plantados em maio e colhidos manualmente em setembro de 2017. A cura foi realizada a 15 °C por 15 dias, seguida de redução diária de 1 °C até 6 (UR 90 % ± 2), 7 (UR 85 % ± 3) e 8 °C (UR 90 % ± 2) na ausência de luz por 150 dias.

O início da brotação foi determinado visualmente

A perda de massa fresca (PMF) foi determinada pela pesagem dos tubérculos em cada período de avaliação e expresso em porcentagem.

Para a determinação dos AST e AR retirou-se 5 g de massa fresca dos tubérculos ao qual foi adicionado etanol 80 % a 100 °C. A mistura foi triturada e centrifugada por três vezes por 10 min a 1500 g. A cada centrifugação as amostras foram filtradas e o volume final combinado das filtragens foi padronizado e utilizado para a quantificação dos AST e AR (DUBOIS et al., 1956).

Os AST foram quantificados pelo método Fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), utilizando sacarose 1 % para a confecção da curva padrão. A reação foi composta de 250 µL do extrato, 250 µL de fenol 5 % e 1,25 mL de ácido sulfúrico. Posteriormente, a reação foi colocada em banho-termostático por 20 min a 30 °C. A leitura realizada em espectrofotômetro (Genesys- 10UV, sacannig) a 490 nm e expresso em %.

Os AR foram determinados pela metodologia do ácido dinitrossalicílico (DNS) descrito por GONÇALVES et al. (2010) com adaptações. Utilizou-se frutose 0,2 % para a confecção da curva. Para o preparo de 500 mL de DNS foi utilizado 5 g ácido dinitrossalicílico dissolvido em 250 mL de água destilada a 80 °C, 100 mL de NaOH 2 N e 150 g de tartarato de sódio e potássio. A reação foi composta por 500 µL de DNS e 500 µL da amostra, posteriormente colocados em água a 100 °C e após 5 min adicionado 4 mL de água destilada. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Genesys- 10UV, sacannig) a 540 nm e expresso em porcentagem.

Os ANR foram calculados pela diferença entre os AST e AR e expressos em porcentagem.

Para avaliação da coloração pós-fritura os tubérculos foram cortados em palitos, com cortador manual e fritos em fritadeira elétrica, com capacidade para 3 L (Modelo: Ford[®]), por 3 min a 180 °C. A coloração das batatas pós-fritura foi determinada

visualmente com base na escala de notas preconizadas pela 'United States Standards for Grades of Frozen French Fried Potatoes' (USDA, 1967) e pela indústria de processamento de batata frita em notas que vão de 1 até 5.

Os extratos enzimáticos da POD, PPO e proteínas foram obtidos a partir de 5 g de material vegetal e 15 mL de tampão de extração (tampão fosfato de potássio 0,1 M a pH 6,5). O material foi triturado, filtrado em gaze e centrifugado a 17.000 g por 30 min a 4 °C (LAGRIMINI et al., 1997).

Para determinação da atividade enzimática da POD, 100 µL do extrato foram adicionados ao meio de reação contendo 0,5 mL de guaiacol (1,7 %), 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) e 0,5 mL de peróxido de hidrogênio (1,8 %), sendo a leitura realizada em espectrofotômetro a 470 nm e os dados expressos em unidades de absorvância (UA) min⁻¹ mg⁻¹ de proteína (LAGRIMINI et al., 1997).

Para a determinação da atividade enzimática da PPO, o meio de reação foi composto por 100 µL de extrato enzimático, 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0), 0,5 mL catecol e 0,9 mL de água destilada. A leitura foi realizada a 420 nm e expressa em UA min⁻¹ mg⁻¹ de proteína (KAVRAYAN and AYDEMIR, 2001).

A proteína total foi determinada pelo método de BRADFORD (1976), utilizando albumina de soro bovino (BSA) como padrão.

O experimento foi conduzido em esquema de parcela subdividida, onde as parcelas foram as temperaturas (6, 7 e 8 °C) e nas subparcelas os tempos de armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias). Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada repetição composta por dois tubérculos. Os dados foram analisados pelo procedimento `boxplot.stats` (R CORE TEAM, 2017). Para a análise de variância, interação e desdobramento da regressão, foi utilizada a versão R R 1.1.2 (FERREIRA et al., 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a cultivar Innovator armazenada a 7 e 8 °C a brotação ocorreu aos 120 dias de armazenamento, enquanto, a 6 °C iniciou-se aos 150 dias (Figura 1). O armazenamento a 6 °C atrasou o início da brotação em 30 dias. O aceleração da brotação nas temperaturas de armazenamento mais elevadas, se deve ao efeito da

temperatura nos processos fisiológicos de envelhecimento dos tubérculos que reduzem o período de dormência (MUTHONI et al., 2014).

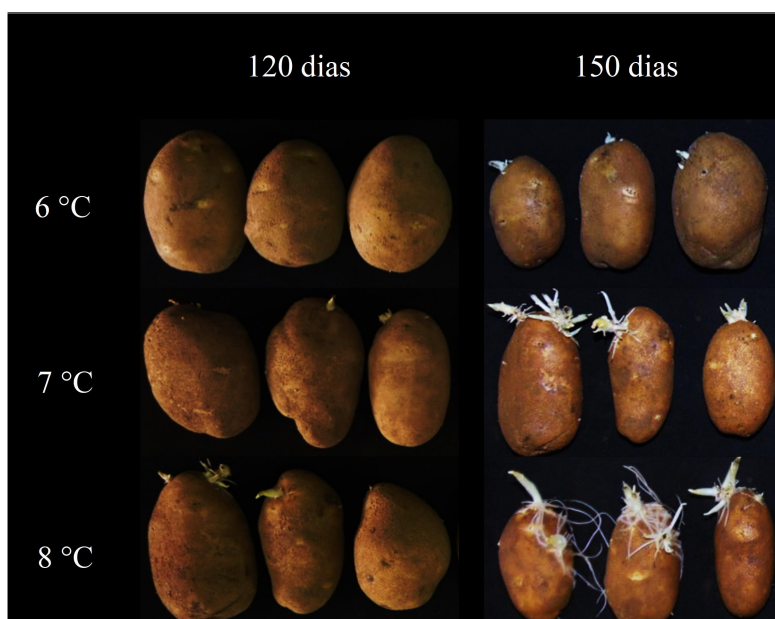


Figura 1: Início da brotação dos tubérculos da cv. Innovator armazenados a 6, 7 e 8 °C por 120 e 150 dias.

Os tubérculos armazenados a 6 °C apresentaram a menor PMF (2,29 %) e os armazenados a 7 e 8 °C ocasionaram PMF de 8,51 e 6,65 % aos 150 dias, respectivamente (Figura 2). A PMF ocorre devido ao consumo de carboidratos pelo processo respiratório e pela perda de água por transpiração, fatores determinados principalmente pela temperatura e o teor de umidade nas câmaras de armazenamento (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Como a câmara de armazenamento a 7 °C permaneceu em UR mais baixa ($80 \% \pm 3$) que as câmaras a 6 e 8 °C ($UR 90 \% \pm 2$), a PMF foi maior. AFEK et al., 2000 demonstrou o efeito da UR sobre a PMF em tubérculos de batata armazenados por seis meses a 10 °C, onde a UR de 96-98 %, ocasionou perda de peso de 2 %, enquanto que em UR de 92-94 %, a perda foi de 7 %, e se reduzir para 82-86 %, a perda é de 12 %. A menor PMF dos tubérculos a 6 °C é devido ao prolongamento do período de brotação (Figura 1), devido a atividade respiratória que é aumentada com o crescimento dos brotos (BISOGNIN et al., 2008).

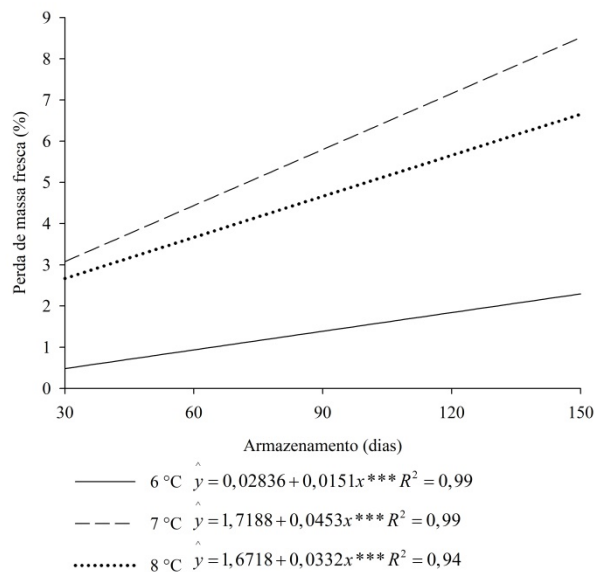


Figura 2: Regressões da perda de massa fresca (PMF) de tubérculos de batata da cv. Innovator armazenados a 6, 7 e 8 °C durante 150 dias.

O tempo de armazenamento refrigerado não influenciou nos teores de açúcar dos tubérculos armazenados a 7 e 8 °C durante 150 dias. Os valores médios de AST, ANR e AR a 7 °C foram de 0,18, 0,16 e 0,05 %, respectivamente, e a 8 °C foram de 0,13, 0,12 e 0,02 %, respectivamente. A 6 °C o teor de ANR dos tubérculos diminuiu de 0,27 para 0,15 % em 150 dias de armazenamento, enquanto, os AR aumentaram a partir dos 70 dias de armazenamento, indicando que a partir deste período houve conversão dos ANR em AR, elevando os teores de AR para 0,11 % aos 150 dias, o que levou ao aumento da concentração dos AST a partir dos 127 dias, chegando a 0,23 % aos 150 dias (Figura 3).

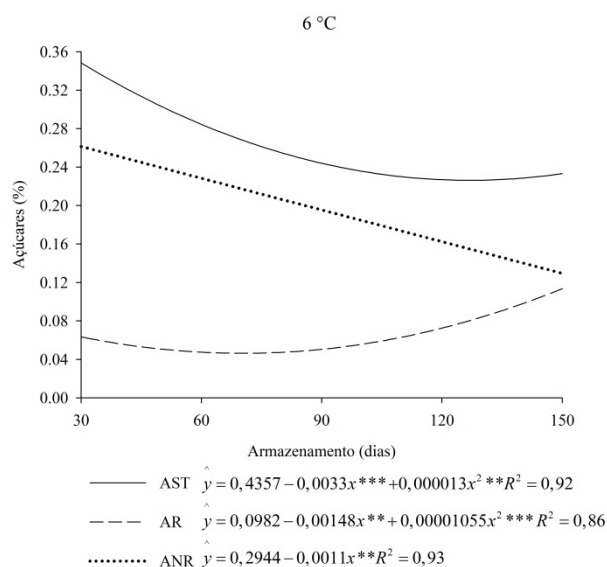


Figura 3: Regressões dos AST, AR e ANR dos tubérculos de batata cv. Innovator armazenados a 6 °C durante 150 dias.

Os teores de AST, ANR e AR dos tubérculos reduziram com o aumento da temperatura de 6 para 8 °C aos 30 e 90 dias de armazenamento (Figura 4 A e B). Quanto menor a temperatura de armazenamento, maior a condição de estresse nos tubérculos, conseqüentemente, maior o acúmulo de açúcares, como observado a 6 °C para cv. Innovator, pois os açúcares atuam como crioprotetores dos tecidos biológicos contra danos causados pelo frio, sendo considerado mecanismo de adaptação da cultura (STITT e HURRY, 2002).

Aos 150 dias, os AST e AR diminuíram com o aumento da temperatura de 6 para 7 °C, enquanto, o aumento de 7 para 8 °C ocasionou redução dos ANR e aumento dos AR, indicando que houve conversão entre eles, o que levou ao aumento dos AST (Figura 4C). O consumo de ANR com a elevação da temperatura de 7 para 8 °C, foi devido a ocorrência da brotação, no qual, a 8 °C o tamanho dos brotos foram maiores (Figura 1). Para o crescimento e desenvolvimento dos brotos ocorre hidrólise do amido em ANR que é convertido em AR para fornecer carbono e energia para os brotos (BISOGNIN et al., 2008).

Os teores de AR ficaram na faixa de 0,06 a 0,12 %; 0,02 a 0,03 %; 0,006 a 0,03 %, nos tubérculos armazenados a 6, 7 e 8 °C, respectivamente, abaixo do indicado para a indústria de processamento de batata frita, 0,12 % da massa fresca (STARK et al., 2003). Os ANR encontram-se na faixa de 0,27 a 0,15 %; 0,19 a 0,17 %; 0,11 a 0,14 %

nos tubérculos armazenados a 6, 7 e 8 °C, respectivamente, também abaixo do recomendado para a indústria, 0,33% da massa fresca (CHAPPER et al., 2002).

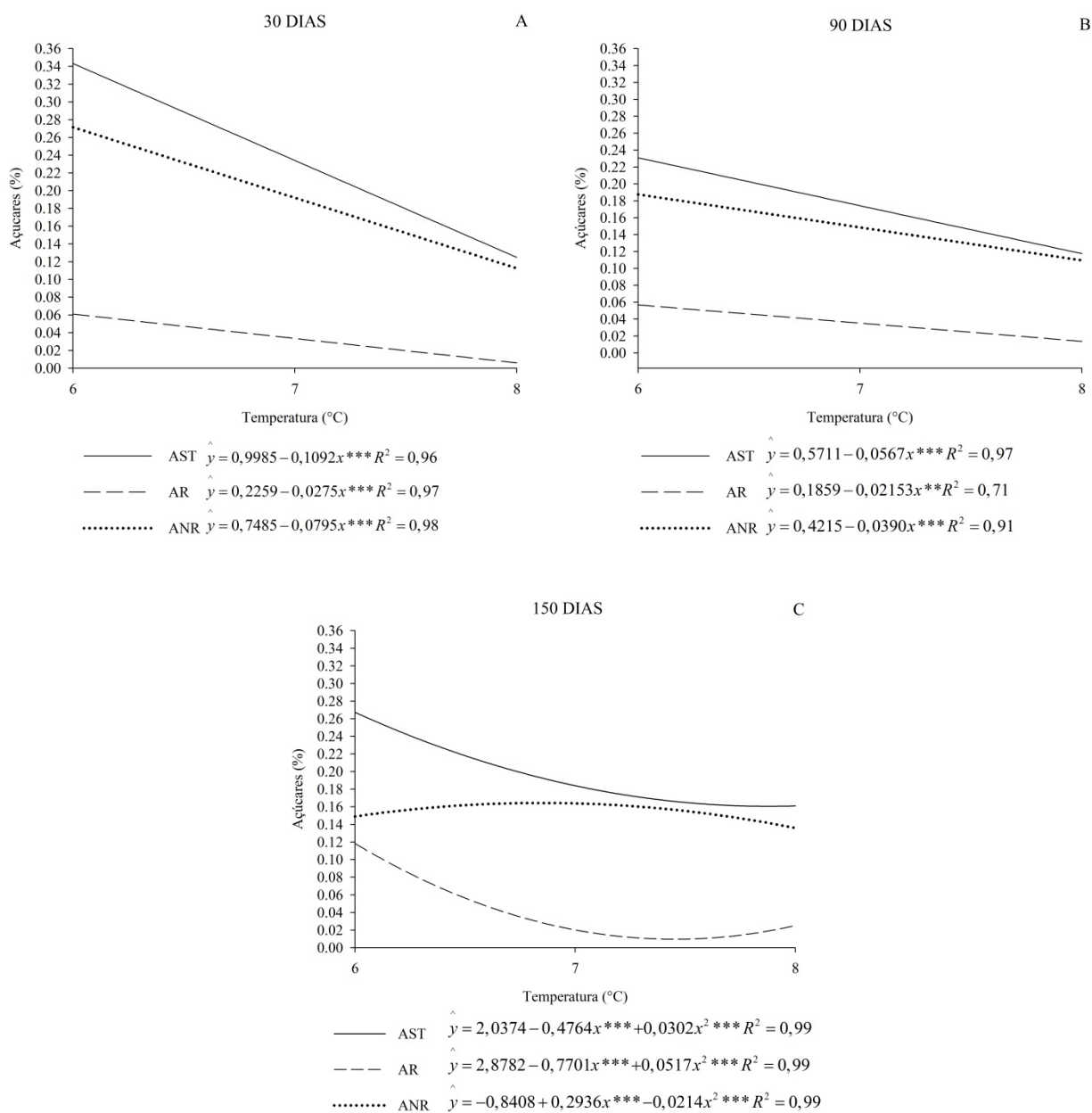


Figura 4: Regressões dos AST, AR e ANR dos tubérculos de batata cv. Innovator acondicionado a 6, 7 e 8 °C durante 30 (A), 90 (B) e 150 (C) dias.

As batatas fritas da cultivar Innovator armazenada a 6 °C foram classificadas na categoria 3, enquanto os tubérculos a 7 e 8 °C na categoria 2 (Figura 5). As indústrias de processamento requerem batatas classificadas como 1, 2 e 3. Os baixos teores de

açúcares resultaram na coloração clara após a fritura. A correlação entre os AR e o escurecimento durante a fritura também foi observado nas cultivares Asterix, Sminia793101-3 e Missaukee, que apresentam maiores valores de AR e escurecimento nas menores temperaturas de armazenamento (4, 8, 12 e 25 °C) (FREITAS et al., 2012). As cultivares Russet Burbank, Ranger Russet e Umatilla quando armazenadas a 6 e 7 °C também mantiveram níveis aceitáveis de AR para processamento por até 230 dias (KNOWLES et al., 2009).

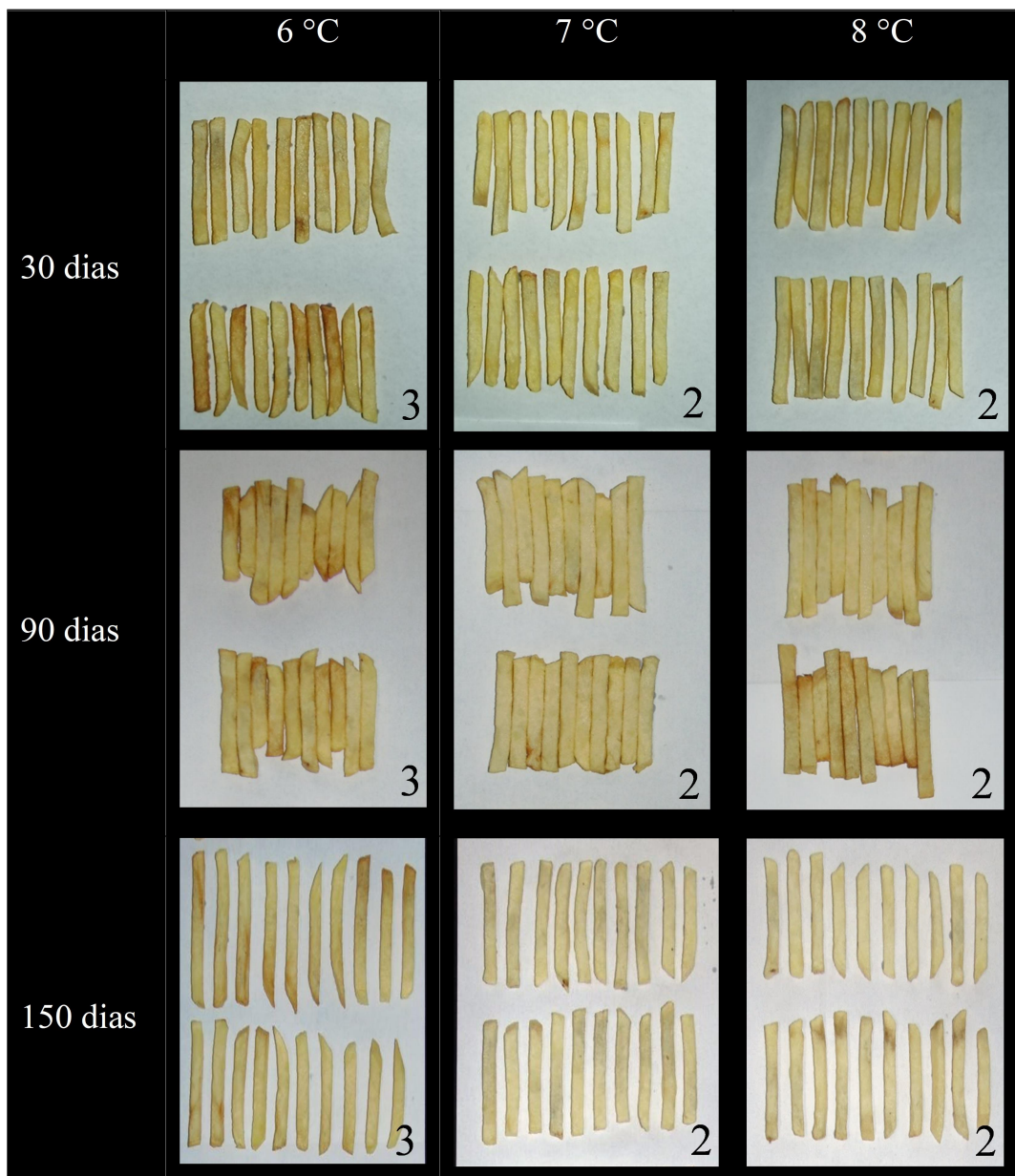


Figura 5: Coloração pós-fritura dos palitos de batata cv. Innovator após armazenamento a 6, 7 e 8 °C durante 30, 90 e 150 dias. Os números abaixo de cada foto representam a classificação de acordo com USDA e a indústria de fast food, variando de 1 a 5.

As concentrações da POD e PPO não foram influenciadas pela temperatura e tempo de armazenamento. A atividade da POD e PPO permaneceram na faixa de 0,10 a 0,29 UA min⁻¹ mg⁻¹ proteína e 0,50 a 1,44 UA min⁻¹ mg⁻¹ proteína, respectivamente. As baixas temperaturas de armazenamento podem ter dificultado o contato das enzimas com seu substrato pela redução da energia cinética das moléculas (LEE et al., 1995). Como a variação entre as temperaturas é pequena, não foi suficiente para causar alterações na atividade enzimática. Assim como o tempo de armazenamento, que poderia atenuar a condição de estresse pelo frio e aumentar a atividade enzimática, o que não foi observado.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a redução da temperatura de armazenamento para 6 °C prolonga o período de dormência, reduz a perda de massa fresca, aumenta o teor de açúcares redutores e o escurecimento não enzimático.

REFERENCIAS

ABBA. Associação brasileira da batata. Novas variedades da HZPC no Brasil. Disponível em : <http://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista18_015.htm> Acessado em: 12 jul 2017.

AFEK, U.; ORENSTEIN, J. Using the Tabor Atomizer System to maintain weight and firmness in stored potato tubers. **American Journal of Potato Research**, v. 77, p. 203-205, 2000.

AMY E. BRADFORDA, W.; BUSSEB, J. S.; BETHKEA, P. C. Temperature-dependent regulation of sugar metabolism in wild-type and low-invertase transgenic chipping potatoes during and after cooling for low-temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 115, p. 60 – 71, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.12.020>.

BISOGNIN, D. A.; FREITAS DE, S. T.; BRACKMANN, A.; ANDRIOLO, J. L.; PEREIRA, E. I. P.; MULLER, D. R.; BANDINELLI, M. G. Envelhecimento fisiológico de tubérculos de batata produzidos durante o outono e a primavera e armazenados em diferentes temperaturas. **Bragantia**, v. 67, n.1, p.59-65, 2008.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p.248-254, 1976.

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

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio. Lavras:UFLA, 2005, p.783.

DUARTE-DELGADO, D.; NÚSTEZ-LÓPEZ, C. E.; NARVÁEZ-CUENCA, C. E.; RESTREPO-SÁNCHEZ, L. P.; MELO, S., SARMIENTO, F.; KUSHALAPPAD, A.C.; MOSQUERA-VÁSQUEZ, T. Natural variation of sucrose, glucose and fructose contents in Colombian genotypes of *Solanum tuberosum* Group Phureja at harvest. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 96, p. 4288–4294, 2016. DOI 10.1002/jsfa.7783.

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

EVANGELISTA, R. M.; NARDIN, I.; FERNANDES, A. M.; SORATTO, R. P. Qualidade nutricional e esverdeamento pós-colheita de tubérculos de cultivares de batata. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n.8, p. 953-960, 2011.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes.pt: Experimental Designs package (Portuguese). R package version 1.1.2. 2013.

FREITAS, S.T.; PEREIRA, E.I.P.; GOMEZ, A.C.S.; BRACKMANN, A.; NICOLOCO, F.; BISOGNIN, DA. Processing quality of potato tubers produced during autumn and spring and stored at different temperatures. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 91-98, 2012.

GONÇALVES, C.; RODRIGUES-JASSO, M. R.; GOMES, N.; TEIXEIRA, J. A.; BELO, I. Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates. **Analytical Methods**, v. 2, p. 2046 – 2048, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000100012>.

HAAN S. de, RODRIGUEZ F. Potato origin and production. In: SINGH, J.; KAUR, L. **Advances in Potato Chemistry and Technology**, London, UK: Academic Press, Elsevier. 2nd, p. 1–32, 2016.

KAVRAYAN, D.; AYDEMIR, T. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). **Food Chemistry**, v. 74, p. 146-154, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00106-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00106-6).

KNOWLES, N. R.; DRISKILL JR, E.P.; KNOWLES, L. O. Sweetening responses of potato tubers of different maturity to conventional and non-conventional storage temperature regimes. **Postharvest Biology and Technology**, v.52, p. 49–61, 2009. Doi:10.1016/j.postharvbio.2008.08.015.

LAGRIMINI, LM; GINGAS, V; FINGER, FL; ROTHSTEIN, S; LIU, TTY. 1997. Characterization of antisense transformed plants deficient in the tobacco anionic peroxidase. **Plant Physiology**, v. 114, p. 1187-1196, 1997.

LEE, L.; ARUL, A.; LENCKI, R.; CASTAIGNE, F. A review on modified atmosphere packaging and preservation of fresh fruits and vegetables: physiological basis and practical aspects. **Packaging Technology & Science**, v. 8, p. 315-331, 1995. Doi: [10.1002/pts.2770080605](https://doi.org/10.1002/pts.2770080605).

MUTHONI, J.; KABIRA, J.; SHIMELIS, H.; MELIS, R. Regulation of potato tuber dormancy: A review. **Australian Journal crop Science**, v. 8, n. 5, p. 754-759, 2014.

R CORE TEAM R. A language and environment for statistical computing. Foundation for Statistical Computing, Vienna: Austria, 2017. <<https://www.R-project.org/>>.

SINGH, A., WADHWA, N. Biochemical characterization and thermal inactivation of polyphenol oxidase from elephant foot yam (*Amorphophallus paeoniifolius*). **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 7, p. 2085-2093, 2017. Doi: [10.1007/s13197-017-2647-z](https://doi.org/10.1007/s13197-017-2647-z).

STARK, J. C., OLSEN, N., KLEINK, O. P., GE, F., LOVE, S. L. Tuber quality. In: STARK, J. C., LOVE, S. L (eds). **Potato production systems**. Aberdeen: University of Idaho. p. 329-343. 2003.

STITT, M.; HURRY, V. A. Plant for all seasons: alterations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in *Arabidopsis*. **Current Opinion in Plant Biology**, v.5, p.199–206, 2002. Doi: [10.1016/S1369-5266\(02\)00258-3](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00258-3).

USDA. United States Standards for Grades of Frozen French Fried Potatoes. Washington, p.16, 1967.

WIBERLEY-BRADFORDA, A. E.; BUSSEB, J. S.; BETHKE, P. C. Temperature dependent regulation of sugar metabolism in wild-type and low-invertase transgenic chipping potatoes during and after cooling for low-temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 115, p. 60–71, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.12.020>.

XIAO, G., HUANG, W., CAO, H., TU, W., WANG, H., ZHENG, X, XIE, C. Genetic loci conferring reducing sugar accumulation and conversion of cold-stored potato tubers revealed by QTL analysis in a diploid population. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. E315, 2018 Doi: [10.3389/fpls.2018.00315](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00315).

CAPÍTULO II - QUALIDADE DA BATATA CV. INNOVATOR SUBMETIDO AO ARMAZENAMENTO MAIS RECONDICIONAMENTO

RESUMO

O armazenamento refrigerado por períodos prolongados dos tubérculos de batata permite o fornecimento constante de produto para à indústria de processamento. No entanto, pode ocasionar o aumento da concentração de açúcares, que durante a fritura reage com aminoácidos levando ao escurecimento não enzimático, tornando o produto inadequado para à indústria de batata frita. O recondicionamento dos tubérculos a temperaturas mais elevadas após o armazenamento refrigerado, pode ser uma alternativa para reverter o metabolismo de carboidratos e evitar o escurecimento enzimático. Diante disso, o objetivo deste estudo foi determinar a eficiência do armazenamento mais recondicionamento na qualidade da batata cv. Innovator destinada ao processamento. Os tubérculos foram armazenados a 6, 7 e 8 °C na ausência de luz por 30, 60, 90, 120 e 150 dias e recondicionados a 15 °C por 15 dias. Foram realizadas as análises de açúcar solúvel total (AST), açúcar redutor (AR) e açúcar não redutor (ANR), coloração pós-fritura, amido, início da brotação, atividade da polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (PPO). Os AST e AR foram reduzidos à medida que a temperatura de armazenamento aumentou de 6 + 15 °C para 8 + 15 °C, enquanto o tempo de armazenamento teve efeito nos AST, AR e ANR que aumentaram a partir dos 94,6; 30 e 104,5 dias. Independente da temperatura e tempo de armazenamento os teores de açúcares ficaram adequados a indústria, no entanto houve escurecimento não enzimático, permanecendo na categoria 2 por até 60, 90 e 150 dias nos tubérculos armazenados a 6 + 15 °C, 7 + 15 °C e 8 + 15 °C, respectivamente. O amido foi influenciado pelo tempo de armazenamento, apesar da ausência de efeito da temperatura. Independente da temperatura a brotação iniciou-se aos 90 dias, porém o crescimento dos brotos foi diretamente proporcional ao aumento da temperatura. A PPO e POD aumentam no início do armazenamento, porém, não ocasionou escurecimento antes da fritura. A redução da temperatura de armazenamento seguido de recondicionamento não retardou o início da brotação, mas reduziu o tamanho dos brotos, manteve os níveis de açúcares adequados mas promoveu o escurecimento não enzimático.

Palavras-chave: Brotação, açúcares redutores, recondicionamento

ABSTRACT

Long-term refrigerated storage of potato tubers allows a constant supply of the product for the processing industry. However, it can increase sugar concentration, which reacts with amino acids during frying, leading to non-enzymatic browning, making the product unsuitable for the potato chips industry. Reconditioning of tubers at higher temperatures after refrigerated storage may be an alternative to reverse carbohydrate metabolism and prevent enzymatic browning. Therefore, the objective of this study was to determine the storage efficiency and reconditioning on potato cv. Innovator for processing. Tubers were stored at 6, 7 and 8 °C in the dark for 30, 60, 90, 120 and 150 days and reconditioned at 15 °C for 15 days. Total soluble sugar (TSS), reducing sugar (RS) and non-reducing sugar (NRS), post-frying coloring, starch, sprouting onset, polyphenoloxidase (PPO) and peroxidase (PPO) activity were analyzed. TRS and RS were reduced as storage temperature increased from 6 + 15 °C to 8 + 15 °C, while storage time had an effect on TSS, RS and NRS, which increased from 94.6; 30 and 104.5 days, respectively. Regardless of temperature and storage time, sugar contents were suitable for industry; however non-enzymatic browning remained in category 2 for up to 60, 90 and 150 days in tubers stored at 6 + 15 °C, 7 + 15 °C and 8 + 15 °C, respectively. Starch was influenced by storage time, despite the absence of temperature effect. Regardless of the temperature, sprouting started at 90 days, but the growth of shoots was directly proportional to the increase in temperature. The PPO and POD increased at the beginning of storage, but did not cause darkening before the phytosis. Reduction in storage temperature followed by reconditioning did not delay the onset of sprouting, but reduced the size of sprouts, maintained adequate sugar levels, however it promoted non-enzymatic browning.

Keywords: sprout, reducing sugars, reconditioning

INTRODUÇÃO

O mercado de batata processada está em ascensão devido a mudanças no hábito alimentar da população. Para o fornecimento constante de matéria-prima para a indústria é necessário realizar o armazenamento refrigerado prolongado dos tubérculos.

Os tubérculos de batata são geralmente armazenados entre 8 e 10 °C (WIBERLEY-BRADFORD et al., 2016). Entretanto, dentro desta faixa de temperatura, há uma alta incidência de doenças e brotações (WIBERLEY-BRADFORD et al., 2016). Portanto, é necessário realizar o armazenamento a temperaturas mais baixas.

No entanto, quando os tubérculos de batata são armazenados a temperaturas abaixo de 8 °C, eles acumulam glicose e frutose (WIBERLEY-BRADFORD et al., 2016), um distúrbio fisiológico chamado de adoçamento pelo frio que resulta na formação de melanoidinas durante a fritura, causando o escurecimento do produto (AMY et al., 2016). Além disso, outras reações ocorrem durante este processo, levando à formação de acrilamida (AMY et al., 2016).

A acrilamida foi classificada como provável substância carcinogênica em seres humanos pela Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (PELUCCHI et al., 2011) e, um carcinógeno da categoria 2 pela União Europeia (BETHKE e BUSSAN, 2013). Estudos sugerem que 55 % da acrilamida consumida em uma dieta americana típica pode ser derivada de produtos de batata (KATZ et al., 2012). Na qual, existe uma relação direta entre a redução do teor de açúcar nos tubérculos e a quantidade de acrilamida produzida nos produtos fritos (BETHKE e BUSSAN, 2013).

Uma alternativa para reduzir o acúmulo de açúcares seria o acondicionamento dos tubérculos a uma temperatura mais alta após o armazenamento a longo prazo e antes do processamento, a fim de reverter o metabolismo dos carboidratos. Porém, a eficácia do acondicionamento depende da cultivar, temperatura e duração do armazenamento (KNOWLES et al., 2009).

Além do acúmulo de açúcares, baixas temperaturas podem aumentar a atividade das enzimas oxidativas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO), devido à condição de estresse, causando o escurecimento antes da fritura.

O objetivo deste estudo foi determinar a eficiência do armazenamento mais acondicionamento na qualidade de batata cv. Innovator destinada ao processamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Tubérculos de cv. Innovator foram obtidas da área de produção comercial da região de Perdizes, Minas Gerais (19° 21' 10" S, 47° 17' 34" W e 1000 m). Os tubérculos foram plantados em maio e colhidos manualmente em setembro de 2017. A cura foi realizada a 15 °C por 15 dias. A temperatura foi reduzida diariamente a 1 °C até atingir as temperaturas de armazenamento. Os tubérculos foram armazenados a 6, 7 e 8 °C (UR 90 % ± 2) na ausência de luz por 30, 60, 90, 120 e 150 dias, e após cada período, foram recondicionados a 15 °C por 15 dias. Análises realizadas foram: açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR), açúcares não redutores (ANR), coloração pós-fritura, amido, início da brotação, atividade peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO). O final do armazenamento foi determinado pelo tamanho dos brotos.

Para a determinação dos AST e AR retirou-se 5 g de massa fresca dos tubérculos ao qual foi adicionado etanol 80 % a 100 °C. A mistura foi triturada e centrifugada por três vezes por 10 min a 1500 g. A cada centrifugação as amostras foram filtradas e o volume final combinado das filtragens foi padronizado e utilizado para a quantificação dos AST e AR (DUBOIS et al., 1956).

Os AST foram quantificados pelo método Fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), utilizando sacarose 1 % para a confecção da curva padrão. A reação foi composta de 250 µL do extrato, 250 µL de fenol 5 % e 1,25 mL de ácido sulfúrico. Posteriormente, a reação foi colocada em banho-termostático por 20 min a 30 °C. A leitura realizada em espectrofotômetro (Genesys- 10UV, sacannig) a 490 nm e expresso em %.

Os AR foram determinados pela metodologia do ácido dinitrossalicílico (DNS) descrito por GONÇALVES et al. (2010) com adaptações. Utilizou-se frutose 0,2 % para a confecção da curva. Para o preparo de 500 mL de DNS foi utilizado 5 g ácido dinitrossalicílico dissolvido em 250 mL de água destilada a 80 °C, 100 mL de NaOH 2 N e 150 g de tartarato de sódio e potássio. A reação foi composta por 500 µL de DNS e 500 µL da amostra, posteriormente colocados em água a 100 °C e após 5 min adicionado 4 mL de água destilada. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Genesys- 10UV, sacannig) a 540 nm e expresso em porcentagem.

Os ANR foram calculados pela diferença entre os AST e AR e expressos em porcentagem.

Para avaliação da coloração pós-fritura os tubérculos foram cortados em palitos, com cortador manual e fritos em fritadeira elétrica, com capacidade para 3 L (Modelo: Ford®), por 3 min a 180 °C. A coloração das batatas pós-fritura foi determinada visualmente com base na escala de notas preconizadas pela ‘United States Standards for Grades of Frozen French Fried Potatoes’ (USDA, 1967) e pela indústria de processamento de batata frita em notas que vão de 1 até 5.

Com o resíduo proveniente da extração dos AST, foi determinado o teor de amido, pela metodologia descrita por MCCREADY et al. (1950), sendo o resultado multiplicado pelo fator 0,9, pois durante a formação do amido há a remoção de uma molécula de água.

A brotação foi determinada visualmente

Os extratos enzimáticos da POD, PPO e proteínas foram obtidos a partir de 5 g de material vegetal e 15 mL de tampão de extração (tampão fosfato de potássio 0,1 M a pH 6,5). O material foi triturado, filtrado em gaze e centrifugado a 17.000 g por 30 min a 4 °C (LAGRIMINI et al., 1997).

Para determinação da atividade enzimática da POD, 100 µL do extrato foram adicionados ao meio de reação contendo 0,5 mL de guaiacol (1,7 %), 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) e 0,5 mL de peróxido de hidrogênio (1,8 %), sendo a leitura realizada em espectrofotômetro a 470 nm e os dados expressos em unidades de absorvância (UA) min⁻¹ mg⁻¹ de proteína (LAGRIMINI et al., 1997).

Para a determinação da atividade enzimática da PPO, o meio de reação foi composto por 100 µL de extrato enzimático, 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0), 0,5 mL catecol e 0,9 mL de água destilada. A leitura foi realizada a 420 nm e expressa em UA min⁻¹ mg⁻¹ de proteína (KAVRAYAN and AYDEMIR, 2001).

A proteína total foi determinada pelo método de BRADFORD (1976), utilizando albumina de soro bovino (BSA) como padrão.

O experimento foi conduzido em esquema de parcela subdividida, onde as parcelas foram as temperaturas (6, 7 e 8 °C + 15 °C) e nas subparcelas os tempos de armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias de armazenamento + 15 dias de recondição). Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada repetição composta por dois tubérculos. Para a análise de variância, interação e desdobramento de regressão, foi utilizada a versão R R 1.1.2 (FERREIRA et al., 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os AR e o AST diminuíram com o aumento da temperatura de armazenamento de 6 + 15 °C para 8 + 15 °C, de 0,06 para 0,02 % e 0,19 para 0,15 %, respectivamente (Figura 1). Sendo, o conteúdo de AR os mais afetados pelo aumento da temperatura de armazenamento, como observado no presente estudo (Figura 1). Enquanto os ANR não foram influenciados pela temperatura de armazenamento (Figura 1).

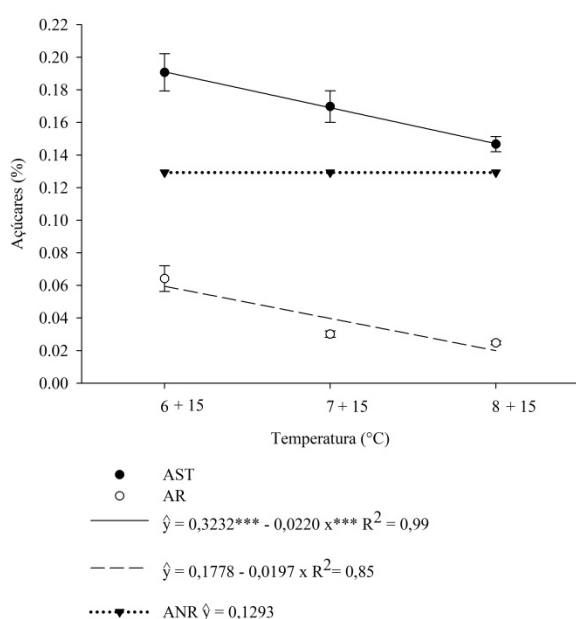


Figura 1: Açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e açúcar não redutor (ANR) dos tubérculos de batata cv. Innovator armazenados a 6, 7 e 8 °C e posteriormente acondicionamento a 15 °C por 15 dias.

O tempo de armazenamento dos tubérculos alterou os teores de AST, ANR e AR, que aumentaram a partir dos 94,6; 30 e 104,5 dias de armazenamento com valores de 0,17; 0,05; 0,12 % aos 150 dias, respectivamente. (Figura 2).

A combinação entre o armazenamento (6, 7 e 8 °C) com posterior acondicionamento a 15 °C, mesmo após 150 dias de armazenamento, manteve os teores de AR abaixo do recomendado para a indústria, 0,12 % da massa fresca (STARK et al., 2003).

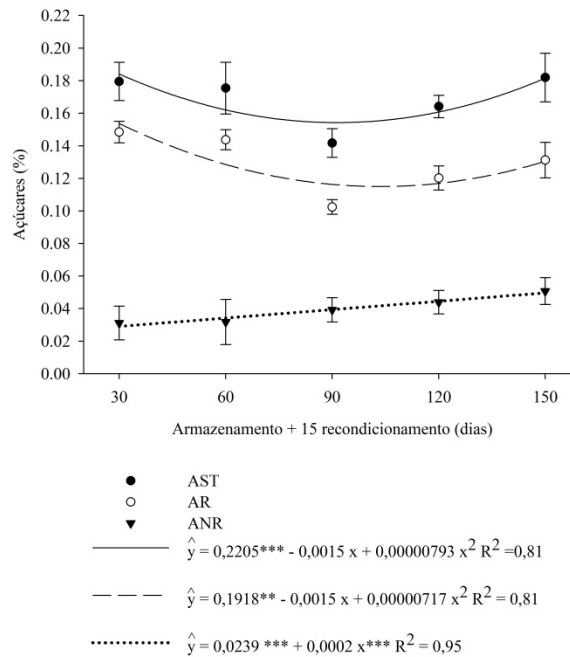


Figura 2: Teores de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e açúcar não redutor (ANR) dos tubérculos de batata cv. Innovator armazenados a 6, 7 e 8 °C por 30, 60, 90, 120 e 150 dias e posterior recondicionamento a 15 °C por 15 dias.

Independentemente da temperatura de armazenamento, os tubérculos foram classificados na categoria 2 aos 30 e 60 dias de armazenamento (Figura 3). Aos 90 dias de armazenamento, os tubérculos armazenados a 6 + 15 °C apresentaram coloração mais escura, classificação 3, enquanto os armazenados a 7 + 15 e 8 + 15 °C permaneceram na categoria 2, porém as pontas das batatas fritas foram mais escuras (Figura 3). Aos 120 dias, os tubérculos aos 6 + 15, 7 + 15 e 8 + 15 °C foram classificados nas categorias 3, 3 e 2, respectivamente (Figura 3). Aos 150 dias, os tubérculos a 6 + 15 °C apresentavam coloração bastante escura, classificados na categoria 4, enquanto a 7 + 15 e 8 + 15 °C em 3 e 2, respectivamente (Figura 3).

Apesar dos teores de açúcares terem permanecido adequados ao processamento, a coloração após fritura foi adequada somente até 60, 90 e 150 dias para as temperaturas de 6 + 15, 7 + 15 e 8 + 15 °C, respectivamente. As indústrias de processamento rejeitam tubérculos classificadas nas categorias acima da USDA 2 (KNOWLES et al., 2009). Os AR promovem o escurecimento durante a fritura pois, seu grupamento carbonila ou cetona reage com o grupo amino de aminoácidos, como a asparagina, em uma reação não enzimática (reação de Maillard) levando à formação dos pigmentos melanoidinas (

AMY et al., 2016). No entanto, os açúcares não são os únicos fatores que afetam a coloração dos palitos, estando também relacionados com a concentração de aminoácidos e polifenóis totais (FREITAS et al., 2006).

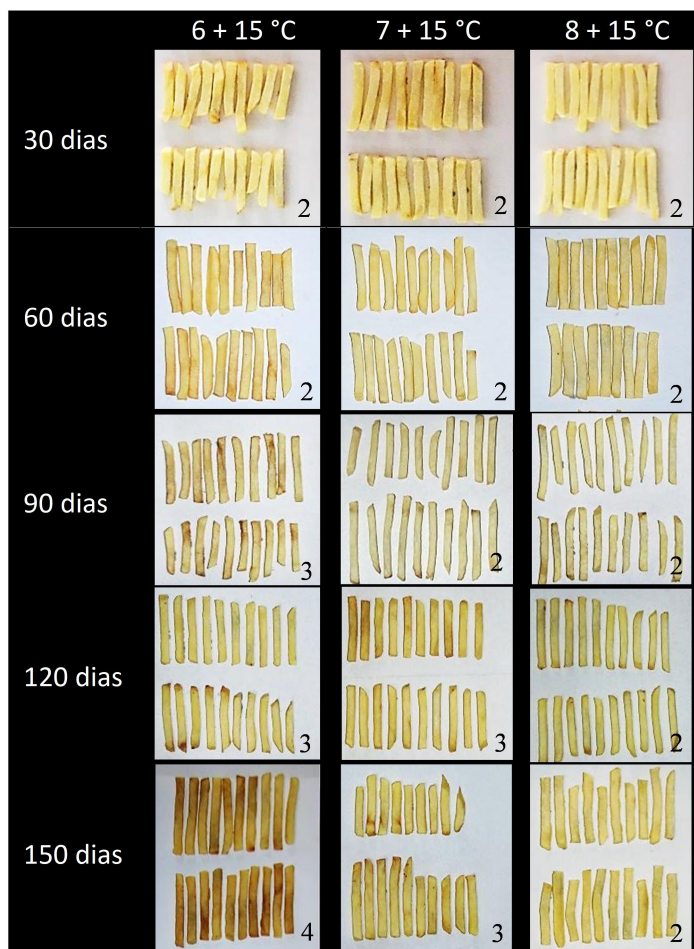


Figura 3: Coloração pós-fritura dos palitos de batata cv. Innovator armazenados a 6, 7 e 8 °C por 90, 120 e 150 dias e posterior acondicionamento a 15 °C por 15 dias. Os números abaixo de cada foto representam a classificação de acordo com USDA e a indústria de fast food, variando de 1 a 5.

ABONG et al., 2009, ao testar oito cultivares comerciais e três clones comerciais no Quênia, descobriram que o acondicionamento por três semanas a 15 °C após ter sido armazenado a 4 °C por três meses, não houve redução efetiva no escurecimento pós-fritura. Todas as batatas apresentaram cor marrom-escura e gosto desagradável, sendo classificadas como inaceitáveis pela indústria. Indicando que a resposta positiva ao acondicionamento é dependente da temperatura (KUMAR et al., 2004) e tempo de armazenamento (KNOWLES et al., 2009). De forma que para prolongar o período de aceitação dos palitos para a indústria, pode-se utilizar maior temperatura e tempo de

recondicionamento, de foram a reduzir a concentração de aminoácidos e o teor de plifenóis. Além das condições de armazenamento a resposta positiva é influenciada pela cultivar utilizada, estudo com ‘Diamante’, ‘Hermes’, ‘Lady Rosetta’ e ‘Spunta’ armazenadas a 4 ou 5 ° C por 30, 60, 120 e 150 dias seguidas de recondicionamento a 16 °C por 0, 15 e 30 dias, apresentaram melhoria nos terrores de AR, AST e coloração após a fritura, sendo que para a cultivar Hermes, 15 dias de recondicionamento foi suficiente, enquanto para a cultivar Lady Rosetta foram necessários 30 dias, enquanto ‘Diamante’ e ‘Spunta’ permaneceram abaixo do padrão nesses períodos de recondicionamento avaliado (KYRIACOU et al., 2009).

Os teores de amido foram influenciados pelo tempo de armazenamento aumentando a partir dos 65,9 dias, ficando na faixa de 19,3 a 21,9 %, aos 30 e 150 dias de armazenamento, respectivamente (Figura 4), apesar da ausência de efeito da temperatura. A indústria de batata frita requerem tubérculos com teor de amido superior a 15 %, para uma boa crocancia (KITA, 2002). As cultivares Eliza, Pérola e Atlantic quando armazenadas a 2 °C por 10 dias e recondicionadas a 15 °C por 10 ou 20 dias, não apresentaram alterações no teor de amido (CHAPPER et al., 2004). Enfatizando que a efetividade do recondicionamento é dependente da cultivar.

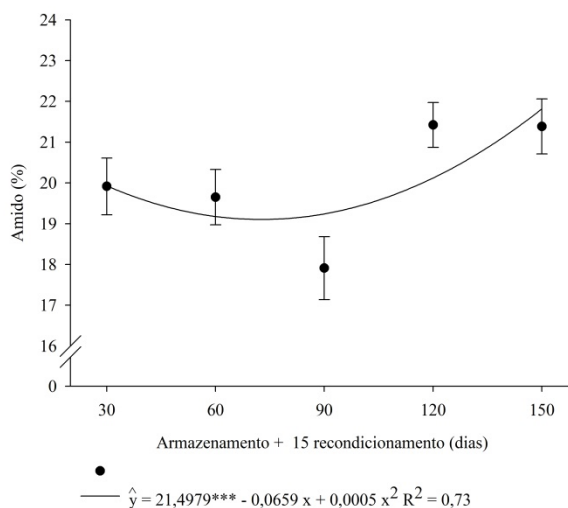


Figura 4: Teores de amido nos tubérculos de batata cv. Innovator armazenados a 6, 7 e 8 °C por 90, 120 e 150 dias e posterior recondicionamento a 15 °C por 15 dias.

Independentemente da temperatura, a brotação iniciou-se aos 90 dias de armazenamento (Figura 5), correlacionando-se com o aumento dos AST (Figura 2) e escurecimento durante a fritura (Figura 3). Durante a brotação os tubérculos requerem

maior quantidade de açúcares para atuarem como substrato respiratória para o crescimento e desenvolvimento dos brotos (BISOGNIN et al., 2008). O aumento da temperatura de armazenamento foi diretamente proporcional ao tamanho dos brotos, tornando os tubérculos fisicamente inadequados para ao processamento de batata em palito (Figura 5). O armazenamento a 6 °C com posterior recondicionamento a 15 °C retardou o tamanho dos brotos, ficando menores aos 150 dias em comparação a 8 + 15 °C, no qual o tamanho dos brotos tornaram tubérculos fisicamente inadequados para ao processamento de batata em palito (Figura 5), os efeitos da temperatura sobre o envelhecimento fisiológico dos tubérculos já é conhecido, e a redução da temperatura é uma das melhores maneiras para retardar o envelhecimento fisiológico dos tubérculos (MUTHONI et al., 2014).

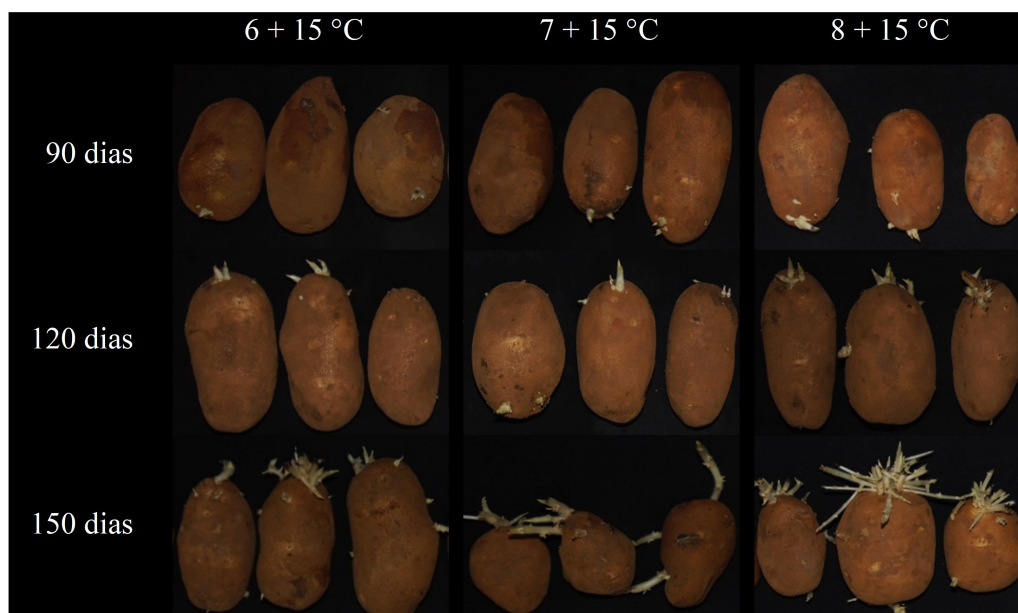


Figura 5: Início da brotação dos tubérculos da cultivar Innovator armazenados a 6, 7 e 8 °C por 90, 120 e 150 dias e posterior recondicionamento a 15 °C por 15 dias.

A atividade enzimática da PPO e POD não foi influenciada pela temperatura de armazenamnto seguido do recondicionamento, mas teve efeito do tempo de armazenamento, onde a PPO e POD aumentaram até os 100,6 e 86,9 dias, com atividade máxima de 49,36 e 7,28 $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína, respectivamente (Figura 6). O aumento da atividade enzimática é devido à condição de estresse, causada pela exposição a baixas temperaturas, em que os tubérculos foram submetidos. Em condições estresse, ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio, para evitar danos celulares, ativando sistemas de defesa enzimáticos e não enzimáticos, entre esses

sistemas estão a atividade da POD e PPO. Tanto a PPO quanto as podem podem levar o escureciemnto antes da fritura, as PODs usam H_2O_2 como oxidante e compostos fenólicos como doadores de elétrons (BARBOSA et al., 2014) levando à formação de melaninas. Apesar do aumento inicial na atividade das enzimas oxidativas, nenhum escurecimento foi observado nos palitos antes da fritura.

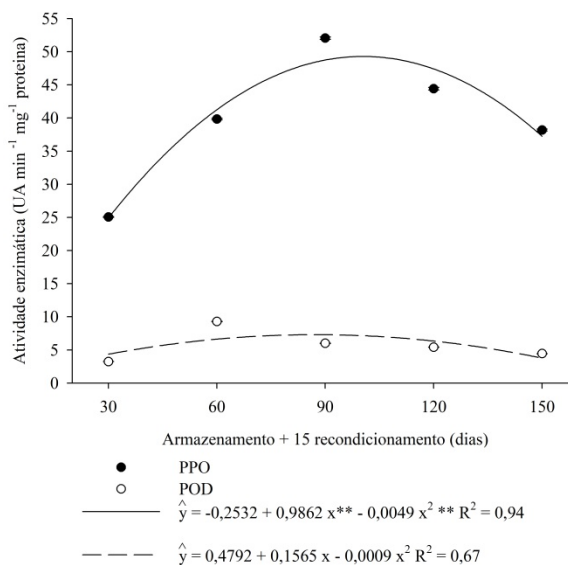


Figura 6: Atividade enzimática da polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) dos tubérculos de batata cultivar Innovator armazenados a 6, 7 e 8 °C por 90, 120 e 150 dias e posterior acondicionamento a 15 °C por 15 dias.

CONCLUSION

A redução da temperatura de armazenamento seguido de acondicionamento não retardou o início da brotação, mas reduziu o tamanho dos brotos, manteve os níveis de açúcares adequados mas promoveu o escurecimento não enzimático.

REFERENCES

ABONG, G. O; OKOTH, M. W.; KARURI, E. G.; KABIRA, J. N.; MATHOOKO, F. M. Evaluation of selected Kenyan potato cultivars for processing into french fries, **Journal of Animal and Plant Sciences** v. 2, p. 141-147, 2009.

AMY, E.; BRADFORDA, W.; BUSSEB, J. S.; BETHKEA, P. C. Temperature-dependent regulation of sugar metabolism in wild-type and low-invertase transgenic chipping potatoes during and after cooling for low-temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 115, p. 60 – 71, 2016.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M De. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p.453-460, 2014.

BETHKE, P. C., BUSSAN, A. J. Acrylamide in Processed Potato Products. **American Journal of Potato Research**, v. 90, p. 403-424, 2013.

BISOGNIN, D. A.; FREITAS DE, S. T.; BRACKMANN, A.; ANDRIOLO, J. L.; PEREIRA, E. I. P.; MULLER, D. R.; BANDINELLI, M. G. Envelhecimento fisiológico de tubérculos de batata produzidos durante o outono e a primavera e armazenados em diferentes temperaturas. **Bragantia**, v. 67, n.1, p.59-65, 2008.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

CHAPPER, M.; LOUREIRO, M. E.; MOSQUIM, P. R.; ARAÚJO, W. L.; PEREIRA, A.; FINGER, F. L.; SIMÕES, A. N. Mudanças metabólicas após recondiçãoamento a 15 °C de tubérculos de batata armazenados a baixa temperatura. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n.4, p. 700-705, 2004.

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

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes.pt: Experimental Designs package (Portuguese). R package version 1.1.2. 2013.

FREITAS, S.T.; PEREIRA, E.I.P.; GOMEZ, A.C.S.; BRACKMANN, A.; NICOLOCO, F.; BISOGNIN, DA. Processing quality of potato tubers produced during autumn and spring and stored at different temperatures. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 91-98, 2012.

GONÇALVES, C.; RODRIGUES-JASSO, M. R.; GOMES, N.; TEIXEIRA, J. A.; BELO, I. Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates. **Analytical Methods**, v. 2, p. 2046 – 2048, 2010.

KATZ, J. M.; WINTER, C. K.; BUTTREY, S. E.; FADEL, J. G. Comparison of acrylamide intake from Western and guideline based diets using probabilistic techniques and linear programming. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 877–883, 2012.

KAVRAYAN, D.; AYDEMIR, T. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). **Food Chemistry**, v. 74, p.146-154, 2001.

KITA A. The influence of potato chemical composition on crisp texture. **Food Chemistry**, v. 76, n.2, p.173-179, 2002.

KNOWLES, N. R.; DRISKILL, J. R.; KNOWLES, L. O. Sweetening responses of potato tubers of different maturity to conventional and non-conventional storage temperature regimes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, p. 49-61, 2009.

KUMAR, D.; SINGH, B. P.; KUMAR, P. An overview of the factors affecting sugar content of potatoes. **Annals of Applied Biology**, v. 145, n.3, p. 247-256, 2004.

KYRIACOU, M. C.; SIOMOS, A. S.; IOANNIDES, I. M.; GERASOPOULOS, D. The chip-processing potential of four potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars in response to long-term cold storage and reconditioning. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, p. 758–764, 2009.

LAGRIMINI, LM; GINGAS, V; FINGER, FL; ROTHSTEIN, S; LIU, TTY. 1997. Characterization of antisense transformed plants deficient in the tobacco anionic peroxidase. **Plant Physiology**, v. 114, p. 1187-1196, 1997.

McCREADY, R.M.J.; GUGGOLZ, J.; SILVEIRA, V.V.; OWENS, H.H. Determination of starch and amylase in vegetable. **Analytic Chemistry**, v.22, p.1156-1158, 1950.

MUTHONI, J.; KABIRA, J.; SHIMELIS, H.; MELIS, R. Regulation of potato tuber dormancy: A review. **Australian Journal crop Science**, v. 8, n. 5, p. 754-759, 2014.

PELUCCHI, C.; LA, VECCHIA. C.; BOSETTI, C.; BOYLE, P.; BOFFETTA, P. Exposure to acrylamide and human cancer-a review and metaanalysis of epidemiologic studies. **Annals of Oncology**, v. 22, p. 1487 – 1499, 2011.

STARK, J. C., OLSEN, N., KLEINK, O. P., GE, F., LOVE, S. L. Tuber quality. In: STARK, J. C., LOVE, S. L (eds). **Potato production systems**. Aberdeen: University of Idaho. p. 329-343. 2003.

USDA. United States Standards for Grades of Frozen French Fried Potatoes. Washington, p.16, 1967.

WIBERLEY-BRADFORDA, A. E.; BUSSEB, J. S.; BETHKE, P. C. Temperature dependent regulation of sugar metabolism in wild-type and low-invertase transgenic chipping potatoes during and after cooling for low-temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 115, p. 60-71, 2016.

CAPÍTULO III - DANO MÊCANICO E TEMPERATURA DE CURA NA QUALIDADE DE BATATA CV. INNOVATOR

RESUMO

Durante a colheita até o armazenamento da batata é comum à ocorrência de danos mecânicos, que estão entre as principais causas das perdas pós-colheita. A cura pode tornar os tubérculos mais resistentes ao dano mecânico, devido ao espessamento e suberização da parede celular. No entanto, a regeneração da periderme de dano e a qualidade para o processamento são influenciadas pela temperatura da cura. O objetivo desta pesquisa foi avaliar como o dano mecânico e temperatura de cura atua nas alterações cito e histológicas, metabolismo de carboidratos e atividade de enzimas oxidativas. Os tubérculos sem dano mecânico (controle) e com dano mecânico por escoriação foram submetidos à cura a 8, 14 e 20 °C por 15 dias. A 20 °C a diferenciação do felogênio traumático e periderme foi acelerada, resultando em um conjunto de tecidos que promoveu proteção dos tubérculos à taxa de perda de massa fresca (TPMF), comparativamente ao tratamento sem dano. A elevação da temperatura de cura acelerou o metabolismo com base no aumento da divisão e diferenciação celular da periderme recém formada, o que foi acompanhado por quebra e consumo das reservas de amido e proteínas nas camadas de tecido a partir do qual o felogênio traumático se diferenciou. O dano mecânico aumentou a TPMF e não influenciou no teor de açúcares redutores (AR), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). A concentração dos açúcares solúveis totais (AST) e açúcar não redutor (ANR) é mais elevada nos tubérculos com dano, enquanto a redução da temperatura de cura aumentou a concentração de AST, ANR e AR, porém, os teores de açúcares permaneceram adequados à indústria de batata pré-frita, sendo os palitos classificados na categoria 2. A redução da temperatura de cura também aumentou a atividade da POD, apesar da ausência de efeito sobre a atividade da PPO. Conclui-se que o estímulo físico decorrente do dano mecânico desencadeia a formação do felogênio traumático. A regeneração da periderme de dano e cura é mais rápida em temperaturas mais elevadas, 15 e 20 °C, levando a menor taxa de perda de massa fresca e não ocasionou escurecimento enzimático e não enzimático.

Palavras-chave: histologia, peroxidase, açúcares redutores

ABSTRACT

Mechanical damage is common from harvesting to storage of potatoes. It is among the main causes of postharvest losses. Curing makes tubers more resistant to mechanical damage due to thickening and suberization of the cell wall. However, damage periderm regeneration and processing quality are influenced by temperature at curing. The objective of this study was to evaluate the way in which mechanical damage and cure temperature act on cytological and histological alterations, carbohydrate metabolism and oxidative enzyme activity. Tubers with no mechanical damage (control) and mechanically damage by excoriation were cured at 8, 14 and 20 °C for 15 days. At 20 °C, the differentiation of traumatic and periderm felogen was accelerated, resulting in a set of tissues that promoted protection of tubers at fresh mass loss rate (FMLR) compared to treatment with no damage. Rising temperature at curing accelerated metabolism based on increased cell division and differentiation of the newly formed periderm, which was followed by breakdown and consumption of starch and protein reserves in the tissue layers from which the traumatic felogen differed. Mechanical damage increased FMLR and did not influence reducing sugar (RS), polyphenoloxidase (PPO) and peroxidase (POD) content. The concentration of total soluble sugars (TSS) and non-reducing sugar (NRS) is higher in damage tubers, while the reduction in the temperature for curing increased the concentration of TSS, NRS and RS; however, the sugar contents remained adequate for pre-fried potato industry, and the toothpicks were classified in category 2. The reduction in temperature for curing also increased the activity of POD, despite the absence of effect on the activity of PPO. It is concluded that the physical stimulus resulting from mechanical damage triggers the formation of traumatic felogen. Damage and healing periderm regeneration is faster at higher temperatures, 15 and 20 °C, leading to a lower rate of fresh mass loss. Also, it did not cause enzymatic and non-enzymatic browning.

Key words: histology, peroxidase, reducing sugars

INTRODUÇÃO

A batata é a terceira cultura mais importante e a primeira *commodity* não grão do mundo (EMBRAPA, 2016). A estimativa do impacto das perdas de raízes e tubérculos sobre as importações brasileiras é de 25 %, sendo que as maiores perdas ocorrem nas etapas de manuseio pós-colheita e armazenamento (COSTA et al., 2015).

O dano mecânico é uma das principais causas das perdas nas etapas de pós-colheita (GAO et al., 2016), mas em tubérculos de batata, o efeito do dano pode ser reduzido com a prática da cura após a colheita.

Após a cura, nos tubérculos maduros o felogênio cessa sua divisão celular e ocorre o espessamento e suberização da parede das células, tornando os tubérculos mais resistentes à escoriação (SABA e LULAI, 2005; LULAI, 2007). E nos tubérculos com dano mecânico ocorre à formação de um felogênio traumático que dá origem a uma periderme de dano que atua na proteção mecânica, resistência à perda de água e ao ataque de micro-organismos (JIN et al., 2018).

Temperaturas baixas de cura inibe a brotação, perda de água e infecção por micro-organismos o que prolonga o armazenamento pós-colheita (CHEN et al., 2012). Porém, podem levar ao acúmulo de açúcares causando o escurecimento dos tecidos após a fritura, reduzindo a qualidade do produto, além de retardar os processos de divisão celular e suberização, pois, a taxa de cicatrização de feridas são mais rápidas em temperaturas elevadas (WANG et al., 2015)

Adicionalmente, o dano mecânico e as baixas temperaturas podem aumentar a atividade das enzimas oxidativas (BARBOSA et al., 2014), o que também contribui para o escurecimento antes da fritura.

Diante disso, o objetivo desta pesquisa foi avaliar como o dano mecânico e temperatura de cura atua nas alterações cito e histológicas, metabolismo de carboidratos e atividade de enzimas oxidativas.

MATERIAL E MÉTODOS

Tubérculos de batata (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Innovator foram obtidos da área de produção comercial da região de Perdizes-MG (19° 21' 10" S, 47° 17' 34" W e 1000 m). Os tubérculos foram plantados em maio e colhidos manualmente em setembro de 2017. Os tratamentos consistiram em tubérculos sem dano mecânico (controle) e com danos mecânicos realizados com auxílio de uma lixa (escoriação manual em um dos lados do tubérculo) e colocados em câmaras a 8, 14 e 20 °C (UR 90 % ± 3) por 15 dias para a realização da cura.

A avaliação histológica e histoquímica foram realizadas a partir de amostras coletadas no início do experimento e após o período de 15 dias de cura. A taxa de perda de massa fresca (TPMF) foi realizada diariamente por 15 dias. As análises de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR), açúcares não redutores (ANR), coloração pós-fritura, atividade da peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) foram realizadas após 15 dias de cura.

Amostras de 1 cm³ foram retiradas da área sem dano mecânico (controle) e com dano mecânico dos tubérculos. As amostras foram fixadas em FAA (Formaldeído – Ácido acético – Etanol, 1:1:9 v:v:v) durante 48 h e depois armazenados em etanol 70 % (RUZIN, 1999). As amostras foram reduzidas a 0,25 mm³, desidratadas em etanol a 70, 80, e 95 % por 2 h cada, embebidas em resina metacrilado (Leica) mais etanol (1:1), por uma semana, e por fim em resina pura por 48 h. As amostras infiltradas com resina foram transferidas para histomoldes com solução de resina mais polimerizador e mantidas em estufa por sete dias, de acordo com as recomendações do fabricante.

Os cortes transversais com 5 µm de espessura, foram realizados com o auxílio do micrótomo (Leica, modelo Spencer). As lâminas foram montadas coradas em Azul de toluidina a 0,05 %, em tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 6,5 (O'BRIEN et al., 1964). Os testes histológicos com lugol (JOHANSEN, 1940), Floroglucina ácida (JOHANSEN, 1940), Xilidine Ponceau (VIDAL, 1970), vermelho neutro (KIRK, 1970) e Sudan Red (BRUNDRETT et al., 1991), foram realizados para detecção de amido, lignina, proteína e lipídeos, respectivamente.

Os cortes histológicos foram fotografados com auxílio de microscópio (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc.) e as imagens analisadas para avaliação das características estruturais e histolocalização de amido, proteínas, lignina e lipídeos nas

camadas celulares periféricas dos tubérculos. A análise da histometria da periderme e camadas colapsadas foi realizada com o software Image Pro Plus (MediaCybernetics).

A TPF dos tubérculos foi obtida pela diferença de peso dos tubérculos diariamente, sendo o resultado expresso em porcentagem.

Para a determinação dos AST e AR retirou-se 5 g de massa fresca dos tubérculos ao qual foi adicionado etanol 80 % a 100 °C. A mistura foi triturada e centrifugada por três vezes por 10 min a 1500 g. A cada centrifugação as amostras foram filtradas e o volume final combinado das filtragens foi padronizado e utilizado para a quantificação dos AST e AR (DUBOIS et al., 1956).

Os AST foram quantificados pelo método Fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), utilizando sacarose 1 % para a confecção da curva padrão. A reação foi composta de 250 µL do extrato, 250 µL de fenol 5 % e 1,25 mL de ácido sulfúrico. Posteriormente, a reação foi colocada em banho-termostático por 20 min a 30 °C. A leitura realizada em espectrofotômetro (Genesys- 10UV, sacannig) a 490 nm e expresso em %.

Os AR foram determinados pela metodologia do ácido dinitrossalicílico (DNS) descrito por GONÇALVES et al. (2010) com adaptações. Utilizou-se frutose 0,2 % para a confecção da curva. Para o preparo de 500 mL de DNS foi utilizado 5 g ácido dinitrossalicílico dissolvido em 250 mL de água destilada a 80 °C, 100 mL de NaOH 2 N e 150 g de tartarato de sódio e potássio. A reação foi composta por 500 µL de DNS e 500 µL da amostra, posteriormente colocados em água a 100 °C e após 5 min adicionado 4 mL de água destilada. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Genesys- 10UV, sacannig) a 540 nm e expresso em porcentagem.

Os ANR foram calculados pela diferença entre os AST e AR e expressos em porcentagem.

Para avaliação da coloração pós-fritura os tubérculos foram cortados em palitos, com cortador manual e fritos em fritadeira elétrica, com capacidade para 3 L (Modelo: Ford®), por 3 min a 180 °C. A coloração das batatas pós-fritura foi determinada visualmente com base na escala de notas preconizadas pela 'United States Standards for Grades of Frozen French Fried Potatoes' (USDA, 1967) e pela indústria de processamento de batata frita em notas que vão de 1 até 5.

Os extratos enzimáticos da POD, PPO e proteínas foram obtidos a partir de 5 g de material vegetal e 15 mL de tampão de extração (tampão fosfato de potássio 0,1 M a

pH 6,5). O material foi triturado, filtrado em gaze e centrifugado a 17.000 g por 30 min a 4 °C (LAGRIMINI et al., 1997).

Para determinação da atividade enzimática da POD, 100 µL do extrato foram adicionados ao meio de reação contendo 0,5 mL de guaiacol (1,7 %), 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) e 0,5 mL de peróxido de hidrogênio (1,8 %), sendo a leitura realizada em espectrofotômetro a 470 nm e os dados expressos em unidades de absorvância (UA) min⁻¹ mg⁻¹ de proteína (LAGRIMINI et al., 1997).

Para a determinação da atividade enzimática da PPO, o meio de reação foi composto por 100 µL de extrato enzimático, 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0), 0,5 mL catecol e 0,9 mL de água destilada. A leitura foi realizada a 420 nm e expressa em UA min⁻¹ mg⁻¹ de proteína (KAVRAYAN and AYDEMIR, 2001).

A proteína total foi determinada pelo método de BRADFORD (1976), utilizando albumina de soro bovino (BSA) como padrão.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em parcelas subdivididas, tendo nas parcelas as temperaturas de cura (8, 14 e 20 °C) e nas subparcelas os tubérculos sem e com dano mecânico, sendo cada tratamento composto por 8 repetições e a unidade experimental constituído por dois tubérculos. Os dados foram submetidos a análise de variância e regressão ($p < 0,05$) utilizando-se o software estatístico SAEG 9.1 - Sistema de Análises Estatísticas e Genética (SAEG, 2007). Nas análises histométricas foram utilizadas 5 repetições no mesmo delineamento experimental. As médias de cada variável foram tomadas a partir de duas medidas de três campos para cada uma das repetições. Cada repetição foi constituída de um tubérculo independente submetido aos respectivos tratamentos de temperatura e dano.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Comparando os cortes histológicos dos tubérculos no tempo zero com e sem dano, verifica-se que a escarificação mecânica retirou camadas dos tecidos do súber atingindo a feloderme e camadas mais periféricas do parênquima de reserva (Figuras 1A e 4B).

A feloderme e felogênio estão presentes enquanto o súber apresentou formato irregular e um número de camadas variável no controle (Figura 1 A, C, E e G). Independente da temperatura, o súber formado nos tubérculos do controle e o formado

pelo felogênio traumático apresentaram coloração azul evidenciando uma parede celulósica, a mesma característica sendo observada para a camada de fechamento (Figura 1). A deposição de suberina foi ausente nas células do súber e na camada de fechamento (dados não apresentados), ao contrário do esperado do desenvolvimento de uma periderme com a deposição de suberina atuando na cicatrização de lesões e como barreira contra desidratação, doenças e insetos (LULAI e SUTTLE, 2009). Eventualmente, a coloração azul esverdeada foi observada no súber, mas a presença de lignina foi descartada mediante o resultado negativo com o teste com floroglucina ácida (dados não apresentados).

Aos 15 dias de cura, uma camada mais externa de parênquima que sofreu colapso ainda apresentando amido e com regiões ligeiramente espessadas atribuídas às paredes e a conteúdo celular precipitado está presente na periferia do tubérculo. Internamente a esta camada colapsada, existe uma região com células não colapsadas, sem conteúdo e com uma parede celulósica, denominada camada de fechamento (LULAI e SUTTLE, 2009). O felogênio traumático, e a nova periderme formada esta interior a camada de fechamento (Figuras 1 D, F e H).

Independentemente do tratamento e temperatura de cura, observa-se que o tamanho e quantidade dos grãos de amido reduz e diminui, de dentro para fora do tubérculo, aproximadamente a partir da nova camada de células do parênquima de reserva mais externa (Figuras 1 A, B, C, D, E, F, G e H). Entretanto, nos tratamentos com dano, a transição é mais abrupta.

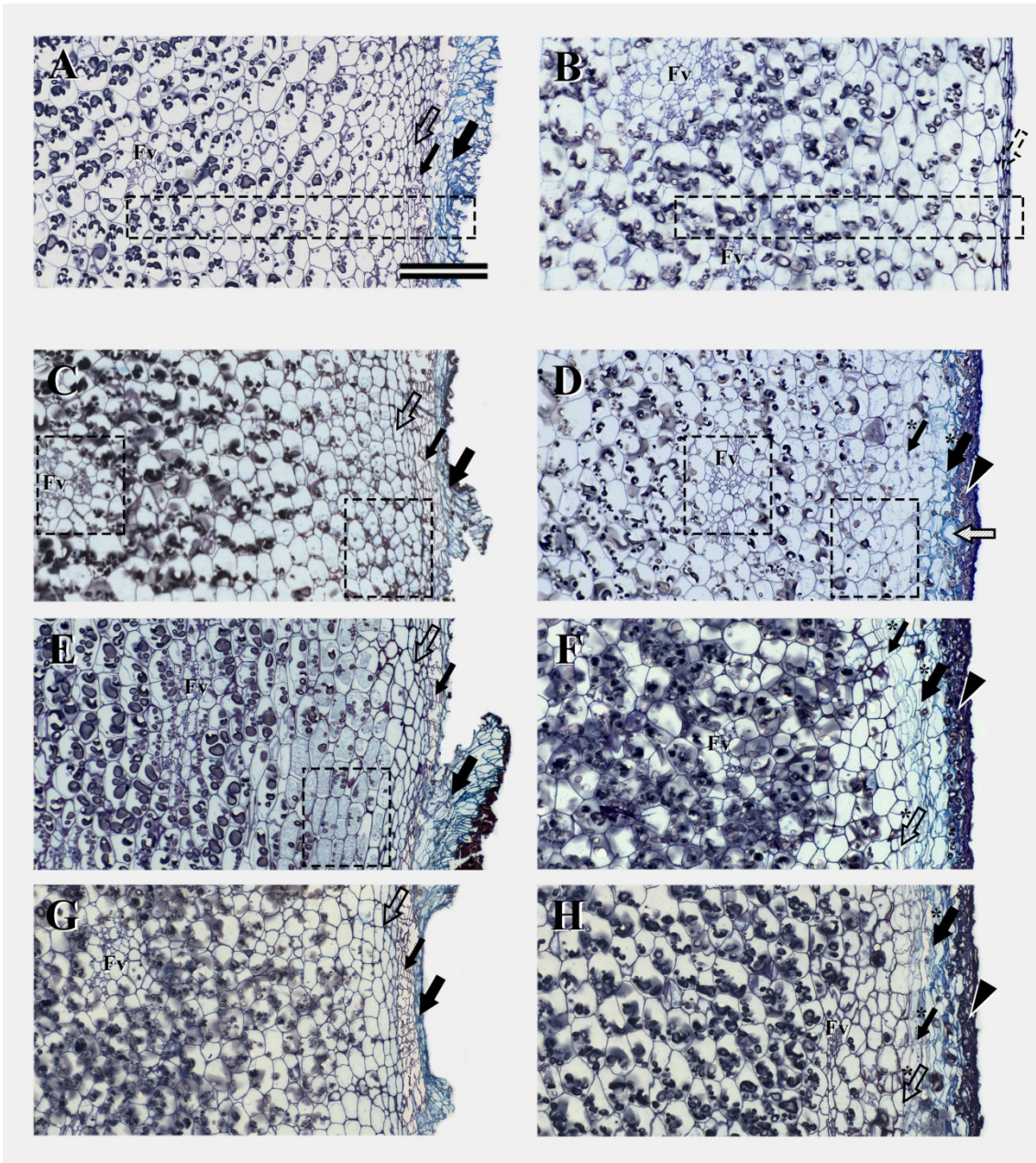


Figura 1 – Cortes histológicos dos tubérculos de batata cv. Innovator evidenciando a periderme e o tecido parenquimático de reserva. Controle sem dano no tempo zero (A) e tratamento com dano no tempo zero antes da cura (B). Periderme dos tubérculos nos tratamentos controle após 15 dias de cura a 8 (C), 14 (E) e 20 °C (G). Periderme dos tubérculos com dano mecânico após 15 dias de cura a 8 (D), 14 (F) e 20 °C (H). Cabeça de seta indicando região colapsada. Fv – feixe vascular; seta maior e cheia – súber; seta fina – felôgênio; seta maior e vazia – feloderme; seta com contorno descontínuo – camada de tecidos após a injúria mecânica; cabeça de seta – camada parenquimática colapsada; e seta com interior tracejado - idioblasto. Setas com asterisco evidenciam feloderme, felôgênio e súber de origem traumática. Detalhes das regiões destacadas com tracejado descontínuo evidenciam a periderme e detalhes do parênquima de reserva periférico a ser explorados na Figura 5. Barra equivale a 400 µm, todos os cortes representados estão no mesmo aumento.

O felogênio nos tubérculos dos tratamentos controle apresentam em torno de 4 a 7 camadas de células com lúmen menor e paredes mais finas que se romperam frequentemente (Figuras 1 C, E e G). As células que compõe o felogênio apresentaram paredes com coloração arroxeadas indicando maior proporção de pectina em sua constituição (Figura 1). As camadas celulares seguintes e mais internas, aproximadamente 3 camadas, apresentavam características de células parenquimáticas com formato que tende a ser retangular, sem amido e menores do que as do parênquima de reserva, foram identificadas como a feloderme (Figuras 1 C, E e G). Nos tratamentos com dano, o felogênio está em plena atividade e apresenta em média 1 a 9 camadas celulares, enquanto a feloderme está em formação e é semelhante ao parênquima de reserva, o que dificulta sua identificação.

LULAI e SUTTLE, 2009 destaca que a coloração metacromática das paredes facilitou a identificação do felogênio que apresenta uma coloração arroxeadas. E relatou que a maturação da periderme nativa e o desenvolvimento de resistência ao “skinning” são acompanhados por um aumento de pectinas não esterificadas nas paredes celulares do felogênio.

A formação do felogênio traumático ocorre no parênquima de reserva, próximo à décima camada tomada a partir da periderme (Figuras 1 C, E e G). Uma referência citológica desta localização é a presença de idioblastos com a parede secundária espessada e de natureza celulósica observada próxima à quarta até a sexta camada de células deste parênquima de reserva. Estes idioblastos se encontram junto à camada de células colapsadas em algumas amostras (Figura 1 D). Entretanto, a exata localização da formação do felogênio é imprecisa, haja visto a variação do número de camadas celulares que fazem parte do parênquima periférico colapsado. Esta variação é atribuída a diferenças na intensidade da injúria mecânica por ocasião da escarificação, o que é algo ainda a ser determinado. LULAI e SUTTLE, 2009 levantam questões em sua revisão quanto quais seriam as primeiras mudanças após a injúria, onde alterações no potencial osmótico das células no sítio de injúria são destacadas. Entretanto, estas respostas são relacionadas à suberização, além de que relatam que os sinais e mecanismos atuando na indução da suberização nos tubérculos de batata ainda não foram identificados.

A escoriação dos tubérculos (Figura 1 B) estimulou a formação de um felogênio traumático, cuja diferenciação foi mais rápida e que apresenta maior atividade com o

aumento da temperatura (Figuras 1 D, F e G). A formação de uma nova camada de felogênio é uma das primeiras respostas ao ferimento (SABBA e LULAI, 2004).

Nas temperaturas de 14 e 20 °C, mais camadas de súber foram formadas após os 15 dias de cura (Figuras 1 F e H). O estabelecimento mais rápido da periderme está atrelado ao consumo das reservas de amido e AST e AR e as menores taxas de TPMF nos tratamentos com maior temperatura, como a 20 °C.

Existe uma região variável entre 10 e 20 camadas de células deste parênquima de reserva que apresenta um conteúdo citoplasmático denso (Figuras 1 C e E). Ela abrange a camada que sofre desdiferenciação celular e que dá origem ao felogênio. Este conteúdo é menos aparente no tratamento com dano (Figura 1 D), sendo consumido ou eliminado com as camadas celulares externas à formação do felogênio (Figuras 1 F e G). A vascularização do tubérculo é observada logo abaixo destas camadas com conteúdo citoplasmático denso (Figura 2C).

Para que ocorra a cicatrização da região escoriada é formada a camada de fechamento e posteriormente a periderme de dano (LULAI et al., 2016). Aparentemente, esta camada é formada anterior ou concomitantemente com o felogênio traumático. A periderme de dano é formada por várias camadas de células suberizadas do súber e a feloderme consome amido das células subjacentes para fornecer energia e carbono para o felogênio (LULAI et al., 2016). A formação da camada de fechamento impede a dessecação e morte das células superficiais, proteção que é completada com a formação da periderme de dano (LULAI et al., 2016).

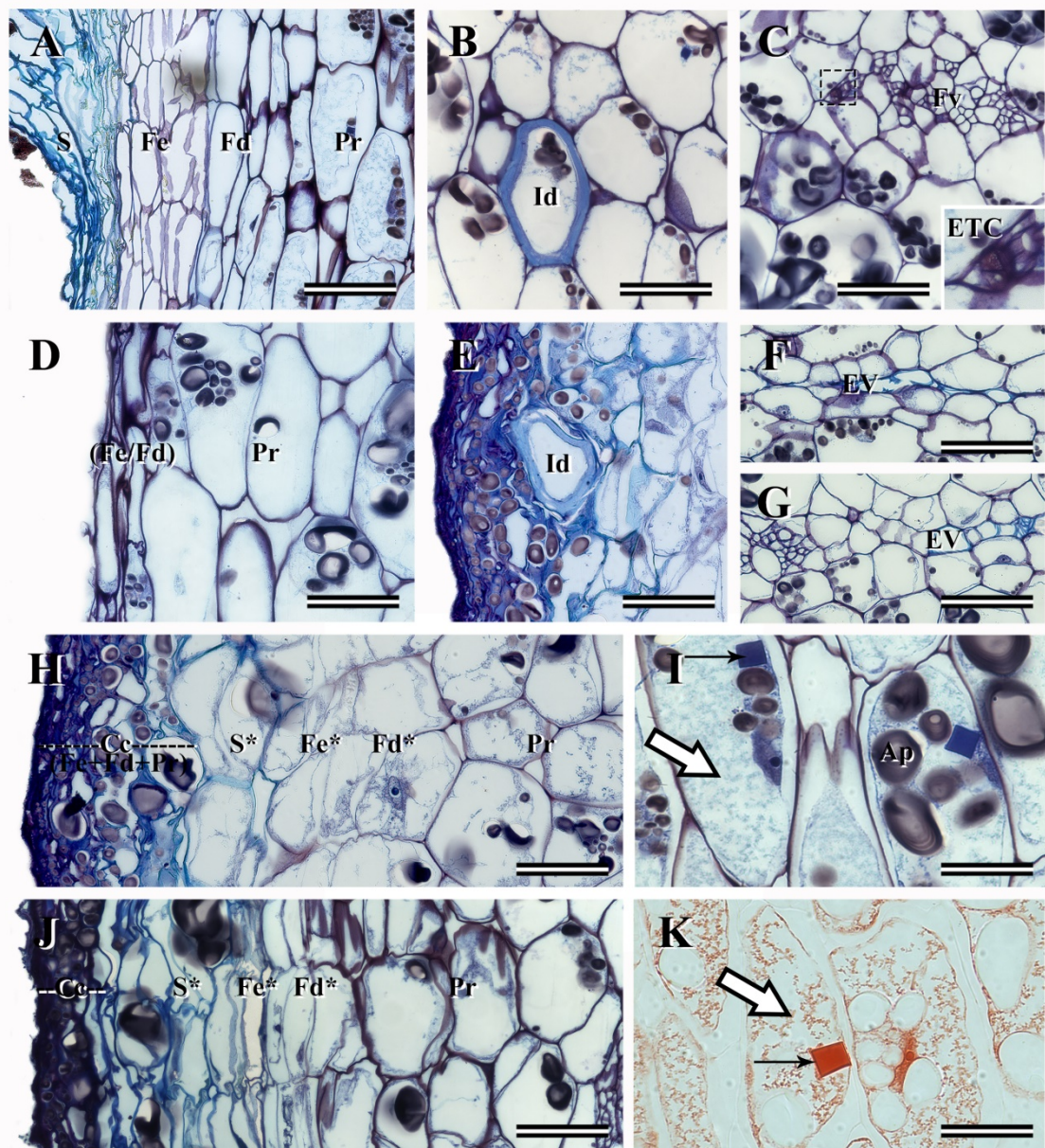


Figura 2 – Detalhes cito e histológicos da periderme e tecido parenquimático de reserva na periferia de tubérculos de batata cv. Innovator. A, B, C, D, E, F, G, H, I e J, coloração com azul de toluidina e Lugol; K, reação com Xilidine Ponceau. A - controle e D - injúria no tempo zero; de B, C, E, F, G, H, I, J e K, tratamentos após 15 dias de cura. B - controle 20 °C; C - dano 20 °C; E - dano 8 °C; F, G, I e K - controle 14 °C; H - dano 8 °C; e J - dano 20 °C. S – Súber; Fe – felogênio; Fd – feloderme; Pr – parênquima de reserva; Fv – feixe vascular, Id – idioblasto; ETC – elemento de tubo crivado; EV – elemento de vaso; Cc – camada de parênquima colapsado; Ap – amiloplasto. Letras seguidas de asterisco indicam estruturas de origem traumática. Seta grande com conteúdo branco – conteúdo citoplasmático denso de natureza proteica; seta fina – inclusão sólida de natureza protéica. Barras em A, B, C, D, E, F, G, H e J equivalem a 100 µm, barras em I e K equivalem a 50 µm. Detalhe evidenciado em C apresenta aumento adicional de 300%.

A análise de detalhes cito e histológica (Figura 2) evidencia propriedades das células e tecidos nas regiões da periderme e parênquima de reserva destacados na Figura 4. A constituição da parede onde predomina a celulose e pectinas nas células do súber e feloderme, respectivamente, é destacada (Figura 2 A). Os idioblastos que ocorrem na porção periférica do parênquima de reserva apresentam uma parede secundária, espessada e de natureza celulósica que contrasta com uma parede fina das células deste parênquima de reserva. Esta estrutura de uma parede reforçada apresenta maior resistência mecânica do que as demais células. O parênquima próximo aos tecidos vasculares apresenta menos e menores plastídeos em todos os tratamentos (Figura 2). A ausência de amido nestas células é relacionada ao seu consumo e o transporte de carboidratos para manter o metabolismo e aumento da respiração (DANIELS-LAKE et al., 2016; LULAI et al., 2016), ainda que em taxas mais baixas. Os elementos condutores do floema e xilema podem ser identificados, apesar do tamanho reduzido dos elementos de tubo crivado e placas crivadas (Figura 2 C) e do formato irregular e menor deposição de parede secundária nos elementos de vaso (Figuras 2 F e G).

A escoriação/dano mecânico atinge as camadas da feloderme até a periferia do parênquima de reserva (Figura 2 D), onde camadas mais internas são eliminadas com a formação do felogênio traumático (Figura 2 E). A presença dos idioblastos com as paredes espessadas é coerente com a identificação das camadas celulares que são eliminadas. Nesta camada colapsada observa-se que as reservas de amido ainda estão presentes, o que somado a formação da camada de fechamento, sugere o isolamento e ou a ausência de um protoplasto ativo nas células que são eliminadas. O conteúdo mais denso na região da parede e que preenche os espaços intercelulares contribui para o isolamento destas camadas de células (Figuras 2 E, H e J).

O parênquima de reserva logo abaixo da periderme apresenta células com um citoplasma denso e rico em proteínas (Figuras 2 I e J). As proteínas solúveis presentes nos tubérculos de batata são principalmente proteínas inibidoras de protease (50 %) e patatina (40 %) (POUVREAU et al., 2001). A proteína denominada de PMC, inibidor da protease Cys (cistatina), com oito domínios de tamanho e sequencias semelhantes, está presente nas camadas abaixo do felogênio em tubérculos de batata (NISSEN et al., 2009). O conteúdo proteico do citoplasma está presente, porém, menos denso nos tratamentos submetidos à escoriação mecânica. O formato das inclusões proteicas se assemelha a corpos prismáticos encontrados em peroxissomos (Figuras 2 I e K) e foram

identificados como proteínas inibidores de protease Cys (cistatina) (NISSEN et al., 2009).

Os peroxissomos são organelas dinâmicas quanto à morfologia e metabolismo que estão envolvidas em vários processos como metabolismo do carbono, metabolismo secundário, desenvolvimento, resposta ao estresse e defesa contra patógenos (HU et al., 2012). Uma característica compartilhada de todos os peroxissomos é a sua capacidade de metabolizar o peróxido de hidrogênio, consequentemente protegendo o resto da célula deste subproduto tóxico (JOHNSON e OLSEN, 2001). A identificação de proteínas cistatinas (NISSEN et al., 2009) e atividade na defesa contra estresses (JOHNSON e OLSEN, 2001; HU et al., 2012) dão suporte à hipótese de que estas camadas apresentam papel na viabilidade e manutenção da integridade do tubérculo desafiado por estresses bióticos ou abióticos.

A redução da quantidade e tamanho dos grãos de amido e da quantidade de proteínas no parênquima periférico são atribuídos ao consumo destas reservas dando suporte à formação e atividade do felogênio traumático (Figuras 2 H e J). A atividade deste felogênio traumático é menor no tratamento de cura a 8 °C (Figura 2 H) e estimulada à 20 °C, onde são observadas células de súber e feloderme recém-formadas e distintas (Figura 2 J). Estas observações estão de acordo com o aumento da atividade respiratória (DANIELS-LAKE et al., 2016) e consumo de amido para a formação do felogênio (LULAI et al., 2016).

Independente do processo de cura, o citoplasma do parênquima de reserva na periferia do tubérculo apresenta uma reação positiva para a presença de proteínas (Figuras 3 A a E). Estas proteínas estão na região de parênquima colapsado observado após a cura, independente da temperatura, ocupando a região da parede e espaços intercelulares (Figuras 3 C e D). A concentração destas proteínas, considerando a sua natureza (POUVREAU et al., 2001; NISSEN et al., 2009), reforçam a estrutura composta por células colapsadas, que pode atuar na defesa do tubérculo contra patógenos.

Isto é particularmente relevante ao se considerar a pequena deposição de lipídeos no súber, constada com o reagente de Sudan Red (Figura 3 F e G). O súber constitui uma região constituída por células mortas e onde é observado a deposição de lipídeos, como suberina (COMPANY-ARUMÍ et al. 2016), atuando na proteção e redução de perda de água pelo tubérculo (SABA e LULAI, 2005; LULAI, 2007; JIN et al., 2018). A quantidade de suberina e cera produzido na periderme de dano é 50 a 60 % menor

que na periderme nativa (SCHREIBER et al., 2005). A pequena deposição de lipídeos no súber é atribuída a uma característica inerente à variedade utilizada ou a fatores ambientais que, na ausência de relatos específicos para a variedade utilizada neste trabalho, podem explicar estas observações. A resposta negativa com a fluorescência dos lipídeos em cortes tratados com Vermelho Neutro corrobora para a ausência ou menor proporção de lipídeos nas paredes das células do súber (dados não apresentados).

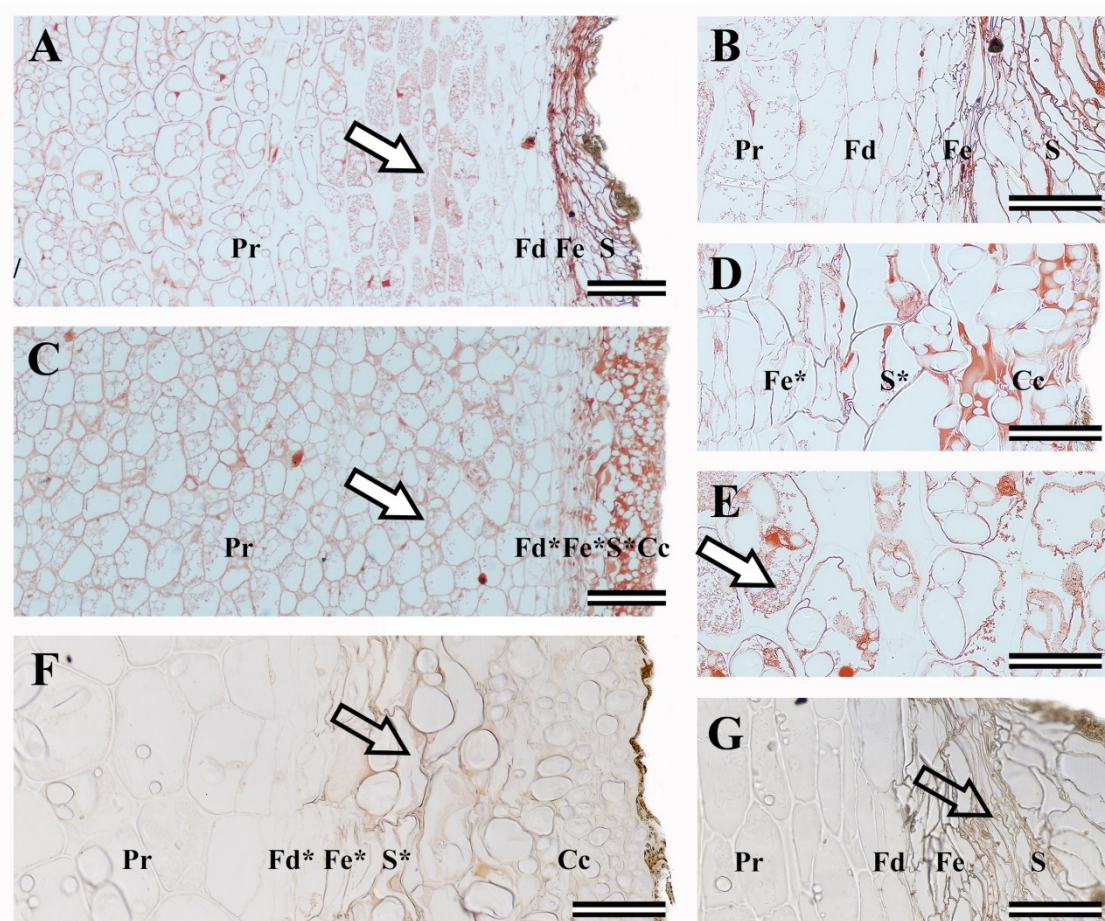


Figura 3 – Testes histoquímicos de Xilidine Ponceau (A a E) e Sudan Red (F e G) em seções transversais de tubérculos de batata cv. Innovator, após a cura por 15 dias a 14 °C. A, B, E e G, tratamento controle e C, D e F, tratamento dano. S – Súber; Fe – felogênio; Fd – feloderme; Pr – parênquima de reserva; Cc – camada de parênquima colapsado. Letras seguidas de asterisco indicam estruturas de origem traumática. Seta grande com interior branco – conteúdo citoplasmático denso de natureza proteica; seta grande com o interior transparente – reação positiva para a presença de lipídeos. A e C, barras equivalem a 200 µm; B, D, E, F e G; barras equivalem a 100 µm.

O número de camadas de células da periderme e regiões constituintes foi significativamente menor nos tratamento de dano em relação ao controle, independentemente da temperatura de cura (Tabela 1). Exceção feita ao número de

camadas do felogênio à temperatura de cura de 14 °C. Estas observações são atribuídas à diferença na atividade meristemática do felogênio e processo de diferenciação em andamento, em particular para o tratamento de dano. É evidente a tendência de aumento do número de camadas de células que fazem parte da camada de fechamento e da periderme com o aumento da temperatura (Tabela 1). Isto é interpretado como um maior recrutamento de células a participar no isolamento dos tecidos vivos internos à região de resposta ao dano é de importância para a proteção do tubérculo e redução de perda de água/TPMF. Um menor número de camadas da feloderme é esperado, o que, além da natureza parenquimática que dificulta sua identificação, é uma região que pode ainda ser recrutada para a formação de um novo felogênio mais interno, razões pelas quais, dependente ou independentemente da temperatura, menos camadas serão observadas.

Mesmo após 15 dias de cura, à 8 °C a feloderme e súber ainda não haviam sido diferenciados, quando apenas o felogênio havia sido formado (Tabela 1). Com o aumento da temperatura de cura as demais camadas da periderme foram formadas e aumentaram significativamente em número de células, o que implica no estímulo significativo da temperatura no processo de divisão celular (Tabelas 1). Estas observações são coerentes com a observação de menor TPFM com o aumento da temperatura de cura, que é atribuída a diferenciação de uma periderme funcional e ativa na proteção de perda de água do tubérculo. Este aumento do número de camadas pode também ser relacionado à uma menor espessura da camada colapsada mais externa com o aumento da temperatura de cura (Tabela 1). Apesar do dano, o metabolismo acelerado pela temperatura pode também contribuir para a quebra de reservas presentes nas camadas mais externas, que, ao invés de sofrer colapso, podem ter disponibilizados recursos energéticos para sustentar seu metabolismo e participar da formação da camada de fechamento ou do felogênio traumático. Estas observações têm suporte no aumento da espessura das camadas celulares da periderme, que inicialmente são menores em menores temperaturas, mas não diferem do tratamento controle à temperatura de cura de 20 °C. Ressaltamos que independente da temperatura e tratamento de dano, a espessura do felogênio não diferiu entre os tratamentos.

Tabela 1: Número de camadas e espessura da periderme, súber, felogênio e feloderme do controle e tubérculos com dano após a cura por 15 dias a 8, 14 e 20 °C

	Número de camadas			Espessura		
	8 °C	14 °C	20 °C	8 °C	14 °C	20 °C
Periderme						
Controle	17.37 a	16.68 a	16.2 a	291.71 a	263.02 a	230.99 a
Dano	3.2 b	7.53 b	8.16 b	98.56 b	126.13 b	211.69 a
Súber						
Controle	-	7.88 a	6.06 a	-	79.98 a	62.96 a
Dano	-	2.53 b	2.90 b	-	42.68 b	55.94 a
Felogênio						
Controle	6.70 a	4.38 a	7.20 a	84.9 a	49.8 a	87.4 a
Dano	3.20 b	4.36 a	3.43 b	98.5 a	67.9 a	70,1 a
Feloderme						
Controle	-	4.42 a	2.93 a	-	132.50 a	81.32 a
Dano	-	0.63 b	1.83 b	-	15.53 b	85.59 a

Letras minúsculas na mesma coluna não diferem entre si pelo teste t a 5 %.

A TPMF foi maior (diferença mínima significativa DMS 5 %) nos tubérculos com dano comparativamente ao tratamento controle, por até 15, 9 e 7 dias de cura a 8, 14 e 20 °C, respectivamente (Figura 4).

A maior TPMF nos tubérculos com dano é devido à perda de água pela transpiração e consumo de reservas pela respiração. O ferimento pode elevar a atividade respiratória, devido à elevação da permeabilidade de vapor no tecido danificado (DANIELS-LAKE et al., 2016). A perda de água é elevada, e estima-se que a taxa inicial de perda de água pode ser aumentada em 250 a 1.000 vezes em ferimentos como corte, contusões e esfolia (SCHREIBER et al., 2005).

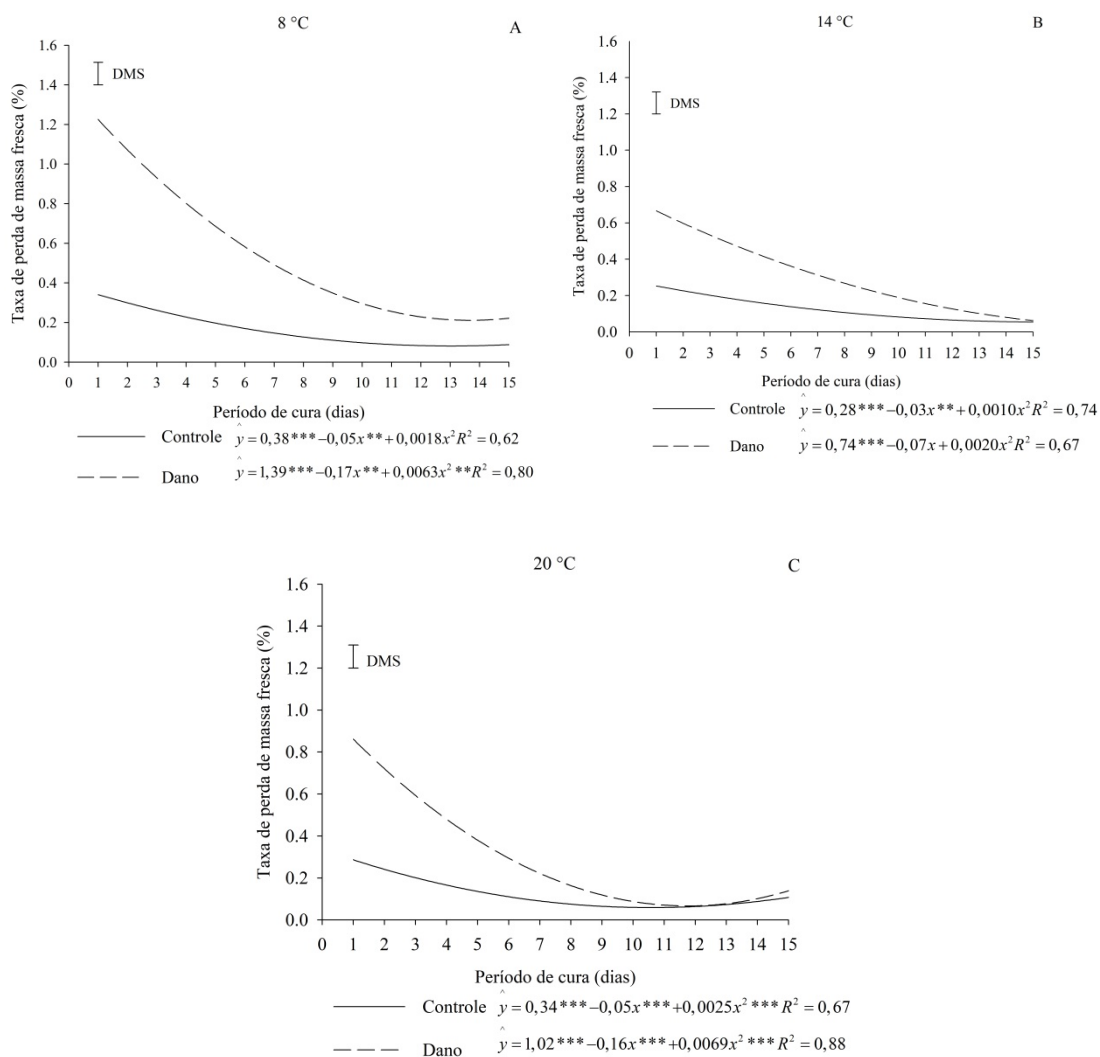


Figura 4: Taxa de perda de massa fresca dos tubérculos de batata cv. Innovator durante a cura de 15 dias a 8 °C (A), 14 °C (B) e 20 °C (C). DMS – diferença mínima significativa em nível de 5% pelo teste t.

A TPMF decresceu com o período de cura para todos os tratamentos e foi maior nos tubérculos a 8 °C comparado as temperaturas de 14 e 20 °C (Figura 4). Nas temperaturas mais elevadas houve a diferenciação mais rápida do felogênio traumático e da periderme de dano (Figura 1). Reduzindo a perda de água dos tubérculos com dano a 14 e 20 °C e consequentemente a TPMF. A TPMF dos tubérculos do controle apresentou menor variação para as temperaturas de cura avaliadas.

A TPMF dos tubérculos com dano foi de 0,26; 0,14; 0,17 % enquanto no controle foi de 0,035; 0,055; 0,15 %, para a cura a 8, 14 e 20 °C (UR 90 % ± 3) aos 15 dias. DANIELS-LAKE et al., 2016 ao avaliar a perda de peso fresco dos tubérculos a 13

°C (UR de 95 %) por 7 dias observou perda de 1,2; 1,7 e 2,1 % em tubérculos intactos, desgastados ou cortados, respectivamente. Estes valores aumentam aos 37 dias, para 2,7, 3,4 e 4,0 %, respectivamente e não houve efeito das cultivares testadas (Crisping, Andover e NorValley). Destacando a importância da avaliação da velocidade de formação do felogênio e das características anatômicas do felogênio traumático e formação da periderme na perda de massa.

O aumento da temperatura de cura de 8 para 20 °C reduziram as concentrações dos AST, ANR e AR nos tubérculos sem e com dano (Figuras 5 A, B e C), no entanto, essa redução foi menor nos tubérculos do controle. Quanto menor a temperatura de cura (8 °C), maior a condição de estresse, maior o acúmulo de açúcares que podem funcionar como crioprotetores (STITT and HURRY, 2002).

Nas temperaturas de cura de 8 e 14 °C as concentrações de AST e ANR foram maior nos tubérculos com dano mecânico em relação ao controle (Figura 5 A e B). Já os AR não diferiram entre os tubérculos sem e com dano mecânico (Figura 5 C). Com a ocorrência de dano mecânico, a atividade respiratória é aumentada, aumentando assim a concentração de ANR (sacarose) para atuar como substrato respiratório. O fermento pode elevar a atividade respiratória em 25 vezes, após 24 h da ocorrência do dano, quando comparada aos tubérculos intactos (LULAI et al., 2007). O aumento da concentração de AST ocorre pela quebra do amido em ANR (ZOMMICK et al., 2014). Em tubérculos com dano mecânico há também a mobilização e consumo de reservas, como observado nos cortes histológicos da região parenquimática onde se forma o felogênio (Figura 1). Estes carboidratos são utilizados para a diferenciação da periderme de dano. A ausência de alterações significativas na concentração de AR sugere que não houve conversão de ANR em AR (glicose e frutose).

A 20 °C os teores de AST e ANR encontrados foram semelhantes entre os tubérculos sem e com dano mecânico (Figura 5 A e B). O que pode ser devido a elevação da atividade respiratória dos tubérculos do controle, devido a temperatura alta e ao consumo de carboidratos mais rapidamente nos tubérculos com dano para a formação da periderme de dano.

respectivamente (Figura 5 B e C). Para a indústria de processamento de batata frita, os teores de ANR devem ser abaixo de 0,33 % de massa fresca (CHAPPER et al., 2002) e os AR abaixo de 0,12 % de massa fresca (STARK et al., 2003).

Independente da temperatura de cura e ocorrência de dano mecânico, os palitos foram classificados na categoria 2 após a fritura (Figura 6), o que está adequado com os valores de AR e ANR. O escurecimento após a fritura é causado pela reação não enzimática, denominada de Maillard entre grupamentos carbonilas do AR e aminoácidos, como asparagina, levando a formação de melanoidinas (AMY et al., 2016), que confere coloração escura aos palitos após a fritura, tornando-os inadequados a indústria, que requerem produtos classificados na categoria 1 e 2.

O dano mecânico e a temperatura de cura não estimularam a atividade da PPO ($\hat{y} = 1,19$). A atividade da POD reduziu com o aumento da temperatura (Figura 5 D). A baixa temperatura consiste em condição de estresse aos tubérculos, que leva a ativação do mecanismo de defesa da planta quanto a produção de espécies reativas de oxigênio, dentre esses mecanismos, estão a ativação de enzimas oxidativas, como a peroxidase (BARBOSA et al. 2014). A atividade das PODs e a formação de H_2O_2 são necessárias para suberização e por isso são induzidas após o ferimento (BERNARDS e RAZEM, 2001). No entanto, no presente estudo não houve efeito do dano mecânico na atividade da POD ao final dos 15 dias de cura. O que pode estar relacionado a pequena deposição de lipídios no súber (Figura 3).

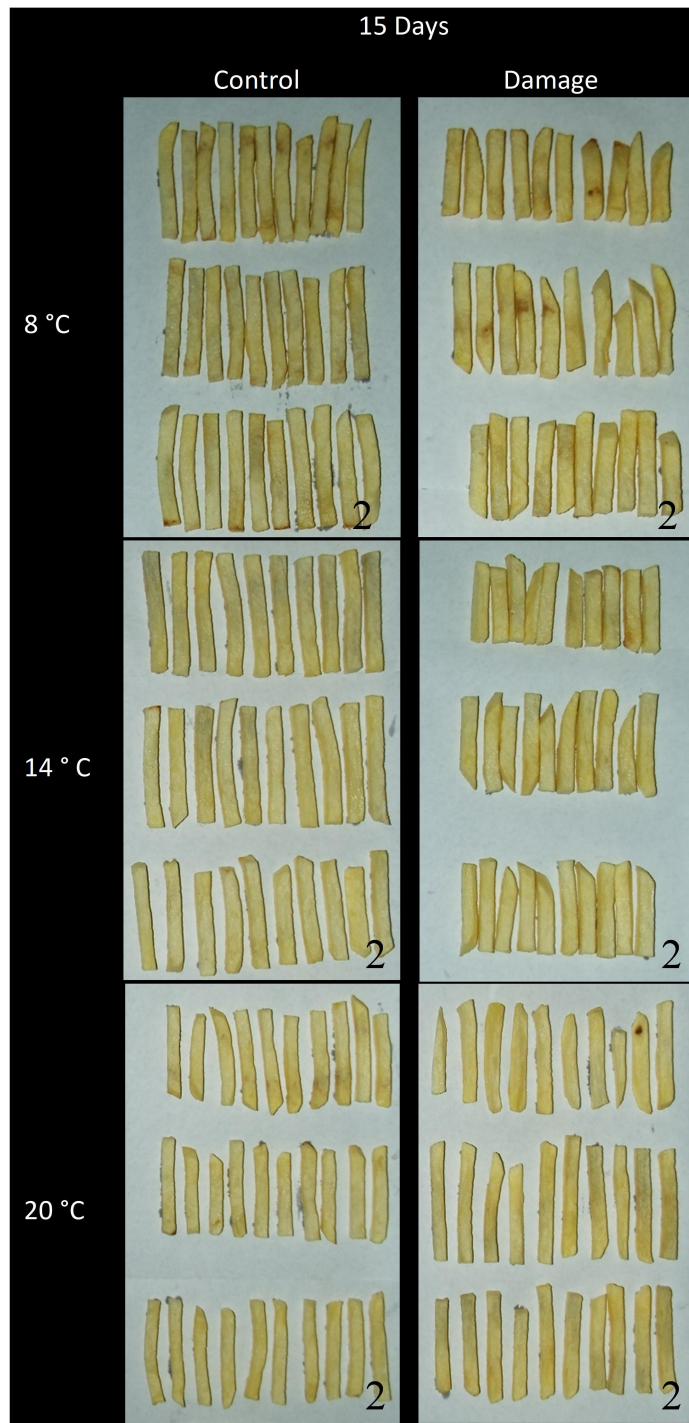


Figura 6: Coloração pós-fritura dos palitos de batata cv. Innovator do controle (sem dano) e com dano após 15 dias de cura a 8, 14 e 20 °C. The numbers below each photo represent the classification according to USDA and the fast food industry color grading chart from 1 to 5.

CONCLUSÃO

O estímulo físico decorrente do dano mecânico desencadeia a formação do felogênio traumático. A regeneração da periderme de dano e cura é mais rápida em temperaturas mais elevadas, 15 e 20 °C levando a menor taxa de perda de massa fresca e não ocasionou escurecimento enzimático e não enzimático.

REFERENCIAS

AMY, E.; BRADFORDA, W.; BUSSEB, J. S.; BETHKEA, P. C. Temperature-dependent regulation of sugar metabolism in wild-type and low-invertase transgenic chipping potatoes during and after cooling for low-temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 115, p. 60 – 71, 2016.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, p. 453-460, 2014. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782014000300011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt.

BERNARDS, M. A.; RAZEM, F. The poly(phenolic) domain of potato suberin: a non-lignin cell wall biopolymer. **Phytochemistry**, v.57, p.1115–1122, 2001.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRUNDRETT, M. C.; KENDRICK, B.; PETERSON, C. A. Efficient lipid staining in plant material with sudan red 7B, fluoral yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 66, p.111-116, 1991.

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

CHEN, X.; SONG, B.; LIU, J.; YANG, J.; HE, T.; LIN, Y.; ZHANG, H.; XIE, C. Modulation of gene expression in cold-induced sweetening resistant potato species *Solanum berthaultii* exposed to low temperature. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 287, p. 411–421, 2012. Doi 10.1007/s00438-012-0688-6.

COMPANY-ARUMÍ, D.; FIGUERAS, M.; SALVADÓ, V.; MOLINAS, M.; SERRA, O.; ANTICÓ, E. The identification and Quantification of Suberin Monomers of Root and Tuber Periderm from Potato (*Solanum tuberosum*) as Fatty Acyl tert-Butyldimethylsilyl Derivatives. **Phytochemical Analysis**, v. 27, p. 326–335, 2016. Doi: 10.1002/pca.2625.

COSTA, C. da C.; GUILHOTO, J. J. M.; BURNQUIST, H. L. Impactos Socioeconômicos de Reduções nas Perdas Pós-colheita de Produtos Agrícolas no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.53, n.3, p. 395-408, 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/1234-56781806-9479005303002>.

DANIELS-LAKE, B.; PRANGE, R.; WALSH, J.; HILTZ, K.; BISHOP, S.; MUNRO-PENNELL, K. Effects of simulated harvest injury and relative humidity during the first week post-harvest on potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber weight loss during subsequent storage. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 89, n. 2, p. 167–172, 2014. <http://dx.doi.org/10.1080/14620316.2014.11513064>.

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

EMBRAPA, 2016. Sistema de produção da batata. In: **Introdução e importância econômica**. Disponível em: https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducao1f6_lgalceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=8803&p_r_p_-996514994_topicoId=1301 Acessado 19 dez 2018.

GAO, Y.; GENG, J.; RAO, X.; YING, Y. CCD-Based skinning injury recognition on potato tubers (*Solanum tuberosum* L.): A comparison between visible and biospeckle imaging. **Sensors**, v. 16, p. 1734, 2016. Doi:10.3390/s16101734.

GONÇALVES, C.; RODRIGUES-JASSO, M. R.; GOMES, N.; TEIXEIRA, J. A.; BELO, I. Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates. **Analytical Methods**, v. 2, p. 2046 – 2048, 2010.

HU, J.; BAKER, A.; BARTEL, B.; LINKA, N.; MULLEN, R. T.; REUMANN, S.; ZOLMANH, B. K. Plant Peroxisomes: Biogenesis and Function. **The Plant Cell**, v. 24, p. 2279–2303, 2012.

JIN, L.; CAI, Q.; HUANG, W.; DASTMALCHI, K.; RIGAU, J.; MOLINAS, M.; FIGUERAS, M.; SERRA, O.; STARK, R. E. Potato native and wound periderms are differently affected by downregulation of FHT, a suberin feruloyl transferase. **Phytochemistry**, v. 147, n. 30, p. e48, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.12.011>.

JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. McGraw-Hill Books: New York, 1940.

JOHNSON, T. L.; OLSEN, L. J. Building New Models for Peroxisome Biogenesis. **Plant Physiology**, v. 127, 2001. Doi: <https://doi.org/10.1104/pp.010262>.

KAVRAYAN, D.; AYDEMIR, T. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). **Food Chemistry**, v.74, p. 146-154, 2001.

- KIRK, J. R. P.W. Neutral red as a lipid fluorochrome. **Stain Technology**, v.45, p. 1-4, 1970.
- LAGRIMINI, LM; GINGAS, V; FINGER, FL; ROTHSTEIN, S; LIU, TTY. 1997. Characterization of antisense transformed plants deficient in the tobacco anionic peroxidase. **Plant Physiology**, v. 114, p. 1187-1196, 1997.
- LULAI, E. C.; SUTTLE, J. C. Signals involved in tuber wound-healing. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, p. 620-224, 2009. <http://dx.doi.org/10.4161/psb.4.7.8922>.
- LULAI, E. C. 2007. Skin-Set, Wound Healing, and Related Defects. USDA-ARS, Northern Crop Science Laboratory, 1307 18 Street N, Fargo, ND, USA.
- LULAI, E. C.; CAMPBELL, L. G.; FUGATE, K. K.; MCCUE, K. F. Biological differences that distinguish the 2 major stages of wound healing in potato tubers, **Plant Signaling & Behavior**, v.11, n.12, p. e1256531, 2016. Doi: 10.1080/15592324.2016.1256531.
- NISSEN, M. S.; KUMAR, M. G. N.; YOUN, B.; KNOWLES, B. D.; SUMLAM, K.; BALLINGER, J. W.; KNOWLES, R. N.; KANGA, C. Characterization of *Solanum tuberosum* multicystatin and its structural comparison with other cystatins. **The Plant Cell**, v. 21, p. 861–875, 2009. doi/10.1105/tpc.108.064717.
- O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma**, v. 59, n.2, p. 368-373, 1964.
- POUVREAU, L.; GRUPPEN, H.; PIERSMA, S.; VAN DEN BROEK, L.; VAN KONINGSVELD, G.; VORAGEN, A. Relative abundance and inhibitory distribution of protease inhibitors in potato juice from cv. Elkana. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2864–2874, 2001.
- RUZIN, S. E. Plant microtechnique and microscopy. New York: Oxford University Press. p. 322, 1999.
- SABBA, R. P.; LULAI, E. C. Immunocytological comparison of native and wound periderm maturation in potato tuber. **American Journal of Potato Research**, v.81, p. 119-124, 2004.
- SABBA, R. P.; LULAI, E. C. Immunocytological analysis of potato tuber periderm and changes in pectin and extensin epitopes associated with periderm maturation. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 130, p. 936-942, 2005.
- SAEG – Sistema para análises estatísticas, versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes – UFV – Viçosa. 2007.
- SCHREIBER, L.; FRANKE, R.; HARTMANN, K. Wax and suberin development of native and wound periderm of potato (*Solanum tuberosum* L.) and its relation to peridermal transpiration. **Planta**, v. 220, p. 520–530, 2005.

STARK, J. C.; OLSEN, N.; KLEINK, O. P.; GE, F.; LOVE, S. L. Tuber quality. In: STARK, J. C.; LOVE, S. L (eds). **Potato production systems**. Aberdeen: University of Idaho. p. 329-343. 2003.

STITT, M.; HURRY, V. A. Plant for all seasons: alterations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in Arabidopsis. **Current Opinion in Plant Biology**, v.5, p.199–206, 2002. Doi: 10.1016/S1369-5266(02)00258-3.

USDA. United States Standards for Grades of Frozen French Fried Potatoes. Washington, p.16, 1967.

VIDAL, B. C. Dichroism in collagen bundles stained with xyloidine-Ponceau 2R. **Annales d’Histochemie**, v. 15, p. 289-296, 1970.

WANG, Q.; CAO, Y.; ZHOU, L.; JIANG, C-Z.; FENG, Y.; WEI, S. Effects of postharvest curing treatment on flesh colour and phenolic metabolism in fresh-cut potato products. **Food Chemistry**, v. 169, p. 246–254, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.011>.

ZOMMICK, D. H.; KNOWLES, L. O.; KNOWLES, N. R. Tuber respiratory profiles during low temperature sweetening (LTS) and reconditioning of LTS-resistant and susceptible potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. **Postharvest Biology and Technology**, v. 92, p. 128–138, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.01.020>.