

DANIELA VIEIRA CHAVES

**METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E DE FENÓIS NO
ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DE CENOURA**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

DANIELA VIEIRA CHAVES

METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E DE FENÓIS NO ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DE CENOURA

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

APROVADA: 26 de fevereiro de 2009.

Marialva Alvarenga Moreira

Marcelo Amaral de Moura

Prof. Mario Puiatti

Prof. Marco Aurélio Pedron e Silva
(Coorientador)

Prof. Fernando Luiz Finger
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que eu alcancei até aqui.

Aos meus pais, Vanda e Heleno, pela minha existência e por sempre acreditarem em mim.

Aos meus irmãos, Daniel e Rodrigo, pela palavra amiga nas horas em que eu necessitava.

Ao meu namorado Fabio, por ser a pessoa que mais esteve ao meu lado, tanto nos momentos alegres como tristes, nesses últimos quatro anos de minha vida.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Vegetal, pela oportunidade de cursar o doutorado numa das melhores Universidades do país.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo auxílio financeiro.

Ao professor Fernando Finger, pela orientação e conhecimento adquirido através desse excelente pesquisador e ser humano.

Aos professores co-orientadores, Marco Aurélio Pedron e Silva, Marília Contin Ventrella e Milza Moreira Lana, pela disponibilidade e ensinamentos.

Ao professor Paulo Roberto Cecon, pelos ensinamentos de estatística.

Aos professores da UFV em geral, que me ajudaram durante esta caminhada e que com certeza levarei um pouquinho do conhecimento de cada um.

Aos amigos do Laboratório de Pós-Colheita (DFT): Geraldo, Sebastião, Rafael, Juliane, Cláudia, Clarice, Ana Maria, Eber, Teresa, Joice, Jocleita, Hilton, Ana Paula, Delaine, Ana Ermelinda, Fernanda, Milton e Luciana.

As amigas de república: Francielle, Maristela e Ângela, pela nossa amizade.

A todos os meus amigos e amigas do Curso de Fisiologia Vegetal, bem como a todos os amigos dos outros cursos de pós-graduação da UFV.

Aos funcionários da Horta Experimental da UFV, pelo auxílio prestado durante o início do meu experimento.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente fizeram parte da minha vida nesses anos vividos na UFV.

BIOGRAFIA

Daniela Vieira Chaves, filha de Vanda Maria Vieira Chaves e Heleno Paganella Chaves, nasceu no dia 5 de agosto de 1979, em Vacaria – RS.

No ano de 1998, iniciou a graduação em Agronomia no Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade Estadual de Santa Catarina, localizado na cidade de Lages – SC. Em 2002, obteve o título de Engenheiro Agrônomo por essa mesma instituição e local.

Em 2003, iniciou o curso de mestrado em Produção Vegetal, com linha de pesquisa em Biologia e Tecnologia Pós-Colheita, no Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade Estadual de Santa Catarina, em Lages – SC.

No ano de 2005, iniciou o curso de doutorado em Fisiologia Vegetal, com linha de pesquisa em Controle da Maturação e Senescência em Órgãos Percíveis, na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa – MG.

Em 2009, iniciou o pós-doutorado na Universidade Federal de Viçosa, no Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia.

CONTEÚDO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I - METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E DE FENÓIS EM CULTIVARES DE CENOURA PRÉ-PROCESSADAS E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO	3
RESUMO	3
1. INTRODUÇÃO	5
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1. Perda de massa da matéria fresca	10
2.2. Teores de açúcares solúveis totais (AST)	10
2.3. Teor de amido.....	11
2.4. Teores de açúcares redutores (AR) e não-redutores (ANR).....	11
2.5. Atividade de invertase ácida	12
2.6. Atividade de peroxidases (POD).....	13
2.7. Atividade de polifenoloxidasas (PPO).....	13
2.8. Análise estatística	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
3.1. Perda de massa da matéria fresca	15
3.2. Teores de açúcares solúveis totais (AST)	18
3.3. Teor de amido.....	21
3.4. Teores de açúcares redutores (AR).....	26
3.5. Teores de açúcares não redutores (ANR)	30
3.6. Atividade da invertase ácida	34
3.7. Atividade de peroxidases (POD).....	39
3.8. Atividade de polifenoloxidasas (PPO).....	43
4. CONCLUSÕES	48
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

CAPÍTULO II – METABOLISMO DE FENÓIS E ATIVIDADE DE ENZIMAS OXIDATIVAS EM CENOURAS ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO NA LUZ OU NO ESCURO	56
RESUMO.....	56
1. INTRODUÇÃO	58
2. MATERIAL E MÉTODOS	62
2.1 Teores de carotenóides totais.....	63
2.2 Teores de compostos fenólicos solúveis	64
2.3. Atividade de peroxidases (POD).....	64
2.4. Atividade de polifenoloxidasas (PPO).....	65
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
3.1. Teores de carotenóides totais.....	66
3.2. Teores de compostos fenólicos	69
3.3. Atividade de peroxidases (POD).....	71
3.4. Atividade de polifenoloxidase (PPO).....	74
4. CONCLUSÕES	77
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXOS.....	84

RESUMO

CHAVES, Daniela Vieira, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2009. **Metabolismo de carboidratos e de fenóis no armazenamento refrigerado de cenoura**. Orientador: Fernando Luiz Finger. Coorientadores: Marco Aurélio Pedron e Silva, Marília Contin Ventrella e Milza Moreira Lana.

As raízes de cenoura, quando submetidas ao processamento, sofrem diversos tipos de cortes que promovem alterações físicas, químicas e fisiológicas no tecido. Em razão disso, o primeiro experimento teve como objetivos avaliar os teores de carboidratos e a atividade enzimática em cenouras inteiras e em pedaços armazenadas a 4°C. No outro experimento os objetivos foram avaliar os teores de carotenóides e fenóis e a atividade das enzimas oxidativas em cenouras inteiras e Cenouretes®, armazenadas nas condições de luz ou escuro à temperatura de 5°C. As raízes foram colhidas, lavadas, selecionadas, separadas e processadas de acordo com o experimento. No primeiro experimento, as cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada foram separadas em cenouras inteiras e em pedaços de 6 cm de comprimento, mantendo-se a periderme das raízes. Em seguida, foram acondicionadas em caixas plásticas e armazenadas a 4°C por 14 dias. A cada 2 dias, amostras de raízes foram retiradas para realização das análises de perda de massa da matéria fresca, teores de amido, açúcares totais, redutores e não-redutores e atividade da invertase ácida, peroxidases e polifenoloxidasas. No outro experimento, cultivares Esplanada e Sugarsnax 54 foram divididas em raízes inteiras e Cenouretes® e embaladas em sacos de polietileno de baixa densidade. Logo após, foram armazenadas a 5°C por 17 dias, nas condições de luz ou escuro. Nos dias 2, 5, 8, 11, 14 e 17, amostras foram retiradas para as análises de carotenóides, compostos fenólicos, peroxidases e polifenoloxidasas. No primeiro experimento as três cultivares, independente do processamento, perderam massa durante o armazenamento refrigerado. A percentagem de açúcares solúveis totais aumentou durante o

armazenamento, com exceção das raízes inteiras 'Alvorada' que reduziu. Os teores de amido diminuíram nas raízes durante o armazenamento. Os teores de açúcares redutores aumentaram nas cultivares Alvorada e Esplanada, enquanto que na 'Brasília' houve redução. A cultivar Brasília e as raízes inteiras 'Esplanada' tiveram aumento nos teores de açúcares não-redutores e, nas cenouras 'Alvorada', houve redução. A atividade de invertase ácida teve maior atividade no oitavo dia, nas três cultivares e nos dois tipos de raízes. A atividade de peroxidases aumentou durante o armazenamento; enquanto que nas raízes picadas 'Brasília' ela foi estável. A polifenoloxidase apresentou picos de atividade durante o armazenamento, variável com a cultivar e o tipo de raiz. No segundo experimento, as duas condições de armazenamento tiveram valores parecidos em todas as análises realizadas. Os teores de carotenóides totais reduziram durante o armazenamento das cenouras 'Sugarsnax 54', enquanto que na 'Esplanada' teve algumas variações. Os teores de fenóis totais reduziram com o tempo de armazenamento, com exceção das raízes inteiras da 'Sugarsnax 54'. Houve redução na atividade de peroxidases nas raízes da cultivar Sugarsnax 54; enquanto que as raízes inteiras 'Esplanada' tiveram alta atividade no início do armazenamento. Na cultivar Esplanada, a polifenoloxidase teve alta atividade no início do armazenamento, enquanto que nas raízes 'Sugarsnax 54' ocorreu redução. Pode-se concluir que, no primeiro experimento houve diferença entre as cenouras inteiras e em pedaços e entre as cultivares durante o armazenamento refrigerado; no segundo não houve diferença entre as condições de armazenamento luz ou escuro, mas entre as cultivares e entre os tipos de raízes, processada e não processada.

ABSTRACT

CHAVES, Daniela Vieira, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2009. **Metabolism of carbohydrates and of phenols in the refrigeration storage of carrot.** Adviser: Fernando Luiz Finger. Co-advisers: Marco Aurélio Pedron e Silva, Marília Contin Ventrella and Milza Moreira Lana.

When subjected to processing, the carrot roots suffer several types of cuts that promote physical, chemical and physiological changes in the tissue. So, the first experiment was conducted in order to evaluate the carbohydrate contents and the enzymatic activity in either whole carrots and pieces stored at 4°C. A second experiment was carried out to evaluate the contents of the carotenoids and phenols as well as the activity of the enzymatic enzymes in whole carrots and Cenouretes® stored at 5°C under light and darkness conditions. The carrots were harvested, washed, selected, separated and processed according to the experiment. In the first experiment, the cultivars Alvorada, Brasília and Esplanada were separated in either whole carrots or 6cm-long pieces, maintaining the periderm of the roots. Following, they were conditioned in plastic boxes and stored at 4°C temperature during 14 days. At 2-day intervals, samples of the roots were removed for analyses of the mass loss, starch, total, reducer and non-reducer sugars, acid invertase, peroxidase and polyphenoloxidase. In the second experiment, the cultivars Esplanada and Sugarsnax 54 were divided into whole roots and minicarrots and were wrapped in polyethylene low-density bags. Then, they were stored at 5°C for 17 days under light and darkness conditions. At 2, 5, 8, 11, 14 and 17 days, some carrot samples were removed for the analyses of carotenoids, phenolic compounds, peroxidase and polyphenoloxidase. In the first experiment and independently from processing, those three cultivars lost some mass during the refrigerated storage. The percentage of total soluble sugars increased during storage, except for the whole roots Alvorada that decreased. The starch contents decreased in the roots during storage. The reducing sugars increased in the

cultivars Alvorada and Esplanada, whereas a reduction occurred in the Brasília cv. The cultivar Brasília and whole roots Esplanada showed increase in contents of the non-reducing sugars, different from Alvorada where the reduction occurred. The activity of the acid invertase was highest at the eighth day under storage in those three cultivars and in both roots. The activity of the peroxidase increased during storage; however, the activity was stable only in the cut roots Brasília. The polyphenoloxidase showed activity peaks during storage, as varying according to cultivar and root type. In the second experiment, the light and darkness conditions showed similar values during storage of the roots. The total carotenoid contents reduced during storage of the carrot Sugarsnax 54, and showed low variations in Esplanada cv. The content of total phenols reduced with the storage time, except for the whole carrots Sugarsnax 54 that was stable. The activity of peroxidases were reduced in roots of the Sugarsnax 54 cv., but high activity occurred in the whole roots of the Esplanada cv. at the beginning of the storage. In Esplanada cv., the polyphenoloxidase showed high activity at the beginning of the storage, whereas a reduction occurred in the whole roots 'Sugarsnax 54'. Thus, in the first experiment, significant differences occurred in relation to the attributes between the whole carrots and the cut ones as well as among the cultivars during the storage under refrigeration. Despite no differences were found between storage under light and dark conditions in the second experiment, they really occurred either between cultivars and the types of roots.

INTRODUÇÃO GERAL

A cenoura (*Daucus carota*), oriunda dos continentes Europeu e Asiático, pertence à família Apiaceae, que abrange cerca de 300 gêneros e mais de 3000 espécies. A raiz é do tipo tuberosa, sem ramificações, o caule é pouco perceptível e situa-se no ponto de inserção das folhas, as quais apresentam um limbo bastante recortado.

O alto consumo de cenoura se deve ao elevado valor nutricional de suas raízes, pois é fonte de vitamina A, que se origina dos carotenóides, especificamente do β -caroteno. O consumo dessas raízes pode ser *in natura* ou processada, como por exemplo cenouras raladas, em fatias, em rodela e minicenouras, dentre outras formas. Recentemente tem se visto um grande aumento na procura por hortaliças minimamente processadas, principalmente devido a sua facilidade de preparo, devido a falta de tempo para a preparação dos alimentos. Entretanto, esse consumo está mais localizado nos grandes centros urbanos, redes de hotéis e restaurantes, entre outros.

O corte provocado nas raízes tuberosas pelo processamento promove diversas alterações físicas, químicas e fisiológicas nas células. O grau dessas alterações depende muito do tipo de hortaliça, da cultivar, do ambiente de cultivo, do estado de maturidade, do tipo de processamento, da embalagem e do ambiente de armazenamento. Os danos mecânicos causados pelo corte estimulam a desidratação da raiz, sendo esta proporcional à intensidade do corte.

As raízes de cenoura são ricas em carboidratos e a composição destes depende dos fatores bióticos e abióticos pelos quais passa a raiz durante o cultivo e durante o armazenamento. A sacarose é um açúcar não redutor que pode ser metabolizado pela invertase após a colheita, implicando em perdas durante o processamento e armazenamento, o que ocasiona perdas quantitativas e qualitativas deste produto.

Nos vegetais intactos, a estrutura celular e a complexação com proteínas conferem aos carotenóides certa estabilidade. Durante as várias etapas do processamento, esta estrutura e os complexos podem ser alterados, expondo os pigmentos a fatores adversos e levando-os a destruição. A estabilidade varia durante o processamento e a estocagem, dependendo da estrutura dos carotenóides, da temperatura, da disponibilidade de oxigênio, exposição à luz, conteúdo de umidade e atividade da água, acidez, presença de metais, antioxidantes e pro-oxidantes.

Além do corte, outros tipos de estresses como luz, temperatura, água e ferimento, afetam a fisiologia do produto fresco e podem iniciar o acúmulo de compostos fenólicos ou outros metabólitos secundários. O corte também promove a desorganização celular e, conseqüentemente, a saída de enzimas de suas organelas específicas e o encontro com seus produtos de reação. Assim, a existência de compostos fenólicos na raiz faz com que enzimas, como a peroxidase e a polifenoloxidase, tenham aumento na atividade porque esses compostos são oxidados por essas enzimas.

CAPÍTULO I - METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E DE FENÓIS EM CULTIVARES DE CENOURA PRÉ-PROCESSADAS E ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO

RESUMO

As cenouras, raízes do tipo tuberosas, são muito consumidas nas diversas formas de processamento, como por exemplo, ralada, em rodela, em cubos ou em pedaços. Entretanto para as raízes obterem essas formas, elas sofrem uma série de cortes que fisiologicamente são prejudiciais para sua qualidade sensorial e nutricional. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do pré-processamento em raízes de três cultivares de cenoura sobre os teores de carboidratos e a atividade de enzimas sucrolíticas e oxidativas no armazenamento refrigerado. As raízes foram colhidas, lavadas, selecionadas e separadas em dois grupos: raízes inteiras e pré-processadas em pedaços de 6 cm de comprimento. Em seguida, as raízes foram armazenadas em caixas plásticas, cobertas com filme plástico e mantidas a 4°C por 14 dias. A cada dois dias foram retiradas amostras de raízes para as análises de perda de matéria fresca, amido, açúcares solúveis totais, açúcares redutores e não redutores, invertase ácida, peroxidase e polifenoloxidase. As três cultivares, nos dois tipos de raízes, tiveram aumento de perda de massa da matéria fresca durante o armazenamento refrigerado. As cenouras inteiras, da cultivar Alvorada, tiveram teores de açúcares solúveis totais maiores que as picadas. No início do armazenamento, as cultivares Brasília e Esplanada tiveram aumento nos teores de açúcares, tanto nas raízes pré-processadas quanto nas inteiras. No início do armazenamento os valores de amido, em cada cultivar, foram próximos nos dois tipos de raízes, mas à medida que se passavam os dias, as raízes em pedaços das cultivares Brasília e Esplanada obtiveram maiores teores do que as inteiras. Os valores iniciais de açúcares redutores e não redutores, entre os tipos de raízes, foram próximos em cada cultivar. No

final do armazenamento, houve aumento nos teores de açúcares redutores e diminuição nos não redutores nos dois tipos de raízes das cultivares Alvorada e Esplanada, sendo que o contrário ocorreu com as raízes da cultivar Brasília. Nas três cultivares e nos dois tipos de raízes, a atividade de invertase ácida foi máxima no oitavo dia de armazenamento. As raízes inteiras e picadas das cultivares Alvorada e Esplanada iniciaram o armazenamento com valores de peroxidase próximos, mas durante o armazenamento a atividade aumentou nas três cultivares. A atividade inicial de polifenoxidase foi muito próxima entre os dois tipos de raízes, mas durante o armazenamento, ela não foi muito estável nas três cultivares. Pode-se concluir que, os atributos fisiológicos diferiram entre as raízes inteiras e em pedaços e entre as cultivares, durante o armazenamento refrigerado.

1. INTRODUÇÃO

A cenoura (*Daucus carota*), pertencente à família Apiaceae, é uma das espécies de hortaliça cultivada mais difundida no mundo. Dentre as características, possui alto rendimento e fácil comercialização, o que a torna muito procurada pela população e produtores (De Paula, 2003).

Comercialmente há diversas cultivares de cenoura no Brasil, sendo estas divididas de acordo com o cultivo, de verão ou de inverno. Dentre as cultivares de verão, podemos citar 'Alvorada', 'Brasília' e 'Esplanada', que foram desenvolvidas pelo Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças da Embrapa em Brasília-DF. A 'Alvorada' apresenta alto teor de carotenóides totais e ausência de medula branca. A cultivar Brasília possui raízes cilíndricas de coloração laranja clara variável, com boa adaptação em todas as regiões de produção do país. A 'Esplanada' foi desenvolvida com a finalidade de possibilitar o máximo de rendimento industrial na produção de minicenouras. Nesta cultivar, as raízes possuem maior comprimento e menor diâmetro do que as demais cultivares, além da coloração interna ser laranja uniforme (EMBRAPA, 2007).

Para o consumo in natura ou em cozimento, geralmente as cenouras são processadas em fatias, em pedaços ou raladas. Estes cortes induzem uma série de alterações na composição química dessas raízes que, por sua vez, afetam a qualidade sensorial e nutricional do produto. A magnitude dessas alterações depende da cultivar, do tipo e tamanho dos cortes e das condições de processamento e armazenamento.

Uma alteração resultante do corte e das condições de armazenamento é a perda de massa acompanhada de enrugamento do produto ocasionado pela perda de água. Outros fatores relacionados ao produto, como quantidade inicial de água, relação superfície/volume e natureza da superfície protetora também contribuem para a perda de massa. Durante a pós-colheita, perda de massa é

o somatório da perda de água pela transpiração e da perda de massa devido à atividade respiratória (Finger & Vieira, 1997).

A maioria dos compostos armazenados nas células do parênquima de armazenamento são açúcares solúveis, chegando a representar 34-70% da matéria seca das raízes (Ricardo & Sovia, 1974). Sabe-se que as raízes de cenoura são ricas nestes açúcares e que a composição deles depende do estágio de desenvolvimento e da ação de fatores bióticos e abióticos aos quais as plantas são submetidas (Suojala, 2000). A sacarose é um açúcar não redutor e, para ser utilizado pela planta, necessita ser degradada em monossacarídeos, ou seja, em carboidratos de forma mais simples, no caso glicose e frutose. A sacarose é o principal açúcar de transporte e armazenamento em plantas, mas pode ser afetado pelo genótipo e ambiente (Suojala, 2000). Como exemplo de plantas que possuem carboidratos de reserva tem-se, caules de cana-de-açúcar (*Scaccharum officinarum*), raízes de beterraba açucareira (*Beta vulgaris*) e frutos de muitas espécies. Mas muitas vezes as células acumulam sacarose em resposta às baixas temperaturas ou à seca (Lunn & MacRae, 2003).

Uma das causas primárias de perdas de sacarose na pós-colheita é a cicatrização de ferimentos contraídos durante a colheita e o empilhamento (Klotz & Finger, 2004). O mesmo fenômeno ocorre durante o armazenamento refrigerado, onde a tendência é aumentar o conteúdo de hexoses (frutose e glicose) e diminuir o de sacarose. Suojala (2000) observou que nas diferentes épocas de colheita de cenoura, no ano de 1996, houve redução no teor de sacarose à colheita provavelmente devido à injúria por frio. Esse mesmo autor observou que os teores de açúcares totais, nas cenouras injuriadas, mudaram pouco durante o armazenamento, sendo que a maior parte do acúmulo de sacarose, durante o armazenamento, foi devido à recombinação de hexoses em sacarose.

O amido é o produto final do processo fotossintético e reserva de carbono nas plantas. A formação do amido decorre da atividade combinatória de enzimas, tanto nas organelas fotossinteticamente ativas, onde o amido é reserva temporária, quanto nos amiloplastos de órgãos de reserva (Franco et al., 2002). Durante o armazenamento refrigerado, o amido pode ser convertido em açúcares menores devido à ação de enzimas ativadas pela baixa temperatura. Esta reação é conhecida como adoçamento e é comum ocorrer

em tubérculos de batata, promovendo redução na qualidade do produto, principalmente quando usado para fritura. O processo pelo qual ocorre o acúmulo de açúcares em batata envolve a interação de muitas vias metabólicas (Chapper et al., 2002).

A hidrólise da sacarose é catalisada por duas enzimas, invertase e sacarose sintase. A invertase é encontrada como famílias de isoenzimas e isoformas, que diferem no pH ótimo de atividade, na solubilidade e na localização celular. Assim, existem as invertases ácidas e as invertases neutras/alcalinas (Ribeiro, 2003). A atividade das invertases após a colheita pode implicar em hidrólise de sacarose, durante o processamento e armazenamento, o que ocasiona perdas quantitativas e qualitativas deste produto (Klotz & Finger, 2004). No entanto, a atividade das invertases varia com a espécie vegetal e respectivo estágio de desenvolvimento, com a presença de enzimas do metabolismo da sacarose e com a temperatura, dentre outras condições de armazenamento.

Além do corte, outros tipos de estresses como luz, temperatura, água e ferimento, afetam a fisiologia do produto fresco e podem iniciar o acúmulo de compostos fenólicos ou outros metabólitos secundários (Reyes et al., 2007). Esses metabólitos são responsáveis pela proteção da planta, por meio da síntese de barreiras polifenólicas, em raízes que sofreram algum tipo de estresse (Stodolak et al., 2003). Apesar disso, existem enzimas que são responsáveis pela degradação oxidativa destes compostos fenólicos, como as peroxidases (PODs) e polifenoloxidasas (PPOs). As PODs são enzimas envolvidas em diversas reações, como ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa de patógenos, regulação do alongamento de células e outras (Shih-Yung & Kao, 2003). As polifenoloxidasas (PPOs) promovem a oxidação de compostos fenólicos, produzindo inicialmente quinona e formando pigmentos insolúveis e escuros, denominados de melanina (Araújo, 1990). O papel das PPOs, na biologia das plantas, ainda não é muito bem esclarecido, no entanto elas auxiliam no tamponamento dos níveis de oxigênio plastídico, na biossíntese de fenóis e na cicatrização de ferimentos. Observações da atividade induzida desta enzima são frequentemente confundidas pelas falhas em distingui-la da atividade das PODs (Thipyapong et al., 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do pré-processamento de raízes, durante o armazenamento refrigerado, em relação à perda de massa da matéria fresca, aos teores de açúcares solúveis e amido e à atividade das enzimas sucrolíticas e oxidativas, em três cultivares de cenoura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Cenouras das cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada foram obtidas da área experimental da Horta de Pesquisas da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizada a latitude de 20°45'47" sul, longitude de 42°49'13" oeste e altitude de 650 m, em Viçosa, Minas Gerais. Três canteiros de 10 m de comprimento por 1 m de largura foram usados para o cultivo, sendo que cada canteiro foi dividido em três partes iguais, uma parte para cada cultivar, em blocos casualizados.

Antes da semeadura, o solo dos canteiros foi preparado e corrigido o pH de acordo com as recomendações da cultura. Cada canteiro foi dividido em quatro fileiras, com 0,2 m de distância, e a semeadura foi feita manualmente, três a quatro sementes a cada 3 cm de distância. Aos 25-30 dias após a semeadura, foi realizado o raleio das plantas deixando-se um espaçamento entre plantas de 4-5 cm. Até o dia da colheita, os canteiros receberam irrigação, adubação de cobertura e controle químico quanto a pragas e doenças, de acordo com os tratos culturais recomendados para a cultura da cenoura (EMBRAPA, 2007). A colheita das raízes foi realizada manualmente aos 98 dias após a semeadura, sendo em seguida lavadas em água corrente e transferidas para o Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da UFV, para a montagem do experimento.

As raízes, das três cultivares, foram selecionadas quanto à forma, tamanho e defeitos e, então, separadas em dois lotes, cenouras pré-processada e cenouras intactas. No primeiro lote, as cenouras foram cortadas em pedaços de aproximadamente 6 cm de comprimento e, no segundo, as raízes foram mantidas intactas. Foi mantida a periderme das cenouras nos dois processamentos, durante todo o experimento. A matéria fresca média das raízes inteiras foi de 249,8 g para cultivar Alvorada, 275,7 g para 'Brasília' e 251 g para 'Esplanada'; das raízes em pedaço foi 110,8 g para cultivar Alvorada, 113,6 g para 'Brasília' e 98,9 g para 'Esplanada'. Para cada repetição

foram utilizados dois pedaços de cenoura ou duas raízes inteiras, totalizando quatro repetições por tratamento. As raízes foram armazenadas em caixas plásticas, com 12 cm de altura por 32 cm de largura por 52 cm de comprimento, cobertas com filme plástico perfurado e mantidas a 4°C por um período de 14 dias. A cada dois dias, amostras das raízes foram retiradas do armazenamento e imediatamente preparadas para as análises descritas abaixo.

2.1. Perda de massa da matéria fresca

As pesagens foram realizadas aos 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias do armazenamento. A perda de massa foi determinada pela diferença entre a massa inicial, tomada no dia 0, e a massa final de cada período de armazenamento. Os dados foram transformados em percentagem de perda de massa da matéria fresca.

2.2. Teores de açúcares solúveis totais (AST)

Para a extração AST, foram pesadas aproximadamente 10 g de raízes, adicionado etanol 80% fervente e realizada a trituração em politron. Depois de triturado, o sobrenadante foi filtrado em papel filtro, com três lavagens de etanol 80% e o volume final completado, em proveta, para 40 mL com etanol 80%. O extrato alcoólico foi armazenado em geladeira, em vidros vedados com parafilme, para posteriormente proceder as análises de AST e açúcares redutores. Os resíduos retidos nos papéis filtro foram secados em estufa a 65°C por 72 horas, logo depois armazenados em dessecadores para, posteriormente, fazer a determinação do teor de amido.

Para a quantificação dos AST foi empregado o método fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956). O extrato alcoólico foi diluído 250 vezes e, desta diluição, foi pipetado 250 µL e transferido para tubos de vidro com rosca, sempre em duplicatas. A cada tubo foram adicionados 250 µL de fenol 5%, agitado em vortex. Em banho de gelo foram adicionados 1250 µL de ácido sulfúrico concentrado, novamente agitado em vortex e colocado em banho-maria por 20 minutos, à temperatura de 30°C. Os tubos foram retirados do banho-maria, agitados, deixados por 20 minutos em temperatura ambiente e realizada a

leitura de absorvância, $\lambda = 490$ nm, em espectrofotômetro Shimatzu, modelo UV1601. Os valores obtidos foram comparados com a curva padrão de sacarose nas concentrações de 0, 5, 10, 15, 20 e 25 μg .

2.3. Teor de amido

Para análise de amido foi utilizado o resíduo da extração dos açúcares solúveis totais (AST) retido no papel filtro após a secagem em estufa a 65°C , por 72 horas, mediante metodologia descrita por McCready et al. (1950). As amostras foram retiradas do papel filtro, desintegradas em almofariz, pesadas em balança analítica e colocadas em tubos de plástico com rosca, tipo "Falcon". Para a primeira extração de amido foram adicionados 5 mL de água deionizada e 6,5 mL de ácido perclórico 52%. A mistura foi agitada em vortex, deixada repousar por 30 minutos e centrifugada a 2000g, em centrífuga "Excelsa Baby I Modelo 206", por 10 minutos. Esta operação foi realizada por 2 vezes ou mais, até que o conteúdo não estivesse mais turvo. Porém na segunda e demais extrações, o volume adicionado de água deionizada foi de 2,5 mL e de ácido perclórico 52% foi de 3,25 mL. Os sobrenadantes foram combinados e o volume completado com água deionizada para 25 mL. Na quantificação de amido, amostras do extrato bruto foram diluídas 100 vezes e desta diluição uma alíquota de 250 μL foi utilizada para a quantificação, sempre em duplicata. A determinação da concentração de amido seguiu o mesmo método adotado para a determinação de AST, descrito anteriormente, sendo o resultado multiplicado pelo fator de 0,9.

2.4. Teores de açúcares redutores (AR) e não-redutores (ANR)

As mesmas amostras do extrato alcoólico extraído para avaliação de AST foram utilizadas para a determinação açúcares redutores.

Para a determinação dos ARs utilizou-se a metodologia Somogy-Nelson (Nelson, 1944). As amostras foram diluídas 50 vezes e, desta diluição, alíquotas de 200 μL foram pipetadas em tubos de vidro, sempre em duplicatas. Em seguida foram adicionados 200 μL do Reagente 4 de Nelson, agitados em vortex e incubados em água fervente por 15 minutos. Depois dos tubos resfriarem em água temperatura ambiente, foram adicionados 200 μL do Reagente 5 de Nelson e agitados. Logo após foram adicionados 600 μL de

água deionizada, agitados e a leitura foi realizada a 540 nm, em espectrofotômetro Shimatzu, modelo UV1601. Os valores obtidos foram comparados com a curva padrão de glicose nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40 e 50 µg.

Os açúcares não-redutores foram estimados subtraindo-se os valores de açúcares redutores dos valores de açúcares solúveis totais.

2.5. Atividade de invertase ácida

A extração da enzima foi realizada conforme metodologia descrita por Klotz & Finger (2002). Aproximadamente 2 g de tecido vegetal foram homogeneizados, com auxílio de politron, em 10 mL de tampão de extração contendo Na₂HPO₄-ácido cítrico a 50 mM (pH 7,0), EDTA a 1 mM, β-mercaptoetanol a 1 mM, Na₂SO₃ a 5 mM, MgCl₂ a 5 mM e PVP a 1%. Em seguida, o material foi centrifugado a 17.000 g por 15 minutos a 4°C, foi pipetado 2 mL do sobrenadante em membranas e colocadas em tampão de diálise contendo os mesmos reagentes do tampão de extração, com exceção de PVP a 1%. A diálise foi realizada durante a noite, sempre com agitação, totalizando um período de 13-15 horas. Após esse período, as amostras foram novamente centrifugadas em microcentrífuga a 13.000 g por 15 minutos. Todos os reagentes e procedimentos utilizados estavam a 4°C.

A metodologia usada para verificar a atividade da invertase ácida foi a mesma utilizada por Klotz & Finger (2002). Em duplicata, foram adicionados 50 µL de NaOAc-ácido acético a 100 mM (pH 4,7), 50 µL de sacarose a 100 mM, 0, 50 ou 75 µL de água deionizada e 100, 50 ou 25 µL do sobrenadante dialisado, respectivamente (essas últimas quantidade de reagente dependeram da diluição da amostra). A reação foi iniciada pela adição do extrato enzimático, e a mistura permaneceu em incubação por 30 minutos a 37°C. Após esse tempo, a reação foi paralisada pela adição de 200 µL do Reagente 4 de Nelson, agitada em vortex e novamente incubada por 15 minutos em água fervente. Depois dos tubos resfriarem em água, foram adicionados 200 µL do Reagente 5 de Nelson, agitados em vortex, acrescentado 600 µL de água deionizada e novamente agitados. Finalmente, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos, o sobrenadante foi coletado e realizado a leitura a 540 nm, em espectrofotômetro Shimatzu, modelo UV1601. Os valores obtidos

foram comparados com a curva padrão de glicose nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40 e 50 µg.

A atividade enzimática foi expressa em mg de glicose/h/mg de proteína; os teores de proteínas foram determinados, em cada duplicata dos extratos enzimáticos, segundo o método de Bradford (1976), utilizando como padrão soro albumina bovina.

2.6. Atividade de peroxidases (POD)

Os procedimentos de extração e atividade de POD seguiram a metodologia descrita por Neves (2003), com algumas modificações. Para a extração da enzima, aproximadamente 2 g de material vegetal foram homogeneizados, em politron, com tampão de extração contendo tampão fosfato a 0,1 M pH 6,5, bissulfito de sódio a 0,1% e cloreto de sódio a 0,15 M. Em seguida o material foi centrifugado a 13.000 g, por 30 minutos, à temperatura de 4°C. Durante a etapa de extração, todos os reagentes, vidrarias e equipamentos utilizados foram mantidos a 4°C.

Para a determinação da atividade da enzima, a 25°C, foram misturados 500 µL de guaiacol a 1,7%, 1500 µL de tampão fosfato a 0,1 M pH 6,0, 500 µL de H₂O₂ a 1,8%, 200 µL de água deionizada, 300 µL do extrato enzimático e então agitados manualmente. A reação foi acompanhada em espectrofotômetro Shimatzu, modelo UV1601, pela variação de absorvância no comprimento de onda de 470 nm, durante 2,5 minutos.

A atividade enzimática foi expressa em unidades de absorvância/minuto/mg de proteína, sendo que a análise de proteínas seguiu a metodologia descrita por Bradford (1976) usando soro albumina bovina como padrão.

2.7. Atividade de polifenoloxidasas (PPO)

Para a extração foi utilizada a metodologia descrita por Thipyapong et al. (1995), com algumas adaptações. Foram homogeneizados, em politron, 2 g de material vegetal em 7 mL de tampão de extração contendo Tris-HCl a 100 mM pH 7,0, KCl a 100 mM, PMFS a 1 mM, Triton X-100 a 1% e PVPP a 1%, sendo que o último reagente foi adicionado diretamente no tubo para extração. Logo após, este material foi centrifugado a 13.000 g por 30 minutos. Todos os

reagentes, vidrarias e procedimentos usados na extração enzimática foram mantidos a 4°C.

A metodologia seguida para determinar a atividade enzimática foi de Söderhäll (1995), com algumas adaptações. Para a atividade foi usado 500 µL de Tris-HCl a 0,1 M pH 8,0, 30 µL de CaCl₂ a 6 mM, 100 µL de 4-metilcatecol a 50mM, 370 µL de extrato enzimático e levemente agitado manualmente. A leitura da variação de absorvância foi realizada no espectrofotômetro Shimatzu, modelo UV1601, em comprimento de onda de 490nm, durante 2,5 minutos, a 25 °C.

A atividade enzimática foi expressa em unidades de absorvância/minuto/mg de proteína, sendo que a análise de proteínas seguiu a metodologia descrita por Bradford (1976), usando soro albumina bovina como padrão.

2.8. Análise estatística

O experimento foi delineado em parcelas subdivididas em fatorial, onde os dias de armazenamento representaram as parcelas e os fatores foram as três cultivares e os dois tipos de raízes. A unidade experimental foi constituída de 2 cenouras inteiras, no caso do tratamento raízes inteiras e 2 pedaços de cenoura, no caso do tratamento raízes em pedaços, com quatro repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e regressão para combinações ao longo do período de armazenamento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Perda de massa da matéria fresca

A perda de massa da matéria fresca foi singular, entre os dois tipos de raízes, na cultivar Alvorada (Figura 1). As raízes tiveram aumento constante e similar até o 8º dia, com perdas de 7,1% e 6,9%, respectivamente, nas raízes inteiras e picadas; depois o aumento ainda persistiu, mas foi menos intenso do que no início.

Nas raízes em pedaços, na cultivar Brasília, a perda de massa foi maior do que nas inteiras. Esse aumento foi mais intenso nos primeiros seis dias de armazenamento, alcançando 13,1%; ao final do armazenamento essas cenouras em pedaços perderam 19,6% de massa. Enquanto que as cenouras inteiras perderam 8,8% no dia 14, correspondendo à metade da perda das raízes em pedaços (Figura 1).

Na cultivar Esplanada a perda de massa da matéria fresca foi similar entre os dois tipos de raízes até o dia 6, alcançando 6,5% e 6,8% nas inteiras e picadas, respectivamente. Depois desse dia, as cenouras picadas continuaram a perder massa, mas em maior proporção que as inteiras. Aos 14 dias de armazenamento, as raízes picadas perderam 17,1% de matéria fresca, enquanto que as inteiras 10,4% (Figura 1).

Diferenças na perda de água entre cenouras foram encontradas por Shibairo et al. (1997), em duas épocas de colheita, nos anos de 1993 e 1994, armazenadas a 13°C em ambiente de baixa e alta umidade relativa. Nas duas épocas de colheita e nos dois anos, as cenouras armazenadas em ambiente de baixa umidade perderam mais água do que aquelas em alta umidade. Não existiu diferença entre as cultivares armazenadas em alta umidade e colhidas na primeira data de colheita em 1993, mas na segunda data de colheita as diferenças existiram e foram significativas.

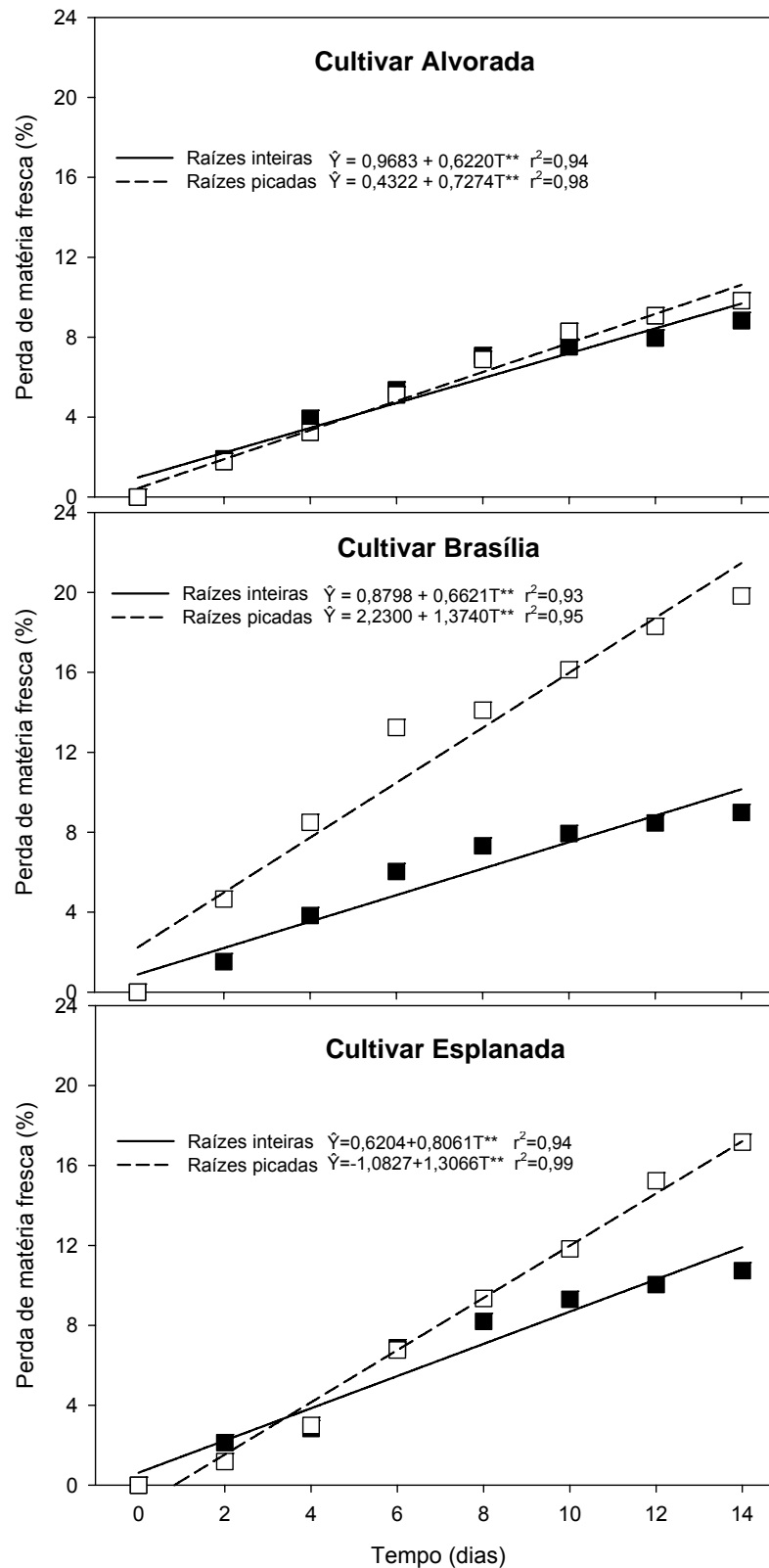


Figura 1. Perda de massa da matéria fresca (%) em raízes inteiras e picadas das cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada em função do tempo de armazenamento (T) para as respectivas combinações de cultivar e tipo de raiz. ******Significativo a 1% de probabilidade pelo Teste t.

Na Figura 1 observa-se que, a perda de massa foi crescente ao longo do armazenamento, nos dois tipos de raízes e nas três cultivares. Esta linearidade já foi observada em alface (Martinez & Artéz, 1999) e em cenouras (Shibairo et al., 2002). As raízes em pedaços das cultivares Brasília e Esplanada tiveram maior perda de massa do que as inteiras. Enquanto que, na cultivar Alvorada, a perda de massa foi similar entre as cenouras em pedaços e inteiras. Portanto, a cultivar Alvorada poderia ser recomendada para o processamento e armazenamento visto que apresentou a menor perda de massa entre as cultivares e porque não existiu diferença entre os tipos de raízes. Este resultado, nas cenouras 'Alvorada', pode ter ocorrido em função da razão entre a área e o volume do produto. Apesar de não medir a superfície específica das raízes, cada cultivar tem tamanho e formato distinto, e a perda de vapor de água por transpiração será mais elevada nos produtos com maior relação superfície/volume (Finger & Vieira, 2002). Portanto, as raízes em pedaços da cultivar Alvorada, podem ter menor relação superfície/volume do que as demais cultivares.

Essas variações de massa são decorrentes de diversos fatores, por exemplo, o ferimento no tecido da planta inicia mudanças que culminam na rápida deterioração e morte do produto ou na cicatrização da superfície ferida. O ferimento provoca alterações bioquímicas nas células do tecido ferido, como aumento na respiração, síntese de etileno, transformação de carboidratos, ativação de certas enzimas e repressão de outras (Kays, 1991). O corte e abrasão ainda tendem a acelerar a perda de água nas hortaliças porque comprometem a integridade dos tecidos de proteção (Finger & Vieira, 1997). Além disso, o corte destrói completamente a camada da superfície protetora e expõe diretamente os tecidos adjacentes à atmosfera. No entanto, alguns produtos maduros, como tubérculos e raízes, possuem a capacidade de cicatrizar áreas feridas (Wills et al., 1998).

No presente trabalho verificou-se que o pré-processamento aumentou a perda de massa nas cultivares durante o armazenamento refrigerado, com exceção da 'Alvorada'. Todavia a perda de massa da matéria fresca nas cenouras inteiras, das três cultivares, ficou abaixo de 8% até o oitavo dia de armazenamento. Esses dados estão de acordo com o relatado por Robinson et al. (1975), que recomendam que a perda de massa permitida seja igual a 8% da massa inicial da raiz.

3.2. Teores de açúcares solúveis totais (AST)

Diferenças nos teores de AST entre as três cultivares, ao longo do armazenamento, são apresentadas na Figura 2. As raízes inteiras da 'Alvorada' tiveram um pequeno aumento nos teores de AST até o 4º dia, alcançando o valor de 5,70% e, logo depois, redução até o 12º dia. As cenouras em pedaços obtiveram aumento uniforme nos teores de AST, com o valor máximo de 5,83% ao 10º dia de armazenamento.

Ao contrário da 'Alvorada', as cenouras inteiras e em pedaços da cultivar Brasília tiveram teores similares entre os tipos de raízes durante o armazenamento. Houve aumento nos teores de AST até o décimo dia, para os dois tipos de raízes, alcançando valores de 6,01% nas inteiras e 5,77% nas picadas. Do início do armazenamento até o 10º dia, as cenouras inteiras e picadas obtiveram valores 1,4 vezes e 1,3 vezes iguais ao teor inicial, respectivamente (Figura 2).

Apesar das cenouras inteiras 'Esplanada' terem redução nos teores de AST até o 4º dia, após esse tempo houve acentuada elevação até o 10º dia, equivalendo a 1,3 vezes o valor do dia 0. As raízes em pedaços tiveram aumento gradual nos teores de AST, obtendo maior valor no 12º dia de armazenamento igual a 6,19%, ou seja, 1,2 vezes o teor inicial (Figura 2).

Ao analisar os tipos de raízes em função de cultivar e de tempo de armazenamento observou-se na Figura 2 que, as raízes inteiras na cultivar Alvorada obtiveram valores significativamente maiores em relação às picadas aos 0, 2, 4 e 14 dias. As cenouras em pedaços tiveram maior percentagem de AST do que as inteiras aos 10 e 12 dias. Apenas no 6º dia de armazenamento as raízes inteiras da cultivar Brasília apresentaram teores de açúcares solúveis totais significativamente maiores do que as em pedaços. Nas raízes em pedaços da 'Esplanada', os teores de AST foram significativamente maiores no 2º, 4º, 6º e 12º dias. Apenas no décimo dia, as raízes inteiras tiveram maior percentagem de AST.

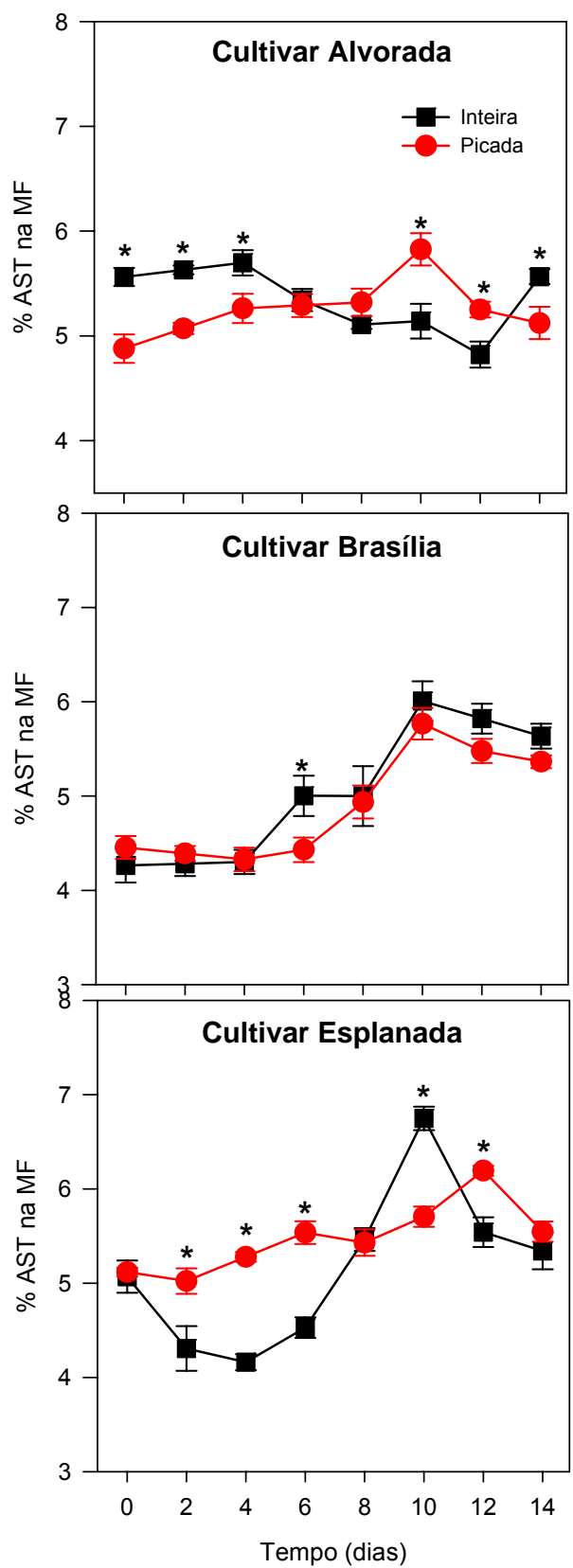


Figura 2: Teores de açúcares solúveis totais na matéria fresca (%) em raízes inteiras e picadas das cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada armazenadas a 4°C durante 14 dias. Barras representam o erro padrão da média. Símbolo (*) indica diferença estatística entre os dois tipos de raízes em cada dia de armazenamento, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Hortaliças minimamente processadas são produtos submetidos a alguma forma de processamento, como por exemplo, corte em pedaços. Assim, o ferimento é um dos estresses primários ocasionado durante as etapas iniciais do processamento mínimo (Hodges & Toivonen, 2008). Segundo esses mesmos autores, fatores internos e externos que podem interferir na resposta ao ferimento incluem espécies, cultivar, maturidade, temperatura de processamento e de armazenamento, protocolos de cortes, níveis de CO₂ e O₂ e pressão de vapor da água.

O aumento de açúcares solúveis totais durante o armazenamento das cultivares, nos dois tipos de raízes, mas principalmente nas cenouras em pedaços, está associado à presença dos ferimentos induzido pelo corte. Este aumento em alguns tecidos deve-se tanto à via glicolítica quanto à da pentose fosfato ser estimuladas pela alta demanda de produtos primários e secundários, necessários à cicatrização dos ferimentos e/ou a reação (Kays, 1991). Pathirana et al. (2008), observaram que microtubérculos e tubérculos de batata cultivado no campo armazenados a 4°C tiveram aumento significativo no conteúdo de glicose, frutose e sacarose, comparados àqueles armazenados a 10°C.

Quando se avaliou as cultivares dentro de tempo de armazenamento e tipos de raízes (Tabela 1) observou-se que, no dia 0 as cenouras inteiras, cultivar Alvorada, obtiveram teor de AST significativamente maior que as cultivares Brasília e Esplanada. Após o 6º dia de armazenamento, os teores não diferiram, pelo menos, entre duas cultivares (Tabela 1). A diferença entre genótipos também foi aparente nas cenouras picadas, em que no momento do armazenamento a cultivar Esplanada foi significativamente maior do que a 'Brasília'. Esse resultado permaneceu também durante o armazenamento.

Essa diferença entre cultivares também foi observada por Suojala (2000), no ano de 1996, em experimentos com a cultivar Fontana. Principalmente nas cenouras colhidas nas primeiras datas e no início do armazenamento o autor observou menor percentagem de AST. Para cultivar Panther, o teor de açúcares solúveis totais não foi influenciado pelo tempo de armazenamento.

Tabela 1: Teores de açúcares solúveis totais na matéria fresca (%) em três cultivares de cenouras para a respectiva combinação de tipo de raiz e tempo de armazenamento.

AST (% MF)								
Cultivar	DIA 0		DIA 2		DIA 4		DIA 6	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	5,56 a	4,88 ab	5,63 a	5,07 a	5,70 a	5,26 a	5,34 a	5,29 a
Brasília	4,26 c	4,45 b	4,28 b	4,39 b	4,30 b	4,33 b	5,00 a	4,43 b
Esplanada	5,07 b	5,12 a	4,31 b	5,02 a	4,16 b	5,28 a	4,53 b	5,54 a
Cultivar	DIA 8		DIA 10		DIA 12		DIA 14	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	5,11 ab	5,32 ab	5,14 c	5,83 a	4,82 b	5,25 b	5,57 a	5,12 a
Brasília	5,00 b	4,94 b	6,01 b	5,77 a	5,82 a	5,48 b	5,63 a	5,36 a
Esplanada	5,46 a	5,43 a	6,75 a	5,71 a	5,54 a	6,19 a	5,34 a	5,55 a

Em cada dia, médias seguidas pela mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Nenhum modelo de regressão se ajustou para a percentagem de AST nas três cultivares e nos dois tipos de raízes durante o tempo de armazenamento (Tabela 2). Pode-se observar que, os valores médios de AST em função do tempo de armazenamento, não variaram muito entre os tipos de raízes, dentro de cada cultivar, e entre cultivares.

Tabela 2: Valores médios para teores de açúcares solúveis totais na matéria fresca (%) em função do tempo de armazenamento para as respectivas combinações de cultivar e tipo de raiz.

Cultivar	Tipo de raiz	AST (%)
Alvorada	Inteira	$\hat{Y} = 5,3581$
	Picada	$\hat{Y} = 5,2523$
Brasília	Inteira	$\hat{Y} = 5,0384$
	Picada	$\hat{Y} = 4,8935$
Esplanada	Inteira	$\hat{Y} = 5,1449$
	Picada	$\hat{Y} = 5,4788$

3.3. Teor de amido

Os teores de amido durante o armazenamento refrigerado não tiveram valores parecidos entre as cultivares e os tipos de raízes (Figura 3). Na cultivar Alvorada, as raízes inteiras tiveram acréscimo no teor de amido até o 2º dia

(1,91%), seguida de redução e obtendo no último dia o valor de 1,30%. As raízes em pedaços tiveram aumento até o 8º dia, atingindo o valor de 2,33%. Esse aumento correspondeu a 1,6 vezes o teor inicial.

Nos dois tipos de raízes, na cultivar Brasília, observou-se diferentes valores de amido durante o armazenamento. As raízes inteiras tiveram teores estáveis, sendo que iniciaram o armazenamento com 1,11% e terminaram com 1,20%. O contrário ocorreu com as cenouras em pedaços, no 4º dia o teor correspondeu a 1,5 vezes o valor do dia 0, seguido de redução gradual (Figura 3).

Na cultivar Esplanada houve uma ligeira redução na porcentagem de amido do início até o final do armazenamento nas cenouras inteiras, equivalendo a 0,8 vezes o valor inicial. Nas raízes em pedaços, ocorreu aumento no 2º dia, correspondendo a 1,1 vezes o valor do dia 0, seguido de redução e estabilização nos últimos dias de armazenamento. Apesar de haver esta redução, o teor de amido ainda ficou acima dos valores das raízes inteiras (Figura 3).

No presente trabalho, as três cultivares tiveram valores iniciais de amido diferentes dos valores durante o armazenamento, tanto nas cenouras inteiras quanto nas picadas. Mudanças biossintéticas ou hidrolíticas na concentração de amido são extremamente importantes durante o período pós-colheita para muitos produtos hortícolas. Por outro lado, em alguns vegetais os açúcares livres são convertidos a amido depois da colheita, diminuindo a qualidade do produto (Kays, 1991).

Ao proceder a análise estatística em função de tipos de raízes combinado com cultivar dentro de cada dia de armazenamento observou-se que, os tipos de raízes diferiram em alguns dias de armazenamento (Figura 3). Diferenças entre os tipos de raízes, na cultivar Alvorada, ocorreram apenas em dois dias, sendo que no 2º dia as raízes inteiras foram superiores as picadas e, no 8º dia, ocorreu o contrário. Nos dias 2, 4, 6 e 8 as raízes picadas, na cultivar Brasília, tiveram os teores de amido significativamente maiores do que as inteiras. Os teores de amido nas raízes em pedaços, na cultivar Esplanada, foram significativamente maiores no 2º e 6º dias de armazenamento.

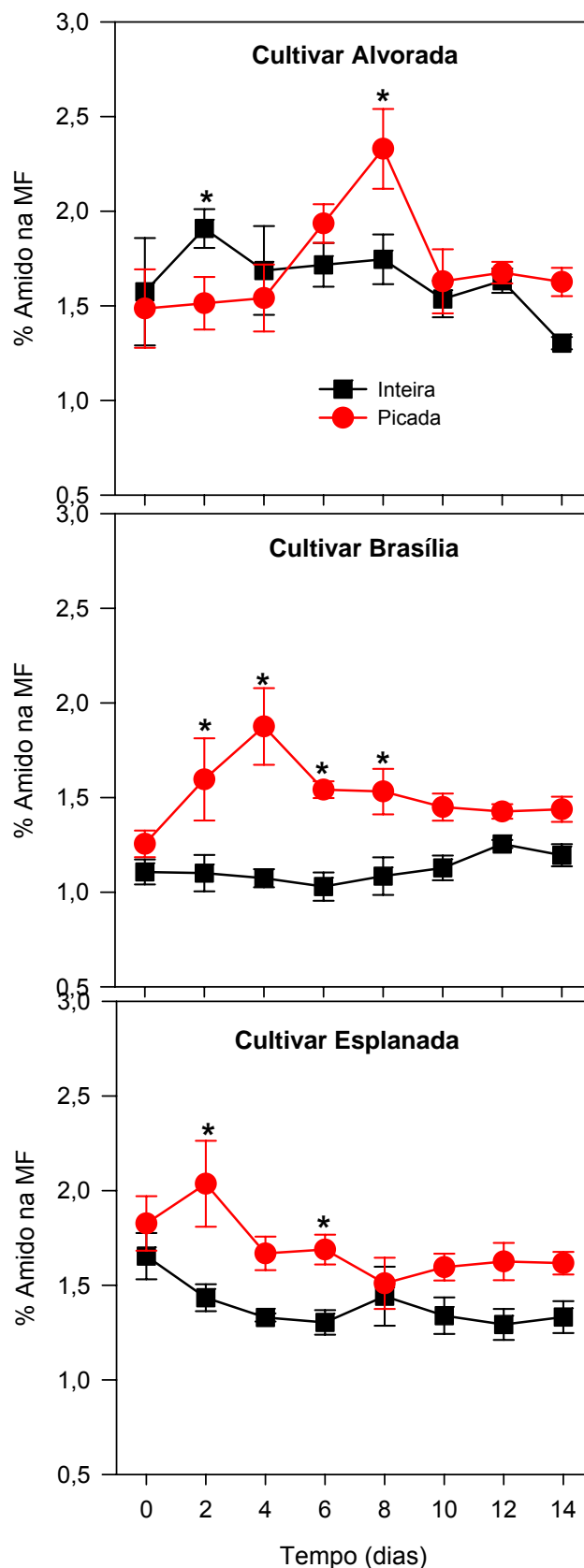


Figura 3: Teores de amido na matéria fresca (%) em raízes inteiras e picadas das cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada armazenadas a 4°C durante 14 dias. Barras representam o erro padrão da média. Símbolo (*) indica diferença estatística entre os dois tipos de raízes em cada dia de armazenamento, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Ribeiro (2003) observou que, os teores de amido em dois clones de mandioquinha-salsa reduziram durante o armazenamento a frio. Nessas condições, o clone Amarela de Carandaí teve decréscimo gradual, enquanto que no clone Roxa de Viçosa as reduções foram mais intensas a partir do terceiro dia, a 10°C, e do sexto dia, a 5°C.

O amido é fonte de carbono e energia para a produção de açúcares em órgãos de armazenamento, geralmente induzido pelo estresse de baixa temperatura, como ocorre em batata armazenada em temperaturas inferiores a 8°C (Isherwood, 1973). No trabalho de Marangoni et al. (1997), a degradação do amido resultou em acúmulo de açúcares redutores (glicose e frutose), via sacarose, devido à atividade das enzimas invertases em batatas armazenadas sob baixa temperatura. A hidrólise do amido, em baixas temperaturas é pouco entendida, no entanto, sabe-se que a fosforilase do amido é a enzima chave na mobilização deste polissacarídeo durante a exposição dos produtos hortícolas ao frio, uma vez que a sacarose é o primeiro açúcar acumulado (Davies & Viola, 1992). Por outro lado, Cottrell et al. (1993) apontam a enzima amilase como agente neste processo.

Avaliando as cultivares em função de tipos de raízes em cada tempo de armazenamento observou-se que, houve diferença significativa entre as cultivares até o 8º dia, após esse período as diferenças desapareceram (Tabela 3). No momento do armazenamento, as raízes inteiras das cultivares Esplanada e Alvorada tiveram os maiores teores de amido. Mas durante o armazenamento, a 'Alvorada' teve maior teor do que as demais cultivares. Enquanto que as cenouras em pedaço 'Esplanada' tinham mais amido que a 'Brasília' no início do armazenamento. Essa diferença entre cultivares foi significativa apenas no 2º e 8º dias de armazenamento.

Chapper et al. (2002), encontraram que nos tubérculos de batata em plantio de outono, a variação nos teores de amido foi semelhante entre cultivares, regiões e condições de armazenamento. Entretanto a cultivar Atlantic, mantida sob refrigeração, teve acúmulo de amido na região periférica. Diferenças entre cultivares foram encontradas com tubérculos de batata armazenados a 2°C (Marangoni et al., 1997). A quantidade de amido degradada foi sempre maior para 'Norchip' do que para 'ND860-2' nos dois anos avaliados.

Tabela 3: Teor de amido na matéria fresca (%) em três cultivares de cenouras para a respectiva combinação de tipo de raiz e tempo de armazenamento.

AMIDO (% MF)								
Cultivar	DIA 0		DIA 2		DIA 4		DIA 6	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	1,57 a	1,49 ab	1,91 a	1,51 b	1,69 a	1,54 a	1,72 a	1,93 a
Brasília	1,11 b	1,26 b	1,10 b	1,60 b	1,07 b	1,88 a	1,03 b	1,54 a
Esplanada	1,65 a	1,83 a	1,43 b	2,04 a	1,33 ab	1,67 a	1,30 b	1,69 a
Cultivar	DIA 8		DIA 10		DIA 12		DIA 14	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	1,75 a	2,33 a	1,54 a	1,63 a	1,63 a	1,68 a	1,30 a	1,63 a
Brasília	1,08 b	1,53 b	1,13 a	1,45 a	1,25 a	1,43 a	1,20 a	1,44 a
Esplanada	1,44 ab	1,51 b	1,34 a	1,60 a	1,29 a	1,63 a	1,33 a	1,62 a

Em cada dia, médias seguidas pela mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Na Tabela 4 encontra-se a análise de tempo de armazenamento combinado com tipos de raízes e cultivares, não sendo possível ajustar nenhum tipo de modelo de regressão. Entretanto, considerando os valores médios de cada tipo de raiz, verifica-se que as cenouras inteiras, nas três cultivares, tiveram valores menores do que as em pedaços. Segundo Chapper et al. (2002), tubérculos de batata plantados na primavera obtiveram teores de amido pouco influenciado pela temperatura e pelo tempo de armazenamento, em cada cultivar.

Tabela 4: Valores médios para teores de amido na matéria fresca (%) em função do tempo de armazenamento para as respectivas combinações de cultivar e tipo de raiz.

Cultivar	Tipo de raiz	Amido (%)
Alvorada	Inteira	$\hat{Y} = 1,6374$
	Picada	$\hat{Y} = 1,7165$
Brasília	Inteira	$\hat{Y} = 1,1218$
	Picada	$\hat{Y} = 1,5143$
Esplanada	Inteira	$\hat{Y} = 1,3909$
	Picada	$\hat{Y} = 1,6957$

Houve diferença nos teores de AST e amido entre os genótipos, nos dois tipos de raízes, no momento do armazenamento e durante os 14 dias (Tabelas 1 e 2). No momento do armazenamento, as raízes inteiras da cultivar Alvorada

e as raízes picadas da 'Esplanada' tiveram maiores teores de amido e AST. Durante o armazenamento, as cenouras inteiras da 'Alvorada' obtiveram maiores teores de amido, enquanto que nas raízes inteiras e picadas da 'Esplanada' foi observado maiores teores de AST. Houve aumento nos teores de açúcares totais e redução nos teores de amido ao final do armazenamento, indicando que o amido foi convertido em açúcares (Figuras 2 e 3). Alterações nos carboidratos podem diferir entre e dentro da mesma variedade e entre produtos hortícolas, de acordo com as condições e tempo de armazenamento (Ribeiro, 2003).

3.4. Teores de açúcares redutores (AR)

Os dois tipos de raízes na cultivar Alvorada tiveram diferentes teores de AR durante o armazenamento (Figura 4). Nas cenouras inteiras, o teor reduziu no início do armazenamento, mas após o 4º dia houve elevação alcançando no 12º dia o valor de 4,26%. O contrário ocorreu com as raízes picadas, onde aumentou os teores de AR durante o armazenamento, sendo mais elevado do dia 0 até o dia 4 e equivalendo a 1,5 vezes o valor inicial.

Na cultivar Brasília, os dois tipos de raízes tiveram elevação nos teores de AR nos primeiros dias de armazenamento e, em seguida, redução até o 14º dia. Nas raízes inteiras, o valor máximo de 2,56% ocorreu no 6º dia e nas raízes inteiras o valor de 2,66% no 2º dia. No final do armazenamento, a % AR foi igual a 1,22% e 1,35%, respectivamente, nas raízes inteiras e picadas (Figura 4).

Nas cenouras inteiras 'Esplanada' não houve alteração nos teores de AR até o 12º dia; logo em seguida houve aumento alcançando valores de 2,13% ao 12º dia. As raízes em pedaços aumentaram os teores de AR, atingindo o valor máximo de 2,59% ao décimo dia, equivalendo a 2,6 vezes o valor inicial (Figura 4).

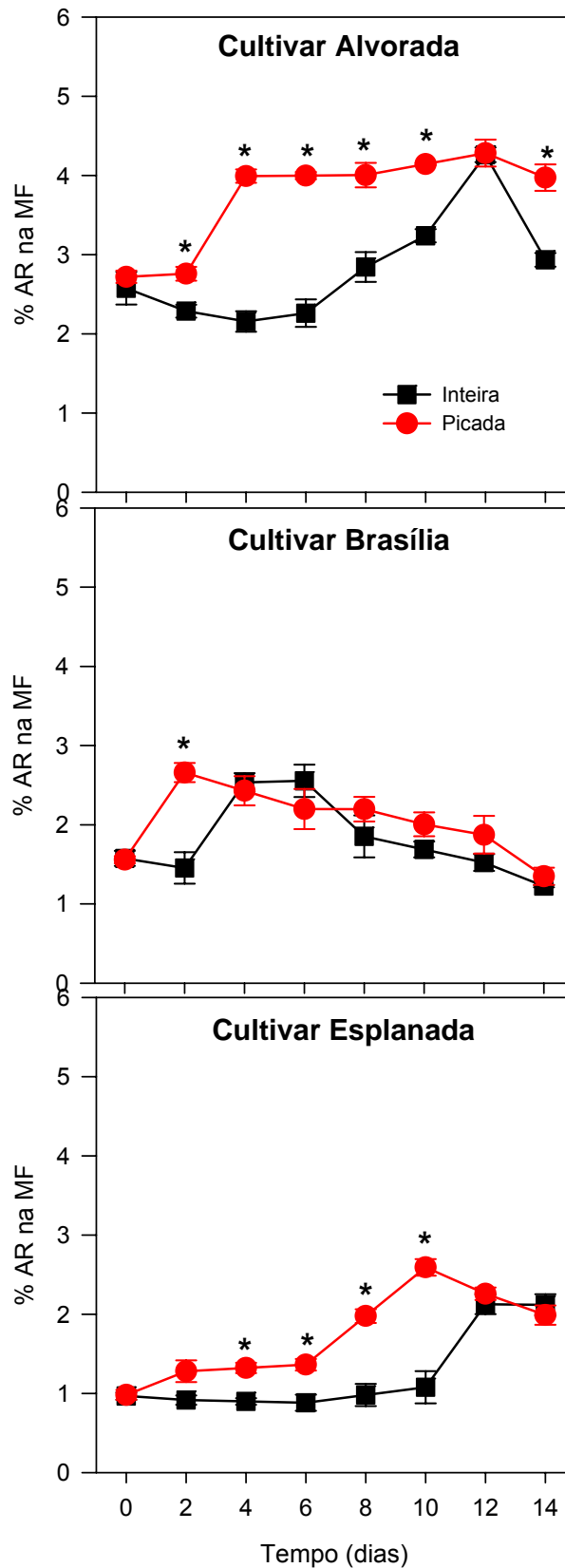


Figura 4: Teores de açúcares redutores na matéria fresca (%) em raízes inteiras e picadas das cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada armazenadas a 4°C durante 14 dias. Barras representam o erro padrão da média. Símbolo (*) indica diferença estatística entre os dois tipos de raízes em cada dia de armazenamento, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Resultados semelhantes foram encontrados por Suojala (2000) com duas cultivares de cenoura, em dois locais diferentes na Finlândia. No sítio experimental, a cultivar Fontana teve aumento nos teores de açúcares redutores durante o armazenamento, enquanto que na cultivar Phanter, os açúcares aumentaram no início e, posteriormente, diminuíram no final do armazenamento. O mesmo ocorreu nos campos do sul da Finlândia, onde o início do armazenamento foi caracterizado por um aumento nos teores de frutose e glicose e no final esse valor reduziu.

Avaliando os tipos de raízes em função de cultivar e de tempo de armazenamento (Figura 4), observa-se que na cultivar Alvorada as cenouras em pedaços tiveram maiores teores de AR que as inteiras aos 2, 4, 6, 8, 10 e 14 dias. As cenouras inteiras e picadas da 'Brasília' diferiram estatisticamente apenas no 2º dia, sendo que raízes em pedaços foram maiores que as inteiras, respectivamente 2,7% e 1,5% de AR. A 'Esplanada', nos dias 4, 6, 8 e 10, obteve maior percentagem de AR nas raízes picadas em relação às inteiras.

Klotz et al. (2006), avaliando raízes de beterraba açucareira encontraram que não houve diferença significativa na concentração de hexoses quanto aos tratamentos, raízes feridas e não feridas. Em outros trabalhos, foi observado que a concentração de hexoses diminuiu, aproximadamente três vezes, durante o armazenamento em raízes de beterraba feridas (Vaccari et al., 1988) ou aumentou mais do que dez vezes em tecidos feridos de beterraba açucareira (Rozenkranz et al., 2001).

No presente trabalho, as cultivares Alvorada e Esplanada, nos dois tipos de raízes, tiveram aumento nos teores de AR durante o armazenamento, sendo que esse aumento pode ser causado pelo efeito da baixa temperatura de armazenamento. Dois clones de raízes de mandioquinha-salsa, 'Amarela de Carandaí' e 'Roxa de Viçosa', armazenadas a 5°C e 10°C, após declínio nos primeiros três dias de armazenamento, tiveram aumento na concentração de açúcares redutores (Ribeiro, 2003). Além disso, no trabalho com beterraba açucareira armazenada em diferentes temperaturas (6, 12 e 21°C), os teores de glicose e frutose aumentaram durante o armazenamento (Klotz & Finger, 2004).

Houve significância na avaliação das cultivares em função de tipo de raiz e tempo de armazenamento (Tabela 5). No dia 0, a cultivar Alvorada nos dois tipos de raízes, tiveram os maiores teores de AR, enquanto que a 'Esplanada'

teve os menores valores. Ao longo dos dias de armazenamento, os dois tipos de raízes 'Alvorada' tiveram os maiores teores de AR, sendo que o menor valor foi verificado na cultivar Esplanada, nos dois tipos de raízes. A 'Brasília' teve teores intermediários, sendo menor apenas no dia 10 nas raízes picadas, dia 12 nas inteiras e dia 14 nos dois tipos de raízes.

Tabela 5: Teores de açúcares redutores na matéria fresca (%) em três cultivares de cenouras para a respectiva combinação de tipo de raiz e tempo de armazenamento.

AR (% MF)								
Cultivar	DIA 0		DIA 2		DIA 4		DIA 6	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	2,58 a	2,72 a	2,29 a	2,76 a	2,16 a	3,99 a	2,26 a	4,00 a
Brasília	1,58 b	1,56 b	1,45 b	2,66 a	2,53 a	2,43 b	2,56 a	2,20 b
Esplanada	0,97 c	0,98 c	0,92 c	1,28 b	0,90 b	1,32 c	0,88 b	1,36 c
Cultivar	DIA 8		DIA 10		DIA 12		DIA 14	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	2,84 a	4,00 a	3,24 a	4,14 a	4,26 a	4,28 a	2,93 a	3,97 a
Brasília	1,85 b	2,20 b	1,69 b	2,01 c	1,52 c	1,87 b	1,22 c	1,35 c
Esplanada	0,98 c	1,98 b	1,08 c	2,59 b	2,13 b	2,26 b	2,12 b	1,99 b

Em cada dia, médias seguidas pela mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Diferenças entre cultivares também foram observadas em batata doce armazenada após a cura em três temperaturas (4,5°C, 15,6°C e 24°C). No ano de 1997, a cultivar 'Hernandez' teve níveis superiores de açúcares redutores em relação à 'Beauregard', em todas as temperaturas de armazenamento (Huang et al., 1999). O mesmo comportamento entre as cultivares ocorreu no ano de 1998, todavia a cultivar Hernandez teve o teor de açúcar redutor mais baixo do que em 1997, enquanto que na cultivar Beauregard foi observado pequena diferença entre os anos.

Ao analisarmos o teor de AR em função do tempo de armazenamento nas combinações de cultivar e tipos de raízes observou-se que, nenhum modelo se ajustou a este fenômeno biológico. Os valores médios para cada cultivar e tipo de raiz encontram-se na Tabela 6; e observa-se que, para todas as cultivares, as cenouras picadas tiveram valores maiores que as inteiras.

Tabela 6: Valores médios para teores de açúcares redutores na matéria fresca (%) em função do tempo de armazenamento para as respectivas combinações de cultivar e tipo de raiz.

Cultivar	Tipo de raiz	AR (%)
Alvorada	Inteira	$\hat{Y} = 2,8198$
	Picada	$\hat{Y} = 3,7338$
Brasília	Inteira	$\hat{Y} = 1,8006$
	Picada	$\hat{Y} = 2,0336$
Esplanada	Inteira	$\hat{Y} = 1,2460$
	Picada	$\hat{Y} = 1,7205$

3.5. Teores de açúcares não redutores (ANR)

As cenouras inteiras, na cultivar Alvorada, obtiveram valor máximo de ANR igual a 3,54% no quarto dia, seguido de redução até o dia 10 e elevação nos últimos dois dias. Nas raízes picadas, os teores reduziram até o 8º dia, obtendo o valor de 1,32% e, em seguida, aumentaram no 10º dia mas voltaram a cair no final do armazenamento (Figura 5).

Os dois tipos de raízes 'Brasília' mantiveram-se constantes até o 8º dia, em seguida obtiveram valores iguais a 1,9 e 1,3 vezes o teor de AR inicial, respectivamente, nas raízes inteiras e picadas. Nas raízes inteiras o valor máximo ocorreu no 10º dia, alcançando o valor de 4,75%, enquanto que nas picadas foi no último dia de armazenamento (Figura 5).

As raízes inteiras, na cultivar Esplanada, reduziram os teores de ANR até o 2º dia, ao décimo dia obteve o valor máximo de 5,47% ANR, mas voltou a cair até o 14º dia. As raízes em pedaço obtiveram o teor de 3,55% de ANR no 2º dia, após tiveram aumento até o dia 6, seguido de redução até o final do armazenamento (Figura 5).

Chapper et al. (2002), analisaram duas cultivares de batata, duas épocas de plantio, duas temperaturas de armazenamento e duas regiões de amostragem no tubérculo. Os teores de sacarose aumentaram quando os tubérculos das cultivares Pérola e Atlantic foram mantidos sob refrigeração (2°C). Diferenças nos teores de ANR também foram encontradas nas duas regiões de amostragem, nas épocas de plantio e entre as cultivares.

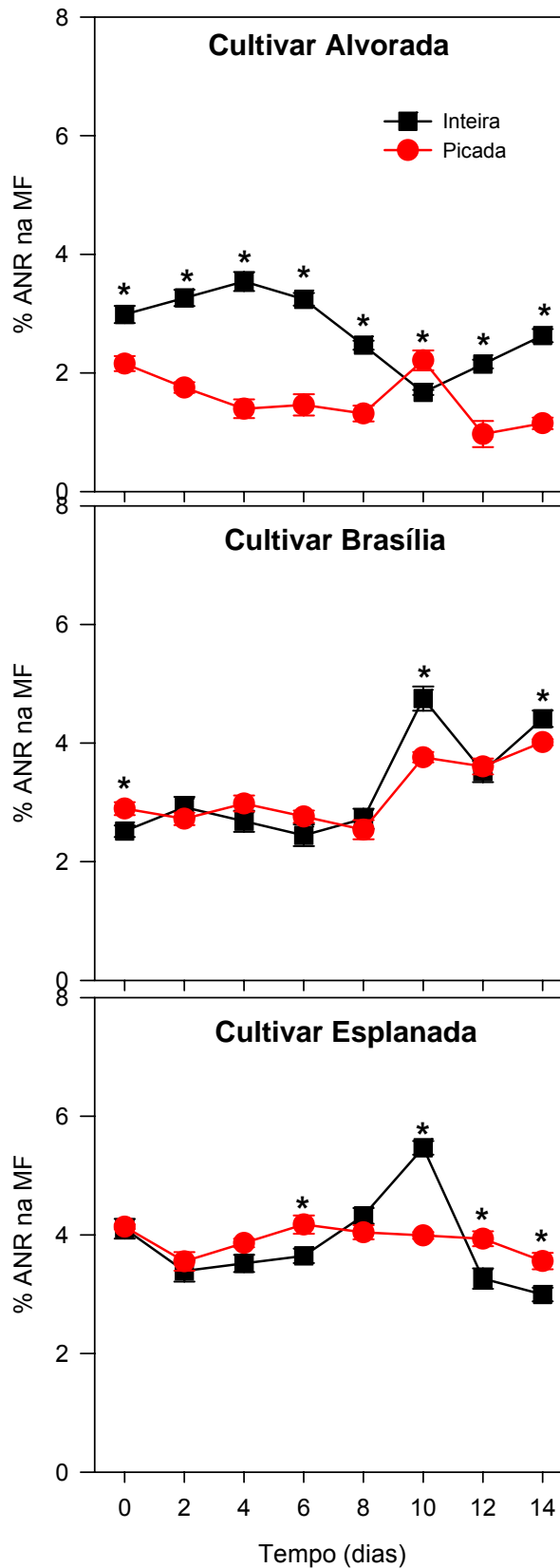


Figura 5: Teores de açúcares não redutores na matéria fresca (%) em raízes inteiras e picadas das cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada armazenadas a 4°C durante 14 dias. Barras representam o erro padrão da média. Símbolo (*) indica diferença estatística entre os dois tipos de raízes em cada dia de armazenamento, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Pathirana et al. 2008, estudando microtubérculos e tubérculos de batata cultivados no campo, genótipos resistentes e não resistentes ao adoçamento e armazenamento a 10 e 4°C, observaram aumento no teor de sacarose, nos dois tipos de tubérculos, durante o tratamento a frio. No entanto, o aumento foi menor nos microtubérculos, 1,5 vezes em média, comparado ao aumento de 3,2 vezes nos tubérculos.

Analisando os tipos de raízes em combinação com tempo de armazenamento e cultivar, notou-se que as raízes inteiras, na cultivar Alvorada, tiveram maior percentagem de ANR do que as picadas durante o período de armazenamento, exceto no 10º dia, onde as picadas foram maiores (Figura 5). Entretanto na 'Brasília', os tipos de raízes não diferiram em quase todos os dias de armazenamento, exceto no dia 0 em que o teor foi maior nas raízes picadas, ocorrendo o contrário nos dias 10 e 14. As raízes em pedaços da 'Esplanada', obtiveram maiores teores de açúcares não redutores em relação às inteiras apenas nos dias 6, 12 e 14.

Klotz et al. (2006), não encontraram redução significativa no teor de sacarose durante o armazenamento de raízes feridas e raízes controle de beterraba açucareira armazenadas a 10°C, por 13 dias.

Analisando as cultivares combinadas com tipo de raízes e tempo de armazenamento observou-se que o maior teor de ANR, no momento do armazenamento, foi verificado na 'Esplanada', tanto nas raízes inteiras quanto nas picadas e o menor foi observado nas raízes inteiras da 'Brasília' e nas picadas da 'Alvorada' (Tabela 7). Durante o armazenamento, as raízes picadas 'Esplanada' obtiveram os maiores teores de ANR, enquanto que nas inteiras a 'Esplanada' teve maior percentagem, não diferindo da 'Alvorada' no 4º e 6º dias e da 'Brasília' no 12º dia. As raízes em pedaço da cultivar Brasília obtiveram teores intermediários entre a 'Alvorada' e a 'Esplanada'.

Apesar de não comparar estatisticamente os dois clones de mandioquinha-salsa, Ribeiro (2003) encontrou diferença nos teores de açúcares não redutores durante o armazenamento a 5°C. As raízes 'Amarela de Carandaí' obtiveram aumento durante o armazenamento, uma vez que 'Roxa de Viçosa' diminuiu entre 12 e 18 dias.

Tabela 7: Teores de açúcares não redutores na matéria fresca (%) em três cultivares de cenouras para a respectiva combinação de tipo de raiz e tempo de armazenamento.

ANR (% MF)								
Cultivar	DIA 0		DIA 2		DIA 4		DIA 6	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	2,99 b	2,16 c	3,26 ab	1,75 c	3,54 a	1,40 c	3,24 a	1,46 c
Brasília	2,52 c	2,90 b	2,92 b	2,72 b	2,68 b	2,98 b	2,45 b	2,76 b
Esplanada	4,10 a	4,14 a	3,39 a	3,55 a	3,52 a	3,86 a	3,65 a	4,17 a
Cultivar	DIA 8		DIA 10		DIA 12		DIA 14	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	2,47 b	1,32 c	1,67 c	2,21 b	2,15 b	0,97 b	2,63 b	1,15 c
Brasília	2,72 b	2,54 b	4,75 b	3,76 a	3,52 a	3,61 a	4,41 a	4,01 a
Esplanada	4,32 a	4,04 a	5,47 a	3,99 a	3,26 a	3,93 a	2,99 b	3,56 b

Em cada dia, médias seguidas pela mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Na tentativa de ajustar um modelo de regressão para tempo de armazenamento combinado com cultivar e tipo de raízes, observa-se na Tabela 8, que raízes inteiras e picadas, em cada cultivar, não se ajustaram ao modelo estatístico. As cenouras ‘Esplanada’ tiveram os maiores valores e a ‘Alvorada’ os menores, nos dois tipos de raízes.

Tabela 8: Valores médios para teores de açúcares não redutores na matéria fresca (%) em função do tempo de armazenamento para as respectivas combinações de cultivar e tipo de raiz.

Cultivar	Tipo de raiz	ANR (%)
Alvorada	Inteira	$\hat{Y} = 2,7441$
	Picada	$\hat{Y} = 1,5523$
Brasília	Inteira	$\hat{Y} = 3,2456$
	Picada	$\hat{Y} = 3,1600$
Esplanada	Inteira	$\hat{Y} = 3,8379$
	Picada	$\hat{Y} = 3,9062$

Os carboidratos, nos órgãos de reserva, estão em constantes alterações, pois são os mais importantes substratos energéticos do processo metabólico. Essas alterações podem ser quantitativas ou qualitativas e as conversões como as de amido ou sacarose (açúcar não redutor) a glicose e frutose (açúcares redutores) dentre outros, são reguladas enzimaticamente e

influenciadas pelas condições de tempo e armazenamento (Ribeiro 2003; Hansen & Weichmann, 1987).

Em cenouras, o padrão de alteração dos carboidratos, durante o armazenamento refrigerado, é aumento nos teores de açúcares redutores e diminuição nos teores de sacarose (Suojala, 2000). Apenas na cultivar Brasília houve o contrário do esperado, redução nos teores de AR e aumento nos teores de ANR, ao final do armazenamento. Este aumento nos ANR pode ter ocorrido por meio da hidrólise de amido e não da recombinação de glicose e frutose para formar sacarose.

Isherwood (1973) relata que os açúcares solúveis podem estar compartimentalizados em diferentes locais na célula. Sendo assim, a sacarose seria formada da converção de amido, no amiloplasto e, posteriormente, transportada ao citosol onde, então, seria hidrolisada a glicose e frutose. Portanto, somente após a transferência de sacarose ao citosol as alterações nos açúcares redutores começariam a ocorrer. Esse autor também observou que a compartimentalização dos açúcares ocorreu principalmente nos tecidos mais maduros, uma vez que naqueles imaturos houve estreita relação entre os açúcares não redutores e redutores.

3.6. Atividade da invertase ácida

Observando a Figura 6, nota-se que as três cultivares tiveram maior atividade enzimática no mesmo período e não houve diferença entre os tipos de raízes em alguns dias de armazenamento. As raízes inteiras 'Alvorada' obtiveram maior atividade no dia 8 (29,48 mg glicose/h/mg proteína), sendo que no dia 10 o valor era alto ainda, igual a 21,69 mg glicose/h/mg proteína. Nas raízes picadas esse valor foi de 12,45 e 12,62 mg glicose/h/mg proteína, respectivamente, no 8º e 10º dias. Nos dois tipos de raízes, a maior atividade de invertase ácida equivaleu a 7,6 vezes nas inteiras e 5,2 vezes nas picadas, o valor da atividade inicial.

A cultivar Brasília obteve a maior atividade enzimática no oitavo dia, com 23,08 mg glicose/h/mg proteína nas raízes inteiras e 28,14 mg glicose/h/mg proteína nas picadas (Figura 6). Em relação à atividade no momento do armazenamento, no 8º dia os valores corresponderam a 5,6 e 5,2 vezes nas raízes inteiras e picadas, respectivamente. No 10º dia, a atividade permaneceu

alta, igual a 17,12 mg glicose/h/mg proteína nas raízes inteiras e 22,51 mg glicose/h/mg proteína nas picadas. As raízes picadas 'Brasília' tiveram maior atividade enzimática que as inteiras nesses dois dias de armazenamento.

A atividade de invertase ácida na cultivar Esplanada não diferiu ao longo do armazenamento entre os dois tipos de raízes (Figura 6). Observou-se que, a partir do 4º dia a atividade da enzima começou a aumentar nos dois tipos de raízes, alcançando o maior valor no 8º dia, com 17,91 e 17,54 mg glicose/h/mg proteína nas raízes inteiras e picadas, respectivamente. Esta atividade equivaleu a 5,4 vezes nas raízes inteiras e 7,4 vezes nas picadas em relação à atividade do início do armazenamento. No dia 10, a atividade ainda era alta e as raízes inteiras tinham 13,47 mg glicose/h/mg proteína e as picadas 11,23 mg glicose/h/mg proteína.

Resultados semelhantes aos aqui obtidos, foram encontrados com as cultivares de batata, 'Pérola' e 'Atlantic', em duas épocas de cultivo (primavera e outono), e em duas temperaturas de armazenamento, ambiente e refrigerada (Chapper et al., 2004). A atividade de invertase ácida aumentou acentuadamente nos tubérculos submetidos à refrigeração, independente da cultivar e época de cultivo, em relação à condição ambiente.

Desdobrando a interação tipo de raiz combinado com cultivar e tempo de armazenamento observou-se que a atividade de invertase ácida foi significativamente diferente entre os tipos de raízes (Figura 6). As raízes inteiras diferiram das picadas apenas nos dias 8 e 10, obtendo maior atividade no 8º dia as raízes inteiras da 'Alvorada' e as picadas da 'Brasília'. Os dois tipos de raízes da 'Esplanada' não diferiram em todos os dias de armazenamento.

A atividade de invertase ácida solúvel foi verificada por Klotz et al. (2006) em raízes de beterraba açucareira com e sem fermento durante 13 dias de armazenamento a 10°C. Foi observado que o fermento não causou indução na atividade sucrolítica, ou seja, a atividade da enzima foi semelhante nas raízes com fermento e nas raízes controle durante o período de armazenamento.

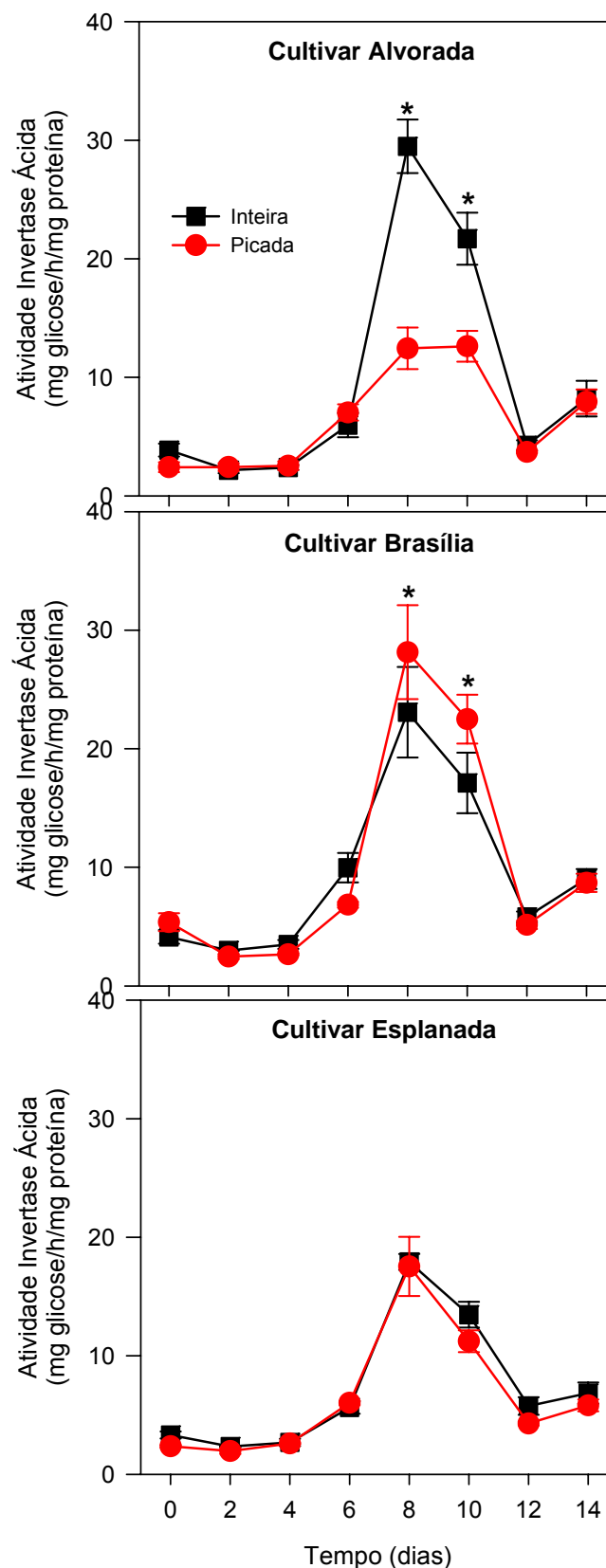


Figura 6: Atividade de invertase ácida (mg glicose/h/mg proteína) em raízes inteiras e picadas das cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada armazenadas a 4°C durante 14 dias. Barras representam o erro padrão da média. Símbolo (*) indica diferença estatística entre os dois tipos de raízes em cada dia de armazenamento, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os produtos da ação da invertase ácida são glicose e frutose, na Figura 4 observa-se aumento nos teores de AR durante o armazenamento das cultivares Alvorada e Esplanada, nos dois tipos de raízes. Apenas nas raízes da cultivar Brasília não ocorreu este aumento. Resultados semelhantes aos das cenouras 'Brasília' foram encontrados por Vaccari et al. (1988), onde o teor de hexoses diminuiu quase três vezes durante o armazenamento de raízes feridas de beterraba. Esta redução nos teores de AR, na cultivar Brasília, pode ter ocorrido porque as invertases ácidas hidrolisam, além da sacarose, outros oligossacarídeos contendo resíduos de β -frutose, tais como rafinose e estaquiase (Sturm, 1999).

Relacionando os teores de açúcares redutores (Figura 4) com a atividade de invertase ácida (Figura 6) observa-se que, o aumento na atividade da enzima precedeu o dia de maiores teores de AR nas raízes das cultivares Alvorada e Esplanada. Estas observações indicam que, este aumento em AR nas raízes é resultado da ação da enzima, ou seja, a invertase ácida promoveu a hidrólise de sacarose em glicose e frutose.

Quando se analisou cultivar combinado com tipo de raiz e tempo de armazenamento, observou-se que apenas no 8º e 10º dias a atividade de invertase ácida nas raízes inteiras, da cultivar Alvorada, foram significativamente superiores as demais cultivares (Tabela 9). As cenouras inteiras 'Brasília', no 6º dia, e as picadas, no 8º e 10º dias, tiveram maior atividade enzimática. Menores valores foram encontrados nas raízes inteiras 'Esplanada' no 8º dia, enquanto que nos demais dias (6, 8 e 10) tanto as inteiras quanto as picadas não diferiram das cultivares Brasília e Alvorada.

Diferença na atividade de invertase foi encontrada em tubérculos de batata, de duas cultivares, armazenados a 2°C em dois anos consecutivos. Em 1993, a atividade da enzima na cultivar 'Norchip' foi duas vezes maior que na 'ND860-2', enquanto que no ano de 1994 não houve diferença estatística entre as cultivares (Marangoni et al., 1997). Diferença entre cultivares foi encontrada por Huang et al. (1999), no armazenamento em diferentes temperaturas (4,5, 15,6 e 24°C) de duas cultivares de batata doce ('Beauregard' e 'Hernandez') por mais de sete semanas, em dois anos consecutivos. Em 1997 e 1998, a atividade de invertase, na cultivar 'Hernandez', foi significativamente maior em todas as temperaturas de armazenamento.

Tabela 9: Atividade de invertase ácida (mg glicose/h/mg proteína) em três cultivares de cenouras para a respectiva combinação de tipo de raiz e tempo de armazenamento.

INVA (mg glicose/h/mg proteína)								
Cultivar	DIA 0		DIA 2		DIA 4		DIA 6	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	3,86 a	2,42 a	2,17 a	2,43 a	2,40 a	2,55 a	5,96 ab	7,04 a
Brasília	4,12 a	5,38 a	2,99 a	2,47 a	3,50 a	2,66 a	9,97 a	6,84 a
Esplanada	3,32 a	2,37 a	2,34 a	1,97 a	2,70 a	2,61 a	5,64 b	6,03 a
Cultivar	DIA 8		DIA 10		DIA 12		DIA 14	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	29,48 a	12,45 c	21,69 a	12,62 b	4,27 a	3,7 a	8,20 a	7,95 a
Brasília	23,08 b	28,14 a	17,12 b	22,51 a	5,81 a	5,16 a	9,02 a	8,69 a
Esplanada	17,91 c	17,54 b	13,47 b	11,23 b	5,77 a	4,30 a	6,86 a	5,82 a

Em cada dia, médias seguidas pela mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Na análise de regressão em função do tempo de armazenamento combinado com cultivar e tipo de raiz foi verificado que, nenhum modelo estatístico se ajustou para atividade de invertase ácida, portanto os valores médios são apresentados na Tabela 10. Segundo Klotz & Finger (2004), a atividade de invertase ácida solúvel não obteve mudanças significativas em beterraba açucareira armazenada em três temperaturas (6, 12 e 21°C), parecendo ser uma enzima constitutiva.

Tabela 10: Valores médios para atividade de invertase ácida (mg glicose/h/mg proteína) em função de tempo de armazenamento para as respectivas combinações de cultivar e tipo de raiz.

Cultivar	Tipo de raiz	INVA (mg glc/h/mg ptn)
Alvorada	Inteira	$\hat{Y} = 9,7555$
	Picada	$\hat{Y} = 6,3949$
Brasília	Inteira	$\hat{Y} = 9,4532$
	Picada	$\hat{Y} = 10,2304$
Esplanada	Inteira	$\hat{Y} = 7,2502$
	Picada	$\hat{Y} = 6,4818$

A invertase ácida faz a hidrólise irreversível de sacarose em glicose e frutose. Esta enzima ocorre como solúvel no vacúolo ou como insolúvel na parede celular, com atividade máxima em pH na faixa de 4,5-5,5. No perante

trabalho foi verificado apenas a atividade de invertase ácida solúvel, e esta enzima obteve aumento a partir do 4º dia de armazenamento, nos dois tipos de raízes e nas três cultivares. A atividade máxima de invertase ácida, neste experimento, foi observada no 8º dia para as raízes e cultivares. Resultados encontrados por Vaccari et al. (1988) relatam aumento de 30% na atividade de invertase ácida solúvel em raízes feridas de beterraba, enquanto que Rosenkranz et al. (2001) relataram aumento maior do que 700% na atividade dessa mesma enzima em tecidos feridos de beterraba.

O aumento da atividade enzimática neste trabalho está de acordo com a literatura citada acima, com as cenouras picada apresentando 422, 423 e 640% de aumento, respectivamente, nas cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada. Resultados diferentes foram relatados por Klotz & Finger (2004), onde não foram encontrados mudanças na atividade de invertase ácida solúvel durante o armazenamento de raízes sadias de beterraba açucareira. As invertases solúveis são importantes no acúmulo de açúcares solúveis em algumas espécies, enquanto que em outras, as invertases insolúveis são mais atuantes.

3.7. Atividade de peroxidases (POD)

A atividade de POD, na cultivar Alvorada, aumentou durante o armazenamento, apresentando valor máximo de 25,25 UA/min/mg de proteína no 4º dia, nas cenouras inteiras (Figura 7). A mesma tendência de aumento durante o armazenamento foi observada nas raízes picadas, todavia existiram dois picos de atividade, no 4º e 12º dias, respectivamente, 14,60 UA/min/mg de proteína e 17,81 UA/min/mg de proteína.

Nas raízes inteiras da cultivar Brasília o aumento na atividade enzimática iniciou após o 2º dia, atingindo valor de 17,74 UA/min/mg de proteína no oitavo dia. Em seguida, a atividade voltou a cair, mas ficou acima do valor do armazenamento inicial. As raízes em pedaços apresentaram valores maiores do que as inteiras, durante o armazenamento refrigerado (Figura 7).

Os dois tipos de raízes, na cultivar Esplanada, tiveram aumento na atividade enzimática à medida que aumentou o tempo de armazenamento (Figura 7). A atividade nas cenouras inteiras e picadas aumentou até o 10º dia, alcançando, respectivamente, 12,68 e 13,64 UA/min/mg de proteína.

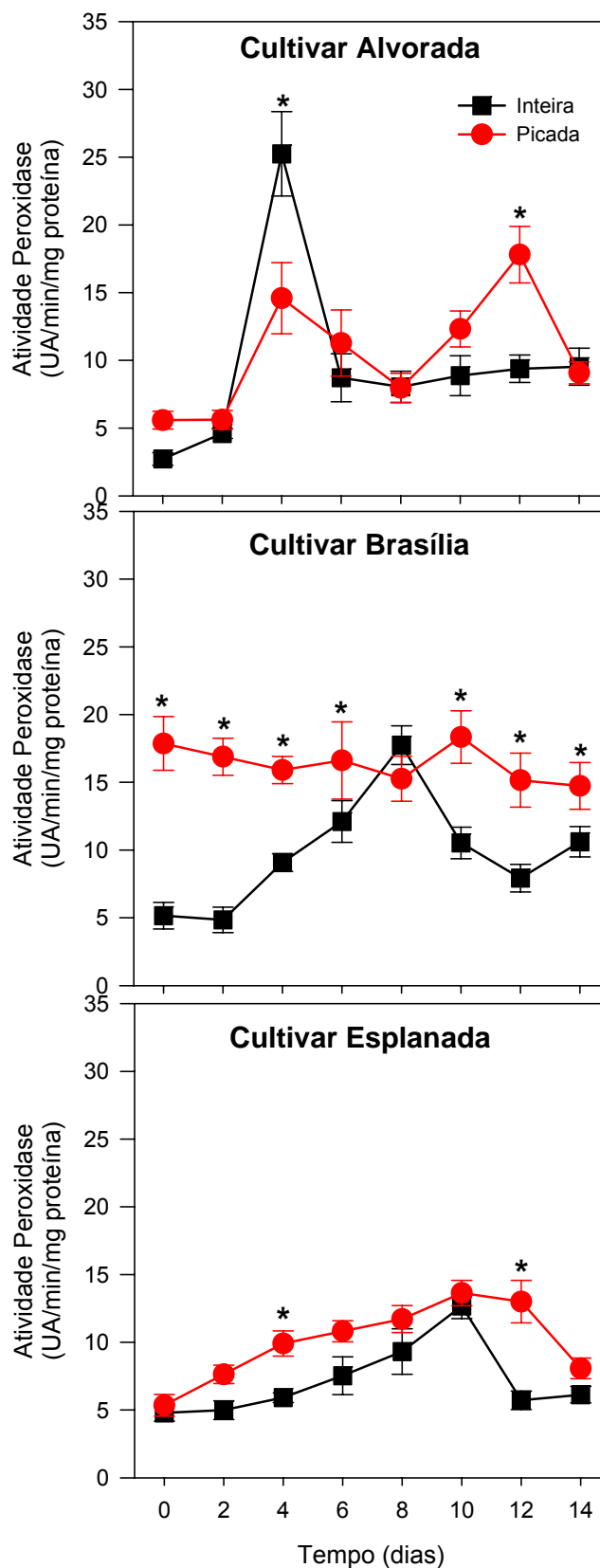


Figura 7: Atividade de peroxidases (UA/min/mg proteína) em raízes inteiras e picadas das cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada armazenadas a 4°C durante 14 dias. Barras representam o erro padrão da média. Símbolo (*) indica diferença estatística entre os dois tipos de raízes em cada dia de armazenamento, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Aquino-Bolaños & Mercado-Silva (2004), trabalharam com cilindros de *Pachyrizus erosus* armazenados por 8 dias em duas temperaturas, 20 e 10°C, e dois locais de amostragem, tecido interno e externo. Os resultados encontrados foram semelhantes, a atividade de POD foi afetada pela temperatura e pelo local de amostragem, ou seja, a atividade da enzima foi maior a 20°C do que a 10°C, além de ser maior no tecido externo do que no interno. Embora os valores de POD, nos cilindros armazenados a 10°C, tenham sido menores, pequeno aumento na atividade foi observado no 5º e 6º dias, nos dois tecidos amostrados.

Em raízes de batata-baroa armazenadas nas temperaturas de 5 e 10°C, por 28 dias, foi observado aumento de atividade de POD até o sétimo dia, nas duas temperaturas. Depois disso, as raízes armazenadas a 5°C mantiveram os valores de atividade constante até o 21º dia (Menolli, 2006).

Desdobrando a interação tripla tipo de raiz combinado com cultivar e tempo de armazenamento, verificou-se diferença significativa na atividade da POD (Figura 7). Na cultivar Alvorada, os dois tipos de raízes diferiram apenas nos dias 4 e 12, sendo que as inteiras foram superiores as picadas no 4º dia e as picadas tiveram maior atividade no 12º dia. Ao contrário da 'Alvorada', as raízes picadas da cultivar Brasília foram superiores as inteiras ao longo do armazenamento, exceto no 8º dia. Apenas no 4º e 12º dias de armazenamento, as raízes picadas da cultivar Esplanada diferiram das inteiras.

Batatas da cultivar 'Kennebec', armazenadas a 3 e 4°C, foram cortadas em fatias e armazenadas a 25°C e, em tempo desejado, amostras de tecido de diferentes camadas celulares foram usadas para medir a atividade de POD. Nos tecidos feridos, a atividade aumentou durante vários dias, sendo que a maioria da atividade estava concentrada nas quatro primeiras camadas celulares. Quatro dias após o ferimento, a atividade da enzima, nas camadas suberizadas, era 8 a 10 vezes maior do que nas não suberizadas (Borchert, 1978).

Analisando cultivar combinado com tipo de raiz e tempo de armazenamento, observou-se que não houve diferença entre as cultivares na atividade de POD nas raízes inteiras, no momento do armazenamento (Tabela 11). No início e durante o armazenamento, as raízes picadas da 'Brasília' obtiveram maiores atividades em relação às demais cultivares.

Tabela 11: Atividade de peroxidases (UA/min/mg proteína) em três cultivares de cenouras para a respectiva combinação de tipo de raiz e tempo de armazenamento.

POD (UA/min/mg proteína)								
Cultivar	DIA 0		DIA 2		DIA 4		DIA 6	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	2,73 a	5,59 b	4,61 a	5,62 b	25,25 a	14,60 a	8,71 a	11,28 b
Brasília	5,16 a	17,87 a	4,85 a	16,89 a	9,08 b	15,91 a	12,11 a	16,61 a
Esplanada	4,79 a	5,35 b	4,99 a	7,63 b	5,92 b	9,91 b	7,54 a	10,82 b
Cultivar	DIA 8		DIA 10		DIA 12		DIA 14	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	8,04 b	7,97 b	8,87 a	12,32 b	9,39 a	17,81 a	9,53 a	9,08 b
Brasília	17,74 a	15,27 a	10,53 a	18,34 a	7,93 a	15,16 ab	10,61 a	14,74 a
Esplanada	9,32 b	11,72 ab	12,68 a	13,64 b	5,73 a	13,00 b	6,14 a	8,08 b

Em cada dia, médias seguidas pela mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A regressão em função do tempo de armazenamento em combinação com tipo de raiz e cultivar, não apresentou modelos estatísticos significativos. Os valores médios dos dias de armazenamento para cada tipo de raiz e cultivar são apresentados na Tabela 12. Verifica-se que o valor, durante o armazenamento das raízes picadas, foi superior às inteiras na cultivar Brasília. Esse valor correspondeu ao aumento de 68% na atividade de POD nas cenouras picadas em relação às inteiras; nas demais cultivares, essa diferença não foi tão evidente.

Tabela 12: Valores médios para atividade de peroxidases (UA/min/mg proteína) em função do tempo de armazenamento para as respectivas combinações de cultivar e tipo de raiz.

Cultivar	Tipo de raiz	POD (UA/min/mg ptn)
Alvorada	Inteira	$\hat{Y} = 9,6413$
	Picada	$\hat{Y} = 10,5330$
Brasília	Inteira	$\hat{Y} = 9,7515$
	Picada	$\hat{Y} = 16,3481$
Esplanada	Inteira	$\hat{Y} = 7,1382$
	Picada	$\hat{Y} = 10,0192$

3.8. Atividade de polifenoloxidasas (PPO)

A atividade de PPO, nas cenouras inteiras e picadas, na cultivar Alvorada, foi similar ao longo do armazenamento, aumentou no início e estabilizou no final. Apenas no 2º dia houve pico de atividade de 0,26 UA/min/mg de proteína nas raízes inteiras e, no dia 6, as picadas tiveram o valor de 0,21 UA/min/mg de proteína (Figura 8).

Nas cenouras 'Brasília', a atividade de PPO não diferiu no início do armazenamento, mas as raízes picadas tiveram valores maiores que as inteiras nesse período (Figura 8). No final do armazenamento, as raízes inteiras tiveram dois picos de atividade, no 8º e 14º dias, respectivamente, 0,24 e 0,54 UA/min/mg de proteína.

As raízes inteiras, na cultivar Esplanada, iniciaram o armazenamento com baixa atividade de PPO, igual a 0,09 UA/min/mg de proteína, em seguida houve aumento no 4º, 6º e 8º dias. Nas cenouras em pedaços, observou-se alta atividade no 4º dia, igual a 0,41 UA/min/mg de proteína, nos dias seguintes esses valores reduziram (Figura 8).

Resultados semelhantes foram observados por Rocha & Morais (2002), em maçãs minimamente processadas, cultivar Jonagored, armazenadas a 4°C, por 7 dias no escuro. Foi observado aumento significativo na atividade de PPO entre os dias 0 e 3, em seguida os valores tornaram-se constante. Em raízes de batata-baroa, armazenadas a 5 e 10 °C, o aumento na atividade de PPO ocorreu nos primeiros sete dias, mantendo-se constante até o dia 14 e, posteriormente, voltando a aumentar (Menolli, 2006).

Analisando a interação tripla tipo de raiz combinado com cultivar e tempo de armazenamento observou-se que, nas cenouras Alvorada houve diferença entre os tipos de raízes apenas no 2º e 6º dias, respectivamente, raízes inteiras e picadas (Figura 8). Apenas no final do armazenamento, no 8º e 14º dias, as raízes inteiras, na cultivar Brasília, tiveram atividade significativamente maior do que as picadas. Na cultivar Esplanada, as raízes inteiras diferiram das picadas no 6º e 8º dias, enquanto que, no 4º dia, as raízes picadas foram significativamente superiores às inteiras.

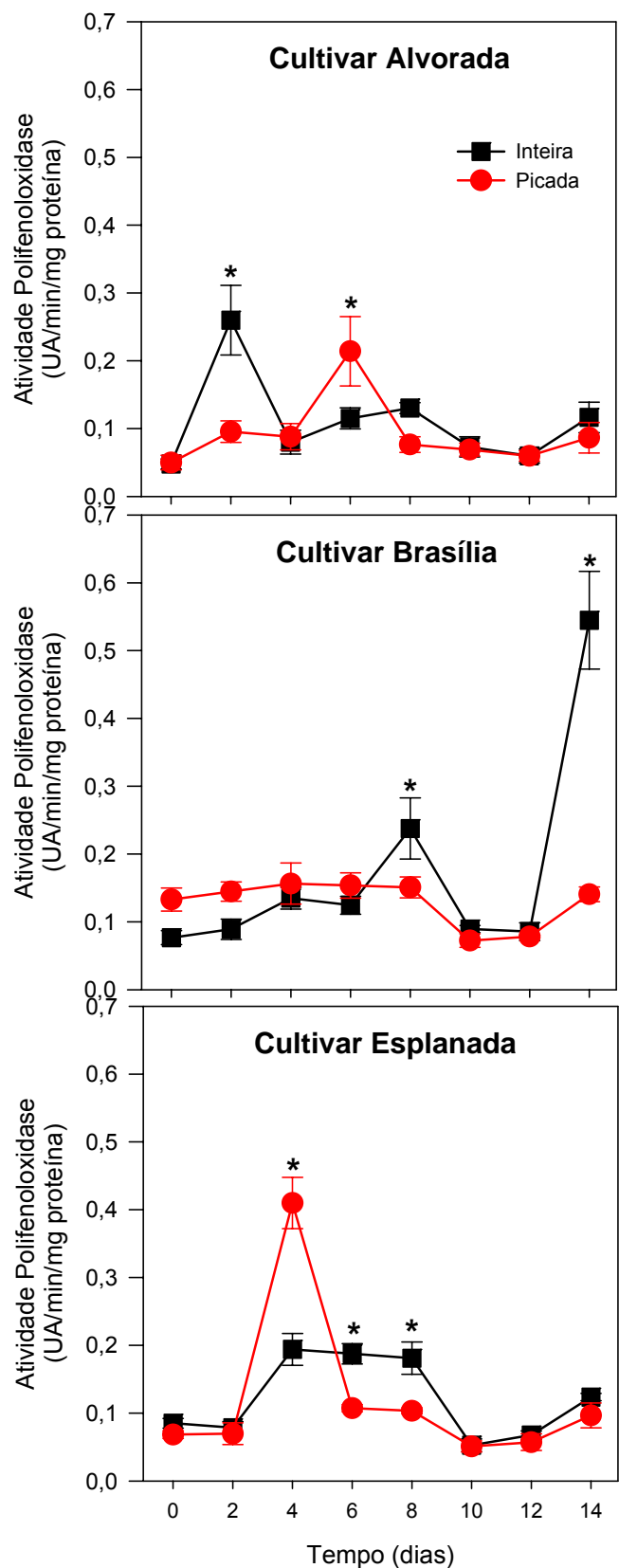


Figura 8: Atividade de polifenoloxidases (UA/min/mg proteína) em raízes inteiras e picadas das cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada armazenadas a 4°C durante 14 dias. Barras representam o erro padrão da média. Símbolo (*) indica diferença estatística entre os dois tipos de raízes em cada dia de armazenamento, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Diferenças na atividade de PPO foram encontradas por Aquino-Bolaños & Mercado-Silva (2004). Cilindros de *Pachyrizus erosus* armazenados a 20°C obtiveram maior atividade do que a 10°C e esse valor foi ainda maior quando os tecidos externos foram analisados. O tecido interno também teve atividade enzimática alta a 20°C, mas esse valor foi menor em relação ao tecido externo. Esses resultados indicam uma associação do dano mecânico com a atividade de PPO.

Analisando a interação cultivar combinado com tipo de raiz e tempo de armazenamento, verificou-se que houve diferença entre as cultivares, no momento do armazenamento, apenas nas raízes picadas (Tabela 13). Durante o armazenamento, os valores diferiram até o 8º dia, nos dois tipos de raízes, exceto no 14º dia, em que as raízes inteiras 'Brasília' foram superiores as demais cultivares.

Tabela 13: Atividade de polifenoloxidasas (UA/min/mg proteína) em três cultivares de cenouras para a respectiva combinação de tipo de raiz e tempo de armazenamento.

PPO (UA/min/mg de proteína)								
Cultivar	DIA 0		DIA 2		DIA 4		DIA 6	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	0,05 a	0,05 b	0,26 a	0,10 ab	0,08 b	0,09 b	0,12 b	0,21 a
Brasília	0,08 a	0,13 a	0,09 b	0,14 a	0,14 ab	0,16 b	0,12 ab	0,15 ab
Esplanada	0,09 a	0,07 ab	0,08 b	0,07 b	0,19 a	0,41 a	0,19 a	0,11 b
Cultivar	DIA 8		DIA 10		DIA 12		DIA 14	
	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada	Inteira	Picada
Alvorada	0,13 b	0,08 b	0,07 a	0,07 a	0,06 a	0,06 a	0,12 b	0,09 a
Brasília	0,24 a	0,15 a	0,09 a	0,07 a	0,09 a	0,08 a	0,54 a	0,14 a
Esplanada	0,18 ab	0,10 ab	0,05 a	0,05 a	0,07 a	0,06 a	0,12 b	0,10 a

Em cada dia, médias seguidas pela mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Ao realizar análise de regressão no tempo de armazenamento combinado com cultivar e tipo de raiz verificou-se que, nenhum modelo se ajustou para a atividade de PPO (Tabela 14). Observou-se que, as raízes inteiras 'Brasília', tiveram maior atividade que as demais cultivares.

Tabela 14: Valores médios para atividade de polifenoloxidasas (UA/min/mg de proteína) em função do tempo de armazenamento para as respectivas combinações de cultivar e tipo de raiz.

Cultivar	Tipo de raiz	PPO (UA/min/mg ptn)
Alvorada	Inteira	$\hat{Y} = 0,1104$
	Picada	$\hat{Y} = 0,0925$
Brasília	Inteira	$\hat{Y} = 0,1729$
	Picada	$Y = 0,1288$
Esplanada	Inteira	$\hat{Y} = 0,1213$
	Picada	$\hat{Y} = 0,1205$

O dano mecânico causa estresse físico, que danifica o tecido da planta e altera o metabolismo fenólico promovendo o escurecimento. Esse escurecimento tem sido atribuído à atividade de PPO agindo sobre os compostos fenólicos e causando a oxidação e polimerização, com consequente desenvolvimento de cor marrom (Aquino-Bolaños & Mercado-Silva, 2004; Hodges & Toivonen, 2008). Um resultado comum nos produtos minimamente processados é que a atividade total da PAL, POD e/ou PPO aumenta em resposta ao corte. Esta resposta tem sido relatada em batatas minimamente processadas (Cantos et al., 2002), cilindros de *Pachyrizus erosus* (Aquino-Bolaños et al., 2000) e em cenouras (Goldberg et al., 1985).

Nas condições em que há aumento desordenado na taxa respiratória, ocorrendo formação de espécies reativas de oxigênio, a enzima aumenta a atividade para reduzir os danos causados por essas espécies, removendo átomos de hidrogênio dos grupos álcoois, combinando-os com peróxido de hidrogênio para formar moléculas de água e, portanto, protegendo os tecidos (Salisbury & Ross, 1991).

A atividade de PPO, apesar de baixa, teve alguns picos tanto nas cenouras inteiras quanto nas picadas, mas a atividade da POD foi maior do que a da PPO nos dois tipos de raízes e nas três cultivares durante o armazenamento refrigerado. A alta atividade da POD pode ter ocorrido porque ela é considerada uma enzima de estresse, estimulada por baixas temperaturas, como determinado em mandioquinha-salsa (Menolli, 2006).

Outra forma das plantas se protegerem do dano mecânico é através da criação de uma barreira física para prevenção da destruição do tecido; por meio da síntese de polifenóis como lignina e suberina. A POD, que está

envolvida em vários processos metabólicos das plantas, também participa deste fenômeno, por meio da oxidação do cinamil álcool antes da sua polimerização durante a formação de lignina e suberina. Portanto, os resultados de alta atividade de POD, principalmente nas raízes picadas, podem ser explicados por esse mecanismo de proteção envolvendo a POD e a formação de polifenóis.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados encontrados no experimento conclui-se que:

- Houve efeito de cultivar, tipo de raiz e tempo de armazenamento sobre as análises de perda de massa da matéria fresca, metabolismo dos carboidratos e atividade das enzimas sucrolíticas e oxidativas;
- As três cultivares tiveram comportamentos distintos quanto à perda de massa da matéria fresca durante o armazenamento, sendo que as cenouras 'Alvorada' tiveram os menores valores;
- A cultivar Alvorada pode ser recomendada para o pré-processamento, pois a perda de massa nas raízes picadas não diferiu das inteiras durante o período de armazenamento;
- As raízes pré-processadas, nas três cultivares, tiveram aumento nos teores de AST ao longo do armazenamento;
- Os teores de amido, nas raízes picadas, aumentaram no início do armazenamento e reduziram no final, nas três cultivares;
- Nas cultivares Alvorada e Esplanada, os teores de AR, nas raízes em pedaços, aumentaram durante o armazenamento refrigerado;
- As raízes picadas 'Alvorada' obtiveram os maiores teores de AR em relação as demais cultivares;
- Os teores de ANR, nas raízes pré-processadas das cultivares Alvorada e Esplanada, diminuíram ao longo do período de armazenamento;
- As raízes em pedaços, nas três cultivares, obtiveram maior atividade de invertase ácida no 8º dia de armazenamento;
- Na cultivar Esplanada, a atividade de invertase ácida nas raízes picadas não diferiu das inteiras durante o armazenamento;
- A atividade da POD aumentou durante o armazenamento de raízes em pedaços nas cultivares Alvorada e Esplanada;

- Apesar dos baixos valores de atividade de PPO, as raízes picadas, nas três cultivares de cenoura, obtiveram aumento no início do armazenamento e redução no final;
- Nos dois tipos de raízes, os valores de atividade da PPO foram inferiores aos da POD durante o armazenamento, nas três cultivares.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUINO-BOLAÑOS, E. N.; CANTWELL, M. I.; PEISER, G.; MERCADO-SILVA, E. Changes in the quality of fresh-cut jicama in relation to storage temperatures and controlled atmospheres. **Journal of Food Science**, v.65, p.1238–1243, 2000.

AQUINO-BOLAÑOS, E. N.; MERCADO-SILVA, E. Effects of polyphenol oxidase and peroxidase activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama. **Postharvest Biology and Technology**, v.33, p.275-283, 2004.

ARAÚJO, S. A. Escurecimento enzimático em alimentos. **Boletim Técnico**. Universidade Federal de Viçosa. v.231, 14p., 1990.

BORCHERT, R. Time course and spatial distribution of phenylalanine ammonia-lyase and peroxidase activity in wounded potato tuber tissue. **Plant Physiology**, v. 62, p.789-793, 1978.

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

CANTOS, E.; TUDELA, J. A.; GIL, M. I.; ESPIN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh-cut potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3015–3023, 2002.

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, p.583-588, 2002.

CHAPPER, M.; BACARIN, M. A.; PEREIRA, A. S.; LOPES, N. F. Atividade amidolítica e de invertase ácida solúvel em tubérculos de batata armazenados sob duas condições de temperatura. **Horticultura Brasileira**, v.22, p.597-601, 2004.

COTTRELL, J. E.; DUFFUS, C. M.; PATERSON, L.; MACKAY, G. R.; ALLISON, M. J.; BAIN, H. The effect of storage temperature on reducing sugar concentration and the activities of three amylolytic enzymes in tubers of the cultivated potato, *Solanum tuberosum* L. **Potato Research**, v.36, p.107-117, 1993.

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

DE PAULA, L. B. **Atividade da redutase do nitrito e teores de nutrientes e de açúcares em variedades de cenoura fertilizadas com doses de nitrogênio**. Viçosa, MG: UFV. Tese de doutorado. 2003.

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 Hortaliças. **Cultivares**. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/produtos/cultivares/cultivares.htm>.

Acesso em 15 de janeiro de 2007.

FINGER, F. L.; VIEIRA, G. Controle da perda pós-colheita de água em produtos hortícolas. **Cadernos Didáticos**, 19, Editora UFV, 29p., 1997.

FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Culturas**

de tuberosas amiláceas latinoamericanas: Propriedades gerais do amido.

Fundação Cargil: São Paulo, v.3, 2002.

GOLDBERG, R.; LÊ, T.; CATESSON, A. M. Localization and properties of cell wall enzyme activities related to the final stages of lignin biosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v.36, p.503–510, 1985.

HANSEN, H.; WEICHMANN, J. Carbohydrates. In.: WEICHMANN, J. (Ed.). **Postharvest physiology of vegetables**. New York: Macel Dekker, Inc., p.469-474, 1987.

HODGES, D. A.; TOIVONEN, P. M. A. Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, p.155-162, 2008.

HUANG, Y. H.; PICHA, D. H.; KILILI, A. W.; JOHNSON, C. E. Changes in invertase activities and reducing sugar content in sweetpotato stored at different temperatures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.4927-4931, 1999.

ISHERWOOD, F. A. Starch-sugar interconversion in *Solanum tuberosum*. **Phytochemistry**, v.12, p.2579–2591, 1973.

KAYS, S. J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: Van Nostrand Reinhold, 532 p., 1991.

KLOTZ, K. L.; FINGER, F. L. Contribution of invertase and sucrose synthase isoforms to sucrose catabolism in developing sugarbeet roots. **Journal of Sugar Beet Research**, v.39, 23p., 2002.

KLOTZ, K. L.; FINGER, F. L. Impact of temperature, length of storage and postharvest disease on sucrose catabolism in sugarbeet. **Postharvest Biology and Technology**, v.34, p.1–9, 2004.

KLOTZ, K. L.; FINGER, F. L.; ANDERSON, M. D. Wounding increases glycolytic but not soluble sucrolytic activities in stored sugarbeet root. **Postharvest Biology and Technology**, v.41, p.48–55, 2006.

LUNN, J. E.; MaCRAE, E. New complexities in the synthesis of sucrose. **Current Opinion in Plant Biology**, v.6, p.208–214, 2003.

MARANGONI, A. G.; DUPLESSIS, P. M.; YADA, R. Y. Kinetic model for carbon partitioning in *Solanum tuberosum* tubers stored at 2°C and the mechanism for low temperature stress-induced accumulation of reducing sugars. **Biophysical Chemistry**, v.65, p.211-220, 1997.

MARTINEZ, J. A.; ARTÉZ, F. Effect of packaging treatments and vacuum-cooling on quality of winter harvest iceberg lettuce. **Food Research International**, v.32, p.621-627, 1999.

McCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVIERA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch and amylose in vegetables. **Journal of Analytical Chemistry**, v.22, p.1156-1158, 1950.

MENOLLI, L. **Atuação das enzimas oxidativas nas raízes de batata-baroa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) submetidas à injúria por frio**. Viçosa, MG: UFV. Dissertação. 2006.

NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biology Chemistry**, v.153, p.375-380, 1944.

NEVES, L. L. M. **Envolvimento de enzimas oxidativas no escurecimento do quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench]**. Viçosa, MG: UFV. Tese Doutorado. 2003.

PATHIRANA, R.; HARRIS, J. C.; MCKENZIE, M. J. A comparison of microtubers and field-grown tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.) for

hexoses, sucrose and their ratios following postharvest cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.49, p.180–184, 2008.

REYES, L. F.; VILLARREAL, J. E.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. **Food Chemistry**. v.101, p.1254–1262, 2007.

RIBEIRO, R. A. **Conservação pós-colheita e metabolismo de carboidratos em raízes de dois clones de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Brancroft)**. Viçosa, MG: UFV. Tese de Doutorado. 2003.

RICARDO, C. P. P.; SOVIA, D. Development of tuberous roots and sugar accumulation as related to invertase activity and mineral nutrition. **Planta**, v.118, p.43-55, 1974.

ROBINSON, J. E.; BROWNE, K. M.; BURTON, W. G. Storage characteristics of some vegetables and soft fruits. **Annals of Applied Biology**, v.81, p.399-408, 1975.

ROCHA, A. M. C. N.; MORAIS, A. M. M. B. Polyphenoloxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed 'Jonagored' apple. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 82, p.120-126, 2002.

ROSENKRANZ, H.; VOGEL, R.; GREINER, S.; RAUSCH, T. In wounded sugar beet (*Beta vulgaris* L.) tap-root, hexose accumulation correlates with the induction of a vacuolar invertase isoform. **Journal of Experimental Botany**, v.52, p.2381–2385, 2001.

SALYSBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant Physiology**. Wadsworth, Inc. California, 682p., 1991.

SHIBAIRO, S. I.; UPADHYAYA, M. K.; TOIVONEN, P. M. A. Postharvest moisture loss characteristics of carrot (*Daucus carota* L.) cultivars during short-term storage. **Scientia Horticulturae**, v.71, p.1-12, 1997.

SHIBAIRO, S. I.; UPADHYAYA, M. K.; TOIVONEN, P. M. A. Changes in water potential, osmotic potential, and tissue electrolyte leakage during mass loss in carrot stored under different conditions. **Scientia Horticulturae**, v.95, p.13-21, 2002.

SHIH-YUNG, H.; KAO, C. H. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, v.38, p.83-90, 2003.

SÖDERHÄLL, I. Properties of carrot polyphenoloxidase. **Phytochemistry**, v.39, p.33-38, 1995.

STODOLAK, B.; LEJA, M.; MARECZEK, A. Some aspects of metabolism of phenolics in carrot root slices. **Food, Agriculture & Environment**, v.1, p.88-94. 2003.

STURM, A. Invertases. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. **Plant Physiology**, v.121, p.1-7, 1999.

SUOJALA, T. Variation in sugar content and composition of carrot storage roots at harvest and during storage. **Scientia Horticulturae**, v.85, p.1-19, 2000.

THIPYAPONG, P.; HUNT, M. D.; STEFFENS, J. C. Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenol oxidase. **Phytochemistry**, v.40, p.673-676, 1995.

VACCARI, G.; MARZOLA, M.G.; MANTOVANI, G. Chemical and enzymatic changes in strongly damaged beets. **Food Chemistry**, v.27, p.203–211, 1988.

WILLS, R.; MCGLASSON, B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. **Postharvest. An introduction to the physiology & handling of fruit, vegetables & ornamentals**. 4thed., CAB International, Wallingford. 262 p. 1998.

CAPÍTULO II – METABOLISMO DE FENÓIS E ATIVIDADE DE ENZIMAS OXIDATIVAS EM CENOURAS ARMAZENADAS SOB REFRIGERAÇÃO NA LUZ OU NO ESCURO

RESUMO

A cenoura é encontrada em diferentes formas de processamento no mercado, como por exemplo, ralada, em cubos, em rodela, em palitos e, mais recentemente, na forma de minicenouras. Por se tratar de um produto ferido, principalmente, pelo corte a vida de prateleira é reduzida em relação ao produto não processado. Portanto, os objetivos foram verificar o comportamento dos carotenóides, fenóis e enzimas oxidativas durante o armazenamento refrigerado, na luz ou no escuro, de duas cultivares de cenoura, na forma de Cenouretes® e raízes inteiras. Cenouras das cultivares Esplanada e Sugarsnax 54 foram colhidas, lavadas e selecionadas; metade das raízes foi processada em Cenourete® e a outra metade mantida inteira. Em seguida, as raízes foram embaladas em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade e armazenadas a 5°C por 17 dias, metade na condição de luz e metade no escuro. Nos dias 2, 5, 8, 11, 14 e 17 após o processamento foram realizadas as análises de carotenóides, compostos fenólicos, peroxidase e polifenoloxidase. Não houve diferença nos valores de cada atributo analisado entre as condições de armazenamento, luz ou escuro, nas duas cultivares e nos dois tipos de raízes. Os teores de carotenóides totais diminuíram durante o armazenamento das raízes inteiras e Cenouretes®, na cultivar Sugarsnax 54, ao contrário das cenouras 'Esplanada' que permaneceram estáveis. Houve redução, durante o armazenamento, nos teores de compostos fenólicos nas cenouras inteiras 'Esplanada' e nas Cenouretes® 'Esplanada' e 'Sugarsnax 54'. As raízes inteiras e Cenouretes® da cultivar Esplanada obtiveram atividade máxima de peroxidase no quinto dia de armazenamento, enquanto que os dois

tipos de cenouras 'Sugarsnax 54' tiveram queda na atividade durante o armazenamento. O valor máximo de atividade de polifenoloxidase (PPO), foi no mesmo dia da peroxidase, nas cenouras inteiras e processadas da 'Esplanada' e nas raízes inteiras da 'Sugarsnax 54' armazenadas no escuro. Enquanto que, nas cenouras inteiras armazenadas na luz e nas minicenouras da cultivar Sugasnax 54, houve diminuição da atividade de polifenoloxidase durante os dias de armazenamento. As Cenouretes® 'Sugarsnax 54' obtiveram a menor atividade de PPO e peroxidase em relação às demais cenouras. Pode-se concluir que não houve diferença entre as condições de armazenamento luz ou escuro, mas entre as cultivares e entre os tipos de raízes foram observadas diferenças durante os 17 dias de armazenamento.

1. INTRODUÇÃO

Por questões de custo, comodidade e higiene, as empresas que trabalham com alimentação estão aumentando a utilização de vegetais minimamente processados. Por outro lado, no ambiente doméstico, os produtos vegetais prontos para o consumo tem se tornado cada vez mais populares, devido à conveniência e aos benefícios de um produto seguro. Por definição, produto minimamente processado é qualquer fruto ou hortaliça, ou combinação de ambos, que tenha sido fisicamente alterado, porém permanecendo em seu estado *in natura*. O processamento mínimo é, então, a transformação *in natura* de partes vegetais, que sofrem algumas operações de processamento (Silva et al., 2005).

A cenoura, como produto minimamente processado, é encontrada em diferentes formas no mercado: ralada, em cubos, em rodela, em palitos e na forma de minicenouras (Lana, 2000). Para o processamento de minicenouras, o fluxograma segue as etapas de seleção e lavagem, corte, polimento e acabamento, lavagem e sanificação, enxágue final, centrifugação, secagem, acondicionamento e armazenamento refrigerado (Lana et al., 2001). As minicenouras surgiram no mercado nacional importadas dos Estados Unidos a partir de 1997. Embora todas as cultivares de cenoura se adaptem ao processamento, aquelas que possuem raízes cilíndricas são as que resultam em menores perdas durante o processamento (Lana, 2000; EMBRAPA, 2003).

A cultivar de polinização aberta denominada 'Esplanada', desenvolvida pela EMBRAPA Hortaliças, apresenta adaptação às condições edafoclimáticas brasileiras e características de raiz adequada para fins de processamento. Esta cultivar apresenta excelente qualidade, com coloração interna de raiz mais uniforme e menor incidência de ombro verde em relação às cultivares atualmente plantada no verão. Além disso, as raízes são longas (comprimento >20 cm) e finas (diâmetro <3 cm) aos 90 dias após a semeadura, o que garante maior rendimento industrial na produção de Cenourete® (Vieira et al., 2005). A

variedade Sugarsnax 54 é uma cultivar híbrida importada do tipo Imperator, com crescimento relativamente rápido, de formato cilíndrico, cultivada no Sul e Norte da Europa (Nunhems, 2009). As raízes de cor laranja brilhante possuem alto teor de carotenóides e são cultivadas para a produção de “baby carrot” e como cenouras inteiras. É considerada uma das cenouras mais doce do mercado (Mr. Fothergills, 2009).

Nos vegetais minimamente processados, por se tratar de produtos feridos pelo corte, a vida de prateleira é reduzida em relação ao produto não processado (Cantwell, 1992). As principais alterações decorrentes do processamento mínimo são perdas de integridade celular na superfície cortada, suberização da parede celular e degradação microbiológica dos tecidos. Além disso, pode ocorrer descompartimentalização de enzimas e de seus substratos, aumento na taxa respiratória e evolução do etileno, além de aumento nos teores de compostos fenólicos totais e na atividade de enzimas, fenilalanina amônia-liase, peroxidase, catalase e polifenoloxidase (Avena-Bustillos et al., 1993; Ahvenainen, 1996).

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário vegetal que possuem em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas, o que possibilita atuarem como agentes redutores (Melo et al., 2006). Uma das respostas da planta ao estresse são mudanças no metabolismo fenólico, visto que o dano mecânico promove a síntese de barreiras polifenólicas, como lignina e suberina (Stodolak et al., 2003). Outras respostas seriam a oxidação de compostos fenólicos pré-formados, a síntese de fenóis monoméricos e a produção de compostos fenólicos poliméricos. Algumas das conseqüências destes mecanismos são o escurecimento enzimático e a lignificação dos tecidos de produtos minimamente processados (Viña & Chaves, 2006).

Devido às operações de corte, um número grande de células sofre rompimento, causando a liberação de enzimas e de seus substratos, promovendo o aumento dos processos oxidativos catalizados por enzimas (Oms-Oliu et al., 2008). Como os níveis de fenóis são aumentados pelo ferimento, esses fenóis podem ser oxidados pela polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) à quinonas, que se polimerizam para produzir a aparência amarronzada (Hodges & Toivonen, 2008). A PPO é uma enzima que contém cobre e que cataliza duas reações, a hidroxilação de monofenóis para o-

difenóis e a oxidação de *o*-difenóis para *o*-quinonas. Essa enzima é amplamente distribuída em frutos e vegetais e sua ação leva ao escurecimento enzimático, sendo este fenômeno uma das principais perdas em alguns frutos e vegetais (Duangmal & Apenten, 1999). As peroxidases são oxirredutases que catalisam a oxidação de compostos fenólicos usando peróxido de hidrogênio ou peróxidos orgânicos como agente oxidante (Araujo et al., 2004). As peroxidases são enzimas importantes nas plantas e estão geralmente associadas ao processo de cicatrização de ferimentos. A ação dessas duas enzimas (POD e PPO) pode afetar a aparência do vegetal minimamente processado, como também o gosto e o valor nutricional, diminuindo a qualidade final do produto.

Os carotenóides representam um grupo de pigmentos solúveis em lipídios, que são responsáveis pela coloração de algumas flores, frutos, crustáceos, peixes e pássaros. Juntamente com as clorofilas, estão entre os pigmentos naturais mais importantes e são encontrados em todos os organismos fotossintéticos, bactérias, algas e fungos (Rodriguez-Amaya, 1989; Almeida-Muradian, 1991). Diversos fatores influenciam a composição dos carotenóides em alimentos, como o estágio de desenvolvimento das plantas, diferenças entre cultivares e variedades, efeitos geográficos e climáticos, tipo de cultivo, agroquímicos, mudanças no processamento e na estocagem (Rodriguez-Amaya, 1993a). A principal causa da degradação dos carotenóides é a oxidação que envolve o processo de formação de radicais livres. A reação inicia com o ataque do oxigênio ao anel do pigmento (Rodriguez-Amaya, 1993b).

Como visto acima, o processamento mínimo provoca muitas alterações no produto. Uma prática muito usada para reduzir essas modificações e aumentar a vida útil do produto é o armazenamento refrigerado. A exposição a baixas temperaturas depois da colheita minimiza e/ou inibe os efeitos do estresse pelo fermento, sendo considerado como um dos principais fatores que controla a qualidade dos vegetais minimamente processados (Hodges e Toivonen, 2008). Como nos vegetais não-cortados, muitas vezes a temperatura um pouco acima daquela que causa injúria por frio, fornece ótimos benefícios de qualidade. Segundo esses mesmos autores, embora 0°C seja normalmente a temperatura desejada para a maioria dos produtos minimamente

processados, na realidade muitos deles são armazenados e comercializados a temperaturas que variam entre 5 a 10°C.

O efeito da interrupção da cadeia de frio sobre o comportamento fisiológico nos produtos minimamente processados tem sido estudado por muitos autores. No entanto, poucos trabalhos são encontrados na bibliografia estudando a influência da exposição à luz em vegetais minimamente processados, durante o armazenamento refrigerado (Olarte et al., 2009). A luz é muito importante para os vegetais porque está envolvida nas reações luminosas da fotossíntese, na síntese e degradação de pigmentos, na germinação, no florescimento entre outras funções fisiológicas (Taiz & Zeiger, 2004). Muitos fatores pós-colheita afetam o grau de mudanças na pigmentação após a colheita, sendo os mais importantes luz e temperatura. A luz é essencial para a síntese de clorofila e sua presença atrasa a perda destes pigmentos em folhas destacadas. Também estimula a síntese de antocianina e licopeno em alguns produtos, no entanto, não ocorre com β -caroteno em frutos de tomate (Kays, 1991). A degradação de carotenóides se dá pela oxidação da molécula por meio de sistemas enzimáticos, a qual é estimulada pela disponibilidade de oxigênio, luz e alguns metais. Além dos carotenóides, a síntese de fenóis também é afetada pela luz, temperatura, carboidratos celulares, minerais e status hídrico (Kays, 1991).

O objetivo deste trabalho foi verificar os teores de carotenóides e de compostos fenólicos e a atividade de enzimas oxidativas durante o armazenamento refrigerado, na luz ou no escuro, de Cenouretes® e raízes inteiras, em duas cultivares de cenoura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Cenouras das cultivares Esplanada e Sugarsnax 54 foram semeadas em área de pesquisa da EMBRAPA Hortaliças, na cidade de Brasília-DF, em abril de 2007 e as raízes foram colhidas 90 dias após a semeadura. Os tratamentos culturais realizados, adubação do solo e controle de plantas daninhas, foram de acordo com as recomendações para a cultura (EMBRAPA, 2007).

Após a colheita, as raízes foram lavadas e transportadas para o Laboratório de Pós-Colheita da Embrapa Hortaliças. No dia seguinte, metade das raízes foi processada em Cenourete® (Lana et al., 2007) e a outra metade foi deixada inteira. Para o processamento, as raízes foram cortadas usando Cortadora Universal e, posteriormente, contornadas na Processadora de Cenourete e Catetinho - PCE (Silva et al., 2006).

As Cenouretes® e raízes inteiras foram sanitizadas com 0,66% de dicloroisocianurato de sódio dihidratado (3% de cloro ativo). Em seguida, as cenouras foram acondicionadas em embalagens de polietileno de baixa densidade com 20 µm de espessura, contendo 7 raízes inteiras ou, aproximadamente, 250 g de Cenourete®. Cada embalagem representou uma unidade experimental. Cuidadosamente as embalagens foram fechadas de modo que o espaço vazio fosse proporcionalmente o mesmo em ambos os tipos de raízes: inteiras e processadas. As raízes foram armazenadas a 5°C por um período de 17 dias, nas condições de luz ou escuro. A sala de armazenamento foi dividida em duas partes com uma cortina preta, de modo que metade da sala ficasse sob escuro e a outra fosse iluminada por 4 lâmpadas fluorescentes.

Amostras de raízes, para as avaliações de laboratório, foram retiradas nos dias 2, 5, 8, 11, 14 e 17 após o armazenamento. Para a obtenção das amostras, foi removido o ombro das raízes e tomada uma quantidade igual de fatias transversais de Cenouretes®/raízes inteiras de cada replicata, para obter aproximadamente 20 g de matéria fresca. Depois disso, o tecido de cenoura foi

imediatamente congelado em nitrogênio líquido, armazenado a -20°C e, posteriormente, liofilizado para a realização das análises.

Depois que as amostras foram liofilizadas na Embrapa Hortaliças em Brasília, elas foram enviadas ao Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, para a execução das análises descritas abaixo.

O desenho experimental seguiu o modelo inteiramente casualizado com 5 repetições. Os resultados obtidos foram interpretados descritivamente avaliando cada característica: cultivares, raízes inteiras ou processadas, armazenamento no escuro ou à luz, ao longo dos dias de armazenamento refrigerado.

2.1 Teores de carotenóides totais

A extração dos carotenóides totais seguiu a metodologia de Pereira (2002), com algumas modificações. Aproximadamente 0,125 g de material vegetal liofilizado foram colocados em frascos de vidro envoltos por papel alumínio e adicionado 10 mL de acetona resfriada. Esse material foi armazenado em freezer, por uma semana. Após esse período, a extração foi efetuada triturando-se o material com auxílio de politron (Ultra Turrax); em seguida, o homogenato foi filtrado em papel filtro de filtragem rápida. Para a filtragem foi usada acetona resfriada e este procedimento foi repetido até que todo o resíduo vegetal se tornasse incolor. Após a descoloração do resíduo, o balão volumétrico que continha o filtrado foi completado para 50 mL com acetona resfriada. Em seguida, o filtrado contendo os pigmentos foi transferido, em pequenas porções, para o funil de separação contendo éter de petróleo. Cada fração foi lavada com água destilada para retirar toda a acetona. Após a retirada de acetona, o volume final de éter de petróleo foi anotado e a porção contendo os pigmentos foi colocada em frascos envoltos por papel alumínio para determinação posterior.

Para a determinação dos carotenóides totais, a metodologia de Pereira (2002) foi seguida, com algumas modificações. Após a extração dos pigmentos, as amostras foram lidas a 449 nm, em espectrofotômetro Shimatzu, modelo UV1601. O cálculo do teor de carotenóides totais foi efetuado utilizando-se a equação:

$$\mu\text{g/g} = \frac{\text{volume} \times \text{absorv\~{a}ncia} \times 10^4}{\text{peso da amostra} \times E^{1\%}_{1\text{cm}}}$$

O coeficiente de absorvidade molar ($E^{1\%}_{1\text{cm}}$) utilizado para o cálculo do teor de carotenóides totais foi igual a 2.592, segundo Rodriguez-Amaya (1989). Os resultados finais foram expressos em microgramas de carotenóides totais por grama de matéria seca.

2.2 Teores de compostos fenólicos solúveis

A determinação de compostos fenólicos solúveis foi feita de acordo com o método de Prince & Butler (1977). Para a extração, aproximadamente 0,5 g de raízes liofilizadas foram homogeneizadas em Politron, em 10 mL de metanol e, em seguida, o homogenato foi centrifugado, em microcentrífuga, a 14.000 g durante 15 minutos.

Para a determinação dos compostos fenólicos solúveis, foi coletado 0,5 mL do sobrenadante e adicionada em frascos de vidro contendo 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (diluído 1:3) e 2 mL de carbonato de sódio anidro 10%, deixando reagir por uma hora. Após esse tempo, como a solução ficou turva, foi necessário centrifugar por 5 min a 14.000 g. Em sequência, a solução foi levada ao espectrofotômetro Shimatzu, modelo UV1601, para leitura da absorvância no comprimento de onda 700 nm. Os resultados foram comparados à curva de calibração, tendo como padrão D-catequina, e expressos em μg de D-catequina por grama de matéria seca.

2.3. Atividade de peroxidases (POD)

Os procedimentos de extração e atividade de POD seguiram a metodologia descrita por Neves (2003), com algumas modificações. Para o procedimento de extração da enzima, foram pesados 0,5 g de material vegetal liofilizado, homogeneizados em politron com tampão de extração contendo tampão fosfato a 0,1 M pH 6,5, bissulfito de sódio a 0,1% e cloreto de sódio a 0,15 M. Logo em seguida o homogenato foi centrifugado, em microcentrífuga, a 13.000 g por 30 min à temperatura de 4°C. Em todo o período de extração enzimática, reagentes, vidrarias e equipamentos de laboratório foram mantidos 4°C.

Para a determinação da atividade de POD, foram misturados 500 µL de guaiacol 1,7%, 1500 µL de tampão fosfato 0,1 M pH 6,0, 500 µL de H₂O₂ 1,8%, em média 200 µL de água deionizada e, em média, 300 µL do extrato enzimático a 4°C e, por último, realizada agitação manual. A reação foi rapidamente acompanhada em espectrofotômetro Shimatzu, modelo UV1601, pela variação de absorvância no comprimento de onda igual a 470 nm, durante 2,5 min a 25°C.

A atividade enzimática foi expressa em unidades de absorvância/min/mg de proteína, sendo que a análise de proteínas seguiu a metodologia descrita por Bradford (1976), usando soro albumina bovina como padrão.

2.4. Atividade de polifenoloxidasas (PPO)

Para a extração da enzima foi utilizada a metodologia descrita por Thipyapong et al. (1995) com algumas adaptações. Aproximadamente 0,5 g de material vegetal liofilizado foram homogeneizados em politron, com 7 mL de tampão de extração contendo Tris-HCl 100 mM a pH 7,0, KCl 100 mM, PMFS 1 mM e Triton X-100 1% e, no momento da homogeneização, foi adicionado ao tubo PVPP 1%. O material foi filtrado em gaze logo após a homogeneização e, em seguida, centrifugado em microcentrífuga a 13.000 g, por 30 min a 4°C. Todos os reagentes, vidrarias e procedimentos usados na extração enzimática foram mantidos a 4°C.

Para a atividade de PPO a 25°C, a metodologia descrita por Söderhäll (1995) foi seguida, com algumas adaptações. Foram adicionados 500 µL de Tris-HCl 0,1 M a pH 8,0, 30 µL de CaCl₂ 6 mM, 100 µL de catecol 50 mM e 370 µL do extrato enzimático a 4°C. Foi realizada a mistura dos reagentes com suave agitação manual. A leitura da variação de absorvância foi realizada rapidamente no espectrofotômetro Shimatzu, modelo UV1601, em comprimento de onda igual a 490 nm, durante 2,5 min.

A atividade de PPO foi expressa em unidades de absorvância/min/mg de proteína. A análise de proteínas seguiu a metodologia descrita por Bradford (1976), usando soro albumina bovina como padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Teores de carotenóides totais

Os teores de carotenóides nas raízes inteiras, cultivar Esplanada, foram similares durante o armazenamento refrigerado, nas duas condições de armazenamento, luz e escuro (Figura 1A). No dia 2, as raízes inteiras obtiveram valores próximos, 325 e 369 $\mu\text{g/g}$ de carotenóides na matéria seca (MS), respectivamente, no armazenamento à luz e no escuro. No restante dos dias, houveram pequenos aumentos e reduções nos valores de carotenóides, nos dois tipos de armazenamento. No 17º dia, as raízes inteiras tiveram o mesmo conteúdo de carotenóides, 440 e 447 $\mu\text{g/g}$ MS no armazenamento à luz e no escuro, respectivamente.

As Cenouretes® ‘Esplanada’ armazenadas na luz e no escuro obtiveram teores de carotenóides diferentes das raízes inteiras (Figura 1B). No início do armazenamento, os teores foram diferentes entre as duas condições de armazenamento, em que as Cenouretes® armazenadas na luz tiveram 175 $\mu\text{g/g}$ MS e as armazenadas no escuro 370 $\mu\text{g/g}$ MS. Ou seja, o teor de carotenóide nas cenouras armazenadas no escuro equivaleu a 2,1 vezes o valor de carotenóides das armazenadas na luz. No 5º dia, as Cenouretes® alcançaram o teor máximo, 388 e 504 $\mu\text{g/g}$ MS, respectivamente, armazenamento à luz e no escuro. A partir do 8º dia, os valores de carotenóides, entre as condições de armazenamento, ficaram mais semelhantes.

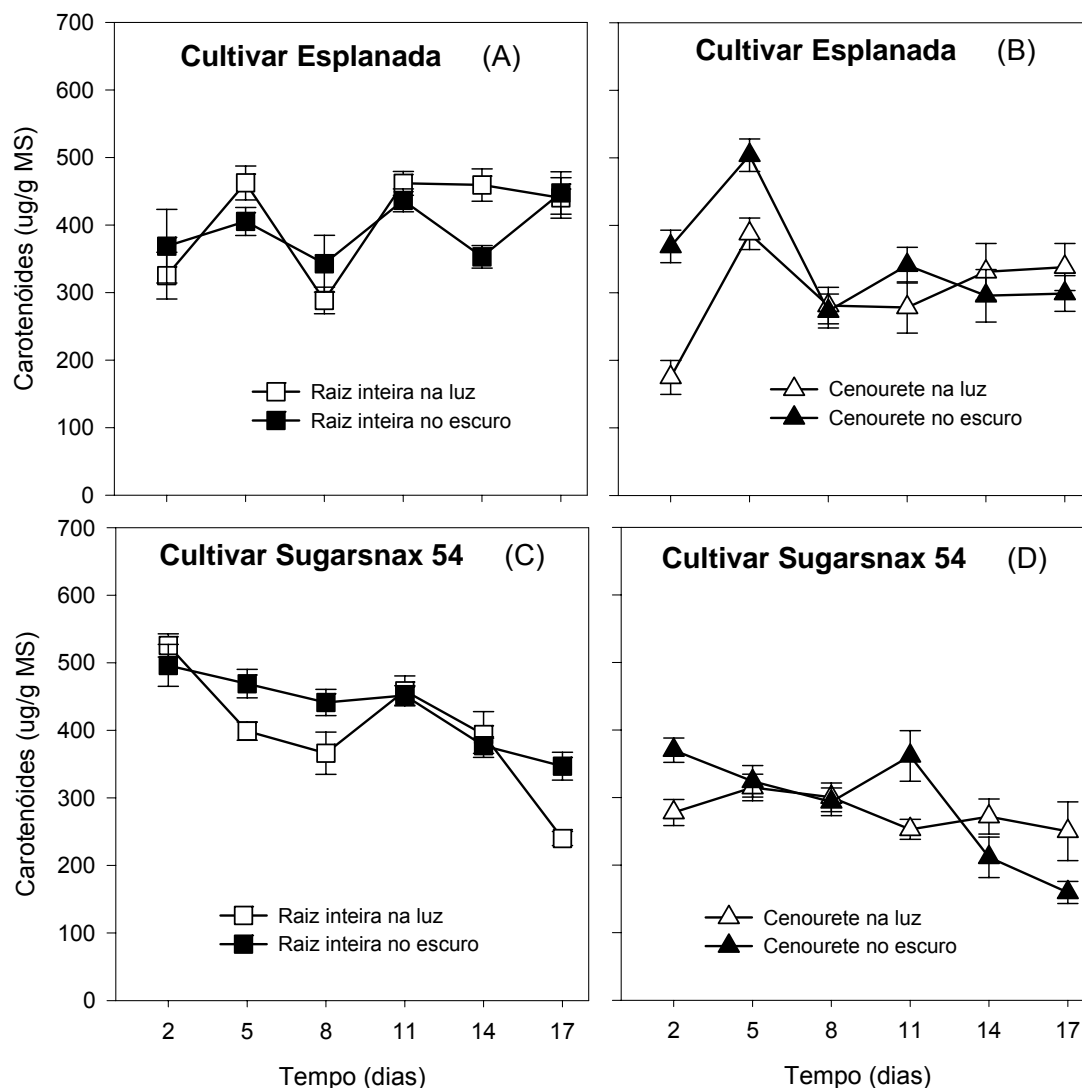


Figura 1: Teores de carotenóides totais ($\mu\text{g/g MS}$) na cultivar Esplanada, raízes inteiras (A) e Cenouretes[®] (B), e na cultivar Sugarsnax 54, raízes inteiras (C) e Cenouretes[®] (D), durante o armazenamento a 5°C na luz ou escuro, por 17 dias. Barras representam o erro padrão da média.

As raízes inteiras e as Cenouretes[®] na cultivar Sugarsnax 54 obtiveram valores de carotenóides distintos da cultivar Esplanada, nas duas condições de armazenamento (Figuras 1C e 1D). Nas raízes inteiras 'Sugarsnax 54', os teores de carotenóides, no 2^o dia, foram iguais a 526 e 496 $\mu\text{g/g MS}$, respectivamente, raízes armazenadas sob luz e escuro (Figura 1C). Esses dois valores são muito próximos, indicando que nesse dia os carotenóides não variaram em função das condições de armazenamento. No restante dos dias, houve redução no teor de carotenóides nas raízes armazenadas tanto na luz quanto no escuro. No 17^o dia, as raízes armazenadas na luz tinham 240 $\mu\text{g/g MS}$ enquanto que as armazenadas no escuro 347 $\mu\text{g/g MS}$. As raízes

armazenadas na luz tiveram redução de 54% ao final do armazenamento, e as armazenadas no escuro a redução foi igual a 30%.

No 2° dia, as Cenouretes® ‘Sugarsnax’ obtiveram valores inferiores aos das raízes inteiras, 278 e 370 µg/g MS, respectivamente, armazenamento na luz e no escuro (Figura 1D). Nesse dia, os teores de carotenóides nas cenouras armazenadas no escuro foi 33% maior do que naquelas armazenadas na luz. Os valores de carotenóides nas Cenouretes®, armazenadas na luz, não variaram durante o armazenamento, alcançando no 17° dia 250 µg/g MS. Essa redução, nas Cenouretes® armazenadas na condição de luz, equivaleu a 10% do teor inicial de carotenóides. Enquanto que nas Cenouretes® armazenadas no escuro, os teores de carotenóides reduziram até o final do armazenamento, alcançando no 17° dia 160 µg/g MS. Ou seja, os teores de carotenóides reduziram 57% do 2° dia até final do armazenamento.

Há escassez de trabalhos com vegetais armazenados sob refrigeração na luz e no escuro. Noichinda et al. (2007), ao trabalharem com folhas de couve chinesa, acondicionadas em embalagens de polietileno, e armazenadas a 1°C sob luz ou escuro, encontraram resultados diferentes dos aqui observados. O conteúdo de carotenóides aumentou gradualmente durante o armazenamento, tanto na luz quanto no escuro, apesar do aumento ser superior nas folhas de couve chinesa armazenadas sob luz. Segundo esses autores, a luz pode ter efeito sobre a biossíntese e degradação de carotenóides. De acordo com Stoll & Weichmann (1987), o aumento no teor de carotenóides, durante o armazenamento, pode ser explicado como o efeito da concentração, devido à perda de massa das raízes.

Uma série de fatores afeta a taxa de perda de carotenóides, como o tipo específico do pigmento, temperatura de armazenamento, nível de umidade do produto, tipo de produto e tratamentos de pré-armazenamento (Kays, 1991). As diferenças nos teores de carotenóides observadas neste experimento podem ser devido as características de cada cultivar, onde provavelmente a ‘Sugarsnax’ é mais suscetível à perda de carotenóides do que a ‘Esplanada’. Além disso, as etapas do processamento mínimo, antes do armazenamento, também podem ser responsáveis pelos resultados diferentes entre as raízes processadas e não processadas, como observado na Figura 1.

3.2. Teores de compostos fenólicos

As cenouras processadas e não processadas, na cultivar Esplanada, obtiveram teores de compostos fenólicos similares durante o armazenamento, tanto na luz quanto no escuro (Figuras 2A e 2B). As raízes inteiras iniciaram o armazenamento com teores de 94 e 92 μg D-catequina/g MS, respectivamente, na luz e no escuro (Figura 2A). As cenouras tiveram queda nos valores de fenóis até o 8º dia, com redução de 39% e 45% no armazenamento na luz e no escuro, respectivamente. Os valores estabilizaram após o 8º dia e, no 17º dia, as raízes inteiras armazenadas na luz obtiveram 51 μg D-catequina/g MS e as no escuro 57 μg D-catequina/g MS. Do início até o final do armazenamento, os teores de compostos fenólicos reduziram 46% nas raízes armazenadas à luz e 38% nas armazenadas no escuro.

Os teores de compostos fenólicos diminuíram durante o armazenamento nas Cenouretes® da cultivar Esplanada, nas condições luz e escuro, com valores muito próximos (Figuras 2B). As Cenouretes® iniciaram o armazenamento com altos teores de fenóis, 104 e 119 μg D-catequina/g MS, no armazenamento na luz e no escuro, respectivamente. Houve redução nos teores de fenóis, no 11º dia as Cenouretes® armazenadas na luz tiveram 53% de redução enquanto que, as minicenouras armazenadas no escuro reduziram 59% até o 8º dia. A partir do 11º dia, os teores de fenóis estabilizaram nas duas condições de armazenamento.

Os teores de compostos fenólicos nas raízes inteiras, cultivar Sugarsnax 54, não variaram durante o armazenamento refrigerado (Figura 2C). As duas condições de armazenamento obtiveram valores parecidos em todos os dias de armazenamento. No 2º dia, as raízes tinham 44 e 45 μg D-catequina/g MS no armazenamento na luz e no escuro, respectivamente. Até o 11º dia, houve pouca variação nos teores de fenóis, nas duas condições de armazenamento. Apenas no 14º dia os teores de fenóis tiveram aumento, sendo 51% nas raízes armazenadas na luz e 79% nas armazenadas no escuro, em relação ao 11º dia.

As Cenouretes® 'Sugarsnax 54' tiveram redução nos teores de fenóis durante o armazenamento, com valores muito próximos entre as raízes na luz e no escuro (Figura 2D). As duas condições, luz e escuro, iniciaram o armazenamento com valores de 92 μg D-catequina/g MS para a primeira e 65 μg D-catequina/g MS para a segunda. Em seguida, os teores de fenóis

reduziram até o 11º dia, 58% e 42% nas Cenouretes® armazenadas na luz e escuro, respectivamente. No final do armazenamento, os teores voltaram a aumentar, mas ficaram abaixo do valor inicial.

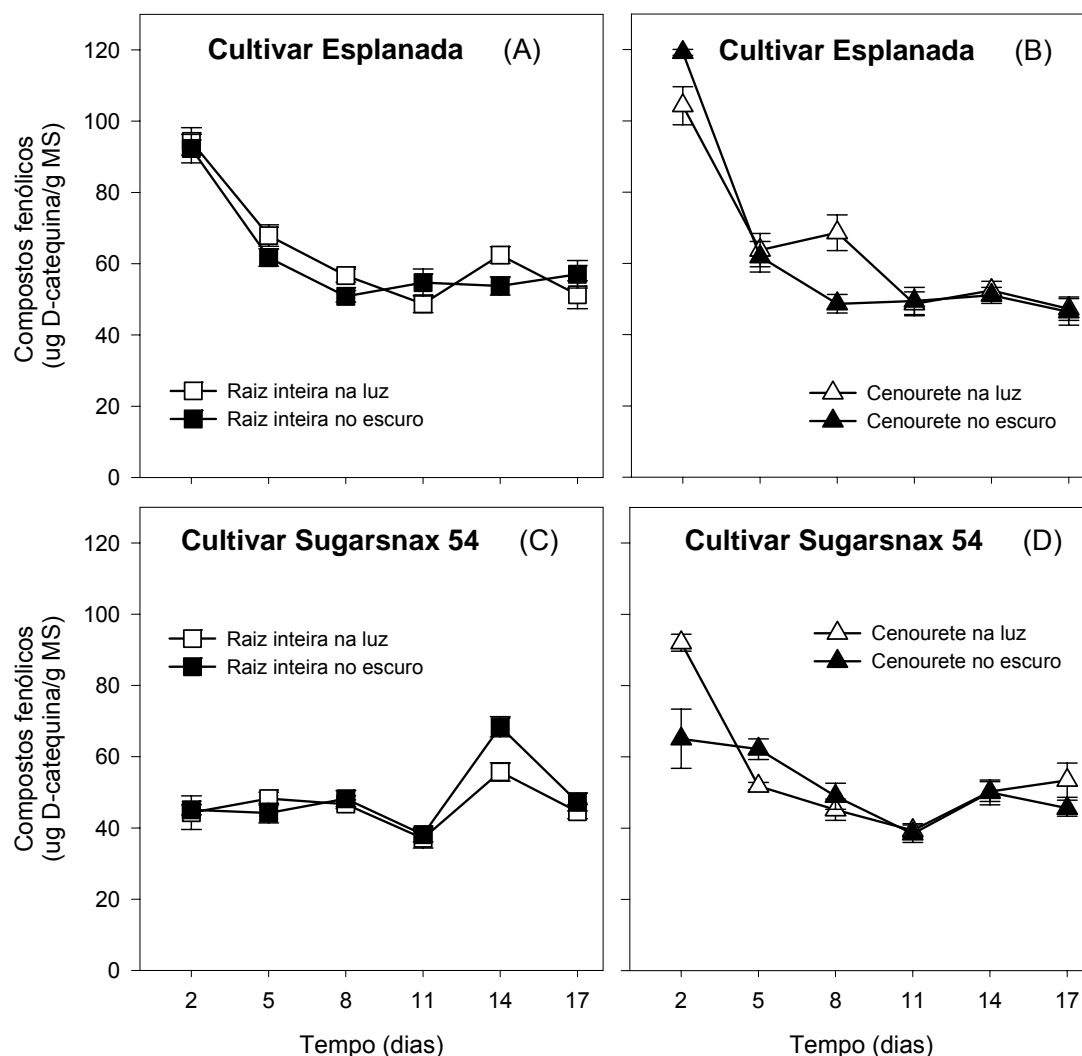


Figura 2: Teores de compostos fenólicos (μg de D-catequina/g MS) na cultivar Esplanada, raízes inteiras (A) e Cenouretes® (B), e na cultivar Sugarsnax 54, raízes inteiras (C) e Cenouretes® (D), durante o armazenamento a 5°C na luz ou escuro, por 17 dias. Barras representam o erro padrão da média.

Os fenóis representam um dos grupos mais abundantes dos compostos encontrados na natureza e são de interesse particular na fisiologia pós-colheita por causa de seu papel na cor e sabor dos vegetais (Kays, 1991). Segundo esse autor, os fenóis são suscetíveis à oxidação pelas fenolases, que convertem monofenóis à difenóis e subsequentemente à quinonas.

Resultados diferentes ao presente trabalho foram observados por Babic et al. (1993), que encontraram aumento no teor de fenóis durante o

armazenamento de cenouras minimamente processadas. Eles concluíram que esse comportamento foi uma resposta ao dano induzido pelo ferimento. Amanatidou et al. 2000, encontraram aumento de 8 vezes na concentração de fenóis totais em discos de cenoura armazenados em ar, por 12 dias a 8°C. Uma das causas dessa diferença nos teores de fenóis pode ser devido à diferença de temperatura de armazenamento; no presente trabalho foi usado 5°C enquanto que esses autores usaram 8°C.

Uma provável explicação para a redução dos compostos fenólicos neste experimento seria que, as raízes e Cenouretes® foram armazenadas em embalagens de polietileno. Essas embalagens criam uma atmosfera modificada, com altas concentrações de CO₂ e baixas de O₂, independente da difusão de gases da embalagem. Portanto, mesmo armazenadas sob refrigeração, as cenouras embaladas respiram e, conseqüentemente, acumulam CO₂. Babic et al. (1993), encontraram redução nos teores de compostos fenólicos quando cenouras raladas foram armazenadas em ambiente com 30% CO₂, na presença ou ausência de O₂.

3.3. Atividade de peroxidases (POD)

As raízes inteiras, na cultivar Esplanada, armazenadas na luz e no escuro, tiveram valores de atividade de POD semelhantes durante o armazenamento (Figura 3A). No início do armazenamento, os valores eram de 6 e 9 UA/min/mg de proteína, respectivamente, nas cenouras armazenadas na luz e no escuro. No 5º dia, as duas condições tiveram picos de atividade, aumentaram 433% e 189% na luz e no escuro, respectivamente, em relação ao 2º dia. Após o 8º dia, os valores reduziram, sendo que, no último dia, as raízes armazenadas na luz tinham 13 UA/min/mg de proteína e as armazenadas no escuro 16 UA/min/mg de proteína.

A atividade de POD nas Cenouretes® 'Esplanada', armazenadas sob luz e escuro, foi menor em relação às raízes inteiras, durante o armazenamento (Figuras 3A e 3B). No 2º dia, as Cenouretes® armazenadas na luz tinham 5 UA/min/mg de proteína enquanto que as armazenadas no escuro 10 UA/min/mg de proteína (Figura 3B). Apenas as Cenouretes® armazenadas na luz tiveram pico de atividade, 160% de aumento no 5º dia em relação ao início do armazenamento. A partir do 8º dia, a atividade enzimática estabilizou,

alcançando no último dia 9 UA/min/mg de proteína tanto na luz quanto no escuro.

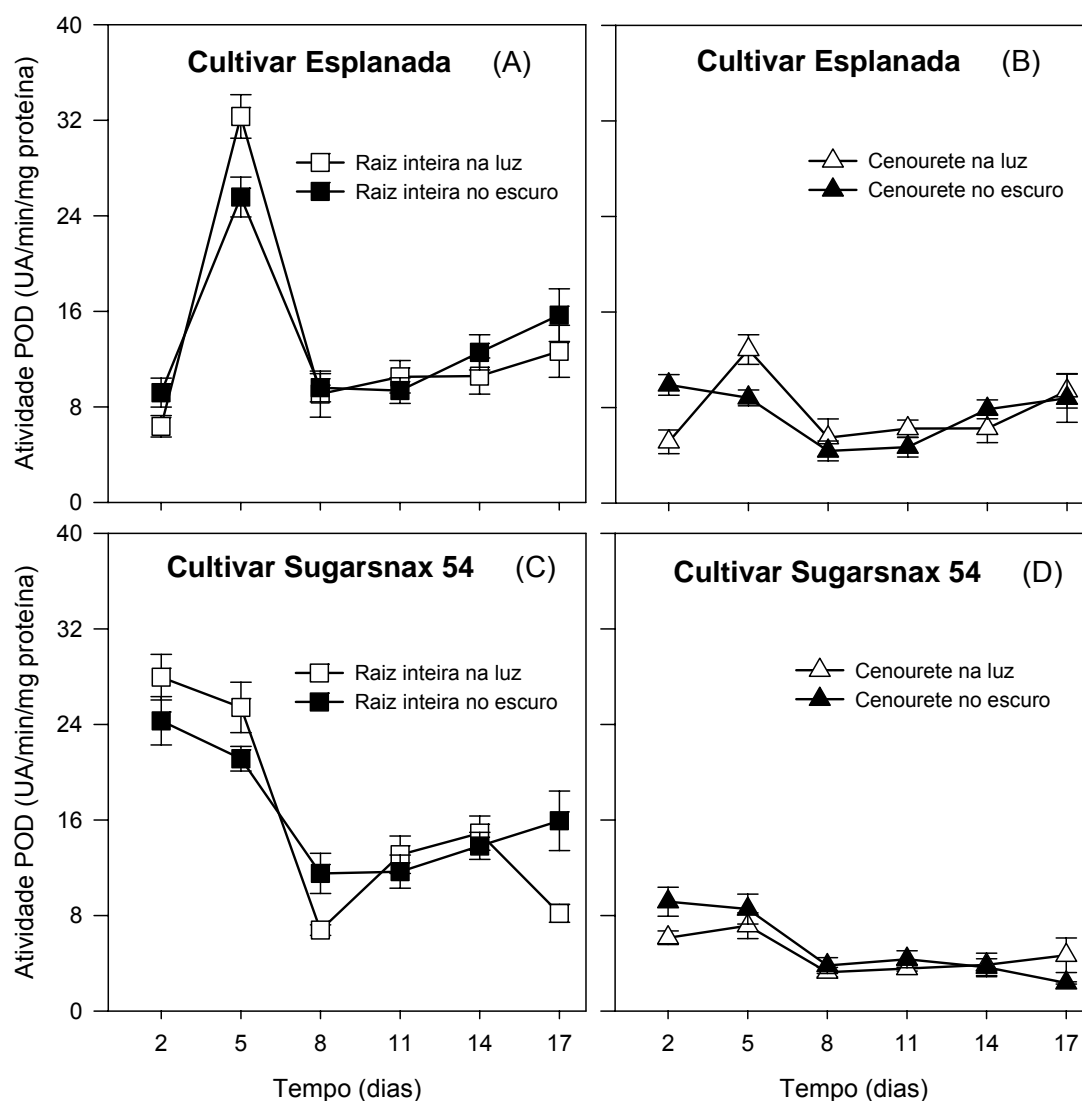


Figura 3: Atividade de peroxidases (UA/min/mg proteína) na cultivar Esplanada, raízes inteiras (A) e Cenouretes® (B), e na cultivar Sugarsnax 54, raízes inteiras (C) e Cenouretes® (D), durante o armazenamento a 5°C na luz ou escuro, por 17 dias. Barras representam o erro padrão da média.

Na cultivar Sugarsnax 54, as raízes inteiras armazenadas na luz e no escuro tiveram os valores de atividade de POD parecidos, durante o armazenamento (Figura 3C). As raízes iniciaram o armazenamento com alta atividade, 28 e 24 UA/min/mg de proteína, respectivamente, no armazenamento sob luz e escuro. Entretanto a atividade reduziu até o 8º dia, 75% e 50%, respectivamente, na condição de luz e escuro, em relação ao início do armazenamento. No final do armazenamento, a atividade foi igual a 8

UA/min/mg de proteína para as armazenadas na luz e de 16 UA/min/mg de proteína para aquelas no escuro.

Em relação às raízes inteiras, as Cenouretes® cultivar Sugarsnax 54 tiveram menores valores de atividade enzimática, em todos os dias de armazenamento (Figura 3D). Além disso, não houve variação entre os valores de Cenouretes® armazenadas sob luz ou escuro. No início do armazenamento, as Cenouretes® armazenadas na luz e no escuro tinham atividades de 6 e 9 UA/min/mg de proteína, respectivamente. As Cenouretes® armazenadas na luz tiveram redução de 50% na atividade até o 8º dia, enquanto que as armazenadas no escuro reduziram 56%, em relação ao valor inicial.

Analisando os 4 gráficos observa-se que, as cenouras inteiras 'Sugarsnax 54', armazenadas na luz e no escuro, iniciaram o armazenamento com maior atividade de POD (Figura 3C). Depois do 2º dia, a tendência nessa mesma cultivar foi redução na atividade até o final do armazenamento. As Cenouretes® 'Sugarsnax 54' obtiveram a menor atividade de POD em relação à outra cultivar, durante as duas condições de armazenamento (Figura 3D).

Resultados diferentes foram encontrados por Mattos et al. (2007), trabalhando com folhas de alface inteira e em tiras, acondicionadas em filmes de polipropileno e polietileno de baixa densidade, armazenadas a 5°C por 14 dias. Esses autores verificaram que, as folhas em tiras tiveram maior atividade de POD que as inteiras. No momento do armazenamento, a atividade da enzima era estatisticamente igual nas folhas inteiras quanto nas processadas; não foi observada diferença significativa entre os dois tipos de embalagem.

Uma provável explicação para a redução da atividade de POD foi o uso de embalagem de polietileno de baixa densidade, que promoveu a formação de atmosfera modificada devido à respiração do produto, principalmente nas Cenouretes®. Com a criação da atmosfera modificada, a concentração de O₂ é baixa e a de CO₂ é alta no interior da embalagem, podendo afetar a atividade de POD porque a ação desta enzima é estimulada pelo ambiente aeróbico. Além disso, baixos teores de compostos fenólicos foram observados, confirmando a baixa atividade de POD, já que esta enzima tem como uma das funções a oxidação de fenóis (Hodges & Toivonen, 2008).

3.4. Atividade de polifenoloxidase (PPO)

Os valores de atividade de PPO, nas duas condições de armazenamento das raízes inteiras 'Esplanada', foram muito próximos durante todos os dias (Figura 4A). As raízes iniciaram o armazenamento com atividade de 0,06 e 0,07 UA/min/mg de proteína, respectivamente, nas condições de luz e escuro. Ambas as condições alcançaram valores máximos no quinto dia, aumento de 150% e 71% nas cenouras sob luz e escuro, respectivamente, em relação à atividade do 2º dia. Após esse dia, houve redução na atividade, mas com valores próximos à atividade inicial.

Nas Cenouretes® 'Esplanada' os valores de atividade da PPO, entre as duas condições de armazenamento, foram mais distantes no início do armazenamento e se aproximaram no final (Figura 4B). No 2º dia, a atividade foi de 0,06 UA/min/mg de proteína nas Cenouretes® armazenadas na luz e 0,11 UA/min/mg de proteína nas armazenadas no escuro. Nesse dia, a atividade das cenouras armazenadas no escuro foi 83% maior em relação aquelas na luz. As Cenouretes®, nas duas condições, tiveram maior atividade no 5º dia, com valores de 0,12 UA/min/mg de proteína nas armazenadas na luz e 0,14 UA/min/mg de proteína no escuro. Após esse período, a atividade enzimática, na condição de luz, voltou a valores próximos aos iniciais e permaneceu assim até o último dia de armazenamento.

As raízes inteiras, na cultivar Sugarsnax 54, armazenadas na luz e no escuro, tiveram valores semelhantes na atividade de PPO durante o armazenamento (Figura 4C). No 5º dia, foi verificada maior atividade nas raízes armazenadas no escuro, com valor de 0,10 UA/min/mg de proteína, enquanto que na condição de luz o valor foi 50% menor. A partir do 8º dia, os valores diminuíram e estabilizaram próximo a 0,03 UA/min/mg de proteína, nas duas condições de armazenamento.

Os valores de atividade de PPO nas Cenouretes® 'Sugarsnax 54', tanto na condição de luz quanto no escuro, foram menores do que os encontrados nas raízes inteiras (Figura 4D). Houve pouca variação nos valores de PPO durante o armazenamento das Cenouretes®, iniciaram com atividade de 0,03 e 0,04 UA/min/mg de proteína, respectivamente, para o armazenamento na luz e no escuro, e terminaram com 0,02 UA/min/mg de proteína nas duas condições.

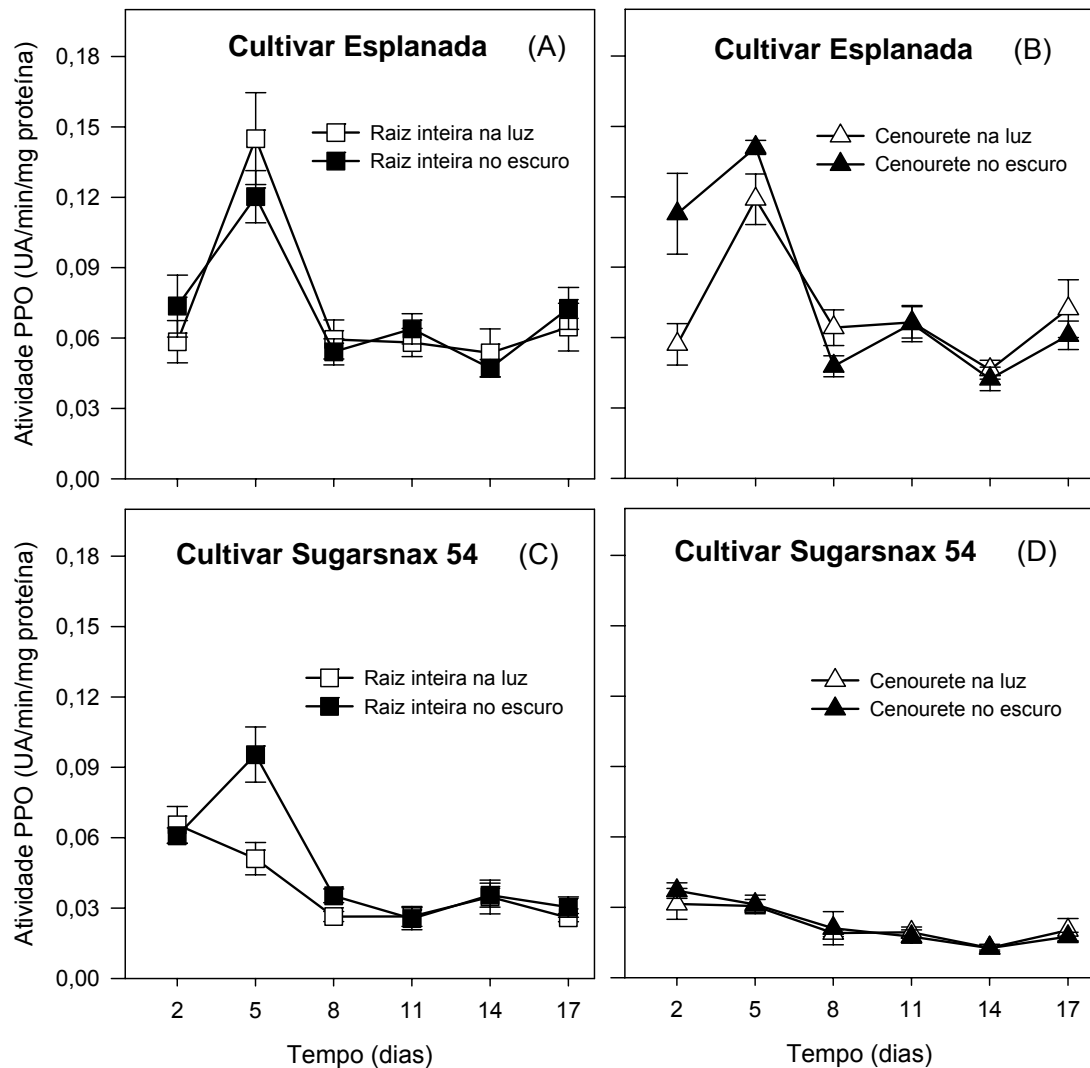


Figura 4: Atividade de polifenoloxidasas (UA/min/mg proteína) na cultivar Esplanada, em raízes inteiras (A) e Cenouretes® (B), e na cultivar Sugarsnax 54, em raízes inteiras (C) e Cenouretes® (D), durante o armazenamento a 5°C na luz ou escuro, por 17 dias. Barras representam o erro padrão da média.

Resultados semelhantes foram encontrados por Degli'Innocenti et al. (2007), ao trabalharem com folhas cortadas de alface, *Cichorium endivia* var. *latifolium* e rúcula armazenadas em caixas plásticas, por mais de 3 dias, a 4°C. Os autores observaram que atividade de PPO foi muito baixa na alface, mas depois de 48 horas obteve aumento significativo. Na rúcula, a atividade foi maior que na alface, com tendência de redução durante o armazenamento. Enquanto que na *Cichorium endivia* var. *latifolium*, a atividade enzimática foi maior que nas outras duas espécies; após o pico máximo às 3 horas de armazenamento teve redução na atividade.

Resultados diferentes foram encontrados por Couture et al. (1993), em que não encontraram mudança significativa na atividade de PPO, durante os 4 dias a 2,5°C, ao avaliarem as mudanças fisiológicas de alface minimamente processada durante o armazenamento. Ke & Saltveit (1989), também não encontraram aumento na atividade de PPO depois que alfaces foram submetidas a ferimentos de corte ou perfuração das folhas.

Os dois tipos de raízes 'Esplanada' e as raízes inteiras 'Sugarsnax 54', nas duas condições de armazenamento, tiveram aumento na atividade de PPO no 5º dia de armazenamento (Figura 4). No entanto, os valores de atividade foram baixos provavelmente porque a concentração de O₂ foi reduzida devido à atmosfera modificada criada internamente nas embalagens. Como as cenouras foram armazenadas em embalagens de polietileno, formou-se uma atmosfera modificada por causa da respiração do produto, principalmente nas Cenouretes®. O processamento mínimo estimula vários processos metabólicos, dentre eles a respiração do produto e, mesmo em baixas temperaturas, o vegetal respira, diminuindo a concentração de oxigênio e aumentando a de gás carbônico dentro da embalagem. De acordo com Rico et al. (2007), os níveis baixos de oxigênio podem inativar reações enzimáticas, porque a PPO requer oxigênio para induzir a descoloração da superfície cortada. Portanto, reduzindo a concentração deste gás na embalagem pode reduzir a descoloração de superfície, embora não pare completamente.

Observando os compostos fenólicos nas raízes inteiras e Cenouretes® (Figura 2), verifica-se que houve redução nos teores durante o armazenamento. Independente de cultivar, condição de armazenamento e tipo de processamento, a atividade de PPO reduziu durante os 17 dias de armazenamento (Figura 4). Esses dois atributos fisiológicos tiveram o mesmo comportamento, portanto a atividade de PPO é afetada pelos teores de compostos fenólicos e pela concentração de O₂. De acordo com Martinez & Whitaker (1995), todas as PPOs tem a capacidade de converter o-dihidroxifenóis a o-benzoquinonas, usando O₂ como segundo substrato. Para esses autores, o O₂ é requerido pela PPO no sítio de ferimento para iniciar a reação de escurecimento, mas o uso de embalagens impermeáveis ao O₂ ou de filmes comestíveis pode auxiliar na prevenção do início de escurecimento.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados encontrados conclui-se que:

- Raízes armazenadas na luz ou no escuro tiveram valores semelhantes nos carotenóides totais, compostos fenólicos, POD e PPO, independente de cultivar e tipo de raiz;
- Houve redução nos teores de carotenóides totais durante o armazenamento de raízes inteiras e Cenouretes®, na cultivar Sugarsnax 54;
- As Cenouretes® tiveram menores teores de carotenóides totais em relação às raízes inteiras, nas duas cultivares;
- Os teores de compostos fenólicos reduziram durante o armazenamento de raízes inteiras 'Esplanada' e de Cenouretes® nas cultivares Esplanada e Sugarsnax 54;
- A cultivar Sugarsnax 54 teve redução na atividade de POD durante o armazenamento de raízes inteiras e Cenouretes®;
- As Cenouretes®, nas duas cultivares, obtiveram menores atividades de POD em relação às raízes inteiras;
- Os valores de atividade de PPO foram menores aos de POD, nas duas cultivares e nos dois tipos de raízes;
- As raízes inteiras e Cenouretes®, na cultivar Sugarsnax 54, tiveram redução na atividade de PPO durante os 17 dias de armazenamento;
- A menor atividade de PPO foi obtida pelas Cenouretes® 'Sugarsnax 54' durante o armazenamento refrigerado;
- A cultivar Sugarsnax 54 pode ser recomendada para o processamento mínimo por obter os menores valores nos atributos fisiológicos, durante o armazenamento;

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHVENAINEN, R. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetable. **Trends in Food Science & Technology**, v.7, p.179-187, 1996.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. **Carotenóides da batata-doce (*Ipomoea batatas*, Lam.) e sua relação com a cor das raízes**. São Paulo, SP: USP. Tese de Doutorado. 1991.

AMANATIDOU, A.; SLUMP, R. A.; GORRIS, L. G. M.; SMID, E. J. High oxygen and high carbon dioxide modified atmospheres for shelf-life extension of minimally processed carrots. **Journal of Food Science**, v.65, p.61–66, 2000.

ARAUJO, B. S.; OLIVEIRA, J. O.; MACHADO, S. S.; PLETSCH, M. Comparative studies of the peroxidases from hairy roots of *Daucus carota*, *Ipomoea batatas* and *Solanum aviculare*. **Plant Science**, v.167, p.1151–1157, 2004.

AVENA-BUSTILLOS, R. J.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. A.; KROCHTA, J. M.; SALTVEIT, M. E. Optimization of edible coatings on minimally processed carrots using response surface methodology. **Transactions of the ASAE**, v.36, p.801-805, 1993.

BABIC, I.; AMIOT, M. J.; NGUYEN-THE, C.; AUBERT, S. Changes in phenolic content in fresh ready-to-use shredded carrots during storage. **Journal of Food Science**, v.58, p.351–356, 1993.

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

CANTWELL, M. Postharvest handling systems: minimally processed fruits and vegetables. In: KADER, A.A. (Ed.). **Postharvest Technology of Horticultural crops**. 2nd ed., Oakland: University of California, p.273-281, 1992.

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

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

DUANGMAL, K.; APENTEN, R. K. O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, v.64, p.351–359, 1999.

EMBRAPA. **Iniciando um pequeno grande negocio agroindustrial: hortaliças minimamente processadas/Embrapa Hortaliças, Serviço Brasileiro de Apoio as Micro e Pequenas Empresas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 133p., 2003.

EMBRAPA HORTALIÇAS, **Cultivo da cenoura: Plantio**. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/sistemas_producao/cultivo_da_cenoura/plantio.htm>. Acesso em 31 de março de 2007.

EMBRAPA. **Sistemas de produção: Cultivo da cenoura**. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/sistemas_producao/cultivo_da_cenoura.htm>. Acesso em 28 de março de 2007.

HODGES, D. A.; TOIVONEN, P. M. A. Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, p.155-162, 2008.

KAYS, S. J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: Van Nostrand Reinhold, 532p., 1991.

KE, D.; SALTVEIT, M. E. Wound induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. **Physiologia Plantarum**, v.76, p.412-414, 1989.

LANA, M. M. Aspectos da fisiologia de cenoura minimamente processada. **Horticultura Brasileira**, v.18, p.154-158, 2000.

LANA, M. M.; SILVA, J. B. C.; VIEIRA, J. V. Cenourete and Catetinho - Brazilian minicarrots. **Brazilian Journal of Food Technology (ITAL)**, v.10, p.169-175, 2007.

LANA, M. M.; VIEIRA, J. A.; SILVA, J. B. C.; LIMA, D. B. Cenourete e catetinho: minicenouras brasileiras. **Horticultura Brasileira**, v.19, p.376-379, 2001.

MARTINEZ, M. V.; WHITAKER, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends in Food Science & Technology**, v.6, p.196-200, 1995.

MATTOS, L. M.; MORETTI, C. L.; CHITARRA, A. B.; PRADO, M. E. T. Qualidade de alface crespa minimamente processada armazenada sob refrigeração em dois sistemas de embalagem. **Horticultura Brasileira**, v.25, p.504-508, 2007.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.1-6, 2006.

Mr. FOTHERGILLS. **Catalogue**. Disponível em: <<http://www.mr-fothergills.co.uk/catalogue/product/872-1/>>. Acesso em 13 de janeiro de 2009.

NEVES, L. L. M. **Envolvimento de enzimas oxidativas no escurecimento do quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench]**. Viçosa, MG: UFV. Tese Doutorado. 2003.

NOICHINDA, S.; BODHIPADMA, K.; MAHAMONTRI, C.; NARONGRUK, T.; KETSA, S. Light during storage prevents loss of ascorbic acid, and increases glucose and fructose levels in Chinese kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*). **Postharvest Biology and Technology**, v.44, p.312–315, 2007.

NUNHEMS. **Crops**. Disponível em: <<http://www.nunhems.com/crops.asp>>. Acesso em 13 de janeiro de 2009.

OLARTE, C.; SANZ, S.; ECHA´VARRI, J. F.; AYALA, F. Effect of plastic permeability and exposure to light during storage on the quality of minimally processed broccoli and cauliflower. **Food Science and Technology**, v.42, p.402–411, 2009.

OMS-OLIU, G.; ODRIUZOLA-SERRANO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. The role of peroxidase on the antioxidant potential of fresh-cut 'Piel de Sapo' melon packaged under different modified atmospheres. **Food Chemistry**, v.106, p.1085–1092, 2008.

PEREIRA, A. S. **Teores de carotenóides em cenoura (*Daucus carota* L.) e sua relação com a coloração das raízes**. Viçosa: UFV. Tese de Doutorado. 2002.

PRINCE, M. L.; BUTLER, L. G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.25, p.1268-1273, 1977.

RICO, D.; MARTÍN-DIANA, A. B.; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, p.373-386, 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Critical review of provitamin A determination in plant foods. **Journal of Micronutrient Analysis**, v.5, p.191-225, 1989.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: CHARALAMBOUS, F. (Ed.). **Shelf life studies of foods and beverages chemical, biological, physical and nutritional aspects**. Amsterdam: Elsevier Science, p.547-589, 1993a.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Stability of carotenoids during the storage of foods. In: CHARALAMBOUS, F. (Ed.). **Shelf life studies of foods and beverages - chemical, biological, physical and nutritional aspects**. Amsterdam: Elsevier Science, p.591-624, 1993b.

SILVA, E. O.; CARNELOSSI, M. A. G.; JACOMINO, A. P.; PUSCHMANN, R.; SOARES, N. F. F.; ALVES, R. E.; MOSCA, J. L.; FILQUEIRAS, H. A. C.; BASTOS, M. S. R.; SARRIA, S. D.; YAGUIU, P. Formas de presentación. In: GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; GARDEA, A. A.; CUAMEA-NAVARRO, F. (Eds.). **Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados**. p.37-58, Mexico: CIAD, 2005.

SILVA, J. B. C.; VIEIRA, J. V.; LANA, M. M. **Processamento mínimo de cenouras**. Brasília-DF: Embrapa Hortaliças, 2006 (folder).

SÖDERHÄLL, I. Properties of carrot polyphenoloxidase. **Phytochemistry**, v.39, p.33-38, 1995.

STODOLAK, B.; LEJA, M.; MARECZEK, A. Some aspects of metabolism of phenolics in carrot root slices. **Food, Agriculture & Environment**, v.1, p.88-94, 2003.

STOLL, K.; WEICHMANN, J. Root vegetables. In.: WEICHMANN, J. (Ed.). **Postharvest physiology of vegetables**. New York: Macel Dekker, Inc., p.541-553, 1987.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 3 ed., 2004.

THIPYAPONG, P.; HUNT, M. D.; STEFFENS, J. C. Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenol oxidase. **Phytochemistry**, v.40, p.673-676, 1995.

VIEIRA, J. V.; SILVA, J. B. C.; CHARCHAR, J. M.; RESENDE, F. V.; FONSECA, M. E. N.; CARVALHO, A. M.; MACHADO, C. M. M. Esplanada: cultivar de cenoura de verão para fins de processamento. **Horticultura Brasileira**, v.23, p.851-852, 2005.

VIÑA, S. Z.; CHAVES, A. R. Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v.94, p.68–74, 2006.

ANEXOS

Anexo 1: Resumo da análise de variância do teor de amido (%) em raízes de cenoura em função dos tipos de raízes, inteira e em pedaços, cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada, e tempo de armazenamento de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Tipo de raiz	1	3,216 **
Cultivar	2	2,105 **
Tipo de raiz X Cultivar	2	0,418 *
Erro (A)	18	0,884 x 10 ⁻¹
Tempo	7	0,110 ^{ns}
Tipo de raiz X Tempo	7	0,607 x 10 ⁻¹ ^{ns}
Cultivar X Tempo	14	0,164 **
Tipo de raiz X Cultivar X Tempo	14	0,133 **
Resíduo	126	0,571 x 10 ⁻¹
Coeficiente de variação (%)		15,80

* significativo a 5% de probabilidade de erro

** significativo a 1% de probabilidade de erro

^{ns} não significativo

Anexo 2: Resumo da análise de variância do teor de açúcares solúveis totais (%) em raízes de cenoura em função dos tipos de raízes, inteira e em pedaços, cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada, e tempo de armazenamento de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Tipo de raiz	1	0,370 x 10 ⁻¹ ^{ns}
Cultivar	2	2,504 **
Tipo de raiz X Cultivar	2	1,131 **
Erro (A)	18	0,829 x 10 ⁻¹
Tempo	7	3,524 **
Tipo de raiz X Tempo	7	0,194 *
Cultivar X Tempo	14	1,141 **
Tipo de raiz X Cultivar X Tempo	14	0,715 **
Resíduo	126	0,758 x 10 ⁻¹
Coeficiente de variação (%)		5,30

* significativo a 5% de probabilidade de erro

** significativo a 1% de probabilidade de erro

^{ns} não significativo

Anexo 3: Resumo da análise de variância do teor de açúcares redutores (%) em raízes de cenoura em função dos tipos de raízes, inteira e em pedaços, cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada, e tempo de armazenamento de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Tipo de raiz	1	14,022 **
Cultivar	2	56,041 **
Tipo de raiz X Cultivar	2	1,907 **
Erro (A)	18	$0,722 \times 10^{-1}$
Tempo	7	2,276 **
Tipo de raiz X Tempo	7	0,601 **
Cultivar X Tempo	14	1,720 **
Tipo de raiz X Cultivar X Tempo	14	0,665 **
Resíduo	126	$0,722 \times 10^{-1}$
Coeficiente de variação (%)		12,07

* significativo a 5% de probabilidade de erro

** significativo a 1% de probabilidade de erro

Anexo 4: Resumo da análise de variância do teor de açúcares não redutores (%) em raízes de cenoura em função dos tipos de raízes, inteira e em pedaços, cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada, e tempo de armazenamento de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Tipo de raiz	1	7,796 **
Cultivar	2	48,337 **
Tipo de raiz X Cultivar	2	7,560 **
Erro (A)	18	$0,801 \times 10^{-1}$
Tempo	7	1,460 **
Tipo de raiz X Tempo	7	0,210 **
Cultivar X Tempo	14	2,679 **
Tipo de raiz X Cultivar X Tempo	14	1,249 **
Resíduo	126	$0,737 \times 10^{-1}$
Coeficiente de variação (%)		8,83

* significativo a 5% de probabilidade de erro

** significativo a 1% de probabilidade de erro

Anexo 5: Resumo da análise de variância da atividade de invertase ácida (mg glicose/h/mg proteína) em raízes de cenoura em função dos tipos de raízes, inteira e em pedaços, cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada, e tempo de armazenamento de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Tipo de raiz	1	59,920 **
Cultivar	2	143,343 **
Tipo de raiz X Cultivar	2	69,945 **
Erro (A)	18	5,964
Tempo	7	1169,408 **
Tipo de raiz X Tempo	7	10,732 ^{ns}
Cultivar X Tempo	14	19,874 **
Tipo de raiz X Cultivar X Tempo	14	45,103 **
Resíduo	126	6,473
Coeficiente de variação (%)		30,80

* significativo a 5% de probabilidade de erro

** significativo a 1% de probabilidade de erro

^{ns} não significativo

Anexo 6: Resumo da análise de variância da atividade de peroxidases (UA/min/mg de proteína) em raízes de cenoura em função dos tipos de raízes, inteira e em pedaços, cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada, e tempo de armazenamento de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Tipo de raiz	1	573,457 **
Cultivar	2	331,135 **
Tipo de raiz X Cultivar	2	134,155 **
Erro (A)	18	9,569
Tempo	7	134,918 **
Tipo de raiz X Tempo	7	43,799 **
Cultivar X Tempo	14	72,666 **
Tipo de raiz X Cultivar X Tempo	14	35,041 **
Resíduo	126	7,675
Coeficiente de variação (%)		26,21

* significativo a 5% de probabilidade de erro

** significativo a 1% de probabilidade de erro

Anexo 7: Resumo da análise de variância da atividade de polifenoloxidasas (UA/min/mg de proteína) em raízes de cenoura em função dos tipos de raízes, inteira e em pedaços, cultivares Alvorada, Brasília e Esplanada, e tempo de armazenamento de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias. Viçosa, MG, 2009.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Tipo de raiz	1	0,210 x 10 ⁻¹ **
Cultivar	2	0,397 x 10 ⁻¹ **
Tipo de raiz X Cultivar	2	0,758 x 10 ⁻² *
Erro (A)	18	0,227 x 10 ⁻²
Tempo	7	0,557 x 10 ⁻¹ **
Tipo de raiz X Tempo	7	0,293 x 10 ⁻¹ **
Cultivar X Tempo	14	0,371 x 10 ⁻¹ **
Tipo de raiz X Cultivar X Tempo	14	0,227 x 10 ⁻¹ **
Resíduo	126	0,183 x 10 ⁻²
Coeficiente de variação (%)		34,40

* significativo a 5% de probabilidade de erro

** significativo a 1% de probabilidade de erro