

# Atuação das enzimas oxidativas no escurecimento causado pela injúria por frio em raízes de batata-baroa

Luciana Nunes Menolli<sup>1</sup>, Fernando Luiz Finger<sup>2\*</sup>, Mário Puiatti<sup>2</sup>, Janaina Miranda Barbosa<sup>2</sup> e Raimundo Santos Barros<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Av. Ph Rolfs, s/n, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: ffinger@ufv.br

**RESUMO.** Neste trabalho, as raízes de batata-baroa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) foram armazenadas em câmaras frias, à temperatura de 5 e 10°C, por 28 dias. A cada sete dias, as raízes eram retiradas da condição de frio, e realizada análise visual dos sintomas de injúria por frio. Em seguida, as raízes foram maceradas para determinação das atividades da peroxidase, polifenoloxidase e da concentração dos compostos fenólicos solúveis. As temperaturas de 5 e 10°C estimularam o escurecimento externo e interno das raízes durante o armazenamento, com maior intensidade para a temperatura de 5°C. Em ambas as temperaturas, houve elevação da atividade da polifenoloxidase, peroxidase e da concentração de compostos fenólicos, a partir da exposição dos tecidos ao frio. A atividade da polifenoloxidase e a concentração de compostos fenólicos solúveis aumentaram após o 14º dia de exposição às duas temperaturas. A atividade da peroxidase aumentou até o 7º dia de armazenamento em ambas as temperaturas, mantendo-se praticamente constante, após este período, a 5 e a 10°C, a maior atividade ocorreu no 14º dia de armazenamento. Estes resultados indicam atuação inicial da peroxidase como uma resposta inicial ao estresse causado pela colheita e o frio e posterior participação de polifenoloxidase no escurecimento enzimático e acúmulo de compostos fenólicos nos tecidos.

**Palavras-chave:** peroxidase, polifenoloxidase, mandiocinha-salsa, armazenamento.

**ABSTRACT. Role of oxidative enzymes on the darkening induced by chilling of arracacha roots.** In this experiment roots of arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) were stored at temperature of 5 and 10°C for 28 days. At every seven days, the roots were removed from the cold storage and visually analyzed for the presence of chilling symptoms. Afterwards, the roots were grinded for polyphenoloxidase, peroxidase activities and soluble phenolic compounds. Both temperature of 5 and 10°C induced external and internal darkening of the roots, with higher intensity at 5°C. Activities of polyphenoloxidase, peroxidase and content of phenolic compounds were enhanced at cold storage. Activity of polyphenoloxidase and content of phenolic substances increased up to the 14<sup>th</sup> day of storage in both temperatures. The activity of peroxidase was elevated up to the seventh day of storage in both temperatures, which was kept constant at 5 and at 10°C. The highest activity was detected at the 14<sup>th</sup> day of storage. These results show that peroxidase is involved in the initial stress response to the harvest and chilling, followed by the involvement of polyphenoloxidase in the enzymatic darkening and accumulation of phenolic compounds in the tissues.

**Key words:** peroxidase, polyphenoloxidase, yellow Peruvian root, storage

## Introdução

A batata-baroa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) pertence à família Apiaceae, sendo cultivada em vários países da América do Sul, especialmente na Venezuela, Colômbia e Brasil (Casali e Sedyama, 1997). No Brasil, a produção concentra-se principalmente nos Estados do Paraná e Minas Gerais (Santos, 2000).

O curto período de conservação pós-colheita da batata-baroa, em condições ambientais, torna a comercialização viável pelo período máximo de seis dias (Thompson, 1980; Scalón *et al.*, 1998). As principais causas da alta perecibilidade da batata-baroa decorrem do aumento da taxa respiratória, da biossíntese e ação do etileno, da ocorrência de danos mecânicos, do alto conteúdo de perda de água, doenças pós-colheita e das condições inadequadas de

armazenamento (Câmara, 1984; Marques *et al.*, 2005).

Existem diversas técnicas pós-colheita que visam prolongar a vida de prateleira de produtos hortícolas. Dentre estas técnicas, a refrigeração é o procedimento pós-colheita mais simples para reduzir o metabolismo do produto, permitindo menor perda de água do órgão armazenado, respiração e dificultando o desenvolvimento de doenças pós-colheita. Porém, esta técnica requer certos cuidados quanto à temperatura a ser adotada, pois temperaturas na faixa de 5 a 15°C podem causar desordens fisiológicas em espécies tropicais e subtropicais, denominada de injúria por frio (Fernández-Trujillo *et al.*, 1998).

Plantas sensíveis ao frio, em condições de estresse, apresentam, inicialmente, modificação física da fase lipídica das membranas e alteração específicas em proteínas, resultando em respostas secundárias que incluem aumento da produção de etileno, respiração e extravasamento de solutos, perda da compartimentalização celular e mudanças na atividade de enzimas. Como resultado final destas alterações, há o aparecimento de descolorações generalizadas dos tecidos, depressões superficiais, colapso interno da célula e surgimento de doenças (Kays, 1991; Wills *et al.*, 1998). Nas raízes tuberosas de batata-baroa, os sintomas externos de injúria por frio a 5°C são lesões espalhadas em toda superfície da raiz, seguido de intenso escurecimento ao redor das lesões e sintomas internos de escurecimento que se estendem do anel vascular à periderme (Ribeiro *et al.*, 2005).

Dentre as respostas dos tecidos à injúria por frio, ocorre o escurecimento o qual, segundo trabalhos com várias espécies, pode estar relacionado à atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. Admite-se que essas enzimas estejam relacionadas ao escurecimento, uma vez que as baixas temperaturas que causam injúria por frio, também induzem estresse oxidativo dos tecidos (Purvis e Shewfelt, 1993). O estresse oxidativo estimula as peroxidases, as quais atuam na remoção de átomos de hidrogênio dos álcoois, combinando-os com peróxido de hidrogênio para formar moléculas de água (Salisbury e Ross, 1992). As polifenoloxidases, por sua vez, promovem a oxidação enzimática de compostos fenólicos, produzindo, inicialmente, quinona que rapidamente se condensa, formando pigmentos insolúveis e escuros, denominados melanina, ou reagem não-enzimaticamente com aminoácidos, proteínas ou outros compostos (Araújo, 1990).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar SE o escurecimento induzido por temperatura causadora

de injúria por frio associado a alterações na atividade da polifenoloxidase e peroxidase, e acúmulo de compostos fenólicos solúveis em raízes armazenadas de batata-baroa.

## Material e métodos

Neste trabalho, foram utilizadas raízes de batata-baroa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) da cultivar Amarela de Carandaí, adquiridas em comércio varejista, localizado na cidade de Viçosa, Estado de Minas Gerais, entre os meses de outubro/2005 a janeiro/2006. As raízes foram colhidas  $24 \pm 12$  horas antes do início do experimento, armazenadas à temperatura ambiente, sem embalagem. Depois de adquiridas, as raízes tuberosas foram selecionadas de acordo com comprimento, formato, bom aspecto de comercialização e massa fresca média de 164,0 g por raiz.

Os tratamentos foram constituídos de duas temperaturas de armazenamento (5 e 10°C), dispostos no delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições de raízes individuais. Os dados foram submetidos à estatística descritiva de médias e erro-padrão da média. A unidade experimental era constituída de uma bandeja de poliestireno expandido, contendo cinco raízes. As bandejas foram mantidas, por 28 dias, em câmaras frias, com temperaturas de 5 ou 10°C e umidade relativa média de  $68 \pm 5\%$ . Os dados foram avaliados por análise visual das raízes, a cada sete dias de armazenamento, e foram determinadas a concentração de compostos fenólicos solúveis e a atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase.

A análise visual foi realizada ao zero, sete, 14, 21 e 28 dias de armazenamento, sendo utilizadas cinco raízes, avaliadas simultaneamente, quanto às lesões externas e internas, sendo que, para a visualização das lesões internas, foi realizado um corte, de aproximadamente, 1,0 cm na extremidade basal. A intensidade dos sintomas de injúria foi avaliada segundo a escala de notas subjetiva, descrita por Ribeiro *et al.* (2005), conforme o grau de severidade da ocorrência, variando de 0 a 4, em que: 0 = sem injúria (sem sinal de injúria); 1 = levemente injuriadas (superfície com até 25% de injúria); 2 = moderadamente injuriadas (superfície entre 26 e 50% de injúria); 3 = extremamente injuriadas (superfície entre 51 e 75% de injúria); 4 = completamente injuriadas (superfície com mais de 76% de injúria).

Para a determinação da atividade da polifenoloxidase, aproximadamente 2,0 g de raízes, previamente armazenados em câmaras a 5 e a 10°C,

foram macerados em nitrogênio líquido, homogeneizados em 12 mL de tampão de extração (tampão fosfato a 100 mM, pH 6,5; polyvinyl pyrrolidone (PVP-40) a 1%; Triton X-100 a 1% e ácido ascórbico a 150 mM). O macerado foi filtrado em quatro camadas de gaze e centrifugado a 17.000 x g a 4°C, por 30 minutos. Para a determinação da atividade, uma alíquota de 0,2 mL do sobrenadante foi adicionada a 0,8 mL de água destilada, 0,5 mL de 4-metil-catecol a 120 mM e 1,5 mL de ácido cítrico a 100 mM pH 4,8 (Neves, 2003). A reação iniciou-se pela adição do sobrenadante centrifugado, e a variação da absorbância no comprimento de onda de 410 nm foi determinada por 3 minutos, a 25°C. A atividade da enzima foi expressa em unidades de absorbância (UA)  $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de proteína.

A determinação da atividade da peroxidase foi realizada em, aproximadamente, 2,0 g de raízes, previamente armazenadas a 5 e a 10°C, foram maceradas em nitrogênio líquido, homogeneizadas em 10 mL de tampão de extração (tampão fosfato a 100 mM, pH 6,5; bissulfato de sódio a 0,1% e cloreto de sódio a 150 mM), e a suspensão resultante foi centrifugada a 17.000 x g por 30 minutos, a 4°C. Para a determinação da atividade enzimática, 0,5 mL do sobrenadante foram misturados a 1,5 mL de tampão fosfato a 200 mM, pH 6,5, 0,5 mL de guaiacol a 190 mM e 0,5 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 10 mM (Neves, 2003). A reação iniciou-se pela adição do sobrenadante centrifugado, medindo-se a alteração na absorbância em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 470 nm, a 25°C, durante 2,5 minutos. A atividade foi expressa em unidades de absorbância (UA)  $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de proteína.

A concentração de proteína nas preparações enzimáticas foi determinada como descrito por Bradford (1976), usando soro albumina bovina (BSA) como padrão.

A determinação da concentração de compostos fenólicos solúveis, nas raízes, foi feita de acordo com método de Prince e Butler (1977). Aproximadamente, 2,0 g de raízes foram anteriormente macerados em nitrogênio líquido, homogeneizados em 10 mL de metanol e colocados em agitação por 15 minutos. Após esse período, o homogenato foi centrifugado a 17.000 x g, durante 30 minutos. Para a determinação dos compostos fenólicos solúveis, 0,5 mL do sobrenadante foram misturados a 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (diluído 1:3) e 2 mL de carbonato de sódio anidro a 10%, reagindo por uma hora. As leituras da concentração de compostos fenólicos solúveis foram feitas em espectrofotômetro, no comprimento de onda 700 nm, e os resultados expressos em  $\mu\text{g}$  de

fenóis solúveis por g de matéria fresca. A curva de calibração foi feita, utilizando a D-catequina como padrão.

Os dados de escurecimento, atividade enzimática e de acúmulo de fenólicos, durante o armazenamento foram submetidos análise de variância Anova, para avaliar o efeito da temperatura e tempo de armazenamento sobre a atividade das enzimas e acúmulo de compostos fenólicos. As médias, com os respectivos erros-padrão, obtidas das repetições de cada dia de amostragem, foram utilizadas para avaliar as alterações durante o armazenamento, conforme Thipyapong *et al.* (1995).

### Resultados e discussão

A temperatura e o tempo de armazenamento afetaram significativamente o escurecimento, atividade da polifenoloxidase e da peroxidase, e o acúmulo de compostos fenólicos ( $p < 0,05$ ). As raízes de batata-baroa, armazenadas a 5 e a 10°C, apresentaram processo de escurecimento a partir da exposição destas ao frio, com escurecimento ao redor das lesões superficiais e em torno do anel vascular, como observados por Ribeiro *et al.* (2005). O grau de escurecimento aumentou, de forma semelhante, nas duas temperaturas, até o 14º dia de armazenamento. Após o 14º dia de armazenamento, as raízes armazenadas à temperatura de 10°C, tiveram maior taxa de escurecimento que aquelas a 5°C (Figura 1).

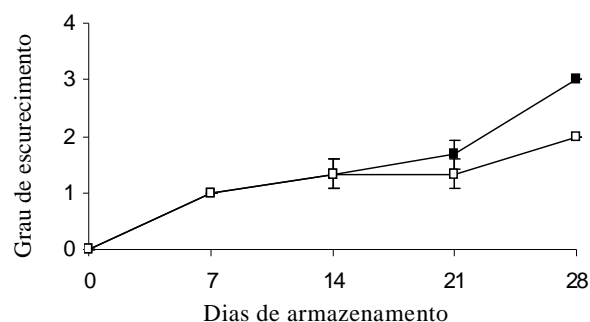


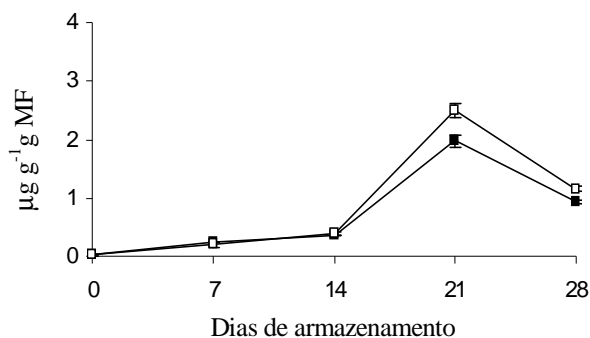
Figura 1. Avaliação do escurecimento em raízes de batata-baroa, armazenadas a 5°C (□) e 10°C (■) por 28 dias. As barras verticais representam erro-padrão da média.

Segundo Ribeiro (2003), o escurecimento em batata-baroa pode ser explicado pela mudança física dos lipídios saturados das membranas, causada por baixas temperaturas. As moléculas lipídicas passam do estado gel para o estado gel cristalino, permitindo oxidações enzimáticas, sendo essa mudança lipídica uma resposta primária dos tecidos sensíveis ao frio. Dentre as espécies de vegetais com esse tipo de tecido, está a batata-baroa. Essa resposta pode resultar em alterações do metabolismo, como

extravasamento de íons, perda da atividade mitocondrial, alterações na produção de etileno, nos sistemas enzimáticos associados à membrana, e acúmulo de metabólitos tóxicos como etanol e acetaldeído (Kays, 1991; Wills *et al.*, 1998).

Ribeiro *et al.* (2005), analisando raízes de batata-baroa da cultivar Amarela de Carandaí armazenadas a 5 e a 10°C por 28 dias, não observaram escurecimento nos primeiros sete dias de armazenamento a 10°C ocorrendo ao final do experimento (28º dia), menos de 25% do tecido injuriado àquela temperatura. As raízes armazenadas a 5°C apresentaram sintomas de injúria por frio após sete dias de armazenamento, atingindo mais de 75% do tecido injuriado, ao 28º dia de armazenamento (Figura 1). Os níveis de injúria obtidos, observados por Ribeiro *et al.* (2005), foram menores que os obtidos nesse experimento, a 10°C. Portanto, as diferenças observadas entre os dois experimentos podem ser explicadas, em parte, pela origem das raízes, visto que Ribeiro *et al.* (2005) trabalharam com raízes colhidas e transportadas imediatamente refrigeradas, ao contrário deste experimento, em que as raízes foram obtidas em condições comerciais de varejo, as quais já apresentavam algumas injúrias por danos mecânicos na colheita e no transporte prolongado, o que poderia ter estimulado a síntese de etileno e a elevação da atividade respiratória. De acordo com Tatsuki e Mori (1999), várias espécies de plantas têm a síntese de etileno induzida, quando expostas a essas condições de estresse, e a presença do etileno pode ter promovido o agravamento dos sintomas de injúria por frio nas duas temperaturas de armazenamento, e como conseqüência, estimular enzimas do estresse oxidativo como a peroxidase, catalase e lipoxigenase.

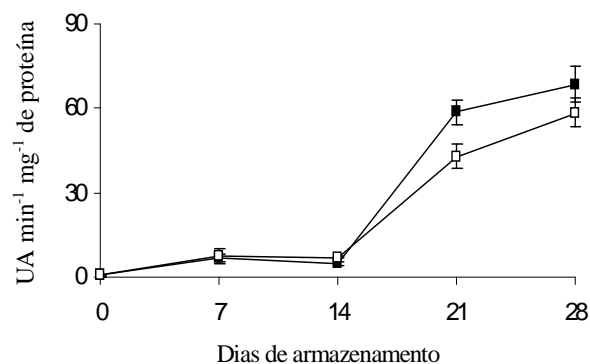
A concentração de compostos fenólicos solúveis, do momento de exposição dos tecidos ao frio até o 7º dia de armazenamento, teve aumento de 11 e 10 vezes nas temperaturas de 5 e 10°C, respectivamente (Figura 2). A maior concentração de compostos fenólicos solúveis foi encontrada no 21º dia de armazenamento, com valores de 1,973 a 5°C e 2,491  $\mu\text{g g}^{-1}$  MF a 10°C (Figura 2). O comportamento do acúmulo de compostos fenólicos foi semelhante nas duas temperaturas de armazenamento. Resultados similares foram encontrados em cascas de duas cultivares de banana, armazenadas a 6 e a 10°C, por 15 dias (Nguyen *et al.*, 2003). Após o 21º dia de armazenamento, a concentração de compostos fenólicos solúveis diminuiriam, provavelmente por causa da utilização dos substratos por outras enzimas do metabolismo dos fenilpropanóides, como a peroxidase (Guimarães, 2006).



**Figura 2.** Concentração de compostos fenólicos solúveis em raízes de batata-baroa, armazenadas por 28 dias a 5°C (■) e a 10°C (□). As barras verticais representam erro-padrão da média.

O aumento da concentração de compostos fenólicos no armazenamento deve-se ao estímulo da rota dos fenilpropanóides. Em alface minimamente processada, o escurecimento está relacionado ao aumento da atividade da feilalanina amônio liase (PAL), induzida pelo dano mecânico, e tratamento com inibidores da atividade da enzima reduziriam o escurecimento e preveniu o acúmulo de compostos fenólicos livres, o que indica relação entre a PAL e o subsequente escurecimento dos tecidos (Peiser *et al.*, 1998; Hisaminato *et al.*, 2001). Também o aumento da concentração de compostos fenólicos pode ser estimulado pelo aumento da síntese de etileno, decorrente do dano mecânico ou da injúria por frio, estimulando a síntese de ácido clorogênico e de outros compostos fenólicos, como a isocumarina em cenoura (Hydo *et al.*, 1978).

Nas raízes de batata-baroa, armazenadas a 5 e a 10°C, houve aumento na atividade da enzima polifenoloxidase nos primeiros sete dias de armazenamento de 1,4 e de 1,6 vezes, respectivamente, mantendo-se praticamente constante do 7º até o 14º dia de armazenamento (Figura 3).

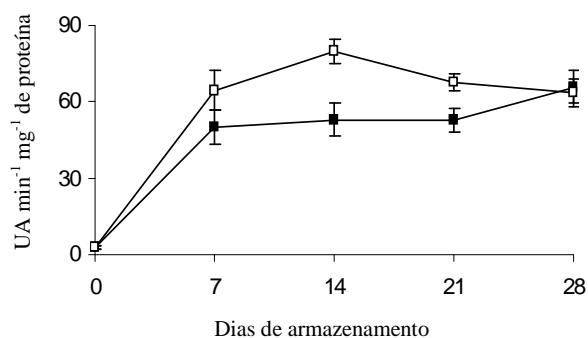


**Figura 3.** Atividade da enzima polifenoloxidase em raízes de batata-baroa, armazenadas por 28 dias, às temperaturas de 5°C (■) e a 10°C (□). As barras verticais representam erro-padrão da média.

A partir do 14<sup>o</sup> dia, verificou-se acréscimo de 14 e 8 vezes na atividade da enzima, a 5 e 10°C, respectivamente. A maior atividade foi observada ao 28<sup>o</sup> dia, atingindo 68,38 UA min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína a 5°C e 58,45 UA min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína, a 10°C. Esses valores foram similares aos observados por Nguyen *et al.* (2003), avaliando a atividade da polifenoloxidase nas cascas de frutos de cultivares de bananas, armazenadas por 15 dias, a 6 e a 10°C, e em raízes de jacatupé, armazenadas durante oito dias, nas temperaturas de 10 e 20°C (Aquino-Bolanõs e Mercado-Silva, 2004).

Houve relação positiva entre atividade da polifenoloxidase e as alterações na concentração de compostos fenólicos solúveis da raiz, com  $r = 0,91$  e de  $r = 0,90$  para as temperaturas de 5 e de 10°C, respectivamente (dados não apresentados). Relação dessa natureza e magnitude foi observada em outras espécies, como em castanhas, armazenadas a 4 e a -20°C, durante seis meses (Xu, 2005). Neves (2003), ao estudar a influência das enzimas oxidativas no escurecimento promovido por condições de injúria por frio em frutos de quiabo, armazenado a 5 e a 10°C, por 16 dias, também observou incremento na atividade da polifenoloxidase e elevação da concentração de compostos fenólicos, coincidindo com o aumento do escurecimento dos frutos. Essa relação entre a atividade da polifenoloxidase e a concentração de compostos fenólicos pode ser explicada pelo fato de a temperatura indutora de injúria por frio promover modificação no estado físico das membranas, local em que a enzima se encontra na forma inativa, permitindo, desta forma, que a enzima se torne ativa ao entrar em contato com o oxigênio molecular e o substrato fenólico (Underhill e Critchley, 1995).

Nas temperaturas de 5 e 10°C, até o 7<sup>o</sup> dia de armazenamento, a atividade da enzima peroxidase aumentou 1.897 e 2.564%, respectivamente (Figura 4), mantendo-se praticamente constante após esse período a 5°C, até o 21<sup>o</sup> dia de armazenamento. Na temperatura de 10°C, houve maior atividade da enzima, entre o 7<sup>o</sup> e o 21<sup>o</sup> dia de armazenamento, comparada à temperatura de 5°C (Figura 4). Frutos de mandarina, que são sensíveis ao frio, armazenados a 4 e 8°C, durante quatro semanas, aumentaram continuamente a atividade da enzima peroxidase durante esse período, quando armazenados a 4°C, enquanto que, a 10°C, houve acréscimo na atividade da peroxidase, nas duas primeiras semanas com subsequente declínio (El-Hilari *et al.*, 2003).



**Figura 4.** Atividade da enzima peroxidase em raízes de batata-baroa, armazenadas por 28 dias, a 5°C (■) e a 10°C (□). As barras verticais representam o erro-padrão da média.

A peroxidase é considerada uma enzima de estresse estimulada por baixas temperaturas nas espécies que são sensíveis ao frio (El-Hilari *et al.*, 2003; Kuk *et al.*, 2003). Nessas condições, há aumento desordenado na taxa respiratória, causando formação de espécies reativas de oxigênio. A peroxidase tem atividade aumentada nesta condição de estresse, reduzindo, assim, os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio, como peróxido de hidrogênio (Salisbury e Ross, 1992). Estudos com a enzima ascorbato peroxidase, em tubérculos de batata, indicam que em resposta ao armazenamento em baixas temperaturas, a peroxidase reduz o peróxido de hidrogênio à água, e por causa da sua maior afinidade pelo peróxido de hidrogênio que a catalase, a peroxidase atua como a enzima responsável pela desintoxicação dos tecidos (Kawakami *et al.*, 2002).

O aumento da atividade da peroxidase foi concomitante ao escurecimento, em ambas as temperaturas, todavia a relação entre a concentração de compostos fenólicos solúveis, responsáveis pelo escurecimento e a atividade da enzima, foi não-significativa (dados não apresentados). Esse comportamento indica que o aumento da atividade da peroxidase, durante o armazenamento, esteja relacionado como a peroxidação de lipídios, resposta primária dos tecidos em condições de injúria por frio (Kuo e Parkin, 1989) e ao estresse da colheita. O aumento na atividade da peroxidase também poderia estar relacionado à lignificação de tecidos, uma vez que, de acordo com Aquino-Bolanõs e Mercado-Silva (2004), o conteúdo de lignina pode aumentar em até três vezes durante o armazenamento de raízes de jacatupé, quando estas foram armazenadas por uma semana, à temperatura ambiente.

Martínez-Téllez e Lafuente (1993) e El-Hilari *et al.* (2003) analisando frutos de laranja da cultivar Navelina, armazenados a 1, 2,5, 5 e 10°C, por 60 dias, e mandarina 'Fortune' armazenados a 4 e 8°C,

por quatro semanas, não verificaram qualquer relação entre escurecimento e a atividade da peroxidase. Resposta semelhante foi observada por Neves (2003), analisando frutos de quiabo, armazenados à temperaturas de 5 e 10°C, por 16 dias.

Os resultados obtidos sugerem que o escurecimento verificado em condições de injúria por frio tem atuação direta da polifenoloxidase, porém o escurecimento dos tecidos pode ter sido causado por reações não-enzimáticas entre a carbonila e grupos amina, produzindo pigmentos escuros de melanoidina, sendo, nesse caso, as principais substâncias envolvidas, açúcares redutores e aminoácidos ou proteínas, como foi observado em batata-doce, por Picha (1986). Ribeiro (2003), trabalhando com raízes de batata-baroa, verificou que, tanto a 5 quanto a 10°C, durante o armazenamento, ocorreu aumento na concentração de açúcares redutores, o que poderia explicar o escurecimento não-enzimático.

### Conclusão

O escurecimento das raízes foi superior no armazenamento a 5°C.

O frio estimulou a atividade da peroxidase, polifenoloxidase e acúmulo de compostos fenólicos solúveis.

A elevação da atividade da peroxidase foi associada ao estresse da colheita e da polifenoloxidase ao escurecimento das raízes.

### Agradecimentos

À Capes pela concessão da bolsa de Mestrado a Luciana Nunes Menolli.

### Referências

- AQUINO-BOLANÕS, E.N.; MERCADO-SILVA, E. Effects of polyphenol oxidase and peroxidase activity, phenolics and lignin content in the browning of cut jicama. *Postharvest Biol. Tec.*, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 275-283, 2004.
- ARAÚJO, S.A. *Escurecimento enzimático em alimentos*. Viçosa: UFV, 1990. (Boletim técnico, v. 231).
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, Orlando, v. 72, n. 1, p. 248-254, 1976.
- CÂMARA, F.L.A. *Estudo de tecnologias objetivando precocidade de produção de batata-baroa (Arracacia xanthorrhiza Bancroft)*. 1984. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)–Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1984.
- CASALI, V.W.D.; SEDIYAMA, M.A.N. Origem e botânica da mandioquinha-salsa. *Inf. Agropecu.*, Belo

Horizonte, v. 19, p. 13-14, 1997.

EL-HILARI, F. et al. Chilling injury and peroxidase activity change in “Fortune” mandarin fruit during low temperature storage. *Bulg. J. Plant Physiol.*, Bulgaria, v. 29, n. 1-2, p. 44-54, 2003.

FERNANDEZ-TRUJILLO, J.P. et al. Modified atmosphere packaging affects the incidence of cold storage disorder and keeps “flat” peach quality. *Food Res. Int.*, Ottawa, v. 31, n. 8, p. 571-579, 1998.

GUIMARÃES, D.P. *Estudo bioquímico de algumas características da peroxidase, polifenoloxidase e pectinametilesterase de anora preta (Rubus spp.)*. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)–Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

HISAMINATO, H. et al. Relationship between enzymatic browning and phenylalanine ammonia lyase activity of cut lettuce, and the prevention of browning by inhibitors of polyphenol biosynthesis. *Biosci., Biotech. Bioch.*, Tokyo, v. 65, n. 1, p. 1016-1021, 2001.

HYDO, H. et al. Introduction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of Russet Spotting caused by ethylene. *Plant Physiol.*, Stanford, v. 62, n. 1, p. 31-35, 1978.

KAWAKAMI, S. et al. Molecular cloning of ascorbate peroxidase in potato tubers and its response during storage at low temperature. *Plant Sci.*, Limerick, v. 163, n. 1, p. 829-836, 2002.

KAYS, S.J. *Postharvest physiology of perishable plant products*. New York: AVI Book, 1991.

KUK, Y.I. et al. Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants. *Crop Sci.*, Madison, v. 43, n. 1, p. 2109-2117, 2003.

KUO, S.J.; PARKIN, K.L. Chilling injury in cucumbers (*Cucumis sativa* L.) associated with lipid peroxidation as measured by ethane evolution. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 54, n. 1, p. 1488-1491, 1989.

MARQUES, L.C. et al. Perdas de mandioquinha-salsa, durante a comercialização, na rede varejista de Viçosa-MG. *Hortic. Bras.*, Brasília, v. 23, n. 2, p. 439, 2005.

MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M.A.; LAFUENTE, M.T. Chilling-induced changes in phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities in citrus flavedo tissue. *Acta Horticult.*, Leuven, v. 343, n. 1, p. 257-263, 1993.

NEVES, L.L.M. *Envolvimento de enzimas oxidativas no escurecimento do quiabo [Abelmoschus esculentus (L.) Moench]*. 2003. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal)–Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

NGUYEN, T.B. et al. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biol. Tec.*, Amsterdam, v. 30, p. 187-193, 2003.

PEISER, G. et al. Phenylalanine ammonia lyase inhibitors control browning of cut lettuce. *Postharvest Biol. Tec.*, Amsterdam, v. 14, p. 171-177, 1998.

PICHA, D.H. Influence of storage duration and

- temperature on sweet potato sugar content and chip color. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 51, n. 1, p. 239-240, 1986.
- PRINCE, M.L.; BUTLER, L.G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, D.C., v. 25, n. 6, p. 1268-1273, 1977.
- PURVIS, A.C.; SHEWFELT, R.L. Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in the sensitive plant tissues? *Plant Physiol.*, Standford, v. 88, p. 712-718, 1993.
- RIBEIRO, R.A. *Conservação pós-colheita e metabolismo de carboidratos em raízes de dois clones de mandioquinha-salsa (Arracacia xanthorrhiza Bancroft)*. 2003. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.
- RIBEIRO, R.A. *et al.* Chilling injury sensitivity in (*Arracacia xanthorrhiza*) roots. *Trop. Sci.*, London, v. 45, p. 55-57, 2005.
- SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. *Plant physiology*. 4<sup>th</sup> ed. Belmont: Wadsworth, 1992.
- SANTOS, F.F. *Mandioquinha-salsa no agronegócio do Estado do Paraná*. Curitiba: Emater, 2000.
- SCALON, S.P.Q. *et al.* Conservação pós-colheita de mandioquinha-salsa em atmosfera modificada. *Horticult. Bras.*, Brasília, v. 16, n. 1, p. 33, 1998.
- TATSUKI, M.; MORI, H. Rapid and transient expression of 1-amino-ciclopropane-1-carboxylate synthase isogenes by touch and wound stimuli in tomato. *Plant Cell Physiol.*, Oxford, v. 40, p. 709-715, 1999.
- THIPYAPONG, P. *et al.* Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenol oxidase. *Phytochemistry*, Oxford, v. 40, n. 3, p. 673-676, 1995.
- THOMPSON, A.K. Reduction of losses during the marketing of arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). *Acta Horticult.*, Leuven, v. 1, n. 116, p. 55-60, 1980.
- UNDERHILL, S.J.R.; CRITCHLEY, C. Cellular localization of polyphenol oxidase and peroxidase activity in litchi chineseis sonn. pericarp. *Aust. J. Plant Physiol.*, East Melbourne, v. 22, p. 627-632, 1995.
- WILLS, R. *et al.* *Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals*. 4<sup>th</sup> ed. Wallingford: CABI, 1998.
- XU, J. The effect of temperature storage on the activity of polyphenol oxidase in *Castanea henryi* chestnuts. *Postharvest Biol. Tec.*, Amsterdam, v. 38, p. 91-98, 2005.

Received on August 22, 2006.

Accepted on July 27, 2007.