

Atividade enzimática e conteúdo fenólico em batatas minimamente processadas influenciados pela aplicação de antioxidantes

Dario Vitti, Maria Carolina; Preczenhak, Ana Paula; Calaboni, Cristiane; Kluge, Ricardo Alfredo
Atividade enzimática e conteúdo fenólico em batatas minimamente processadas influenciados pela aplicação de
antioxidantes
Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 20, núm. 1, 2019
Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C., México
Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81359562010>

Atividade enzimática e conteúdo fenólico em batatas minimamente processadas influenciados pela aplicação de antioxidantes

Enzymatic activity and phenolic content in fresh-cut potato as affected by antioxidants application

Maria Carolina Dario Vitti
Universidade de São Paulo, Brasil

Redalyc: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81359562010>

Ana Paula Preczenhak¹
Universidade de São Paulo, Brasil
appreczenhak@usp.br

Cristiane Calaboni
Universidade de São Paulo, Brasil

Ricardo Alfredo Kluge
Universidade de São Paulo, Brasil

Recepção: 21 Janeiro 2019
Aprovação: 22 Março 2019
Publicado: 30 Junho 2019

RESUMO:

A batata minimamente processada é de grande interesse, uma vez que é uma hortaliça muito apreciada pelos consumidores. Entretanto, os processos metabólicos de resposta ao estresse provenientes do corte, desencadeiam respostas que comprometem a qualidade visual e sabor do produto minimamente processado (PMP). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes combinações de antioxidantes nas respostas enzimáticas e na síntese de fenólicos em três cultivares de batata 'Ágata', 'Asterix' e 'Monalisa', assim como definir qual é a mais indicada para a indústria de minimamente processados. As batatas foram minimamente processadas em cubos e tratadas com antioxidantes, sendo utilizada embalagem plástica a vácuo em polinylon. O armazenamento foi a 5°C, por um período de 12 dias. Foram utilizadas as seguintes combinações: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1%; ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%; ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%; ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%; ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5%; cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%. Batatas 'Monalisa' apresentaram os maiores teores de fenólicos totais e valores de atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL), peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO), independente do tratamento. Batatas 'Ágata' tratadas com ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% apresentaram os menores valores de PAL, POD e PPO. Para as cultivares Asterix e Monalisa os melhores resultados obtidos foram nas combinações com 4-hexilresorcinol e cisteína, respectivamente. Podemos concluir que as cultivares 'Ágata' e 'Asterix' são indicadas para o processamento mínimo em detrimento a cv. 'Monalisa' e que dentre os tratamentos, cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) foi mais eficaz no controle da atividade enzimática e do teor de fenólicos totais. A combinação de cisteína e 4-hexilresorcinol apresentam grande potencial de utilização na indústria de batatas.

PALAVRAS-CHAVE: *Solanum tuberosum* L, fenilalanina amônia-liase, respostas ao estresse, compostos fenólicos.

ABSTRACT:

Potato minimally processed has economic interest because it is a vegetable highly appreciated by consumers. However, the metabolic processes of stress response by cutting, trigger responses that compromise the visual quality and taste of the minimally processed product (MPP). The aim of this work was to evaluate the effect of different combinations of antioxidants on enzymatic responses and phenolic synthesis in three potato cultivars 'Ágata', 'Asterix' and 'Monalisa', as well as to determine which is the

AUTOR NOTES

¹ Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' –Universidade de São Paulo, Pádua Dias 11, 13.418-900 Piracicaba, São Paulo, Brasil
Autor para correspondência: e-mail appreczenhak@usp.br



most suitable for minimally processed industries. Potatoes were minimally processed in cubes, and treated with antioxidants and then vacuum-packed in a multilayer nylon film. Storage was at 5°C for 12 d. The following combinations were used: citric acid 1% + ascorbic acid 1%; citric acid 2% + 4-hexylresorcinol 0.01%; ascorbic acid 2% + 4-hexylresorcinol 0.01%; citric acid 2% + cysteine 0.5%; ascorbic acid 2% + cysteine 0.5%; cysteine 0.5% + 4-hexylresorcinol 0.01%. 'Monalisa' potatoes had the highest total phenolic content and activity values of phenylalanine ammonia-lyase (PAL), peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO), regardless of the treatment. 'Ágata' potatoes treated with ascorbic acid 2% + cysteine 0.5% and cysteine 0.5% + 4-hexylresorcinol 0.01% showed the lowest values of PAL, POD and PPO. For the cultivars 'Asterix' and 'Monalisa' the best results were obtained in the combinations with 4-hexylresorcinol and cysteine, respectively. In conclusion that the cultivars 'Ágata' and 'Asterix' are indicated for the minimum processing in detriment to cv. 'Monalisa' and that among the treatments, cysteine 0.5% + 4-hexylresorcinol 0.01% (T7) was more effective in enzymatic activity control and the total phenolic content. Cysteine and 4-hexylresorcinol combination have great potential for use in the potato industry.

KEYWORDS: *Solanum tuberosum* L, phenylalanine ammonia-lyase, responses to stress, phenolic compounds.

INTRODUÇÃO

A batata inglesa (*Solanum tuberosum* L.) é uma das hortaliças com maior valor socioeconômico mundial e apresenta valor nutricional destacado, sendo importante fonte de carboidratos, sais minerais, vitaminas e antioxidantes (Burlingame *et al.*, 2009; Akyol *et al.*, 2016). A sua introdução entre os produtos minimamente processados (PMPs) é de grande interesse, aliando a praticidade do consumo à uma alimentação saudável. Entretanto, o corte da hortaliça desencadeia, entre outras, reações que deterioram a qualidade e aceleram sua perecibilidade (Cenci, 2011). As operações de preparo dos PMPs, como o descascamento e o corte, estimulam a atividade respiratória e a produção de etileno, que induzem a biossíntese de enzimas associadas a resposta ao estresse que podem ser responsáveis pela mudança de cor, aroma, textura e valor nutricional (Wang *et al.*, 2015).

Esta resposta ao estresse está relacionada à atividade de radicais livres e processos de oxidação, caracterizando um efeito fisiológico visível, o escurecimento dos tecidos. A peroxidase (POD) é uma das enzimas envolvidas na defesa celular contra os danos de radicais livres, utilizando o peróxido de hidrogênio como substrato e um doador de elétrons (fenólicos, ascorbato, aminas) em suas reações (Brito *et al.*, 2005). Já a polifenoloxidase (PPO) é a principal enzima responsável pelo escurecimento enzimático dos tecidos, utilizando fenólicos como substratos para suas reações e o O₂ como cofator, sendo gerados subprodutos de coloração amarronzada, as #-quinonas (Mishra e Gautam, 2016). Além disso, compostos antioxidantes de defesa celular são sintetizados pelo metabolismo secundário, dentre os principais fenólicos e flavonoides. O metabolismo fenilpropanóide é a principal via de produção de fenólicos e é regulada pela atividade da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), que utiliza o aminoácido fenilalanina como substrato para iniciar a síntese dos variados compostos da via (Akyol *et al.*, 2016). A batata é um dos produtos hortícolas com maior número de genes que codificam a síntese de PAL e, consequentemente, maiores teores de ácidos fenólicos e flavonoides (Chun *et al.*, 2005; André *et al.*, 2009).

Os aditivos antioxidantes podem ser utilizados como estratégia para redução dos efeitos deletérios do processamento mínimo, pois podem funcionar como defesa exógena aos danos causados pelo estresse oxidativo. Dentro os mais conhecidos estão os ácidos ascórbico (AA) e cítrico (AC), os sulfurados como a cisteína (CYS) e o 4-hexilresorcinol (4HR), conhecidos como eficazes agentes redutores de escurecimento em frutas e vegetais. O AA previne o escurecimento por meio da redução das o-quinonas a hidroquinonas incolores e, subsequentemente, na presença de O₂ forma o radical dehidroascórbico (Mcevily *et al.*, 1992; Son *et al.*, 2001). O AC têm função acidificante e quelante enzimático, atuando na diminuição da atividade enzimática tanto pela redução do pH, a faixas abaixo de pH 4.0, quanto pela inativação do sítio ativo da enzima. Pelo fato de serem naturais, estes antioxidantes são utilizados em larga escala na indústria de alimentos, sendo uma alternativa de uso para indústria de batatas minimamente processadas (Son *et al.*, 2001; Oms-Oliu *et al.*, 2010).



O 4-HR age na inibição direta da PPO, por meio da ligação ao sítio ativo (Arias *et al.*, 2007). Diferentemente, a cisteína têm ação redutora e seu poder de inibição varia de acordo com a razão de concentração cisteína/fenólico (Richard-Forget *et al.*, 1992; Ali, H. M. *et al.*, 2015). A cisteína pode apresentar diferentes formas de ação que auxiliam na redução do escurecimento enzimático, que pode ser por meio da ligação ao sítio ativo promovendo inibição direta da atividade da PPO e reação com #-quinonas dando origem a cis-quinonas, compostos incolores (Richard *et al.*, 1991; Ali, H.M. *et al.*, 2015).

Uma vez que, cada aditivo apresenta funcionalidade diferenciada, uma estratégia de aumento da eficácia é a aplicação combinada destes produtos a fim de reduzir o estresse oxidativo e, assim, aumentar a vida útil do PMP. Além disso, a utilização de combinações associadas a embalagem a vácuo pode ser uma alternativa para prolongar o efeito dos aditivos, já que a concentração de O₂ é drasticamente reduzida e sem O₂ a atividade enzimática é comprometida. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes combinações de antioxidantes nas respostas enzimáticas e na síntese de fenólicos em três cultivares de batata ‘Ágata’, ‘Asterix’ e ‘Monalisa’, assim como definir qual é a mais indicada para a indústria de minimamente processados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Batatas das cultivares ‘Ágata’, ‘Asterix’ e ‘Monalisa’ foram colhidas na região de Itapetininga-SP (Latitude: -23.5945, Longitude: -48.0539 23° 35' 40" Sul, 48° 3' 14" Oeste) e levadas para o laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, onde foram lavadas e selecionadas qualitativamente quanto à firmeza, tamanho e ausência de danos mecânicos e infecção fúngica.

As etapas de processamento mínimo foram realizadas em câmara fria a 10 °C, sendo todos os equipamentos higienizados e os operadores utilizaram equipamento de proteção individual recomendados para o processo. As etapas de processamento constaram do descascamento mecânico da hortaliça por descascadora industrial (Poli-Skymsen inox, São Paulo, Brasil) com disco abrasivo para retirada da película externa dos tubérculos. Posteriormente, os tubérculos foram imersos em água resfriada (5°C) por 2 minutos a fim de reduzir a atividade metabólica do produto antes do processamento mínimo. Em seguida, as batatas foram cortadas na forma de cubos, por meio de processadora industrial (Robot Coupe, CL 50 Ultra, Vincennes, França) com disco de 1,0x1,0x1,0 cm, enxaguados em água potável e sanitizados por 5 minutos em água clorada (200ppm de Dicloro-S- Triazinatriona Sódica Diidratada -SUMAVEG®).

Após a sanitização, realizou-se a imersão em soluções antioxidantes durante 3 minutos. Além do tratamento controle (T1), as soluções antioxidantes utilizadas foram: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1% (T2); ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T3); ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T4); ácido cítrico 2% + cisteína 0,5% (T5); ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6); cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7). A fim de retirar o excesso de umidade, os cubos foram centrifugados em centrífuga doméstica a 2200 rpm por 10 minutos. Por fim, os cubos foram porcionados em 300 g e embalados em filme plástico de polinylon à vácuo com dimensões 14x20 cm (largura x comprimento). O período de armazenamento foi de 12 dias a 5°C e 85% de umidade relativa. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 7x5, sendo 7 tratamentos e 5 dias de análise (0, 3, 6, 9 e 12 dias). Foram utilizadas três repetições de 300 g do produto minimamente processado por tratamento.

As variáveis analisadas foram: a) atividade da Fenilalanina amônia-liase – PAL (EC 4.3.1.5): determinada conforme metodologia modificada de Peixoto *et al.* (1996), com leitura a 290 nm e os resultados expressos em mmoles min⁻¹. b) atividade da Polifenoloxidase – PPO (EC 1.14.18.1) foi determinada através do método descrito por Cano *et al.* (1997) e adaptada segundo Kruger (2003), com adição de 0,7 mL de ácido sulfúrico 5% para a parada da reação enzimática, sendo a absorbância medida à 395 nm e os resultados expressos em mMoles de catecol transformado min⁻¹g⁻¹.c) atividade da Peroxidase – POD (EC 1.11.1.9) foi determinada conforme metodologia adaptada de Lima (1994), leitura espectrofotométrica a 505 nm e



os resultados expressos em mMoles de H₂O₂ decomposto min⁻¹g⁻¹.d) proteínas solúveis: foi determinada para cálculo da atividade específica das três enzimas avaliadas. e) teor de fenólicos totais: foram mensurados conforme adaptação de Lu e Foo (1997) através do método de Folin-Ciocalteu, encubando 60 minutos em banho-maria a 30 °C e 60 minutos a 0 °C, mantendo as mesmas condições para a solução padrão de dopamina e o controle das leituras. A determinação foi realizada em espectrofotômetro com leitura a 760nm e os resultados foram expressos em mg dopamina 100 g⁻¹ em base fresca.

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de verificar os parâmetros de qualidade visual das batatas minimamente processadas, primeiramente foi examinado o metabolismo de sinalização do estresse por meio da análise de atividade enzimática das principais enzimas envolvidas com o escurecimento, dentre elas fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). Todos os tratamentos antioxidantes foram eficazes para reduzir a atividade da PAL ao longo do armazenamento nas três cultivares analisadas. Entretanto, houve diferenças quanto aos tratamentos mais eficazes para cada cultivar, assim como no pico de atividade da PAL.

Batatas ‘Ágata’ tratadas com ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) apresentaram a menor atividade de PAL durante os 12 dias de armazenamento. A atividade permaneceu estável ao longo do armazenamento para todos os tratamentos (Figura 1A). Já para variedade ‘Asterix’ foram mais eficazes as soluções de ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T3), ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T4) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7). A atividade da PAL aumentou até o 9º dia, com subsequente redução até o final do armazenamento em todos os tratamentos (Figura 1B).



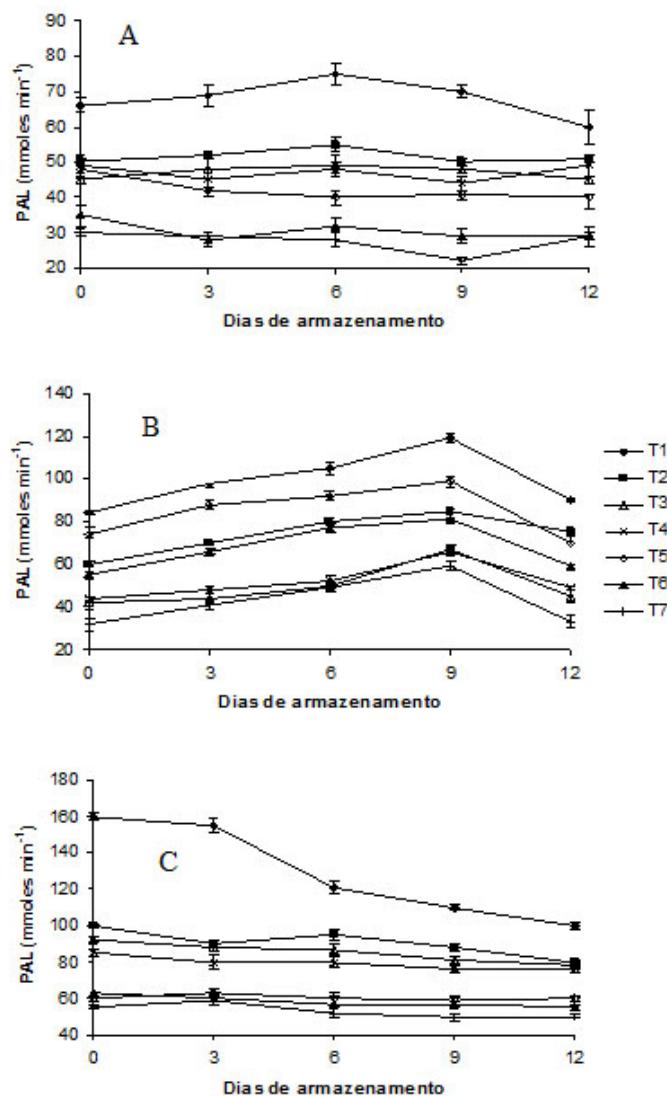


FIGURA 1
Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) em batatas cv.
'Ágata' (A), 'Asterix' (B) e 'Monalisa' (C) minimamente processadas.

As barras verticais indicam o desvio padrão da média ($n=3$). T1: controle, T2: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1%, T3: ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T4: ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T5: ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%, T6: ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e T7: cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%.

Os tratamentos mais eficazes para redução da atividade da PAL na cv. 'Monalisa' foram as combinações de ácido cítrico 2% + cisteína 0,5% (T5), ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) (Figura 1C). Esta cultivar apresentou a maior atividade da PAL dentre as cultivares analisadas, independente do tratamento aplicado. No controle (T1) ocorreu declínio na atividade da PAL após o 3º dia de armazenamento, diferentemente, os demais tratamentos exibiram atividade constante. O controle da cv. 'Monalisa' dispôs o dobro de atividade inicial da PAL quando comparado ao controle das demais cultivares (Figura 1). Este comportamento demonstra que a cv. 'Monalisa' provavelmente apresenta maior indução sequencial de RNAm e/ou altos níveis latentes da enzima já pré-existentes nos tecidos (André *et al.*, 2009).

A atividade da PAL é determinada pelo nível de estresse da planta, assim é acionada sob estresse abiótico para defesa celular. Por ser a enzima chave do metabolismo fenilpropanóide é altamente regulada por sinalizadores para a síntese de compostos fenólicos, que são a principal defesa antioxidante contra o dano



oxidativo (Zhang e Liu, 2014). A batata é conhecida como sendo uma das espécies com maior número de genes codificadores para PAL (André *et al.*, 2009), o que justifica tanto a alta concentração de fenólicos quanto o escurecimento em contato com o O₂. Os compostos fenólicos juntamente com o O₂ são os substratos enzimáticos da PPO e por muitas vezes utilizados pela POD (Akyol *et al.*, 2016). Além disso, tanto a concentração de fenólicos quanto o tipo destes pode variar entre as cultivares (Albishi *et al.*, 2013). Os difenois são os substratos utilizados pela PPO e desta reação são formados os compostos de coloração escura (Mishra e Gautam, 2016). Sendo assim, além da concentração de fenólicos, a estrutura específica da molécula pode afetar o nível de escurecimento, o que pode justificar a discrepância entre os tratamentos, tanto para atividade da PAL quanto para PPO e POD.

Quanto a ação da combinação de antioxidantes, as diferenças são esperadas, uma vez que cada aditivo age de forma específica. De modo geral, os tratamentos com cisteína e 4-HR foram mais eficazes no controle da atividade da PAL. Estes antioxidantes podem agir de duas formas, inibindo diretamente a enzima por meio da ligação ao sítio ativo da enzima, ou pela ligação aos produtos da reação, as o-quinonas, formando adutos incolores. Este último processo por muitas vezes pode até reverter o escurecimento dos tecidos, sendo uma relação da dose aplicada e da intensidade do escurecimento. O grupamento tiol presente nos aditivos sulfurados são altamente reativos, o que é preponderante para resposta rápida entre a aplicação e o efeito antiescurecimento (Ali, H.M. *et al.*, 2015). O ácido cítrico por agir reduzindo o pH do meio, interfere nas condições ótimas de atividade das enzimas que agem em pH mais próximo à neutralidade (Tsouvaltzis e Brecht, 2017). Assim, pode ter funcionado como potencializador na redução da atividade da PPO e por meio de *feedback* negativo, consequentemente, redução da atividade da PAL.

A redução da atividade da PAL sinalizou a redução de estresse nos tecidos de batata, como corroborado pela redução da atividade de POD nos tratamentos com cisteína e 4-HR e confirmado pelos altos valores do controle independente da cultivar durante o armazenamento (Figura 2). Nas batatas cv. 'Ágata' as combinações de ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) foram mais eficazes para inibição da POD, com atividade 1,7 e 1,4 vezes inferiores no dia do processamento e ao final dos dias de armazenamento, respectivamente). Quando comparada as outras cultivares, cv 'Ágata' apresentou a menor atividade da POD independente do tratamento aplicado (Figura 2A). Na cv. 'Asterix', os tratamentos com aditivos sulfurados também apresentaram menor atividade da POD. As soluções antioxidantes de ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T3), ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T4) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) reduziram significativamente a atividade enzimática durante o armazenamento do PMP (Figura 2B).



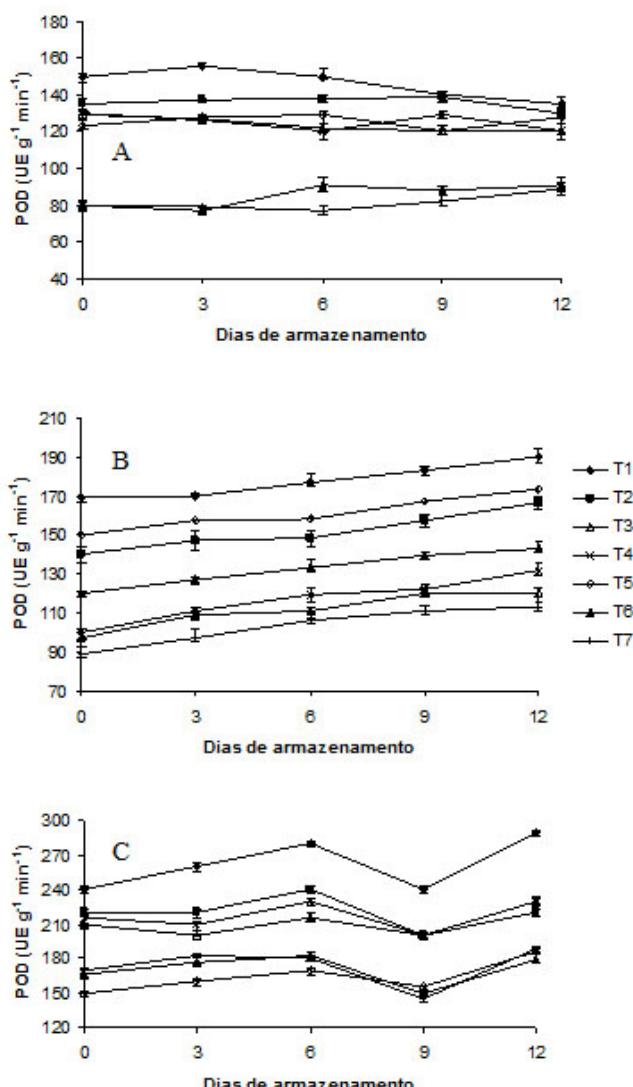


FIGURA 2
Atividade da peroxidase (POD) em batatas cv. ‘Ágata’ (A),
‘Asterix’ (B) e ‘Monalisa’ (C) minimamente processadas.

As barras verticais indicam o desvio padrão da média ($n=3$). T1: controle, T2: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1%, T3: ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T4: ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T5: ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%, T6: ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e T7: cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%.

Assim como para as outras cultivares, para cv. ‘Monalisa’ cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) esteve entre os tratamentos com a menor atividade da POD durante o armazenamento, acompanhado da combinação dos aditivos ácido cítrico 2% + cisteína 0,5% (T5) e ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6). Houve aumento da atividade da POD, no 6º e 12º dia de armazenamento, para todos os seus tratamentos (Figura 2C). Como indicado pela alta atividade da PAL, independente do tratamento aplicado, esta cultivar apresentou maior resposta ao estresse, indicado pelos valores superiores de atividade da POD em comparação as cultivares ‘Asterix’ e ‘Ágata’ (Figura 2).

Estes resultados são muito importantes para manutenção da qualidade sensorial do PMP, uma vez que a peroxidase, enzima indicadora de senescência de vegetais é importante do ponto de vista nutricional, de coloração e de sabor. A atividade desta enzima pode levar à degradação da vitamina C e descoloração de carotenoides e antocianinas, além de catalisar a degradação de ácidos graxos insaturados, com consequente formação de compostos voláteis que conferem sabor oxidado (*off-flavors*). A atividade dessa enzima pode ser

detectada quando ocorre algum ferimento ou estresse fisiológico, como parte do mecanismo de defesa celular das plantas (Chisari *et al.*, 2007).

A enzima POD pode utilizar substratos fenólicos para suas reações, entretanto é a PPO a principal responsável pelo escurecimento enzimático dos tecidos vegetais (Chisari *et al.*, 2007; Oms-Oliu *et al.*, 2010). Sua atuação está vinculada à atividade da enzima PAL, pois a última é promotora da síntese de seus substratos fenólicos. Assim os resultados da atividade da PPO foram estritamente relacionados à maior ativação do metabolismo fenilpropanóide. Independente da cultivar analisada o controle permaneceu com a maior atividade da PPO durante o armazenamento (Figuras 1 e 2).

As batatas 'Ágata' tratadas com ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% (T6) e cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) apresentaram a menor atividade de PPO durante o armazenamento, confirmando a ação destes tratamentos na atenuação do estresse oxidativo, como observado para atividade da PAL e POD. Além disso, cv. 'Ágata' mostrou menor atividade da PPO dentre as cultivares estudadas e irrestrito ao tratamento aplicado (Figura 3A). Diferentemente, a atividade da enzima PPO na cv. 'Asterix' apresentou diferenças menos pronunciadas entre os tratamentos, mas diferindo significativamente do controle (Fig. 3B). Além disso, o controle (T1) foi o único tratamento que apresentou oscilação da atividade da PPO durante o armazenamento, com aumento da atividade no 12º dia. Entre os tratamentos, 4-hexilresorcinol foi o mais eficaz para redução da atividade da PPO, independente do outro aditivo. Os outros tratamentos apresentaram atividade superior, com o ácido cítrico 2% + cisteína 0,5% sendo o menos eficaz para redução da atividade da PPO.

A cv. 'Monalisa' manifestou maior atividade de PPO para o controle (T1) dentre todas as cultivares. Entretanto, quando aplicados os antioxidantes a atividade da PPO apresentou valores próximos às outras cultivares. Interessantemente, nesta cultivar os tratamentos que continham cisteína (T5, T6 e T7) apresentaram menor atividade de PPO (Figura 3C). Estes resultados demonstram que o perfil de compostos fenólicos de cada cultivar parece ser crucial para a efetividade do antioxidante.



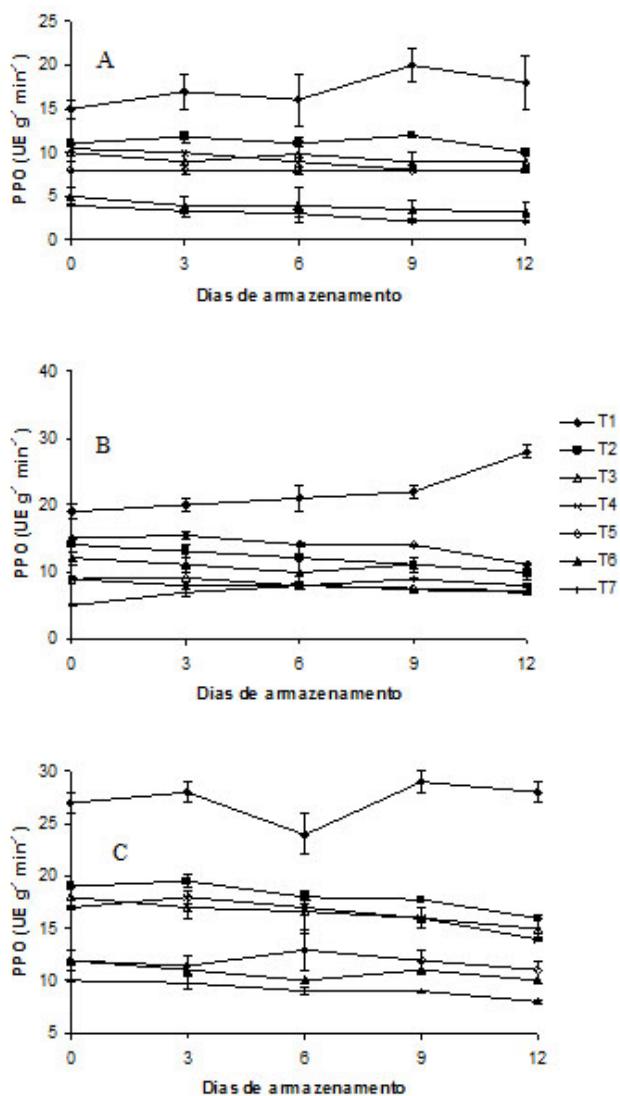


FIGURA 3
Atividade da polifenoloxidase em batatas (PPO) cv. ‘Ágata’ (A),
‘Asterix’ (B) e ‘Monalisa’ (C) minimamente processadas.

As barras verticais indicam o desvio padrão da média ($n=3$). T1: controle, T2: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1%, T3: ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T4: ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T5: ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%, T6: ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e T7: cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%.

A fim de analisar a síntese de fenólicos pela PAL e como estes substratos estiveram relacionados com o escurecimento enzimático por meio da PPO e POD, foi mensurado o conteúdo de fenólicos totais nas cultivares de batata minimamente processada. De modo geral, para todas as cultivares, os teores de fenólicos totais foram menores nos tratamentos com cisteína e 4-HR (Figura 4). A cisteína não favoreceu a síntese de fenólicos, o que reduz os substratos para reações de oxidação enzimática e, logo, afeta a atividade das enzimas PPO e POD. Da mesma forma, pode ter influenciado na redução da ativação do metabolismo fenilpropanóide, resultando na menor atividade da PAL. Nas cultivares ‘Ágata’ e ‘Asterix’ quando a cisteína foi com ácido cítrico o teor de fenólicos totais não apresentou entre os menores teores de fenólicos totais (Figura 4A e B). Neste caso o ácido cítrico pode ter sido o responsável por estes resultados, uma vez que em tratamentos com este aditivo os valores de fenólicos totais se mantiveram intermediários, porém inferiores ao controle.

Assim como as enzimas de defesa ao estresse, os compostos fenólicos são agentes antioxidantes envolvidos na resistência a doenças, pragas e no metabolismo de plantas inferiores estressadas fisiológicamente ou mecanicamente (Akyol *et al.*, 2016). Para tanto, teores elevados de fenólicos são esperados em tecidos injuriados, assim como observado no controle (T1). Assim, todos os tratamentos antioxidantes foram eficazes na redução do burst oxidativo, levando em consideração o teor de fenólicos totais e atividade das principais enzimas envolvidas nas respostas ao estresse em plantas (PPO, POD e PAL).

A redução dos níveis de fenólicos acarreta na redução do escurecimento dos tecidos, pois pode indicar menor taxa de produção de pigmentos escuros de alto peso molecular, como as o-quinonas. Logo, baixos teores de fenólicos em batatas minimamente processadas são benéficos para a manutenção da qualidade do produto minimamente processados, visualmente comercializável por maior período, o que favorece tanto o produtor quanto a indústria de PMP.

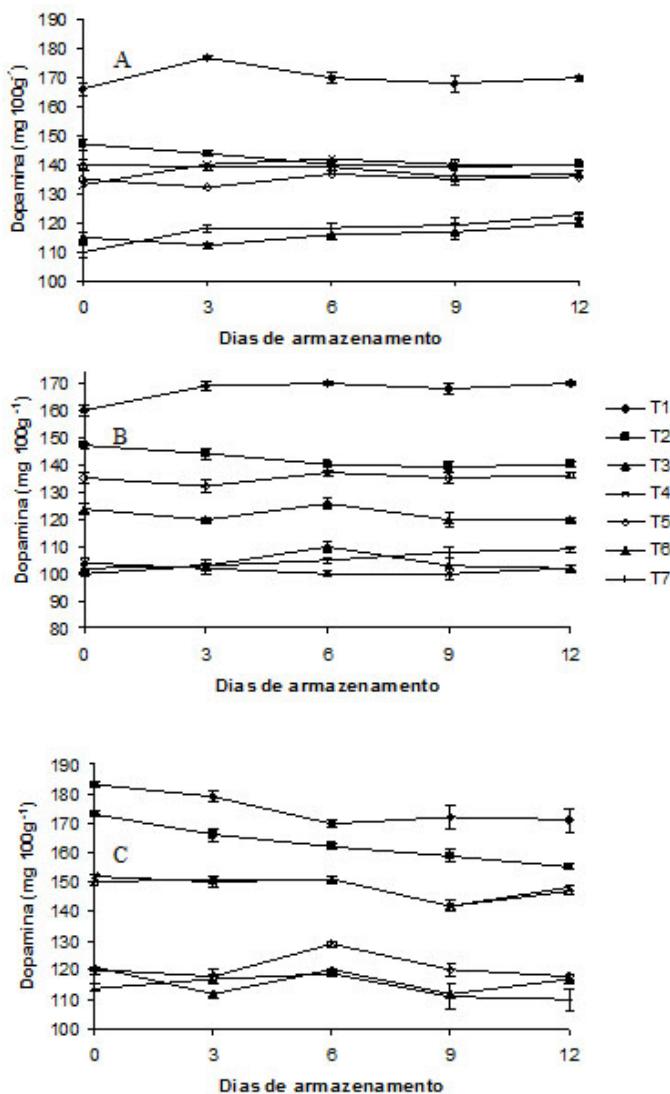


FIGURA 4
Teor de fenólicos totais em batatas cv. ‘Ágata’ (A),
‘Asterix’ (B) e ‘Monalisa’ (C) minimamente processadas.

As barras verticais indicam o desvio padrão da média ($n=3$). T1: controle, T2: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1%, T3: ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T4: ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T5: ácido cítrico 2% + cisteína 0,5%, T6: ácido ascórbico 2% + cisteína 0,5% e T7: cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01%.

Aliada a qualidade da aparência de coloração para conservação do produto está a aparência de textura. Assim, a manutenção do vácuo nas embalagens influencia os parâmetros de qualidade relacionados à textura e à proliferação de microrganismos, uma vez que aliada a perda de vácuo as embalagens podem apresentar acúmulo de água. Estas características foram observadas a partir do 6º dia nas três cultivares de batata estudadas. Na cv. 'Ágata' todos os tratamentos apresentaram acúmulo de água na embalagem e perda de vácuo, diferentemente na cv. 'Asterix' apenas os tratamentos T4 e T7 e na cv. 'Monalisa' apenas T7 (Figura 5). Entretanto, estes parâmetros não foram prejudiciais aos aspectos visuais e bioquímicos, levando-se em consideração que T7 esteve entre os tratamentos com os melhores resultados independente da cultivar. O acúmulo de água no interior das embalagens pode estar relacionado com o seu alto teor centesimal de 88% e 85% encontrado nas cultivares de batata 'Ágata' e 'Monalisa', respectivamente (Pineli *et al.*, 2006).

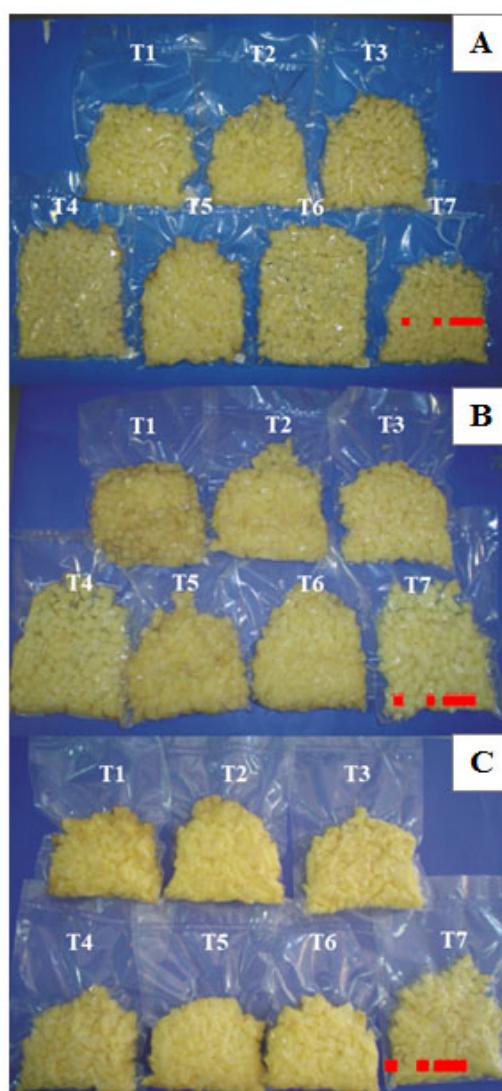


FIGURA 5
Aspecto visual de batatas cv. Ágata (A), Asterix (B) e Monalisa (C) minimamente processadas após 12 dias de armazenamento.
T1: controle, T2: ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1%, T3: ácido cítrico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T4: ácido ascórbico 2% + 4-hexilresorcinol 0,01%, T5: ácido cítrico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

CONCLUSÃO

Podemos concluir que as cultivares ‘Ágata’ e ‘Asterix’ são indicadas para o processamento mínimo em detrimento a cv. ‘Monalisa’, apresentando menor atividade enzimática e menor teor de fenólicos totais, independente dos antioxidantes aplicados. Dentre os tratamentos, cisteína 0,5% + 4-hexilresorcinol 0,01% (T7) foi mais eficaz no controle da atividade enzimática e do teor de fenólicos totais. A utilização de soluções combinadas de antioxidantes é eficaz na redução de escurecimento enzimático. Soluções combinadas com cisteína e 4-hexilresorcinol apresentam grande potencial de utilização na indústria de batatas.

REFERÊNCIAS

- AKYOL, H. et al. Phenolic Compounds in the Potato and Its Byproducts: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 17, n. 6, 2016. ISSN 1422-0067.
- ALBISHI, T. et al. Phenolic content and antioxidant activities of selected potato varieties and their processing by-products. *Journal of Functional Foods*, v. 5, n. 2, p. 590-600, 2013/04/01/ 2013. ISSN 1756-4646. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464612001909>.
- ALI, H. M. et al. Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-cysteine reaction products. *J Food Sci Technol*, v. 52, n. 6, p. 3651-9, Jun 2015. ISSN 0022-1155 (Print) 0022-1155.
- ANDRÉ, C. M. et al. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistry*, v. 70, n. 9, p. 1107-1116, 2009/06/01/ 2009. ISSN 0031-9422. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942209002829>.
- ARIAS, E. et al. Browning prevention by ascorbic acid and 4-hexylresorcinol: different mechanisms of action on polyphenol oxidase in the presence and in the absence of substrates. *Journal of food science*, v. 72, n. 9, p. C464-C470, 2007. ISSN 0022-1147.
- BRITO, C. A. K. D. et al. Características da atividade de peroxidases de abacaxis (*Ananas comosus* (L.) Merrill) da cultivar IAC gomo-de-mel w do clone IAC-1. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, v. 2, n. 25, p. 244-249, 2005.
- BURLINGAME, B.; MOUILLÉ, B.; CHARRONDIERE, R. Nutrients, bioactive non-nutrients and anti-nutrients in potatoes. *Journal of food composition and analysis*, v. 22, n. 6, p. 494-502, 2009. ISSN 0889-1575.
- CENCI, S. *Processamento mínimo e frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem*. 1. Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. 144.
- CHISARI, M.; BARBAGALLO, R. N.; SPAGNA, G. Characterization of Polyphenol Oxidase and Peroxidase and Influence on Browning of Cold Stored Strawberry Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 9, p. 3469-3476, 2007/05/01 2007. ISSN 0021-8561. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf063402k>.
- CHUN, O. K. et al. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 85, n. 10, p. 1715-1724, 2005. ISSN 0022-5142.
- MCEVILY, A. J.; IYENGAR, R.; OTWELL, W. S. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, v. 32, n. 3, p. 253-273, 1992. ISSN 1040-8398.
- MISHRA, B. B.; GAUTAM, S. Polyphenol Oxidases: Biochemical and molecular characterization, distribution, role and its control. *Enzyme Engineering*, v. 5, n. 1, p. 141-149, 2016.
- OMS-OLIU, G. et al. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biology and Technology*, v. 57, n. 3, p. 139-148, 2010/09/01/ 2010. ISSN 0925-5214. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521410000840>.
- PINELI, L. L. O. et al. Caracterização química e física de batatas ágata e monalisa minimamente processadas. *Food Science and Technology*, v. 26, p. 127-134, 2006. ISSN 0101-2061.



- RICHARD, F. C. et al. Cysteine as an inhibitor of enzymic browning. 1. Isolation and characterization of addition compounds formed during oxidation of phenolics by apple polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 39, n. 5, p. 841-847, 1991. ISSN 0021-8561.
- RICHARD-FORGET, F. C.; GOUZY, P. M.; NICOLAS, J. J. Cysteine as an inhibitor of enzymic browning. 2. Kinetic studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 40, n. 11, p. 2108-2113, 1992. ISSN 0021-8561.
- SON, S. M.; MOON, K. D.; LEE, C. Y. Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chemistry*, v. 73, n. 1, p. 23-30, 2001. ISSN 0308-8146.
- TSOUVALTZIS, P.; BRECHT, J. K. Inhibition of Enzymatic Browning of Fresh-Cut Potato by Immersion in Citric Acid is Not Solely Due to pH Reduction of the Solution. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 41, n. 2, p. e12829, 2017/04/01 2017. ISSN 0145-8892. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jfpp.12829>. Acesso em: 2019/04/15.
- WANG, Q. G. et al. Effects of postharvest curing treatment on flesh colour and phenolic metabolism in fresh-cut potato products. *Food Chemistry*, v. 169, p. 246-254, 2015. ISSN 0308-8146.
- ZHANG, X.; LIU, C. J. Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Mol Plant*, Nov 9 2014. ISSN 1674-2052.