

LUIZ FERREIRA COELHO JÚNIOR

ALTERAÇÕES NO METABOLISMO OXIDATIVO ENVOLVIDAS NO
ESCURECIMENTO EM DIFERENTES REGIÕES DE INHAME NA PÓS-COLHEITA

Serra Talhada-PE

2015

**C
O
E
L
H
O**

**J
Ú
N
I
O
R**

**L
F**

**A
L
T
E
R
A
Ç
Õ
E
S**

**N
O**

**M
E
T
A
B
O
L
I**

**·
·
2
0
1
5**

LUIZ FERREIRA COELHO JÚNIOR

ALTERAÇÕES NO METABOLISMO OXIDATIVO ENVOLVIDAS NO
ESCURECIMENTO EM DIFERENTES REGIÕES DE INHAME NA PÓS-COLHEITA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

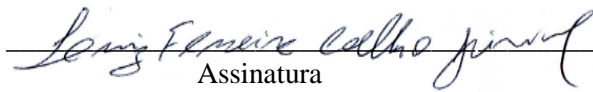
Orientador: Prof. Dr. Adriano do Nascimento Simões

Co-orientador: Prof. Dr. Sérgio Luiz Ferreira da Silva

Serra Talhada-PE

2015

Com base no disposto na **Lei Federal N° 9.610**, de 19 de fevereiro de 1998. [...] Autorizo para fins acadêmicos e científico a UFRPE/UAST, a divulgação e reprodução PARCIAL, desta dissertação “Alterações no metabolismo oxidativo envolvidas no escurecimento em diferentes regiões de inhamo na pós-colheita”, sem ressarcimento dos direitos autorais, da obra, a partir da data abaixo indicada ou até que manifestação em sentido contrário de minha parte determine a cessação desta autorização.


Assinatura

06/02/2015
Data

Ficha catalográfica

S672a Coelho Júnior, Luiz Ferreira.
Alterações no metabolismo oxidativo envolvidas no escurecimento em diferentes regiões de inhamo na pós-colheita / Luiz Ferreira Coelho Júnior. – 2015.
43 f.: il.
Orientador: Adriano do Nascimento Simões
Co-orientador: Sérgio Luiz Ferreira da Silva.
Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Unidade. Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada, 2015.
Referências e apêndice.

1. Temperatura. 2. Embalagem. 3. Metabolismo - fenóis. 4. Proteção oxidativa. I. Simões, Adriano do Nascimento, orientador. II. Silva, Sérgio Luiz Ferreira da., Co-orientador. III. Título.

CDD 631

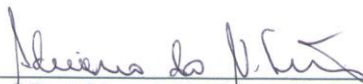
LUIZ FERREIRA COELHO JÚNIOR

ALTERAÇÕES NO METABOLISMO OXIDATIVO ENVOLVIDAS NO
ESCURECIMENTO EM DIFERENTES REGIÕES DE INHAME NA PÓS-COLHEITA

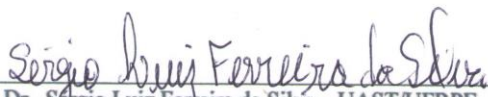
Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

APROVADO em: 06/02/2015.

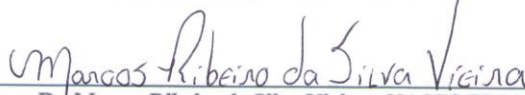
Banca Examinadora



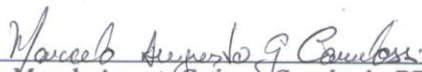
Prof. Dr. Adriano do Nascimento Simões – UAST/UFPE
Orientador



Prof. Dr. Sérgio Luiz Ferreira da Silva – UAST/UFPE
Co-orientador, Examinador Interno



Dr. Marcos Ribeiro da Silva Vieira – UAST/UFPE
Examinador Externo



Prof. Dr. Marcelo Augusto Gutierrez Carmelossi – DTA/UFS
Examinador Externo

Aos meus pais, Luiz Ferreira Coelho e Ivonete Moraes Coelho, a minha esposa Nathane Jamilly Mendes de Assis, ao meu filho Cauã Lucas de Assis Coelho aos demais familiares, e a todos que acreditaram no meu potencial, me apoiando neste desafio.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado condições de lutar e alcançar os objetivos pretendidos. Não nasci rico, mas isso não me impediu de ver riquezas na capacidade de transformar vida em presente e conquistas.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE/UAST).

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida durante o curso.

Ao professor Adriano do Nascimento Simões, pela orientação, contribuições e paciência, contribuindo para meu crescimento profissional e principalmente pela amizade construída ao longo do curso.

Ao professor Sérgio Luiz, pela co-orientação e contribuições para a realização desse trabalho.

Aos amigos do Núcleo de Estudos em Fisiologia e Pós-colheita de Frutas e Hortaliças (NEFP), Daniel, Domingos, Moab, Maria José, Valécia, Maria Aparecida e Janaina. Agradeço a todos pela ajuda na execução desse trabalho.

Aos amigos do mestrado Amaury, Ariana, Gerffeson, Lucivania, Nathalia, Ricardo e Thiago pela boa convivência contribuições.

Enfim, a todos os funcionários, professores, técnicos, amigos da UFRPE/UAST.

RESUMO

O inhame (*Dioscorea* spp.), após cortado escurece rapidamente, reduzindo sua qualidade. Isso é uma das causas de perdas na pós-colheita. Acredita-se que em raiz de inhame, o metabolismo oxidativo envolvido no escurecimento é mais intenso quando mais próximo do corte, no qual pode ser agravado pela embalagem e temperatura. Assim, objetivo do presente trabalho foi investigar as alterações na atividade de enzimas e metabólitos do metabolismo oxidativo em diferentes regiões do tecido cortado, associando-se com evolução do escurecimento, em inhame conservado. As raízes de inhame foram descascadas, embaladas em sacos de polipropileno de 4 µm de espessura e mantidas a 5 ± 2 °C e 26 ± 2 °C. As rodela de inhame mantidas a 26 °C (ambiente) foram avaliadas por 0, 2; 4; 6; 8; 10 e 12 horas. As rodela mantidas a 5 ± 2 °C 0, 3; 6; 9; 12 e 15 dias. Amostras foram coletadas em duas regiões da rodela de inhame, a 0-5 mm e 5-10 mm da superfície do corte. Avaliou-se a análise visual, conteúdo de fenóis solúveis totais, atividades das enzimas polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e conteúdo de ácido tiobarbitúrico (TBARS). A região mais superficial é mais responsiva quanto a atividade da PPO, POD, SOD e CAT, também mais instável em relação aos fenóis solúveis totais e TBARS, quando oriundo de rodela de inhame mantidos a 26 °C. A refrigeração associada a embalagem reduziu a atividade das enzimas PPO, POD, SOD e CAT, aumenta APX. Assim como, manteve mais estáveis o teor de fenóis solúveis totais e TBARS. Os resultados demonstram que o inhame possui metabolismo oxidativo diferenciado em função da região amostrada, influenciando no escurecimento, no qual é minimizado com o uso de embalagem associado a refrigeração.

Palavras-chave: Temperatura, embalagem, metabolismo dos fenóis, proteção oxidativa

ABSTRACT

Yam (*Dioscorea* spp.), after being cut darkens rapidly, reducing its quality. This is one of the causes of postharvest losses. It is believed that in the root of yam, the oxidative metabolism involved in the darkening is more intense closer to the cutting, which can be aggravated by the packaging and temperature. Thus, the aim of the study was to investigate the alteration in the activity of the enzymes and metabolites of the oxidative metabolism in different areas of the cut tissue, associating it with the evolution of the darkening, in preserved yam. The roots of yam were disposed, packed in polypropylene bags of 4 μm in width and kept at 5 ± 2 °C and 26 ± 2 °C. The rings of yam kept at 26 °C (ambient) were evaluated for 0, 2; 4; 6; 8; 10 and 12 hours. The rings kept at 5 ± 2 °C 0, 3; 6; 9; 12 and 15 days. It was collected samples in two areas of the yam's ring, at 0-5 mm and 5-10 mm of the cut's surface. It was evaluated the visual analysis, the content of total soluble phenols, the activity of the enzymes polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), superoxide dismutases (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and content of thiobarbituric acid (TBARS). The most superficial area is more responsive as for the activity of the PPO, POD, SOD and CAT, also more unstable in relation to the total soluble phenols and TBARS, when originated from the yam's rings kept at 26 °C. The refrigeration associated to the packaging reduced the activity of the enzymes of the PPO, POD, SOD and CAT, increases APX. As well as, it kept more stable the level of total soluble phenols and TBARS. The results show that yam has an individualized oxidative metabolism in function of the sampled area, influencing in the darkening, which is diminished by the usage of packaging associated with refrigeration.

Keywords: Temperature, packaging, metabolism of the phenols, oxidative protection

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Amostragem de duas regiões do segmento de inhame foram coletadas, uma correspondente a 5 mm superficiais e 5 a 10 mm mais internos a superfície..... 16
- Figura 2 Absorbância a 725 nm em função da concentração de ácido gálico para a Confecção da curva de calibração Secções de rodela de tubérculo de inhame..... 19
- Figura 3 Perda de massa fresca em rodela de inhame embalado e não embalado, mantido a 5 ° C e 26 ° C. Médias seguidas de mesma letra minúscula entre linhas e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % e de probabilidade..... 23
- Figura 4 Análise visual (A), Conteúdo de ácido gálico (B), polifenoloxidase (C), peroxidase (D), superóxido dismutase (E), catalase (F), peroxidase do ascorbato (G) e conteúdo de TBARS (H) em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame embaladas e não embaladas mantidas a 26 ° C. 24
- Figura 5 Análise visual (A), Conteúdo de ácido gálico (B), polifenoloxidase (C), peroxidase (D), superóxido dismutase (E), catalase (F), peroxidase do ascorbato (G) e conteúdo de TBARS (H) em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame embaladas e não embaladas mantidas a 5 ° C. 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Notas, critérios e imagens para quantificação da análise visual em rodela de inhame minimamente processado. Ao lado esquerdo fotos ilustrando a aparência conforme os critérios utilizados	17
Tabela 2	Concentração e volumes de ácido gálico, metanol, água destilada, Folin-Ciocalteu e Na_2CO_3 em tubos de ensaio para a confecção calibração.....	18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAL E MÉTODOS	15
2.1 Obtenção da matéria prima	15
2.2 Descrição do experimento	15
2.3 Avaliações	16
2.3.1 Perda de Massa.....	16
2.3.2 Análise Visual.....	16
2.3.3 Fenóis Solúveis Totais	18
2.3.4 Extração e ensaio da Atividade da Polifenoloxidase (PPO; EC:1.10.3.1) e Peroxidase (POD; EC:1.11.1.7).....	19
2.3.5 Extração e ensaio da Atividade da superóxido dismutase (SOD; EC:1.15.1.1) e da catalase (CAT; EC:1.11.1.6)	20
2.3.6 Extração e ensaio da atividade da Peroxidase do ascorbato (APX; EC:1.11.1.1)	21
2.3.7 Conteúdo de Ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	21
2.3.8 Análise estatística.....	22
3 RESULTADOS	23
4 DISCUSSÃO	29
5 CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS	34
APÊNDICE	39

1 INTRODUÇÃO

O inhame (*Dioscorea* spp.), é uma planta monocotiledônea, da família *Dioscoreaceae*, herbácea, possui raiz tuberosa, alongada, caule volúvel e cilíndrico. É um gênero bastante disperso. Planta poliplóide de propagação vegetativa, constitui a base alimentar de mais de 100 milhões de pessoas em todo mundo, sobretudo nos trópicos úmidos e sub-úmidos (MIGNOUNA et al., 2003). O continente africano é o maior produtor mundial, destacando a Nigéria 38 milhões de toneladas em 2012 (FAOSTAT, 2013).

No Brasil, estima-se a ocorrência de 150 a 200 espécies de *Dioscorea*, único gênero da família encontrado em todo país (PEDRALLI, 2002). Estima-se que a produção brasileira de inhame girou em torno de 246 mil toneladas em 2012 (FAOSTAT, 2013). Nos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas gerais, Paraíba e Pernambuco encontra-se as maiores produções.

O escurecimento é uma desordem que atinge alto número de raízes comestíveis como: mandioca; batata; inhame, dentre outras. Em raízes de mandioca o escurecimento acontece entre 24 e 72 horas em ambiente após a colheita, desencadeando o processo de deterioração pós-colheita, tornando-as impróprias pro consumo e comercialização (REILLY et al, 2004; GARCÍA et al., 2013). Em inhame, dependendo da espécie, logo que cortado inicia uma descoloração muito rápida, de poucos minutos a algumas horas. Isso também é verificado em mandioca de mesa (GARCÍA et al., 2013), taro (LEE et al., 2007), batata (YOU et al., 2012; MA et al., 2010), alface (KE e SALTVEIT, 1989), em todos os casos, após corte. Esses tecidos cortados, geralmente, possuem incrementos no conteúdo de compostos fenólicos totais (CHOI et al., 2005); alta atividade da polifenoloxidase (CANTO et al., 2013); da fenilalanina amônia-liase (SALTVEIT, 2000); da peroxidase (BRECHT, 1995) dentre outras enzimas do metabolismo dos fenilpropanóides.

XU et al. (2013) evidenciam o envolvimento da dismutase do superóxido e da catalase na remoção de EROS em raízes de mandioca de mesa nas primeiras 24 horas após a colheita. Além disso, o dano de membrana, quantificado pela peroxidação lipídica, também foi relacionado com a deterioração fisiológica pós-colheita (ISAMAH et al., 2003; XU et al., 2013). Isso mostra o envolvimento das espécies reativas de oxigênio, juntamente com enzimas envolvidas no metabolismo de defesa, SOD, CAT e APX no processo de escurecimento do tecido mais superficial em mandioca de mesa (FREIRE et al., 2015).

Estudos preliminares, mostraram que inhame cortado no formato palito oriundos da extremidade e do interior da raiz, após ser frito, os palitos obtidos das extremidades apresentaram maior escurecimento e amargor, intensificando-se durante a conservação refrigerada. Este fato pode estar relacionado com incremento de fenóis durante a conservação em inhame (ONAYEMI e IDOWU,1998), no qual pode ser influenciado pela região da raiz (ISAMAH, et al., 2000; AQUINO-BOLAÑOS e MERCADO-SILVA, 2004).

Assim, acredita-se que em raiz de inhame, o metabolismo oxidativo envolvido no escurecimento é mais intenso quando mais próximo do corte, no qual pode ser agravado pela temperatura e pela embalagem.

Desse modo, o objetivo do estudo foi investigar as alterações na atividade de enzimas e fitoquímicos no metabolismo oxidativo em regiões próximas do corte, associando-se com evolução do escurecimento, em inhame conservado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1- Obtenção de matéria-prima

O inhame (*Dioscorea* spp.), foi adquirido na cidade de Serra Talhada-PE. Foram transportados para Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE, na Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST) e selecionados em relação a tamanho, diâmetro e massa.

As raízes selecionadas foram lavadas em água corrente com auxílio de escova. Um grupo de inhame foi mantido a 5 °C por 24 horas. Outra quantidade de inhame foi mantida por um mesmo período a 26 °C (temperatura ambiente).

2.2- Descrição do experimento

As raízes foram cortadas em segmentos com espessura de 2 cm (\pm 80 g). Foram descascadas, embaladas em sacos de polipropileno de 4 μ m de espessura e mantidas a 5 ± 2 °C e 26 ± 2 °C. Um grupo de inhame cortado permaneceu sem embalagem a 26 ± 2 °C. O inhame conservado a 26 ± 2 °C foi avaliado no início (0 hora) e após 2; 4; 6; 8; 10 e 12 horas. Os mantidos a 5 ± 2 °C foram avaliados no início (dia 0) e após 3; 6; 9; 12 e 15 dias.

As amostras foram coletadas utilizando um extrator com dimensões de 0,8 x 0,5 x 0,8 cm (0,32 cm³). Duas regiões, do segmento de inhame foram coletadas, uma correspondente a 5 mm superficiais e outra de 5 a 10 mm mais internos (Figura 1)

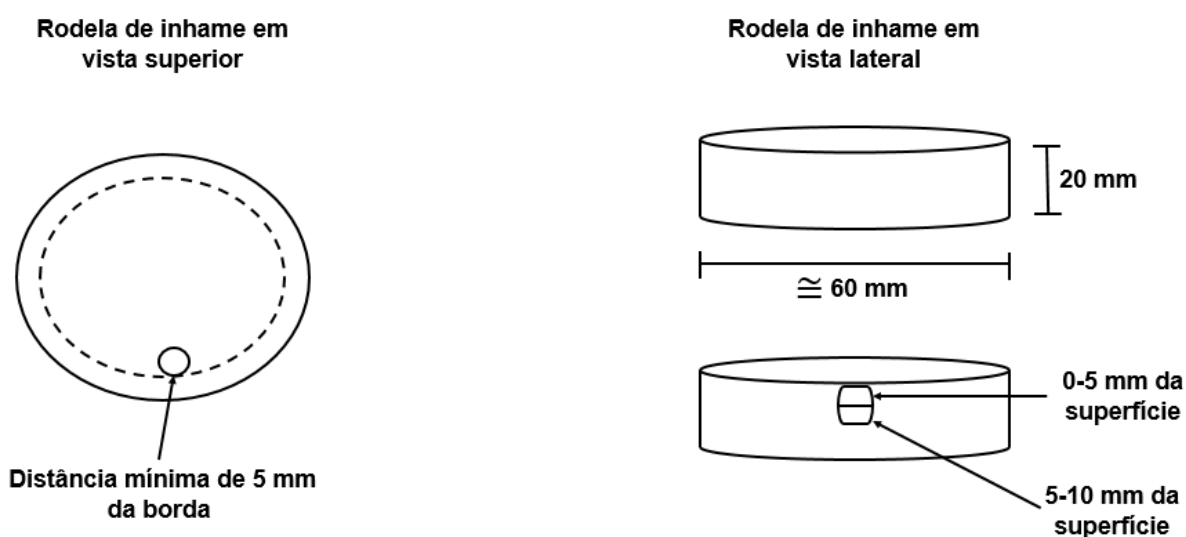


Figura 1. Vista superior e lateral de segmentos de inhame. A vista superior mostra a região na qual foram coletadas amostras, no mínimo 0-5 mm distantes da borda. A vista lateral, mostra as dimensões aproximadas dos segmentos e as duas regiões que foram amostradas: 0-5 mm e 5- 10 mm da superfície cortada.

2.3- Avaliações

Perda de massa fresca

Foi obtida por meio da diferença da massa inicial (tempo zero) e massa final. As amostras foram pesadas em balança semianalítica a cada tempo de avaliação, sendo a porcentagem de perda de massa determinada pela seguinte fórmula:

$$PMF = \frac{MFf - MFi}{MFi} \times 100$$

Em que:

PMF= perda de massa fresca em (%)




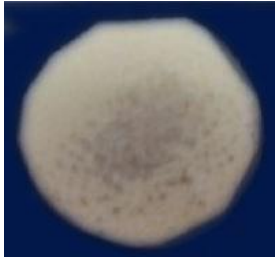

MFi= massa fresca inicial em (g)

MFf= massa fresca final em (g)

Análises visual

A análise visual foi realizada com base em uma escala de notas subjetiva (SILVA, 2014). Foram atribuídas notas de 5 a 1 para o material avaliado tendo como limite aceitável a nota 3 (Tabela 1).

Tabela 1. Notas, critérios e imagens para quantificação da análise visual em rodela de inhame minimamente processado.

IMAGENS	CRITÉRIOS	NOTAS
	<p>Rodela com superfície branca característica, nenhum indício de manchas amarronzadas, aparência e odor excelentes para o consumo.</p>	5
	<p>Rodela com mudança na tonalidade da cor, em relação ao dia inicial, mas com qualidade para comercialização.</p>	4
	<p>Rodela com até 10% de sua superfície com moderada intensidade de manchas amarronzadas. Limite de aceitação.</p>	3
	<p>Rodela com aproximadamente 50 % da área com coloração amarronzada na superfície, impróprias para o consumo.</p>	2
	<p>Rodela com todos os sintomas descritos, além de odor alcoólico; totalmente impróprio para o consumo.</p>	1

Fenóis solúveis totais

Quantificado de acordo com método de FOLIN-CIOCALTEAU (1927). A extração foi realizada a partir da maceração de 2 g gramas do tecido interno e externo em almofariz contendo 10 mL de metanol. Em seguida, as amostras permaneceram em repouso por 20 horas no escuro a 4 °C. Após esse período foi centrifugado a 7960 x g a 2 °C durante 21 minutos.

O ensaio, foi realizado com a utilização de 150 µL do sobrenadante, 2400 µL de água destilada, 150 µL de Folin Cioucauteu (0,25 N). A mistura foi homogeneizada, durante 3 minutos. Adicionaram-se 300 µL de carbonato de cálcio (1 N). Os tubos em seguida foram mantidos no escuro em temperatura ambiente por 2 horas.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (modelo libra S8; Biochrom) a 725 nm e os resultados foram expressos em µg de FST g⁻¹ de matéria fresca. Os fenóis solúveis totais foram quantificados a partir de uma curva padrão utilizando o ácido gálico (Tabela 2), sendo gerado uma curva de regressão (Figura 2).

Tabela 2. Concentração e volumes de ácido gálico, metanol, água destilada, Folin-Ciocalteau e Na₂CO₃ em tubos de ensaio para a confecção calibração.

Ácido gálico, mM	Ácido gálico, (2 nM; µL)	Metanol, (P.A.:µL)	Água destilada, mL	FCR, µL	Na ₂ CO ₃ µL
0,0	0	150	2,4	150	300
0,01	15	135	2,4	150	300
0,02	30	120	2,4	150	300
0,03	45	105	2,4	150	300
0,04	60	90	2,4	150	300
0,05	75	75	2,4	150	300

FCR: Folin Cioucauteu reagente (0,25 N); Na₂CO₃: carbonato de sódio (1 N).

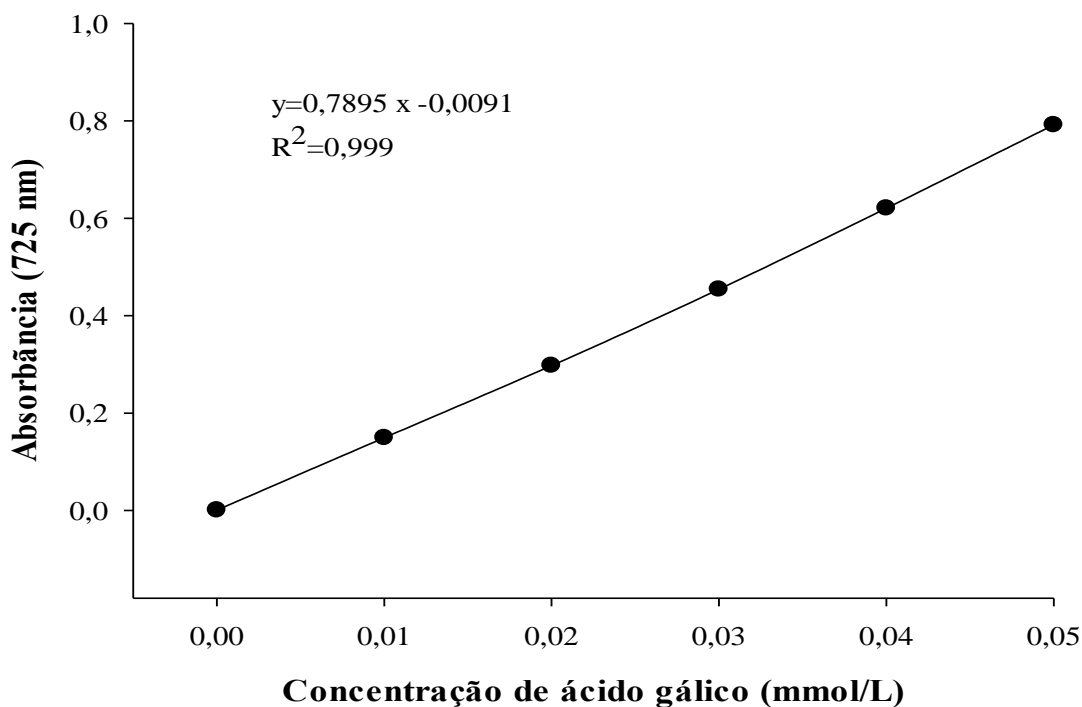


Figura 2. Absorbância a 725 nm em função da concentração de ácido gálico para a confecção da curva de calibração.

Extração e ensaio da Atividade da polifenoloxidase (PPO; EC:1.10.3.1) e peroxidase (POD; EC:1.11.1.7)

A extração de proteína foi realizada conforme a metodologia descrita por Silva (1981) SIMÕES, et al., (2015). Foi realizado a homogeneização de 0,25 g tecido fresco externo (0-5 mm) e interno (5-10 mm) em 6 mL de tampão fosfato de sódio 0,2M (pH 6,0) mantido previamente a 4 °C. O extrato foi centrifugado a 7.960 x g por 23 minutos a 4 °C.

O ensaio da PPO foi determinado pela adição de 25 µL do sobrenadante ao meio de reação contendo 1,375 mL de tampão de fosfato 0,2 M, (pH 6,0) e 1,5 mL de catecol 0,2 M. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Biochrom; modelo libra S8) a 425 nm, a uma temperatura de 25 °C, por dois minutos com intervalo entre leituras de 10 segundos.

A atividade da PPO foi calculada com base no coeficiente de extinção molar de 3.400 mM⁻¹ cm⁻¹ para catecol, e expressa em nmol min⁻¹ g⁻¹ MF.

O ensaio da POD foi determinado pela adição de 300 µL do sobrenadante ao meio de reação contendo 1 mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 6,0), 100 µL de guaiacol (0,5%) e 100 µL de peróxido de hidrogênio (0,08%). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro

(Biochrom; modelo libra S8) a 470 nm, a uma temperatura de 30 °C, por três minutos com intervalo entre leituras de 30 em 30 segundos.

A atividade da peroxidase foi calculada com base no coeficiente de extinção molar de 26,6 mM⁻¹ cm⁻¹ para guaicol, e expressa em nmol min⁻¹ g⁻¹ MF.

Extração e ensaio da Atividade da superóxido dismutase (SOD; EC:1.15.1.1) e da catalase (CAT; EC:1.11.1.6)

Foi realizada a homogeneização de 0,25 g tecido externo (0-5 mm) e interno (5-10 mm) em 6 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH =7,0). O extrato foi centrifugado a 7.960 x g por 23 minutos a 4 °C.

A atividade da superóxido dismutase SOD foi determinada como descrito por (GIANNOPOLITIS e RIES, 1977). Alíquotas de 100 µL do sobrenadante foram adicionadas a 1.660 µl de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,8) contendo (1 µM EDTA e 13 mM de metionina), 40 µL de riboflavina 1mM e 200 µl de Nitro blue tetrazolium chloride (NBT) a 750 µM.

A reação foi realizada em câmara clara, permanecendo sob incidência de luz (duas lâmpadas fluorescente de 18 W) por cinco minutos. As leituras foram feitas a 560 nm. A atividade foi determinada com base na inibição da redução de NBT, definindo-se uma unidade de atividade como a quantidade da enzima necessária para inibir 50 % da fotoredução (BEAUCHAMP e FRIDOVICH, 1971). A atividade foi expressa em U.A min⁻¹ g⁻¹ MF.

O ensaio da CAT foi determinado de acordo com HAVIR e MCHALE (1987). Alíquotas de 300 µL do sobrenadante foram adicionadas a 2,7 ml de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,0), contendo H₂O₂ (20 mM). A reação ocorreu a 30°C e foi acompanhado pelo decaimento da absorbância a 240 nm durante três minutos, com leituras sucessivas a cada 30 segundos.

A atividade da catalase foi calculada com base no coeficiente de extinção molar de 36 M⁻¹ cm⁻¹ para o H₂O₂, e expressa em nmol H₂O₂ min⁻¹ g⁻¹ MF

Extração e ensaio da atividade da Peroxidase do ascorbato (APX; EC:1.11.1.1)

A peroxidase de ascorbato foi determinada de acordo com NAKANO e ASADA (1981), com adaptações. Foi realizada a homogeneização de 0,25 g do tecido externo (0-5 mm) e interno (5-10 mm) em 6 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 μ M (pH 7,0) contendo 1mM de ácido ascórbico. O extrato foi centrifugado a 7.960 x g por 23 minutos.

Alíquotas de 150 μ L do sobrenadante foram adicionadas ao meio de reação composto de 2.250 μ L de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 6,0), contendo 0,5 mM de ácido ascórbico. A reação foi iniciada pela adição de 600 μ L de H₂O₂ (30 mM) ao meio de reação e acompanhada pelo decaimento da absorbância a 290 nm em espectrofotômetro durante um minuto e meio, com leituras sucessivas em intervalos de 30 segundos. O coeficiente molar de extinção utilizado foi de 2,8 M⁻¹cm⁻¹ do ascorbato e o resultado foi expresso em nmol H₂O₂ min⁻¹ g⁻¹ MF

Peroxidação de lipídios (TBARS)

A peroxidação de lipídios foi estimada pelo conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme (HEATH e PACKER, 1968). Amostras 0,1 g do tecido externo (0-5 mm) e interno (5-10 mm) foram maceradas em almofariz com adição de 1,0 ml de ácido tricloroacético (TCA) a 6%. O extrato foi centrifugado a 7960 x g, por 15 min a 4 °C.

Foi adicionado 0,5 mL do sobrenadante a 2,0 mL do meio de reação contendo TCA 20% (p/v) e TBA 0,5% (p/v), em tubos e fechados. Os tubos foram mantidos a 95 °C, por 1 h, seguida por 30 minutos a 25 °C. Em seguida, foram feitas leituras a 532 e 660 nm. O conteúdo de TBARS foi estimado utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 155 mM⁻¹ cm⁻¹ e expresso em nmol g⁻¹ MF.

Análise estatística

O delineamento utilizado para rodelas que permaneceram refrigerada foi inteiramente casualizado em esquema fatorial, (2 x 6) sendo duas regiões da raiz (0-5 mm e 5 a 10 mm da superfície cortada) e seis tempos de avaliação, com três repetições. As rodelas mantidas em ambiente o fatorial foi (2 x 2 x 7) sendo duas regiões da raiz (0-5 mm e 5 a 10 mm da superfície cortada) duas condições, iname embalado e não embalado e sete tempos de avaliação, com três repetições.

Os dados foram transformados quando necessário, submetidos aos testes de normalidade, homocedasticidade, análise de variância, teste de Tukey a 5 % de probabilidade e regressão com auxílio ASSISTAT. Os gráficos foram gerados através do software Sigma Plot versão 12.

3- RESULTADOS

3.1- A superfície do inhame possui metabolismo diferenciado, influenciando no avanço do escurecimento em temperatura ambiente.

Observou-se uma perda de massa fresca acelerada nas rodela mantidas a 26 °C e não embaladas, apresentando diferenças significativas a partir de 2 horas (Figura 3 A). Isso não foi observado nas rodela embaladas, como também nas refrigeradas, no qual apresentaram baixa perda de massa fresca, mas não significativo quando mantidas em ambiente por 12 horas e significativo ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (Figura 3 B) se mantidos embaladas por 15 dias.

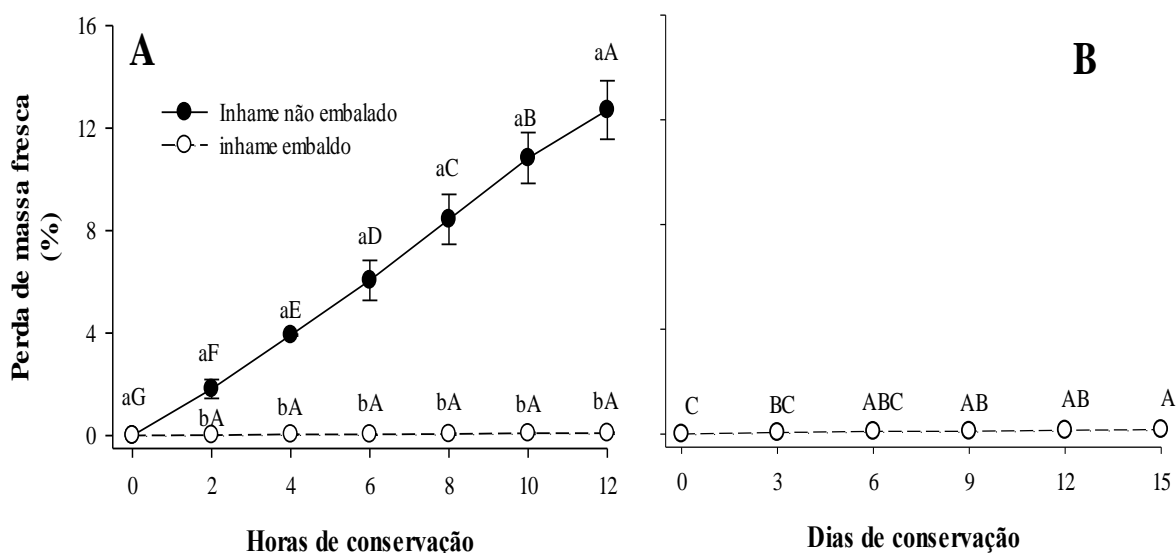


Figura 3. Perda de massa fresca em rodela de inhame embalado e não embalado, mantido a 26 °C (A) e 5 °C (B). Médias seguidas de mesma letra minúscula entre linhas e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

O escurecimento nas rodela de inhame mantidas a 26 C°, aumentou com o avanço do tempo. Resultando em menores notas na análise visual (Figura 4 A). Observou-se que as rodela de inhame não embaladas o avanço do escurecimento foi mais acelerado do que nas embaladas, onde após 12 horas, apresentou nota abaixo do limite de aceitação diferentemente das rodela embaladas que permaneceram com notas acima do limite de aceitação

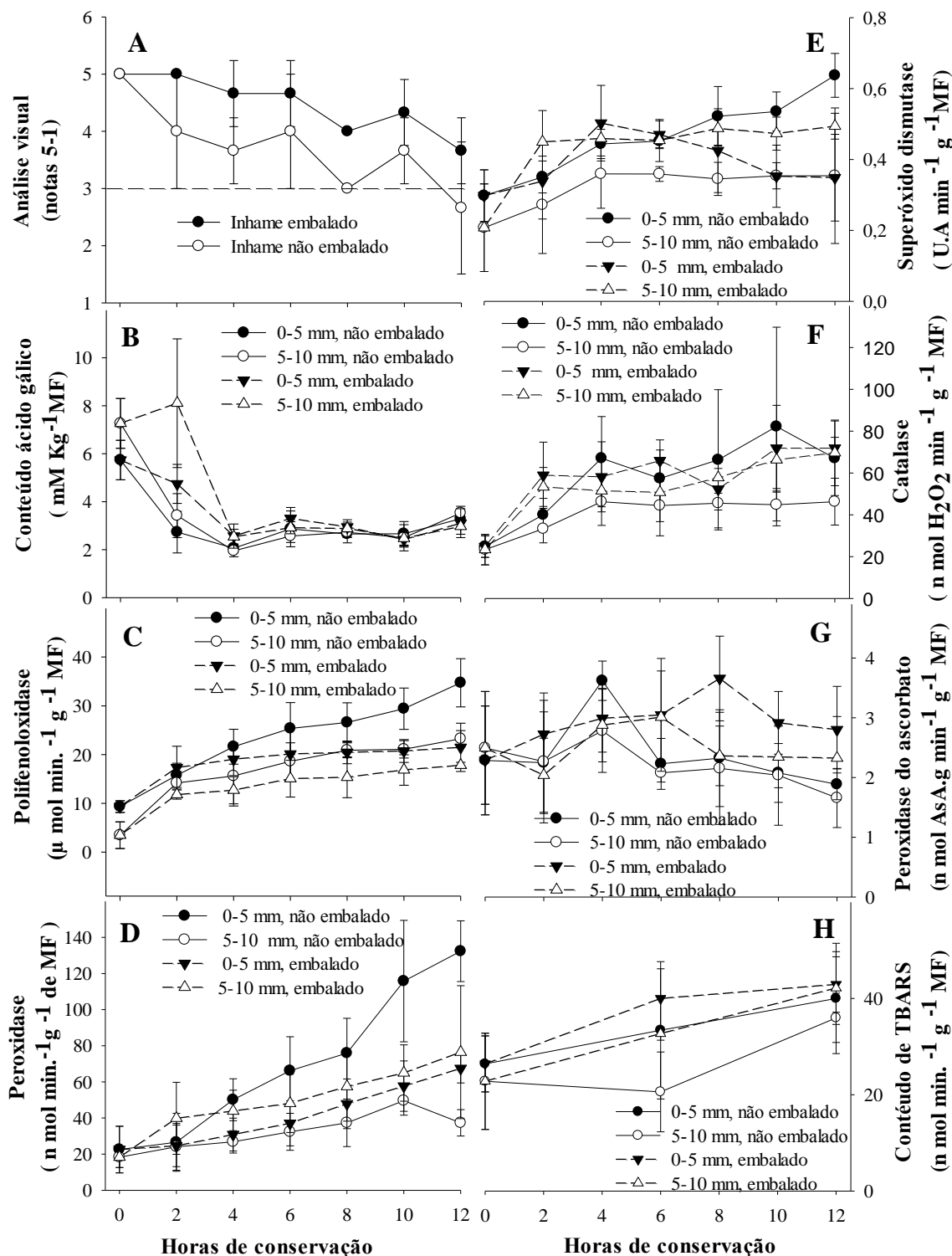


Figura 4. Análise visual (A), Conteúdo de ácido gálico (B), polifenoloxidase (C), peroxidase (D), superóxido dismutase (E), catalase (F), peroxidase do ascorbato (G) e conteúdo de TBARS (H) em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodelas de inhame embaladas e não embaladas mantidas a 26 ° C.

Esse avanço do escurecimento, pode estar diretamente ligado conteúdo de fenóis solúveis totais, onde foi observado uma diminuição no conteúdo de ácido gálico de aproximadamente 3 vezes nas primeiras 4 horas de avaliação, a 26 C°, independente das regiões estudadas (0-5 mm e 5-10 mm), e se o inhame estava embalado ou não, mantendo-se estável até as 12 horas (Figura 4 B).

A atividade da polifenoloxidase (PPO) imediatamente após o corte (0 hora) foi significativamente maior na porção superficial (0-5 mm) em relação ao mais interno (5-10 mm), nas rodela mantidas a 26° C (Figura 4 C; Apêndice 1). Após 12 horas, a região mais superficial (0-5 mm) apresentou uma diferença na atividade da PPO de 1,5 vezes em relação a região mais interna (5-10 mm), para as rodela não embaladas, e de 1,2 vezes para as embaladas (Figura 4 C).

No caso da atividade da peroxidase (POD), logo após o corte (0 hora), não foi observado diferença significativa entre as regiões estudadas, independente se não embalado ou embalado (Figura 4 D; Apêndice 2). A atividade da POD, após 12 horas, apresentou diferenças entre as regiões estudadas, onde a região superficial apresentou maiores atividade em relação a região interna, sendo essa diferença 3,5 vezes no inhame não embalado e 1,1 vezes para o embalado (Figura 4 D).

A atividade da superóxido dismutase (SOD) imediatamente após o corte (0 hora) foi maior na região superficial (0-5 mm) em relação a região interna (5-10 mm), apresentando diferença significativa (Figura 4 E; Apêndice 3). Isso não foi observado para catalase (CAT), no qual os valores médios foram semelhantes (Figura 4 F; Apêndice 4).

Após 12 horas, observou-se que a região superficial (0-5 mm) apresentou uma diferença na atividade da SOD de 1,8 vezes em relação a região interna (5-10 mm) para as rodela não embaladas, enquanto as embaladas, a diferença foi de 1,3 vezes (Figura 4 E). No caso da CAT, essa diferença às 12 horas entre a região superficial e interna foi de 1,5 vezes para rodela não embalada (Figura 4 F). Enquanto as rodela embaladas essas diferenças não foram observadas (Figura 4 F).

A atividade da peroxidase do ascorbato (APX) logo após o corte (0 hora), diferentemente da SOD e CAT, apresentou maior atividade na região interna (5-10 mm), mesmo não havendo diferença significativa (Figura 4 G; Apêndice 5) As rodela de inhame embaladas, apresentaram incrementos na atividade da APX em relação as rodela não embaladas, independente da região amostrada (Figura 4 G).

Após 12 horas, verificou-se diferença significativa na atividade da APX entre as rodela embaladas e não embaladas, onde o material embalado apresentou incremento na atividade (Figura 4 G; Apêndice 6).

Verificou-se que nos tecidos mais superficiais (0-5 mm), logo após o corte (0 h) o conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) apresentaram levemente superiores em relação ao mais interno (5-10 mm) (Figura 4 H). Essas diferenças se mantiveram após as 12 horas, porém essas diferenças não foram significativas (Figura 4 H; Apêndice 7).

3.2- Uso de embalagem associado a refrigeração, reduz a atividade do metabolismo enzimático envolvido no escurecimento.

O avanço do escurecimento nas rodela de inhame refrigeradas a 5 ° C, aumentou com o avanço do tempo. Porém, permanecendo superiores ao limite de aceitação até os 12 ° dia de avaliação (Figura 5 A).

Nas rodela mantidas refrigeradas, a queda no conteúdo de fenóis solúveis totais foi sutil, aos 12 dias, observou-se um decréscimo de aproximadamente 2 vezes nas duas regiões estudadas (0-5 e 5-10 mm) (Figura 5 B). Além disso, observou-se que os fenóis solúveis totais da região mais interna, sempre se manteve superior em todas as avaliações, mesmo que não significativo ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (Apêndice 8).

Na atividade da PPO e POD, também se verificou um aumento, porém, gradativo (Figura 5 C e D), sendo em menor intensidade quando comparado com as rodela mantidas sem refrigeração (Figura 4 C e D). Além disso, notou-se que ao final de 15 dias as diferenças encontradas entre a região superficial e interna foram de 4,12 vezes para PPO e 4 vezes para POD ambas significativas ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (Apêndice 9 e 10).

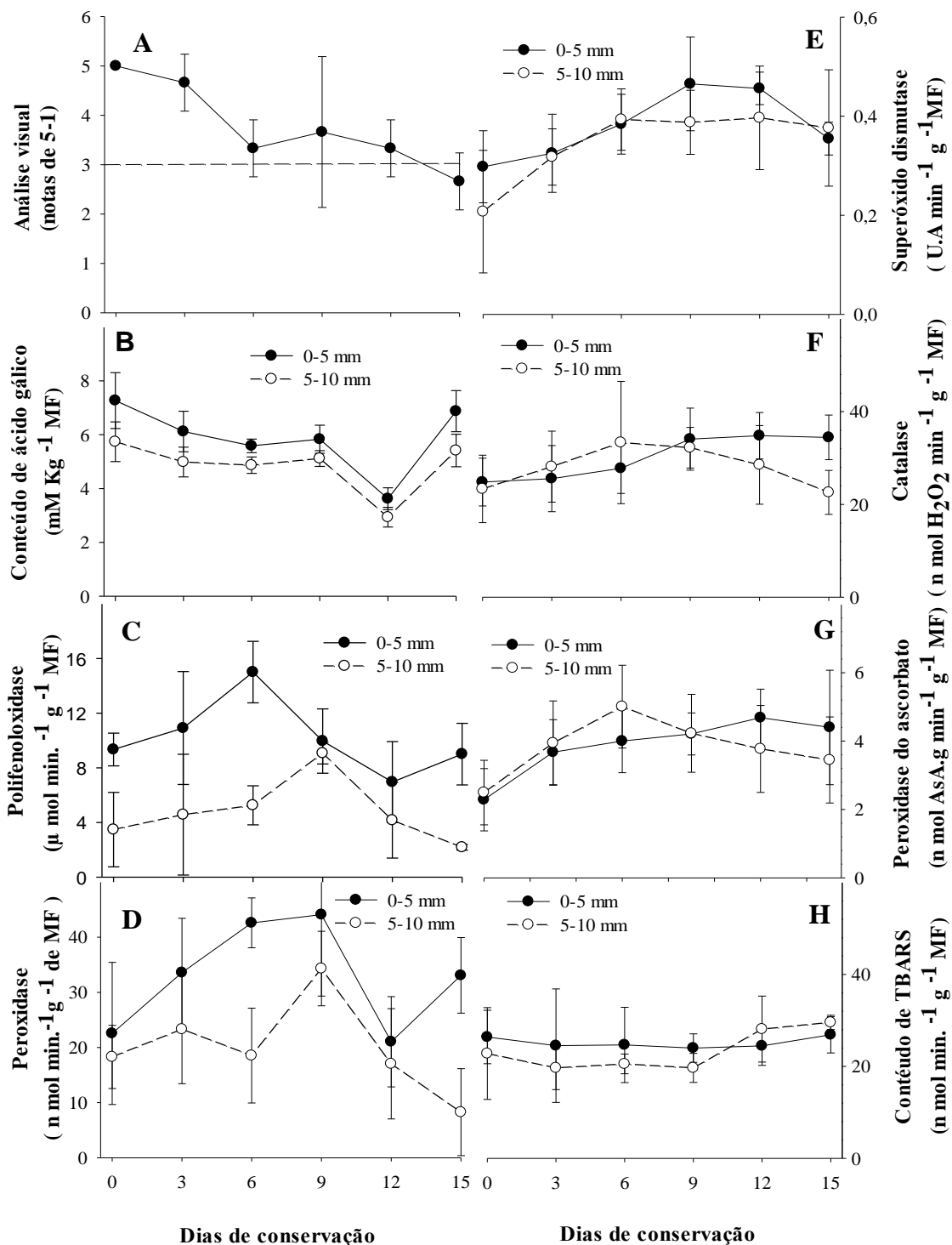


Figura 5. Análise visual (A), Conteúdo de ácido gálico (B), polifenoloxidase (C), peroxidase (D), superóxido dismutase (E), catalase (F), peroxidase do ascorbato (G) e conteúdo de TBARS (H) em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame embaladas mantidas a 5° C.

Nas rodela refrigeradas, observou-se um aumento gradativo na atividade da SOD e CAT (Figura 5 E e F). Porém, em menor intensidade quando comparado com as rodela mantidas sem refrigeração (Figura 4 E e F). Além disso, notou-se que ao final de 15 dias não se observou diferença significativa para atividade da SOD entre as regiões (Apêndice 11). Para a atividade da CAT apresentou diferença 1,5 vezes entre a região superficial e interna, sendo significativa ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (Figura 5 F; Apêndice 12).

A atividade da peroxidase do ascorbato (APX), foi maior na região interna em relação a superficial, se prolongando até o sexto dia de conservação (Figura 5 G). Após esse período a atividade da APX caiu tornando-se a atividade do tecido interno menor ou igual a da porção superficial (Figura 5 G). Além disso, notou-se que ao final de 15 dias a diferença encontrada entre a região superficial e interna foi de 1,4 vezes, porém não significativo (Apêndice 13).

O conteúdo de ácido tiobarbitúrico (TBARS) apresentou incrementos em seu conteúdo, podem sutil ao logo de 15 dias, onde a região superficial apresentou maiores conteúdos de TBARS até o 9 ° dia (Figura 5 H). Porém, esses incrementos não foram significativos entre as regiões estudadas (Apêndice 14).

4- DISCUSSÃO

A perda de massa fresca foi notável nas rodela mantidas a 26 °C e não embalado, sendo de 12,71 % após 12 horas (Figura 3 A). Diferentemente das rodela embaladas onde a perda de massa fresca foi muito baixa atingindo máximo de 0,10 % após 12 horas e 0,17% em 15 dias (Figura 3 A e B). Isso também foi observado nas rodela mantidas refrigeradas, ao logo de 15 dias de avaliação, porém significativas ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (Figura 3 B).

A região cortada expõe células inteiras e fragmentadas, e isso facilita a transferência de água para o ambiente (SIMÕES et al., 2010). DONEGÁ et al. (2013), observaram em inhame minimamente processado deposição de amido na superfície e consequentemente esbraguecimento, causado pela desidratação. No presente trabalho foi observado esse sintoma nas rodela mantidas em ambiente e não embaladas, sobrepondo, os sintomas de escurecimento.

O avanço do escurecimento nas rodela de inhame foi gradativo nas duas condições estudadas. Isso culminou na queda das notas da análise visual, no qual foi intensificado na temperatura ambiente (± 26 °C), pois atingiu o limite de aceitação às 8 e 12 horas, para as rodela não embaladas e embaladas, respectivamente (Figura 4 A). Entretanto, as rodela mantidas refrigeradas (± 5 °C), esses valores foram atingidos aproximadamente aos 12 dias (Figura 4 A).

Acompanhado à queda das notas na análise visual, também foi verificado uma diminuição no conteúdo de fenóis solúveis totais, no qual em ambiente foi mais intenso nas primeiras 4 horas, independente da região amostrada (Figura 4 B). As respostas encontradas ao longo da conservação nesse estudo, corroboram com os relatos de CANTO et al. (2013) em mandioca de mesa e YINGSANGA et al. (2008) em frutos de rambutan (*Nephelium lappaceum* Linn) conservados em temperatura ambiente. Essa diminuição no conteúdo de fenóis solúveis totais, pode estar relacionada com a cicatrização dos tecidos cortados com desvio em direção à formação de fenóis insolúveis (REYES et al., 2007).

Em ambiente refrigerado a diminuição do conteúdo de fenóis solúveis totais foram sutis, acredita-se que isso explique o retardo do escurecimento (Figura 4 B). Isso evidenciou que a embalagem associada à refrigeração pode diminuir os efeitos causado pelo corte. Resposta semelhante, também foi observado em raízes de jicama (AQUINO-BOLAÑOS e MERCADO-SILVA, 2004), diferentemente do que foi observado em folhas de alface, no qual a refrigeração proporcionou incrementos no conteúdo de fenóis solúveis totais (SALTVEIT,

2004), o que sugere que as mudanças nos fenóis ocorrem de maneira diferenciada nos diferentes tecidos (REYES et al., 2007).

Verificou-se que houve diferença significativa na atividade da polifenoloxidase (PPO), no início da avaliação, entre a superfície e a região mais interna (Figura 4 C e 5 C). Isso não foi observado para peroxidase (POD) (Figura 1 D e 2 D). Essa resposta pode estar relacionada com a re-síntese da POD, como observado por KE e SALTVEIT (1989) em alface, proporcionando uma resposta mais lenta em relação a PPO. Após 12 horas, a atividade da PPO e POD nas rodela mantidas a 26 °C, foi superior na região superficial, apresentando diferença para região interna de 1,2 a 1,6 vezes para PPO e de 1,2 a 3,5 vezes para POD (Figura 4 C e D).

No caso das rodela mantidas refrigeradas, esse incremento na atividade da PPO e POD foram mais sutis, notou-se que ao final de 15 dias as diferenças encontradas entre a região superficial e interna foram de 2,8 vezes para PPO e 4 vezes para POD ambas significativas (Figura 5 C e D).

Isso evidencia que a superfície estudada é menos responsiva para a atividade dessas enzimas em temperatura refrigerada. Podendo explicar, em parte, o escurecimento avançado dos inhames mantidos em ambiente (Figura 4 A), no qual o decréscimo nos fenóis solúveis totais foi mais acelerado (Figura 4 B), visto que, são substratos para a PPO (MISHRA et al., 2012), associado ao aumento de temperatura de conservação (AQUINO-BOLAÑOS & MERCADO-SILVA, 2004)

A atividade da POD pode ter ação sinérgica com a PPO, devido a oxidação dos compostos fenólicos solúveis, por meio da PPO, produzindo maior conteúdo de peróxido de hidrogênio, que é substrato para POD (SUBRAMANIAN et al., 1999). Essa relação entre a PPO e POD foi evidenciada neste trabalho, independente das condições estudadas (Figura 4 C e D; 5 C e D).

A atividade da superóxido dismutase (SOD), logo após o corte, apresentou valores absolutos maiores na região superficial em relação a interna, em ambas condições estudadas (Figura 1 E e 2 E). Diferentemente da catalase (CAT) e da peroxidase do ascorbato (APX), onde os valores após o corte foram semelhantes (Figura 4 E e F; 5 E e F). Possivelmente essa resposta estar relacionada com a ativação do complexo enzimático de defesa, no qual a princípio, atuam a SOD em seguida CAT e algumas peroxidases, como a APX (APEL e HIRT, 2004).

Após 12 horas, observou-se rodela mantida a 26 °C, a região mais superficial apresentou uma diferença na atividade da SOD, em relação a interna de 1,3 a 1,8 vezes (Figura 4 E). No caso da CAT, essa diferença às 12 horas entre a região superficial e interna foi de 1,5 vezes para rodela não embalada, nas rodela embaladas essas diferenças não foram observadas (Figura 4 F). Estudos realizados em diferentes regiões de raízes de inhame, evidenciam a influência da região na atividade de enzimas como SOD e CAT (ISAMAH et al., 2000). Assim como, em repolho, onde a região superficial apresentou incrementos na atividade de SOD e CAT (GORAJ et al., 2012).

Nas rodela mantida refrigerada, foi observado aumento em menor intensidade na atividade da SOD e da CAT, quando comparadas com as rodela mantida sem refrigeração (Figura 5 E e F). Possivelmente, inhames mantidos sem embalagem e não refrigerados, a porção de células mais superficiais que foram amostradas, estão expostas diretamente ao ambiente havendo a desidratação (SIMÕES et al., 2010), sendo isso mais um estresse iniciado pelo corte, no qual a região mais superficial ao corte é mais responsiva. Somando-se a isso, a temperatura ambiente estudada, 26 °C, parece que também tem efeito estimulador na atividade da SOD e CAT.

Nesse contexto associado a temperatura alta e ausência de embalagem potencializaram os sintomas de escurecimento, como também a atividade da SOD e CAT como demonstrado por XU et al. (2013). Por outro lado, nas rodela mantida refrigerada a atividade da SOD e da CAT, permaneceram mais estáveis durante a conservação. Isso pode refletir em menores danos nos sistemas de membranas, como observado também os baixos níveis de peroxidação de lipídeos (Figura 5 H). Sugerindo que a refrigeração minimiza os efeitos da produção de ROS e consequentemente aumento nas atividades dessas enzimas.

Na atividade da peroxidase do ascorbato (APX), as rodela embalada, obteve valores médios superiores a partir 6 horas de conservação em relação as não embalada. Essas diferenças foram de aproximadamente 1,4 vezes às 12 horas, e a diferença entre as regiões estudadas foi de 1,2 vezes (Figura 4 G).

A conservação refrigerada resultou em efeito contrário na atividade da APX, se comparado com a SOD e CAT, ou seja, incremento nas suas atividades foram mais intensos (Figura 5 G). Além disso, notou-se que ao final de 15 dias a diferença encontrada entre a região superficial e interna foi de 1,4 vezes, porém não significativa (Figura 5 G). Essa diferença entre as regiões pode estar relacionada com a manutenção de teores elevados de

ácido ascórbico associada com conservação refrigerada (ZHANG et al., 2009; GORAJ et al., 2012; TSANIKLIDIS et al., 2014).

O conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em rodelas mantidas em condição ambiente, apresentou valores médios superiores quando comparados as mantidas refrigeradas (Figura 4 H e 5 H). No final da avaliação em condição ambiente 12 horas e refrigerada 15 dias, foi observado que a região mais interna apresentou maior conteúdo de TBARS, porém, não significativo para ambas as condições estudadas. Isso pode estar relacionado com esgotamento dos componentes lipídicos, podendo ser a razão pela qual a peroxidação lipídica não é mais acentuada nos tecidos próximos ao ferimento (KARAKAS e YOLDIZ, 2007).

Nas rodelas mantidas refrigeradas, houve aumento gradativo no conteúdo de TBARS durante o período de avaliação (Figura 2 H). Isso pode estar relacionado com menor estresse, pela utilização de embalagem associado a refrigeração.

Os resultados do presente trabalho evidenciaram que as condições no qual foram submetidos os pedaços de inhame: sem embalagem e conservadas em temperatura alta, potencializaram as atividades das enzimas polifenoloxidase, peroxidase, superóxido dismutase, catalase e os danos nas membranas. Além disso, observou uma rápida queda no conteúdo de fenóis solúveis totais, culminando com o decréscimo das notas da análise visual. Com isso, acredita-se que nessas condições, a sinalização celular pode ocorrer de maneira mais intensa, mesmo nas regiões mais distantes do corte, o que resultou no escurecimento mais acelerado. Assim, a embalagem associado a refrigeração minimizou alterações no metabolismo oxidativo e redução nos danos de membranas. Possivelmente, por esses fatores resultaram em menos estresse nos tecidos.

Isso demonstra que o processamento do inhame deve ser realizado com rapidez, mantendo o mínimo possível esse material em ambiente, para que não haja a deterioração da matéria-prima e redução na qualidade e incremento nas perdas. Novos estudos devem ser realizados para evidenciar a influência da região da raiz na qualidade sensorial do inhame ao longo da conservação.

5- CONCLUSÕES

A região mais superficial é mais responsiva quanto a atividade da polifenoloxidase, peroxidase e também mais instável em relação aos fenóis solúveis totais, quando oriundo de rodela de inhame mantidos em ambiente.

A refrigeração associada a embalagem reduz a atividade das enzimas polifenoloxidase, peroxidase, superóxido dismutase e catalase, aumenta a peroxidase do ascorbato. Assim como, mantém mais estáveis o teor de fenóis solúveis totais e peroxidação lipídica de rodela de inhame.

Os resultados demonstram que o inhame possui metabolismo oxidativo diferenciado em função da região amostrada, influenciando no escurecimento, no qual é minimizado com o uso de embalagem associado a refrigeração.

REFERÊNCIAS

- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.
- 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 Biology and Technology**, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 275-283, 2004.
- BEAUCHAMP, C., FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, p.276–287, 1971.
- BRECHT, J. K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, v. 30, p.18–21, 1995.
- CANTO, A. R., FONSECA JÚNIOR, N. F., BELEIA, A. Alterações químicas e histológicas em mandiocas armazenadas das cultivares Catarina Amarela e Catarina Branca. **Acta Agronômica**, v. 62, n.2, p.105-113, 2013.
- CHOI, Y. J., TOMÁS-BARBERÁN, F.A., SALTVEIT, M.E. Wound-induced phenolic accumulation and browning in lettuce (*Lactuca sativa* L) leaf tissue in reduced by exposure to *n*-alcohols. . **Postharvest Biology and Technology**. v. 37, p.47–55, 2005.
- DONEGÁ, M. A.; TESSMER, M. A.; MOOZ, E. D.; DALL'ORTO, L. T. C.; SASAKI, F. F. C; KLUGE R. A. Fresh cut yam stored under different temperatures. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 248-254, 2013.
- FAO. FAOSTAT. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acessado em 17 jan. 2014.
- FOLIN, O. & CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v.73, 627– 650, 1927.

FREIRE, C. S., SIMÕES, A. N., BARROS JÚNIOR, A. P., VIEIRA, M. R. S., SILVA, S. L. F., SILVA, E. F. Activity of oxidative enzymes involved in the browning of minimally processed sweet cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 4, p. 296-302, 2015.

GARCÍA, J., SÁNCHEZ, H. C., ALONSO, L. Non-destructive sampling procedure for biochemical or geneexpression studies on post-harvest physiological deterioration of cassava roots. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p. 529–535, 2013.

GORAJ, S., LIBIK-KONIECZNY, M., SURÓWKA, E., ADEK, P. R., KALISZ, A. LIBIK, A., NOSEK, M., WALIGÓRSKI, P., MISZALSKI, Z. Differences in the activity and concentration of elements of the antioxidant system in different layers of *Brassica pekinensis* head. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, p.1158– 1164, 2012.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases.I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

HAVIR, E.A. e MCHALE, N.A. Biochemical and development characterization of multiples forms of catalase in Tobacco-Leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455. 1987.

HEATH, R.L. PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and Stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n.1, p. 189-198. 1968.

ISAMAH, G. K. ASAGBA, S. O., THOMAS, A. E. Lipid peroxidation, o-diphenolase, superoxide dismutase and catalase profile along the three physiological regions of *Dioscorea rotundata* Poir cv. Omi. **Food Chemistry**, v. 69, p.1-4, 2000.

ISAMAH, G. K. ASAGBA, S. O., EKAKITIE, A. O. Lipid peroxidation, activities of superoxide dismutase and catalase during post-harvest deterioration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) root tubers. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 52, p.129-133, 2003.

KARAKAS, B., YILDIZ, F. Peroxidation of membrane lipids in minimally processed cucumbers packaged under modified atmospheres. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1011–1018, 2007.

KE, D., SALTVEIT, M.E. Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. **Physiologia Plantarum**, v. 76, p.412–418, 1989.

LEE, M. Y., LEE, M. K., PARK, I. Inhibitory effect of onion extract on polyphenol oxidase and enzymatic browning of taro (*Colocasia antiquorum* var. *esculenta*). **Food Chemistry**, v. 105, p. 528-532, 2007.

MA, Y., WANG, Q., HONG, G., & CANTWELL, M. Reassessment of treatments to retard browning of fresh-cut Russet potato with emphasis on controlled atmospheres and low concentrations of bisulphite. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n., 7, p.1486–1494, 2010.

MIGNOUMA, H. D., ABANG, M. M., FAGBEMI, S. A. A comparative assessment of molecular marker assays (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea rotundata*) germplasm characterization. **Annals applied Biology**, v. 142, p. 269-276, 2003.

MISHRA, B. B., GAUTAM, S., SHARMA, A. Browning of fresh-cut eggplant: Impact of cutting and storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 67, p. 44–51, 2012.

NAKANO, Y. e ASADA, K. Hydrogen peroxide scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 1068-1072. 1981.

ONAYEMI, O., IDOWU, A. Physical and chemical changes in traditionally stored yam tubers *Dioscorea rotundata* Poir and *Dioscorea cayenensis* Lam. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 36, 588-591, 1988.

PEDRALLI G. *Dioscoreaceae e Araceae: Aspectos Taxonômicos, Etnobotânicos e Espécies Nativas com Potencial para Melhoramento Genético*. In: Simpósio Nacional sobre as Culturas

do Inhame e do Taro. **João Pessoa**, PB, EMEBA (Ed.) Esclarecimentos sobre as denominações dos gêneros *Dioscorea* e *Colocasia*. p.37-53, 2002.

REILLY, K., GÓMEZ-VÁSQUEZ., BUSCHMANN, H., TOHME, J. BEECHING, J. R. Oxidative stress responses during cassava post-harvest physiological deterioration. **Plant Molecular Biology**, v. 56, p. 625–641, 2004.

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.

SALTVEIT, M. E. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. **Postharvest Biology and Technology**, v. 21, p.61-69, 2000.

SALTVEIT, M. E. Effect of 1-methylcyclopropene on phenylpropanoid metabolism, the accumulation of phenolic compounds, and browning of whole and fresh-cut 'iceberg' lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 34, p.75-80, 2004

SILVA, E. F. **Marcadores bioquímicos e fisiológicos envolvidos na conservação de inhame (*Dioscorea* spp.) minimamente processado**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado – Produção Vegetal). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, PE, 2014.

SIMÕES, A. do N.; VENTRELLA, M. C.; MORETTI, C. L.; CARNELOSSI, M. A. G.; PUSCHMANN, R. Anatomical and physiological evidence of white blush on baby carrot surfaces. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, p. 45-52, 2010.

SIMÕES, A. N.; MOREIRA, S. I.; MOSQUIM, P. R.; SOARES, N. F. F.; PUSCHMANN, R. Effect of conservation temperature on quality and phenolic metabolism of intact and minimally processed kale leafs. **Acta Scientiarum**, v. 37, n. 1, p. 101-107, 2015

SUBRAMANIAN, N.; VERKATESH, P.; GANGULI, S.; SINKAR, V. P. Role of 20 polyphenol oxidase and peroxidase in the generation of black tea theaflavins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n.7, p.2571-2578, 1999.

TSANIKLIDIS, G., DELIS, C., NIKOLOUDAKIS, N., KATINAKIS, P., W AIVALAKIS, G. Low temperature storage affects the ascorbic acid metabolism of cherry tomato fruits. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 84, p.149-157, 2014.

XU, J., DUAN, X., YANG, J., BEECHING, J. R., ZHANG, P. Enhanced reactive oxygen species scavenging by overproduction of superoxide dismutase and catalase delays postharvest physiological deterioration of cassava storage roots. **Plant Physiology**, v. 161, p.1517-1528, 2013.

YINGSANGA, P., SRILAONG, V., KANLAYANARAT, S., NOICHINDA, S., MCGLASSON, W. B. Relationship between browning and related enzymes (PAL, PPO and POD) in rambutan fruit (*Nephelium lappaceum* Linn.) cvs. Rongrien and See-Chompoo. **Postharvest Biology and Technology**, v. 50, p. 164–168, 2008.

YOU, Y., JIANG, Y., SUN, J., LIU, H., SONG, L., & DUAN, X. Effects of short-term anoxia treatment on browning of fresh-cut Chinese water chestnut in relation to antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 132, n.3, p.1191–1196, 2012.

ZHANG, Z., NAKANO, K., SHIGENORI, M. Comparison of the antioxidant enzymes of broccoli after cold or heat shock treatment at different storage temperatures. **Postharvest Biology and Technology**, v. 54, p.101–105, 2009.

APÊNDICE

Apêndice 1. Atividade inicial da polifenoloxidase em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 26 °C, por 0 hora.

Regiões	Polifenoloxidase (μ mol catecol $\text{mim}^{-1} \text{g}^{-1}$ MF)
0-5 mm	9,34 a
5-10 mm	3,47 b
CV (%)	32,82

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apêndice 2. Atividade inicial da peroxidase em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 26 °C, por 0 hora.

Regiões	Peroxidase (n mol guaicol $\text{mim}^{-1} \text{g}^{-1}$ MF)
0-5 mm	22,56 a
5-10 mm	18,30 a
CV (%)	48,88

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apêndice 3. Atividade inicial da superóxido dismutase em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 26 °C, por 0 hora.

Regiões	Superóxido dismutase ($\text{UE min}^{-1} \text{g}^{-1}$ MF)
0-5 mm	0,298 a
5-10 mm	0,207 b
CV (%)	20,60

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apêndice 4. Atividade inicial da catalase em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 26 °C, por 0 hora.

Regiões	Catalase (n mol H ₂ O ₂ min ⁻¹ g ⁻¹ MF)
0-5 mm	24,81 a
5-10 mm	23,33 a
CV (%)	26,16

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apêndice 5. Atividade inicial da peroxidase do ascorbato em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 26 °C, por 0 hora.

Regiões	Peroxidase do ascorbato (n mol AsA min ⁻¹ g ⁻¹ MF)
0-5 mm	2,29 a
5-10 mm	2,50 a
CV (%)	38,81

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apêndice 6. Atividade da peroxidase do ascorbato de rodela de inhame não embalado e embalado, mantidas a 26 °C, após 12 horas.

Embalagem	Peroxidase do ascorbato (n mol AsA min ⁻¹ g ⁻¹ MF)
Não embalado	1,77 b
Embalado	2,56 a
CV (%)	29,16

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apêndice 7. Alterações no conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 26 °C, por 0, 6 e 12 horas.

Conteúdo de substâncias reativas ao TBARS (n mol min ⁻¹ g ⁻¹ MF)			
Regiões	Horas de conservação		
	0	6	12
0-5 mm	26,40 a	36,69 a	41,45 a
5-10 mm	22,80 a	26,64 a	39,06 a
CV (%)	25,80		

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apêndice 8. Alterações no conteúdo de ácido gálico em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 5 °C, por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias.

Conteúdo ácido gálico (mM Kg ⁻¹ MF)						
Regiões	Dias de conservação					
	0	3	6	9	12	15
0-5 mm	5,74 a	4,98 a	4,87 a	5,11 a	2,93 a	5,41 a
5-10 mm	7,27 a	6,12 a	5,58 a	5,83 a	3,62 a	6,87 a
CV (%)	11,10					

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apêndice 9. Atividade da polifenoloxidase em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 5 °C, por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias.

Polifenoloxidase (μ mol catecol mim ⁻¹ g ⁻¹ MF)						
Regiões	Dias de conservação					
	0	3	6	9	12	15
0-5 mm	9,35 aB	10,91 aAB	15,01 aA	9,96 aB	6,95 aB	9,00 aB
5-10 mm	3,47 bB	4,57 bB	5,25 bAB	9,07 aA	4,16 aB	2,18 bB
CV (%)	34,53					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % e de probabilidade.

Apêndice 10. Atividade da peroxidase em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 5 °C, por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias.

Regiões	Peroxidase (n mol guaicol min ⁻¹ g ⁻¹ MF)					
	Dias de conservação					
	0	3	6	9	12	15
0-5 mm	22,55 aB	33,58 aAB	42,61 aA	44,11 aA	21,05 aB	33,08 aAB
5-10 mm	8,30 aB	23,31 aAB	18,55 bB	34,34 aA	17,04 aB	8,27 bB
CV (%)	34,91					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % e de probabilidade.

Apêndice 11. Atividade da superóxido dismutase em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 5 °C, após 15 dias.

Regiões	Superóxido dismutase (UE min ⁻¹ g ⁻¹ MF)
0-5 mm	0,355 a
5-10 mm	0,376 a
CV (%)	22,10

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apêndice 12. Atividade da catalase em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 5 °C, por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias.

Regiões	Catalase (n mol H ₂ O ₂ min ⁻¹ g ⁻¹ MF)					
	Dias de conservação					
	0	3	6	9	12	15
0-5 mm	24,81 aB	25,56 aB	27,78 bB	34,07 aB	34,82 aA	34,44 aB
5-10 mm	23,33 aAB	28,15 aAB	33,33 aA	32,22 aAB	28,51 aAB	22,59 bB
CV (%)	21,44					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % e de probabilidade.

Apêndice 13. Atividade da peroxidase do ascorbato em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 5 °C, por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias.

Peroxidase do ascorbato (n mol AsA min ⁻¹ g ⁻¹ MF)						
Regiões	Dias de conservação					
	0	3	6	9	12	15
0-5 mm	2,29 a	3,68 a	4,00 a	4,21 a	4,69 a	4,40 a
5-10 mm	2,49 a	3,94 a	5,01 a	4,23 a	3,77 a	3,45 a
CV (%)	28,91					

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apêndice 14. Alterações no conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em duas regiões (0-5 e 5-10 mm) da superfície cortada, de rodela de inhame mantidas a 5 °C, por 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias.

Conteúdo de substâncias reativas ao TBARS (n mol min ⁻¹ g ⁻¹ MF)						
Regiões	Dias de conservação					
	0	3	6	9	12	15
0-5 mm	26,40 a	24,52 a	24,68 a	23,98 a	24,46 a	26,88 a
5-10 mm	22,80 a	19,67 a	20,54 a	19,68 a	28,12 a	29,57 a
CV (%)	26,25					

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.