

ATIVIDADE DA INVERTASE ÁCIDA SOLÚVEL E DA INSOLÚVEL EM TUBÉRCULOS DE BATATA RECONDICIONADOS APÓS O ARMAZENAMENTO SOB DIFERENTES TEMPERATURAS

Acid soluble invertase and insoluble activity in potato tuber subsequent reconditioning after storage in different temperatures

Ladislau Soares Ferreira¹, Sidnei Deuner², Marcos Antonio Bacarin³, Clauber Mateus Priebale Bervald⁴, Eduardo Ricieri Zanatta⁵

RESUMO

Objetivou-se no trabalho determinar a atividade das enzimas invertase ácida solúvel e invertase insolúvel em tubérculos de batata de genótipos Atlantic, Pérola, Asterix e C-1786-6-94, armazenados em diferentes temperaturas com posterior recondicionamento. Determinou-se a atividade das enzimas invertase ácida solúvel e insolúvel aos 0, 30 e 60 dias de armazenamento. Aos 30 dias de armazenamento a atividade das duas enzimas foi estimulada pela temperatura de 4°C. O recondicionamento de 4°C para 20°C diminuiu a atividade das enzimas em todos os cultivares. O armazenamento a 12°C bem como o recondicionamento de 12°C para 20°C pouco influenciou na atividade da invertase ácida solúvel. A atividade da invertase insolúvel sob 12°C foi aumentada aos 30 e 60 dias de armazenamento, no clone C1786-6-94 e na cultivar Atlantic. O armazenamento a 20°C não alterou a atividade das enzimas invertase ácida solúvel e insolúvel para as cultivares em estudo.

Termos para indexação: *Solanum tuberosum* L., enzimas, adoçamento.

ABSTRACT

The aim of this work was to quantify the activity of the acid soluble invertase enzymes and insoluble invertase in tubers of potato genotypes: Atlantic, Pérola, Asterix and C-1786-6-94 stored in different temperatures with recondition. One determined the activity of the acid soluble enzymes and insoluble invertase at 0 30 and 60 days of storage. In 30 days of storage the activity of the two enzymes was stimulated by the temperature at 4°C. The recondition from 4° C to 20° C reduced the activity of the insoluble and acid soluble invertase in all cultivars, however in different way among them. The storage at 12°C and the reconditioned from 12° C to 20° C had little influence on the activity of the acid soluble invertase. The activity of the insoluble invertase under 12° C was increased at 30 and 60 days of recondition in C-1786-6-94 clone and Atlantic cultivar. The storage at 20°C did not alter the activity of the acid soluble invertase enzyme and insoluble invertase for the cultivars studied.

Index terms: *Solanum tuberosum* L., enzymes, swelling.

(Recebido em 15 de agosto de 2006 e aprovado em 16 de maio de 2007)

INTRODUÇÃO

Entre as várias hortaliças exploradas no Brasil, a batata (*Solanum tuberosum* L.) destaca-se por ser cultivada em grande escala e em todo território nacional. A batata é utilizada principalmente para o consumo humano, podendo ser destinada também aos animais. Atualmente, tem-se observado o declínio do consumo de batata fresca, por causa das dificuldades no armazenamento doméstico, descascamento, fritura ou cozimento. Embora tenha ampla escala de produção, parte dela pode ser armazenada para suprir as necessidades em determinados períodos do ano, tanto para o consumo *in natura* como para o

processamento. Para isto parte da produção é armazenada por um curto espaço de tempo, sendo que a melhor forma de conservação é sob refrigeração.

A refrigeração é uma das melhores formas de conservar tubérculos de batata, entre outras vantagens, porque principalmente inibe a brotação, porém causa diminuição na qualidade de tubérculos destinados ao processamento, pois há uma elevação nos teores de açúcares redutores nos tecidos (BACARIN et al., 2005; CHAPPER et al., 2002). Esses açúcares, quando os tubérculos são colocados sob altas temperaturas (frituras), reagem com grupamentos amida que forma o escurecimento não enzimático (Reação de Maillard) (BURTON, 1989).

¹Mestre – Monsanto do Brasil Ltda – Santo Ângelo, RS – Rodovia RS 142, Km 13, Zona Rural – 99470-000 – Santo Ângelo, RS – ladislau.s.ferreira@monsanto.com

²Doutor – Departamento de Biologia/DBI – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – sdeuner@yahoo.com.br

³Doutor – Departamento de Botânica/DB – Universidade Federal de Pelotas/UFPEL – 96010-900 – Pelotas, RS – bacarin@ufpel.edu.br

⁴Mestre – Departamento de Botânica/DB – Universidade Federal de Pelotas/UFPEL – 96010-900 – Pelotas, RS – clauberagro@pop.com.br

⁵Engenheiro Agrônomo – Departamento de Botânica/DB – Universidade Federal de Pelotas/UFPEL – 96010-900 – Pelotas, RS – erzanatta@yahoo.com.br

Sob condições de baixas temperaturas, o amido, fonte de energia e carbono, sofre degradação e há acúmulo de açúcares menores. O primeiro açúcar a acumular é a sacarose pela atividade da fosforilase do amido (BARKER, 1968), que é convertida à frutose e glicose por ação de duas invertases (DAVIES & VIOLA, 1992). Contudo, outros fatores além da fosforilase do amido, regulam a biossíntese da sacarose a baixas temperaturas (ISHERWOOD, 1976). Recentemente, demonstrou-se que a invertase ácida solúvel controla a conversão de sacarose para hexoses em tubérculos de batata armazenados no frio (CHAPPER et al., 2004). Porém outros autores reportaram que o acúmulo total de açúcares redutores não foi, no entanto, correlacionado com a atividade de invertase (MARANGONI et al., 1997).

Objetivou-se neste estudo avaliar como a atividade das enzimas invertase ácida solúvel e invertase insolúvel, em tubérculos de batata armazenados em três diferentes temperaturas, respondem ao recondicionamento dos tubérculos à temperatura ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

Os tubérculos de batata cultivares Pérola, Atlantic e Asterix e clone C-1786-6-94, foram produzidos no período de outono de 2002, no campo experimental da EMBRAPA – Clima Temperado, Pelotas - RS. Imediatamente após a colheita, os tubérculos foram transferidos para o Laboratório de Metabolismo Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, onde foram lavados com água corrente, classificados por tamanho, secos em papel toalha e aferidas suas massas frescas. A seguir, os mesmos foram divididos em lotes homogêneos por tamanho e armazenados em câmaras refrigeradas com temperaturas de 4, 12 e 20°C (considerada controle ou temperatura ambiente), umidade relativa do ar de aproximadamente 85%, em ausência de luz, onde permaneceram por 30 dias; para cada tratamento foram colocados pelo menos 50 tubérculos. Após os 30 dias de armazenamento, metade dos tubérculos, que estavam previamente armazenados a 4°C e a 12°C, foi submetida ao recondicionamento que constituiu na transferência dos mesmos para 20°C. Foram mantidos também tubérculos nas temperaturas de 4, 12 e 20°C, onde permaneceram por mais 30 dias, totalizando 60 dias de armazenamento.

Em todas as amostragens (zero, 30 e 60 dias) quatro tubérculos de cada tratamento foram descascados, triturados e divididos em quatro subamostras de aproximadamente 10 g de massa fresca, sendo as mesmas imediatamente congeladas e liofilizadas, por

aproximadamente 20 horas, até obter massa constante. Dessa forma, em cada tratamento foram consideradas quatro repetições, sendo cada unidade experimental um tubérculo.

Para obtenção do extrato protéico pesou-se 500 mg de material liofilizado de cada repetição, ao qual foi adicionado três mL de tampão acetato pH 4,5, com posterior centrifugação a 10.000 g por 20 min a 4°C. Após a centrifugação, coletou-se o sobrenadante, que, em seguida foi dessalinizado por filtração géllica, utilizando-se de coluna com Sephadex G75, a partir da qual foram coletadas frações de 1 mL, nas quais determinaram-se os teores de glicose (método enzimático - glicose oxidase) e proteínas solúveis totais (método de biureto). As frações que apresentavam ausência de glicose e maiores teores de proteínas solúveis totais foram combinadas e liofilizadas, para eliminação do tampão de eluição (tampão fosfato) e preservação das enzimas. No momento da determinação da atividade da invertase ácida solúvel foi adicionado ao material liofilizado 500 mL de água, obtendo-se um extrato aquoso. A atividade foi determinada pela formação de açúcares redutores, utilizando-se como meio de reação sacarose 0,6 M, tampão acetato pH 4,5 e extrato enzimático no meio de reação, após incubação por 1 hora a 37°C (MENDES et al., 2005). Após esse período, determinou-se a quantidade de açúcares redutores formados através da reação com reativo de Nelson (NELSON, 1944).

Para a estimativa da atividade da invertase insolúvel utilizou-se o resíduo da primeira centrifugação, ao qual se adicionou 3 mL de tampão acetato pH 6,5, ressuspendendo o resíduo e obtendo-se um novo extrato enzimático. Posteriormente, foi determinada a atividade da invertase insolúvel em meio de reação contendo sacarose 0,6 M, tampão acetato pH 6,5 e extrato enzimático no meio de reação, e a quantificação foi realizada como descrita para a atividade da invertase ácida solúvel. Todas as análises da atividade das enzimas foram repetidas duas vezes em cada repetição.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade da invertase insolúvel (Figura 1) no tempo zero, ou seja, anterior ao armazenamento, foi praticamente idêntica nos tubérculos das cultivares Atlantic, Asterix e no clone C1786-6-94, com valores de 1,09, 1,06 e 0,97 mg de açúcares redutores h⁻¹ g⁻¹ de massa liofilizada. Nos tubérculos da 'Pérola', os valores foram 0,28 mg de açúcares redutores h⁻¹ g⁻¹ de massa liofilizada, sendo a atividade metade das demais nessa condição.

Para os tubérculos das cultivares Pérola e Atlantic e para os do Clone C-1786-6-94 aumentaram, em relação ao tempo zero, a atividade da invertase insolúvel, quando armazenados a 4°C por 30 dias, fato não observado para os

tubérculos da cultivar Asterix. Quando armazenados por mais 30 dias, ocorreu uma redução na atividade da invertase insolúvel nos tubérculos da cv. Atlantic, não diferindo do tempo zero. Para os tubérculos do Clone C-1786-6-94 e da cultivar Pérola a atividade da invertase ácida insolúvel continua aumentando quando o armazenamento ocorre por até 60 dias (Figura 1).

O armazenamento na temperatura de 12°C não alterou a atividade da invertase insolúvel para os tubérculos da cultivar Asterix e o Clone C-1786-6-94 quando armazenados por 30 dias. Contudo, para os tubérculos das cultivares Atlantic e Pérola, a atividade aumentou em pequena escala.

O armazenamento por 30 e 60 dias a 20°C (condição

controle) não promoveu variações significativas, na atividade da enzima invertase insolúvel nas cultivares Pérola, Atlantic e Asterix e Clone C-1786-6-94.

O acondicionamento de 4°C para 20°C provocou diminuição na atividade da invertase insolúvel nos materiais genéticos testados. Destacam-se os tubérculos do Clone C-1786-6-94 e da cultivar Atlantic em que suas atividades, após o acondicionamento, foram similares à atividade no tempo zero. O acondicionamento de 12°C para 20°C também provocou queda de atividade da enzima para as cultivares Atlantic, Pérola e Asterix, no entanto sua atividade aumentou nos tubérculos do Clone C-1786-6-94, após o acondicionamento.

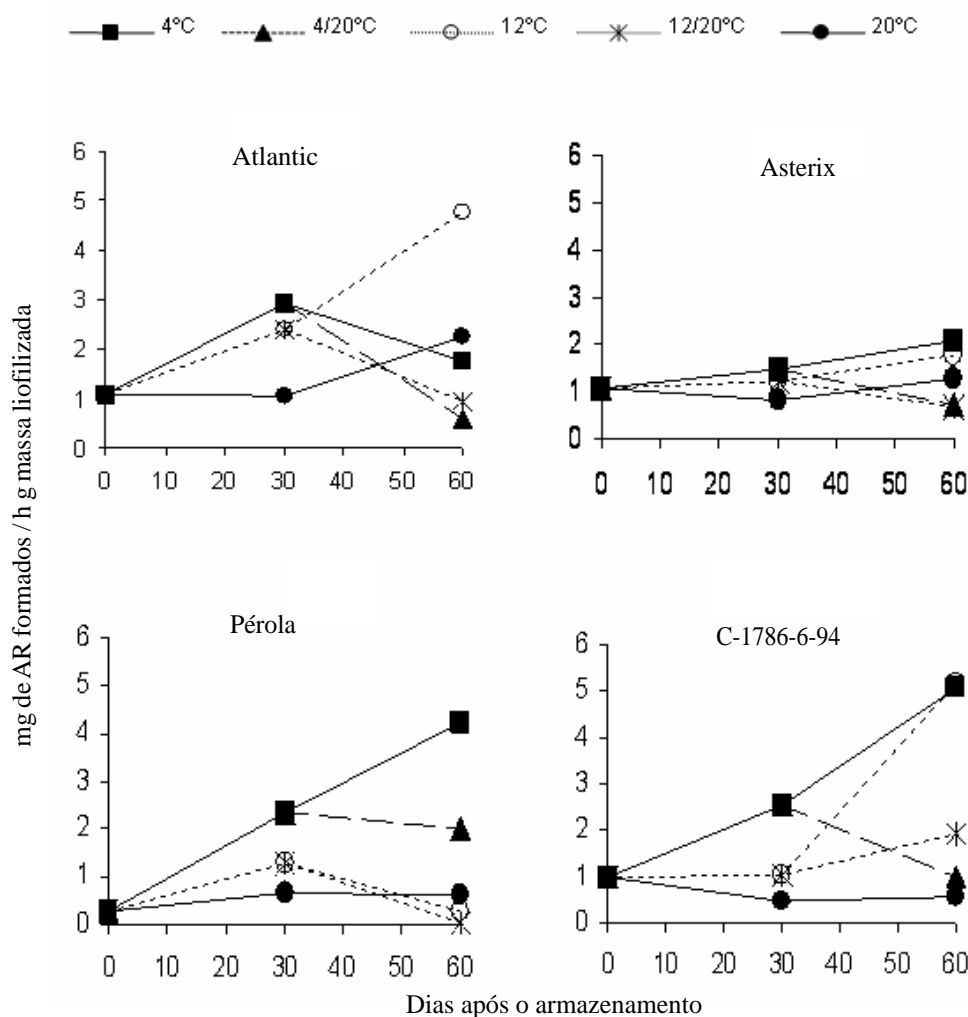


Figura 1 – Atividade da invertase ácida insolúvel, em tubérculos de diferentes genótipos de batata armazenados em diferentes temperaturas e acondicionados posteriormente.

A atividade da enzima invertase ácida solúvel (Figura 2) foi distinta entre os genótipos antes do armazenamento (0,197; 0,425; 0,171 e 0,205 mg de açúcares redutores $\text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ massa liofilizada), respectivamente para as cultivares Atlantic, Asterix e Pérola e para o Clone C1786-6-94.

Nos tubérculos de batata da cultivar Asterix armazenados sob baixas temperaturas (4°C), a atividade da invertase ácida solúvel aumentou linearmente desde

o início do armazenamento, atingindo aos 60 dias valores de 4,35 mg de açúcares redutores $\text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ de massa liofilizada. Para os demais genótipos, a atividade da invertase ácida solúvel também aumentou quando armazenados a 4°C por 30 dias, porém com taxas de incrementos diferentes entre os genótipos. A manutenção dos tubérculos por mais 30 dias a 4°C não induziu aumento na atividade da invertase ácida solúvel para Atlantic, Pérola e Clone C-1786-6-94.

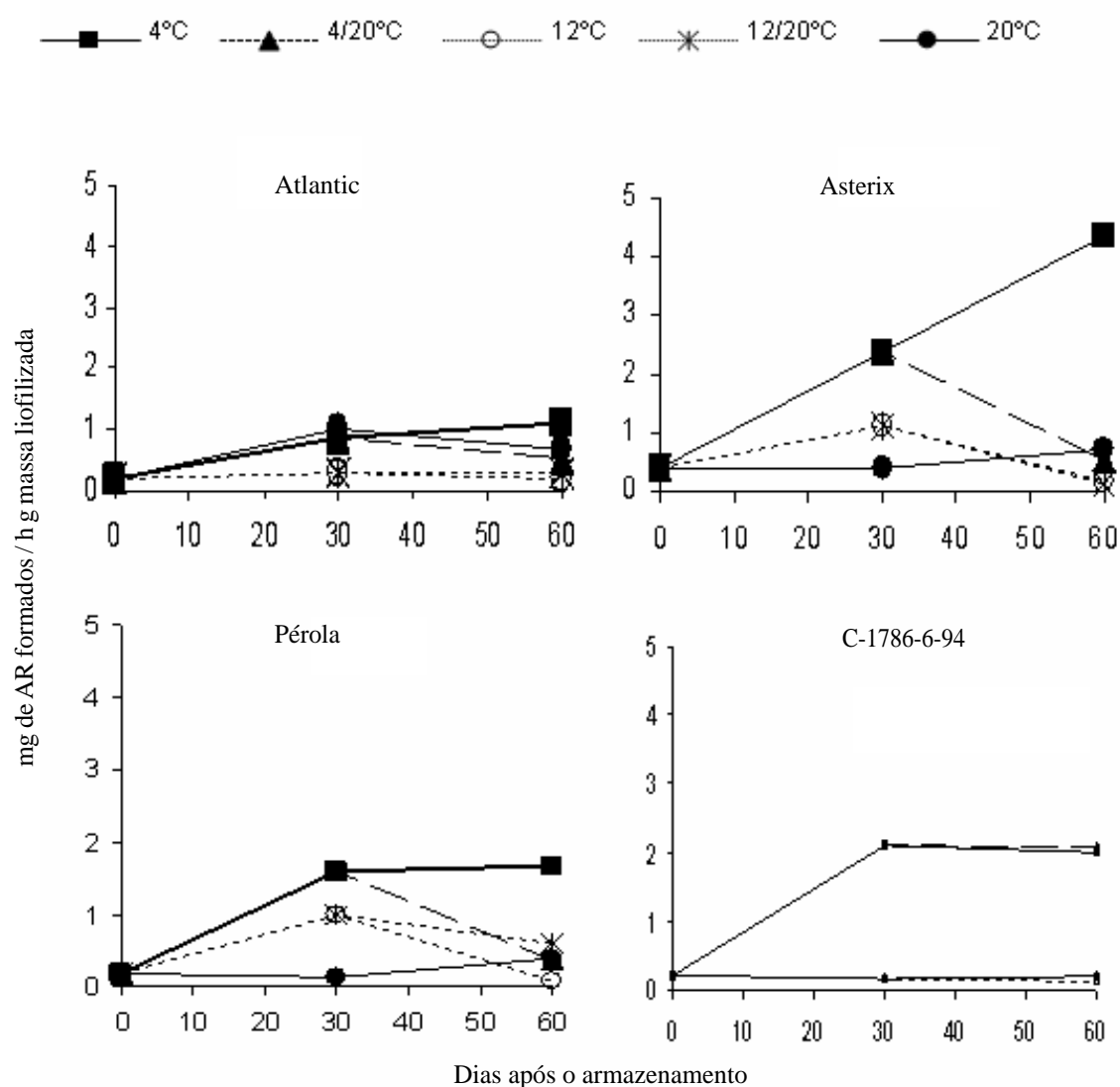


Figura 2 – Atividade da invertase ácida solúvel em tubérculos de diferentes genótipos de batata, armazenados em diferentes temperaturas e recondicionados posteriormente.

O armazenamento a 12° C por 30 e 60 dias e o posterior acondicionamento a 20°C não induziu variações na atividade da invertase ácida solúvel para as cultivares Atlantic e Clone C-1786-6-94. Nos tubérculos das cultivares Asterix e Pérola, a atividade dessa enzima aumentou ligeiramente aos 30 dias de armazenamento e aos 60 dias a atividade diminuiu a valores próximos aos iniciais, o mesmo ocorreu com o acondicionamento de 12°C para 20°C.

Pouca variação na atividade da enzima invertase ácida solúvel foi identificada quando tubérculos de batata das cultivares Asterix, Pérola e Clone C-1786-6-94 foram armazenados por 30 e 60 dias a 20°C; porém, nos tubérculos da cultivar Atlantic verificou-se um pequeno aumento aos 30 dias e queda aos 60 dias de armazenamento.

O acondicionamento de 4 para 20°C provocou forte redução na atividade da invertase ácida solúvel nos tubérculos das cultivares Asterix e Pérola, chegando a valores próximos da atividade inicial. No entanto, para os tubérculos do Clone C-1786-6-94 o acondicionamento não teve efeito sobre a atividade da invertase ácida solúvel. Enquanto que, nos tubérculos da cultivar Atlantic, o acondicionamento reduziu muito pouco a atividade da invertase ácida solúvel.

Os resultados de atividade enzimática deste trabalho são similares aos encontrados por Chapper et al. (2004), onde a atividade invertásica foi maior para os tubérculos cultivar Pérola em relação aos da cultivar Atlantic, armazenados por 40 dias a 2°C; para os tubérculos da cultivar Asterix, também foi detectado aumento nos valores aos 60 dias, porém o incremento em relação ao tempo inicial e aos 30 dias de armazenamento foi pequeno. Verma & Upaal (1990) confirmam a hipótese que baixas temperaturas induzem à formação de açúcares simples, pois o armazenamento de oito cultivares indianas de batata, em temperaturas de 3 - 5°C aumentou constantemente os teores de açúcares aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento, sendo que após os 90 dias algumas cultivares apresentavam aumento médio de 466%. Segundo Pressey & Shaw (1966) e Purvis & Rice (1983) o armazenamento de tubérculos de batata sob baixas temperaturas incrementa a atividade da invertase porque reduz a atividade de inibidores proteínicos que se ligam à enzima.

Análises de acúmulo de sacarose, glicose e frutose a 2°C sugerem que esse acúmulo de açúcar deve-se, principalmente, às diferenças relativas entre a atividade de enzimas amilolíticas, fosforilíticas, invertásicas e das rotas glicolítica e respiratória. Sob baixas temperaturas ainda pode ocorrer a deterioração das membranas do amiloplasto, como observado por Ohad et al. (1971). A perda da

seletividade dessas membranas pode alterar a distribuição de metabólitos entre o citossol e os amiloplastos, colocando em contato enzimas e substrato, aumentando assim o adoçamento dos tubérculos de batata.

CONCLUSÃO

Nas condições em que foi conduzido o presente estudo, pode-se concluir que:

- a atividade das enzimas invertase insolúvel e ácida solúvel, em tubérculos de batata, é estimulada pelas baixas temperaturas;

- o acondicionamento diminui a atividade das duas invertases (ácida solúvel e insolúvel), em tubérculos de batata, com exceção para os tubérculos do Clone C 1786-6-94;

- no armazenamento em temperaturas de 20°C, a atividade da enzima invertase ácida solúvel em tubérculos de batata são praticamente constantes, no entanto a atividade da invertase insolúvel apresenta-se diferente entre os genótipos testados.

AGRADECIMENTOS

Ao MCT/CNPq, pelo financiamento do projeto e pela concessão de bolsas de estudos, e a Embrapa-Clima Temperado – Pelotas (Dr. Arione da Silva Pereira), pelo fornecimento dos tubérculos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BARKER, J. Studies in the respiratory and carbohydrate metabolism of plant tissues: the influence of a decrease in temperature on the contents of certain phosphate esters in plant tissues. **New Phytologist**, Oxford, v. 67, p. 487-493, 1968.

BURTON, W. G. **The Potato**. Harlow: Longman Scientific and Technical, 1989. 742 p.

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

- CHAPPER, M.; BACARIN, M. A.; PEREIRA, A. da S.; TERRIBLE, L. C. Carboidratos não estruturais em tubérculos de dois genótipos de batata armazenados em duas temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 583-588, 2002.
- DAVIES, H. V.; VIOLA, R. Regulation of sugar accumulation in stored potato tubers. **Postharvest News and Information**, Oxon, v. 3, p. 97-100, 1992.
- ISHERWOOD, F. A. Mechanism of starch-sugar interconversion in *Solanum tuberosum* L. **Phytochemistry**, Elmsford, v. 15, p. 33-41, 1976.
- MARANGONI, A. G.; DUPLESSIS, P. M.; YADA, R. Y. Kinetic model for carbon partitioning in *Solanum tuberosum* tubers stored at 2°C and the mechanism for low temperature stress-induced accumulation of reducing sugars. **Biophysical Chemical**, Amsterdam, v. 65, p. 211-220, 1997.
- MENDES, C. R.; BACARIN, M. A.; BERVALD, C. M. P.; TREVIZOL, F. C.; LOPES, N. F. Purificação parcial de uma invertase ácida solúvel de tubérculos de batata armazenados em baixa temperatura. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 52, p. 217-229, 2005.
- NELSON, N. A. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 153, p. 375-380, 1944.
- OHAD, I.; FRIEDBERG, I.; NE'MAN, Z.; SCRAMM, M. Biogenesis and degradation of starch: I. the fate of the amyloplast membrane during maturation and storage of potato tubers. **Plant Physiology**, Rockeville, v. 47, p. 465-477, 1971.
- PRESSEY, R.; SHAW, R. Effect of temperature on invertase inhibitor, and sugars in potato tubers. **Plant Physiology**, Rockeville, v. 77, p. 1657-1661, 1966.
- PURVIS, A. C.; RICE, J. D. Low temperature induction of invertase activity in grapefruit flavedo tissue. **Phytochemistry**, Elmsford, v. 22, p. 831-834, 1983.
- VERMA, S. C.; UPAAL, D. S. Changes in sugar content and Invertase activity in tubers of some Indian potato varieties stored at low temperature. **Potato Research**, Orone, v. 33, p. 119-123, 1990.