

RESSALVA

Alertamos para ausência das figuras não incluídas pelo(a) autor(a) no arquivo original.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**CICLO DE CULTIVO E TÉCNICAS PÓS-COLHEITA DE YACON (*Polymnia
sonchifolia* Poep. Endl.) EM FUNÇÃO DO CONTEÚDO DE FRUTOSE TOTAL NOS
ÓRGÃOS SUBTERRÂNEOS**

STELA MARIA CARVALHO VILHENA

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP -
Campus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutor em Agronomia,
Área de Concentração Horticultura.

BOTUCATU - SP
Dezembro - 2001

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**CICLO DE CULTIVO E TÉCNICAS PÓS-COLHEITA DE YACON (*Polymnia
sonchifolia* Poep. Endl.) EM FUNÇÃO DO CONTEÚDO DE FRUTOSE TOTAL NOS
ÓRGÃOS SUBTERRÂNEOS**

STELA MARIA CARVALHO VILHENA

Orientador: Francisco Luiz Araújo Câmara
Co-orientadora: Giuseppina P. P. Lima

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP -
Campus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutor em Agronomia,
Área de Concentração Horticultura.

BOTUCATU - SP
Dezembro - 2001

AGRADECIMENTOS

Expressamos aqui nossos sinceros agradecimentos a todas as pessoas e instituições que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, em especial:

Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Faculdade de Ciências Agrônômicas - Campus de Botucatu, pelas condições proporcionadas.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Prof. Dr. Francisco Luiz Araújo Câmara, pela orientação científica, paciência e amizade.

À Prof. Dr^a. Giuseppina Pace Pereira Lima, pela co-orientação segura, incentivo, paciência, amizade e exemplo de profissionalismo.

À Dr^a. Nair Itaia, pela realização das análises qualitativas, amizade, companheirismo, confiança e ensinamentos.

À Prof. Dr^a. Maria Ângela Machado de Carvalho e Dr^a Rita de Cássia L. Ribeiro Figueiredo, pelo apoio, e incentivo.

Ao Prof. Dr. Fernando Broeto pela valiosa ajuda na correção da tese.

À família Kakihara pela colaboração na realização deste trabalho.

Ao Prof. Marco Alexandre de Aguiar, meu marido, pela paciência, companheirismo, carinho e apoio.

Aos meus pais Roque e Clarice, pelo apoio e incentivo.

Aos funcionários do Departamento de produção vegetal, Rosemary Pessoa Penalosa, Thomé Alves, Antônio Aparecido Lima, Amauri Alves, Marcio, Osmar Martins, Neuza Fragoso, Ana Maria dos Santos Ferreira, Rosário Alves, Edmilson M. Almeida, Admilson Moisés Gonçalves, pela colaboração, carinho e boa vontade.

Às amigas Isabela Miranda de Toledo Piza, Dulce Castro e Fedra G. Quijano pelo companheirismo amizade e colaboração.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	1
SUMMARY	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Ciclo de Cultivo	25
3.1.1 Condição experimental	25
3.1.2 Obtenção dos extratos	28
3.1.3 Quantificação de frutose total	28
3.1.4 Quantificação de açúcares redutores.....	29
3.1.5 Análises qualitativas dos açúcares.....	29
3.2 Armazenamento de Raízes Tuberosas	30
3.2.1 Preparo e seleção das raízes tuberosas	30
3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental	32
3.2.3 Obtenção dos extratos	32
3.2.4 Quantificação de frutose total e açúcares redutores	33
3.2.5 Determinação da atividade da peroxidase	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 Ciclo de cultivo	34
4.1.1 Massa fresca da parte aérea	36
4.1.2 Massa fresca da parte subterrânea	38

4.1.3	Quantificação de frutose total e aç. redutores em raízes tuberosas	40
4.1.3.1	Frutose total	40
4.1.3.2	Açúcares redutores	42
4.1.4	Análises qualitativas de açúcares em raízes tuberosas	44
4.1.5	Quantificação de frutose total e açúcares redutores em rizóforos	45
4.1.5.1	Frutose total	45
4.1.5.2	Açúcares redutores	47
4.2	Armazenamento de raízes tuberosas	49
4.2.1	Frutose total	49
4.2.2	Açúcares redutores	52
4.2.3	Atividade da peroxidase (POD) (EC 1.11.1.7)	56
5.	CONCLUSÕES	60
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

LISTA DE QUADROS

Número		Página
1	Análise química de solo da área experimental. Botucatu, SP - 2001.	26
2	Médias mensais dos dados climatológicos correspondentes ao período experimental de 1998/99. Botucatu, SP - 2001.	27
3	Critérios de classificação de raízes tuberosas de yacon. Botucatu, SP - 2001.	31
4	Composição química inicial das raízes tuberosas de yacon recém colhidas (% de massa seca). Botucatu, SP - 2001.	31
5	Valores médios de massa fresca das partes aérea e subterrânea (g) das plantas de yacon durante dez meses de cultivo. Botucatu, SP-2001.	39
6	Valores médios de frutose total e açúcares redutores (mg.g^{-1} m.f) em raízes tuberosas de yacon durante dez meses de cultivo. Botucatu, SP -2001.	43
7	Valores médios de frutose total e açúcares redutores em rizóforos de yacon durante dez meses de cultivo. Botucatu, SP -2001.	48
8	Valores médios de frutose total (mg.g^{-1} m.f), em raízes tuberosas de yacon armazenadas a 4°C, com e sem embalagem plástica, a -18°C com embalagem e na temperatura ambiente sem embalagem. Botucatu, SP - 2001.	52
9	Valores médios de açúcares redutores (mg.g^{-1} m.f), em raízes tuberosas de yacon armazenadas a 4°C, com e sem embalagem plástica, a -18°C com embalagem e na temperatura ambiente sem embalagem. Botucatu, SP - 2001.	53
10	Atividade da peroxidase ($\mu\text{moles de H}_2\text{O}_2$ consumido. min^{-1} . g^{-1} de massa fresca), em raízes tuberosas de yacon armazenadas a 4°C, com e sem embalagem plástica, a -18°C com embalagem e na temperatura ambiente sem embalagem. Botucatu, SP - 2001.	57

LISTA DE FIGURAS

Número		Página
1	<i>Polymnia sonchifolia</i> Poep. Endl.	7
2	Cadeia de frutanos do tipo inulina (A),cadeia de frutanos do tipo levanos ou fleanos (B) (Avigad & Dey, 1997).	17
3	Cultivo de yacon na região de Botucatu, SP. (a) rizóforos utilizados no plantio, (b) plantas aos dois meses de idade, (c) plantas aos quatro meses, (d) plantas aos seis meses, (e) plantas aos oito meses, (f) plantas aos nove meses, (g) planta aos dez meses, (h) produção de raízes tuberosas. Botucatu,SP - 2001.	35
4	Massa fresca da parte aérea (g) de plantas yacon durante o ciclo de cultivo. Botucatu, SP - 2001.	37
5	Massa fresca da parte subterrânea (g) de plantas de yacon durante o ciclo de cultivo. Botucatu, SP -2001.	38
6	Conteúdo de frutose total em raízes tuberosas de yacon (mg.g ⁻¹ de massa fresca) durante o ciclo de cultivo. Botucatu, SP - 2001.	41
7	Conteúdo de açúcares redutores em raízes tuberosas de yacon (mg.g ⁻¹ de massa fresca) durante dez meses de cultivo. Botucatu, SP - 2001.	43
8	Análise por HPLC em coluna CarboPac PA 100 dos oligossacarídeos de raízes tuberosas de <i>Polymnia sonchifolia</i> , aos 7, 8, 9 e 10 meses de cultivo. G, F, S, 1C e N referem-se aos tempos de eluição dos padrões de glicose, frutose, sacarose, 1-cestose e nistose, respectivamente. Os demais picos foram identificados por comparação com o tempo de eluição dos oligossacarídeos de tubérculos de <i>Helianthus tuberosus</i> . Os valores numéricos referem-se ao GP dos frutanos. Botucatu, SP -2001.	44
9	Conteúdo de frutose total em rizóforos de yacon (mg.g ⁻¹ de massa fresca) durante o ciclo de cultivo. Botucatu, SP -2001.	46
10	Conteúdo de açúcares redutores em rizóforos de yacon (mg.g ⁻¹ de massa fresca) durante os dez meses de cultivo. Botucatu, SP -2001.	48

- 11** Conteúdo de frutose total em raízes tuberosas de yacon (mg.g^{-1} de massa fresca) armazenadas no ambiente, em câmara fria a 4°C e no congelador a -18°C durante período de 15 dias, (ce) com embalagem plástica e (se) sem embalagem plástica. Botucatu, SP - 2001. 50
- 12** Conteúdo de açúcares redutores em raízes tuberosas de yacon (mg.g^{-1} de massa fresca) armazenadas no ambiente, a 4°C com e sem embalagem plástica e a -18°C durante período de 15 dias, (ce) com embalagem plástica e (se) sem embalagem plástica. Botucatu, SP - 2001. 55
- 13** Atividade da peroxidase ($\mu\text{moles de H}_2\text{O}_2 \text{ consumido. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa fresca) em raízes tuberosas de yacon, armazenadas no ambiente, a 4°C com e sem embalagem plástica e a -18°C durante período de 15 dias. Botucatu, SP - 2001. 58

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo determinar o ciclo de cultivo de yacon (*Polymnia sonchifolia* Poep. Endl.), em função do conteúdo de frutanos nos órgãos subterrâneos e estabelecer condições de armazenamento das raízes tuberosas para prolongar sua conservação pós-colheita. Para tanto, foram realizados dois experimentos na Fazenda Experimental Lageado, Departamento de Produção Vegetal, FCA - UNESP, Botucatu. No primeiro, analisaram-se os teores de frutanos totais, açúcares redutores e massa fresca durante dez meses. No segundo, raízes colhidas aos oito meses foram armazenadas durante 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias, na condição ambiente, sem embalagem plástica, sob refrigeração a 4 °C, com e sem embalagem, e a -18 °C com embalagem. Foram analisados os teores de frutanos totais, açúcares redutores e a atividade da peroxidase nas diferentes condições de armazenamento. De acordo com os resultados das análises, o maior conteúdo de frutanos totais, tanto em raízes como em rizóforos, foram obtidos entre oito e nove meses de cultivo. Foi também nesta fase que se observou a maior produtividade de raízes tuberosas, mostrando ser essa a melhor época de colheita. A temperatura de armazenamento -18 °C mostrou maior eficiência na manutenção do conteúdo de frutanos durante os quinze dias. A atividade da peroxidase não apresentou alterações significativas quando as raízes foram armazenadas a -18 °C e a 4 °C, independentemente da embalagem.

Palavras chave: Yacon, ciclo de cultivo, frutanos, carboidratos, pós-colheita, peroxidase

CULTIVATION CYCLE AND POST-HARVEST TECHNIQUES OF YACON (*Polymnia sonchifolia* Poep. Endl.) ACCORDING TO THE FRUCTAN CONTENT ON UNDERGROUND ORGANS. Botucatu, 2001. 77p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: Stela Maria Carvalho Vilhena

Adviser: Francisco Luiz Araújo Câmara

Co- adviser: Giuseppina Pace Pereira Lima

SUMMARY

The present work had as its aim to determine the yacon cultivation cycle according to the fructan content on underground organs and establish storage condition of the tuberous roots in order to extend its post-harvest conservation. To do so, two experiments were carried out at Lageado Experimental Farm, Vegetable Production Departament, FCA-UNESP, Botucatu. In the first one, the total fructan contents, reducing sugar and fresh mass were analysed for ten months. In the second one, roots harvested whith eight-months old were stored for 0,3,6,9,12 and 15 days, on the regular environmental condition, without plastic packing under 4 °C of refrigeration, with and without packing, and at -18 °C with packing. The total fructans, reducing sugars and the peroxidase activity over the different storage condition were measured. According to the results of the analysis, the highest content of total fructans, both in roots and rizophores, was obtained between eight and nine months of cultivation. It was also during this period that it was observed the highest tuberous roots yield, proving this to be best one for harvesting. The -18 °C storage temperature showed higher afficiency one the keeping of the fructans content during the fifteen days. The peroxidase did not show significant changes when the roots were stored at -18 °C and at 4 °C, regardless of packing.

Key words: Yacon, cultivation cycle, fructans, carbohydrates, post-harvest, peroxidase.

1. INTRODUÇÃO

O yacon (*Polymnia sonchifolia* Poep. Endl.), espécie herbácea pertencente à família Asteraceae, é originária dos vales andinos, região de clima temperado e altitudes entre 2.000 e 3.400 m, que se estende desde a Colômbia ao noroeste da Argentina. Introduzida no Brasil por volta de 1989, é popularmente conhecida como "batata yacon" e utilizada como planta medicinal nos tratamentos contra diabetes e altas taxas de colesterol no sangue.

Suas raízes tuberosas apresentam sabor adocicado e são consumidas "in natura" ou desidratadas na forma de "chips". Reservam grandes quantidades de fruto-oligossacarídeos do tipo inulina (50 a 60% da massa seca) com grau de polimerização 12 ($GP \leq 12$) (Assami et al., 1991; Fukai et al., 1997; Vilhena & Câmara, 2000).

Estes carboidratos têm despertado grande interesse na indústria alimentícia como adoçante alternativo para a sacarose e como alimento funcional, possuem ações benéficas à saúde, pois, estimulam o desenvolvimento de bifidobactérias no intestino humano, apresentam baixo valor calórico (1 a 3 Kcal.g⁻¹), são anti-cariogênicos e passam pelo

trato digestivo sem serem metabolizados (Alípio, 2000), interessando também à indústria farmacêutica.

Atualmente, cerca de 90% dos fruto-oligossacarídeos produzidos comercialmente são sintetizados em laboratórios por processos enzimáticos ou por microorganismos (*Aspergillus niger*, *A. japonicus*; *Fuzariun oxysporum*), utilizando-se a sacarose como substrato. Apenas 10% provêm da hidrólise parcial de polissacarídeos (Inulina com DP=35) encontrados em órgãos subterrâneos de duas espécies de Asteraceae cultivadas na Europa, Ásia e América Central: *Cichorium intybus* e *Helianthus tuberosus* (Yun, 1996; Coussement, 2000).

O yacon parece ser uma excelente alternativa para a produção de fruto-oligossacarídeos, sendo que estes podem ser diretamente extraídos de seus órgãos subterrâneos (raízes tuberosas e rizóforos) sem a necessidade de qualquer processo de transformação.

O acúmulo desse tipo de carboidratos em órgãos subterrâneos de yacon, parece ter como principal função a preservação da espécie. Em seu ambiente natural, são descritas como plantas perenes; entretanto, sua parte aérea morre a cada ano na estação do inverno, rebrotando novamente quando as condições ambientais tornam-se favoráveis (Grau & Rea, 1997). Este rebrotamento só é possível com a utilização das reservas na forma de energia, o que ocorre a partir de processos enzimáticos que despolimerizam as cadeias de fruto-oligossacarídeos e transformam os monossacarídeos em energia.

Por este motivo, quando cultivada comercialmente, deve-se ter em mente o destino da produção: se o interesse for o consumo das raízes "in natura", estas devem apresentar um sabor mais adocicado, o que ocorre com a maior concentração de açúcares livres em colheitas tardias; entretanto, se o objetivo for a extração de frutanos para utilização

na indústria farmacêutica ou de alimentos, a colheita deve ser realizada antes que ocorra a despolimerização das cadeias dos fruto-oligossacarídeos.

Além disso, há necessidade de se desenvolver técnicas apropriadas de conservação pós-colheita, tendo em vista a manutenção da qualidade desses compostos e a diminuição da perecibilidade das raízes.

Diversas substâncias químicas têm sido utilizadas como marcadores bioquímicos de senescência e perecibilidade. Entre elas, encontra-se a enzima peroxidase (EC 1.11.1.7) a qual é amplamente distribuída em frutos e hortaliças e está associada a mudanças de cor, textura, sabor e qualidade durante a conservação pós-colheita. Atua em diversas reações oxidativas, tais como a oxidação de fenóis, biossíntese de lignina, degradação de clorofila e auxinas, além de participar da síntese do etileno.

Diante do exposto, o presente trabalho tem por objetivo determinar o ciclo de cultivo de yacon em função do conteúdo de frutanos nas raízes tuberosas e estudar técnicas de armazenamento que prolonguem sua conservação pós-colheita.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O yacon (Figura 1), espécie da família Asteraceae (Compositae), foi originalmente classificado como do gênero *Polymnia* (Compositae, Heliantheae, subtribo Melampodinae), denominado *Polymnia sonchifolia* Poep. Endl. (Linnaeus, 1751; De Candolle, 1836; Blake, 1917; Wells, 1967).

Robinson (1978) restabeleceu o gênero *Smallanthus* proposto por Maqkenzie (1933) e subdividiu o gênero *Polymnia*, propondo uma nova classificação para a espécie, *Smallanthus sonchifolia* (Poep. Endl.) H. Robinson, que juntamente com outras 21 espécies, dentre elas *S. apus* (Backer), *S. connatus* (Spreng) e *S. macroscyphus* (Backer ex. Martius) formariam o gênero *Smallanthus* (Grau & Rea, 1997).

Mais recentemente, Fernandez et al. (2000) realizaram estudos citológicos (números cromossômicos, cariótipos, comportamento meiótico de cromossomas) e morfológicos, e observaram hábitos de crescimento de yacon. Os autores sugeriram uma origem híbrida para *S. sonchifolius* e que *S. macroscyphus* seria possivelmente seu progenitor.

Entretanto, esta nova classificação vem sendo adotada por poucos autores, como por exemplo Brako & Zarucchi (1993) no catálogo de plantas do Peru e Jorgensen & León (1997) no catálogo de plantas vasculares do Equador, sendo que a maioria dos trabalhos publicados no Japão, Estados Unidos, Nova Zelândia e países da Europa continua utilizando a classificação de Linnaeus (1751).

Figura 1: *Polymnia sonchifolia* Poep. Endl.

A espécie é conhecida por diversos nomes populares, dependendo da região e do idioma dominante: "aricoma" e "aricuma", termos Aymara, utilizados em certas áreas da Bolívia. No Equador é conhecido como "jicama" ou "jiquima", no México como

"xicama" e "arboloco". Nos Estados Unidos é conhecido como "yacon strawberry", na Alemanha como "erdbirne" e na França "poire de terre". Na Colômbia, como "yacon", nome mais utilizado também no Peru, Argentina, países europeus, Japão, Nova Zelândia e Brasil (Grau & Rea, 1997).

Diversas pesquisas vêm sendo realizadas no sentido de melhorar a produtividade da espécie tanto na região de origem, como em outras onde as condições ambientais são totalmente diversas.

Tsukihaki et al. (1991) observaram maior produção de raízes tuberosas e maior desenvolvimento da espécie, quando foram utilizados para a reprodução, rizóforos pesando entre 40 e 50 g, plantados em canteiros com 1,20 m de largura por 0,30 m de altura. Observaram ainda, que o cultivo comercial de yacon exige uma atenção especial quanto à irrigação e controle de plantas invasoras.

De acordo com Vilhena & Câmara (2000) algumas alterações no sistema de produção foram introduzidas no Brasil. Entre elas, destacam-se a implantação utilizando-se rizóforos pesando entre 60 e 80 g, com aproximadamente 5 gemas em início de brotação, em canteiros com 1,2 m de largura por 0,40 m de altura e 1,0 m entre plantas, numa profundidade de aproximadamente 15 cm. Os autores citam ainda que o solo deve ser corrigido com calcário dolomítico objetivando manter um pH próximo a 6,0. É necessária uma adubação química com NPK + Zn no plantio e se o objetivo da cultura for a produção de folhas para o consumo na forma de chá, são recomendadas duas adubações nitrogenadas em cobertura com aproximadamente 80 kg .ha⁻¹ de N. Entretanto, se o cultivo objetivar a produção de raízes tuberosas é recomendado um incremento na adubação potássica, tendo em vista que a maior disponibilidade deste elemento estimula a tuberização. Deve-se ter um cuidado

especial com a irrigação, que pode ser feita por aspersão ou em sulcos, e também com a eliminação de plantas invasoras, realizando-se pelo menos três capinas durante o ciclo. Com esse manejo, foram alcançadas produtividades de até 60 t.ha⁻¹ na região de Botucatu, Estado de São Paulo.

Estudos realizados por Nieto (1991) mostram que o potencial produtivo desta espécie é muito significativo, podendo alcançar rendimentos de 60 t.ha⁻¹. Entretanto, Kakiyama et al.(1996) obteve rendimentos de até 100 t/ha de raízes tuberosas na região de Capão Bonito - SP.

A planta apresenta caules aéreos, cilíndricos, que chegam a medir até 2,5 m de altura (Leon, 1968; Zardini, 1991), de coloração esverdeada com pilosidade em toda sua superfície (National Research Council - USA, 1989).

As folhas que brotam de gemas do caule aéreo, são opostas, delgadas, apresentam as bordas lobuladas e formam uma ala de cada lado do pecíolo (Bonuccelli, 1989; Zardini, 1991). Segundo Leon (1968), são de forma e tamanho variáveis, pinatífidas na base e triangulares na parte apical. O limbo foliar apresenta diversas estruturas secretoras, os idioblastos, hidatódios e tricomas glandulares, sendo que esses tricomas contêm substâncias do grupo terpenos (ácido ent-kaurenico, diterpeno), que provavelmente participam do mecanismo de defesa da espécie (Kakuta et al., 1989; Dip et al., 1996; Grau & Kortsarz, 2001).

As flores, agrupadas na forma de capítulo, localizam-se nas extremidades dos ramos e em ramos adicionais. Apresentam cinco brácteas verdes, triangulares e agudas, e podem ser de dois tipos: liguladas, que se encontram nos bordos e integram a parte mais vistosa da inflorescência, com lígulas bem largas de coloração amarela

ou alaranjada, medindo aproximadamente 12 mm de comprimento e 7 mm de largura, e as tubulares, chamadas centrais, de corola amarelada e pistilo pouco visível (Leon, 1968; Bonucceli, 1989; Zardini, 1991).

A floração do yacon é extremamente dependente das condições ambientais da região de cultivo; assim, no noroeste da Argentina ocorre somente no final do ciclo ou não chega a ocorrer. Nos clones cultivados na Bolívia, Peru e Brasil a floração ocorre entre 6 e 8 meses após o plantio; entretanto, mesmo com floração abundante, as sementes são inexistentes, inviáveis ou apresentam baixo vigor (Grau & Rea, 1997). Esta inviabilidade, ou baixo vigor das sementes, segundo Grau & Slanis (1996) está relacionada a uma alta esterilidade ou baixa fertilidade dos pólenes (0 - 30%). Estudos realizados por Lizárraga et al. (1997) mostram que os insetos polinizadores são de grande importância para o sucesso da polinização, provavelmente porque as flores pistioladas amadurecem antes das estaminadas.

O yacon é uma espécie de rápido desenvolvimento e extremamente adaptável quanto ao clima, altitude e tipo de solo (Bonucceli, 1989). Apesar de sua origem andina, em altitudes de 900 a 3.500m na Bolívia, Perú e Equador, e 600 a 2500m no noroeste da Argentina, é cultivada na Nova Zelândia ao nível do mar, e no Brasil em altitudes entre 750 e 850 m, no Estado de São Paulo (Kakihara et al., 1996; Vilhena, 1997).

Embora nativa de regiões subtropicais, a planta apresenta grande adaptabilidade quanto à temperatura e à umidade. Sua parte aérea é sensível ao congelamento, sendo que nas regiões de origem, isto ocorre no final do ciclo de cultivo. Grau (1993) observou, em campo, na Nova Zelândia que à temperatura de -7 °C, por algumas horas, ocorrem sérios danos tanto na parte aérea como na subterrânea e aponta como ótimas, as temperaturas entre 18 e 25 °C.

As folhas suportam bem as altas temperaturas (menores que 40 °C) sem apresentarem danos, se for mantido um adequado suplemento de água.

Apesar de muito adaptável a diferentes tipos de solo, o yacon desenvolve-se melhor em solos bem drenados, com boa profundidade e elevado conteúdo de matéria orgânica. Excelente produtividade é obtida nos terraços à beira de rios com solos arenosos, como em Tarija na Bolívia (Grau & Rea, 1998) e em solos lateríticos, com correção de pH, no estado de São Paulo, Brasil (Vilhena, 1997).

O yacon é descrito como sendo uma planta neutra ao fotoperiodismo para a formação de caules e raízes tuberosas (National Research Council -USA, 1989); entretanto, esses processos ocorrem muito tardiamente em regiões com altas latitudes (23°S na Argentina e 46°S na Nova Zelândia) indicando que a planta pode apresentar alguma sensibilidade a dias curtos (Grau & Rea, 1997).

A maturidade é alcançada entre 6 e 8 meses após o plantio, quando tem início a floração. Este estágio será então seguido por um período de incremento no conteúdo dos fruto-oligossacarídeos nos rizóforos e raízes tuberosas, passando então para uma fase de senescência da parte aérea e dormência das gemas subterrâneas (National Research Council - USA, 1989). É nesse período, que se faz a colheita das raízes para fins comerciais e dos rizóforos, para serem utilizados como material de propagação vegetativa nos novos plantios.

De acordo com Nieto (1991) e Lizárraga et al. (1997) a propagação do yacon pode se dar tanto por sementes (propagação sexuada), como por rizóforos (propagação vegetativa). Entretanto, os clones introduzidos na Europa, Nova Zelândia, Japão e Brasil, por não produzirem sementes viáveis, propagam-se por meio dos rizóforos.

O sistema subterrâneo da planta é constituído de três partes distintas: os rizóforos, ricos em fibras não digeríveis, que representam um aglomerado de massa contendo gemas que dão origem a novas plantas; as raízes com função de absorção e fixação, e as raízes tuberosas ou raízes de reserva, que podem atingir mais de 20 cm de comprimento e 10 cm de diâmetro e pesar até 2 kg. A coloração das raízes tuberosas depende dos ecotipos ou clones, podendo ser externamente marrom arroxeada ou purpúrea opaca e internamente branca, amarela, roxa ou alaranjada (Montiel, 1996).

Tanto os rizóforos como as raízes tuberosas são comestíveis, porém os rizóforos são mais fibrosos, menos suculentos e translúcidos que as raízes, as quais são carnosas, refrescantes, aquosas e quando consumidas “in natura”, apresentam sabor semelhante ao da pera (León, 1968; National Research Council (USA), 1989; Ohyama, 1990).

A composição das raízes tuberosas de 10 linhagens de yacon foi estudada por Nieto (1991). Nestas análises, o autor encontrou valores médios, em massa seca de 3,7% de proteínas, 3,5% de cinzas, 1,5% de matéria graxa, 3,4% de fibras, 0,82% de potássio, 0,12% de fósforo e 67,8% de açúcares totais, concluindo ser um alimento altamente energético.

De acordo com Vilhena et al. (1996), as análises da composição química das raízes tuberosas da população introduzida no Brasil apresentam maiores quantidades de proteína (4,34%) do que as apresentadas por Nieto (1991) e valores próximos de cinzas (3,5%), matéria graxa (1,66%) e fibras (3,26%) e açúcares totais (63,18%).

Os açúcares livres verificados nas raízes estudadas por Asami et al. (1989) foram somente frutose, glicose e sacarose, num total de 29% da massa seca. Os autores

determinaram também 21 compostos nitrogenados (amino ácidos e amidas), além de uma fração de aproximadamente 50% de fruto-oligossacarídeos hidrolisáveis.

Os fruto-oligossacarídeos, carboidratos de reserva encontrados nos órgãos subterrâneos de yacon são do tipo inulina, com grau de polimerização (GP) entre 3 e 10. Estes diferenciam-se dos encontrados em espécies como *H. tuberosus*, *Cichorium* e *Dahlia* sp, os quais apresentam $GP \geq 35$ (Ohyama et al. 1990; Asami et al., 1991; Fukai et al., 1995; Goto et al., 1995). Os frutanos de cadeias longas (polissacarídeos), dependem de processos de hidrólise para a obtenção de oligossacarídeos.

De acordo com o National Research Council - USA, (1989) os tubérculos e raízes tuberosas de yacon apresentam até 60% de fruto-oligossacarídeos na massa seca. Barta (1996) analisou a produção de frutanos em órgãos subterrâneos de *Helianthus tuberosus*, *Chichorium intybus* e *Dalia* sp. A produção observada foi de 4,5, 0,9 e 2,5 t.ha⁻¹ de frutanos respectivamente. Vilhena, 1997 obteve uma produtividade média de raízes de yacon em torno de 60 t.h⁻¹ e de frutanos totais 5,7 t.h⁻¹. Sendo assim, se comparado o yacon com às plantas frequentemente utilizadas no processo de extração desses compostos (*H. tuberosus*, *Dahlia* sp. e *C. intybus*), tem a vantagem de fornecer maior rentabilidade, sendo de mais fácil manejo e processamento.

Os fruto-oligossacarídeos são considerados alimentos funcionais que proporcionam bom efeito gastrointestinal atuando no aumento das bifidobactérias benéficas do intestino. Isto se deve ao fato de que esses carboidratos resistem ao processo digestivo, não sendo hidrolisados na parte superior do trato intestinal, devido à configuração de suas ligações e outras propriedades físicoquímicas. Na parte inferior do intestino eles são metabolizados pelas bactérias anaeróbicas (bifidobactérias). Este processo é conhecido por fermentação e

produz energia para a proliferação das bactérias, além de gases e ácidos graxos de cadeia curta. Esses ácidos graxos são absorvidos pelo epitélio do cólon e metabolizados em diversas partes do corpo, de onde provem os baixos valores calóricos (1 a 3 Kcal/g) atribuídos aos oligossacarídeos (Incoll & Bonnett, 1996; Ninness, 1999; Alípio, 2000). Além disso, esses compostos apresentam grande poder edulcorante e podem ser excelente alternativa para sacarose em dietas especiais como por exemplo, diabéticos. De acordo com Hata et al. (1983), Hidaka et al. (1991) e Davidson et al. (1998), os fruto-oligossacarídeos aliviam a hiperlipemia (altas taxas de lipídeos no sangue), principalmente o colesterol.

Hirayama et al. (1993) também observaram o efeito que os frutanos exercem na queda dos níveis de colesterol, além de comprovar o efeito favorável na diminuição do teor de glicose do sangue.

Vanurikhina et al. (1996) observaram que a ingestão de fruto-oligossacarídeos do tipo inulina provoca efeito positivo no organismo de animais e humanos com diabetes e com a baixa resistência imunológica por exposição radioativa. Em estudos realizados por Jackson et al. (1999) mostraram que além do efeito favorável dos fruto-oligossacarídeos na diminuição dos níveis de colesterol no sangue de humanos, houve também queda nos níveis de triglicerídios.

Os frutanos do tipo inulina são utilizados também na pesquisa médica desde 1935, sendo considerados ideais para medir o ritmo de filtração glomerular dos rins, pois é filtrado livremente pelos glomérulos, sem interferência de secreção ou reabsorção tubular (Incoll & Bonnett, 1996).

Com a hidrólise da cadeia de frutanos ocorre a liberação de grande quantidade de moléculas de frutose, que é um açúcar considerado menos cariogênico e de

maior poder edulcorante que a sacarose, liberando portanto menos calorias em nível equivalente de doçura (Fuchs, 1993). De acordo com Navarro et al. (1996) a frutose tem poder edulcorante 1,5 vezes maior que a sacarose e pode ser mais facilmente incorporada aos alimentos por ser líquida e não cristalizar.

Sendo assim, o yacon pode ser economicamente atrativo para o processo de extração da frutose pois seus órgãos subterrâneos (raízes tuberosas e rizóforos) apresentam, fruto-oligossacarídeos prontamente hidrolisáveis a frutose (National Research Council (USA),1989, Vilhena,1997).

O sabor levemente adocicado das raízes e rizóforos de yacon é proveniente do acúmulo de fruto-oligossacarídeos do tipo inulina com ligações glicosídicas $\beta(2,1)$ e $GP \leq 12$, os quais são encontrados em grande quantidade nesses órgãos.

Os frutanos, depois do amido e da sacarose são provavelmente a classe de carboidratos de reserva de maior ocorrência entre as plantas superiores. Cerca de 36 mil espécies vegetais acumulam frutanos em seus órgãos subterrâneos (raízes, tubérculos, rizóforos ou bulbos) principalmente das famílias Asteraceae, Alliaceae e Liliaceae, em espécies como alcachofra de jerusalém (*Helianthus tuberosus*), dália (*Dalia* sp.), cebola (*Allium cepa* L.), tulipa (*Tulipa*), agave (*Agave*) e aspargo (*Asparagus*) (Hendry & Wallace, 1993 in Figueredo - Ribeiro).

São também encontrados em espécies nativas do cerrado brasileiro (Figueiredo-Ribeiro et al., 1986; Tertuliano & Figueiredo-Ribeiro, 1993) e em plantas utilizadas como alimento por indígenas australianos (Incoll et al., 1989).

Em gramíneas de clima temperado, algumas de grande importância econômica como por exemplo a cevada (*Hordeum*) e o trigo(*Triticum*) observa-se a presença

de frutanos tanto em sementes quanto nas folhas (Hendry & Wallace, 1993; Avigad & Dey, 1997).

De acordo com Pontis & del Campillo (1985) espécies que acumulam frutanos diferenciam-se entre si quanto ao tipo de órgão de reserva e também quanto ao tipo de frutano armazenado, que podem ser, do tipo inulina com ligações β 2,1 entre as moléculas de frutose e do tipo fleanos com ligações β 2,6, entre outros. Desta forma, a estocagem duradoura desses compostos ocorre geralmente em órgãos subterrâneos de dicotiledoneas e espécies de Poaceae, nos caules e sementes durante o período reprodutivo, e a estocagem temporária em folhas e sementes imaturas.

Meier & Reid (1982) sugerem que a presença de frutanos nesses vegetais não apresenta correlação com a presença ou ausência de amido, sendo que podem ocorrer simultaneamente no mesmo tecido ou em partes diferentes na mesma planta, como por exemplo em *Helianthus tuberosus*, cujas folhas contêm amido e os tubérculos, frutanos.

Os frutanos estão localizados nos vacúolos celulares dos tecidos frescos das plantas, são solúveis em água e usualmente encontrados com diversos graus de polimerização, dependendo do estágio fisiológico desses tecidos e da espécie de planta. A sacarose é encontrada juntamente com os frutanos no mesmo compartimento (Incoll & Bonnett, 1996).

Estruturalmente, estes carboidratos são polímeros de frutose que apresentam um resíduo de glicose geralmente na extremidade da molécula; este resíduo é unido à frutose por uma ligação $\alpha(2,1)$, como na sacarose. Portanto, são compostos associados estrutural e metabolicamente à sacarose, sendo constituídos de séries homólogas de oligo e

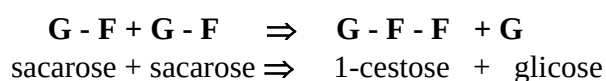
polissacarídeos não redutores, onde cada membro apresenta um resíduo a mais de frutose que o membro anterior da série (Edelman & Jefford, 1968; Avigad & Dey, 1997).

De acordo com sua forma estrutural os frutanos são classificados como do tipo fleanos ou levanos, normalmente encontrados em monocotiledôneas, apresentam ligações glicosídicas $\beta(2,6)$ entre os resíduos de frutose e podem apresentar alto grau de polimerização. Esse tipo de frutano pode ser também encontrado em gramíneas com ambas ligações, $\beta(2,6)$ e $\beta(2,1)$. E os frutanos do tipo inulina, encontrados em algumas dicotiledôneas, nos quais os resíduos de frutose são unidos por ligações glicosídicas $\beta(2,1)$ em cadeias lineares (Pollock & Chatterton, 1988), como os presentes nos órgãos subterrâneos do yacon (Figura 2).

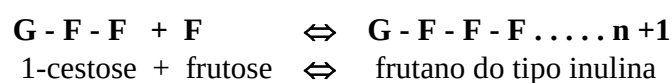
Figura 2: Cadeia de frutanos do tipo inulina (A),cadeia de frutanos do tipo levanos ou fleanos (B) (Avigad & Dey, 1997).

A biossíntese dos frutanos do tipo inulina ocorre nos vacúolos celulares, e é catalizada por um sistema multienzimático, originalmente proposto por Edelman & Jefford (1968) para plantas de *H. tuberosus* e confirmado por Pollock & Cairns (1991).

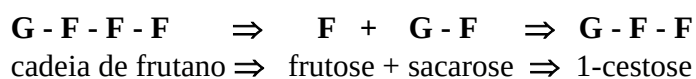
Nesta, a síntese de frutanos a partir dos fotossimilados ocorre inicialmente com a ação da enzima sacarose: sacarose: frutossiltransferase (SST) (EC 2.4.1.99), que cataliza a transferência do resíduo de frutose de uma molécula de sacarose para outra, formando o trissacarídeo 1-cestose, mais uma glicose livre, como esquematizado abaixo:



Em seguida, a enzima frutano: frutano: frutossiltransferase (FFT) (EC 2.4.1.100) transfere terminais frutose de outras moléculas de frutanos para o trissacarídeo 1-cestose.



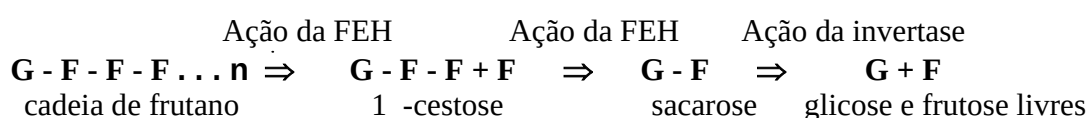
A enzima FFT pode ainda transferir resíduos de frutose da cadeia de frutanos para a sacarose dando início à formação de novas cadeias.



Processos similares foram também observados na formação das cadeias de fruto-oligossacarídeos em raízes tuberosas e rizóforos de *P. sonchifolia* (Fukai et al., 1993; 1997).

Em algumas espécies de gramíneas a síntese de frutanos com diferentes estruturas pode ser observada, dentre elas, frutanos lineares com ligações glicosídicas $\beta(2,1)$ e $\beta(2,6)$, a mistura dessas ligações ou ainda, frutanos com cadeias ramificadas. Esses estudos sugerem que a síntese desses compostos, em algumas monocotiledôneas, pode ser mais complexa que a encontrada em dicotiledôneas como *H. tuberosus* e *P. sonchifolia* (Meier & Reid, 1982).

O processo de degradação dos frutanos do tipo inulina ocorre por despolimerização da cadeia, na qual atua primeiramente a enzima frutano exohidrolase (FEH), que quebra a cadeia entre resíduos de frutose até a molécula terminal de sacarose; em seguida, a invertase quebra a molécula de sacarose liberando frutose e glicose (Edelman & Jefford, 1968; Haaland, 1974; Avigad & Dey, 1997).



Esse processo de despolimerização dos fruto-oligossacarídeos foi também observado em raízes e rizóforos de *P. sonchifolia* por Fukai et al. (1997).

Os carboidratos, são originados do carbono fixado durante a fotossíntese. Esses compostos podem ser utilizados em processos fisiológicos durante o crescimento da planta ou serem armazenados como carboidratos de reserva em diferentes formas, como por exemplo frutanos do tipo inulina. Alguns fatores influenciam positivamente esse armazenamento, tais como baixas temperaturas, fotoperíodos longos e baixos níveis de nitrogênio (Pollock, 1979). Esse acúmulo depende também da alta disponibilidade de sacarose

nas células dos tecidos, o que promove a atividade da SST e subsequente da FFT, formando as cadeias de frutanos. Portanto, durante o período em que um alto conteúdo de sacarose é produzido a partir da fixação fotossintética do CO₂, ocorre aumento na produção de 1-cestose e conseqüente polimerização das cadeias, provocando substancial aumento no acúmulo desses compostos. Quando a reserva de sacarose diminui, cessa o acúmulo de frutanos e o processo de despolimerização intensifica-se. A frutose liberada deste processo é transportada dentro do citosol e disponibilizada para diversas reações metabólicas (Avigad & Dey, 1997).

Os frutanos, por serem armazenados nos vacúolos celulares como solutos, em estado coloidal, e estando sujeitos à rápida polimerização e despolimerização, alteram o balanço osmótico das células. Darbyshire & Henry (1978a), Darbyshire & Allaway (1981) e Figueiredo-Ribeiro (1993) confirmam esta hipótese e ressaltam que por esse motivo, muitas plantas armazenadoras de frutanos são tolerantes a períodos de frio e seca durante seu ciclo de vida.

Os oligofrutanos acumulados em plantas como o yacon têm despertado grande interesse nas últimas décadas, seja como fonte alimentar, ou como matéria-prima para produção de xarope de frutose na indústria alimentícia, como produtores de frutanos do tipo inulina e ainda como compostos que apresentam atividades medicinais.

Uma vez colhidos os frutos ou retirados os órgãos subterrâneos das plantas, onde normalmente são armazenados o excesso da produção fotossintética, na forma de carboidratos ou outros compostos, estes se tornam unidades independentes e as transformações químicas e bioquímicas continuam a ocorrer. Nesta fase, os processos de respiração e

transpiração assumem um papel de elevada importância, necessitando de energia disponível para sua ocorrência (Castro, 1981).

Essa energia passa a ser proveniente da degradação dos compostos armazenados nesses órgãos . Desta forma, as técnicas utilizadas em pós-colheita são de grande importância e têm como principal objetivo diminuir essas atividades, reduzindo a taxa respiratória, a transpiração, e conseqüentemente, prolongando a vida pós-colheita desses órgãos (Carvalho, 1994).

No caso das raízes comestíveis que são retiradas do solo e destacadas da planta mãe em plena atividade metabólica, vários fatores podem acelerar sua deterioração. Normalmente estes fatores estão associados a respostas fisiológicas, químicas e bioquímicas dos tecidos às condições do meio (Robinson et al., 1975).

Na tentativa de minimizar essas alterações e prolongar a vida útil desses produtos, é necessária a aplicação de técnicas adequadas nas fases pré-colheita e colheita, de embalagens, boas condições de armazenamento, processamento e industrialização.

Modler et al. (1993) estudaram o comportamento dos frutanos em tubérculos de *H. tuberosus* quando armazenados a temperaturas de 2, 5 e -10 °C e observaram que esses tubérculos podem ser armazenados, embalados em sacos plásticos, por um período de 12 meses, à temperatura de 2 °C, com pequena variação na flora de microrganismos. Nos tubérculos armazenados a 5 °C houve algum desenvolvimento de gemas reprodutivas aos 120 dias de armazenamento. Porém, quanto à manutenção das cadeias frutanos, que é o principal fator a ser levado em consideração, houve tendência de diminuição

do grau de polimerização desses compostos em todas as temperaturas de estocagem, sendo que na temperatura de -10°C essa tendência foi substancialmente reduzida.

Em estudos realizados por Asami et al. (1991) foram observadas flutuações no conteúdo de fruto-oligossacarídeos em raízes de *P. sonchifolia* durante seu desenvolvimento e armazenamento, e nas quantidades de frutose, glicose e sacarose. O grau médio de polimerização desses frutanos apresentou aumento linear durante o desenvolvimento das raízes e tubérculos. Próximo à fase da colheita, esse aumento foi acelerado, além do conteúdo total de fruto-oligossacarídeos ter aumentado para 67% da massa seca. Os conteúdos de inulina e de amido nesses tubérculos foram somente de 0,23 e 0,04% da massa seca, respectivamente. Quando as raízes tuberosas foram armazenadas a 5 e a 25°C , o conteúdo de fruto-oligossacarídeos caiu 33 e 41%, após duas semanas, respectivamente, havendo desta forma, menor decréscimo no total de fruto-oligossacarídeos quando estas foram armazenadas na temperatura de 5°C .

Em estudos realizados por Vilhena (1997) notou-se que o conteúdo de frutanos totais em raízes de yacon recém-colhidas foi de aproximadamente 113 mg.g^{-1} (de massa fresca), sendo que após 20 dias de armazenamento a 4°C esses teores foram reduzidos para 64 mg.g^{-1} , totalizando um decréscimo de 56,6 %. Esses resultados reafirmam a hipótese de que, logo após a colheita inicia-se um aumento da atividade enzimática nos processos de despolimerização das cadeias de fruto-oligossacarídeos e que na condição estudada de armazenamento essa atividade não é reduzida.

Hondo et al. (1994) estudaram o efeito do armazenamento a 2, 5, e 25°C na qualidade de tubérculos de *P. sonchifolia*. Observaram que o armazenamento a 2°C foi favorável à manutenção das características qualitativas dos tubérculos quando comparado a 5

e 25 °C, apesar do tempo naquela temperatura ter sido limitado a 2 meses. O conteúdo de fruto-oligossacarídeos, confirmando o que foi relatado anteriormente, decresceu em todas as temperaturas de armazenamento. O de frutose aumentou substancialmente e o de sacarose apresentou pequena elevação.

De acordo com Nieto (1991), o conteúdo de açúcares livres aumenta em raízes de yacon expostas ao sol por um período de 15 dias. Este aumento chega a quase nove vezes para frutose (de 2,47% em raízes recém colhidas, para 21,53% após a exposição ao sol). O conteúdo de α -glicose aumentou de 1,12 para 7,42%, o de β -glucose de 1,63 para 5,96% e o de sacarose de 2,51 para 3,91%. O teor de umidade diminuiu de 84,8 para 78,1%.

Wei et al. (1994) observaram alto conteúdo de oligossacarídeos nas raízes tuberosas de yacon e recomendaram que estas fiquem estocadas à sombra, em temperatura ambiente por várias semanas, para que ocorra um aumento gradual no conteúdo de frutose e glicose, pois com a estocagem ocorre uma acelerada quebra das cadeias de fruto-oligossacarídeos, resultando em liberação desses açúcares livres.

Deste modo, é importante ressaltar o objetivo do cultivo, pois quando se pretende o mercado de raízes “in natura”, essas técnicas de conservação podem ser utilizadas com sucesso, sendo que quanto maior o conteúdo de açúcares livres, mais se intensifica o sabor adocicado, e conseqüentemente, a palatabilidade. Entretanto, se o objetivo for a produção de fruto-oligossacarídeos é necessário desenvolver técnicas de conservação e industrialização, de modo que essas cadeias sejam conservadas e os processos enzimáticos estancados.

Independentemente do objetivo do cultivo, logo após a colheita dos órgãos subterrâneos inicia-se uma série de processos fisiológicos que promovem a

desorganização das células. Estes processos estão associados também à desintegração da membrana celular, hidrólise de polissacarídeos e aumento da respiração, o que promove o início da senescência destes órgãos (Lima, 2000). De acordo com Mayak & Haleny (1980) a senescência corresponde a um estado de oxidação dos tecidos, pelo acúmulo de peróxidos ou pelo aumento da atividade da lipoxigenase, resultando em lipídeos hidroperóxidos, o que parece estar relacionado com o aumento da atividade da enzima peroxidase nesta fase.

As peroxidases estão presentes tanto em eucariotos como procariotos e são hemoproteínas que utilizam H_2O_2 na oxidação de várias substâncias orgânicas e inorgânicas (Prasad et al., 1995). Porém, as peroxidases presentes em plantas superiores diferenciam-se das encontradas em animais, e são compostas por uma cadeia peptídica simples, contendo um grupo heme (protoporfirina IX), com aproximadamente 25% de carboidratos, o qual protege a enzima da degradação proteolítica e estabiliza sua conformação (Hu & Van Huystee, 1989).

Esta enzima é caracterizada por catalisar a reação $RH_2 + H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + R$ e está amplamente distribuída em frutas e hortaliças, podendo atuar em diversas reações oxidativas, tais como oxidação de fenóis, biossíntese de lignina, degradação de clorofila e auxinas, além de participar na síntese do etileno, balanço hormonal e controle da respiração. Por estes motivos estão associadas com as mudanças de cor, textura e qualidade durante a pós-colheita e vêm sendo utilizadas com frequência como marcadoras dos processos de senescência e perecibilidade (Clemente & Pastore, 1998; Gaspar et al., 1982).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Ciclo de Cultivo

3.1.1 Condição experimental

O presente trabalho foi conduzido na Fazenda Experimental Lageado, Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP, no município de Botucatu, Estado de São Paulo, situada a 830 m de altitude, nas coordenadas geográficas aproximadas de 22° 51' 55" latitude Sul e 48° 22' 22" longitude Ocidental, durante o período de 29 de setembro de 1998 a 29 de julho de 1999. As análises bioquímicas foram realizadas no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências - UNESP, Botucatu. A análise química do solo foi feita no Departamento de Gestão Ambiental, área de Ciência do Solo / FCA - UNESP - Botucatu, e está relacionada no Quadro 1.

Com base nos resultados da análise de solo e após aração e gradagem, foi feita uma aplicação de 1,5 t.ha⁻¹ de calcário dolomítico. Após 30 dias, realizaram-se

adubações com 1,2 t/ha de adubo orgânico (esterco de gado curtido) e 1,5 t.ha⁻¹ de adubo químico N-P-K na formulação 4-14-8.

Quadro 1: Análise química de solo da área experimental. Botucatu, SP - 2001.

pH	M.O	P.resina	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%
(CaCl ₂)	(g/dm ³)	(mg/dm ³)	----- (m mol c /d m ³) -----						(%)
5,1	11	10	26	2,7	22	6	30	56	53

Foi realizada uma adubação química de cobertura aos 180 dias após o plantio com 1,5 t/ha de N-P-K na formulação 16-0-12. Durante o cultivo foram feitas 3 capinas manuais para eliminação das plantas invasoras.

A área total do experimento foi de aproximadamente 312 m², sendo 240 m² de área útil subdividida em 4 blocos.

O yacon foi cultivado a partir de rizóforos fragmentados pesando aproximadamente 80g cada, em espaçamento de 1,0 m entre plantas e 1,0 m entre linhas. As colheitas mensais foram feitas manualmente.

Foram conduzidos 10 tratamentos (colheitas mensais durante os dez meses de cultivo), em delineamento estatístico de blocos ao acaso (4 blocos), com 5 repetições. Foram determinadas curvas de regressão para os teores de frutanos totais, açúcares redutores e massa fresca, tanto da parte aérea como subterrânea, com o objetivo de estudar a evolução dessas características durante o ciclo de cultivo.

Logo após cada colheita, as plantas foram lavadas em água corrente, separadas em parte aérea e subterrânea e pesadas. Os fatores climáticos ocorridos durante o

período experimental foram fornecidos pelo Departamento de Gestão Ambiental, área de Ciências Ambientais / FCA - UNESP - Botucatu e estão relacionados no Quadro 2.

Quadro 2: Médias mensais dos dados climatológicos correspondentes ao período experimental de 1998 / 99. Botucatu, SP - 2001.

Meses	Temperatura (°C)	Precipitação (mm)	Umidade relativa (%)	Radiação solar (cal/cm ²)	Insolação (h)	Evaporação classe A (mm)
Outubro/98	19	176,3	82	384,6	189,3	143,6
Novembro/98	21,1	30,1	73	482,8	268,4	203,5
Dezembro/98	22,7	290,3	79	432,7	217,6	167,4
Janeiro/99	22,8	400,1	87	372,2	149,4	127,7
Fevereiro/99	23	203,5	86	392,6	161,2	132,2
Março/99	22,9	111,0	80	458,0	254,0	174,9
Abril/99	19,8	70,3	77	413,5	259,0	148,9
Mai/99	16,9	44,8	76	351,8	256,3	123,4
Junho/99	15,7	97,5	80	287,5	203,8	85,1
Julho/99	17,5	16,3	75	328,7	255,4	114,3

Para as análises quantitativas de frutanos totais e de açúcares redutores, foram retiradas amostras de cada parcela, contendo 4g de raízes tuberosas e de rizóforos, separadamente. Estas foram descascadas, cortadas em cubos de aproximadamente 1 cm³, acrescidos de 40 ml de etanol 80%, colocados em banho-maria fervente, por 5 minutos (

Pollock & Jones, 1979). Após o resfriamento, as amostras foram armazenadas a -20°C em congelador, para posterior extração e análises.

3.1.2 Obtenção dos extratos

As amostras foram descongeladas, homogeneizadas em triturador e centrifugadas a 1.400 *g*, por 15 minutos na temperatura de 4°C. Após a centrifugação, reservou-se o sobrenadante, sendo o precipitado submetido à reextração com 10 ml de etanol 80%, aquecido em banho-maria a 80 °C, durante 15 minutos, seguido de centrifugação e separação do sobrenadante, conforme descrito anteriormente. Esse procedimento foi repetido, totalizando três extrações alcoólicas. Em seguida foram feitas duas extrações aquosas, com 10 ml de água destilada, em banho-maria à temperatura de 60 °C, por 30 minutos, com agitações ocasionais. O material foi então filtrado em tecido de algodão. Os filtrados foram misturados aos sobrenadantes das extrações alcoólicas e os volumes acertados para 50 ml, com água destilada, constituindo assim, o extrato bruto para as análises de frutose total e açúcares redutores (Pollock & Jones, 1979).

3.1.3 Quantificação de frutose total

Os extratos obtidos foram submetidos à quantificação de frutose total por determinação da frutose na forma livre e combinada. Para tanto, utilizou-se a reação de antrona, modificada especificamente para cetoses (Jermyn, 1956). A frutose foi utilizada como

substância padrão na concentração de 100 µg/ml e o reagente foi antrona 0,2 %, em ácido sulfúrico 76%.

Alíquotas de 50 µl dos diferentes extratos brutos foram completadas para o volume de 0,25 ml com água destilada. A cada amostra foram acrescentados 2,5 ml de reagente. Em seguida, as amostras foram incubadas por 45 minutos em banho-maria a 37 °C. As leituras da absorbância foram feitas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 620nm. Os resultados foram comparados com a curva padrão de frutose previamente estabelecida. Todas as dosagens foram feitas em duplicatas e os resultados expressos em mg x g⁻¹ de massa fresca.

3.1.4 Quantificação de açúcares redutores

Os mesmos extratos obtidos foram submetidos à quantificação dos açúcares redutores pelo método colorimétrico proposto por Somogyi (1945). Todas as dosagens foram feitas em duplicatas e as leituras da absorbância em espectrofotômetro a 535nm. Os resultados foram comparados com a curva padrão de frutose e expressos em mg.g⁻¹ de massa fresca.

3.1.4 Análises qualitativas dos açúcares

Análises qualitativas dos açúcares por HPLC (High Performance Liquid Chromatography), foram realizadas no Instituto de Botânica de São Paulo, Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas. Alíquotas de 1 ml dos extratos brutos de raízes tuberosas

colhidas aos 7, 8, 9 e 10 meses após o plantio, foram deionizadas em colunas de troca iônica contendo resinas aniônica (Dowex 1 x 8 - 200) e catiônica (Dowex 50 x 8 - 200). Após eluição das amostras com 10 ml de água deionizada, o pH dos eluatos foi ajustado para 7,0 e o volume reduzido à secura em evaporador rotatório. Em seguida, os açúcares foram novamente suspensos em água deionizada e quantidades equivalentes a 100 µg de frutose foram cromatografadas em HPLC/PAD da Dionex modelo DX-300 (coluna CarboPac PA100 para fruto-polissacarídeos), usando 150Mm de NaOH (A) e 500 Mm de acetato de sódio em 150 Mm de NaOH (B), estabelecido por Shiomi, 1993. Os picos de glicose, frutose, sacarose, 1-cestose e nistose, referem-se ao tempo de eluição dos padrões utilizados. Os demais picos foram identificados por comparação com o tempo de eluição dos fruto-oligossacarídeos de tubérculos de *H. tuberosus*, e os valores numéricos referem-se ao GP dos frutanos.

3.2 Armazenamento de Raízes Tuberosas

O experimento foi realizado no Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas, e as extrações e análises bioquímicas no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências - UNESP, Botucatu. Em 26/08/98 (final do inverno) o yacon foi cultivado em uma área de 200 m² objetivando a produção de raízes tuberosas para os experimentos de pós-colheita. As raízes foram colhidas oito meses após o plantio, em 26/05/99 (outono), e em seguida, lavadas em água corrente e preparadas para o início dos tratamentos que tiveram duração de 15 dias, de 27 de maio a 12 de junho de 1999.

3.2.1 Preparo e seleção das raízes tuberosas

Após a lavagem as raízes foram pesadas, descartando-se aquelas com danos mecânicos, por patógenos ou rachaduras provenientes do fornecimento desuniforme de água. Em seguida, foram separadas 100 raízes para a determinação de critérios de classificação que foram utilizados neste experimento (Quadro 3).

Para o experimento de pós-colheita foram utilizadas somente raízes dentro dos padrões de classificação determinados no Quadro 3.

Quadro 3: Critérios de classificação para estudos de pós-colheita de raízes tuberosas de yacon. Botucatu, SP - 2001.

TIPOS	Peso médio (g)	Diâmetro médio (cm)	Comprimento médio (cm)	Sólidos solúveis totais (°Brix) médio
1	150 - 200	4,0	14	11,5
2	201 - 400	5,0	21	13,0
3	401 - 900	6,0	28	14,5

Deste material retiraram-se cinco amostras representativas para a determinação da composição química inicial das raízes, que foi realizada no Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, FCA/UNESP, Botucatu e encontra-se no Quadro 4.

Quadro 4: Composição química das raízes tuberosas de yacon recém colhidas (% na massa seca). Botucatu,SP.

Proteína	M.Graxa	Cinzas	Fibras	Acidez	pH	Aç. totais
----------	---------	--------	--------	--------	----	------------

4,38	1,62	3,64	3,32	1,28	5,5	64,8
------	------	------	------	------	-----	------

Acidez normal em ml/100 g de amostra.
 % inicial de água nas raízes = 85,71

3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental

As raízes selecionadas foram armazenadas em câmara fria ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade relativa de $95 \pm 5\%$) com e sem embalagem plástica, à sombra na temperatura ambiente ($22 \pm 3^\circ\text{C}$, em média), sem embalagem, e no congelador (-18°C) com embalagem plástica, durante períodos de 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias. As variáveis condição e tempo de armazenamento, foram combinadas formando um fatorial de 4×6 , em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 5 repetições. Cada parcela constituiu-se de 4 raízes tuberosas, e a cada três dias de armazenamento foram retiradas amostras, contendo 8 g de uma mistura homogênea da região central das raízes. Dessas amostras foram feitos dois extratos de 4 g, um para a quantificação de frutose total e açúcares redutores e outro para análise da atividade da isoenzima peroxidase (EC 1.11.1.7).

3.2.3 Obtenção dos extratos

Os extratos para a quantificação de frutose total e açúcares redutores foram preparados em etanol 80% e submetidos a extrações alcoólicas e aquosas, como descrito anteriormente.

Para análise de atividade da peroxidase e do teor de proteínas totais solúveis, 4 g de amostras foram homogeneizadas em 10 ml de tampão fosfato 0,2M, pH

6,7, filtradas em papel Whatman n.1 e centrifugadas a 1.400 *g* por 10 minutos, a 4 °C. O sobrenadante constituiu a fonte enzimática (extrato bruto).

3.2.4 Quantificação de frutose total e açúcares redutores

Os extratos obtidos foram submetidos à quantificação da frutose total (mg.g⁻¹ de massa fresca) por determinação da frutose na forma livre e combinada, utilizando-se o método de Jermyn (1956), específico para cetoses, e a quantificação dos açúcares redutores (mg.g⁻¹ de massa fresca) pelo método colorimétrico proposto por Somogyi (1945), assim como descrito no experimento anterior.

3.2.5 Determinação da atividade da peroxidase

A atividade da isoenzima peroxidase foi determinada de acordo com o método proposto por Allain et al.(1974) e modificado por Lima (1994). O sistema de reações continha 1,0 ml do extrato bruto, 0,5 ml da solução de H₂O₂ a 30%, 0,5 ml da solução de aminoantipirina e diclorofenol (81,3 mg de aminoantipirina + 163 mg de diclorofenol em 100 ml de H₂O destilada). A mistura foi levada ao banho-maria a 30 °C, por 5 minutos, e a reação foi interrompida pela adição de 2 ml de etanol absoluto. Em seguida foram feitas as leituras da absorbância em espectrofotômetro a 505nm.

A atividade enzimática foi expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2$ decomposto.min⁻¹. g⁻¹ de massa fresca.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ciclo de Cultivo

O estudo do desenvolvimento das plantas de yacon é relevante na determinação de seu ciclo de cultivo. A época ideal de colheita das raízes tuberosas deve estar associada ao momento de maior produtividade (produção de massa fresca por área) e ao maior conteúdo de carboidratos de reserva. As variações qualitativas e quantitativas, e a distribuição desses carboidratos é influenciada não somente pelas condições ambientais, mas também pela demanda interna das plantas. Essa demanda, forma uma relação fonte-dreno que varia durante o desenvolvimento (Margoczi & Maróti, 1985). Deste modo, faz-se necessário o monitoramento das plantas nas diferentes regiões de cultivo.

Neste trabalho, pode-se visualizar o crescimento das plantas de yacon por uma sequência de fotos, conforme mostrado a seguir.

Figura 3: Cultivo de yacon na região de Botucatu, SP. (a) rizóforos utilizados no plantio, (b) plantas aos dois meses de idade, (c) plantas aos quatro meses, (d) plantas aos seis meses, (e) plantas aos oito meses, (f) plantas aos nove meses, (g) planta aos dez meses, (h) produção de raízes tuberosas. Botucatu, SP - 2001.

Pode-se notar que dois meses após o plantio dos rizóforos (Figuras 3^a e 3b) as plantas já apresentam folhas bem desenvolvidas e as hastes chegam a medir, em média 20 cm. Aos quatro meses (Figura 3c) observa-se grande volume de parte aérea, e as plantas apresentam de seis a oito hastes que chegam a 90 cm de altura.

Dos seis aos oito meses (Figura 3d), as plantas apresentam pequeno crescimento aéreo (110 cm em média) e entre seis e sete meses, ocorre a floração. A partir da floração, inicia-se a queda das folhas da base das hastes e início da senescência da parte aérea. Nesse momento a parte subterrânea encontra-se bem desenvolvida e o processo de tuberização é acelerado (Figura 3e). Aos dez meses (Figura 3g), a parte aérea já está totalmente seca e inicia-se o processo de rebrota dos rizóforos, dando início ao desenvolvimento da nova planta. Em regiões onde o inverno é muito rigoroso, alcançando temperaturas abaixo de 0 °C, ou muito seco, os rizóforos entram em dormência e o processo de rebrota acontece somente no final do inverno, quando as condições ambientais tornam-se favoráveis (Grau & Rea, 1997; Fukai et al. 1997). Esse processo de dormência é também observado em espécies de Asteraceae nativas de regiões de cerrado no Brasil, tais como, *Viguiera discolor* e *Vernonia herbacea*, que também acumulam frutanos como carboidrato de reserva em órgãos subterrâneos (Isejima & Figueiredo - Ribeiro 1991; Carvalho & Dietrich 1993).

4.1.1. Massa fresca da parte aérea

Durante o ciclo de cultivo do yacon ocorreram variações de peso da massa fresca nas diferentes partes das plantas dependendo do estágio de desenvolvimento em que estas se encontravam. Na Figura 4 observa-se que as plantas apresentam acelerado desenvolvimento da parte aérea até quatro meses depois do plantio, sendo que entre o segundo e o terceiro meses ocorrem aumentos expressivos de massa, de 97,50 para 812,50 g, em média.

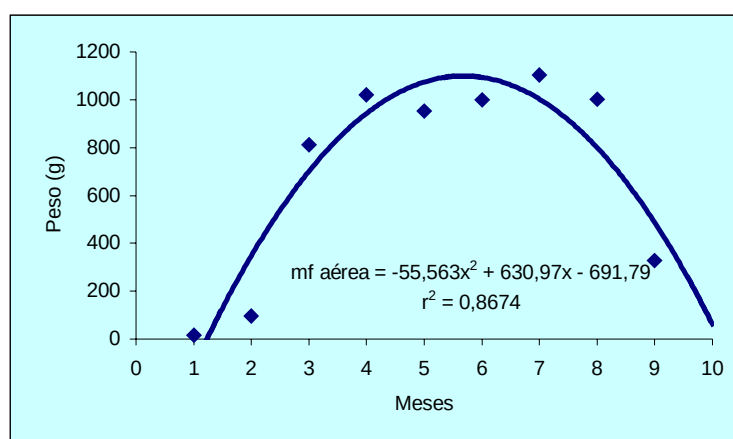


Figura 4 - Massa fresca da parte aérea (g) de plantas de yacon durante o ciclo de cultivo. Botucatu, SP - 2001.

Do quarto ao oitavo mês não são observados aumentos expressivos na massa aérea das plantas e entre os seis e sete meses após o plantio, estas apresentam seu máximo desenvolvimento vegetativo, dando início à floração, que é considerado um forte processo de dreno. De acordo com Isejima & Figueiredo - Ribeiro (1991) o florescimento e a tuberação são designados drenos de utilização e de reserva, e há relatos na literatura (Ho, 1988; Heuvelink, 1997) de que nas fases de florescimento e tuberação de diversas espécies

vegetais, ocorre uma acelerada distribuição dos assimilados dos locais de produção para os de utilização e reserva, e isso pode ser observado também nas plantas de yacon.

Aos 8 meses, no final da floração, observa-se o início da senescência da parte aérea, e a partir dos 9 meses uma acentuada perda de massa, chegando a valores três vezes menor que aos oito meses. Nesta época a parte aérea das plantas apresenta-se totalmente seca.

4.1.2 Massa fresca da parte subterrânea

Na Figura 5 nota-se que as partes subterrâneas do yacon apresentaram tendência de aumento linear de massa fresca durante os dez meses de cultivo, sendo que aos 4 meses ocorrem aumentos de até 3,5 vezes em relação ao terceiro mês.

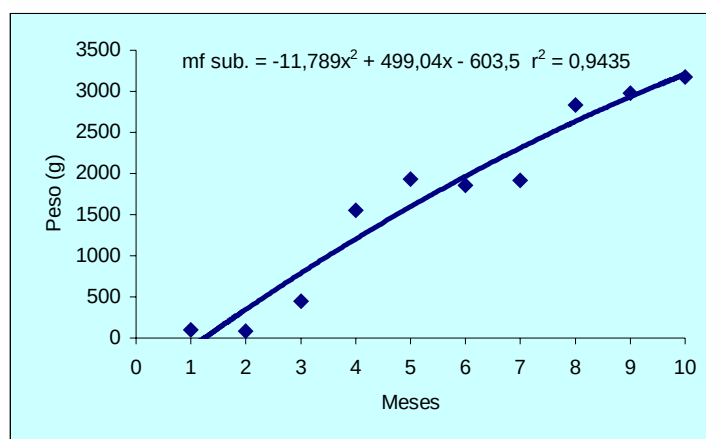


Figura 5 - Massa fresca da parte subterrânea (g) de plantas de yacon durante o ciclo de cultivo. Botucatu, SP -2001.

Entre quatro e sete meses após o plantio, não foram observados aumentos de massa subterrânea; provavelmente, nessa época o desenvolvimento vegetativo e a

floração estão funcionando como forte dreno de fotoassimilados. Aos sete meses, verifica-se uma retomada no aumento da massa fresca subterrânea, provavelmente pela aceleração do processo de tuberização das raízes que ocorre logo após a floração. Esse aumento de massa se mantém até o décimo mês. O aumento de massa subterrânea observado logo após a fase de floração foi também observado em *Viguiera discolor* (Isejima & Figueiredo - Ribeiro, 1991) e *Helianthus tuberosus* (Fuchs, 1993).

Os resultados, tanto de massa aérea como subterrânea, demonstram que as variações observadas durante o desenvolvimento das plantas de yacon, estão provavelmente associadas aos processos de brotação, crescimento, floração e tuberização.

A senescência da parte aérea após a floração pode estar relacionada com a mobilização de nutrientes para os órgãos subterrâneos, como observado na Figura 4. Os maiores valores de massa subterrânea foram encontrados aos oito e nove meses, quando ocorreu uma produtividade média de 30 t.ha⁻¹, o que indica que, para esta variável, esta seria a melhor época de colheita desses órgãos.

Quadro 5: Valores médios de massa fresca das partes aérea e subterrânea (g) das plantas de yacon durante dez meses de cultivo. Botucatu, SP - 2001.

Coletas (meses)	Parte aérea (g)	Parte subter. (g)	Total (g)
1	16,75	96,50	113,25
2	97,50	81,50	179,00
3	812,50	445,50	1258,00
4	1019,50	1553,40	2572,90
5	954,00	1933,50	2887,50
6	999,00	1856,00	2855,00
7	1102,50	1919,50	3022,00
8	1001,50	2837,00	3838,50
9	329,00	2974,50	3303,50
10	-	3176,00	3176,00

4.1.3 Quantificação de frutose total e açúcares redutores em raízes tuberosas

Os conteúdos de frutose total e de açúcares redutores em raízes tuberosas de yacon variam durante o desenvolvimento das plantas. Essas variações são decorrentes do estágio fisiológico e de fatores ambientais a que estão expostas.

4.1.3.1 Frutose total

O processo de tuberização das raízes inicia-se por volta de 90 dias após o plantio dos rizóforos, momento em que as plantas apresentam de 3 a 4 pares de folhas e produzem mais carboidratos via fotossíntese (Figura 6). Parte dessa produção é destinada ao desenvolvimento vegetativo da planta e parte é enviada para as raízes tuberosas onde será transformada, por processos enzimáticos, em fruto-oligossacarídeos (Incoll & Bonnett, 1996).

Pode-se notar tendência de aumento no conteúdo de frutose até 5 meses após o plantio, época em que as plantas encontram-se em pleno desenvolvimento vegetativo (Figura 6). Esse aumento em plantas com até cinco meses de idade foi também observado por Fukai et al.(1997), os quais notaram aumento expressivo na atividade da SST, enzima responsável pela transferência de resíduos de frutose de uma molécula de sacarose para outra, formando 1-kestose + glicose e da FFT, transferindo resíduos de frutose para o trissacarídeo dando início dessa forma, às cadeias de frutanos.

Entre 5 e 6 meses ocorre uma estabilidade nesses teores com tendência à diminuição aos 7 meses. Esta diminuição, provavelmente acontece devido à energia

produzida estar sendo desviada para o processo de floração das plantas, como já relatado no ítem anterior.

Aos 7 meses, logo após o florescimento, observa-se uma retomada no conteúdo de frutose reservados nas raízes, o que se mantém até os 9 meses, época de início da senescência da parte aérea das plantas.

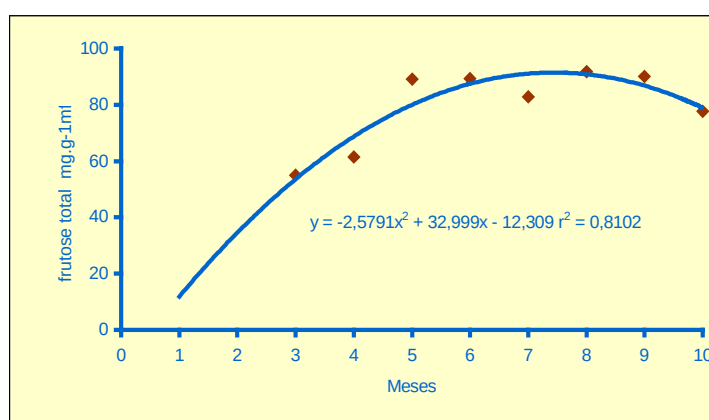


Figura 6: Conteúdo de frutose total em raízes tuberosas de yacon (mg.g⁻¹ de massa fresca) durante o ciclo de cultivo. Botucatu, SP - 2001.

Entre 9 e 10 meses, o conteúdo de frutose total tende a diminuir, coincidindo com o reinício de brotação dos rizóforos, o que, provavelmente, provoca a despolimerização dos fruto-oligossacarídeos armazenados nas raízes, com a liberação de frutose, e a transformação desta frutose em glicose para ser utilizada como energia nesse processo. Em trabalhos realizados por Fukai et al. (1995 e 1997) foi observado nesta mesma fase de desenvolvimento do yacon, aumento significativo na atividade da FEH (frutano:exohidrolase) nas raízes, enzimas responsáveis pela despolimerização das cadeias de frutanos e quebra das moléculas de sacarose com liberação de açúcares livres. Neste momento,

a parte aérea das plantas já se encontra quase que totalmente seca e as brotações dos rizóforos começam a surgir na superfície do solo, dando início a uma nova planta.

Estudos realizados com outras espécies de Asteraceae que acumulam frutanos do tipo inulina em órgãos de reserva como *V. discolor*, *C. intybus* L., *H. tuberosus*, também apontaram aumentos nos teores desses carboidratos durante a fase de desenvolvimento vegetativo, manutenção ou até pequena redução durante a floração, e novo aumento após a floração (Isejima & Figueiredo - Ribeiro, 1993; Van den Ende & Van Laere, 1996; Marx et al., 1997).

4.1.3.2 Açúcares redutores

O conteúdo de açúcares redutores nas raízes tuberosas de yacon é dependente, entre outros fatores, do estágio de desenvolvimento da planta, da atividade das enzimas de polimerização (SST e FFT) e despolimerização (FEH) das cadeias de frutanos e ainda, da atividade de outras hidrolases, tais como as invertases, que quebram as moléculas de sacarose liberando glicose e frutose (Fukai et al. 1995; Fukai et al., 1997). Entretanto, fatores ambientais desfavoráveis, como baixas temperaturas (menores que 0⁰C), congelamento, seca ou ataque de patógenos, podem estimular a ação dessas enzimas. De acordo com Eagles (1967) e Levitt (1980), algumas plantas que sobrevivem em regiões muito frias, onde em parte do ano a superfície do solo encontra-se congelada, ou em regiões muito secas, reservam carboidratos solúveis, tais como os frutanos em seus órgãos subterrâneos, pois necessitam de pronta disponibilidade das reservas para sobrevivência da espécie.

Na Figura 7, pode-se observar que os açúcares redutores nas raízes de yacon apresentam tendência de aumento durante os dez meses de cultivo.

Esse aumento foi expressivo após 7 meses, sendo que os maiores teores desses açúcares foram encontrados aos 9 meses após o plantio (Quadro 6).

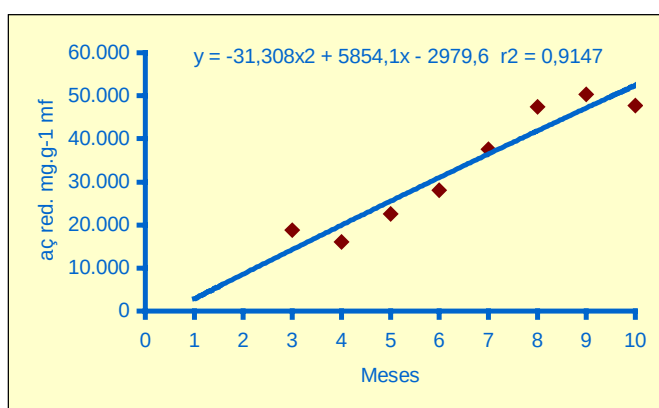


Figura 7 - Conteúdo de açúcares redutores em raízes tuberosas de yacon (mg.g^{-1} de massa fresca) durante dez meses de cultivo. Botucatu, SP - 2001.

Aos 10 meses, o conteúdo de açúcares redutores tende a diminuir, nesta fase já não há mais produção fotossintética, a parte aérea das plantas encontra-se quase que totalmente seca e os carboidratos reservados, possivelmente são utilizados para suprir a necessidade de energia utilizada na brotação dos rizóforos e desenvolvimento de uma nova planta.

Quadro 6: Valores médios de frutose total e açúcares redutores (mg.g^{-1} m.f) em raízes tuberosas de yacon durante dez meses de cultivo. Botucatu, SP - 2001.

Coletas (meses)	Frutanos totais (mg.g^{-1} m.f)	Açúcares red. (mg.g^{-1} m.f)
1	-	-
2	-	-
3	55,05	18,85
4	61,39	16,11
5	89,17	22,53
6	89,33	28,09

7	82,73	37,58
8	91,84	47,35
9	90,10	50,37
10	77,76	47,76

4.1.4 Análises qualitativas de açúcares em raízes tuberosas

As análises dos açúcares das raízes tuberosas de yacon por HPLC (Figura 8), mostram as proporções de glicose, frutose, sacarose, 1-cestose , nistose e oligossacarídeos, respectivamente.

Figura 8 Análise por HPLC dos oligossacarídeos de raízes tuberosas de *Polymnia sonchifolia*, aos 7, 8, 9 e 10 meses de cultivo. G, F, S, 1C e N referem-se aos tempos de eluição dos padrões de glicose, frutose, sacarose, 1-cestose e nistose. Botucatu, SP - 2001.

Pode-se notar que aos sete meses o conteúdo de glicose, frutose, sacarose e 1-cestose apresentam-se elevados, e os picos de oligossacarídeos ainda pequenos em relação ao oitavo mês. Além disso, os maiores oligossacarídeos detectados aos sete meses foram os com GP = 12, sendo que aos oito meses, nota-se detecção de oligossacarídeos com GP de até 15, o que indica polimerização das cadeias nesta fase. Aos nove meses, observa-se novamente aumento nas quantidades dos monossacarídeos e redução de 1-cestose, nistose e oligossacarídeos, sugerindo retomada dos processos enzimáticos de despolimerização das cadeias de frutanos, o que se intensifica aos dez meses. A partir desses resultados pode-se notar que aos oito meses as raízes tuberosas de yacon apresentam as maiores quantidades de fruto-oligossacarídeos, sendo essa a melhor época de colheita visando à produção de raízes para a extração de frutanos.

4.1.5 Quantificação de frutose total e de açúcares redutores em rizóforos

4.1.5.1 Frutose total

Os rizóforos de yacon são órgãos subterrâneos especializados na propagação vegetativa da espécie. Somente após a fase de floração das plantas (7 a 8 meses após o plantio) pode-se notar expressivo desenvolvimento deste órgãos. Entretanto, trinta dias após o plantio, estes começam a emitir brotações aéreas e subterrâneas dando origem aos caules aéreos, raízes de fixação e absorção e raízes tuberosas.

Observa-se uma tendência de aumento no conteúdo de frutanos totais nos rizóforos de yacon até 5 meses após o plantio (Figura 9). Aos 6 meses esses carboidratos

apresentam pequena diminuição, retomando o aumento aos 7 e 8 meses, momento em que são encontrados os maiores teores.

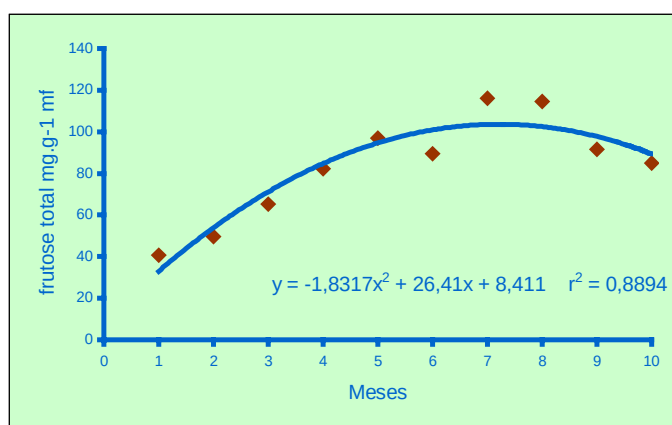


Figura 9: Conteúdo de frutose total em rizóforos de yacon (mg.g⁻¹ de massa fresca) durante o ciclo de cultivo. Botucatu, SP -2001.

A partir dos 8 meses, nota-se novamente tendência à diminuição destes teores, o que provavelmente ocorre por despolimerização das cadeias de frutanos nos rizóforos, com liberação de açúcares livres. Esses açúcares serão transformados em energia para serem utilizados tanto no crescimento, como na brotação das gemas ali presentes, dando início desta forma, a uma nova planta.

Fukai et al. (1997) também relacionaram essa diminuição do conteúdo de frutose em rizóforos de yacon, após oito meses do plantio, ao processo de rebrota das plantas e observaram que nesta fase houve aumento significativo na atividade das enzimas FEH nesses órgãos.

Em *H. tuberosus*, espécie de Asteraceae que reserva grande quantidade de frutanos nos órgãos subterrâneos, Marx et al. (1977) notaram que durante o

desenvolvimento dos tubérculos, a enzima FEH manteve-se quase inativa e no final do ciclo de cultivo, com o início das brotações, sua atividade aumentou expressivamente, provocando uma acelerada despolimerização das cadeias de frutanos.

Carvalho & Dietrich. (1993) observaram em plantas de *Vernonia herbacea*, espécie de Asteraceae nativa do cerrado brasileiro, diminuição nos teores de frutanos em rizóforos nas fases de floração e rebrota. Os autores sugerem que esta diminuição indica a mobilização das reservas para suprir as necessidades de substrato na floração e no desenvolvimento intensivo das gemas aéreas, na fase de rebrota.

Apesar dos rizóforos de yacon apresentarem como principal função a propagação da espécie, o acúmulo observado de frutanos na fase de pós floração é expressivo, sugerindo que também podem ser utilizados para a extração de fruto-oligossacarídeos, complementando a produção a partir das raízes tuberosas.

4.1.5.2 Açúcares redutores

Com relação aos açúcares redutores nos rizóforos de yacon durante os dez meses de cultivo, pode-se notar que diferentemente das raízes, o conteúdo nos rizóforos tende a diminuir significativamente a partir do segundo mês (Figura 10). Essa redução é contínua durante todo o ciclo, sendo que os menores valores foram encontrados aos nove meses ($10,62 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ mf}$). Provavelmente, isto ocorre devido à mobilização desses açúcares para a produção de energia necessária ao desenvolvimento, tanto da parte aérea como subterrânea das plantas.

Além disso, o aumento do grau de polimerização das cadeias de frutanos ocorre com a deposição de moléculas de frutose, pela ação da enzima FFT, promovendo desta forma, diminuição na quantidade desses açúcares (Edelman & Jefford, 1968).

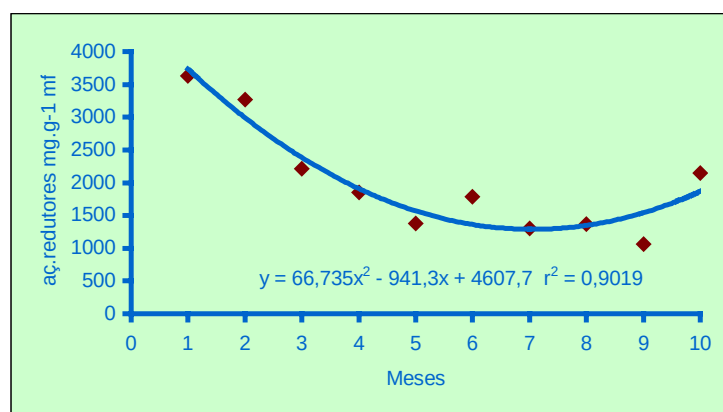


Figura 10: Conteúdo de açúcares redutores em rizóforos de yacon (mg.g^{-1} de massa fresca) durante os dez meses de cultivo. Botucatu, SP -2001.

Van Den Ende & Van Laere (1996) trabalhando com plantas de *C. intybus*, notaram elevada atividade da enzima FFT durante todo o desenvolvimento da planta.

Quadro 7: Valores médios de frutose total e açúcares redutores em rizóforos de yacon durante dez meses de cultivo. Botucatu, SP -2001.

Coletas (meses)	Frutose total (mg.g^{-1} mf)	Açúcar redutor (mg.g^{-1} mf)
1	40,81	36,26
2	49,60	32,64
3	65,10	22,12
4	82,24	18,56
5	96,87	13,75
6	89,56	17,82
7	116,19	13,00

8	114,61	13,68
9	91,46	10,62
10	85,02	21,48

4.2 Armazenamento de Raízes Tuberosas

A condição de armazenamento durante a pós-colheita é de grande importância na qualidade e manutenção dos compostos em raízes tuberosas de yacon.

Nesta fase, os carboidratos de reserva devem suprir a demanda de energia necessária, principalmente ao processo respiratório, e isso somente é possível com a despolimerização das cadeias de frutanos e conseqüente liberação de açúcares livres. Desta forma, a condição ideal de armazenamento seria aquela em que, entre outros, o processo respiratório fosse desacelerado, diminuindo assim, a demanda de energia e a despolimerização das cadeias.

4.2.1 Frutose total

O conteúdo de frutose total em raízes tuberosas de yacon pode indicar sua potencialidade na produção de xarope de frutose, componente este de grande interesse na indústria alimentícia.

Durante a pós-colheita é possível determinar a quantidade e o comportamento desses carboidratos, além da condição ideal de armazenamento na qual são

minimizadas as alterações físico-químicas inerentes à esta fase, segundo os tratamentos utilizados (Figura 11 e Quadro 8).

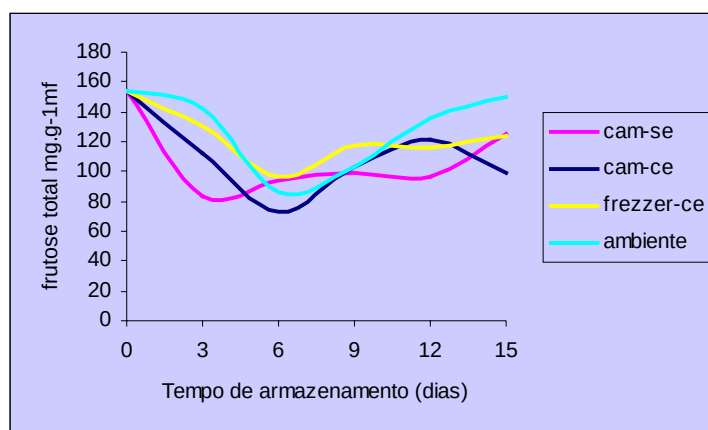


Figura 11: Conteúdo de frutose total em raízes tuberosas de yacon (mg.g^{-1} de massa fresca) armazenadas no ambiente, em câmara fria a 4°C e no congelador a -18°C durante período de 15 dias, (ce) com embalagem plástica e (se) sem embalagem plástica. Botucatu, SP - 2001.

Quanto ao conteúdo de frutose total em raízes armazenadas sem embalagem a 4°C (Quadro 8), observou-se diminuição significativa logo após o início do armazenamento e após doze dias, esse teor apresentava-se 37% menor. Esta redução foi também observada em raízes armazenadas com embalagem plástica; porém aos doze dias, a diminuição dos valores foi de 21% em relação ao início do armazenamento. Independentemente da embalagem, os menores teores de frutose total foram observados entre o terceiro e o nono dias.

Resultados similares foram obtidos por Kosaric et al. (1984) em tubérculos de *H.tuberosus* armazenados a 3°C . Os autores observaram diminuição da

quantidade de carboidratos e relacionaram essa redução ao processo de despolimerização das cadeias de frutanos, e sugeriram que as enzimas hidrolíticas apresentam alta atividade nessa temperatura.

Redução nos níveis de frutanos foi também observada por Asami et al. (1991) em raízes de yacon armazenadas a 5 e 25 °C por período de duas semanas, sendo que a 5 °C, esse decréscimo foi de 33% e a 25 °C, de 41%. Os autores também associaram essa diminuição às enzimas de despolimerização (enzimas hidrolíticas) das cadeias de frutanos que apresentam alta atividade nessas temperaturas.

De acordo com Modler et al. (1993), tubérculos de *H. tuberosus* armazenados a 5, 2 e -10 °C, por período de doze meses, apresentaram tendência à diminuição do grau de polimerização nas cadeias de frutanos em todas as temperaturas de estocagem. Entretanto, a -10 °C essa tendência foi substancialmente reduzida.

Van Den Ende & Van Laere (1996) também observaram essa diminuição no conteúdo de frutanos em raízes de *C. intybus* armazenadas durante três semanas a 1 °C, e afirmaram que o armazenamento em baixas temperaturas não inibe o acelerado processo de despolimerização das cadeias de frutanos em pós-colheita.

No armazenamento em condição ambiente (22 ± 3 °C) pode-se notar uma diminuição significativa no conteúdo de frutanos até o nono dia de armazenamento, fato este que se inverte até o décimo quinto dia.

Quando as raízes embaladas foram armazenadas em freezer à temperatura de -18 °C, por um período de quinze dias, não houve alteração significativa no conteúdo de frutanos totais.

Essa condição de armazenamento mostrou-se eficiente na manutenção dos teores de frutanos totais. Entretanto, quando descongeladas, as raízes apresentaram-se flácidas e amolecidas, provavelmente pela perda de estrutura das membranas, diminuindo desta forma a qualidade e a possibilidade do consumo "in natura".

Quadro 8: Valores médios de frutose total (mg.g^{-1} de massa fresca), em raízes tuberosas de yacon armazenadas a 4°C, com e sem embalagem plástica, a -18°C com embalagem e na temperatura ambiente sem embalagem. Botucatu, SP - 2001.

Trat.	4°C	4°C	-18°C	Ambiente	Médias
Tempo (dias)	(se)	(ce).	(ce)	(se)	
0	153,97 a A	153,97 a A	153,97 a A	153,97 a A	153,97 A
3	83,58 c B	112,57 bc B	130,00 ab A	142,58 a A	117,18 BC
6	94,37 a B	73,10 a C	96,86 a A	85,68 a B	87,50 D
9	99,39 a B	102,97 a B	116,81 a A	103,50 a C	105,66 C
12	97,12 b B	121,26 ab B	116,11 ab A	135,20 a A	117,42 BC
15	130,18 ab A	103,19 b B	122,98 ab A	145,54 a A	125,47 B
Médias	109,77 b	111,18 b	122,79 a	127,74 a	-

Médias seguidas das mesmas letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem significativamente, entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Essa ocorrência observada, provavelmente se deve ao rompimento das membranas por cristais de gelo formados no interior das células com o processo de congelamento (Morris & Clarke, 1981; Jackman et al., 1988).

Desta forma, se o objetivo do armazenamento for a conservação das raízes para posterior extração de frutanos, o processamento deve-se iniciar logo em seguida ao descongelamento, diminuindo desta forma, a possibilidade de despolimerização das cadeias.

4.2.2 Açúcares Redutores

Nas raízes armazenadas a 4 °C com embalagem, verifica-se aumento no conteúdo de açúcares redutores logo nos três primeiros dias, com esta tendência mantendo-se até o 15^o dia. Entretanto, quando as raízes foram armazenadas sem embalagem plástica, somente a partir do 12^o dia houve aumento significativo nesses teores (Quadro 9 e Figura 12).

Quando as raízes embaladas foram armazenadas a -18 °C, o conteúdo desses açúcares manteve-se sem alterações significativas durante os 15 dias, pois, nessa temperatura, ocorre a paralização dos processos enzimáticos, evitando a despolimerização das reservas e consequente liberação de glicose e frutose.

Os maiores valores nos conteúdos de açúcares redutores foram observados em raízes armazenadas à temperatura ambiente (22 ± 3 °C), sem embalagem plástica.

Quadro 9: Valores médios de açúcares redutores (mg.g⁻¹ de massa fresca), em raízes tuberosas de yacon armazenadas a 4°C, com e sem embalagem plástica, a -18°C com embalagem e na temperatura ambiente sem embalagem. Botucatu, SP - 2001.

Trat.	4 °C		4 °C		-18 °C	Ambiente	Médias
Tempo	(se)		(ce)		(ce)	(se)	
(dias)							
0	2314,3	a A	2314,3	a A	2314,3	a A	2314,3 D
3	2801,0	a A	4004,8	a B	3049,8	b A	3512,2 C
6	2994,9	b A	2982,1	b A	3265,6	b A	3498,4 C
9	3607,8	bc A	4105,4	b B	3289,4	c A	4308,9 B

12	4886,6	b B	4037,7	c B	2976,6	d A	6066,6	a C	4491,9	B
15	3931,6	b B	4306,6	b B	4229,8	b A	7555,8	a D	5005,9	A
Médias	3422,7	bc	3625,1	b	3187,6	c	5185,7	a		

Médias seguidas das mesmas letras, minúsculas para as linhas e maiúsculas para as colunas, não diferem significativamente, entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Observa-se que aos 6 dias de armazenamento, esses teores são 2,5 vezes maiores que no início do experimento, chegando a 3,5 vezes no 15^o dia. Esse aumento no conteúdo dos açúcares livres durante o armazenamento na temperatura ambiente está provavelmente, relacionado a uma elevada atividade das enzimas hidrolíticas, que quebram as cadeias de frutanos entre resíduos de frutose até a molécula inicial de sacarose (FEH) e invertases que em seguida, quebram a molécula de sacarose, liberando glicose e frutose (Oyama et al., 1990; Asami et al., 1991; Fukai et al., 1995).

O aumento gradual nos teores de açúcares livres em raízes tuberosas de yacon, armazenadas em temperatura ambiente, foi também observado por Wei et al. (1991), os quais sugerem que se o objetivo for o consumo das raízes "in natura", esse tipo de estocagem é recomendada pois, com a elevação no conteúdo desses açúcares intensifica-se o sabor adocicado das raízes.

Resultados semelhantes foram observados por Vilhena (1997); os teores de frutanos totais em raízes tuberosas de yacon diminuíram pela metade quando estas foram armazenadas a 4^oC e na temperatura ambiente (22 ^oC), durante período de 15 dias. A mesma autora notou aumento expressivo na quantidade de frutose e glicose livres, e o conteúdo de sacarose apresentou pequena elevação.

No momento da colheita, com a separação das raízes tuberosas da planta, inicia-se uma série de processos metabólicos que demandam energia e, a partir desse momento, essa energia passa a ser proveniente dos carboidratos anteriormente reservados nesses órgãos. No caso das raízes tuberosas de yacon, nas quais as reservas encontram-se na forma de fruto-oligossacarídeos, ocorre a despolimerização das cadeias, através de processos enzimáticos, com decorrente liberação de açúcares redutores (glicose e frutose).

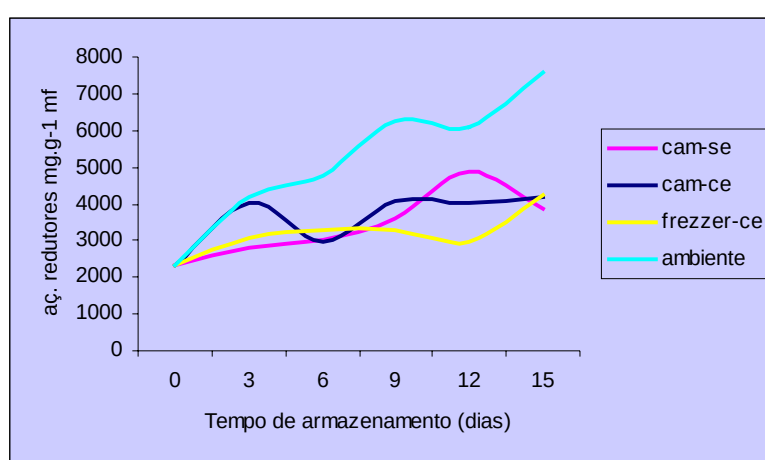


Figura 12: Conteúdo de açúcares redutores em raízes tuberosas de yacon (mg.g^{-1} de massa fresca) submetidas ao armazenamento no ambiente, a 4°C com e sem embalagem plástica e a -18°C durante período de 15 dias, (ce) com embalagem plástica e (se) sem embalagem plástica. Botucatu, SP - 2001.

Hondo et al. (1994) observaram o comportamento dos açúcares e a qualidade das raízes de yacon armazenadas nas temperaturas de 2, 5 e 25°C por período de dois meses. Os autores notaram que para a manutenção das características qualitativas das raízes, o armazenamento a 2°C foi o melhor, quando comparada a 5 e 25°C . O conteúdo dos fruto-oligossacarídeos apresentou decréscimo em todas as temperaturas de armazenamento estudadas. A quantidade de frutose livre aumentou substancialmente e os teores de sacarose apresentaram pequena elevação.

Modler et al. (1993) notaram diminuição no conteúdo de frutanos em tubérculos de *H. tuberosus* armazenados a 5, 2 e -10 °C, durante período de doze meses. O grau de polimerização das cadeias foi também diminuído em todas as temperaturas de armazenamento; entretanto, as menores alterações na quantidade de frutanos e no tamanho das cadeias foram observadas a -10 °C.

4.2.3 Atividade da peroxidase (POD) (EC 1.11.1.7)

A atividade média da enzima manteve-se sem alterações significativas quando as raízes, com embalagem plástica, foram armazenadas a -18 °C pelo período de 15 dias (Quadro 10). Esse mesmo comportamento foi observado em raízes armazenadas a 4 °C, independentemente da embalagem.

Pode-se notar que as baixas temperaturas, tanto a 4 °C como a -18 °C, não promoveram alterações significativas na atividade da enzima (Figura 13), o que mostra a eficiência dessas temperaturas na manutenção da qualidade de raízes de yacon. Provavelmente, isso se deve a diminuição das atividades metabólicas devido à ação da baixa temperatura. Esse processo deve ter ocorrido também com outras enzimas presentes nas raízes, diminuindo assim a respiração e quaisquer outras reações anabólicas e catabólicas, pois em baixas temperaturas, geralmente as reações enzimáticas desaceleram-se (Lehninger et al., 1995, Carpita & Mac Cann, 2000).

Na condição ambiente a atividade da enzima mostrou-se maior que nos demais tratamentos e aumentou progressivamente durante os 15 dias de armazenamento. A partir do sexto dia o aumento foi significativo e, aos nove dias, a POD apresentou o dobro de

atividade em relação ao início do tratamento. Ao final dos 15 dias, essa atividade foi três vezes maior.

A elevação da atividade da POD a partir do sexto dia em raízes mantidas em temperatura ambiente pode estar relacionada com o estágio fisiológico pois, estas, apresentavam início de escurecimento, possivelmente devido à oxidação.

Quadro 10: Atividade da peroxidase ($\mu\text{moles de H}_2\text{O}_2 \text{ consumido. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa fresca), em raízes tuberosas de yacon armazenadas a 4°C, com e sem embalagem plástica, a -18°C com embalagem e na temperatura ambiente ($22 \pm 3^\circ\text{C}$) sem embalagem. Botucatu, SP - 2001.

Trat.	4°C		4°C		-18°C		Ambiente		Médias	
(dias)	(se)		(ce)		(ce)		(se)			
0	7,63.10 ⁻³	aA	7,63.10 ⁻³	aA	7,63.10 ⁻³	aA	7,63.10 ⁻³	aA	7,63.10 ⁻³	D
3	8,86	aA	10,07	aA	9,48	aA	10,60	aA	9,75	CB
6	8,43	abA	8,21	bA	7,51	bA	11,94	aA	9,02	CD
9	9,53	bcA	10,98	bA	6,95	cA	15,53	aB	10,75	ABC
12	8,98	b A	9,28	bA	8,97	bA	18,35	aB	11,40	AB
15	8,50	b A	7,42	bA	10,20	bA	21,37	aB	11,90	A
Médias	8,65	b	8,93	b	8,45	b	14,24	a		

Médias seguidas das mesmas letras, minúsculas para as linhas e maiúsculas para as colunas, não diferem significativamente, entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A POD é uma das principais enzimas relacionadas com a senescência e perecibilidade dos tecidos vegetais e, portanto, esses resultados são devido à sua relação com a deterioração das raízes tuberosas de yacon.

Richard (1981) e Carvalho et al. (1985) estudando as peroxidases em pós-colheita de raízes de mandioca, atribuíram a deterioração fisiológica ao aumento da atividade dessas isoenzimas. O aumento de atividade durante a pós-colheita foi também observado por Cano et al.(1995) em frutos de mamoeiro mantidos a 14°C durante um período de 7 dias, os quais também relacionaram com o processo oxidativo.

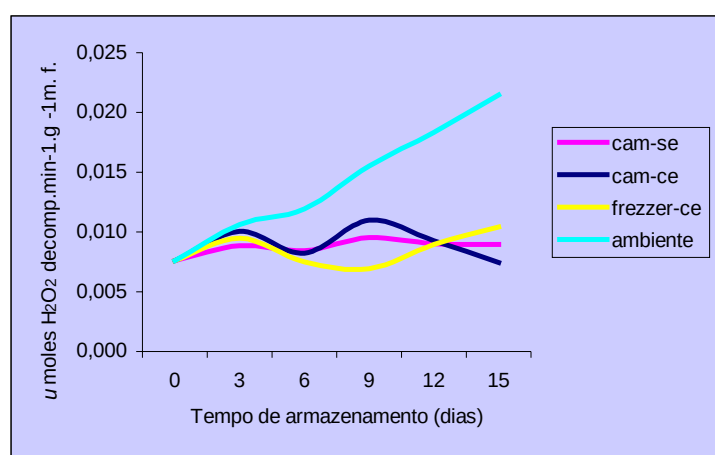


Figura 13: Atividade da peroxidase ($\mu\text{moles de H}_2\text{O}_2 \text{ consumido. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa fresca) em raízes tuberosas de yacon, armazenadas no ambiente, a 4°C com e sem embalagem plástica e a -18°C durante período de 15 dias. Botucatu, SP - 2001.

De acordo com diversos autores, a peroxidase é uma enzima indicadora de senescência em tecidos vegetais (Birecka et al.,1979). Tanto a senescência como a perecibilidade são originadas, entre outros fatores, de danos celulares causados pelo aumento de radicais livres produzidos durante a peroxidação dos lipídeos das membranas e hidrólise das proteínas (Halliwell, 1987). Esses fatores, de acordo com Dhindsa et al. (1981) são considerados os maiores contribuintes dos processos degenerativos.

A senescência ocorre, geralmente, após a parada de crescimento e inclui uma série de processos de desorganização celular, associados à desintegração das

membranas e hidrólise dos polissacarídeos da sua constituição. Uma generalização plausível da senescência é que ela corresponde a um estágio elevado de oxidação dos tecidos, na forma de acúmulo de peróxidos, ou da atividade da lipoxigenase, resultando em lipídios hidroxiperóxidos. Esse aumento de peróxidos e radicais livres está aparentemente relacionado ao aumento da atividade das peroxidases (Gaspar et al., 1981).

Assim, a peroxidase geralmente mostra aumento de atividade durante a senescência, o que poderia estar relacionado com a inativação de inibidores enzimáticos que estão presentes nos vegetais durante o desenvolvimento. Esses inibidores controlam os processos de maturação e senescência, podendo ser inativados pelo etileno (Birecka et al., 1979). A produção de etileno pode ser incrementada por vários tipos de estresse, incluindo temperatura, danos mecânicos e produtos químicos (reguladores vegetais, herbicidas e vários poluentes), podendo também acumular-se nos tecidos das plantas em resposta às infecções patogênicas (Boller & Kende, 1980 e Yang, 1980).

No material analisado, notou-se aumento na atividade da POD em raízes mantidas na temperatura ambiente, o que provavelmente também ocorreu com o etileno. Neste caso, a POD poderia estar agindo na síntese de etileno, como sugerido por Gaspar et al. (1981).

Assim, a atividade da enzima peroxidase parece ser um bom parâmetro na determinação da senescência e da perecibilidade em tecidos vegetais. Por esse motivo, esta enzima vem sendo utilizada como subsídio na manutenção da qualidade de frutos e hortaliças durante a pós-colheita e, provavelmente, pode ser também indicadora em raízes tuberosas de yacon, como observado neste trabalho.

Desta forma, pode-se afirmar que em raízes tuberosas de yacon, o aumento na atividade da POD está relacionado com processos oxidativos, que podem aumentar a perecibilidade e a degradação dos tecidos. Portanto, raízes mantidas em temperatura ambiente, após 6 dias de armazenamento podem tornar-se inviáveis ao consumo “in natura” pois, apresentam estágio avançado de oxidação e degradação dos tecidos, mostrado pela maior atividade da enzima.

5. CONCLUSÕES

O ciclo de cultivo de yacon, objetivando o maior conteúdo de frutose total nas raízes tuberosas, deve ser de oito meses, fase em que também ocorre maior produtividade.

O armazenamento das raízes tuberosas a -18 °C mostrou ser o mais eficiente na manutenção dos teores de frutanos totais.

A peroxidase foi um eficiente indicador bioquímico de qualidade pós-colheita em raízes tuberosas de yacon.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALÍPIO, R. Oligossacarídeos e suas propriedades funcionais. *Food Ingredients*, n.7, p. 94-95, 2000.

ALLAIN, C. C., POON, L.C., CHAN, C. S., RICHMOND, W., FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry*, v.20, p.470-75, 1974.

ASAMI, T., KUBOTA, M., MINAMISAWA, K. , TSUKIHASHI, T. Chemical composition of yacon, a new root crops from the Andean Highland. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, v.60, p.122-6, 1989.

ASAMI, T., MINAMISAWA, K. , TSUCHIYA, T., KANO, K. , HORI, I., OHYAMA, T., KUBOTA, M. , TSUKIHASHI, T. Flutuation of oligofructan contents in tuber of yacon (*Polymnia sonchifolia*) during growth and storage. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, v.62, p.621-7, 1991.

AVIGAD, G. , DEY, P.M. Carbohydrate metabolism : storage carbohydrates. In: DEY, P.M. & HARBORNE, J.B. *Plant Biochemistry*. Academic press, London. 1997, 554 p.

⁽¹⁾ Universidade Estadual Paulista. Coordenadoria Geral de Bibliotecas, Editora UNESP, 1997. 4v., v.2, Referências bibliográficas.

⁽²⁾ BIOSIS. Serial sources for the Biosis previews data base. Philadelphia, 1990.

BARTA, J. Inulin containing in food processing. In: INTERNATIONAL FRUCTAN CONFERENCE 3, 1996.Logan , 1996. p.31.

BIRECKA, H., CHASKES, M. J., GOLDSTEIN, J. Peroxidase and senescence. *Journal of Experimental Botany*, v.30, p.565-73, 1979.

- BLACKIE, S. F. *Polymnia uvedalia* and its varieties. *Rhodora* n.19, p.46-8, 1917.
- BOLLER, T., KEND, H. Regulation of wound ethylene synthesis in plant. *Nature*, v.286, p.259-60, 1980.
- BONUCCELLI, F.R. *Plantas alimenticias en el antiguo Peru*. Lima, Peru, 1989. 175p.
- BRAKO, L., ZARUCCHI, L., Catalogue of the flowering plant and gymnosperms of Peru. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. p.1-1286, 1993.
- CANO, M.P., ANCOS, B., LOBO, G. Peroxidase and poliphenoloxidase activities in papaya during ripening and after freezing/thawing. *Journal of Food Science*, v.60, p.815-20, 1995.
- CARPITA, N. & Mc CANN, M. The cell wall. In: BUCHANAN, B. B., GRUISEN, W., JONES, R. L. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. USA: Society of Plant Physiologists, 2000. 1367 p.
- CARVALHO, V. D., CHAGAS, S. J. R., COSTA, A. C. Alterações em alguns componentes estruturais das raízes durante o armazenamento pós-colheita de três cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). *Revista Brasileira de Mandioca*, v.7, p.73-7, 1988.
- CARVALHO, M.A.M. Variação no conteúdo e na composição de frutanos em rizóforos de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby. Tese de Doutorado. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 1991, p. 111.
- CARVALHO, M. A. M. & DIETRICH, S. M. C. Variation in fructan content in the underground organs of the *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby at different phenological phases. *New Phytol.*, v.123, p.735-40, 1993.
- CARVALHO, V.D. Qualidade e conservação pós-colheita de goiabas. *Informe Agropecuario.*, v.17, n.179, p.48-54, 1994.

- CASTRO, J. V. Transformações físicas e químicas pós-colheita , respiração e transpiração com relação a perda em qualidade e peso. Fatores que afetam a respiração e a transpiração . In: PANTASTICO, E. B., CASTRO, J. V., BLEINROTH, E. W. (Eds.). Curso de pós-colheita e armazenamento de frutas. Campinas: ITAL - SBCTA, p.111-1-111-6,1981.
- CLEMENTE, R.S., PASTORE, G.M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.32, p.167-71, 1998.
- COUSEMENT, P. Os benefícios da inulina e oligofrutose para a saúde. *Food Ingredients*, n.7, p. 93, 2000.
- DHINDSA, R. S., MATAWE, W. Drough tolerance in two mosses correlated with difference against lipid peroxidation. *Journal Experimental Botany*, v.32, p.19-21, 1981.
- DARBYSHIRE, B , ALLAWAY, W. G . Soluble carbohydrates in leafs epidermis of *Allium cepa*: a potential role in stomatal function. *Plant Science Letters*, n.22, p.141-5, 1981.
- DARBYSHIRE, B.; HENRY, R.J. The distribution of fructans in onions. *New Phytol.* n.81, p.29-34, 1978a.
- DAVIDSON, M. H., SYNECKI, C., MAKI, K. C., DRENNEN, K.B. Effects of dietary inulin in serum lipids in men and women with hypercholesterolaemia. *Nutrition Research (UK)*, v..3, p.503 -17, 1998.
- DE CANDOLE, A P. Prodomus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis. *Treuttel et Wurz*, Paris, V.5, 1836.
- DIP, M.R.; MACHADO, M.R.; OLIVEIRA, D.M.T. Estruturas secretoras de órgãos vegetativos de yacon (*Polymnia sonchifolia* - Asteraceae). In: CONGRESSO

LATINOAMERICANO DE RAÍZES TROPICAIS I e CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA 9, São Pedro, 1996. p.(resumo 25).

EAGLES, C.F. Variation in the soluble carbohydrate content of climate races of *Dactylis glomerata* (cocksfoot) at different temperatures. *Ann. Bot. (Lond.)*, n.31, p.645-51, 1967.

EDELMAN J. & JEFFORD, T.G. The mechanism of fructan metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus* . *New Phytol.* v. 67, p.517-31, 1968.

FERNANDEZ, A. M. F., CARO, M. S., CANELADAM. E. L. GRAU, A. Estudio citológico del yacon (*Smallanthus sonchifolia*) y yacon del campo (*Smallanthus macrosciphus*). *Lilloa*, v.40, n.1, p.115-25, 2000.

FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Distribuição, aspectos estruturais e funcionais dos frutanos, com ênfase em plantas herbáceas do cerrado. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.*, v.5, n.2, p.203-8, 1993.

FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; DIETRICH, S.M.C.; CARVALHO, M.A.M. VIEIRA,C.C.J, ISEJIMA, E.M, DIAS-TAGLIACOZZO,G.M, TERTULIANO,M.F. As múltiplas utilidades dos frutanos: reserva de carboidratos em plantas nativas do Cerrado. *Ciênc. Hoje*, v.14, p.16-18, 1993.

FUKAY, K, MIYAZAKI, S, NANJO, F. HARA,Y. Distribution of carbohydrates and related enzymes activities in yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Soils Sci. Plant. Nutr.*, v.39, p.567-71, 1993.

FUKAY, K., OHNO, S., GOTO, K., HARA, Y. Seasonal growth and fluctuation of sugar content in yacon (*Polymnia sonchifolia*) during growth and dormancy. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.* , n.66, p.233-37,1995.

- FUKAY, K., OHNO, S., GOTO, K., NANJO, F., HARA, Y. Seasonal fluctuation in fructan content and related enzyme activities in yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Soil Sci. Plant Nutr.* N.43, v.1, p.171-77, 1997.
- GASPAR, T., PENEL, C., THORPE, T., GREPPIN, H. Peroxidase 1970-1980. A survey of their biochemical and physiological roles in higher plants. Geneve: University of Geneve. 1982. 324p.
- GASPAR, T., PENEL, C., CASTILLO, F. G., GREPPIN, H. A A two step significance for growth and development. *Physiologia Plantarum*, v.64, p.418-23, 1985.
- GOTO, K., FUKAI, K., HIKIDA, J., NANJO, J., HARA, Y. Isolation and structural analysis of yacon oligosaccharides. *Biosci. Biotech. Biochem.*, n.59, p.2346-47, 1995.
- GRAU, A., SLANIS, A. Is *Polymnia sylphoides* var. *perennis* a wild ancestor of yacon? 1 Congreso Latino Americano de Raíces Tropicales. São Pedro, Brasil. p.128, 1996.
- GRAU, A., REA, J. Genetic Resources of yacon (*Smallanthus sonchifolia* Poepp. & Endl.). p.198-242. In: HELLER, J., HERMMAN, M., ENGELS, J. *Andean roots and tuber genetic resources*. IPGRI - Roma, 1997.
- GRAU, A., KORTSARZ, A. M. El retorno del yacón. *Ciencia Hoy*, v.11, n.63, 2001.
- HAALAND, E. The effect of cold on some enzyme activities in tulip bulbs. *Plant Physiol.*, v.30, p.331-3, 1974.
- HALLIWELL, B. Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplasts. *Chem. Phys. Lipids*, v.44, p.327-40, 1987.
- HATA, Y., HARA, T., OIKAWA, T., YAMAMOTO, M., HIROSE, N., NAGASHIMA, T., TORIHAMA, N., NAKAJIMA, K., WATABE, A., YAMASHITA, M. The effect of

- oligofructans (Neosugar) on hiperlipemia. *Geriat. Med.*, v.21, p.156-67, 1983 apud OIKAWA, T. et al. Composition of storage carbohydrate in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Soil Sci. Plant Nutr.*, v.36, p.167-71, 1990.
- HENDRY, G.A, WALLACE, R.K. The origen, distribution and evolutionary significance of fructans. In: FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Distribuição, aspectos estruturais e funcionais dos frutanos, com ênfase em plantas herbáceas do cerrado. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.*, v.5, n.2, p.203-8, 1993.
- HERRERA, F.L. Plantas alimenticias y condimenticias indígenas del departamento del Cuzco. *Bol. Dirección Gen. Agric.*, Peru, v.14, p.48-51, 1943 Apud ZARDINI, E. Ethnobotanical notes on “yacon”: *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). *Econ. Bot.*, v.45, p.72-85, 1991.
- HEUVELINK, E. Effect of fruit load on dry matter partition in tomato. *Scientia Horticulturae*, v.69, p. 51-59, 1997.
- HIDAKA, H., EIDA,T, ADACHI,T, SAITOH,Y. Industrial production of fructooligosaccharides and its application for human and animals. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, v.61, p.915-23, 1987.
- HIDAKA, H., TASHIRO, Y., EIDA, T. Proliferation of bifidobacteria by oligosaccharides and their useful effect on human health. *Bifidobacteria Microflora*, v.10, p. 65-79,1991.
- HIRAYAMA, M, HIDAKA, H. Production and utilization of microbial fructans. In: SUZUKI, M, CHARTERTON, N.J. *Science and Technology of fructans*. London: CRC, 1993. cap.9, p.273-302.
- HONDO, M.; SATO, H.; UNO, T. OKUMURA,Y. Clarification, decolorization and deodorization of yacon juice and development of yacon soft drinks. (Study on the

- development of a sweetener source for seasonings. Part II. *Jpn. J. Soil. Sci. Plant Nutr.*, v.65, n.1, p.15-21, 1994.
- HO, L.C. Metabolism and compartmentation of imported sugar in sink organs in relation to sink strength. *Annu. Ver. Plant Physiol.*, v.39, p.355-78, 1988.
- HU, C., Van HUYSTEE, R.B. Role of carbohydrate moieties in peanut peroxidases. *Biochem. J.*, v.263, p.129-35, 1989.
- INOUE, A, TAMOGAMI, S, KATO, H. NAKAZATO, Y, AKIYAMA, M, KODAMA, O, AKATSUKA, T, HASHIDOKO, Y. Antifungal melampolides from leaf extracts of *Smallanthus sonchifolius*. *Phytochemistry*, v.39, p.845-8, 1995.
- INCOLL, L.D. & BONNETT, G.D. Fructans in the Compositae - a short review. In: CALIGARI, P.D.S., HIND, D.J.N. (eds). *Compositae: Biology & Utilization. Proceedings of the International Composite Conference*. Royal Botanic Gardens, Kew. v.2, p.401-413, 1996
- INCOLL, L.D., BONNETT, G.D., GOTT, B. Fructans in the underground storage organs of some Australian plants used for food by aborigines. *J. Pl. Physiol.*, v.134, p.196-202, 1989.
- ISEJIMA, E. M., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Partição de matéria seca durante o desenvolvimento de *Viguiera discolor*. *Rev. Bras. de Bot.*, v.14, p.107-14, 1991.
- JACKSON, K.G., TAYLOR, G. R. J., CLOHESSY, A. M., WILLIAMS, C.M. The effect of the daily intake of inulin on fasting lipid, inulin and glucose concentration in middle-aged men and women. *British Journal of Nutrition*, v.82, p.23-30, 1999.
- JACKMAN, R. L., YADA, R. Y., MARANGONI, A., PARKIN, K.L., STANLEY, D.W. Chilling injury: A review of quality aspects. *Journal of Food Quality*, v.11, p.253-78, 1988.

- JERMYN, M.A. A new method for the determination of ketohexoses in presence of aldohexoses. *Nature (Paris)* v.177, p.38-9, 1956.
- JORGENSEN, P. M. & LEON, C. Catalogue of vascular plants of Ecuador. *Monographs in Systematic Botany*. Missouri Botanical Garden, 1997.
- KANDLER, O. & HOPF, H. Occurrence, metabolism and function of oligosaccharides. In: *Biochemistry of plants. Carbohydrates : Structure and function*, Academic Press, New York. V.3, p.221 - 70, 1980.
- KAKIHARA, T.S., CÂMARA, F.L.A., VILHENA, S.M.C. RIERA, L.. Cultivo e industrialização de yacon (*Polymnia sonchifolia*): uma experiência brasileira. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE RAÍZES TROPICAIS 1 e CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA 9, 1996, São Pedro, (resumo 148).
- KAKUTA, H.; SEKI, T.; HASHIDOKO, Y. MIZUTANI, J. Ent-kaurenic acid and its related compounds from glandular trichome exudate and leaf extracts of *Polymnia sonchifolia*. *Bios. Biotech. Biochem.*, v.56, p.1562-64, 1992.
- KOSARIK, M, CONSENTINO, G.P, WEICZOREK, A. The jerusalem artichoke as an agricultural crop. *Biomass*, v.5, p.1-36, 1984.
- LENINGER, ^a L., NELSON, D. L., COX, M. M. *Princípios de Bioquímica*, São Paulo. Sarvier, 1995. 839 p.
- LEON, J. *Botanica de los cultivos tropicales*. Costa Rica: Colección Libros e Materiales Educativos/IICA, 1968, 193p.

- LEVITT, J. *Responses of plants to environmental stress*. 2.ed, New York, Academic Press, 1980. v.1.
- LIMA, G.P.P. Efeito do cálcio sobre o teor de poliaminas e atividade da peroxidase e redutase de nitrato em calos de arroz (*Oryza sativa* L. cv. IAC 4440). Botucatu, 1994. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.
- LIMA, G.P.P. Marcadores Bioquímicos de injúrias pelo frio e de maturação em bananas. Botucatu, 2000. Tese de Livre Docência. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.
- LINNAEUS, C. *Species Plantarum*. Impensis Laurentii Salvii, Stockolmo. v.1, 1751.
- LIZARRAGA, L., ORTEGA, R., VARGAS, W., VIDAL, A. Cultivo del yacón (*Polymnia sonchifolia*) . IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos. Cuzco, Peru. p. 65-7,1997.
- MAQKENZIE, K.K. Caduaceae 56. *Smallanthus*. p.1307-1406, In: Manual of the Southeastern Flora (J. K. Small, ed), 1933.
- MAYAK, S., HALENY, A. H., Flower senescence. In: THIMAN, K.V. (Ed.). Senescence in plants. Boca Raton: CRC Press, p.131-56, 1980.
- MARGOCZI, K. & MARÓTI, I. The espatial distribution of carbohydrates in leaves of maize grown in various light-dark cyclo. *Acta Biol. Szeged*. V.31, p.87-96,1985
- MARX, S. P., NOSBERGER, J., FREHNER, M. Seasonal variation of fructan- β -fructosidase (FEH) activity and characterization of a β (2-1) linkage specific FEH from tubers of jerusalem artichoke. (*Helianthus tuberosus*) *New Phytol.*, v.135, p.267-77, 1977.

- MEIER, H, REID, S. G. Reserve polysaccharides other than starch in higher plants. In: *Enciclopedia of Plant Physiology*. New Series, v.13A. *Plant carbohydrates I*. Springer-Verlag Heidelberg, p.418-71, 1982.
- MODLER, H.W, JONES, J.D, MAZZA, G. The effect of long-term storage on the fructooligosaccharide profile of jerusalem artichoke tubers and some observations on processing. In: FUCHS, A. *Inulin and Inulin-containing crops*. Amsterdam. *Elsevier Science*, 1993, p.417.
- MONTIEL, v. n. El cultivo de yacon. Instituto Nacional de Investigación Agraria . Lima, Peru. *Boletín Técnico*, n.35, p.19-20,1996.
- MORRIS, G.J. & CLARKE, A. Effects of low temperatures on biological membranes. Academic Press, New York, 1981.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Lost crops of the incas*: little-known plants of the andes with promise for worldwide cultivation. Washington: Academy Press, 1989. 415p.
- NAVARRO, R, CAÑAS, R, CAMIRUAGA, M. Obtención de jarabe de fructosa a partir del cultivo del topinambur (*Helianthus tuberosus*). In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE RAÍZES TROPICAIS 1 e CONGRESO BRASILEIRO DE MANDIOCA 9 , São Pedro, 1996,p.(resumo 31).
- NIETO, C.C. Estudios agronomicos y bromatológicos em “jicama” (*Polymnia sonchifolia* Polp. Endl.). *Arch. Latinoam. de Nutr.*,v.41 p.213-21, 1991.
- NINESS, K.R. Inulin and oligofructose: What are they? *Journal of Nutrition*, v.129, n.7, p.402-6, 1999.

- OHYAMA, T, ITO, O, YASUYOSHI, S, IKARASHI, T, MINAMIZAWA, K, KUBOTA,, M, ASAMI, T, TSUKHASHI, T. Composition of storage carbohydrate in tuber of yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Soil Sci. Plant Nutr.*, v.36, p.167-71, 1990.
- PANTASTICO, E. B. Ed. Postharvest physiology handling and utilization of tropical e subtropical fruits and vegetables. Westport, p.56-74, 1975.
- POLLOCK, C. J & JONES, T. Seasonal patterns of fructan metabolism in forage grasses. *New Pathol.*, n.83, p.9-15, 1979.
- POLLOCK, C. J. Fructans and the metabolism of sucrose in vascular plants. *New Phytol.* v.104, p.1 - 24, 1986.
- POLLOCK, C. J. & CHATTERTON, N. J. Fructans. In: The biochemistry of plants - A comprehensive treatise, v.14, Carbohydrates: Structure and function, p.119-40, 1988.
- POLLOCK, C. J. & CAIRNS, A. J. Fructan metabolism in grasses and cereals. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, v.104, p.1-24, 1991.
- PONTIS, H.G, del CAMPILLO, E. Fructans. in: Biochemistry of storage carbohydrates in green plants. Academic Press, London, p.205-27, 1985.
- PRASAD, T. K., ANDERSON, M. D., MARTIN, B. A., STEWART, C.R. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedling and a regulatory role for hidrogen peroxide. *Plant Cell.*, v.6, p.65-74, 1995
- RICKARD, J. E. Biochemical changes involved in the post-harvest deterioration of cassava roots. *Tropical Science*, London, v.23, n.3, p.235-7, 1981.
- ROBINSON, J.E, BROWNE, K.M, BURTON, W.G. Storage characteristics of some vegetables and soft fruits. *Ann. Appl. Biol.*, n.81, p.399-408, 1975.

- ROBINSON, H. Studies in the Heliantheae (Asteraceae). XII Re-establishment of the genus *Smallanthus*. *Phytologia*, v.39, n.1, p.47-53, 1978.
- SOMOGYI, I. A new reagent for the determination of sugar. *J. Biol. Chem.*, n.160, p.61-3, 1945.
- SUGIURA, M.; NAKAMISHI, T. The effect of water stress on the carbohydrate contents of the tuberous roots of yacon. In: INTERNATIONAL FRUCTAN CONFERENCE 3 , Logan, 1996. p.27.
- TERTULIANO, M.F., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Distribution of fructan polymers in herbaceous species of Asteraceae from the cerrado. *New Phytologist*, v.123, p.741-49, 1993.
- TSUKIHAKI, T, ASAMI, T, MINAMISAWA, K. Effect of nitrogen and potassium fertilizer on the growth and yield of yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Vocational Agric.*, v.38, n.2, p.50-6, 1991.
- VAN den ENDE, W, MINTIENS, A, SPELEERS, H, ONUOHA, A. A ,VAN-LAERE, A. The metabolism of fructans in roots of *Cichorium intybus* during growth, storage and forcing. *New Phytol.* , v.132, p.555-63, 1996.
- VAN den ENDE, W, VAN LAERE, A. Purification and propriety of an invertase with sucrose : sucrose fructosil transferase (SST) activity from the root of *Cichorium intybus* . *New Phytol.* , v.123, p.31 - 37, 1993.
- VILHENA, S. M. C. Efeito da exposição ao sol e do armazenamento sobre o conteúdo e a composição dos carboidratos de reserva em raízes tuberosas de "yacon" (*Polymnia*

- sonchifolia* Poep. Endl.). Botucatu, 1997. Dissertação (Mestrado em Horticultura) Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.
- VILHENA, S. M. C., CÂMARA, F. L. A., KAKIHARA, S.T. O cultivo de yacon no Brasil. *Hortic. Bras.*, v.18, n.1, p.5-8, 2000.
- WEI, J., TANABE, K., TAMURA, F. Changes of polyamines, AAC contents and EFE activity in the peel and pulp of japanese pear fruits during a postharvest period. *J. Fac. Agric.*, v.30, p.1-6, 1994.
- WELLS, J. R. A new species of *Polymnia* (Compositae): Heliantheae from México. *Brittonia*, n.19, p.391-94, 1967.
- YANG, S. F. Regulation of ethylene biosynthesis. *Hort Sci.*, v.15, p.238-243, 1980.
- YUN, J.W. fructooligosaccharides - Occurrence, preparation, and application. *Enzyme and Microbiol. Technology*, v.19, p.107-17, 1996.
- ZARDINI, E. Ethnobotanical notes on “yacon” *Polymnia sonchifolia* (Astecaceae). *Econ. Bot.*, v.45, p.72-85, 1991.