

ALI-001

CARACTERIZAÇÃO E INATIVAÇÃO TÉRMICA DA PEROXIDASE EM FRUTOS DE CUBIU (*Solanum sessiliflorum* Dunal)

Roberto Nobuyuki Maeda⁽¹⁾; Jerusa de Souza Andrade⁽²⁾

⁽¹⁾ Bolsista/PIBIC; ⁽²⁾ Pesquisador INPA/CPTA

A peroxidase (EC 1.11.1.7) é uma oxidoredutase presente na maioria dos vegetais, animais e microrganismos. A peroxidase das plantas têm ampla distribuição subcelular, sendo encontrada no citoplasma, associada com paredes celulares, membranas, núcleos, mitocôndrios e ribossomos. A atividade da peroxidase em alimentos processados está relacionada com o aparecimento de sabores estranhos, com o processo de escurecimento e com a degradação do “flavor” e do valor nutritivo. Promove a destruição do ácido ascórbico e descoloração de carotenóides e antocianinas, além de catalisar (grupo Heme) a degradação não enzimática de ácidos graxos insaturados, com a conseqüente formação de compostos voláteis. A reação enzimática ocorre por contato entre enzima, substrato e oxigênio. Esse contato ocorre por rompimento das estruturas celulares durante o processamento dos alimentos. No processamento de alimentos essa reação é evitada por inativação da enzima, por meio de tratamento térmico denominado branqueamento. A peroxidase é uma das enzimas mais estáveis ao calor. Sua inativação durante o tratamento térmico é indicativo da inativação de outros sistemas enzimáticos e por isso é utilizada como um indicador universal da eficiência do tratamento térmico (Cheftel & Cheftel, 1992; Khan & Robinson, 1993; Fúster *et al.*, 1995).

Um dos frutos nativos da Amazônia que sofre ação desta enzima é o cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal), cuja atividade ocorre no mesocarpo e endocarpo (Maeda & Andrade, 1997). Para seu processamento industrial e/ou conservação da polpa por congelamento é necessário a inativação da peroxidase. Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito do tempo e temperatura de branqueamento na inativação da peroxidase de frutos de cubiu.

Foram utilizados frutos de plantas cultivadas no Km 14 da rodovia AM-10 pela CPCA do INPA. Os frutos foram colhidos em estágio de amadurecimento comercial, selecionados, lavados, imersos em solução de hipoclorito de sódio 0,1% por 5 minutos, lavados novamente e secos ao ambiente. Para o branqueamento foram utilizados tubos de ensaio contendo 10 ml de água destilada. Estes foram imersos em banho maria nas temperaturas de 80 e 90°C e após atingir a temperatura de equilíbrio foram adicionados 2 g de cubiu. Os tubos foram retirados após 1, 3 e 5 minutos e resfriados imediatamente em banho de gelo. A extração da enzima foi feita em câmara com temperatura de 0 a 4°C. Foi utilizada a proporção de 2 g de cubiu para 10 ml de água destilada, com trituração em gral de porcelana e filtragem. A atividade da peroxidase foi feita utilizando-se 0,5 ml de extrato enzimico e 3 ml da solução preparada com 0,124 ml de guaiaacol (diluído em 1 ml de etanol), 45 µl de H₂O₂ a 30 V, 18,83 ml de tampão fosfato 0,1 M pH 7,0. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 420 nm e a atividade definida como ΔA_{420} /g/min. A proteína foi determinada pelo método de Bradford (1976). A eletroforese foi conduzida em câmara refrigerada a temperatura de 0 a 4°C a uma tensão elétrica de 100 Volts utilizando gel descontínuo de poliácridamida de 4 e 13%. As subunidades foram reveladas com solução de o-dianizidina, incubação a 30-37 °C por cerca de 30 minutos e calculada a mobilidade relativa. O gel foi fixado em solução aquosa de glicerol a 10% (Alfenas *et al.*, 1991).

Nos tecidos estudados, o teor de proteína foi semelhante, ou seja, $455,61 \pm 12,5$ e $463,87 \pm 20,2$ mg/100 g de endocarpo e mesocarpo, respectivamente. No entanto, a atividade de peroxidase com valor de $1350 \pm 70,7$ U/g/min no mesocarpo é cerca de 46% superior a do endocarpo, cuja atividade foi de $725 \pm 35,3$ U/g/min. A atividade específica para a peroxidase do mesocarpo e endocarpo foi de 14247,43 e 7857,17 U/mg proteína/min, respectivamente. O branqueamento reduziu a atividade de peroxidase dos tecidos (Tabela 1). O decréscimo foi linear até 3 minutos no tratamento do mesocarpo aos 80 °C e no endocarpo aos 90 °C. Nos demais a redução ainda mostrou-se linear aos 5 minutos de tratamento. A temperatura de 90 °C mostrou-se mais efetiva para o branqueamento, cuja atividade residual permaneceu em torno de 7,4 a 13,79% (Figura 1). Inativação não linear e diferenças na termoestabilidade de isoperoxidasas também foram observados em manga (Khan & Robinson 1993).

O padrão eletroforético da peroxidase mostra a presença de isoenzimas (Figura 2). Observa-se a presença de bandas com mobilidade relativa de 0,1 no mesocarpo. As demais variaram em concentração e mobilidade relativa em função do tecido analisado. Os frutos estudados apresentaram sete isoenzimas no mesocarpo e cinco no endocarpo. A variação no número de isoperoxidasas ocorre em cubiu dependendo do grupo ou introdução dos frutos. Frutos provenientes de Atalaia do Norte no interior do Amazonas (dados não mostrados) apresentaram cinco bandas no mesocarpo e cinco no endocarpo.

A alta atividade peroxidásica no cubiu requer o uso de branqueamento, sendo que a melhor condição é a temperatura de 90°C e tempo de cinco minutos que ocasiona mais de 86% de redução na atividade enzimática.

Tabela 1. Atividade de peroxidase (U/g/min) em frutos de cubiu após branqueamento.

PARTE TISSULAR	TEMPERATURA (°C)	TEMPO (MIN)		
		1	3	5
MESOCARPO	80	1200	300	300
ENDOCARPO	80	600	550	150
MESOCARPO	90	850	550	100
ENDOCARPO	90	450	100	100

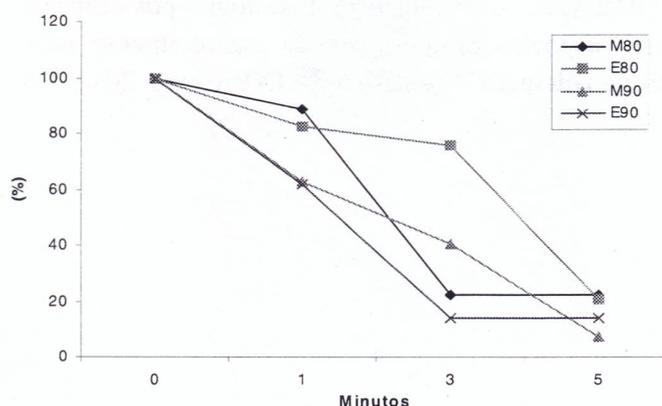


Figura 1. Atividade da peroxidase após o processo de branqueamento. M80 - mesocarpo tratado a 80°C, E80 - endocarpo tratado a 80°C, M90 - mesocarpo tratado a 90°C e E90 - endocarpo tratado a 90°C.

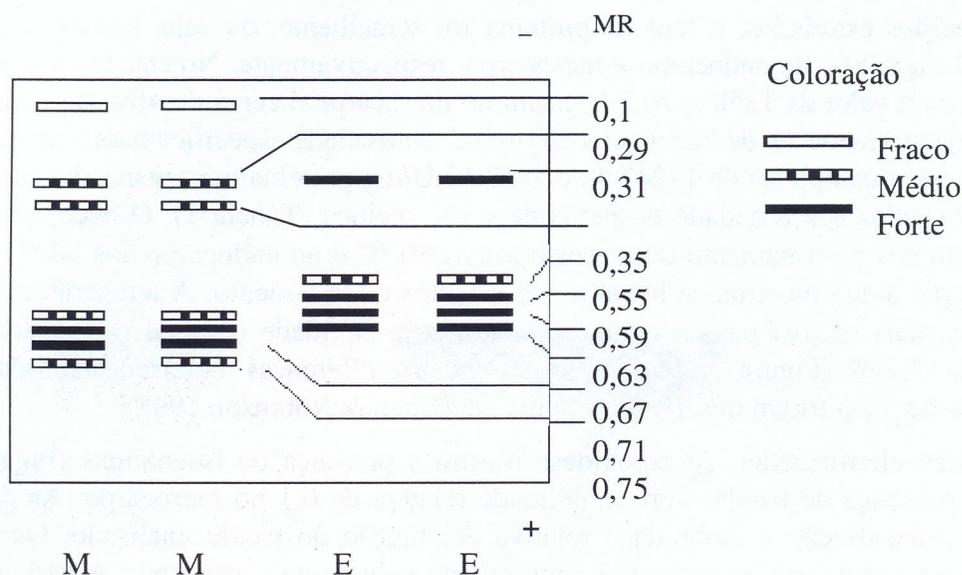


Figura 2. Padrão eletroforético de peroxidase em frutos de cubiu. M - mesocarpo; E - endocarpo e MR - mobilidade relativa..

- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W. & PASSADOR, G.C. (1991) **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 242 p.
- BRADFORD, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 72:248-254.
- CHEFTEL, J. C. & CHEFTEL, H. (1992) **Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos**. v.1, Editorial Acribia.
- FÚSTER, C.; BORRALHO, M. L. & PRÉSTAMO, G. (1995) Atividade de peroxidase como índice de calidad: 1. Cauliflor conservada a diferentes temperaturas. **Alimentária** 12 (19):19-24.
- KHAN A. A. & ROBINSON, D. S. (1993) The thermostability of purified mango isoperoxidases. **Food Chemistry**, 47(1):53-59.
- MAEDA, R. N. & ANDRADE, J. S. (1997) Fisiologia pós-colheita do cubiu (*solanum sessiliflorum* dunal): aspectos bioquímicos do escurecimento pela ação da peroxidase. **Anais. VI Jornada de Iniciação Científica do INPA**, pag 201-204.