

ALI-002

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

Assunção Pereira de Oliveira⁽¹⁾; Jerusa de Souza Andrade⁽²⁾

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

A polifenoloxidase, é uma enzima encontrada praticamente em todos os tecidos vegetais. Sua função pode ser modificada em função da variedade, do estágio de maturação e das condições de cultivo. A polifeno-oxidase tem como função principal originar a oxidação de diversos substratos, sendo considerada uma das principais enzimas, que causa, durante o período pós-colheita, reações indesejáveis nos vegetais. Sua ação, resulta na formação de pigmentos escuros, modificando indesejavelmente a aparência e as propriedades organolépticas do produto. O escurecimento enzimático ocorre nos vegetais processados ou estocados, quando há ruptura da célula, muito embora, no tecido intacto de frutos possa também ocorrer (Araújo, 1995). As características bioquímicas e condições ideais de atividade e inativação da polifenoloxidase, variam entre os vegetais. Um exemplo de um vegetal que sofre ação da polifenoloxidase é o cubiu (Oliveira & Andrade, 1997), uma solanaceae arbustiva, nativa da Amazônia e que foi domesticada na Amazônia ocidental (Clement & Silva Filho, 1994).

Para o processamento industrial do fruto do cubiu é necessário utilizar técnicas de inativação da polifenoloxidase. Esta, visa manter a qualidade do fruto durante o processamento industrial até a comercialização. Por essa razão, justifica-se estudos para inativação da polifenoloxidase. Baseado nisto, este trabalho visa estudar os processos de inativação térmica da polifenoloxidase em frutos de cubiu.

Os frutos utilizados, foram provenientes do Experimento do INPA, localizado no Km 14 da Rodovia AM-010, Manaus Itacoatiara. Os frutos foram colhidos em estágio de amadurecimento comercial, e passaram pelas etapas de seleção, lavagem, tratamento com hipoclorito a 0,1%, nova lavagem com água corrente e secagem ao ambiente. Após esses procedimentos foi feita a extração e a determinação da atividade da enzima, que consistiu na maceração em almofariz com pistilo, sob temperatura de 0 a 4°C de 4 g de fruto em presença de PVP (polivinilpirrolidona) e 4ml de água, e coletar o extrato em tubo de ensaio. O doseamento foi realizado com 3 ml de tampão fosfato 10 mM, 100 µl de extrato enzimático, 1 ml de pirogalol. Após 30 min de incubação a 37°C, a reação foi finalizada com adição de 0,5 ml de HCl, no branco o HCl foi adicionado antes da incubação. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 470 nm. Uma unidade da enzima foi definida como a variação de absorbância de 0,001/g/min. O branqueamento foi feito nas temperaturas de 80 e 90°C e tempos de 1, 3 e 5 minutos. Em tubo de ensaio foram colocados 4 g de fruto, 4ml de água previamente aquecida a temperatura desejada. Em seguida, foram retirados e resfriados em banho de gelo. A atividade da enzima foi feita conforme o procedimento descrito anteriormente. A proteína foi determinada pelo método de Bradford (1976). A análise eletroforética foi feita em gel de poliacrilamida, com 20 µl do extrato enzimático, em cuba de modelo Mighty small SE245 sendo o gel de separação de 12,5% e o gel de concentração de 4%. A corrida foi feita dentro de câmara refrigerada (0 a 4°C) e a presença da polifenoloxidase foi revelada com catecol segundo Alfenas (1991).

A atividade de polifenoloxidase no fruto de cubiu foi de 1640 U/g/min no mesocarpo e 210 U/g/min no endocarpo. Essa atividade foi reduzida em função do branqueamento do fruto, principalmente no mesocarpo. No entanto, foi observado que não houve diferença quanto ao

tempo de exposição ao calor. No mesocarpo submetido a temperatura de 80°C a atividade residual foi de 40 U/g/min nos três tempos. A atividade no endocarpo foi similar a do mesocarpo, havendo uma pequena alteração no tempo de 3 minutos, cuja atividade foi de 53 U/g/min. Na temperatura de 90°C tanto o mesocarpo quanto o endocarpo apresentaram resultados irregulares, com atividade variando de 40 a 80 U/g/min no mesocarpo e 66 a 133 U/g/min no endocarpo (Tab. 1; Fig. 1).

A proteína foi semelhante entre os tecidos com 465,95 mg / 100 g no mesocarpo e com 456,65 mg / 100 g no endocarpo.

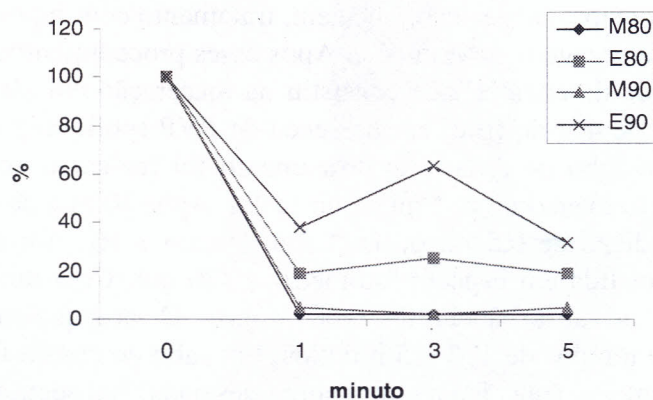
O resultado da eletroforese mostrou uma mancha de coloração marron que foi visualizada na distancia de 2,5 cm do ponto de aplicação da amostra. Permaneceu visível por aproximadamente 2 minutos após a adição do corante. Na concentração aplicada não foi visualizada a presença de polifenoloxidase no endocarpo do cubiu.

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

Parte tissular	Temperatura (°C)	Tempo (min)			
		0	1	3	5
Mesocarpo	ST	1640			
Endocarpo	ST	210			
Mesocarpo	80		40	40	40
Endocarpo	80		40	53	40
Mesocarpo	90		80	40	80
Endocarpo	90		80	133	66

ST: Controle (Sem Tratamento)

Figura 1. Atividade residual da polifenoloxidase, em frutos de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal), após branqueamento. M80: mesocarpo tratado a 80°C; E80°C: endocarpo tratado a 80°C; M90: mesocarpo tratado a 90°C e E90: endocarpo tratado a 90°C.



- 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.
- ARAÚJO, J. M. A. (1995) **Química de alimentos**, Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa.
- 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.
- CLEMENT, C.R. & SILVA FILHO, D.F. (1994) Amazonian small fruits with commercial potential. **Fruit Varieties Journal**. 48(3):152-158.
- OLIVEIRA, A. P. & ANDRADE, J.S. Fisiologia pós-colheita do cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal): Aspectos bioquímicos do escurecimento pela ação da polifenoloxidase. **Anais**. 194 a 197p.