

OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE ENZIMAS OXIDATIVAS E PECTINOLÍTICAS EM ABACAXI PÉROLA

Larissa Maria Silva Costa¹; Marília Lordêlo Cardoso Silva²; Aline Silva Costa³; Maria Gabriela Bello Koblitz⁴

1. Estudante PEVIC, Graduanda do curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana. e-mail: lara_msc@hotmail.com
2. Orientadora, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana. email: marilialordelo@uefs.br
3. Participante do Projeto, Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Feira de Santana. e-mail: sc_aline@yahoo.com.br
4. Participante do Projeto, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. e-mail: mkoblitz@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Abacaxi, Extração enzimática, Delineamento experimental

INTRODUÇÃO

O abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill) é um fruto composto, pertencente à família *Bromeliaceae* e tem considerável valor comercial, sendo que o seu consumo se dá em função de suas apreciáveis propriedades sensoriais e nutritivas (Pinheiro *et al.* 2005). As reações enzimáticas são muito importantes em alimentos. Elas são responsáveis pela formação de compostos extremamente desejáveis, como também podem provocar conseqüências desfavoráveis e ocorrem não só no alimento natural, mas também durante o seu processamento e armazenamento. As enzimas pectinolíticas e oxidativas são as principais causadoras da diminuição da vida de prateleira dos produtos alimentícios. Por isso, o conhecimento das atividades destas enzimas é de grande importância durante a transformação dessas matérias-primas para a obtenção de produtos processados.

As enzimas, dentre as quais destacam-se as peroxidases (PER), poligalacturonases (PG), as pectinametilerases (PME) e as polifenol-oxidases (PFO) estão entre os principais componentes químicos que sofrem modificações durante a maturação e a refrigeração dos frutos. Estas mudanças são de extrema importância, uma vez que irão influenciar na qualidade final dos produtos vegetais (Thé *et al.* 2001). A peroxidase (PER) e a polifenol-oxidase (PFO) podem participar de reações oxidativas, que podem ser associados com o sabor e aroma, cor, textura e qualidade nutricional dos alimentos (Thé *et al.* 2006). A poligalacturonase (PG) e a pectinametilerase (PME) atuam em dois principais processos enzimáticos que estão envolvidos na modificação da textura de frutas (Anthon *et al.* 2002).

A extração enzimática é um processo no qual a enzima de interesse é transferida a partir da fase aquosa celular para outra fase, seja aquosa ou orgânica. Os reagentes mais utilizados na extração são NaCl e solução tampão (Junior, 2001). Segundo Kamimura (2006), o NaCl aumenta a força iônica da solução tampão, e isso possibilita ou melhora a extração das enzimas que estão ligadas ionicamente aos tecidos vegetais.

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência das variáveis pH e concentração de NaCl da solução tampão na extração das enzimas PER, PFO, PME e PG de polpa de abacaxi da variedade pérola, utilizando a metodologia do planejamento experimental e análise de superfície de resposta.

METODOLOGIA

Com o objetivo de verificar a influência das variáveis pH e concentração de NaCl na extração das enzimas, foi elaborado um planejamento composto central com 4 repetições no ponto central, totalizando 12 ensaios. Como variáveis de resposta (dependentes) foram avaliadas a atividade das seguintes enzimas: PER, PFO, PME e PG.

Para cada ensaio realizado, 50 g de polpa de abacaxi foram homogeneizados com 50 mL de tampão em um liquidificador doméstico, por 3 minutos. A solução resultante foi centrifugada (4.000 rpm, a 4°C, por 15 minutos), separando-se o sobrenadante e desprezando-se o precipitado. A determinação da atividade da PME foi realizada através do método espectrofotométrico adaptado de Zocca *et al.* (2007) e Tiwari *et al.* (2009), utilizando pectina cítrica como substrato. A atividade de PG dos extratos de abacaxi baseou-se no método de Zhou *et al.* (2000), utilizando ácido poligalacturônico como substrato. A atividade de PFO foi determinada segundo a metodologia modificada de Babu *et al.* (2008) e Kumar *et al.* (2008), aplicando pirocatequina como substrato e a atividade de PER foi proposta por Liu *et al.* (2008) e Shalini *et al.* (2008), tendo o guaiacol como substrato.

A influência das condições de extração foi avaliada pela construção de superfície de resposta, *n* e pela análise de variância (ANOVA) no software Statistica versão 7.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os resultados experimentais de atividade enzimática quando se fizeram variar os fatores pH e concentração de NaCl.

Tabela 1: Condições de ensaio e resultado experimental em termos de atividade enzimática.

Ensaio	pH	NaCl (M)	PFO (U/g)	PG (U/g.h ⁻¹)	PME (U/g)	PER (U/g)
1	4,6	0,3	49,43	0,000009	2672,3	2984,6
2	4,6	1,7	81,86	0,000034	4406,0	3117,8
3	7,4	0,3	46,86	0,000003	1416,7	2811,7
4	7,4	1,7	66,38	0,000032	2441,3	3067,4
5	4,0	1,0	80,71	0,000003	4660,0	3039,7
6	8,0	1,0	62,24	0,000036	3347,3	3128,0
7	6,0	0,0	33,48	0,000002	1113,3	2273,3
8	6,0	2,0	21,76	0,000032	2505,3	2827,4
9 (C)	6,0	1,0	40,48	0,000048	7961,3	4752,9
10 (C)	6,0	1,0	36,62	0,000029	3109,3	2833,9
11 (C)	6,0	1,0	29,95	0,000023	2333,3	4511,0
12 (C)	6,0	1,0	38,29	0,000023	3117,3	4043,8

Os resultados mostraram que as maiores atividades obtidas nesse experimento foram: 4752,9 U/g para PER; 81,86 U/g para PFO; 7961,3U/g para PME e 0,000036 U/g h⁻¹ para PG. Esses valores estão entre ou próximos àqueles encontrados na literatura, exceto o de PG, no qual não foi encontrado artigos para abacaxi onde tenha sido utilizada a metodologia empregada neste experimento.

A influência das condições de extração para cada enzima foi avaliada pela construção de superfície de resposta e gráfico bidimensional de contorno (Figuras 1 e 2), a partir dos quais foi possível determinar as regiões de valores em que se obteve uma maior extração de atividade enzimática.

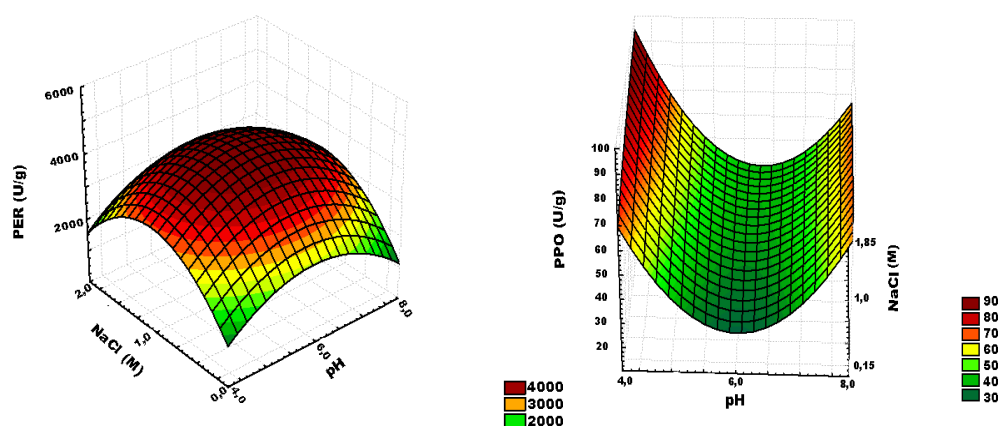


Figura 1: Superfície de resposta para atividade de PER e PFO, respectivamente.

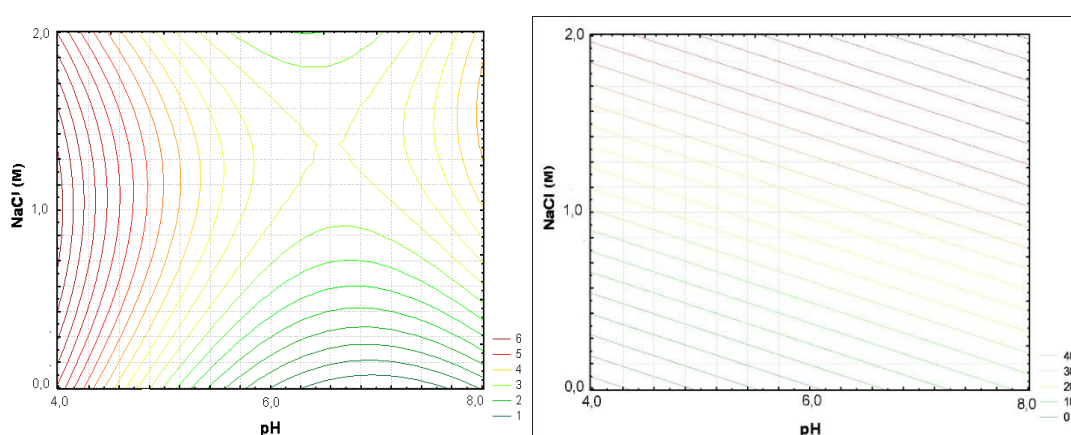


Figura 2: Gráfico bidimensional de contorno para as atividades de PME e PG, respectivamente.

Todos os modelos obtidos foram estatisticamente significativos e preditivos. Com a superfície de resposta gerada, foi possível determinar que o processo de extração de PER foi otimizado. As condições mais indicadas para extração dessa enzima são: tampão em $\text{pH}=6,0$ contendo $1,0 \text{ M}$ de NaCl . A superfície de resposta gerada para PFO mostra que o processo de extração proposto não foi otimizado, porém, de acordo com os resultados obtidos dentre os valores estudados, há uma indicação de que maior atividade de PFO será obtida quando forem utilizados valores de pH inferiores a $4,6$. A análise do gráfico gerado para PME mostra que o processo de extração não se encontra otimizado. No entanto, dentro dos valores estudados observa-se que maior extração pode ser alcançada com concentração de NaCl de $1,0 \text{ M}$. O valor de pH não foi considerado significativo para a extração de PME. Para PG o valor de pH apresenta pouca influência na extração, no entanto, a atividade obtida aumenta com o aumento da concentração de NaCl , indicando que boa parte das isoformas dessa enzima se encontra ionicamente ligada ao tecido vegetal.

CONCLUSÃO

O delineamento experimental e a metodologia de superfície de respostas se mostraram métodos eficazes para otimizar o processo de extração enzimática. Observou-se que a concentração de NaCl e o pH da solução tampão de extração influenciaram na extração das enzimas. Os resultados mostraram que o pH foi

significativo na extração das enzimas PER e PFO, e o NaCl foi significativo na extração de PME e PG. As seguintes condições podem ser indicadas para extração das enzimas: pH=6,0 e concentração de NaCl de 1,0 M para PER; pH inferior a 4,6 para PFO; concentração de NaCl de 1,0 M para PME e concentração de NaCl de 2,0 M para PG.

REFERÊNCIAS

- BABU, B.R.; RASTOGI, N.K.; RAGHAVARAO, K.S.M.S. 2008. Liquid-liquid extraction of bromelain and polyphenol oxidase using aqueous two-phase system. *Chemical Engineering and Processing* 47 :83–89.
- JUNIOR, A. F. 2001. Enzimas e suas aplicações: Cinética enzimática. Florianópolis, Universidade Estadual de Santa Catarina. Disponível em: <http://www.enq.ufsc.br/labs/probio/disc_eng_bioq/lista_exerc/cinetica_enzimatica.pdf>. Acesso em: 24 mar.
- KAMIMURA, G. K. F. 2006. Isolamento, purificação e caracterização da peroxidase de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Dissertação. (Mestrado em Alimentos e Nutrição, área de Ciências dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP. Araraquara.
- KUMAR, V.B.A; KISHOR MOHAN, T.C.; MURUGAN, K. 2008. Purification and kinetic characterization of polyphenol oxidase from Barbados cherry (*Malpighia glabra* L.). *Food Chemistry* 110 328–333.
- LIU, X.; GAO, Y.; PENG, X.; YANG, B.; XU, H.; ZHAO, J. 2008. *Inactivation of peroxidase and polyphenol oxidase in red beet (Beta vulgaris L.) extract with high pressure carbon dioxide. Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9: 24–31.
- PINHEIRO, A. C. M.; VILAS BOAS, E. V. de B.; LIMA, L. C. 2005. Influência do CaCl₂ sobre a qualidade pós-colheita do abacaxi cv. Pérola. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 25, n. 1, Mar.
- SHALINI, G.R., U.S. SHIVARE, U.S., BASU, S. 2008. *Thermal inactivation kinetics of peroxidase in mint leaves. Journal of Food Engineering*. 85: 147–153.
- THÉ, P. M. P.; BOTREL, N.; NUNES, R. de P.; CARVALHO, V. D. de C. 2006. Influência de tratamentos pós-colheita sobre a atividade enzimática de abacaxi cv. *Smooth cayenne*. B.CEPPA, Curitiba v. 24, n. 2, p. 423-442, jul./dez.
- THÉ, P. M.; CARVALHO, V. D.; ABREU, C. M. P.; NUNES, R. P.; PINTO, N. A.V.D. 2001. Modificações na atividade enzimática em abacaxi ‘*Smooth Cayenne*’ em função da temperatura de armazenamento e do estágio de maturação. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v.25, n.2, p.364-370, mar./abr.
- ZOCCA, F. et al. 2007. Detection of pectinmethylesterase activity in presence of methanol during grape pomace storage. *Food Chemistry* 102: 59–65.