

ESTUDO DA ATIVIDADE DA PEROXIDASE DE UMBU-CAJÁ (*SPONDIAS SPP.*) E AVALIAÇÃO DO EFEITO DE TRATAMENTO TÉRMICO E DO USO DE ADITIVOS QUÍMICOS

Nathália Arabela de Menezes Barros¹; Cíntia Reis da Silva²; Marília Lordêlo Cardoso³; Maria Gabriela Bello Koblitz⁴

1. Bolsista PROBIC, Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: nathalia_barros@hotmail.com
2. Participante do Projeto, Mestranda em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: cintiaereis@yahoo.com.br
3. Orientador, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: marilialordelo@uefs.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: peroxidases, inativação, enzimas.

INTRODUÇÃO

O gênero *Spondias* é composto de quinze espécies, das quais a cajazeira (*S. lutea* L.), cirigueleira (*S. purpurea* L.), cajá-mangueira ou cajaraneira (*S. cytherea* Sonn.), umbuguela (*Spondias sp.*), umbu-cajazeira (*Spondias sp.*) e umbuzeiro (*S. tuberosa* Arr. Cam.) ocorrem de forma espontânea ou subespontânea no Nordeste (PIRES, 1990), sendo que o umbuzeiro é endêmico do semi-árido brasileiro.

O Nordeste brasileiro destaca-se como um grande produtor de frutos tropicais nativos e cultivados, em virtude das condições climáticas prevaletentes. A fruticultura nesta região constitui-se em atividade econômica bastante promissora, devido ao sabor e aroma exótico de seus frutos e à sua enorme diversificação (NORONHA, et al., 2000).

Existem numerosas enzimas oxidativas que promovem alterações nos alimentos. Dentre essas enzimas estão as peroxidases (PER). O controle da atividade de PER é de grande importância para a tecnologia de alimentos, uma vez que estas são responsáveis pelo escurecimento em frutas e vegetais e seus produtos processados, entre outras alterações. Os tratamentos térmicos comercialmente usados no processo de extração de frutas e vegetais são, em geral, pouco eficientes para uma inativação efetiva dessas enzimas, sobretudo PER. Esse trabalho teve como objetivo estudar as enzimas PER no umbu-cajá (*Spondias spp.*), e avaliar as condições para inativação dessas enzimas através do tratamento térmico e uso de ácidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Extração enzimática

Os frutos de umbu-cajá foram coletados por pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (Cruz das Almas – BA). A polpa obtida foi homogeneizada e mantida sob temperatura de congelamento até o momento das análises. Para extração foi utilizada uma mistura de polpa e tampão (0,1M) na proporção de 1:1, que foi homogeneizada em liquidificador por 2-3 minutos e em seguida centrifugada durante 20 minutos a 4°C e 4000 rpm. O sobrenadante foi aliquotado e congelado, para posterior avaliação da atividade enzimática.

Utilizou-se um planejamento experimental rotacional, testando duas variáveis independentes: pH e concentração de NaCl. Os ensaios foram realizados de acordo com a planilha gerada pelo *software* STATISTICA (6.0), que também foi aplicado na

avaliação dos resultados (ANOVA) e geração das superfícies de resposta. Como variável dependente foi avaliada a atividade da enzima em estudo (PER).

Determinação da atividade enzimática

Para determinar a atividade de peroxidase foi utilizado o método de SHALINI, et al. (2008) modificado. O substrato foi composto por 3,3 mL de solução de guaiacol (0,1%) acrescido de (0,1%) de peróxido de hidrogênio (a 30%) em tampão fosfato 0,1M (pH=6,5), 0,15 mL de tampão fosfato 0,1M (pH=6,5) e 0,05 mL de extrato enzimático perfazendo um total de 3,5 mL. A reação foi iniciada pela adição do extrato enzimático seguido pelo registro da absorbância a 470nm em espectrofotômetro (Biospectro SP-220) a cada dez segundos durante cinco minutos, contra um branco, no qual o extrato enzimático foi mantido em banho de ebulição por dois minutos e centrifugado a 13.000 rpm/5 minutos. Uma unidade de atividade de PER foi definida como a quantidade de enzima necessária para causar aumento de 0,001 na absorbância, por minuto de reação (OKTAY, 1995).

Estudo da inativação das oxidases

Para avaliação da inativação da peroxidase de umbu-cajá foi utilizado um planejamento experimental fatorial, testando quatro variáveis: tipo de ácido, concentração do ácido, temperatura e tempo de tratamento térmico. Os ensaios foram realizados de acordo com a planilha gerada pelo *software* STATISTICA (6.0), que também foi aplicado na avaliação dos resultados (ANOVA) e geração das superfícies de resposta.

RESULTADOS

Para a extração das PER de umbu-cajá, pode-se observar que o valor do R^2 obtido (Tabela 1) pode ser considerado excelente, indicando que 79,97% das diferenças obtidas entre os resultados são devidas aos tratamentos em teste e apenas cerca de 20% pode ser creditado a outros fatores, como erro. As diferenças obtidas são significativas em nível de 5% de significância.

Tabela 1: Análise de Variância (ANOVA) aplicada aos testes para extração de enzimas PER de extrato bruto do umbu-cajá.

	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab}
Regressão	1,42 x 10 ¹¹	5	2,83 x 10 ¹⁰	4,79	1% = 8,75
Resíduo	3,55 x 10 ¹⁰	6	5,91 x 10 ⁹		5% = 4,39
Falta de Ajuste	3,29 x 10 ¹⁰	3			10% = 3,11
Erro puro	2,57 x 10 ¹⁰	3			
Total	1,77 x 10 ¹¹	11			
					R²=0,7998

*SQ = soma quadrática; GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; F_{calc} = valor de F calculado; F_{tab} = valor de F tabelado

Para determinar os fatores significativos foi utilizado o gráfico de Pareto, que tem sido descrito como uma ferramenta útil para identificar quais dos efeitos estimados são mais importantes.

O gráfico de Pareto (Figura 1a) mostra que tanto o pH quanto a concentração de NaCl foram consideradas significativas para a extração das proteases de umbu-cajá (variedade Suprema).

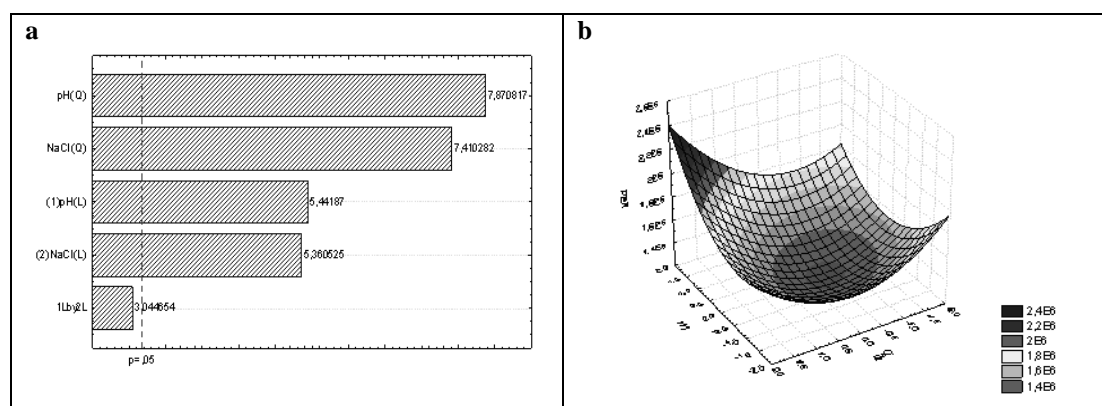


Figura 1 – (a) gráfico de Pareto dos efeitos para o planejamento experimental 2^2 para a extração de PER de umbu-cajá. A linha vertical marca o limite de 95% de significância, (b) efeito do pH e da concentração de NaCl na extração de enzimas de PER do umbu-cajá.

Pode-se observar (Figura 1b) que a extração de PER em frutos de umbu-cajá melhora quando o pH e a concentração de NaCl são maiores. Os melhores resultados foram alcançados com a combinação pH 8,0 e concentração de NaCl 2,0 M. Resultados semelhantes (pH 8,4) foram obtidos por Deepa et al. (2002) na extração de PER do óleo de palma. Ceni (2005), para extração de PER da erva-mate, utilizou tampão pH 7,5.

Para a inativação de PER do umbu-cajá, observa-se (Tabela 2) um R^2 também excelente, indicando que cerca de 85% das diferenças obtidas são devido aos tratamentos em teste. Apenas o tempo e a temperatura foram considerados significativos na inativação da peroxidase, como se pode observar no Gráfico de Pareto (Figura 2a).

Tabela 2 – Análise de Variância (ANOVA) aplicada aos testes para inativação da peroxidase de extrato bruto do umbu-cajá.

	SQ	GL	QM	Fcalc	Ftab
Regressão	233595156	6	38932526	5,92	1% - 15,21
Resíduo	26281770	4	6570442,5		5% - 6,16
Falta de Ajuste	26279903	2			10% - 4,01
Erro puro	1867	2			
Total	259876926	10			

$R^2 = 0,89887$

*SQ = soma quadrática; GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; Fcalc = valor de F calculado; Ftab = valor de F tabelado

Os resultados dos tratamentos para a inativação da peroxidase podem ser observados na Figura 2b, sendo a combinação da temperatura de 75°C com um tempo de 5 minutos eficiente na inativação da peroxidase de extrato bruto de umbu-cajá. BRITO *et al.* [48] relata que as peroxidases de extrato bruto dos abacaxis IAC Gomo-de-mel e IAC-1 foram inativadas com tratamentos de 60 e 120 segundos a 90°C, respectivamente.

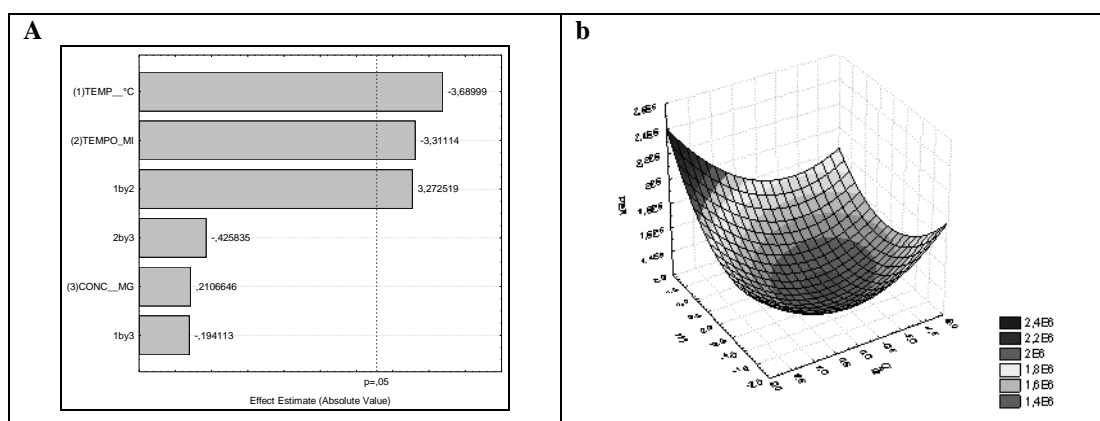


Figura 2 – (a) variáveis significativas para a inativação da peroxidase do extrato de umbu-cajá, (b) Efeito do tempo (minuto) e temperatura (°C) no tratamento para inativação da peroxidase de extrato bruto do umbu-cajá.

CONCLUSÃO

O experimento permitiu definir que a extração de peroxidase de umbu-cajá é melhorada em valores de pH e concentração de NaCl mais elevados. Dentre as condições testadas, melhores resultados foram alcançados com a combinação pH 8,0 e concentração de NaCl 2M. O estudo da inativação levou a concluir que o tempo, a temperatura e a interação entre esses dois fatores afetam a inativação de peroxidase de umbu-cajá. A inativação de peroxidase não foi influenciada pela concentração de ácido dentro dos limites testados.

REFERÊNCIAS

- BRITO, C. A. K.; SATO, H. H.; SPIRONELLO, A.; SIQUEIRA, W. J., Características da Atividade da peroxidase de abacaxis (*Ananás comosus* (L.) Merrill) da cultivar IAC Goma de Mel e do clone IAC-1. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 25, n. 2, p.244-2498, 2005.
- DEEPA, S.S.; ARUMUGHAN, C. Purification and characterization of soluble peroxidase from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) leaf. *Phytochemistry*, v. 61, p. 503–511, 2002
- FREITAS, A. A.; FRANCELIN, M. F.; HIRATA, G. F.; CLEMENTE, E.; SCHMIDT, F. L. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 28(1): 172-177, jan.-mar. 2008.
- NORONHA, M. A. S.; CARDOSO, E. A.; DIAS, N. S. Características Físico-químicas de Frutos de Umbu-cajá *spondias* sp. Provenientes dos Pólos Baixo-Jaguaribe (CE) e Assu-Mossoró (RN). *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.2, n.2, p.91-96, 2000.
- OKTAY, M.; KÜFREVIOGLU, I.; KOCACALISKAN, I.; SAKIROGLU, H. Polyphenoloxidase from Amasya apple. *Journal of Food Science*, v.60, n.3, p. 494-505, 1995.
- PIRES, M. G. E. M. Estudo taxonômico e área de ocorrência de *Spondias tuberosa* an. com. (umbuzeiro) no Estado de Pernambuco –Brasil. Recife: UFRPE, 1990. (Dissertação de Mestrado).
- SHALINI, G.R., U.S. SHIVHARE, U.S., BASU, S. Thermal inactivation kinetics of peroxidase in mint leaves. *Journal of Food Engineering*. 85: 147–153. 2008.
- TORRES, L. B. V.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEREDO, R. M. F. Viscosidade aparente da polpa de umbu-cajá concentrada a 10°C. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.5, n.2, p.161-168, 2003.