

## **APLICAÇÃO DO TRATAMENTO DE INATIVAÇÃO DE PEROXIDASE EM OUTRAS VARIEDADES DE ABACAXI E SEUS EFEITOS EM DIFERENTES ENZIMAS**

**Isabela Rodrigues dos Santos<sup>1</sup>; Marília Lordêlo Cardoso Silva<sup>2</sup>; Aline Silva Costa<sup>3</sup>**

1. Estudante PEVIC, Graduanda do curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana. e-mail: isabelarodrigues.s@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

Palavras-chave: Inativação, enzimas, abacaxi.

### **INTRODUÇÃO**

Em alimentos ácidos, como o abacaxi, os microrganismos deterioradores são geralmente bactérias não esporuladas, leveduras e bolores, que apresentam resistência térmica menor que as enzimas termorresistentes. Desta forma, um tratamento térmico visando à destruição de microrganismos não eliminaria as enzimas que podem levar à deterioração do produto (CUNHA *et al.*, 2005).

Nos produtos de origem vegetal a peroxidase (PER) é a enzima mais termorresistente (CUNHA, 2005). Entretanto, nas frutas, devido às condições ácidas, ela encontra-se menos estável, embora seja difícil sua inativação. Essa enzima pertence ao grupo das oxidorreduzases, que realizam reações de oxirredução. As peroxidases, na presença de peróxidos, oxidam diferentes substâncias produzindo radicais livres. Na ausência de peróxidos podem hidroxilar compostos aromáticos e catalisar a oxidação de alguns substratos com o auxílio do oxigênio molecular (KOBELITZ, 2008). Juntamente com a polifenoloxidase (PFO), a peroxidase é tida como a responsável pelo escurecimento enzimático em frutas e vegetais.

As polifenol-oxidases são encontradas na maioria dos seres vivos. Nas frutas e hortaliças o seu teor aumenta de acordo com o avanço da maturação e senescência. Seu efeito nos alimentos é o escurecimento enzimático, o qual pode vir acompanhado da formação de odores indesejáveis (*offflavors*) e perda do valor nutricional, principalmente devido à destruição de aminoácidos (KOBELITZ, 2008).

As pectinases, por sua vez, formam um grupo de enzimas que degradam substâncias pécnicas, hidrolisando ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica. Em virtude das substâncias pécnicas serem componentes da lamela média e da parede primária dos vegetais, o ataque dessas substâncias pelas enzimas pectinolíticas pode causar alterações significativas na textura de frutas e hortaliças. (KOBELITZ, 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do tratamento utilizado na inativação de peroxidase na inativação de outras enzimas, como polifenoloxidase, poligalacturonase (PG) e pectina-metil-esterase (PME). Tais resultados também foram testados em diferentes variedades de abacaxi.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Com o objetivo de verificar a influência das variáveis temperatura, tempo e concentração na inativação da enzima peroxidase, foi elaborado um planejamento composto central com 4 repetições no ponto central, totalizando 18 ensaios. Os ensaios foram realizados com Abacaxi “Perola” comercializados em Feira de Santana, Bahia. O software STATISTICA (6.0) foi utilizado para gerar as planilhas de ensaio e para avaliação estatística dos resultados, com geração das superfícies de resposta.

A atividade da enzima PER foi determinada em temperatura ambiente usando-se cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico. A reação foi acompanhada a 470 nm, em espectrofotômetro UV/VIS, pela formação de tetraguaicol em 3,5 mL de meio reacional contendo: 3,3 mL de guaicol 0,1% (2-metoxi fenol) preparado em tampão fosfato de sódio (0,1 M; pH=6,5) e 0,2 mL de extrato enzimático, sendo iniciada pela adição de 0,1 mL de peróxido de hidrogênio 30% e serão realizadas leituras a cada 10 segundos por até 10 minutos. Uma unidade de atividade de PER foi definida como a quantidade de extrato capaz de aumentar a absorvância em 0,001 unidades por minuto de reação (LIU et al., 2008; SHALINI et al., 2008).

A atividade de PFO foi determinada segundo a metodologia modificada de Babuet al. (2008) e Fang et al. (2007). O meio foi composto de 1,5 mL de catecol (0,1 M em tampão fosfato pH=6,5) adicionados de 0,7 mL de extrato enzimático que serão mantidos em banho a 30°C. A reação foi paralisada por adição de 0,8 mL de ácido perclórico (0,5M) e o aumento da absorvância acompanhado a 420nm, em espectrofotômetro Uv/Vis, pela leitura a cada minuto num tempo total de 10 minutos. Uma unidade de atividade de PFO foi definida como a quantidade de extrato capaz de aumentar a absorvância em 0,001 unidade por minuto.

A determinação da atividade da PME foi realizada através do método espectrofotométrico adaptado de Zoccaet al. (2007) e Tiwari et al. (2009), utilizando-se 2 mL de solução de pectina cítrica (0,05% , pH=7,5), 0,25 mL de água destilada, 0,15 mL da solução de azul de bromotimol (0,04%) e 0,1 mL de extrato enzimático com pH ajustado para 7,5. Incubou-se em banho a 45 °C por 24 horas. Usando uma cubeta de quartzo, foi feita a leitura no espectrofotômetro a 620 nm. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de extrato capaz de reduzir 0,001 unidades de absorvância por minuto de reação e foi expressa em U/g de polpa.

A atividade de poligalacturonase foi determinada segundo metodologia proposta por Zhouet al. (2000). A atividade de PG foi medida em um viscosímetro, pela mistura de 30 mL do extrato enzimático com 45 mL de ácido poligalacturônico 0,2% em tampão acetato de sódio (0,1 M; pH=4,4). Foi medida a viscosidade inicial e depois de 24 h de incubação a 45 °C. Uma unidade de atividade de PG foi definida como a quantidade de extrato capaz de causar

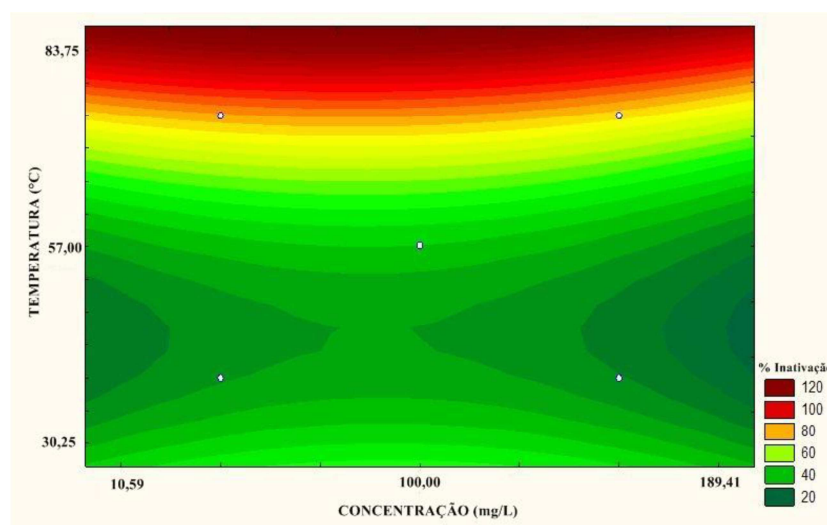
redução na viscosidade (em segundos) por g de polpa por hora de reação, nas condições do ensaio.

As condições otimizadas definidas para o abacaxi pérola foram empregadas na inativação de enzimas oxidativas de outras variedades fornecidas pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A influência dos parâmetros de inativação para PER foi avaliada pela construção de superfícies de resposta, nas quais foi possível determinar as regiões de valores em que se obteve uma maior inativação enzimática. Os modelos propostos foram avaliados por análise de variância (ANOVA). Observou-se que os modelos empíricos estabelecidos nos três planejamentos executados mostraram boa concordância com os dados experimentais obtidos. Todos obtiveram uma regressão significativa, pois o F calculado foi superior ao F tabelado (1%).

O tratamento ideal para PER foi 130 mg/L de metabissulfito de sódio a 78° C por 3 min , conforme ilustrado no gráfico 1. Tal tratamento foi aplicado em outras variedades e, em seguida foram determinadas as atividades das enzimas Poligalacturonase (PG), Pectinametilesterase (PME), Polifenoloxidase (PFO) e Peroxidase (PER). Os resultados encontram-se na tabela 1.



**Figura 1.** Gráfico bidimensional para a inativação com metabissulfito de sódio

**Tabela 1.** Atividade enzimática após aplicação do tratamento para inativação enzimática com 130 mg/L de metabissulfito de sódio a 78 °C por 3 min.

	PFO (U/g)	PG (U/g.h <sup>-1</sup> )	PME (U/g)	PER (U/g)
Imperial	0	0	0	0
Vitoria	0	0	0	0
Pérola Embrapa	0	0	0	0
Pérola Mercado	0	0	0	0

## CONCLUSÃO

Observa-se que houve confirmação dos resultados encontrados pelos modelos propostos. O tratamento com metabissulfito conseguiu inativar peroxidase além de PFO, PME e PG. A peroxidase é uma das enzimas mais termoestáveis em vegetais. Considera-se que a inativação da peroxidase é acompanhada pela desnaturação de todas as demais enzimas (BURNETTE, 1977; KHAN & ROBINSON, 1993), fato comprovado neste experimento.

Os resultados obtidos são de grande importância para a indústria de alimentos, visto que proporciona a utilização de diferentes variedades de abacaxi em diversos produtos com reduzida possibilidade de danos causados pela presença de enzimas nativas.

## REFERÊNCIAS

BABU, B.R.; RASTOGI, N.K.; RAGHAVARAO, K.S.M.S.. Liquid-liquid extraction of bromelain and polyphenol oxidase using aqueous two-phase system. *Chemical Engineering and Processing* 47:83-89. 2008.

BURNETTE, F. S., 1977. Peroxidase and its relationship to food flavour and quality: a review. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 42, p.1-6.

KHAN, A. A.; ROBINSON, D.S. The thermo stability of purified mango isoperoxidases. *Food Chemistry* v. 47, p. 53-59, 1993

KOBLITZ, M. G. B. *Bioquímica de alimentos. Teoria e aplicações práticas*. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. v. 1. 242 p.

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.