

## **“ESTUDO DA ATIVIDADE DAS ENZIMAS PECTINAMETILESTERASE E POLIGALACTURONASE DE UMBU-CAJÁ (SPONDIAS SPP.)”**

**Laiane Thais das Virgens Carvalho Leitão Freitas<sup>1</sup>; Marília Lordêlo Cardoso Silva<sup>2</sup> ;  
Cíntia Reis<sup>3</sup>; Gislane Oliveira Ribeiro<sup>4</sup> Maria Gabriela Bello Koblitz<sup>5</sup>;**

1. Bolsista PROBIC, Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: laianethaisf@hotmail.com
2. Orientador, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lilaengal@yahoo.com.br
3. Participante do projeto, Mestre em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: cintiaereis@yahoo.com.br
4. Participante do projeto, Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: gislaneoliveira@hotmail.br
5. Participante do projeto, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. mkoblitz@gmail.com

**PALAVRAS-CHAVE:** fruta, umbu-cajazeiro, enzimas.

### **INTRODUÇÃO**

A atividade frutífera no Brasil é uma atividade bastante promissora e a região nordeste hoje é uma das mais ricas devido aos sabores exóticos e grandes variedades lá encontradas. O umbu-cajá, assim como o cajá e o umbu, é uma fruta nativa do nordeste e tem fácil propagação e devido as suas características, possui grande perspectiva de inserção nos mercados interno e externo em forma de sucos, sorvetes e polpas. Para a fabricação da maioria dos produtos derivados de frutas com a utilização da polpa concentrada, torna-se indispensável o conhecimento das propriedades físicas, químicas e bioquímicas nas etapas do processamento. Desta forma, o conhecimento da atividade enzimática tem posição de grande destaque. As enzimas pectinolíticas, ou pectinases são as responsáveis pela degradação das substâncias pécicas, sendo produzidas somente por vegetais e microrganismos. Dentro deste grupo de enzimas pectinolíticas, destacam-se as poligalacturonases (PG) e as pectinametilsterases (PME). Estas enzimas 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, atuando em dois principais processos enzimáticos que estão envolvidos na modificação da textura de frutas. Assim, este trabalho objetivou verificar a atividade das enzimas pectinametilsterase e poligalacturonase em diferentes acessos de umbu-cajá fornecidos pela EMBRAPA Mandioca e Fruticultura.

### **METODOLOGIA**

Num primeiro momento foi estudado o efeito do pH e da concentração de NaCl sobre a extração das enzimas PME e PG do acesso Suprema de umbu-cajá, fornecido pela EMBRAPA Mandioca e Fruticultura. Com base nestes resultados, foi determinada a atividade das enzimas em estudo em outros nove acessos de umbu-cajá, bem como foi determinado a teor de proteína e calculado a atividade específica de PME.

#### Extração da enzima

A extração da enzima foi delineada no programa STATISTICA (6.0), por meio de um delineamento composto central rotacional, tendo com variáveis independentes o pH e a concentração de NaCl. As tabelas 01 e 02 apresentam as variáveis e as condições dos ensaios, respectivamente:

Tabela 01: Variáveis independentes – parâmetros codificados e não-codificados

Fator	- $\alpha$	-1	0	+1	+ $\alpha$
pH	4,0	4,6	6,0	7,4	8,0
[ ]NaCl	0,0	0,3	1,0	1,7	2,0

Tabela 02: Condições experimentais para extração da enzima PME e PG

Ensaio	pH	[ ] NaCl (M)
1	4,6	0,3
2	4,6	1,7
3	7,4	0,3
4	7,4	1,7
5	4	1
6	8	1
7	6	0
8	6	2
9 (C)	6	1
10 (C)	6	1
11 (C)	6	1
12 (C)	6	1

Para extração, pesou-se 50 g de polpa e adicionou-se 50 mL de cada tampão, adicionado ou não de sal, de acordo com os ensaios da tabela 2. Homogeneizou-se em liquidificador por 3 minutos e centrifugou-se durante 20 minutos a 4°C e 4000 rpm. Em seguida, retirou-se a alíquota do sobrenadante e congelou-se para posterior determinação da atividade da enzima.

#### Determinação da atividade enzimática

A atividade de PME foi determinada de acordo com metodologia adaptada de ZOCCA et al., 2000 e TIWARI et al., 2009. Em um tubo de ensaio adicionou-se 2mL da solução de pectina (0,5% com pH ajustado para pH 7,5 com NaOH 0,05N) a 0,25mL de água destilada, 0,15mL da solução de azul de bromotimol (0,04% em tampão fosfato (pH 7,5; 0,01M) acrescido de 0,15M de NaCl) e 0,2mL do extrato enzimático. Deixou-se em banho-maria a 45°C durante 24h sem agitação. Um branco foi realizado utilizando-se extrato enzimático fervido durante 2 minutos e centrifugado a 13.000 rpm durante 5 minutos. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm. As análises foram realizadas em triplicata. A atividade de PG do extrato enzimático de umbu-cajá foi determinada de acordo com a metodologia de ZHOU et al. (2000) modificada, em viscosímetro (Brookfield DV-II+Pro). O substrato foi composto de 33,45 mL de soluções de ácido poligalacturônico (0,2%) em tampão acetato de sódio 0,05M (pH 5,0) e 22,5 mL de extrato enzimático. Foi medida a viscosidade inicial e após 24 horas de incubação a 45°C sob agitação (150 rpm) em banho-maria (Cientec CT-232). Uma unidade de atividade de endo-PG foi definida como a mudança na viscosidade (em segundos) por g<sup>-1</sup> de tecido h<sup>-1</sup>, sob as condições do ensaio.

#### Determinação do teor de proteína bruta para cálculo da atividade específica PME

O teor de proteína bruta da amostra foi determinado pelo método de Lowry. O método consistiu na reação de 500µL do extrato bruto enzimático com 5mL do reagente de Lowry por 10 minutos. Então, 500µL do reagente de Folin-Ciocalteu foram adicionados e, após 10 minutos, procedeu-se a leitura da absorbância a 660nm em espectrofotômetro (UV-Vis). A atividade específica foi calculada pelo quociente da atividade enzimática pelo teor de proteína bruta do extrato. Os ensaios foram realizados em triplicata.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 03 e 04 mostram os resultados experimentais de atividade enzimática de PME e PG, respectivamente para os diferentes acessos estudados.

Tabela 3: Atividade bruta e específica de PME

<i>Ensaio</i>	<i>Acesso</i>	<i>Atividade PME</i> (U/mL x 10 <sup>4</sup> )*	<i>Proteína</i> (µg/mL)	<i>Atividade. Específica</i> (U/µg)
1	Aurora	74,80 <sup>a</sup> ± 0,04	169,86	220,18
2	Brandão	17,09 <sup>d</sup> ± 0,09	136,05	626,98
3	CNPMF	13,14 <sup>c</sup> ± 0,58	291,76	225,30
4	Embrapa	16,53 <sup>d</sup> ± 0,25	317,00	260,67
5	Gigante Santa Bárbara	15,57 <sup>c,d</sup> ± 1,72	379,38	192,77
6	Olho D'água	13,31 <sup>c</sup> ± 0,56	179,86	370,10
7	Preciosa	10,30 <sup>b</sup> ± 0,07	88,43	582,38
8	Princesa	16,01 <sup>d</sup> ± 0,26	180,33	444,00
9	Santa Bárbara	16,04 <sup>d</sup> ± 0,14	101,76	784,53
10	Suprema	17,37 <sup>d</sup> ± 1,95	199,93	405,64

\*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tuckey considerando o valor nominal de 5% de significância.

Tabela 4: Atividade bruta de PG

<i>Ensaio</i>	<i>Acesso</i>	<i>Atividade PG</i> (Ug <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> x 10 <sup>-5</sup> )*
1	Aurora	2,33 ± 0,57 <sup>a, b</sup>
2	Brandão	1,54 ± 0,24 <sup>a</sup>
3	CNPMF	2,97 ± 0,09 <sup>c,d</sup>
4	Embrapa	2,42 ± 0,10 <sup>b,c</sup>
5	Gigante Santa Bárbara	3,04 ± 0,19 <sup>c,d</sup>
6	Olho D'água	4,08 ± 0,27 <sup>e</sup>
7	Preciosa	3,54 ± 0,09 <sup>a</sup>
8	Princesa	1,64 ± 0,05 <sup>a</sup>
9	Santa Bárbara	1,86 ± 0,15 <sup>a, b</sup>
10	Suprema	3,97 ± 0,48 <sup>b</sup>

\*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tuckey considerando o valor nominal de 5% de significância

Comparando os acessos quanto a atividade da enzima PG em (Ug-1.h-1), pode-se concluir que houve diferença significativa entre os acessos de umbu-cajá. Os acessos Brandão e Princesa não diferem entre si assim como os acessos CNPMF, Gigante Santa Bárbara e Embrapa. Os acessos CNPMF e Gigante Santa Bárbara não diferem do acesso Suprema. Os acessos Santa Bárbara, Aurora e Embrapa também não demonstraram diferença significativa entre si. Para atividade PME em (U/mL), os resultados experimentais também demonstraram que há diferença significativa entre os acessos de umbu-cajá. Brandão não difere de Embrapa, Princesa, Santa Bárbara, Preciosa e Aurora. CNPMF não difere de Olha d'água, e Gigante não difere de Suprema. Esses resultados somados a dados de avaliação físico-química do fruto,

facilitará a indicação de acessos para a industrialização e obtenção de produtos mais estáveis, uma vez que as enzimas aqui estudadas são responsáveis pela perda de textura em frutas e vegetais. Nos acessos estudados foram encontradas altas atividades da enzima PME, cuja ação gera ácido pectínico, os quais ao interagirem com os íons cálcio presentes no suco, formam o pectato de cálcio insolúvel, causando perda da estabilidade da turbidez, com consequente clarificação do suco, o que no caso de sucos como o de umbu, é um efeito indesejado. Sendo assim, o uso desses acessos pela indústria de alimentos, principalmente na obtenção de suco concentrado, deve ser acompanhando do processo de inativação destas enzimas de modo a evitar a perda do valor comercial do produto.

## CONCLUSÃO

Foi possível definir condições de extração de enzimas pectinolíticas presentes em frutos de umbu-cajá, através da metodologia de superfície de resposta e avaliar o teor dessas enzimas em diferentes acessos do fruto, tendo sido observado que há diferença na concentração de enzimas entre eles. Assim, os resultados aqui obtidos servirão de subsídio para a escolha desses acessos no processo de industrialização.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ANTHON, G.E.; SEKINE, Y.; WATANABE, N. et al. Thermal inactivation of pectin methylesterase, polygalacturonase, and peroxidase in tomato juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.6153-6159, 2002.
- BICALHO, U.O.; CHITARRA, A.B.; CHITARRA, M.I.F.; COELHO, A.H.R. Modificações texturais em mamões submetidos à aplicação pós-colheita de cálcio e embalagem de PVC. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p.136 -146, 2000.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320p.
- CHITARRA, M.I.F.; RESENDE, J.M.;MALUF, W.R.;CHITARRA,A.B.;JÚNIOR,O.J.S. Atividade de Enzimas Pectinametilsterase e Poligalacturonases Durante O Amadurecimento De Tomate Do Grupo Multilocular. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v.22, n.2, p.206-212, abr.-jun. 2004.
- KASHYAP, D.R.; VOHRA, P.K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R. Aplicações de Pectinase no Âmbito Comercial setor: a review. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 215-227, 2001.
- KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de alimentos. Teoria e aplicações práticas**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. v. 1. 242 p.
- SANTOS,M.B.et al.Characterização e qualidade de frutos de umbu-cajá (*Spondias tuberosas XS.mombin*) provenientes do recôncavo sol da Bahia.
- THÉ, P. M.; BOTRE, N.; NUNES, R.; CARVALHO, V. 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. 2006.
- TIWARI, B.K. et al. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 10: 166–171. 2009.
- ZHOU, L.; ZHANG. Y.; HU, X.; LIAO, X.; HE, J. **Comparison of the inactivation kinetics of pectin methylesterases from carrot and peach by high-pressure carbon dioxide**. Food Chemistry, v. 115, p. 449–455, 2009.