

CARACTERIZAÇÃO DE CATALISADORES ENZIMÁTICOS EM FRUTAS. II. PEROXIDASE EM EXTRATO DE POLPA DO UMBU (*Spondias tuberosa*, Arruda Câmara).
Rui Oliveira Macêdo (Depto. Tecnologia Química e de Alimentos/CT/UFPB) e Tereza C. C. N. Coelho (Pós-Graduada em Ciência dos Alimentos)

THE CHARACTERIZATION OF ENZYMIC CATALYSTS IN FRUITS. II. PEROXIDASE IN PULP EXTRACTED FROM UMBU (*Spondias tuberosa*, Arruda Câmara).

Some parameters viewing the characterization of enzymatic catalysts in fruits with emphasis in peroxidase extracted from Umbu pulp were studied. The substrate utilized was guaiacol and the reaction was monitored by spectrophotometric detection at 350nm interval. The results obtained indicated the presence of a catalytic process where the absorbance reached the stationary state in the following parameters: a) reaction dependent on extract concentration; b) reaction dependent on substrate concentration, and c) reaction dependent on time. The use of guaiacol as specific substrate confirmed the presence of peroxidase in pulp from Umbu.

As enzimas são catalisadores das reações químicas nos sistemas biológicos, apresentando elevada especificidade e alto poder catalítico. Nos frutos, as enzimas são responsáveis pelas reações de escurecimento da polpa e do suco.

O umbú (*Spondias tuberosa*, Arruda Câmara) é um fruto tropical com aroma exótico, rico em vitaminas e sais minerais¹, além dos demais constituintes. Todavia a maior parte da sua safra anual não é comercializada devido a elevada perecibilidade do fruto maduro. O melhor aproveitamento do umbú depende de tecnologia e para tanto se faz necessário um conhecimento mais aprofundado das características bioquímicas do fruto. Estudos anteriores² revelaram ser possível a caracterização da fenolase no extrato bruto da polpa do umbú. No presente trabalho procurou-se estudar alguns parâmetros que determinam a presença da peroxidase nesse fruto, visando contribuir para a inativação dessa enzima.

METODOLOGIA

As amostras do umbú foram coletadas em feiras livres, entre os meses de fevereiro e abril, provenientes de diferentes regiões do Estado da Paraíba. Os frutos maduros foram selecionados, despulpados e congelados em temperatura aproximada de -10°C em freezer.

Preparação do Extrato - Cerca de 500g da polpa congelada foi colocada em liquidificador e adicionados de 350ml de tampão trishidroxiaminometano-HCl (pH 9,0) + 150ml de NaOH 0,2N + 5,0 ml de triton X-100. A mistura foi homogeneizada durante 03 minutos por trituração, centrifugada sob refrigeração por 20 minutos e filtrada. O filtrado foi utilizado como extrato bruto.
Preparação do Substrato - O substrato utilizado foi uma solução estoque de Guaiacol Merck em Etanol Merck na concentração de $8,94 \times 10^{-2}M$.

A solução amostra era preparada pela adição das soluções do extrato bruto, do substrato e do peróxido de hidrogênio no tampão citrato/fosfato com pH final de 6,0. A reação foi monitorada por espectrofotometria na região de 350nm, utilizando-se um Espectrofotometro Spekol 11 - Carl Zeiss.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A dependência da absorbância com o tempo de reação, figura 1, revela um aumento linear da absorbância até 05 minutos (curvas 1 e 2) e 10 minutos (curva 3). Após 30 minutos a reação atinge o estado estacionário, indicando o consumo total do substrato. A absorbância atingindo o patamar é um critério de caracterização de processo catalítico. A figura 2 mostra o comportamento da absorbância com a concentração do extrato, onde verifica-se um aumento linear até 2,0ml do extrato nas tres curvas, evidenciando ser a reação, nessa faixa de volume do extrato, dependente da concentração do catalisador. Após 6,0ml observa-se a tendência das curvas em assumir o patamar indicando que o catalisador está em excesso. Todavia a curva 3 apresenta um ligei-

ro decréscimo na absorbância. Tal fato poderia ser explicado através do consumo da enzima. A reação alcançando um estado estacionário é mais um critério de caracterização de processo catalítico. A dependência da absorbância com a concentração do substrato, figura 3, mostrou um aumento linear até $2,1 \times 10^{-4}M$ de guaiacol. Após a concentração de $4,9 \times 10^{-4}M$ a absorbância atingiu o patamar, evidenciando mais um critério de processo catalítico. Estudos realizados com o extrato bruto submetido a temperatura de 90°C, durante 10 minutos, seguido de resfriamento a 4°C, mostram a ausência da reação catalítica.

CONCLUSÕES

A caracterização do processo catalítico, a inativação da reação catalítica por temperatura e a utilização do guaiacol, confirmaram a presença da peroxidase no extrato de polpa do umbú.

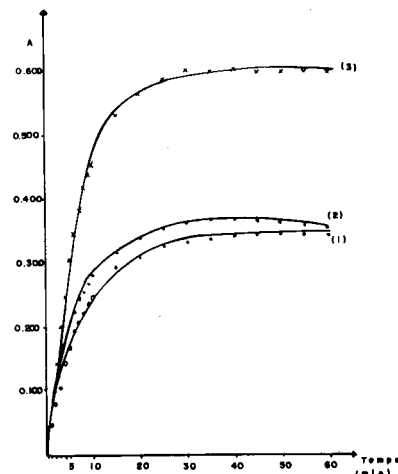


Figura 01. Dependência da absorbância com o tempo de reação. = 350nm. Extrato:Guaiacol (1) 0,5ml: $3,15 \times 10^{-4}M$; (2) 0,6ml: $3,78 \times 10^{-4}M$; (3) 0,8ml: $5,04 \times 10^{-4}M$.

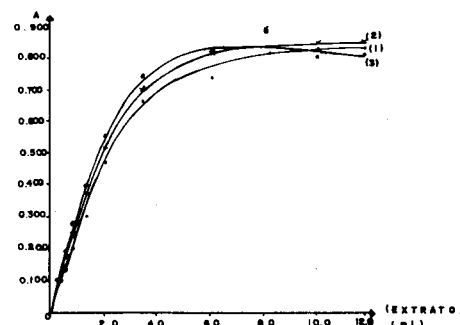


Figura 02. Dependência da absorbância com a conc. do extrato. =350nm; t=35min.; Substrato:(1) $3,78 \times 10^{-4}M$; (2) $4,20 \times 10^{-4}M$; (3) $5,60 \times 10^{-4}M$.

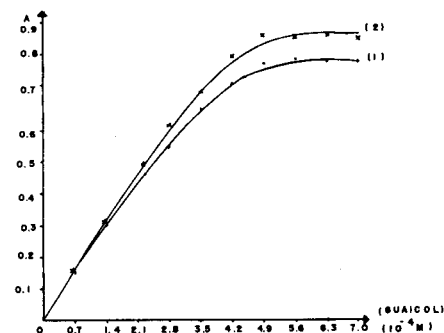


Figura 03. Dependência da absorbância com a concentração do substrato. =350nm; t=35min.; Extrato= (1) 0,6ml (2)0,8ml

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, Jr. e Valsechi, O. "Guia de Composição de Frutas", Instituto Zimotécnico, Piracicaba (1966), 251
- Macêdo, R. O. e Coelho, T. C. C. N., V Enq (1989), 150