



Determinação de Peroxidase (POD) e Polifenoloxidase (PPO) em Polpa de Açai Submetida à Alta Pressão Hidrostática

Amauri Rosenthal¹
Ellen M. da Silva Menezes²
Aline M. Domingues³
Armando Sabaa Srur⁴
Lourdes M. A. Q. Camargo⁵
Rosires Deliza⁶

A fruticultura brasileira vem, a cada ano, superando desafios e aumentando a produção. Devido à privilegiada posição geográfica, o país consegue produzir os mais distintos tipos de frutas, decorrente da diversidade climática. De acordo com o relatório da FAO, a superfície total explorada para a produção de frutas em 2005 atingiu 2,5 milhões de hectares, com uma produção de 39 milhões de toneladas, cujo valor situa-se entre US\$5,4 e 5,8 bilhões, suprimindo, prioritariamente, o mercado interno (FERNANDES, 2006). Entretanto, dados do IBRAF (Instituto Brasileiro de Frutas) apontam para uma expectativa de crescimento nas exportações de frutas frescas entre 5 – 10% (SIMARELLI, 2006) decorrente da boa imagem de nossas frutas no exterior. Esforços têm sido feitos para incrementar o consumo no mercado interno que também se mostra promissor.

O processamento de frutas também precisa ser incentivado, pois contribuiria para a redução de perdas, além de disponibilizar ao consumidor produtos com vida-de-prateleira mais longa. A indústria de sucos no Brasil vem crescendo, passando de 120.185 milhões de litros vendidos em 2001, para 164.949 milhões em 2002 e 172.331 milhões de litros em 2003. Permanece conquistando novos mercados, principalmente o externo, atraídos em especial pelos sucos e polpas de frutos tropicais e seus produtos derivados. Essa expansão tem levado a agroindústria

de frutas à busca pela obtenção de produtos com melhor qualidade nutricional e sensorial e com características mais próximas às dos produtos *in natura*, aliado à vida útil prolongada.

Apesar do extrativismo, a Amazônia destaca-se por ser importante fornecedora de sucos e polpas. Sua fruticultura abrange grande número de espécies exóticas, largamente consumidas por habitantes da região e que já atingem outros estados e países, merecendo destaque o fruto do açazeiro. O açazeiro (*Euterpe oleracea*, Mart.) é a palmeira mais produtiva do Estuário Amazônico. Seus frutos são amplamente comercializados para a produção de “polpa de açai”, ou simplesmente, “açai”, alimento de rico valor energético e nutricional, por possuir significativo teor lipídico, antocianico e de fibras, além de outros importantes nutrientes. A mídia, a tecnologia pós-colheita e a indústria, em pouco mais de uma década, transformaram a realidade do açai. Esta fruta que era conhecida apenas regionalmente, hoje está presente em quase todo o país, em diversos produtos industrializados. De 1999 até 2004, o Brasil produziu aproximadamente 740 mil toneladas de açai, sendo que a maior concentração está nos estados do Pará e Amapá (MONTEIRO, 2006). Nas regiões produtoras, o açai é comercializado normalmente à temperatura ambiente, quando é imediatamente consumido, ou após certo período de refrigeração. Quando se destina

¹ Eng. Alim., Ph.D., Pesquisador da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro, RJ. E-mail: arosent@ctaa.embrapa.br

² Nutric., Bolsista CAPES, UFRJ/DTA. E-mail: ellenmayra@hotmail.com

³ Eng. Quím., Bolsista CNPq, UFRJ/DTA.

⁴ Quím., D.Sc., Professor UFRJ. E-mail: sabaasrur@yahoo.com.br

⁵ Biol., Bolsista Pós-Doutorado, FAPERJ. E-mail: l-q@uol.com.br

⁶ Eng. Alim., Ph.D., Pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos. E-mail: rodeliza@ctaa.embrapa.br

a comércios distantes, a polpa é congelada, porém esse método de conservação promove no alimento danos irreversíveis como perdas vitamínicas, alterações reológicas e de cor, as quais alteram as propriedades originais. Modificar o processo de beneficiamento, adotando novas tecnologias que minimizem perdas nutricionais e sensoriais, é importante e necessário para o fortalecimento do setor. Neste contexto, o uso de Alta Pressão Hidrostática (APH) pode ser uma alternativa para assegurar maior estabilidade à polpa de açaí. A APH é uma tecnologia não convencional, que vem sendo pesquisada, principalmente no processamento de polpas de frutas, sucos e néctares (SAN MARTIN; BARBOSA-CANOVAS; SWANSON, 2002; ROSENTHAL *et al.*, 2005). Nesse processo, o alimento é submetido a pressões isostáticas que variam de 100 a 900 MPa, com combinação ou não de elevação de temperatura. A APH inativa enzimas e microorganismos, estendendo a vida de prateleira, podendo ocorrer, entretanto, modificações na textura (RAMASWAMY; BALASUBRAMANIAM; KALETUNÇ, 2005).

Além das alterações devidas à ação de microorganismos, a polpa de açaí também é modificada em função das enzimas presentes. Entre essas enzimas, as peroxidases (POD) e as polifenoloxidases (PPO), presentes na maioria dos frutos e legumes, são importantes no processamento, já que participam de reações oxidativas diretamente relacionadas às alterações das características sensoriais, originando *off-flavors*, degradação na cor e qualidade nutricional (VÁMOS-VIGYÁZÓ, 1981; CLEMENTE, 2002). No processamento de alimentos, as enzimas podem ser utilizadas como índice de adequação do tratamento utilizado. A APH pode ser aplicada visando a inativação dessas enzimas, para que o escurecimento enzimático e conseqüentes mudanças na aparência e nas propriedades sensoriais sejam evitadas (HENDRICKX *et al.*, 1998).

Preparo da Matéria Prima e dos Extratos Enzimáticos

A polpa de açaí (*Euterpe oleracea*, Mart.), tipo grossa, foi adquirida em estabelecimento comercial de Belém/PA e levada à Embrapa Agroindústria de Alimentos, onde foi acondicionada em sacos de 20g de polietileno estéreis e com alta barreira e fechados em seladora, evitando-se a presença de bolhas de ar. Os tratamentos de APH foram realizados em equipamento Stansted Fluid Power Ltd. (Stansted, UK), adotando-se como meio pressurizante solução de álcool etílico a 70%. Foi utilizada a metodologia de superfície de resposta com planejamento fatorial de 2 níveis e pontos centrais, onde pressão (MPa), temperatura (°C) e tempo (min.) foram as variáveis de processo, totalizando 11 ensaios (*runs*) (Tabela 1), e o

percentual de atividade da POD e de atividade da PPO foram as variáveis de resposta.

Tabela 1. Variáveis de processo.

Variáveis de processo	Níveis		
	-1	0	+1
Pressão (MPa)	300	400	500
Temperatura (°C)	25	30	35
Tempo (min.)	5	10	15

A determinação da atividade enzimática da POD e PPO é difícil e pode variar dependendo das condições de pH, temperatura, solução tampão, tipo e concentração de substratos ótimos para cada fonte específica. Desse modo, o preparo da matéria prima pode ser considerado a etapa fundamental na determinação analítica das referidas enzimas. Neste estudo, a determinação da atividade das enzimas POD e PPO foi realizada de acordo com o método de Cano, Hernández e Ancos (1997), porém, com modificações em relação ao preparo da amostra (DOMINGUES, 2003).

O extrato enzimático para a determinação da atividade enzimática da PPO e POD deste estudo foi obtido através da homogeneização de aproximadamente 15g de polpa de açaí com 30 - 35 ml de tampão fosfato de potássio 0,2 M, pH 6,5, contendo polivinilpirrolidona 1% (PVPP) e completando o volume com água destilada até 50 ml. Após homogeneização por 3 min com intervalos de 30s, o material foi filtrado em papel qualitativo de filtração média, obtendo-se o extrato enzimático. Estudos preliminares revelaram que tal procedimento foi adequado para a determinação e subsequente análise das enzimas. Na determinação da atividade da PPO, utilizaram-se 0,2 ml do extrato enzimático e mistura reacional composta de 3,0 ml de catecol 0,07 M em tampão fosfato de sódio 0,05 M, pH 6,5. Para a atividade de POD, foram utilizados 0,025 ml do extrato enzimático e mistura reacional composta de 2,7 ml de tampão fosfato de potássio 0,05 M, pH 6,5, com 0,2 ml de r-fenilenediamina 1% (p/v) como doador de hidrogênio e 0,1 ml de peróxido de hidrogênio 1,5% (m/v) como oxidante.

Análises

As análises das enzimas POD e PPO foram realizadas em espectrofotômetro SPECORD 205 (Alemanha) com leituras a 485nm e 420nm, a 25°C, durante 5min, respectivamente. As atividades enzimáticas foram calculadas em triplicata através da medida de variação da absorbância vs. tempo. A avaliação do efeito do processamento sobre a atividades das enzimas foi expressa em percentual (%) de atividade, calculado pela equação (01).

$$\% \text{ de atividade enzimática} = \frac{\text{atividade enzimática final}}{\text{atividade enzimática inicial}} \times 100 \quad (01)$$

Conteúdo de POD e PPO nas Polpas Pressurizadas

As Figuras 1 e 2 mostram os resultados das análises de POD e PPO nas polpas de açai deste estudo.

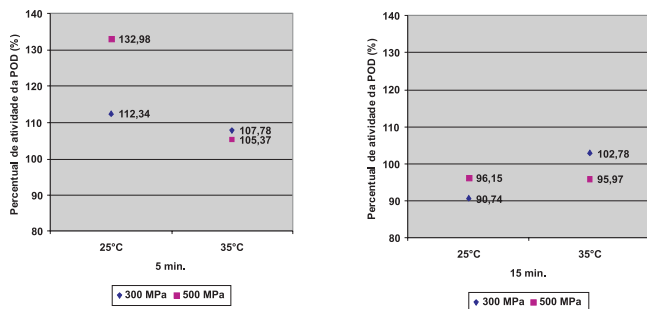


Fig. 1. Média dos percentuais de atividade da POD (%) em polpas de açai pressurizadas a 300 e 500 MPa, a 25 e 35 °C, de 5 e 15 minutos.

Na Fig. 1 podem ser observados comportamentos opostos da atividade enzimática da POD, quando a amostra foi submetida a 300 MPa em função da temperatura e do tempo. Na polpa tratada por 5 minutos, houve ligeira redução do percentual de atividade com o aumento da temperatura para 35 °C, entretanto, as diferenças não foram consideradas estatisticamente significativas. Resultado oposto ocorreu quando as amostras foram tratadas por 15 minutos, pois o aumento da temperatura para 35 °C resultou em ativação da POD. Hernández e Cano (1998) estudaram o efeito do processamento com pressão entre 50 e 500 MPa e observaram que pressões inferiores a 350 MPa, a 20 °C, por 15 minutos, aumentaram a atividade da POD no purê de tomate. Porém, em purês submetidos a pressões maiores que 350 MPa, a 20 °C, por 15 minutos, verificou-se a inativação da POD, diferentemente do ocorrido em polpas de açai pressurizadas sob 500 MPa, a 25 ou 35 °C, por 15 minutos, verificando-se percentuais de atividade da POD de 96,15% e 95,97% (Fig. 1). Quando Hernández e Cano (1998) adotaram 400 - 500 MPa, combinados a temperaturas brandas (30 a 60 °C), houve novamente um aumento da atividade da POD em purês de tomate, mas esse comportamento em polpas de açai foi observado somente quando as amostras foram tratadas por 5 minutos de exposição à pressão, principalmente sob 500 MPa a 25 °C, onde ocorreu ativação da POD de 33,98%, considerando que polpas controle

correspondem a 100% (Fig. 1). Segundo Cano, Hernández e Ancos (1997), a inativação depende da característica do produto, do tipo da enzima e da condição de processo.

A polpa de açai pressurizada a 300 MPa apresentou um percentual de atividade da PPO médio inferior à tratada a 500 MPa. A exceção foi para o tratamento a 500 MPa, 35 °C, por 15 minutos, no qual foi registrado, em média, 70,25% de percentual de atividade da PPO, inferior ao observado a 300 MPa, 35 °C, por 15 minutos (75,74%) (Fig. 2). Tratamentos a 300 MPa, tanto a 25 °C, quanto a 35 °C, inativaram a PPO, reduzindo seus percentuais de atividade a 65,79% e a 53,25%, quando o tempo de processo foi de 5 minutos. A polpa de açai pressurizada a 300 MPa, 25 °C, por 5 minutos apresentou percentual de atividade de PPO médio (65,79%) bem próximo aos 61,60% encontrados por Castellari et al. (1997) em mostos de uvas brancas submetidos a 600 MPa, 15 °C, por 10 minutos.

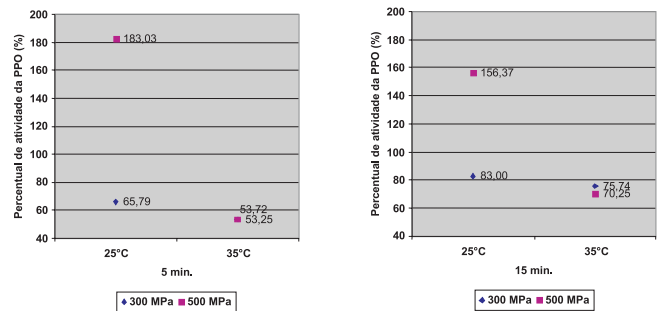


Fig. 2. Médias dos percentuais de atividade da PPO (%) em polpas de açai pressurizadas a 300 e 500 MPa, a 25 e 35 °C, de 5 e 15 minutos.

Os resultados indicaram que o método para determinação da atividade enzimática foi adequado, revelando, entretanto, que o processamento a APH causou efeitos diferentes nas enzimas estudadas. A atividade da POD não foi reduzida em nenhuma das condições do delineamento e, quando a polpa foi tratada a 500 MPa, a 25 °C, por 5 minutos, houve ativação da POD de 32,98%. A PPO também teve sua atividade estimulada quando as polpas foram submetidas a 500 MPa, 25 °C, por 5 ou 15 minutos, mas, em geral, processos a 35 °C, juntamente com a pressão, reduziram a atividade até 53,25%. Estudos futuros considerando outras condições de tempo, temperatura e pressão são recomendados.

Referências Bibliográficas

- CANO, M. P.; HERNÁNDEZ, A.; ANCOS, B. High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 1, p. 85-88, 1997.
- CASTELLARI, M.; MATRICARDI, L.; ARFELLI, G.; ROVERE, P.; AMATI, A. Effects of high pressure processing on polyphenoloxidase enzyme activity of grape musts. **Food Chemistry**, Essex, v. 60, n. 4, p. 647-649, 1997.
- CLEMENTE, E. Peroxidase from oranges (*Citrus sinenses* (L.) Obsbeck). **European Food Research Technology**, Heidelberg, v. 215, n. 2, p. 164-168, 2002.
- DOMINGUES, A. M. **Avaliação do processo de pasteurização térmica de néctar de abacaxi (*Ananás comosus* L.)**. 2003. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- FERNANDES, M. S. A fruticultura cresce. **Anuário Brasileiro de Fruticultura**, Santa Cruz do Sul, p. 10-12, 2006.
- HENDRICKX, M.; LUDIKHUYZE, L.; VAN DEN BROECK, I.; WEEMAES, C. Effects of high pressure on enzymes related to food quality. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 9, p. 197-203, 1998.
- HERNÁNDEZ, A.; CANO, M. P. High-pressure and temperature effects on enzyme inactivation in tomato puree. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 46, p. 266-270, 1998.
- MONTEIRO, S. Açaí: da fruta exótica à vedete de consumo. **Frutas e Derivados**, São Paulo, v. 1, n. 2, p. 29-32, 2006.
- RAMASWAMY, R.; BALASUBRAMANIAM, V. M.; KALETUNÇ, G. K. **High pressure processing: fact sheet for food processors**. Ohio State University Extension Fact Sheet. Disponível em: <<http://ohioline.osu.edu/fse-fact/0001.html>>. Acesso em: 10 nov. 2005.
- ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; SIQUEIRA, R. S. de; LABOISSIÈRE, L. H. E. S.; CAMARGO, L. M. Q.; MARCELLINI, A. M. de B. **Polpa de maracujá processada por alta pressão hidrostática**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2005. 4 p. (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Comunicado Técnico, 91).
- SAN MARTIN, M. F.; BARBOSA-CANOVAS, G. V.; SWANSON, B. G. Food processing by high hydrostatic pressure. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 6, n. 42, p. 627-645, 2002.
- SIMARELLI, M. Frutas do Brasil. **Frutas e Derivados**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 15-27, 2006.
- VÁMOS-VIGYÁZÓ, L. Polyphenoloxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 15, p. 49-127, 1981.

Comunicado Técnico, 101

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Agroindústria de Alimentos
Endereço: Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba
23020-470 - Rio de Janeiro - RJ
Fone: (0XX21) 2410-9500
Fax: (0XX21) 2410-1090 / 2410-9513
Home Page: <http://www.ctaa.embrapa.br>
E-mail: sac@ctaa.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2006): tiragem (50 exemplares)

Comitê de publicações

Presidente: *Virgínia Martins da Matta*
Membros: *Marcos José de Oliveira Fonseca, Marília Penteadó Stephan, Márcia Nitschke, Ronoel Luiz de O. Godoy e André Luis do Nascimento Gomes*
Secretárias: *Renata Maria Avilla Paldés e Célia Gonçalves Fernandes*

Expediente

Supervisor editorial: *André Luis do N. Gomes*
Revisão de texto: *Comitê de Publicações*
Normatização bibliográfica: *Luciana S. de Araújo*
Editoração eletrônica: *André Guimarães de Souza e André Luis do N. Gomes*