

Caracterização físico-química e determinação qualitativa de enzimas Polifenoloxidase e catalase nos frutos de Santol (*Sandoricum Koetjape*)**Physical-chemical characterization and qualitative determination of Polyphenoloxidase and catalase enzymes in Santol fruits (*Sandoricum Koetjape*)**

DOI:10.34117/bjdv6n6-586

Recebimento dos originais:08/05/2020

Aceitação para publicação:26/06/2020

Amanda Albuquerque Gouvêa Ramos

Graduada em Tecnologia em Alimentos pela Universidade do Estado do Pará

Instituição: Universidade do Estado do Pará

Endereço: Tv. Dr. Eneas Pinheiro, 2626 - Marco, Belém - PA, Brasil 66095-015

E-mail: amandaramos_3@hotmail.com

Camila Gomes da Luz

Graduada em Tecnologia em Alimentos pela Universidade do Estado do Pará

Instituição: Universidade do Estado do Pará

Endereço: Tv. Dr. Eneas Pinheiro, 2626 - Marco, Belém - PA, Brasil 66095-015

E-mail: bialuz1@hotmail.com

Maricely Janette Uria Toro

Doutora em Química Analítica pela Universidade Estadual Paulista

Instituição: Universidade do Estado do Pará

Endereço: Tv. Dr. Eneas Pinheiro, 2626 - Marco, Belém - PA, Brasil 66095-015

E-mail: maryuria12@hotmail.com

Matheus Ferreira de Brito

Graduado em Tecnologia em Alimentos pela Universidade do Estado do Pará

Instituição: Universidade do Estado do Pará

Endereço: Tv. Dr. Eneas Pinheiro, 2626 - Marco, Belém - PA, Brasil 66095-015

E-mail: matheusferreiradebrito@gmail.com

Fernanda Ferreira Borges

Graduada em Tecnologia em Alimentos pela Universidade do Estado do Pará

Instituição: Universidade do Estado do Pará

Endereço: Tv. Dr. Eneas Pinheiro, 2626 - Marco, Belém - PA, Brasil 66095-015

E-mail: feborgesfla@gmail.com

Pâmela Cristina Rodrigues da Costa

Graduada em Tecnologia em Alimentos pela Universidade do Estado do Pará

Instituição: Universidade do Estado do Pará

Endereço: Tv. Dr. Eneas Pinheiro, 2626 - Marco, Belém - PA, Brasil 66095-015

E-mail: rodriguespamela417@gmail.com

Ynara da Costa Fonseca

Graduada em Tecnologia em Alimentos pela Universidade do Estado do Pará
Instituição: Universidade do Estado do Pará
Endereço: Tv. Dr. Eneas Pinheiro, 2626 - Marco, Belém - PA, Brasil 66095-015
E-mail: ynaracf12@gmail.com

Yasmim Oliveira De Sena Rodrigues

Graduada em Tecnologia em Alimentos pela Universidade do Estado do Pará
Instituição: Universidade do Estado do Pará
Endereço: Tv. Dr. Eneas Pinheiro, 2626 - Marco, Belém - PA, Brasil 66095-015
E-mail: yasmimsenna20@gmail.com

RESUMO

O santol (*Sandoricum koetjape*) é uma árvore frutífera típica de florestas tropicais e amplamente cultivada em algumas regiões da Ásia, sendo comumente utilizada para fins medicinais e culinários. A casca e a planta do santol possuem uso medicinal, e da sua polpa podem ser obtidos produtos oriundos da tecnologia de alimentos. Devido aos benefícios advindos da fruta do santol e a carência de informações na literatura que abordam sobre suas características, o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização físico-química e determinar qualitativamente a presença das enzimas polifenoloxidasas e catalases na polpa do santol. As análises físico-químicas realizadas no estudo foram de pH, acidez total titulável, teor de sólidos solúveis, umidade, proteína e ácido ascórbico. Os resultados físico-químicos para pH (3,61), acidez total titulável (1,06%) e sólidos solúveis (13,2°Brix), demonstraram-se divergentes aos da literatura, podendo ser explicado pelos diferentes tempos de armazenamento, clima, solo e fator genético. Em contrapartida, a presença de enzimas deu-se positivas, assemelhando-se com os resultados presentes na literatura.

Palavras-chave: *Sandoricum koetjape*, polpa de santol, características físico-químicas.

ABSTRACT

The santol (*Sandoricum koetjape*) is a fruit tree typical of tropical forests and widely cultivated in some regions of Asia, being commonly used for medicinal and culinary purposes. The bark and plant of the santol have medicinal uses, and from their pulp products from food technology can be obtained. Due to the benefits arising from the fruit of santol and the lack of information in the literature that addresses its characteristics, the objective of this work was to carry out the physical-chemical characterization and to qualitatively determine the presence of the enzymes polyphenoloxidases and catalases in the pulp of santol. The physical-chemical analyzes performed in the study were pH, total titratable acidity, soluble solids content, moisture, protein and ascorbic acid. The physical-chemical results for pH (3.61), total titratable acidity (1.06%) and soluble solids (13.2°Brix), showed to be divergent from those in the literature, which can be explained by the different storage times, climate, soil and genetic factor. On the other hand, the presence of enzymes was positive, similar to the results found in the literature.

Keywords: *Sandoricum koetjape*, santol pulp, physical and chemical characteristics.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, há uma ampla variedade de frutos tropicais, nativos e exóticos, que oferecem muitas possibilidades de exploração econômica, especialmente para as regiões Norte, por concentrar uma floresta rica em biodiversidade como a Amazônia (Silva, 2016). O santol [*Sandoricum koetjape* (Burm. f.) Merr.] é uma árvore frutífera típica de florestas tropicais e amplamente cultivada em algumas regiões da Ásia, sendo comumente utilizado para fins medicinais e culinários (Benjawan & Chutichudet, 2009; Efdi et al., 2012).

A casca e a planta inteira são utilizadas pela medicina tradicional para o tratamento de cólica e leucorréia na Malásia e Indonésia, enquanto que na Tailândia, é utilizado o chá da sua folha para tratamento de febre (Ismail et al., 2004; Efdi et al., 2012). Os frutos são comestíveis e possuem polpa macia e saborosa, passíveis de elaboração de diversas receitas (Rasadah et al., 2004; Ismail et al., 2004; Ikram, 2009).

As frutas de santol geralmente são consumidas frescas e utilizadas para a produção de doces, geleias e produtos de confeitaria, assim como na elaboração de bebida alcoólica fermentada (Rasadah et al., 2004; Morton, 1987). Ademais, os frutos de santol apresentam em sua composição grande quantidade de antioxidantes, como betacaroteno, substâncias bioativas e flavanóides, além de alta concentração de vitamina C (Chutichudet et al., 2008). Esses compostos possuem nutrientes com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas e capacidade de combater doenças cardíacas-coronárias (Rasadah et al., 2004; Benjawan & Chutichudet, 2009; Chutichudet et al., 2008). Os frutos escurecem com facilidade provavelmente pela presença de enzimas oxidativas.

Diante do interesse comercial por frutíferas exóticas e da necessidade de obtenção de dados para os consumidores e produtores, o presente trabalho tem por objetivo realizar a caracterização físico-química e determinar qualitativamente a presença de enzimas do tipo polifenoloxidase e catalase nos frutos de santol para compor informações sobre o fruto e servir de referência para outros estudos. A caracterização físico-química e a determinação da presença de enzimas são importantes para o conhecimento nutricional, e do ponto de vista comercial, para agregar valor e qualidade ao produto final e padronizá-los. (Cortez Netto et al., 2010; Canuto et al., 2010). Nesse contexto, serão determinados os seguintes parâmetros do santol: umidade, proteínas, vitamina C, pH, acidez titulável, sólidos solúveis (°Brix) e presença das enzimas polifenoloxidase e catalase.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Os frutos de santol foram coletados no período entre janeiro e fevereiro de 2018, em três árvores matrizes localizadas no município de Belém, estado do Pará (matriz 1: 01° 26' 19,5"S e 48° 26' 46,5"WO; matriz 2: 01° 26' 19,8"S e 48° 26' 47,2"WO; e, matriz 3: 01° 26' 18,8"S e 48° 26' 48,4"WO). De acordo com a classificação de Koppen, o clima da região é do tipo Af que confere a climas tropicais úmidos, sem estação fria e com temperatura média do mês menos quente acima de 18°C, no qual a menor precipitação mensal é sempre superior a 60 mm e o total pluviométrico é normalmente superior a 2000 mm (BASTOS, 1972,1982). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, no qual amostras de santol de cor amarela (in natura, íntegros, maduros e com casca) foram adquiridas e distribuídas ao acaso. Todas as análises foram determinadas na polpa do fruto, que foi extraída manualmente e com o auxílio de utensílios. O delineamento do presente estudo constituiu de uma análise descritiva composta por uma tomada de ensaio e uma unidade amostral (cerca de 4kg de santol), sendo as análises feitas em triplicatas. Os dados foram submetidos à estatística descritiva de médias e erro-padrão da média.

2.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As amostras dos frutos de santol foram encaminhadas para o Laboratório de Química da Universidade do Estado do Pará/Campus V, onde foram submetidas à caracterização físico-química. As análises para obtenção dos valores de pH, acidez total titulável, teor de sólidos solúveis, umidade, proteína e ácido ascórbico foram feitas conforme os métodos da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC), uma associação reconhecida mundialmente na elaboração de métodos de análises físico-químicas (AOAC, 2017).

Para determinação de pH foi utilizado um potenciômetro anteriormente calibrado com soluções tampão pH 4 e 7, de acordo com o método 981.12 da AOAC (1997). A determinação de acidez total titulável foi realizada por volumetria conforme descrito no método 942.15 da AOAC (1997). O teor de sólidos solúveis totais foi obtido com auxílio de um refratômetro ABBE e expressos em °Brix, segundo método 932.12 da AOAC (1997). A análise de umidade foi realizada por secagem em estufa a 105°C, até peso constante, de acordo com o método 932.12 da AOAC (1997) e o resultado foi expresso em porcentagem.

A determinação de proteínas totais foi realizada a partir do nitrogênio total contido na amostra, pelo método micro Kjeldahl, de acordo com o método 940.25 da AOAC (1997) e convertido em proteína utilizando-se o fator de 6,25. Para a determinação de ácido ascórbico,

utilizou-se do método 43.065 da AOAC (1984), modificado por Benassi (1990), que tem fundamento no uso de iodo padronizado para a oxidação do ácido ascórbico. O resultado foi expresso em mg/100g da amostra.

2.3 DETERMINAÇÃO ENZIMÁTICA

A extração enzimática foi feita seguindo a metodologia de Fatibello (2002). Após lavagem e secagem, 6 g da polpa de santol foram picados e homogeneizados em um liquidificador com 100 mL de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,5). Em seguida, o homogenato foi filtrado em camadas de gazes, armazenado em refrigerador a 4 °C e posteriormente usado como fonte enzimática da polifenoloxidase e catalase.

Para a determinação da atividade da catalase adotou-se a metodologia empregada por Havir e McHale (1987) e Peixoto et al (1999), com algumas modificações. Aproximadamente 2 mL previamente armazenados em 4°C foram homogeneizados em 40mL da solução tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 6,5) e seguidamente adicionados 0,8 mL de peróxido de hidrogênio 112,5 mM à mistura reacional. Por fim, observou-se a presença de gás indicando a presença da catalase.

A atividade de polifenoloxidase (PPO) foi determinada segundo a metodologia de Oktay (1995), com algumas modificações. Aproximadamente 5 mL do extrato enzimático previamente armazenado a 4°C foi misturado com 1 mL de solução de catecol 0,4% (m/v) preparada no mesmo tampão de reação. A atividade da enzima foi observada através da alteração cromática da amostra observando-se a mudança de coloração.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas das amostras de polpa do fruto de santol estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização do santol

Análises*	Polpa do Santol
pH	3,61 ± 0,24
Acidez total titulável (%)	1,06 ± 0,042
Sólidos solúveis (°Brix)	13,2 ± 0,44
Ácido ascórbico (mg/100g)	4,35 ± 0,015
Proteína bruta (%)	1,7 ± 0,24
Umidade (%)	88,1 ± 0,77

*Médias de três repetições ± desvio padrão

Para comparação direta, foi verificado a existência de poucos estudos que abordem sobre a caracterização físico-química e a determinação enzimática do santol. Benjawan & Chutichudet (2009), caracterizaram o santol e encontraram valores de 6,20, 3,07 °Brix, 0,28% e 14,06 mg/100g para as análises de pH, sólidos solúveis, acidez total titulável e ácido ascórbico, respectivamente.

Os valores encontrados demonstram que a amostra da polpa de santol analisada apesar de apresentar um pH com valor baixo, não demonstrou um teor de acidez elevado. Ademais, os valores obtidos foram similares aos encontrados por Chutichudet et al. (2008). O teor de sólidos solúveis foi superior ao encontrado por Benjawan & Chutichudet (2009), sendo esta diferença justificada pela condição de armazenamento e período de estocagem da amostra. Miranda et al. (2017) no estudo de cenouras minimamente processadas também observaram variação nos valores de sólidos solúveis em função das condições de armazenamento e período de estocagem, com valores que variaram de 6°Brix no primeiro dia para 7°Brix ao sexto dia. Ademais, Silva et al. (2002) no estudo de pinha constatou que as diferenças entre os teores de sólidos solúveis explicam-se pela variabilidade genética e ambiental entre as plantas.

O teor de ácido ascórbico também apresentou valores abaixo do verificado no estudo de Benjawan & Chutichudet (2009). Essa diferença pode ser justificada também pela condição de armazenamento, visto que os mesmos autores (Benjawan & Chutichudet, 2009), encontraram um teor de 14,12 mg/100 mL para 4 dias de armazenamento e 14,06 para 12 dias de armazenamento do fruto de santol. Araújo et al. (2017), ao estudar o teor de ácido ascórbico em polpas de acerola também registraram redução de 610,0 mg/100 mL no primeiro mês do experimento para 111,0 mg/100 mL no terceiro mês de análises.

Em relação aos resultados obtidos da análise de umidade e proteína na polpa de santol, podemos comparar tais valores com as porcentagens encontradas por Morton (1987) em estudo relacionado, onde o valor de umidade e proteína observados foram, respectivamente, de 88% e 0,12%, sendo estes menores quando comparados aos encontrados neste trabalho.

Foi constatada a presença das enzimas catalase e polifenoloxidase na polpa do santol. Podemos comparar a presença da enzima polifenoloxidase através da formação da coloração verde musgo, resultado bastante semelhante com os encontrados por Luiz et. al (2007), onde verificou-se o crescimento da atividade da enzimática na polpa de abacate nos estágios de maturação verde e maduro, assemelhando-se com a da polpa do santol quanto antes e depois do seu congelamento. Também se verificou a presença da enzima catalase, através da liberação de gás e a formação de um colarinho de espuma nas amostras, resultado semelhante ao observado por Isidoro & Battestin (2014), onde observou-se atividade intensa de catalase no coração da alcachofra.

4 CONCLUSÕES

A caracterização físico-química da polpa de santol apresentou variações quando comparada com outros trabalhos realizados com a mesma fruta, isto pode estar associado a fatores como condições climáticas, solo, código genético e o tempo de armazenamento das frutas (Silva et al., 2002; Miranda et al., 2017). A presença da polifenoloxidase e catalase foram semelhantes as encontradas na literatura, proporcionando futuros estudos sobre a atividade enzimática neste fruto.

REFERÊNCIAS

- Araújo, M. N. T., Castro, R. S., Rodrigues, A. C. S., Rêgo, J. F., & Uchôa, V. T. (2017). Avaliação do teor de vitamina C em polpas de acerola comercializadas em supermercados de Piripiri-PI. *Ciência Agrícola*, 15 (1), 59-68.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. (1984). *Official Methods of Analysis* (14. ed.). Arlington, VA, USA.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. (1997). *Official Methods of Analysis* (16. ed.). Arlington, VA, USA.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. (2017). *AOAC Internacional strategic plan*, 1 (1).
- Bastos, T. X. (1982). *O clima da Amazônia brasileira segundo Koppen*. Belém: EMBRAPA-CPATU. 4p.
- Bastos, T. X. (1972). *O estado atual do conhecimento das condições climáticas da Amazônia brasileira*. Belém: IPEAN. 68-122.
- Benassi, M. T. (1990). Análises dos efeitos de diferentes parâmetros na estabilidade de vitamina C em vegetais processados (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Benjawan, C., & Chutichudet, P. (2009). Control of skin colour and polyphenol oxidase activity in santol fruit by dipping in organic acid solution. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12 (11), 852-858.
- Bezerra, E. A. (2016). *Respostas bioquímicas comparativas de genótipos suscetíveis e resistentes de feijão-de-corda [Vigna unguiculata (L.) WALP.] desafiados com o vírus do mosaico severo do caupi (CPSMV)* (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- Canuto, G. A. B., Xavier, A. A. O., Neves, L. C., & Benassi, M. T. (2010). Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32 (4), 1196-1205.
- Chutichudet, P., Benjawan, C., & Kaewsit, S. (2008). An analysis on quality, colour, tissue texture, total soluble solid content, titrable acidity and pH of santol fruits (*Sandoricum koetjape* Burm. f.) Merr. Pui Fai cultivar, grown in Northern Thailand. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11, 1348-1353.

- Cortez Netto, J. P., Boscolo, W. R., Feiden, A., Maluf, M. L. F., Freitas, J. M. A., & Simões, M. R. (2010). Formulação, análises microbiológicas, composição centesimal e aceitabilidade de empanados de jundiá (*Rhamdia quelen*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 69 (2), 181-187.
- Efdi, M., Ninomiya, M., Suryani, E., Tanaka, K., Ibrahim, S., Watanabe, K., & Koketsu, M. (2012). Sentulic acid: a cytotoxic ring A-seco triterpenoid from *Sandoricum koetjape* Merr. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22, 4242-4245.
- Fatibello, O. F., Vieira, I. C. (2002) Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. *Quím. Nova*. 25 (3), 455-464.
- Havir, E. A., & Mchalen, N. A. (1987). Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiol*, 84 (2), 450-455.
- Isidoro, A., & Battestin, V. (2014). Determinação qualitativa de enzimas deteriorativas Catalase e Peroxidase em alcachofras provenientes da cidade de São Roque-SP. *Scientia Vitae*, 2 (6), 55-60.
- Ismail, I. S., Iro, H., Hatano, T., Taniguchi, S., & Yoshida, T. (2004). Two new analogues of trijugin-type limonoids from the leaves of *Sandoricum koetjape*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 52 (9), 1145-1147.
- Luíz, R. C., Hirata, T. A. M., & Clemente, E. (2007). Cinética de inativação da polifenoloxidase e peroxidase de abacate (*Persea americana* MILL.). *Ciência e Agrotecnologia*, 31 (6), 1766-1773.
- Miranda, A. L. S., Marques, D. R. P., Passos, L. P., & Oliveira, I. R. N. (2017). Efeito do tipo de embalagem e do tempo de armazenamento nas qualidades físico-químicas de cenoura minimamente processada. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 3 (6), 807-812.
- Morton, J. (1987). Indian jujube. In: Morton J F, editor. *Fruits of warm climates*, 272-275.
- Oktay, M., Kufrevioglu, I., Kocaliskan, I., & Sakiroglo, H. (1995). Polyphenoloxidase from Amasya Apple. *Jornal of Food Science*, 60 (3), 494-505.
- Rasadah, M. A., Khozirah, S., & Nik, M. M. (2004). Anti-inflammatory agents from *Sandoricum koetjape* Merr. *Phytomedicine*, 11, 261-263.
- Silva, J., Silva, E. S., & Silva, P. S. L. (2002). Determinação da qualidade e do teor de sólidos solúveis nas diferentes partes do fruto da pinheira (*Annona squamosa* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24 (2), 562-564.
- Silva, W., Bianco, A. C., Oliari, L. S., Giles, J. A. D., Schimldt, O., & Schimldt, E. R. (2016). Dimensionamento amostral para caracterização física e química em frutos de ciriguela. *Revista Agroambiental*, 10 (2), 178-182.