

DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE ENZIMAS DETERIORATIVAS CATALASE E PEROXIDASE EM ALCACHOFRAS PROVENIENTES DA CIDADE DE SÃO ROQUE – SP

QUALITATIVE DETERMINATION OF SPOILAGE ENZYMES CATALASE AND PEROXIDASE IN ARTICHOKE FROM SAO ROQUE, SAO PAULO STATE, BRAZIL

Antony Isidoro ⁽¹⁾

Vania Battestin ⁽²⁾

Resumo. A alcachofra (*Cynara scolymus* L.) é uma flor exótica e comestível, originária da Etiópia e do Egito, apreciada na Europa Mediterrânea e que conquistada cada vez mais o paladar dos brasileiros. Das pétalas, consome-se a parte mais carnuda, e os talos também podem ser aproveitados. A alcachofra apresenta grande quantidade de enzimas que causam alterações de sabor e cor dessa flor quando processada. As principais enzimas responsáveis por alterações organolépticas em alimentos são a polifenoloxidase, catalase e peroxidase. As peroxidases são enzimas oxidativas que causam mudanças deteriorativas na cor, aroma, gosto e textura de frutas e vegetais. A catalase e a peroxidase são enzimas altamente termorresistentes, e por isso o alimento deve passar por um processamento térmico adequado para que possamos inativá-las. O objetivo desse trabalho foi determinar qualitativamente a presença de enzimas deteriorativas (catalase e peroxidase) na alcachofra provenientes da cidade de São Roque e realizar o processamento térmico como teste de inativação enzimática. Os testes de reação enzimática foram realizados utilizando guaiacol e peróxido de hidrogênio como indicadores da presença dessas enzimas. O teste de inibição da peroxidase e catalase da alcachofra foi realizado em banho-maria a temperatura de 100°C. Observou-se que as enzimas catalase e peroxidase estão presentes em maior concentração no coração da alcachofra, seguido pelo talo e por último pelas pétalas intermediárias. Pode-se concluir também que quatro minutos de processamento térmico em água a temperatura de ebulição é suficiente para inativar a atividade de ambas as enzimas.

Palavras-chave: Alcachofra; peroxidase; catalase.

Abstract. The artichoke (*Cynara scolymus* L.) is an exotic and edible flower, originating in Ethiopia and Egypt, appreciated in Europe Mediterranean and conquering more and more palate of Brazilians. The petals, is consumed the most fleshy part, and the stems can also be used. The artichoke presents large amount of enzymes that cause changes of flavor and color of this flower when rendered. The major enzymes responsible for organoleptic changes in foods are the polifenoloxidase, catalase and peroxidase. The peroxidases are oxidative enzymes that cause spoilages changes in color, aroma, taste and texture of fruits and vegetables. The catalase and peroxidase enzymes are highly heat resistant, and food should go through a proper heat processing so that we can them inactive. The objective of this work was to determine qualitatively the presence of spoilage enzymes (catalase and peroxidase) in artichoke from São Roque city and perform thermal processing and enzymatic inactivation test. The enzymatic reaction tests were conducted using guaiacol and hydrogen peroxide as indicators of the presence of these enzymes. The inhibition test of peroxidase and catalase of artichoke was carried out in a water bath at a temperature of 100°C. It was observed that the enzymes catalase and peroxidase are present in high concentration in the heart of the artichoke, followed by the stem and finally by intermediate petals. It can be concluded that four minutes of thermal processing in water at boiling temperature is sufficient to inactivate the activity of both enzyme.

Keywords: Artichoke; peroxidase; catalase.

⁽¹⁾ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus São Roque.

⁽²⁾ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus São José dos Campos.

(Recebido em: 05 set. 2014; aceito em: 30 set. 2014; publicado em: 31 out. 2014).

1 Introdução

A história da alcachofra (*Cynara scolymus* L.) como alimento remonta ao Império Romano, quando passou a frequentar as mesas e suas propriedades nutritivas e medicinais foram descobertas. É cultivada no mundo todo, destacando-se a Europa, podendo citar como grandes produtores a Itália, Espanha e França. No Brasil, um dos estados que mais produzem essa planta é São Paulo, destacando-se os municípios de Piedade, Ibiúna, São Roque e Capão Bonito. Apesar de que a colheita se dá melhor

em climas mais frios, a planta se adapta bem a ambientes quentes e solos argilo-silicosos (DI GIULIO, 2004).

Em 100g de alcachofra se encontram vitaminas do complexo B, vitaminas A e C, potássio, cálcio, fósforo, iodo, magnésio, sódio, zinco, manganês e ferro, entre outros nutrientes. Ela auxilia a digestão, estimula o fluxo biliar e melhora as funções do fígado, graças à ciarina, uma substância encontrada na planta. Apresenta funções diurética, estomáquica, laxativa, hipoglicemiante e depurativa. É indicada, portanto, a pessoas com diabetes e hepatite (DI GIULIO, 2004). A parte mais saborosa da flor é o coração ou fundo, bastante usado na produção de conservas e para a preparação de vários pratos. Das pétalas, consome-se a parte mais carnuda, e os talos também podem ser aproveitados. São quatro as variedades mais encontradas no mercado: violeta de proença, roxa de são roque, verde lion e verde grande da Bretanha. A mais consumida no Brasil é a roxa de são roque (DI GIULIO, 2004).

As folhas da alcachofra são utilizadas na medicina fitoterápica e são reconhecidas por seus benefícios desde tempos remotos, incluindo a circulação sanguínea, inibição da biossíntese do colesterol e oxidação do LDL colesterol, além de apresentar atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante. Possui ainda possui forte efeito hepatoprotetor (FRATIANNI *et al.*, 2007). O extrato das folhas de alcachofra é utilizado na medicina popular contra doenças do fígado; para o tratamento de hepatite e hiperlipidemia na medicina tradicional Europeia; para exercer um efeito hepatoprotetor; para o preparo de chás ou produtos medicinais (que agem, por exemplo, contra psoríase, doenças das vias biliares e hepáticas, colesterol, diabetes, icterícia, anemia, hipertensão e debilidade cardíaca, entre outros); no tratamento de disfunções hepatobiliares e problemas digestivos, como a perda de apetite, náusea e dores abdominais; em vários sistemas farmacológicos: antibacteriano, antioxidante, anti-HIV, hepatoprotetor, urinário e atividade colesterolêmica e tem a habilidade de inibir a biossíntese do colesterol e a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL); inibir o estresse oxidativo gerado por espécies reativas do oxigênio nos leucócitos humanos (DOGAN *et al.*, 2005). Todas essas propriedades fazem da alcachofra um alimento importante para a indústria.

A alcachofra mesmo quando armazenada sob refrigeração pode desenvolver cor e odor indesejáveis, além de perdas nutricionais devido ao escurecimento enzimático, que se dá pela seguinte reação (Fig. 1):

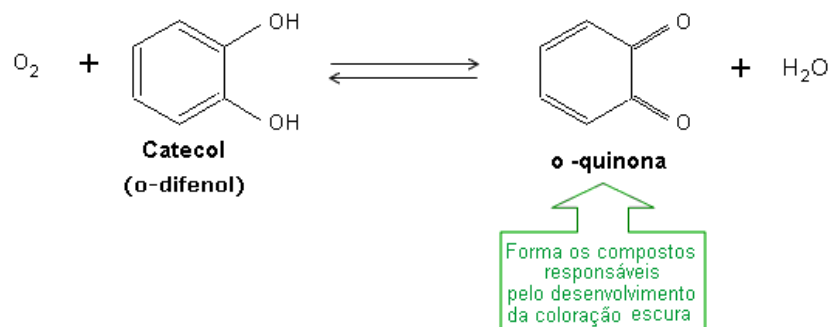


Figura 1: Reação que provoca o escurecimento enzimático.

Essa reação é catalisada por uma enzima presente naturalmente na planta, ou seja, uma enzima endógena: a polifenoloxidase (PPO), cujo centro ativo contém o cobre (ARAÚJO, 2004). Somado a isso, várias outras enzimas podem estar associadas ao aparecimento de cor escura e alterações de sabor e odor desagradáveis, como por exemplo, as enzimas peroxidase e catalase.

A peroxidase é muito resistente à inativação, está presente em todos tecidos vegetais e pode ser determinada por métodos colorimétricos simples e sensíveis. É usada como indicador da inativação das enzimas deteriorativas, ou seja, se a peroxidase foi inativada outras enzimas deteriorativas também foram. Portanto, branqueamento ou outros tratamentos térmicos são considerados adequados quando a peroxidase é inativada (MACEDO *et al.*, 2005).

A peroxidase catalisa uma reação em que uma molécula age como acceptor de hidrogênio (por exemplo, de peróxido de hidrogênio), e outra como doador de hidrogênio (por exemplo, de guaiacol), formando compostos que alteram as características organolépticas do produto ou matéria-prima, conforme a seguinte fórmula (MAIA & MONTEIRO, 2011) (Fig. 2):

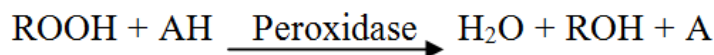


Figura 2: Fórmula geral representando a ação da peroxidase.

Sendo: ROOH, acceptor de hidrogênio; AH, doador de hidrogênio; ROH e A, produtos que alteram as características do vegetal. O peróxido pode ser peróxido de hidrogênio ou peróxido orgânico como metil ou etil hidrogênio peróxido. Na reação o peróxido é reduzido enquanto que o doador de elétrons pode ser ácido ascórbico, fenol amina ou outro composto orgânico. Em muitos casos o produto de oxidação é colorido e serve como base para determinação colorimétrica da atividade de peroxidase. O reagente comumente utilizado para a determinação de peroxidase é o guaiacol e peróxido de hidrogênio (MACEDO *et al.*, 2005; GENARO *et al.*, 2014)).

As catalases ou hidrogênio-peróxido-óxido redutases catalisam a reação em que uma molécula de peróxido de hidrogênio (conhecida popularmente como água oxigenada) atua como doador e outra molécula, da mesma substância, como acceptor de átomos de hidrogênio, com a formação de água e oxigênio (MACEDO *et al.*, 2005), da seguinte maneira (Fig. 3):

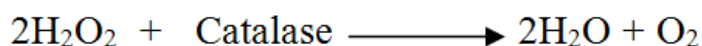


Figura 3: Decomposição do peróxido de hidrogênio com a ação da catalase.

São poucos os estudos que tratam da identificação de enzimas deteriorativas presentes na alcachofra. Através deste projeto de pesquisa, este estudo passa a ser precursor de uma nova e importante linha de pesquisa dentro IFSP campus São Roque. Este estudo pioneiro vem a agregar valor à alcachofra do ponto de vista técnico, além disso, contribuir para o desenvolvimento tecnológico da região já que trata de uma iguaria consumida e cultivada na cidade de São Roque e região.

Este trabalho visa a determinar qualitativamente a presença de enzimas deteriorativas (catalase e peroxidase) na alcachofra provenientes da cidade de São Roque – SP e realizar o processamento térmico como teste de inativação das enzimas.

2 Materiais e métodos

2.1 Amostras de alcachofra

Foram utilizados botões de alcachofra roxa de São Roque *in natura* adquiridas diretamente dos supermercados locais de São Roque (São Paulo, Brasil) entre os meses de agosto e outubro de 2013. Os experimentos foram realizados no laboratório de Bioquímica de Alimentos do IFSP campus São Roque.

2.2 Limpeza das amostras

Os botões de alcachofra *in natura* foram lavados em água corrente. Em seguida, as pétalas externas não comestíveis foram removidas manualmente, os talos e as pontas dos botões foram cortados a cerca de 1cm da extremidade.

2.3 Determinação qualitativa da catalase na alcachofra

Retiraram-se seis pequenas amostras diferentes de uma alcachofra (dois pedaços de pétalas, dois do caule e dois do coração), fazendo dois cortes paralelos em cada amostra. Colocou-se a parte

central em tubos de ensaio contendo 5mL de H_2O_2 0,1M. Se ocorresse desprendimento de oxigênio das amostras de alcachofra o resultado de teste é positivo.

2.4 Determinação qualitativa da peroxidase na alcachofra

Retiraram-se novamente seis amostras de alcachofra (duas pétalas, dois pedaços do caule e dois pedaços do coração), fazendo dois cortes paralelos. Utilizou-se a parte interna das amostras para o teste. Colocou-se cada amostra sobre uma placa de Petri e adicionou-se 3 gotas de solução 0,2% de guaiacol em etano 50%. Colocou-se 3 gotas de H_2O_2 0,1M. Verificou-se a presença de coloração marrom (tetraguaiacol), indicativo de teste positivo.

2.5 Teste de inibição das enzimas

Colocou-se dez pétalas intermediárias em um béquer com água a temperatura de ebulição (100°C). A cada período de dois minutos retiravam-se duas pétalas da água. Das duas pétalas retiradas a dois minutos de processamento térmico uma foi cortada para que fosse utilizada uma amostra em tamanho reduzido, a qual foi colocada em um tubo de ensaio contendo H_2O_2 0,1M; a outra foi mantida inteira em uma placa de Petri, nela pingaram-se três gotas de solução 0,2% de guaiacol em etano 50%, e depois 3 gotas de H_2O_2 0,1M. O mesmo foi feito para as pétalas retiradas a quatro, seis, oito e dez minutos da água fervente. Verificou-se a liberação de oxigênio ou a formação de coloração marrom (tetraguaiacol) nas amostras, o que indicaria que as enzimas catalase e peroxidase, respectivamente, ainda estariam em atividade.

3 Resultados

A reação catalisada pela enzima catalase tem como efeito a liberação de bolhas de ar. Isto ocorre porque a reação consiste na transformação de água oxigenada (H_2O_2) em água e gás oxigênio ($H_2O + O_2$). Para a alcachofra que não passou por tratamentos térmicos, as diferentes amostras apresentaram concentrações diferentes de catalase, pois formaram quantidades diferentes de bolhas nas diferentes partes do vegetal. As partes da alcachofra que liberaram mais bolhas foram as do coração da alcachofra, e as amostras que liberaram menos bolhas foram as das pétalas. Dessa forma, conclui-se que no coração da alcachofra há uma grande quantidade da enzima catalase.

Já na reação catalisada pela peroxidase, o guaiacol reage formando um composto escuro no alimento, o tetraguaiacol (Tab. 1).

Tabela 1: Atividade das enzimas catalase e peroxidase nas diferentes partes comestíveis da alcachofra.

Enzimas	Pétala	Talo	Coração
Catalase	+	++	+++
Peroxidase	+	++	+++

Legenda: - Sem atividade enzimática; + Baixa atividade enzimática; ++ Atividade enzimática moderada; +++ Alta atividade enzimática.

No caso da alcachofra que passou pelo tratamento térmico (teste de inibição das enzimas), a única amostra de pétala que, ao entrar em contato com a água oxigenada, liberou bolhas de gás oxigênio foi aquela que permaneceu na água fervente durante dois minutos. O mesmo ocorreu no teste de inibição da peroxidase, ou seja, a pétala que permaneceu no tratamento térmico durante dois minutos foi a única em que o composto de coloração escura se manifestou. A partir de 4 minutos a temperatura de 100°C a enzimas catalase e peroxidase foram inativadas (Tab. 2).

Tabela 2: Teste de inibição das enzimas catalase e peroxidase na alcachofra em tratamento térmico (100°C) durante diferentes períodos de tempo.

Enzimas	Tempo de processamento térmico de amostras da alcachofra em água fervente, e atividade das enzimas após o processamento				
	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min
Catalase	+	-	-	-	-
Peroxidase	+	-	-	-	-

Legenda: - Sem atividade enzimática; + Baixa atividade enzimática; ++ Atividade enzimática moderada; +++ Alta atividade enzimática.

4 Considerações finais

As enzimas catalase e peroxidase estão presentes em maior concentração no coração da alcachofra, seguido pelo talo e por último pelas pétalas intermediárias. Podemos constatar isto ao analisar a quantidade de bolhas de oxigênio liberadas por cada uma das amostras (no caso da catalase), e pela intensidade do composto escuro formado (no caso da peroxidase).

Essas enzimas são muito importantes de serem identificadas, pois alteram de forma negativa a qualidade dos alimentos in natura. Uma vez que essas enzimas são identificadas em alimentos, existem formas de inibir sua atividade, de modo a impedir determinadas alterações organolépticas indesejáveis.

O resultado mostrou que as amostras do coração da alcachofra apresentaram maior concentração da enzima, pois escureceram mais, enquanto as pétalas apresentaram uma concentração menor, isso pode ser observado na Tab. 1.

Pode-se concluir também que quatro minutos de processamento térmico em água a temperatura de ebulição (aproximadamente 100°C) é suficiente para inativar a atividade de ambas as enzimas, pois as amostras que ficaram dois minutos em água fervente ainda apresentavam enzimas com atividade, apesar de ser baixa; porém, as amostras que ficaram em água fervente durante quatro minutos ou mais não apresentaram atividade enzimática de catalase e peroxidase. Outro fato importante de se ressaltar é que o processamento térmico das amostras da alcachofra não causou alterações consideráveis na sua textura. Com isso pode-se afirmar que, industrialmente, poderia ser realizado o processamento térmico em água fervente durante quatro minutos para inativação das enzimas, pois seria um método eficaz e que não traria efeitos negativos. Em estudos futuros será muito importante avaliar a atividade dessas enzimas de forma quantitativa na alcachofra.

5 Agradecimentos

Os autores agradecem o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo e ao CNPq pelo auxílio financeiro (bolsa de Iniciação Científica).

Referências

- ARAÚJO, J. M. A. *Química de alimentos: teoria e prática*. 3.ed. Viçosa: UFV, 2004.
- DI GIULIO, G. Falta pesquisa para aumentar produção de alcachofra no Brasil. *Ciência e Cultura*. v. 56, n. 2, p. 13-14, 2004.
- DOGAN, S.; TURAN, Y.; ERTÜRK, H.; ARSLAN, O. Characterization and purification of polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Journal Agricultural and Food Chemistry*, n. 53, p. 776-785, 2005.
- FRATIANNI, F.; TUCCI, M.; DE PALMA, M.; PEPE, R.; NAZZARO, F. Polyphenolic composition in different parts of some cultivar of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.). *Food Chemistry*, n. 104, p. 1282-1286, 2007.

GENARO, P.; BRAG, A.; FERDINANDO, B.; GUIDO, S. Purification of recombinant catalase-peroxidase HPI from *E. coli* and its application in enzymatic polymerization reactions. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 98, p. 1119 -1126, 2014.

MACEDO, G. A.; PASTORE, G. M.; SATO, H. H.; PARK, Y. G. K. *Bioquímica experimental de alimentos*. s.l.: Editora Varela, 2005.

MAIA, T. P.; MONTEIRO, J. I. L. Catalase e peroxidase: dois nomes para a mesma enzima ou duas enzimas diferentes? *Anais e Resumos*. Seminário de Iniciação Científica da UFPA, Belém, v. 22, n.1, 2011.

Como citar este relato de experiência

ISIDORO, A.; BATTESTIN, V. Determinação qualitativa de enzimas deteriorativas Catalase e Peroxidase em alcachofras provenientes da cidade de São Roque – SP. *Scientia Vitae*, v.2, n.6, ano 2, out. 2014, p. 55-60. Disponível em: <www.revistaifpsr.com/>; acesso em: __/__/__.