

Prospecção de polifenoloxidase em frutos de espécies nativas do Cerrado.

Denes Ferraz de Souza¹(PG) *, Flávio Marques Lopes² (PQ). denes.bio@hotmail.com

1 PPGSS em Recursos Naturais do Cerrado-UEG; 2 Faculdade de farmácia da Universidade Federal de Goiás

Resumo: As enzimas são catalisadores biológicos que podem ser utilizados par diversas finalidades devido ao fato de apresentar diversas especificidades, inclusive para o tratamento de poluentes. Estas podem ser produzidas por diversos tipos de plantas e também por microrganismos como fungos e bactérias. Como o Cerrado brasileiro possui mais de doze mil espécies de plantas vasculares, apresenta um elevado potencial biotecnológico na produção de enzimas que podem ser obtidas por meio do extrato enzimático bruto de diversas partes das plantas, inclusive nos frutos. Uma enzima bastante encontrada em frutos é a polifenoloxidase que é a principal utilizada na oxidação de compostos fenólicos e também na produção de biosensores para detecção e determinação de compostos fenólicos totais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar a prospecção enzimática de frutos de cinco espécies nativas do Cerrado, afim de se identificar qual deles apresenta um teor de polifenoloxidase mais elevado. Dos frutos que foram analisados, o que apresentou maior teor de polifenoloxidase foi o fruto do Imbé (*Philodendron Bipinnatifidum*) com 1.9 unidades enzimáticas.

Palavras-chave: enzimas, plantas, biotecnológico, extrato bruto, fenois.

Introdução

As enzimas podem ser utilizadas como catalisadores biológicos com grande potencial na remoção de poluentes, uma vez que possuem grande especificidade e podem operar mesmo em efluentes com elevada concentração de poluentes, não sendo necessário a aclimação da biomassa. O Cerrado Brasileiro abriga cerca de 12.356 espécies de plantas vasculares que podem ser utilizadas como fonte enzimática, entretanto são pouco exploradas. A utilização de extratos brutos enzimáticos de fonte vegetal é uma tendência em pesquisas, sendo vantajoso pela economia, fácil acesso e maior tempo de vida (Durán & Esposito, 2000; Mendonça et al., 2008; Vieira et al., 2004).

As enzimas apresentam particularidades em relação a suas características e especificidades, sendo capazes de catalisar compostos até mesmo em meio orgânico. Essas características conferem as um alto potencial de aplicação em diferentes setores (Polesel et al., 2010).

A polifenoloxidase é um exemplo de enzima que é comumente encontrada em frutos e nas demais partes de determinadas plantas, sendo a principal responsável pela degradação de antocianinas e polifenóis, catalisando polifenóis em quininas, que posteriormente se polimerizam em pigmentos marrons (Tefere et al., 2010).

Elas também podem ser utilizadas na fabricação de biossensores e na identificação e determinação de compostos fenólicos totais, e também para analisar pesticidas, quinonas e também na análise de efluentes. Existem também vários outros usos como analisar quinonas, pesticidas e análise de águas residuais (Rodríguez & Rivas, 2002; Signori & Fatibello-Filho, 1994; Xu et al., 2007; Carvalho & Silva, 2014).

Assim o objetivo deste trabalho foi realizar a prospecção enzimática em frutos de espécies nativas do cerrado, com o propósito de identificar qual apresenta maior teor de polifenoloxidase podendo, portanto, ter aplicação biotecnológica.

Material e Métodos

Materiais e Reagentes

O Catecol utilizado foi adquirido juntamente a Vetec (Sigma-Aldrich Corporation), o Fosfato de Sódio dibásico foi adquirido da Dinâmica Química Contemporânea, Fosfato de Sódio Monobásico (Monohidratado) da marca Labsynth Produtos para Laboratórios, Polivinilpirrolidona também adquirido da Vetec (Sigma-Aldrich), papel de filtro adquirido da Unifil Produtos.

Coleta dos frutos

Os frutos foram coletados em áreas de cerrado stricto sensu, a partir de matrizes adultas nas cidades de Rianópolis-GO, Itapuranga-GO, Nova Veneza-GO e Rialma-GO, obedecendo os critérios mínimos para a escolha de matrizes, que leva em consideração a circunferência do tronco, altura, ausência de cicatrizes e patógenos aparentes (Santos & Marino Júnior 2012).

Processamentos dos frutos e obtenção dos extratos brutos

Os frutos foram lavados e imersos em uma solução de hipoclorito de sódio (2%) durante 20 minutos, enxaguados e posteriormente processados utilizando um liquidificador doméstico adquirido exclusivamente para tal finalidade. Para a obtenção do extrato bruto, foram utilizados 20 gramas dos frutos e juntamente foi

adicionado 100 ml de tampão fosfato (pH6) e 1 grama de Polivinilpirrolidona e após 2 minutos de processamento, o extrato foi filtrado em filtro de TNT.

Prospecção enzimática de frutos

A atividade enzimática foi realizada nos frutos *Solanum paniculatum* L., *Solanum lycocarpum* A. St. -Hil, *Genipa americana* L., *Eugenia uniflora* L., *Philodendron bipinnatifidum* Schott.

Para detectar a polifenol oxidase (PPO) foi realizado o método descrito por Tefere et al, 2010, onde será adicionado 100 µl do extrato bruto em 3 ml de solução de Catecol 0,07M em tampão fosfato de sódio 0,05M (pH 6,0) em temperatura ambiente ($22 \pm 1^\circ \text{C}$). Após 10 minutos de reação a leitura da absorbância foi medida por um espectrofotômetro em 420 nm. A atividade da enzima foi expressa como a alteração da absorvância / min / g de peso fresco da amostra.

Resultados e Discussão

Resultados e discussões

A prospecção enzimática dos frutos escolhidos apresentou valores significativos de unidades enzimáticas, sendo que os frutos *Solanum paniculatum* L., *Solanum lycocarpum* A. St. -Hil, *Genipa americana* L., *Eugenia uniflora* L. apresentaram números de unidades enzimáticas estatisticamente iguais entre si ($p > 0,05$). O extrato bruto de *Philodendron bipinnatifidum* se destacou por apresentar valores estatisticamente mais elevados de polifenoloxidase ($p < 0,05$), conforme expressado no gráfico da Figura 4.

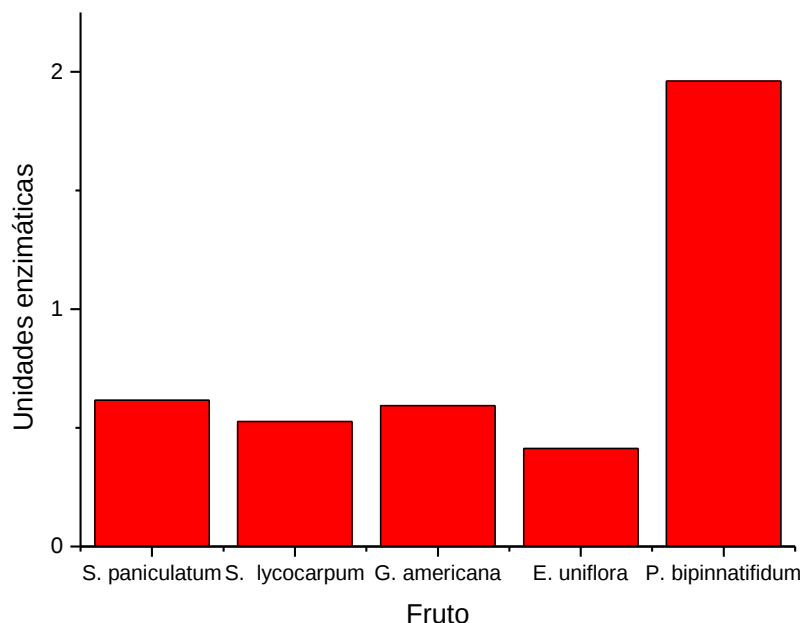


Figura 3: gráfico de barras com os resultados da prospecção enzimática dos frutos *Solanum paniculatum* L., *Solanum lycocarpum* A. St. -Hil, *Genipa americana* L., *Eugenia uniflora* L., *Philodendron bipinnatifidum* Schott.

Considerações Finais

Os frutos avaliados apresentam diferentes teores de Polifenoloxidase. A prospecção faz com que selecione os frutos com maior quantidade de enzima, tornando a utilização dos frutos selecionados, eficaz nas aplicações biotecnológicas como, por exemplo, no tratamento de efluentes fenólicos.

Agradecimentos

Ao professor Dr. Flávio Marques Lopes pela orientação no desenvolvimento da pesquisa e à central de bolsas da UEG pelo fomento e também ao CNPq pelo financiamento do projeto.

Referências

Carvalho I. S., Silva R. In vitro Antioxidant Activity, Phenolic Compounds and Protective Effect against DNA Damage Provided by Leaves, Stems and Flowers of *Portulaca oleracea* (Purslane). Natural Product Communications. 2014.

Durán, N., Esposito. E.. Potential application of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. Appl. Catal. B: Environmental. 2000.

Mendonça, R. C.; Felfli, J. M.; Walter, B. M. T.; Silva Júnior, M. C.; Rezende, A. V.; Filgueiras, T. S. & Nogueira, P. E. Flora Vascular do Cerrado. 2008.

Polesel D. N., Sinhorini A. L. C., Perone C. A. S.. Caracterização cinética da enzima catecolase (Polifenol oxidase) em extratos brutos da polpa e da casca de berinjela (*Solanum melongena* L.). Jnl. Health Sci. Inst. 2010.

Rodríguez M. C., Rivas G. A. Glassy carbon paste electrodes modified with polyphenol oxidase analytical applications. *Analytica Chimica Acta*. 2002.

Santos, R. M. P. P.; Marino Júnior, E. Demarcação de árvores matrizes em fragmentos de matas na região de bebedouro, SP. *Rev. Cient. Elet. de Eng. Flor*. 2012.

Signori C. A., Fatibello-Filho O. Biossensor amperométrico para a determinação de fenóis usando um extrato bruto de inhame (*Alocasia macrorrhiza*). *Química Nova*.; 1994.

Vieira. I. C.; Fatibello-Filho, O.; Granato, A. C. E. Lupetti, K. O.. Titulação amperométrica de compostos fenólicos usando polifenol oxidase de vegetais como tutilante. *Eclética Química*. 2004.

Xu F., Jiang M., Xu Yi, Hua Z., Ma T.. Calorimetric biosensor for rapidly detecting pesticides and preparation method there of. *Faming Zhuanli Shenqing*, CN 1987439 A 2007.