

# Compostos Fenólicos e Enzimas Oxidativas de Graviola (*Annona muricata* L.) Durante a Maturação

Ricardo Elesbão Alves<sup>[1]</sup>, Maria Auxiliadora Coêlho de Lima<sup>[2]</sup>, Heloísa Almeida Cunha Filgueiras<sup>1</sup> e Francisco José Alves Fernandes Távora<sup>[3]</sup>

## Introdução

A graviola (*Annona muricata* L.) é um fruto altamente perecível com período de conservação limitado a poucos dias (Aziz & Yusof, 1994). Aliado à intensa atividade metabólica, alguns fatores têm contribuído para o elevado nível de perdas pós-colheita neste fruto. Um deles é o escurecimento enzimático, presente tanto em frutos destinados à indústria, principalmente para fabricação de polpa, quanto para o consumo *in natura*.

O escurecimento enzimático está relacionado à ação das polifenoloxidasas (PPO) e peroxidases (PDO), que utilizam compostos fenólicos como substratos (Robards et al. 1999), e exibe intensidade variável durante o crescimento, desenvolvimento e maturação dos frutos (Mayer & Harel, 1981; Silva, 2000).

Os compostos fenólicos envolvidos no processo compreendem vários tipos de substâncias e determinam, até certo limite, a adstringência dos frutos. Eles estão presentes em diferentes graus de polimerização: dímeros, oligoméricos e poliméricos. Destes, os fenólicos oligoméricos formam complexos insolúveis com proteínas e mucopolissacarídeos da saliva, resultando no sabor adstringente (Goldstein & Swain, 1963).

Das enzimas que oxidam aqueles compostos, as PPOs se associam a dois tipos de reações seqüenciais. Na primeira, as enzimas, denominadas monofenol mono-oxigenases (E.C. 1.14.18.1), hidroxilam um monofenol para formar um o-difenol (atividade cresolase) incolor. A reação seguinte, referida como atividade catecolase (E.C. 1.10.3.2), é a oxidação do o-difenol em compostos de cor ligeiramente amarela, as o-quinonas. As quinonas, por sua vez, sofrem reações secundárias, enzimáticas ou não, formando os pigmentos marrons característicos do fenômeno (Murata et al. 1995; Silva, 2000).

As PODs (E.C. 1.11.1.7), por sua vez, têm seu papel no escurecimento enzimático limitado pela disponibilidade de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Geralmente, ela incrementa a degradação de fenóis, quando a PPO está presente, gerando o  $H_2O_2$  para sua ação. Além disso, as quinonas formadas podem ser substratos para a POD (Robards et al. 1999).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar as variações nos teores de compostos fenólicos e na atividade de enzimas oxidativas durante a maturação da graviola.

## Material e Métodos

As graviolas do tipo 'Crioula', colhidas na maturidade fisiológica foram provenientes de plantas da Estação Experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, localizada em Pacajus-CE, que estavam com 4 anos de idade e foram cultivadas em espaçamento 5,0 x 4,0 m. Os frutos foram divididos em cinco épocas de avaliação, aos 1, 2, 3, 4 e 5 dias após a colheita, e armazenados em câmara fria ( $26,3 \pm 0,6^\circ C$  e  $87,8 \pm 12,6\%$  de UR).

As análises realizadas e metodologias utilizadas foram as seguintes:

- Teor de compostos fenólicos (% da matéria fresca): doseados, após fracionamento, conforme metodologia descrita por Reicher et al. (1981);
- Atividade de PPO ( $UAE \cdot g^{-1}$  da matéria fresca  $\cdot min^{-1}$ ): a extração foi feita segundo método

proposto por Wissemann & Lee (1980) e a atividade determinada usando-se catecol como substrato. A UAE foi definida como a quantidade de atividade da enzima que produziu uma mudança de 0,001 unidade de absorbância;

- Atividade de POD ( $\text{UAE}\cdot\text{g}^{-1}$  da matéria fresca $\cdot\text{min}^{-1}$ ): a extração foi realizada segundo método descrito por Wissemann & Lee (1980) e a atividade, medida conforme recomendação de Matsuno & Uritani (1972).

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 4 repetições, sendo cada parcela constituída por um fruto.

## Resultados e Discussão

Os teores dos compostos fenólicos dímeros, oligoméricos e poliméricos não tiveram variação estatisticamente significativa. Os valores dos fenólicos dímeros se mantiveram praticamente constantes até que os frutos estivessem maduros (Fig. 1), aos cinco dias. Para os compostos fenólicos oligoméricos e poliméricos, os níveis estiveram constantes do segundo até o quarto dia após a colheita (Fig. 1). Nos períodos anterior e posterior, observou-se leve tendência de aumento.

As comparações destes resultados com outros ficam limitadas pela divergência entre os métodos de extração, que quantificam tipos variados de fenólicos. Castro et al. (1984), estudando o conteúdo de taninos na graviola, observaram variações pequenas. Comparando frutos verdes e maduros, os autores quantificaram teores de taninos de 0,25 e 0,22%, respectivamente. Porém, Aziz & Yusof (1994) observaram decréscimo no teor de taninos da graviola durante o amadurecimento, até atingir cerca de 0,08%. Oliveira et al. (1994), no entanto, encontraram conteúdo de fenólicos totais iguais a 0,87%.

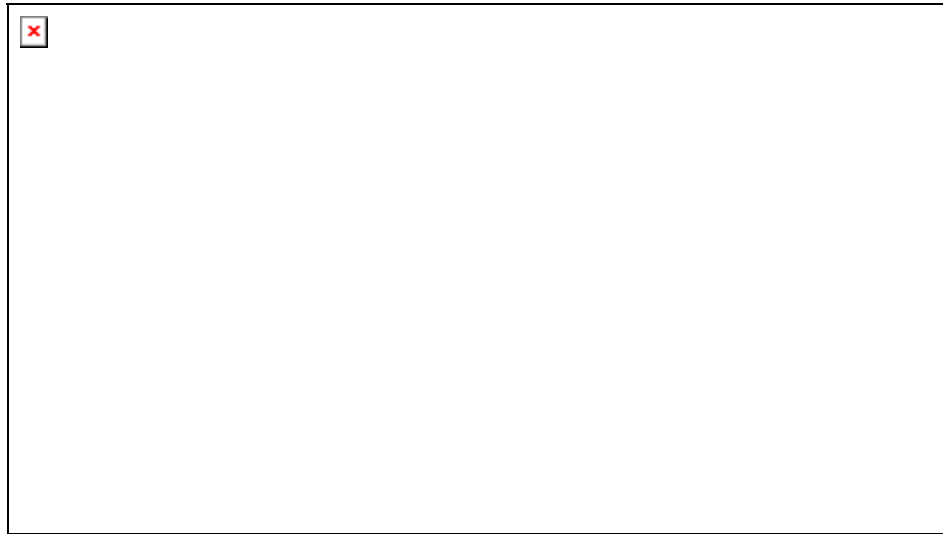
Outros frutos têm mostrado reduções nos níveis de compostos fenólicos durante a maturação (Murata et al. 1995). Este decréscimo, associado ao acúmulo de açúcares que ocorre com o amadurecimento resulta na perda de adstringência (Aziz & Yusof, 1994).



**Fig. 1.** Teor de compostos fenólicos dímeros, oligoméricos e poliméricos de graviola 'Crioula' durante a maturação a temperatura ambiente

(26,3±0,6°C e 87,6±12,2% UR).

Quanto à atividade enzimática, a da PPO aumentou desde o primeiro até o quarto dia, quando se observou leve decréscimo (Fig. 2). O maior incremento ocorreu do primeiro para o segundo dia, quando a atividade aumentou de 243 para 400 UAE.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>.



**Fig. 2.** Atividade das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) de graviola 'Crioula' durante a maturação a temperatura ambiente (26,3±0,6°C e 87,6±12,2% UR).

Estudos realizados por Oliveira et al. (1994) demonstraram que a atividade da PPO decresceu com o amadurecimento da graviola. Contudo, os autores expressaram a atividade da enzima com base no teor de proteína (atividade específica), de forma que qualquer variação neste afetaria a atividade da PPO. Além disso, associadas às variações ao longo do tempo de vida dos frutos, diferenças genéticas numa mesma espécie respondem por níveis distintos de suscetibilidade ao escurecimento oxidativo (Robards et al. 1999; Silva, 2000).

Murata et al. (1995) também observaram decréscimo na atividade específica da PPO durante o amadurecimento de maçã 'Fuji'. Em outros frutos, tem-se registrado incrementos que, segundo Mowlah & Itoo (1982), podem estar associados à queda no teor de polifenóis e, conseqüentemente, à perda de adstringência.

Com relação à atividade da POD, verificou-se um aumento inicial de 1,9 vezes, seguido de uma queda acentuada até os quatro dias após a colheita (Fig. 2). A maior variação na atividade foi observada do terceiro para o quarto dia, quando se registrou os menores níveis de atividade (215 UAE.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>). No final do período, a atividade da enzima mais que duplicou, embora se mantivesse abaixo da inicial.

Comparando-se as atividades da POD e da PPO, constata-se que a primeira além dos níveis mais altos, apresentou variações mais pronunciadas. Ainda, as atividades mais baixas observadas a

partir do segundo dia após a colheita podem estar associadas à menor suscetibilidade ao escurecimento da polpa durante o amadurecimento da graviola, relatada por Oliveira et al. (1994).

Reduções acentuadas na atividade da POD também foram obtidas por Civello et al. (1995), em morango.

Deve-se ressaltar, contudo, que mesmo nos casos em que a atividade da POD é alta, sua ação isolada raramente é importante. A enzima depende da presença da PPO no meio, gerando o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> necessário para a oxidação (Robards et al. 1999).

### Conclusões

1. Não ocorreram variações nos teores das frações de compostos fenólicos estudadas durante a maturação da graviola;

2. A atividade da POD, comparada à da PPO, foi mais elevada, com variações mais pronunciadas e decréscimo a partir do pico, registrado no segundo dia após a colheita.

### Referências Bibliográficas

- AZIZ, P. A.; YUSOF, S. Physico-chemical characteristics of soursop fruit (*Annona muricata*) during growth and development. **ASEAN Food Journal**, New York, v.9, n.4, p.147-150, 1994.
- CASTRO, F.A. de; MAIA, G.A.; HOLANDA, F.F.; GUEDES, Z.B.L.; FÉ, J. de A.M. Características físicas e químicas da graviola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, n.3, p.361-365, 1984.
- CIVELLO, P. M., MARTÍNEZ, G. A., CHAVES, A. R.; AÑÓN, M. C. Peroxidase from strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.): partial purification and determination of some properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.43, n.10, p.2596-2601, 1995.
- GOLDSTEIN, J.L.; SWAIN, T. Changes in tannins in ripening fruits. **Phytochemistry**, Oxford, v.2, n.4, p.371-383, 1963.
- MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behaviour of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black root. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v.13, p. 1099-1101, 1972.
- MOWLAH, G.; ITOO, S. Quantitative changes in guava polyphenols and the polyphenoloxidase (PPO) at different stages of maturation, ripening and storage. **Journal of the Japanese Society of Food Science and Technology**, Tokyo, v.29, n.7, p.413-417, 1982.
- MURATA, M.; TSURUTANI, M.; TOMITA, M.; HOMMA, S.; KANEKO, K. Relationship between apple ripening and browning: changes in polyphenol content and polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.43, n.5, p.1115-1121, 1995.
- OLIVEIRA, S.L. de; GUERRA, N.B.; MACIEL, M.I.S.; LIVERA, A.V.S. Polyphenoloxidase activity, polyphenols concentration and browning intensity during soursop (*Annona muricata*, L.) maturation. **Journal of Food Science**, Chicago, v.59, n.4, p.1050-1052, 1994.
- REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M.R.; CORREAL, J.B.C. Determinação espectrofotométrica de taninos pelo reativo fosfotúngstico-fosfomolibdico. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.24, n.4, p.407-411, 1981.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P.D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, Oxford, v.66, n. 4, p.401-436, 1999.

SILVA, E.M. Mecanismos bioquímicos de fisiopatias importantes de frutas. In: CONGRESO IBEROAMERICANO DE TECNOLOGIA POSTCOSECHA Y AGROEXPORTACIONES, 2., 2000, Bogotá. **Memorias...**Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2000. p. 5-19.

WISSEMANN, K.W.; LEE, C.Y. Polyphenoloxidase activity during grape maturation and wine production. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.31, n.3, p.206-211, 1980.

---

[1] Bolsista PQ/CNPq, Pesquisador, Embrapa Agroindústria Tropical, CP 3761, 60.511-110, Fortaleza, CE. elesbao@cnpat.embrapa.br, heloisa@cnpat.embrapa.br

[2] Pesquisadora, Embrapa Semi-Árido, CP 23, 56.300-970, Petrolina, PE. maclima@cpatsa.embrapa.br

[3] Professor, Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Depto. de Fitotecnia, CP 6012, 60.541-970, Fortaleza, CE. tavora@ufc.br