

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA E BIOATIVIDADE NAS POLPAS DE BARU (*Dipteryx alata* Vog.)

¹ Daniela Macedo da Silveira Costa

² Pedro Henrique Ferreira Tomé

³ Alexsandra Pereira Rodrigues

⁴ Elaine Alves Santos

RESUMO

O Barú (*Dipteryx alata* Vog.) fruto originário do Cerrado brasileiro está relacionado entre as 110 espécies nativas do Cerrado com maior potencial econômico para a população da região. Seu fruto possui uma polpa composta por carboidrato de sabor adocicado do fruto e que se destaca devido ao seu potencial alimentício (a polpa e as sementes do fruto são ricas em minerais, proteínas, carboidratos e lipídeos de alta qualidade), madeireiro, medicinal (óleo das sementes), ornamental e forrageiro (frutos caídos e sombra para o gado). Devido a escassez em estudos sobre os compostos bioativos de natureza funcional, o objetivo da pesquisa foi quantificar os compostos bioativos e a atividade enzimática deste fruto. Foram realizadas as análises das atividades enzimáticas da peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PFO) sendo extraídas e quantificadas pelos métodos de Matsuno e Uritani (1972) e Teisson (1979), respectivamente. Os compostos fenólicos de acordo com o método de Folin – Denis, e extraído por MetOH 80, EtOH 50 e água, descrito pela AOAC (2005). Os teores de β -caroteno, licopeno, clorofila a, clorofila b e total, segundo Nagata e Yamashita (1992). As análises foram realizadas com 6 repetições com diferentes estádios de maturação (verde e

¹ Discente - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Campus Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil. danielaprojetas@gmail.com

² Docente, FATEC - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Campus Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil. pedrotome@iftm.edu.br

³ Discente, Unicamp – Mestranda Faculdade de Engenharia de Alimentos - Campinas, SP, Brasil. alexandra.rodrigues05@gmail.com

⁴ Tecnólogo em Alimentos - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Campus Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil. elaine.alves@iftm.edu.br

maduro). Com os testes de media segundo Bonferroni ($p < 0,05$). O fruto verde apresentou menores teores de compostos bioativos. Na polpa madura não constatou teores de beta caroteno, mas apresentou o teor de clorofila total superiores a polpa no estágio imaturo. Para a atividade enzimática a POD foi maior nos frutos verdes com $408,05 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ em relação ao maduro com $111,54 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \text{ g}^{-1}$. Para análise de extração, a água foi o melhor extrator de compostos fenólicos, com $3772,92 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ para maduro e $5971,67 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ para verde, respectivamente. Em conclusão, as polpas maduras de baru apresentaram elevados teores de compostos bioativos, entretanto, o melhor extrator para quantificação dos compostos fenólicos foi à água independente do estágio de maturação.

Palavras Chaves: Frutos do cerrado, antioxidante, química de alimentos.

ABSTRACT

The Baru (*Dipteryx alata* Vog.) originating fruit of Brazilian Savannah is listed among the 110 native species and with greater economic potential for the region's population. Its fruit has a pulp composed of sweet tasting carbohydrate and fruit that stands out because of its potential food (fruit pulp and seeds, rich in minerals, proteins, carbohydrates and high quality lipids), timber, medicinal (oil of seeds), ornamental and fodder (fallen fruit and shade for cattle). Because of the scarcity of studies on bioactive compounds functional nature, the objective of the research was to quantify the bioactive compounds and enzyme activity of this fruit. The analyzes of the enzymatic activity of peroxidase was performed (POD) and polyphenoloxidase (PPO) being extracted and quantified by methods Matsuno and Uritani (1972) and Teisson (1979), respectively. Phenolic compounds according to the Folin - Denis, and extracted MetOH 80, 50 EtOH and water, described by AOAC (2005). The content of β -carotene, lycopene, chlorophyll a, chlorophyll b total, according Yamashita and Nagata (1992). Analyses were performed with 6 repetitions with different maturity stages (green and ripe). With the second test medium Bonferroni ($p < 0.05$). The green fruit had lower levels of bioactive compounds. At the ripe pulp not found levels of beta carotene, but showed total chlorophyll content in excess of pulp at the immature stage. For the enzymatic activity of POD was higher in the unripe fruits with $408,05 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ in relation to

the mature 111.54 U.min⁻¹ g⁻¹. For extraction analysis water was the best extraction of phenolic compounds with 3772,92 mg.100mL⁻¹ to mature and 5971,67mg.100mL⁻¹ for green, respectively. In conclusion, mature pulp of baru showed high contents of bioactive compounds, however, the best extraction to quantify the phenolic compounds was to separate water from the maturation stage

Keywords Brazilian Savannah, *antioxidant*, *food chemistry*.

1 INTRODUÇÃO

O baru (*Dipteryx alata* Vog.), também conhecido como cumbaru, está entre as 10 espécies frutíferas nativas do Cerrado que se mostram promissoras para o cultivo comercial. Contudo, sua exploração é efetuada por meio de extrativismo e são escassas as informações sobre biologia e manejo que permitam sua utilização sustentável (RIBEIRO et al., 2000; SANO et al., 2004).

O baru está relacionado entre as 110 espécies nativas do Cerrado com maior potencial econômico para a população da região, e entre as 10 mais promissoras para cultivo, devido ao seu potencial alimentício (polpa do fruto e das sementes, ricas em minerais, proteínas, carboidratos e lipídeos de alta qualidade), madeireiro, medicinal (óleo das sementes), ornamental e forrageiro (frutos caídos e sombra para o gado).

Este fruto possui polpa de sabor adocicado bem como amêndoa rica em cálcio, fósforo e manganês. Apresenta um valor calórico de 476 kcal.100 g⁻¹, 8,9% de umidade, 38,11% de extrato etéreo, 24,57% de proteína, 2,62% de cinzas, 17,10% de fibras e 25,8% de carboidratos totais¹. A extração do óleo é muito utilizada nas indústrias alimentícias.

Sabe-se que os compostos bioativos são constituintes extras nutricionais e se apresentam pequenas quantidades nos alimentos, dos quais podem ser citados os fitosteróis, os tocoferóis, os compostos fenólicos, os carotenoides, os ácidos graxos essenciais, entre outros (ETTINGER, 2005; POKORNÝ, 2007). Estes constituintes bioativos têm ação funcional capaz de promover benefícios à saúde, pois de acordo com Angelo e Jorge (2007) os antioxidantes apresentam dois meios de ação: (I) atuam interrompendo a cadeia da reação por meio da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos

termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com os radicais livres, formando o complexo lipídio-antioxidante que pode reagir com outro radical livre. E (II) os antioxidantes vão atuar retardando a etapa de iniciação da autooxidação, por diferentes mecanismos que incluem a complexação de metais, sequestro do oxigênio siglete e decomposição de hidroperóxidos.

O termo “alimentos funcionais” foi usado pela primeira vez no Japão, em meados de 80, para produtos alimentares enriquecidos com componentes especiais que possuíam vantajosos efeitos fisiológicos (KWAK; JUKES, 2001; STANTON et al., 2005).

Dentre os estes compostos estudados, os polifenóis, também encontrado em frutos, vem despertando interesse dos consumidores e produtores de alimentos. Porque são antioxidantes disponíveis de forma natural e o que apresenta maior abundância na dieta, podendo atingir um grama diário (MANACH et al. , 2004).

Assim, o estudo sobre compostos bioativos vem propor novos rumos à tecnologia de alimentos para sua implementação no desenvolvimento de novos produtos. Com isto, este estudo tem por objetivo quantificar a composição bioativa e verificar sua atividade enzimática em função dos diferentes estádios de maturação nos frutos de baru.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de físico-química do Instituto Federal do Triângulo Mineiro – IFTM – Campus Uberlândia, onde foram realizadas todas as análises. Os frutos de baru foram adquiridos no município da cidade de Uberlândia e região, onde foram colhidos manualmente de forma aleatória e acondicionados em caixas isotérmicas. Em seguida encaminhados para a área de recepção e seleção da planta de processamento de Frutos e Hortaliças, onde foram lavados com água corrente retirando as sujidades grosseiras. Após os frutos permaneceram em solução de água clorada (50mg L^{-1}) por 15 minutos para sanitização, sendo submetida a três enxágues consecutivos com água corrente filtrada e posteriormente encaminhada para o processamento Figura 1.

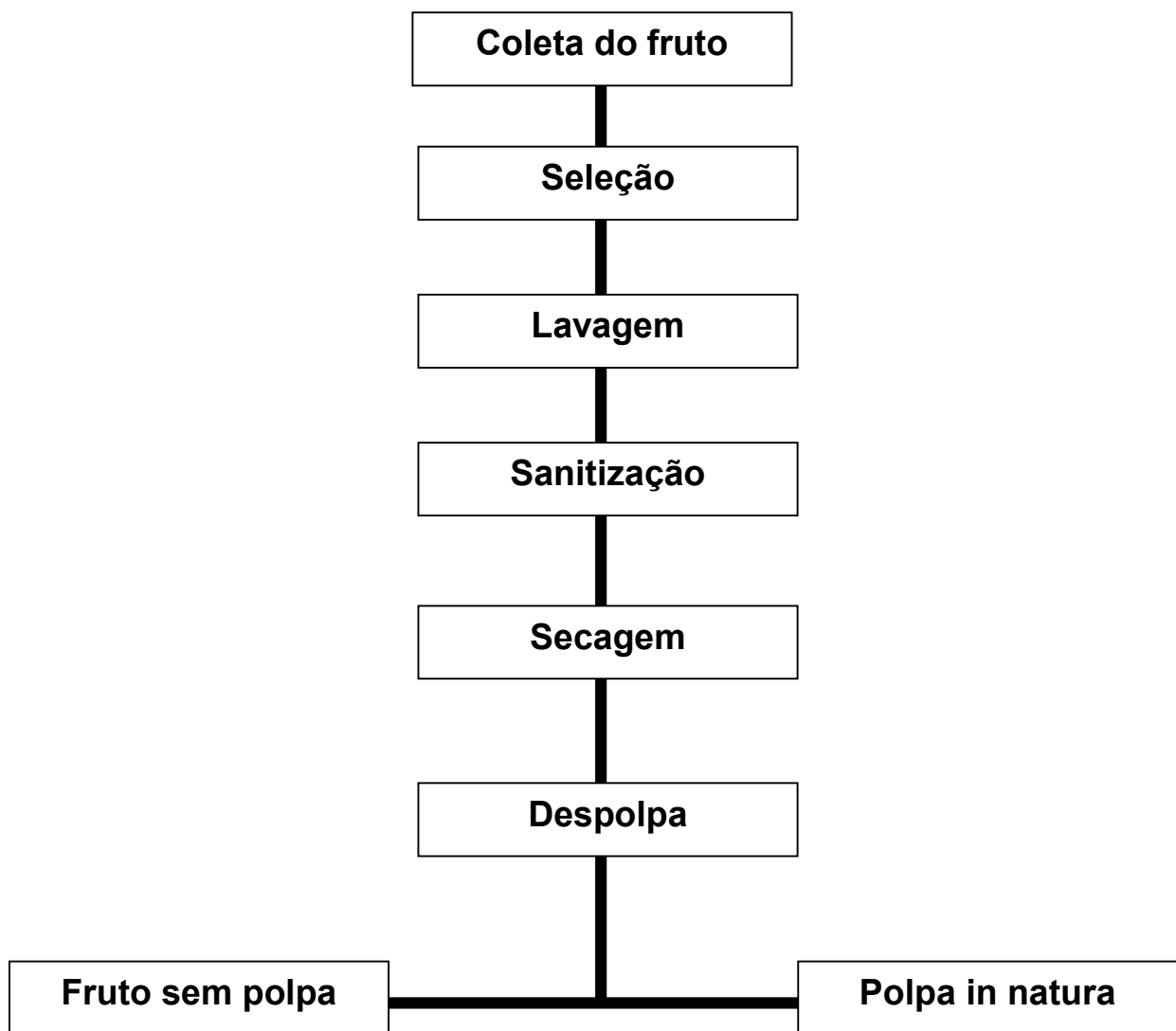


Figura 1. Fluxograma de Obtenção da polpa de baru (Carrazza, D'Ávila, 2010).

2.1 ATIVIDADES ENZIMATICAS E ANALISES ANTIOXIDANTES

2.1.1 PEROXIDASE

Foi colocado 5,0 mL de tampão fosfato-citrato 0,1 M, pH 5,0; 3,0 mL de extrato e 0,5 mL de guaiacol. Em seguida, adicionou-se 0,5 mL de H₂O₂ a 3% e foi misturado novamente. E incubados por 15 minutos, após foram colocados em banho de gelo e adicionou-se 1,0 mL de bissulfito de sódio a 30%. Depois foram

deixados em repouso e prosseguiu com a leitura em 470nm, como sugere Matsuno e Uritani (1972).

Atividade enzimática é expressa em unidade enzimática (UE), que é definida como a quantidade de enzima aumentada em 0,001 unidade por minuto de absorvância.

2.1.2 POLIFENOLOXIDASE

De acordo com a metodologia recomendada por Matsuno e Uritani (1972), foram colocados 50 mL de tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0; 0,5 mL do extrato enzimático; 0,05 mL de catecol 0,1 M. Esta mistura foi incubada em banho de água por 30 minutos. Após foram colocados em banho de gelo e adicionou-se 0,8 mL de ácido perclórico a 2,0 N. Deixou em repouso e prosseguiu com leitura em 395nm.

A atividade enzimática é expressa em unidade enzimática (UE), que é definida como a quantidade de enzima aumentada em 0,001 unidade por minuto de absorvância.

2.1.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Empregou-se a metodologia descrita pela AOAC (1990) com diluições apropriadas de cada extrato, depois foram acrescentado 8,4 mL de água destilada, 0,5 mL do reagente Folin-Denis e 1,0 mL de solução de carbonato de sódio. Os tubos foram submetidos a agitação por 30 minutos e em seguida determinada em absorvância no espectrofotômetro no comprimento de onde de 760 nm. Utilizou-se o ácido tânico como padrão, sendo os teores de Compostos Fenólicos Totais expressos em mg por 100 mL de extrato.

2.1.4 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE – MÉTODO DPPH• (2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL)

O método desenvolvido por Brand-Willams et al. (1995) tem sido amplamente utilizado para a investigação do potencial antioxidante em plantas medicinais e vegetais comestíveis. Este método baseia-se na redução da absorvância medida a 515nm do radical DPPH• por antioxidantes presentes na amostra.

2.1.5 DETERMINAÇÃO DE PIGMENTOS LICOPENO, BETA CAROTENO, CLOROFILA A, CLOROFILA B E CLOROFILA TOTAL

Foi utilizado o método de doseamento de carotenóides totais, seguindo o método de Nagata e Yamashita (1992). Foram pesadas aproximadamente 1,0 g da amostra de polpa de tomate e do catchup pronto. A leitura da absorvância no espectrofotômetro (DR 2800), devidamente calibrado em cubetas de vidro. Os cálculos das concentrações de licopeno beta-caroteno foram feitos segundo as seguintes equações (Nagata e Yamashita, 1992):

2.1.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O experimento foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com 2 tratamentos (Estádios de maturação dos frutos - verde e -maduro) e 6 repetições. O experimento apresentou um total de 12 parcelas experimentais. Os resultados foram tabulados e submetidos à análise estatística pelo programa estatístico SISVAR (Sistema de Análises Estatísticas) versão 5.0 (FERREIRA, 2000).

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

De acordo com os dados analíticos, os frutos de baru apresentaram quantidades de compostos antioxidantes e capacidade antioxidantes significativas.

Foi possível observar que os estádios de maturação das polpas de Baru influenciaram nos resultados químicos e enzimáticos, como mostra a Tabela 1, a medida que o fruto amadurece houve diminuição da atividade enzimática da peroxidase, sendo de 111,54 ($\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$) para o fruto maduro e de 408,05 ($\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$) no estágio verde. Porém no fruto maduro a enzima polifenoloxidase se apresentou com maior atividade de reação, mostrando a necessidade de cuidados durante a manipulação e descascamento da polpa. Sua atividade nos frutos maduros foi de 220,27 ($\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$) e a de polpa verde 207,68 ($\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$).

Na polpa madura não foram constatados teores de beta caroteno, porém o teor de clorofila foi superior à polpa no estágio imaturo.

Tabela 1. Compostos químicos de frutos de Baru em diferentes estádios de maturação.

Compostos Bioativos¹ (mcg/100mL)	Estádio de maturação	
	Maduro	Verde
Clorofila a	690 a	220 b
Clorofila b	1.300 a	300 b
Clorofila Total	610 a	90 b
Licopeno	80 a	30 b
B caroteno	0 b	90 a

Atividade enzimática¹ (U.min ⁻¹ g ⁻¹)	Estádio de maturação	
	Maduro	Verde
POD (peroxidase)	111.54 b	408.05 a
PFO (polifenoloxidase)	220.27 a	207.68 b

Compostos fenólicos¹ (mg.100mL ⁻¹)	Estádio de maturação	
	Maduro	Verde
EtOH (50%)	2284.71 b	4545.24 a
MetOH (80%)	1707.15 b	2977.78 a
Água	3772.92 b	5971.67 a

¹medium followed by lowercase letters in column not differ by the Bonferroni test (p <0.05)

Segundo pesquisadores são encontradas algumas substâncias antinutricionais neste fruto, como tanino, ácido fítico e inibidor de tripsina. O teor de tanino é elevado na polpa, não sendo detectado na semente (amêndoa), tanto crua quanto torrada. Este componente tende a decrescer com a maturação do fruto e o inibidor da tripsina pode ser inativado pela simples torragem da semente (Togashi & Sgarbieri 1994).

O melhor extrator de compostos fenólicos para a polpa de baru foi a água, independente do estágio de maturação do fruto, possuindo assim uma característica de formas poliméricas dos compostos fenólicos presente na polpa

CONCLUSÃO

- As polpas maduras de baru apresentaram elevados teores de compostos bioativos (fenólicos, e compostos antioxidantes) em relação a polpa verde;
- A extração com água para quantificação dos compostos fenólicos foi o que melhor quantificou estes compostos;
- Os teores de compostos fenólicos nas polpas verdes de Baru foram maiores que no estágio maturo independentemente dos extratores estudados;
- A enzima polifenoloxidase nas polpas maduras foi maior que nas polpas verdes, exigindo maior atenção da indústria quanto ao processamento da polpa de baru.

Agradecimento

FAPEMIG, pelo incentivo financeiro.

REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

ALMEIDA, S.P., C.E.B. PROENÇA, S.M. SANO & J. F. RIBEIRO. 1998. Cerrado: espécies vegetais úteis. Embrapa / CPAC, Planaltina. 464 p

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v.66, n.1, p.1-9, 2007.

Association Of Official Analytical Chemists (AOAC). 2005. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 18 th ed. Gaithersburg, M.D, USA.

Carrazza, L. R.; D'Ávila, J. C. C.; **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto do Baru**. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil, 2010. 56 p.; il. - (Série Manual Tecnológico)

ETTINGER, S. Macronutrientes: carboidratos, proteínas e lipídeos. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. (Eds.). **Alimentos, nutrição & dietoterapia**. 11. ed. São Paulo: Roca; 2005. p. 35-71.

- FERREIRA, D.F. Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2000. 66p.
- KWAK, N. S.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 1. The development of a regulatory concept. **Food Control**, Guildford, v. 12, n. 2, p. 99-107, 2001.
- MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and Bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.45, p. 594-598, 2004.
- MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isosymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Tóquio, v.13, p. 1091-1101, Apr.1972.
- NAKATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, Tóquio, v.39, n.10, p. 925-928, 1992.
- POKORNÝ, J. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 109, n. 6, p. 629-642, 2007.
- RIBEIRO, J. F.; SANO, S. M.; BRITO, M. A. de. Baru (*Dipteryx alata* Vog.). Jaboticabal: Funep, 2000. 41 p.
- SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F.; BRITO, M. A. de. Baru: biologia e uso. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2004. 52 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 116).
- STANTON, C. et al. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 16, n. 2, p. 198-203, 2005.
- TEISSON, C. Le brunissement interne de l'ananas. I Historique. II-Material et méthodes. **Fruits**, Paris, v.34, n.4, p.245-281, avr. 1979.

TOGASHI, M.; SGARBIERI, V. C. Avaliação nutricional da proteína e do óleo de sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 15, n. 1, p. 66-69, 1995.