

## Medida da atividade enzimática de polifenoloxidase em extrato bruto de banana (*Musa sp.*) empregado na construção de biossensores.

Lidiane Raquel Verola Mataveli (PG), Natalícia de Jesus Antunes (IC), Maísa Ribeiro Pereira Lima Brigagão(PQ), Pedro Orival Luccas (PQ)\*

Universidade Federal de Alfenas (Unifal – MG), Departamento de Ciências Exatas, Rua Gabriel Monteiro, 714, 37130-000, Alfenas – MG. \*pedro@unifal-mg.edu.br

Palavras Chave: atividade enzimática, polifenoloxidase, biossensor

### Introdução

A enzima polifenoloxidase (PFO) está presente em concentrações altas principalmente nos vegetais, como maçã e banana, e está ligada à coloração escura do organismo em que está presente. A PFO catalisa a oxidação de compostos fenólicos, como a adrenalina, que têm sido utilizados como substrato para medir a atividade enzimática no extrato bruto de banana (*Musa sp.*). Em condições adequadas, a velocidade de reação medida é proporcional à quantidade de enzima presente no extrato. Como muitas enzimas ainda não são encontradas puras, não é possível quantificá-las, então os resultados são expressos em termos de unidades de atividade (UA), definidas arbitrariamente como a quantidade de enzima capaz de aumentar 0,001 unidades de absorvância por minuto<sup>1,2</sup>. Para o seu cálculo, geralmente é utilizada uma fórmula<sup>3</sup> que relaciona variação da absorvância ( $\Delta\text{abs}$ ), variação de tempo ( $\Delta T$ ), o passo (b) e um determinado volume de amostra (V):  $A \text{ (atividade)} = \Delta\text{abs} \times 1000 / (\Delta T \times b \times V)$ . Outra maneira de calcular UA é através da medida da velocidade de reação para diferentes proporções do substrato e enzima o que confere maior confiabilidade nos resultados<sup>2</sup>. Sendo assim, este trabalho objetivou um estudo comparativo entre as duas técnicas, supracitadas, de medida de atividade enzimática da PFO. Tal enzima tem sido usada para a construção de um biossensor para a determinação de adrenalina.

### Resultados e Discussão

Foi utilizado extrato bruto enzimático com 25 g de banana (*Musa spp.*), 2,5 g de polivinilpirrolidona, dissolvidos em 100 mL de tampão fosfato pH 8. A velocidade da reação, entre extrato e adrenalina, foi medida monitorando-se a formação da adrenalinoquinona em espectrofotômetro (Shimadzu® UV-2401 PC) em 410 nm. A concentração de proteína total foi determinada pelo método do biureto, utilizando albumina de soro bovino como padrão<sup>4</sup>. Os procedimentos foram feitos durante seis dias seguidos, e apresentaram uma diminuição na atividade enzimática após decorridos três dias da preparação, como mostra a Figura 01.

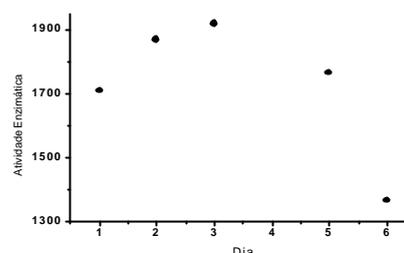


Figura 01 - Medida da UA do extrato de banana empregando o método da medida da atividade em diferentes proporções dos reagentes<sup>2</sup>.

A atividade enzimática também foi calculada através da fórmula, chegando a valores menores (Tabela 1). Assim pode-se notar que o emprego da equação impôs um erro negativo, subestimando o valor da atividade enzimática.

Tabela 01 – Teor de proteína; atividade calculada através da fórmula (F) e da curva de velocidade (C) seguidas de suas atividade específica (AE) definida como unidade por miligrama de proteína.

Dia	Proteína (mg.mL <sup>-1</sup> )	Atividade da Polifenoloxidase			
		F	AE	C	AE.
1	16,81	952,8	56,98	1707	101,5
2	15,35	929,2	60,53	1868	121,7
3	16,04	897,9	55,98	1919	119,6
5	18,81	918,2	48,81	1534	81,60
6	18,13	864,0	47,66	1365	75,31

### Conclusões

O cálculo da atividade empregando a fórmula<sup>3</sup> apresentou um erro sistemático negativo. O extrato apresentou boa estabilidade nos primeiros três dias de armazenamento a 4°C. Para melhorar a confiabilidade dos resultados deve-se usar o método das medidas das velocidades das reações<sup>2</sup>.

### Agradecimentos

CAPES, Unifal-MG

<sup>1</sup> Lupetti, K. O.; Ramos, L. A.; Fatibello, O. F. Quim. Nova, 2003, 26, 197

<sup>2</sup> Harper, H. P. Manual de química fisiológica, 3 ed. São Paulo, Atheneu Editora, 1973

<sup>3</sup> Summer, J. B.; Myrbäck, K. the Enzymes-chemistry and mechanism action. New York, Academic Press Inc. Publishers, Vol. III, cap. 57, 1951

<sup>4</sup> Gornall, A. G.; Bardawill, C. J.; David, M. M. J. Biol. Chem. 1949, 177, 751