

# Atividade, Extração e Purificação das Enzimas Polifenol Oxidase e Peroxidase de Vegetais

Lúcia Daniela Wolf\* (IC), Orlando Fatibello Filho (PQ)

Lud\_wolf@yahoo.com.br

Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luis km 235, São Carlos/SP.

Palavras Chave: Enzimas Polifenol Oxidase, Peroxidase.

## Introdução

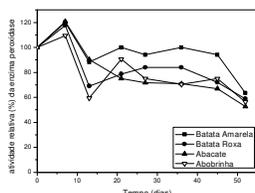
A peroxidase (POD) na presença de peróxido catalisa a oxidação de alguns substratos doadores de prótons, tais como monofenóis, difenóis, polifenóis, aminofenóis. Comercialmente é empregada na indústria de papel e celulose, síntese orgânica para a produção de polímeros e na biotransformação de drogas<sup>1</sup>. A polifenol oxidase (PPO) é muito utilizada na construção de biossensores e para a avaliação seletiva de fenóis em efluentes biológicos e industriais.<sup>2</sup> Sendo assim, a extração, purificação e aplicação em química analítica dessas enzimas de diversos vegetais da flora brasileira é de extrema importância.

## Resultados e Discussão

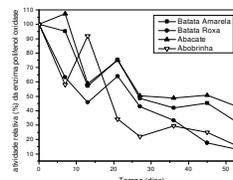
Inicialmente foram obtidos os extratos enzimáticos de batata doce amarela e roxa (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), abobrinha (*Cucurbita pepo*) e abacate (*Persea americana*). A atividade das enzimas POD e PPO foi determinada pela medida de absorvância do tetraguaiacol e da o-quinona formada respectivamente na reação enzimática. Estudos da variação da atividade enzimática dos extratos brutos em função do tempo foram realizados a 4 °C e os resultados são mostrados nas Figuras 1 e 2.

As enzimas PPO e POD foram isoladas dos extratos brutos pela precipitação com sulfato de amônio, acetona e cromatografia em filtração a gel com Sephadex G-150. O teor de proteína total do extrato bruto foi determinado empregando-se o método de Bradford<sup>3</sup> e BSA como padrão. As maiores atividades observadas para as duas enzimas foram detectadas nos extratos de batata doce amarela.

As Tabelas 1 e 2 apresentam os dados de eficiência de purificação descritos pelo fator de purificação que é razão entre as atividades específicas em cada etapa de purificação pela atividade específica do extrato bruto.



**Figura 1.** Variação da atividade da peroxidase para os diferentes extratos vegetais em função do tempo.



**Figura 2.** Variação da atividade da polifenol oxidase para os diferentes extratos vegetais em função do tempo.

**Tabela 1.** Atividade da POD da batata doce amarela em função da etapa de purificação.

Etapas	Atividade total (U mL <sup>-1</sup> )	Proteínas totais (U mL <sup>-1</sup> )	Atividade específica (U/mg)	Fator de purificação
Extrato bruto	4,81	5,08	0,95	1,0
Sol. 85% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,61	0,51	5,11	5,38
Coluna Sephadex	0,78	0,07	11,14	11,72

**Tabela 2.** Atividade da PPO da batata doce amarela em função da etapa de purificação.

Etapas	Atividade total (U mL <sup>-1</sup> )	Proteínas totais (U mL <sup>-1</sup> )	Atividade específica (U/mg)	Fator de purificação
Extrato bruto	14200	5,08	2795	1,0
Sol. 85% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3950	0,51	7745	2,77
Coluna Sephadex	1190	0,07	17000	6,08

## Conclusões

Obteve-se resultados bastante satisfatórios na extração e pré-purificação das enzimas, possibilitando o uso destas na construção de biossensores. Estão sendo investigados também, outros métodos para concentração e purificação das enzimas em substituição ao gel Sephadex.

## Agradecimentos

UFSCar, FAPESP

Fatibello, O.; Lupetti, K.O. e Vieira, I.C., *Quim. Nova*, **2003**, 26, 39-43. <sup>2</sup> Vieira, I.C. e Fatibello, O., *Quim. Nova*, **2002**, 25, 455. <sup>3</sup> Bradford, M.M., *Analytical Biochemistry*, **1976**, 72, 248.