

Um Estudo Sobre a Oxidação Enzimática e a Prevenção do Escurecimento de Frutas no Ensino Médio

Lucinéia Cristina de Carvalho, Karina Omuro Lupetti e Orlando Fatibello-Filho

A reação de escurecimento em frutas, vegetais e sucos de frutas é um dos principais problemas na indústria de alimentos. A ação da polifenol oxidase, enzima que provoca a oxidação dos compostos fenólicos naturais presentes nos alimentos, causa a formação de pigmentos escuros, freqüentemente acompanhados de mudanças indesejáveis na aparência e nas propriedades organolépticas do produto, resultando na diminuição da vida útil e do valor de mercado. Neste trabalho propõe-se um experimento didático para a observação do escurecimento de frutas e a prevenção da oxidação enzimática na presença de alguns agentes inibidores como ácido ascórbico e ácido cítrico.

► escurecimento de frutas, inibição enzimática, antioxidantes ◀

Recebido em 20/9/04, aceito em 23/5/05

48

No ensino do conceito de mecanismos de reações de oxidação-redução, freqüentemente não se tem a preocupação em associar os conteúdos das disciplinas do ensino em geral com fenômenos que podemos observar no cotidiano, muitas vezes esclarecedores, como o escurecimento de tecidos vegetais e a sua preservação na presença de algumas substâncias antioxidantes e/ou condições experimentais que permitem maior conservação dos mesmos.

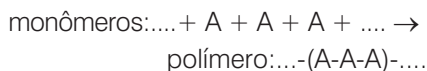
As reações de oxi-redução envolvem perda e ganho de elétrons, onde as espécies que ganham elétrons sofrem redução e as que perdem, sofrem oxidação. A Eq. (1) exemplifica um processo redox:



onde o cobre sofre oxidação, perdendo 2 elétrons que são transferidos ao oxigênio, que é então reduzido, formando óxido de cobre(II). O oxigênio é o agente oxidante da reação e o cobre, o agente redutor.

O escurecimento de frutas, legumes, tubérculos, entre outros, é iniciado pela oxidação enzimática de compostos fenólicos naturais na presença da enzima polifenol oxidase (PFO) e oxigênio molecular, formando quinona. As quinonas podem sofrer polimerização, formando pigmentos escuros insolúveis, denominados melaninas, ou podem reagir não enzimaticamente com outros compostos fenólicos, aminoácidos e proteínas, formando também as melaninas - Figura 1 (Araújo, 1995).

A reação de polimerização pode ocorrer por adição ou condensação, unindo as espécies chamadas monoméricas, formando cadeias maiores, os polímeros. Simplificadamente:



No caso estudado do escureci-

mento de frutas, a melanina é resultante do processo de polimerização das espécies monoméricas (por ex. quinonas).

A reação de escurecimento em frutas, vegetais e sucos de frutas é um dos principais problemas na indústria de alimentos. Estima-se que em torno de 50% da perda de frutas tropicais no mundo é devida à enzima polifenol oxidase (Araújo, 1995).

Enzimas como polifenol oxidases, pepsinas, peroxidases e invertase ficaram conhecidas na metade do sé-

culo 19. Em especial, a enzima polifenol oxidase foi descoberta em 1895 por Bourquelot e Bertrand, em grande quantidade em cogumelos, onde se verificou a ocorrência da oxidação de certos compostos

na presença de oxigênio molecular (Zawistowski *et al.*, 1991).

A PFO está presente em algumas bactérias e fungos, na maioria das plantas, em alguns artrópodes e mamíferos. Em todos esses casos, a enzima está associada com a pigmentação escura do organismo. Ela está presente especialmente, em concen-

O escurecimento de frutas é iniciado pela oxidação enzimática de compostos fenólicos naturais na presença da enzima polifenol oxidase e oxigênio molecular, formando quinona

A seção "Experimentação no ensino de Química" descreve experimentos cuja implementação e interpretação contribuem para a construção de conceitos científicos por parte dos alunos. Os materiais e reagentes usados são facilmente encontráveis, permitindo a realização dos experimentos em qualquer escola. Neste número a seção apresenta dois artigos.

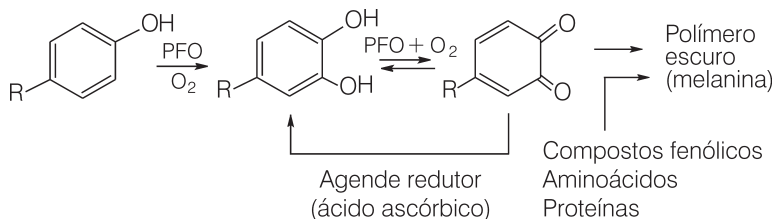


Figura 1: Reação de oxidação de compostos fenólicos catalisada pela polifenol oxidase.

trações altas, em cogumelos, batata, pêssago, maçã, banana, manga, abacate, folhas de chá e café (Araújo, 1995).

Várias maneiras de inibição da polifenol oxidase são conhecidas. Essa inibição é desejável e muitas vezes necessária para evitar o aparecimento de sabor desagradável e toxidez, como também por questões econômicas. Três componentes devem estar presentes para que a reação de escurecimento enzimático ocorra: enzima, substrato e oxigênio. No caso de ausência ou bloqueio da participação de um destes na reação (seja por agentes redutores, diminuição de temperatura ou abaixamento de pH), a velocidade de reação diminui significativamente. Sendo o escurecimento enzimático uma reação oxidativa, ele pode ser retardado utilizando-se agentes químicos que sejam capazes de bloquear a reação. Essas substâncias atuam diretamente sobre a enzima ou sobre os intermediários da reação de formação do pigmento - Figura 1 (Araújo, 1995).

A utilização de substâncias ácidas em tecidos vegetais é uma outra forma de inibição dessa reação. Os ácidos que são normalmente utilizados estão entre aqueles de ocorrência natural, como cítrico, as-

Três componentes devem estar presentes para que a reação de escurecimento enzimático ocorra: enzima, substrato e oxigênio

córbico e málico. Em geral, sua ação dá-se pelo abaixamento do pH do tecido, diminuindo assim a velocidade da reação de escurecimento. O pH ótimo de atuação da PFO está entre 6 e 7, e abaixo de 3 não há nenhuma atividade enzimática. A vitamina C (ácido ascórbico) é utilizada para a prevenção do escurecimento em frutas e vegetais, pois na presen-

ça desse ácido, os compostos do tipo o-quinona são reduzidos para a forma fenólica (Figura 1).

Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um método simples e didático para demonstrar o escurecimento de frutas causado pela ação enzimática e a utilização de ácidos cítrico e ascórbico para prevenção desse escurecimento.

Material e reagentes

Para este estudo foram utilizadas banana nanica (*Musa ssp*), maçã (*Malus sp*) e pêra (*Pyrus communis*). Foram também utilizados pratos, conta-gotas, faca e copos descartáveis. Os reagentes utilizados na prevenção do escurecimento foram suco de um limão Taiti e vitamina C (por ex. Redoxon®). Tanto o material como os reagentes empregados são de fácil aquisição e de baixo custo.

Procedimento

Primeiramente, dividiu-se a turma de 15 alunos do Ensino Médio em três grupos de cinco para melhor realização da atividade proposta.

A solução de vitamina C (ácido ascórbico) foi preparada dissolvendo-se uma pastilha (1 g de vitamina C) em 40 mL de água.

O suco de limão foi preparado com um limão Taiti puro, ou seja, sem água.

As frutas foram lavadas e secas. Em seguida, cortaram-se três fatias de cada fruta de mais ou menos 5 mm de espessura e estas foram colocadas nos pratos. Em uma das fatias de cada fruta, não se adicionou nenhuma solução, ficando esta como parâmetro de comparação para o escurecimento enzimático. Às outras

duas fatias, foi adicionado com um conta-gotas o suco de limão ou a solução de vitamina C (até o total recobrimento da superfície), respectivamente. Aguardou-se aproximadamente 20 minutos para a observação do fenômeno de escurecimento.

Durante o tempo de espera, os alunos foram questionados sobre o que aconteceria e também esclarecidas algumas dúvidas sobre o assunto abordado.

Em seguida, explicou-se o processo de inibição enzimática ocorrido nas fatias das frutas contendo suco de limão e vitamina C e o escurecimento enzimático ocorrido na fatia sem as soluções dos antioxidantes.

O estudo foi realizado durante uma aula de 50 minutos.

Questões para discussão

Após o procedimento experimental foi aplicado o seguinte questionário contendo perguntas sobre o assunto abordado:

1. Onde a enzima PFO pode ser encontrada?
2. Quando e como ocorre o escurecimento?
3. Existem maneiras de se retardar o escurecimento nos alimentos? Se existirem, cite-as.
4. Quais as vantagens e as desvantagens de se utilizar antioxidantes (ou conservantes) nos alimentos?

*5. Por que, nas saladas de frutas, a banana e a maçã não escurecem tão rapidamente como acontece quando expostas ao ar?

*6. Dê possíveis razões para o fato do tomate, da vagem e do pepino não escurecerem quando cortados e expostos ao ar.

*As perguntas 5 e 6 são sugestões para aplicação de novos questionários, não tendo sido abordadas nessa aula prática.

Resultados e discussão

Pôde-se observar após os 20 minutos de espera que as fatias dos frutos sem as soluções de suco de limão ou vitamina C ficaram escurecidas devido à atuação da enzima polifenol oxidase na presença do oxigênio atmosférico. As fatias recobertas

com as soluções dos antioxidantes permaneceram com a coloração inalterada como pode ser observado na Figura 2.

Os alunos mostraram-se bastante interessados e receptivos com relação ao experimento. Com relação ao questionário aplicado, a Tabela 1 apresenta as porcentagens de acertos de cada questão abordada, observando-se que houve um bom entendimento com relação à origem da enzima, às maneiras de se retardar o escurecimento enzimático e às vantagens de se utilizar agentes antioxidantes.

Considerações finais

Apesar de vários trabalhos publicados salientarem a fundamental importância das atividades experimentais no ensino de Química, pode-se constatar que a grande maioria dos professores não as oportunizam a seus alunos (Pimentel e Chaves, 1997). A maioria deles relata que não as fazem por falta de

Figura 2: Fotos das frutas maçã, pêra e banana após 20 minutos de oxidação enzimática na ausência (a) e presença de antioxidantes ácido ascórbico (b) e ácido cítrico (c).

laboratório e/ou por falta de reagentes. Porém, muitas práticas podem ser realizadas até mesmo em sala de aula e reagentes podem ser substituídos por produtos encontrados em casa ou comprados no comércio local. Alguns conceitos muitas vezes não abordados em sala de aula poderiam ser ensinados obtendo uma boa receptividade, uma vez que fazem parte do cotidiano do aluno, como foi demonstrado neste experimento.

Lucinéia Cristina de Carvalho (lucineiacristina@yahoo.com.br) é licenciada em Química pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). **Karina Omuro Lupetti** (karinalupetti@yahoo.com.br) é bacharel em Química, mestre e doutora em Química Analítica pela UFSCar. **Orlando Fatibello-Filho** (bello@dq.ufscar.br), licenciado em Química pela UFSCar, mestre em Físico-Química e doutor em Química Analítica pela USP, é docente do Departamento de Química da UFSCar.

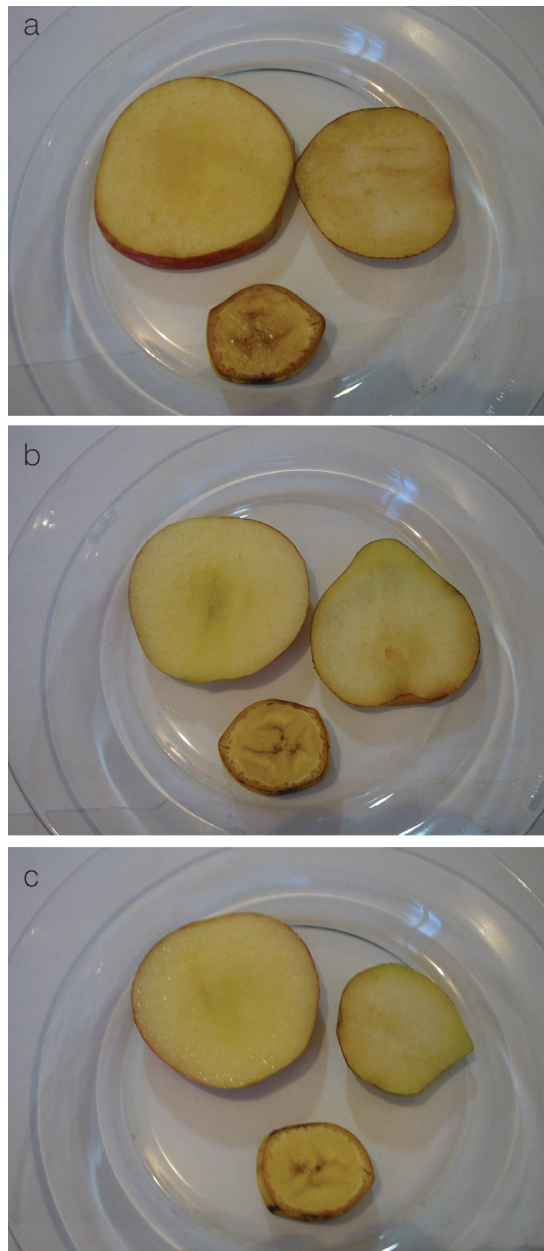


Tabela 1: Porcentagens de acerto de cada questão abordada.

Pergunta	Acerto / %
1	100
2	50
3	92
4	100(V) 10(D)*

* (V) são as vantagens e (D) as desvantagens.

Referências

ARAÚJO, M.A. *Química de alimentos. Teoria e prática*. Viçosa: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 1995. p. 247.

PIMENTEL, N.L. e CHAVES, M.H.O. Uma proposta metodológica para o ensino de ácidos e bases numa abordagem problematizadora. *Atas do I Encontro Nacional de Pesquisa em Ensino de Ciências (I ENPEC)*. Águas de Lindóia, 1997. p. 374-385.

ZAWISTOWSKI, J.; BILIADERIS, C.G.

e ESKIN, N.A.M. Polyphenol oxidases. Em: ROBISON, D.S. e ESKIN, N.A.M. (Eds.). *Oxidative enzymes in foods*. Winnipeg: Elsevier, 1991. p. 217-273.

Para saber mais

LEHNINGER, A.L. *Princípios de Bioquímica*. 2ª ed. Trad. W.R. Loodi e A.A. Simões. São Paulo: Savier, 1986. p. 154.

LUPETTI, K.O. *Utilização da polifenol oxidase e peroxidase de tecidos vegetais em procedimentos analíticos de interesse farmacêutico*. Dissertação de Mestrado. São

Carlos, UFSCar, 2000. p. 5-14 e 36-42.

LUPETTI, K.O.; CARVALHO, L.C.; MOURA, A.F. e FATIBELLO-FILHO, O. Análise de imagem em Química Analítica: Empregando metodologias simples e didáticas para entender e prevenir o escurecimento de tecidos vegetais. *Química Nova*, v. 28, p. 548-554, 2005.

Na Internet

<http://www.sbc.org.br/dcurriculares/mec/conteudos.htm>
www.mec.gov.br

Abstract: A Study on the Enzymatic Oxidation and the Avoidance of Fruit Browning for High-School Teaching – The browning reaction in fruits, vegetables and fruit juices is one of the main problems in the food industry. The action of polyphenol oxidase, enzyme that causes the oxidation of natural phenolic compounds present in food, leads to the formation of dark pigments, commonly accompanied by undesirable changes in the appearance and the organoleptic properties of the product, resulting in the decrease of its shelf life and market value. In this paper a didactic experiment on the observation of fruit browning and the avoidance of enzymatic oxidation by some inhibitor agents like ascorbic acid and citric acid is proposed.

Keywords: fruit browning, enzymatic inhibition, antioxidants