

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ISABEL CRISTINA SOLANO GUERRA**

**CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DE ENZIMAS OXIDATIVAS E QUANTIFICAÇÃO  
DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM FRUTOS DE TRÊS GENÓTIPOS DE  
CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) NOS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO VERDE E  
MADURO.**

**Recife  
2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ISABEL CRISTINA SOLANO GUERRA**

**CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DE ENZIMAS OXIDATIVAS E QUANTIFICAÇÃO  
DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM FRUTOS DE TRÊS GENÓTIPOS DE  
CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) NOS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO VERDE E  
MADURO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFRPE pela discente Isabel Cristina Solano Guerra em cumprimento às exigências acadêmicas para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Inês Sucupira Maciel  
Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Lúcia Figueiredo Porto

**Recife  
2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DE ENZIMAS OXIDATIVAS E QUANTIFICAÇÃO  
DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM FRUTOS DE TRÊS GENÓTIPOS DE  
CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) NOS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO VERDE E  
MADURO.**

**Por: Isabel Cristina Solano Guerra**

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do título de **Mestre em Química** e aprovada em 16/09/2009 pelo Programa de Pós-Graduação Química, em sua forma final.

---

Prof. Dr. Celso de Amorim Camara  
Coordenador do Programa

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Lília Gomes Willadino - Membro interno  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - Titular

---

Profa. Dra. Terezinha Câmara - Membro interno  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - Titular

---

Profa. Dra. Ana Lúcia Figueiredo Porto - Membro externo  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - Titular

---

Prof. Dr. João Rufino de Freitas Filho – Membro interno  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - Suplente

Dedico ao meu amado esposo, ao maior presente de Deus “nosso filho Arthur”, aos meus amados e queridos pais, meu irmão e Belinha, pessoas que fazem da minha vida uma eterna felicidade.

Deus disse: “Produza a terra plantas, ervas que contenham semente e árvores frutíferas que dêem fruto segundo a sua espécie e o fruto contendo a sua semente”.

*Gênesis 1, 11*

## ***AGRADECIMENTOS***

A Deus pelo dom da vida e por toda força espiritual;

Ao meu amado esposo Djair por toda força, amor, dedicação, companheirismo e felicidade diariamente.

Ao meu amado filho Arthur, pois tudo... sempre ...foi por ele... mamãe te ama!

Aos meus amados pais, Tibúrcio e Lurdinha, ao meu irmão, Thiaguinho, e ao meu querido avô Vicente que sempre me incentivaram, ajudaram e apoiaram em todos os aspectos;

A Lourdes, Djacir, Milton, Vó Lia e Marcelly por toda dedicação, carinho e amor.

À professora Maria Inês Sucupira Maciel, pelas orientações, ensinamentos, apoio, confiança e disponibilidade durante todo o trabalho;

À professora Ana Porto, pela co-orientação, apoio e ensinamentos valiosos;

À Maria Taciana Cavalcanti, pela confiança, paciência, dedicação, simpatia e disponibilidade, dedicadas sempre;

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química por sua dedicação e empenho, buscando sempre o engrandecimento do nosso curso;

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Química, que contribuíram para a minha formação;

Aos professores Valberes, Terezinha Câmara, Lilia Willadino por toda atenção e apoio ao longo dos experimentos;

Ao Engenheiro Agrônomo do IPA- Itambé-PE, José Severino de Lira Júnior pela atenção, disposição e participação;

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciências Domésticas pelo acolhimento;

Aos meus amados avós Tibúrcio (*in memoriam*), Francisca (*in memoriam*) e Maria do Socorro (*in memoriam*), saudades...

A todos os tios, tias, primos e primas com carinho;

Aos todos os meus alunos e amigos das Escolas Santos Cosme e Damião e Escola Custódio Pessoa pelo apoio, paciência e compreensão;

Ao apoio e orações de **TODOS OS MEUS AMIGOS QUE NASCERAM PELA FÉ;**

Aos queridos amigos: Paloma, Aurinha, Bruna, Cláudio, Torres, Lídia, Kelvina, Ana Carla, Christine, Rodrigo, Luciares, Elza, Patrícia, Nise, Wellington, Dani Werner, Iêda, Fabiana, Lucas, Thiago, Rômulo, Renato, Patrícia, Naíra, Carol e Wellington os quais foram muito importantes em cada momento por todo apoio, atenção, carinho e disponibilidade.

À Ana Amâncio, do PPGQ, por toda a sua atenção e simpatia;

Aos membros da banca examinadora;

A CAPES, pela concessão da bolsa;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, por minha formação acadêmica e profissional.

A todos que aqui não citei, mas de que certa forma ajudaram e estiveram presentes ao longo deste trabalho, o meu MUITO OBRIGADO!

## RESUMO

Este estudo objetivou caracterizar parcialmente as enzimas oxidativas e quantificar os compostos fenólicos em frutos de três genótipos de cajazeira (*Spondias mombin* L.) nos estádios de maturação verde e maduro, instalados no Banco Ativo de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA. Foram utilizados frutos verdes e maduros dos genótipos IPA 2.1, IPA 4.1 e IPA 6.1 com casca rígida e, respectivamente, de coloração totalmente verde e amarela. Após a coleta os frutos foram transportados, lavados, sanitizados e separados em: casca e polpa. Foram determinados os sólidos solúveis totais (SST), a acidez total titulável (ATT), o pH e os compostos fenólicos totais. Em seguida, o extrato bruto foi obtido utilizando-se EDTA,  $\text{CaCl}_2$  e PEG 10.000 e as atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) foram determinadas, como também a quantificação de proteínas solúveis. Com a maturação dos frutos detectou-se uma diminuição no teor de compostos fenólicos e nos teores de ATT, um aumento no conteúdo dos sólidos solúveis totais e o pH manteve-se estável nos diferentes estádios para polpa do IPA 2.1 e 4.1, enquanto no genótipo IPA 6.1 houve um aumento no pH durante o amadurecimento. Em frutos de cajá tanto na casca quanto na polpa no estágio de maturação maduro a enzima POD apresentou maior atividade que no estágio de maturação verde. Entre as médias da atividade da PPO em casca e polpa dos frutos dos genótipos de cajazeira em ambos os estádios de maturação apresentou diferença significativa, com maior atividade nas cascas, exceto para o genótipo IPA 4.1 verde. Dentre os genótipos no estágio maduro, o que apresentou maior atividade enzimática para POD e PPO no conjunto casca e polpa foi o IPA 6.1, exceto para o genótipo IPA 4.1 verde. Através da caracterização parcial da polpa do genótipo IPA 6.1 foi obtido o pH e temperatura ótima das enzimas POD e PPO, respectivamente, pH 7,0 e 50°C; pH 9,0 e 60°C. Ambas as enzimas mostraram-se estáveis a vários pHs, entre ácidos e básicos, mantendo-se 100% de atividade residual após 180 minutos. Enquanto nas temperaturas estudadas, para a POD manteve 100% de atividade residual após 10 minutos e para PPO apresentou-se relativamente estável nas temperaturas estudadas, mantendo atividade residual de 50% após 10 minutos a 90°C. O perfil enzimático para POD e PPO obtido com o extrato bruto da polpa madura do genótipo IPA 6.1 sugere a presença de isoformas.

**Palavras-chave:** *Spondias mombin* L, peroxidase, polifenoloxidase, compostos fenólicos.



## ABSTRACT

This study aimed to partially characterize the oxidative enzymes and quantify the phenolic compounds in fruits of three cultivars of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) on maturation and mature green, installed in the Active Germplasm Bank of the Agricultural Research Company of Pernambuco - IPA. We used green and ripe fruits of genotypes IPA 2.1, IPA4.1 and IPA 6.1 with hard shell and, respectively, totally green and yellow coloring. After collection the fruits were transported, washed, sanitized and separated into: peel and pulp. Were determined soluble solids (SST), titratable acidity (ATT), pH and total phenolics. Then the crude extract was obtained using EDTA, CaCl<sub>2</sub> and PEG 10,000 and the activity of peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO) were determined, as well as the quantification of soluble proteins. With the maturation of fruits were found to be a decrease in phenolic content and levels of ATT, an increased content of soluble solids and pH remained stable at various stages of pulp for genotype IPA 2.1 and IPA 4.1, while in There was a IPA 6.1 increase in pH during ripening. In caja fruit in both peel into the pulp in mature stage showed higher POD enzyme activity in the green maturity stage. Between average PPO activity in fruit peel and pulp of genotypes cajazeira in both maturity stages showed a significant difference, with higher activity in the bark, except for genotype IPA 4.1 green. Among the genotypes at maturity, which showed higher enzymatic activity for POD and PPO in the whole peel and pulp was IPA 6.1, except for genotype IPA 4.1 green. Through partial characterization of the pulp of genotype IPA 6.1 has been obtained the optimal pH and temperature of the enzymes POD and PPO, respectively, pH 7.0 and 50 ° C, pH 9.0 and 60 ° C. Both enzymes were stable at various pHs, from acidic and basic, keeping 100% of residual activity after 180 minutes. While the temperatures studied for the POD retained 100% of residual activity after 10 minutes and PPO showed relatively stable temperatures studied, maintaining 50% residual activity after 10 minutes at 90 ° C. The profile for POD and PPO enzyme obtained with the crude extract of the ripe pulp of genotype IPA 6.1 suggests the presence of isoforms.

**Keywords:** *Spondias mombin* L, peroxidase, polyphenol oxidase, phenolic compounds.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Foto ilustrativa da <i>Spondias mombin</i> L: (a) Árvore; (b) Folhas e flores; (c) Fruto; (d) Endocarpo e (e) Tronco.....                   | 16 |
| Figura 2. Foto ilustrativa do Banco de Germoplasma de Cajá da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA).....                                | 20 |
| Figura 3. Mapa de Pernambuco com a localização do Banco de Germoplasma de Cajá da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), em Itambé..... | 20 |
| Figura 4. Foto do cajá verde.....   | 23 |
| Figura 5. Foto do cajá maduro.....  | 23 |
| Figura 6. Estrutura da enzima peroxidase (Protein Date Bank/ PDB).....  | 26 |
| Figura 7. Esquema da reação na qual a enzima peroxidase converte o guaiacol e o peróxido de hidrogênio em tetraguaiacol (composto colorido) .....     | 26 |
| Figura 8. Estrutura da enzima polifenoloxidase (Protein Date Bank/ PDB).....  | 29 |
| Figura 9. Reação de oxidação catalítica, pela PPO, do monofenol e ortodifenol produzindo o-quinona.....   | 30 |
| Figura 10. Estrutura de compostos fenólicos: (a) ácido fênico (fenol) e (b) catecol .....   | 31 |
| Figura 11. Efeito do pH na atividade da peroxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1.....  | 51 |
| Figura 12. Efeito do pH na estabilidade da peroxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1.....                                     | 52 |
| Figura 13. Efeito da temperatura na atividade da peroxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1.....                               | 52 |
| Figura 14. Efeito da temperatura na estabilidade da peroxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1.....                            | 53 |
| Figura 15. Efeito do pH na atividade da polifenoloxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1.....                                  | 54 |
| Figura 16. Efeito do pH na estabilidade da polifenoloxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1.....                               | 55 |
| Figura 17. Efeito da temperatura na atividade da polifenoloxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1.....                         | 55 |
| Figura 18. Efeito da temperatura na estabilidade da polifenoloxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1.....                      | 56 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1. Características físico-químicas de cajás nos diferentes estádios de maturação.   | 18 |
| Tabela 2- Determinação do pH da casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.....                             | 42 |
| Tabela 3- Determinação dos sólidos solúveis totais (SST) da casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária..... | 43 |
| Tabela 4 - Determinação da acidez total titulável (ATT) da casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.....  | 44 |
| Tabela 5 - Determinação de fenólicos totais da casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.....              | 45 |
| Tabela 6 - Atividade da peroxidase (POD) em casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.....                 | 47 |
| Tabela 7 - Atividade da polifenoloxidase (PPO) em casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.....           | 48 |

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO.....   | 12 |
| 2. OBJETIVOS.....  | 14 |
| 2.1 Objetivo geral.....  | 14 |
| 2.2 Objetivos específicos.....   | 14 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA.....  | 15 |
| 3.1 Cajazeira ( <i>Spondias mombin</i> L.).....  | 15 |
| 3.2. Os Aspectos botânicos da cajazeira.....   | 16 |
| 3.3. Aspectos gerais de cultivo da cajazeira.....  | 17 |
| 3.4. Aspectos nutricionais e de uso do Cajá.....   | 17 |
| 3.5. Banco de Germoplasma de Cajá da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA).....  | 19 |
| 3.6. Fisiologia pós-colheita.....  | 21 |
| 3.6.1 Análises pós-colheita .....  | 23 |
| 3.6.1.1 Sólidos solúveis totais.....   | 23 |
| 3.6.1.2 Acidez titulável e pH .....  | 23 |
| 3.7. O papel das enzimas oxidativas no metabolismo pós-colheita.....   | 24 |
| 3.7.1 Oxirredutases.....   | 24 |
| 3.7.1.1. Peroxidases (EC 1.11.1.7).....  | 24 |
| 3.7.1.2. Polifenoloxidasas (EC 1.10.3.1).....  | 28 |
| 3.8 Compostos Fenólicos.....   | 30 |
| 4. ARTIGO CIENTÍFICO.....  | 32 |
| Manuscrito – “Caracterização parcial de enzimas oxidativas e quantificação de compostos fenólicos em frutos de três genótipos de cajazeira ( <i>Spondias mombin</i> L.) nos estádios de maturação verde e maduro”..... | 33 |
| Resumo.....  | 34 |
| 1 Introdução.....  | 35 |
| 2 Material e Métodos.....  | 36 |
| 3 Resultados e discussão.....  | 41 |
| 4 Conclusões.....  | 57 |
| Agradecimentos.....  | 59 |
| Referências.....   | 59 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....   | 63 |
| REFERÊNCIAS.....   | 64 |
| ANEXO A.....   | 71 |
| Normas da Revista Química Nova.....  | 72 |

## 1. INTRODUÇÃO

A produção e o consumo mundial de frutas tropicais ou exóticas vêm apresentando ultimamente um crescimento vertical e conquistando novos mercados devido à constituição das frutas, como fontes fundamentais de vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes.

Segundo o Anuário Brasileiro da Fruticultura, em 2006 o Brasil destacou-se como o terceiro maior produtor mundial de frutas frescas, ficando atrás apenas da China e Índia, com uma produção de cerca de 40 milhões de toneladas por ano, e as exportações alcançaram em torno de 830 mil toneladas sendo o principal destino a União Européia (IBRAF, 2007).

A região Nordeste do Brasil, pelas condições climáticas, apresenta grande diversidade de espécies frutíferas tropicais nativas e exóticas, com boas perspectivas para utilização agroindustrial, que até o momento são pouco exploradas (SOUZA FILHO et al., 2002).

A cajazeira é uma das espécies frutíferas regionais que apresenta grande potencial para aproveitamento industrial, especialmente pela qualidade sensorial do fruto, no entanto seu fruto é altamente perecível, com período de comercialização limitado no máximo a três dias (SANTOS, 2005).

Esse fruto tem participação crescente no agronegócio da região Nordeste, principalmente pela comercialização para consumo, como fruta fresca e como matéria-prima no preparo de sucos, picolés, sorvetes, néctares e geléias (SOARES et al., 2006). O aumento da demanda vem despertando o interesse pelo seu cultivo, porém o incipiente acervo de informações e conhecimentos existentes impede a instalação de pomares comerciais (SOUZA, 1998). A expansão do cultivo da cajazeira, em escala comercial, depende do uso de material propagativo com elevado potencial produtivo e com características qualitativas desejáveis (BOSCO et al., 2000). Em face da falta de pomares comerciais, as agroindústrias ficam totalmente dependentes da produção obtida do extrativismo, que é sazonal e insuficiente para operacionalização das fábricas durante todo o ano.

A deficiência de tecnologias de produção de fruteiras tropicais consiste no principal obstáculo à exploração comercial, tanto para o mercado interno quanto para o externo (PINTO et al., 2003).

Após a colheita de frutas e hortaliças inicia-se uma série de processos bioquímicos degradativos que aceleram a senescência, causando perdas de grande parte da produção. Muitas dessas perdas podem ser atribuídas à ação de enzimas durante a pós-colheita (ZANATTA et al., 2006).

As pesquisas com as espécies de *Spondias* ainda são escassas, existindo questionamentos a serem respondidos (LIMA et al., 2002), como por exemplo, o conhecimento das enzimas e compostos fenólicos presentes nos frutos da cajazeira nos seus diferentes estágios de maturação. Muitas enzimas são responsáveis por alterações na aparência, no sabor e aroma dos frutos *in natura* e em seus produtos industrializados, além disso, o uso delas é bastante amplo, sendo utilizadas na química analítica, na tecnologia de alimentos, agricultura, medicina e estudos ambientais.

Os Bancos de Germoplasma são unidades conservadoras de material genético de uso imediato ou com potencial de uso futuro. O Banco Ativo de Germoplasma de Cajazeira, pertencente à Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, localizado na Zona da Mata Norte Pernambucana, Município de Itambé, é constituído por 33 acessos, sendo cada um deles representado por 1 planta, com uma área total de 4.752 m<sup>2</sup>. Todo material genético foi prospectado em sítios, chácaras e fazendas localizadas na Zona da Mata e Região Metropolitana do Estado (SILVA JÚNIOR et al., 2008).

O presente trabalho objetivou caracterizar parcialmente as enzimas oxidativas e quantificar os compostos fenólicos em frutos de três genótipos de cajazeira (*Spondias mombin* L.), instalados no Banco Ativo de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, no estádio de maturação verde e maduro em suas casca e polpas. Vale salientar que este estudo faz parte de um projeto maior que visa selecionar os genótipos com as melhores características físicas, químicas e sensoriais para a agroindústria.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Geral

O presente trabalho objetivou caracterizar parcialmente as enzimas oxidativas e quantificar os compostos fenólicos em frutos de três genótipos de cajazeira (*Spondias mombin* L.), instalados no Banco Ativo de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, no estágio de maturação verde e maduro.

### 2.2. Específicos

- Determinar o pH, sólidos solúveis, acidez total e compostos fenólicos totais, na casca e polpa dos frutos nos estádios verde e maduro.
- Determinar a atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase na casca e polpa de frutos nos estádios verde e maduro.
- Comparar a variação enzimática entre casca e polpa em frutos de cajá nos diferentes estádios de maturação.
- Indicar o (os) genótipo (os) que expressa(m) melhor as características que interessam ao produtor e à agroindústria.
- Verificar o efeito do pH ótimo e da estabilidade na atividade da peroxidase e polifenoloxidase
- Verificar o efeito da temperatura ótima e da estabilidade na atividade da peroxidase e polifenoloxidase

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Cajazeira (*Spondias mombin* L.)

O Brasil, devido a sua vasta extensão territorial e ampla variação climática, apresenta uma das maiores diversidades de espécies frutíferas do mundo. As regiões Norte e Nordeste em especial, pelas condições climáticas, produzem grande número de frutas tropicais com boas perspectivas para exploração econômica (CLEMENTE, 1982).

Dentre as espécies frutíferas tropicais nativas e exóticas inclui-se a cajazeira (*Spondias mombin* L.), que é uma árvore frutífera da família *Anacardiaceae* e do gênero *Spondias*, o qual inclui a cerigueira (*Spondias purpurea* L.), a cajaraneira (*Spondias cytherea* Sonn.), o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Câm.), a umbu-cajazeira e a umbugueira (*Spondias spp*) (SACRAMENTO & SOUZA, 2000).

O gênero *Spondias* tem a seguinte posição taxonômica: Domínio- *Eukarya*; Reino- *Plantae*; Filo- *Anthophyta*; Divisão- *Spermatophyta*; Subdivisão- *Angiospermae*; Classe- *Eudicotyledoneae*; Subclasse- *Archichlamidae*; Ordem- *Sapindales*; Família *Anacardiaceae*; Tribo- *Spondiadeae*; Gênero- *Spondias* L. A descrição e a classificação botânica da espécie foram efetuadas em 1753 pelo botânico Carolus Linnaeus, recebendo a denominação de *Spondias mombin* L., o nome genérico significa ameixa em alusão ao fato de que alguns naturalistas ao relatarem sobre a espécie, compararam o cajá ao fruto da ameixeira (*Prunus domestica* L.) (BARROSO et al., 1999).

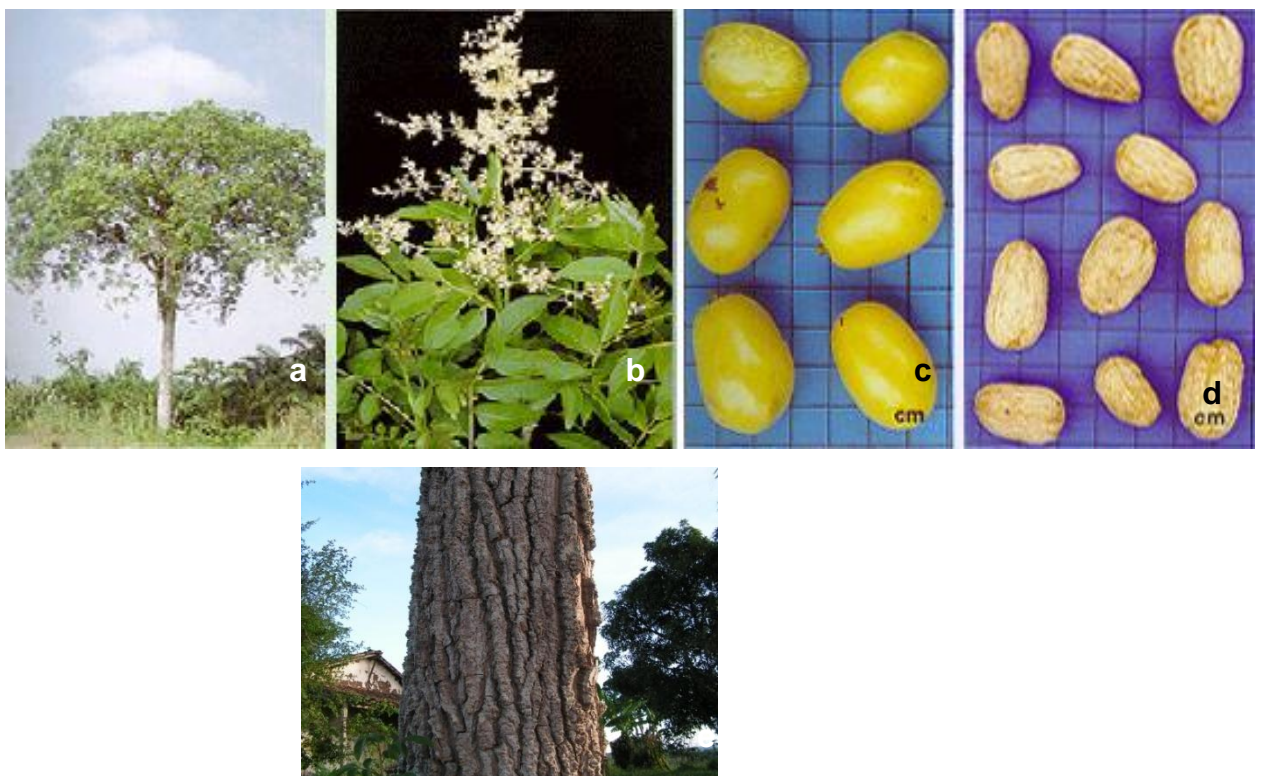
A cajazeira encontra-se dispersa nas regiões tropicais da América, África e Ásia (SACRAMENTO & SOUZA, 2000). No Brasil, as cajazeiras são encontradas isoladas ou agrupadas, notadamente nas regiões Norte e Nordeste (SOUZA, 2000). Seu fruto é conhecido como taperebá, cajazeira-miúda, cajá-pequeno, cajazeira, cajá-mirim e cajá (BOSCO et al., 2000).

Essa espécie é explorada extrativamente ou em pomares domésticos e não faz parte das estatísticas oficiais, mas, mesmo assim, tem grande importância socioeconômica para as regiões Norte e Nordeste do Brasil (SOUZA, 1998).



### 3.2. Os Aspectos botânicos da cajazeira

A cajazeira (Figura 1) é originária da América Tropical e encontra-se amplamente disseminada no Brasil. Esta fruteira tem 20 - 25 m de altura, folhas compostas pinadas e tronco revestido por casca grossa e rugosa que esgalha e ramifica na parte terminal, o que confere um porte alto à planta. A copa é ampla, vistosa e imponente quando em fase de floração e frutificação (SOUZA & BLEICHER, 2002).



**Figura 1.** Foto ilustrativa da *Spondias mombin* L: (a) Árvore; (b) Folhas e flores; (c) Fruto; (d) Endocarpo e (e) Tronco.

O fruto da cajazeira é caracterizado como drupa de 3 a 6 cm de comprimento, ovóide ou oblongo, achatado na base, cor variando do amarelo ao alaranjado, succulento, de sabor ácido-adocicado (SILVA & SILVA, 1995). O endocarpo, comumente chamado de caroço, é grande, branco, súbero-lignificado e enrugado contendo 2 a 5 lóculos (SACRAMENTO & SOUZA, 2000) e de zero a cinco sementes por endocarpo (SOUZA et al. ,1999).

### **3.3. Aspectos gerais de cultivo da cajazeira**

A cajazeira desenvolve-se bem nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, em clima úmido, subúmido, quente, temperado-quente e resiste a longo período de seca. Entretanto, a espécie não é considerada xerófita, pois a alta resistência à seca deve-se, em parte, ao acúmulo de foto-assimilados e reservas nutritivas nas túberas formadas nas raízes (SACRAMENTO & SOUZA, 2000).

Esta fruteira adapta-se bem ao clima quente e úmido com chuvas de outono e inverno, com médias pluviométricas acima de 600 mm, temperatura média de 24°C, umidade relativa em torno de 80% e alta intensidade de insolação (3.500 horas de sol por ano). Apresenta bom crescimento e desenvolvimento tanto em solos de baixada quanto de relevo pouco íngreme, não sujeitos ao encharcamento, de textura média, de acidez forte e medianamente férteis (CASSIMIRO, 2008).

A disseminação das sementes é feita por animais e pela água. Podendo propagar-se por rebentos de raízes (SOARES, 1998), estacas de caule (SOUZA & LIMA, 2005), cultura de tecidos (MEDEIROS et al., 2000) e garfagem. Segundo Souza et al. (1999) e Souza (2000), a propagação por garfagem tem se destacado como o método mais apropriado e eficiente, com altos índices de pega, possibilitando a formação de mudas para o plantio aos 60 dias após a enxertia.

### **3.4. Aspectos nutricionais e de uso do Cajá**

A qualidade dos frutos é atribuída aos caracteres físicos que respondem pela aparência externa, entre os quais se destacam o tamanho, a forma do fruto e a cor da casca. Essas características estão relacionadas ao conjunto de atributos referentes à aparência, sabor, odor, textura e valor nutritivo (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

O cajá é um fruto rico em carotenóides, açúcares, taninos e vitamina C (MATTIETTO, 2005; BARROSO et al., 1999) e alto teor de pró-vitamina A (RODRIGUES-AMAYA & KIMURA, 1989). Segundo Bora et al. (1991), na polpa do fruto são encontrados em média

420mg/100g de taninos. E segundo Mattietto (2005), o valor de carotenóides obtidos na polpa do cajá é de 28,30µg/g.

Convêm ressaltar que as características físico-químicas (Tabela 1) das frutas de uma determinada espécie variam, além do fator genético, com o local, a época de colheita, o estágio de maturação, os tratos culturais e outros (MATTIETTO, 2005).

**Tabela 1.** Características físico-químicas de cajás nos diferentes estádios de maturação segundo Bora et al. (1991).

| Origem da fruta<br>Característica | Unidade               | Resultados     |        |        |
|-----------------------------------|-----------------------|----------------|--------|--------|
|                                   |                       | Itabaiana – PB |        |        |
|                                   |                       | Verde          | De vez | Maduro |
| Umidade                           | g/100g                | 87,28          | 88,14  | 87,15  |
| Proteína                          | g                     | 0,26           | 0,26   | 0,24   |
| Lipídeos                          | g                     | -              | -      | -      |
| Fibra                             | g                     | 1,17           | 1,27   | 1,11   |
| Açúcares totais                   | g                     | 5,06           | 6,32   | 5,40   |
| Açúcares redutores                | g                     | 4,81           | 6,02   | 5,21   |
| Ph                                |                       | 3,25           | 3,31   | 3,56   |
| Sólidos solúveis totais (SST)     | °Brix                 | 11,04          | 12,50  | 11,66  |
| Acidez                            | g (ac. cítrico)       | 1,87           | 3,31   | 1,49   |
| SST/Acidez                        |                       | 5,92           | 7,10   | 7,82   |
| Pectina                           | g (pectato de cálcio) | 0,09           | 0,06   | 0,05   |
| Cinzas                            | g                     | 0,65           | 0,60   | 0,73   |
| Cálcio                            | mg                    | 32,53          | 27,50  | 23,5   |
| Fósforo                           | mg                    | 27,20          | 24,50  | 26,21  |
| Ferro                             | mg                    | 1,40           | 1,00   | 1,00   |
| Vitamina C                        | mg                    | 25,70          | 23,21  | 13,49  |
| Taninos                           | g (ac. tânico)        | 0,40           | 0,43   | 0,43   |
| Amido                             | g                     | 0,89           | 0,25   | Traços |

Devido à sua elevada acidez o cajá é pouco consumido *in natura*, mas é muito utilizado na produção de polpas, sucos, refresco, licores, picolés, sorvetes, néctares e geléias de excelente qualidade (SACRAMENTO & SOUZA, 2000), aumentando a sua importância sócio-econômica e o interesse dos fruticultores e agroindústrias na sua exploração comercial (SOUSA et al., 1999; SOUZA, 2000).

A cajazeira, além do aproveitamento do fruto para o consumo humano, apresenta potencial de exploração farmacológica. Pesquisas científicas confirmaram as ações terapêuticas do cajá como um antifúngico e antiviral natural (PADETEC, 2007; MATTIETTO, 2005). A casca possui propriedades antidiarréica e as folhas são usadas contra as dores de estômago, complicações do parto e enfermidades dos olhos e laringe (ALVES et al., 2000).

O conhecimento existente sobre essa fruteira é restrito e a maioria das informações são descritivas e referem-se às características botânicas, sendo importante a necessidade de pesquisas visando a fixação de genótipos com características agronômicas superiores, domesticação e cultivo em escala comercial (CASSIMIRO, 2008).

### **3.5. Banco de Germoplasma de Cajá da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA)**

Os Recursos genéticos são fontes naturais de diversidade biológica e variabilidade genética. O germoplasma é a estrutura física vegetal, animal ou de microorganismos, dotada de caracteres hereditários, capaz de gerar um novo indivíduo, transmitindo suas características de geração em geração. No caso das plantas, as mesmas podem ser representadas por sementes, mudas, estacas ou outra parte que possa transmitir suas características hereditárias. Através do melhoramento genético realiza-se manipulação genética que objetiva o melhoramento do germoplasma para a obtenção de espécies vegetais com caracteres específicos (RIBEIRO, 1995).

Os Bancos de Germoplasma são unidades conservadoras de material genético de uso imediato ou com potencial de uso futuro, onde não ocorre o descarte de acessos. São considerados "ativos" aqueles que estão próximos ao pesquisador, nos quais ocorre o intercâmbio de germoplasma e plantios freqüentes para caracterização, o que proporciona a conservação apenas a curto e mediano prazos (VEIGA, 2009)

No mundo e no Brasil existem, respectivamente, 287 e 117 bancos de germoplasma (VEIGA, 2009). Dentre estes se encontra o Banco Ativo de Germoplasma de cajazeira (Figura

2), implantado na Estação Experimental de Itambé (Figura 3), pertencente à Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA (7°24'50'' de latitude sul e 35°06'30'' de longitude oeste), localizada na Zona da Mata Norte Pernambucana, Município de Itambé, altitude de 190 m acima do nível do mar, solo classificado como Podzólico vermelho-amarelo. O clima é do tipo AS', na classificação de Köppen, tropical chuvoso (quente e úmido), com índice pluviométrico médio de 1200 mm/ano, temperatura máxima de 30°C e mínima de 20°C e umidade relativa do ar de 80%. O Banco de Germoplasma de Cajazeira, instalada em julho de 1990, é constituído por 33 acessos, sendo cada um deles representados por 1 planta, com um área total de 4.752 m<sup>2</sup>. As mudas foram obtidas por meio de semente e plantadas no espaçamento 12x12 m. Todo material genético foi prospectado em sítios, chácaras e fazendas localizadas na Zona da Mata e Região Metropolitana do Estado (SILVA JÚNIOR et al., 2008).



**Figura 2.** Foto ilustrativa do Banco de Germoplasma de Cajá da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA).



**Figura 3.** Mapa de Pernambuco com a localização do Banco de Germoplasma de Cajá da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), em Itambé.

O manejo cultural das plantas é realizado através de podas de limpeza de copa, adubação em cobertura, de acordo com os resultados de análises do solo, e controle fitossanitário. Desde o ano de 2007 todas as plantas estão sendo irrigadas, a partir da instalação de um sistema de microaspersão. Nestes bancos estão sendo avaliadas as seguintes características: agrônômicas (produção em peso de fruto e produção de frutos por plantas); físicas (peso do fruto, diâmetro longitudinal e transversal do fruto, rendimento de polpa, peso da casca e peso da semente) e físico-químicas (sólidos solúveis totais, acidez total titulável, relação sólido solúveis totais e acidez total titulável). Dos 33 acessos do banco apenas 3 estão caracterizados quanto às características físicas e físico-químicas de frutos. Os demais acessos serão caracterizados a partir dos frutos coletados em safras posteriores (LIRA JÚNIOR et al., 2008).

### **3.6. Fisiologia pós-colheita**

Os frutos passam por uma série de transformações durante o seu processo de desenvolvimento, resultante do seu metabolismo. Este desenvolvimento geralmente é dividido em três estágios: crescimento, maturação e senescência. O amadurecimento corresponde às mudanças nos fatores sensoriais como sabor, odor, cor e textura que tornam o fruto aceitável para o consumo, sendo algumas dessas mudanças detectadas pela análise das transformações físicas visíveis, ou pelas endógenas, como por exemplo, mudanças nos teores de pigmentos, ácidos, taninos, carboidratos e pectinas (MOURA et al., 2003; AWAD, 1993; CHITARRA & CHITARRA, 1990).

Os frutos são divididos em dois grandes grupos distintos com relação aos mecanismos de amadurecimento: os frutos climatéricos e os não climatéricos (KERBAUY, 2004).

Os frutos não climatéricos devem estar no estágio ótimo de amadurecimento comestível, à época da colheita. Dentre os frutos não climatéricos podem ser citados: cereja, figo, uva, cítricos, melão, morango, abacaxi e goiaba.

O climatério é uma fase na qual novas enzimas são sintetizadas para catalizar o processo de amadurecimento (CHITARRA & CHITARRA, 1990). Segundo Sampaio et al.

(2007), o cajá é um fruto climatérico, que caracteriza-se por uma série de mudanças bioquímicas marcadas pela produção autocatalítica de etileno, marcando a transição do desenvolvimento à senescência, envolvendo um aumento na respiração e condução ao amadurecimento. A maioria dos frutos apresenta padrão climatérico de desenvolvimento e dentre eles encontram-se: maçã, abacate, banana, manga, maracujá, mamão, pêra, pêssego, ameixa e tomate conforme descrito em Chitarra e Chitarra (1990). O início do climatério ocorre aproximadamente quando o fruto atinge seu tamanho máximo, e a maturação pode ocorrer na planta ou fora dela (AWAD, 1993).

Moura et al. (2003), em sua pesquisa sobre Evolução do Crescimento e da Maturação de Frutos de Cajazeira citam que a partir do terceiro dia após a abertura dos botões florais (antese), inicia-se o surgimento de frutos (formação da polpa) e observa-se nos frutos o aumento de pesos fresco e seco, diâmetro, comprimento e volume. Quando a maturação foi atingida, aproximadamente 117 dias após a antese, o fruto necessitou de 6 dias (123 dias após a antese) para o completo amadurecimento na planta. O ciclo de desenvolvimento, compreendendo o crescimento, maturação e amadurecimento, foi em média de 124 dias a partir da antese.

Na fase 1, o crescimento propriamente dito, o fruto estende-se até aproximadamente 97 dias após a abertura da flor, na qual observa-se maior taxa de crescimento, caracterizado pelo aumento do comprimento e diâmetro, e do acúmulo de pesos fresco e seco. O volume do fruto aumenta continuamente durante todo período de desenvolvimento, resultante principalmente, do aumento do comprimento na primeira e segunda fase (MOURA et al., 2003).

A fase 2, a maturação, estende-se, aproximadamente, dos 97 aos 117 dias após a antese, e é caracterizada por uma desaceleração da taxa de crescimento, onde os frutos apresentaram taxas mais baixas de aumento de comprimento e diâmetro, e acúmulo de pesos fresco e seco. O aumento do volume do fruto, nesta fase, ocorreu mediante aumento conjunto do comprimento e diâmetro (MOURA et al., 2003).

A fase 3 do desenvolvimento inicia-se em torno de 117 dias após a antese, e é caracterizado pelo amadurecimento do fruto. O amadurecimento pleno, dando início aos

sinais de abscisão ocorre aos 125 dias após antese. Nesta fase, os frutos completam o desenvolvimento, atingindo a maturação comercial, a qual está relacionada com seu uso final, consumo *in natura* a curto prazo ou processamento (AWAD, 1993), sendo caracterizada por profundas modificações na textura e nos pigmentos, refletida pela mudança da cor verde escuro (Figura 4), característica do início da maturação, para amarelo intenso (Figura 5), no decorrer de 25 dias entre a maturação e o amadurecimento (MOURA et al., 2003).

Após a colheita das frutas inicia-se uma série de processos bioquímicos degradativos que aceleram a senescência, causando perdas de grande parte da produção. Muitas dessas perdas podem ser atribuídas à ação de enzimas e a quantidade de compostos fenólicos durante a pós-colheita (ZANATTA et al., 2006; MARTINS et al., 2004).



**Figura 4.** Foto do Cajá verde



**Figura 5.** Foto do Cajá maduro

### 3.6.1 Análises pós-colheita

#### 3.6.1.1 Sólidos solúveis totais

O teor de sólidos solúveis totais (SST) representa os compostos solúveis em água presentes nos frutos, como açúcares, vitaminas, ácidos, aminoácidos e algumas pectinas. O teor de SST é dependente do estágio de maturação no qual o fruto é colhido e geralmente aumenta durante a maturação pela biossíntese ou degradação de polissacarídeos (CHITARRA & CHITARRA, 1990; CAVALINI, 2004).

#### 3.6.1.2 Acidez titulável e pH



Há duas formas que descrevem a acidez de um produto, o pH e a acidez titulável (ANDREUCETTI, 2005). A acidez total titulável de um fruto é dada pela presença dos ácidos orgânicos. O teor desses ácidos tende a diminuir durante o processo de maturação devido à oxidação dos ácidos no ciclo dos ácidos tricarbóxicos em decorrência da respiração (CAVALINI, 2004), sendo fundamentais na síntese de compostos fenólicos, lipídios e aromas voláteis (CHITARRA & CHITARRA, 1990). Assim, a variação da acidez pode ser um indicativo do estágio de maturação do fruto, já que a acidez decresce em função do avanço da maturação (CAVALINI, 2004).

O termo pH é usado para descrever o grau de acidez ou alcalinidade de um alimento. A escala de pH é baseada no número de íons  $H_3O^+$  presentes numa solução. Para pH igual a sete, as concentrações de  $H_3O^+$  e  $OH^-$  são iguais (neutralidade). O pH com valor inferior a sete indica uma solução ácida e superior a sete indica uma solução alcalina (SADLER e MURPHY, 1998).

### **3.7. O papel das enzimas oxidativas no metabolismo pós-colheita**

As pesquisas com as espécies de *Spondias* ainda são escassas, existindo questionamentos a serem respondidos (LIMA et al., 2002), como por exemplo, o conhecimento das enzimas presentes nos frutos da cajazeira nos seus diferentes estágios de maturação. Muitas enzimas são responsáveis por alterações na aparência, no sabor e aroma dos frutos naturais e processados, além disso, o uso delas é bastante amplo. As enzimas são utilizadas na química analítica, na tecnologia de alimentos, agricultura, medicina e estudos ambientais (FATIBELLO-FILHO & VIEIRA, 2002). Os vegetais são alternativas de fontes enzimáticas que podem ser utilizadas *in natura* ou como extrato bruto (ZERAİK, 2008). Dentre as enzimas responsáveis pelas alterações no cajá destaca-se as oxirredutases: peroxidase e polifenoloxidase.

#### **3.7.1. Oxirredutases**

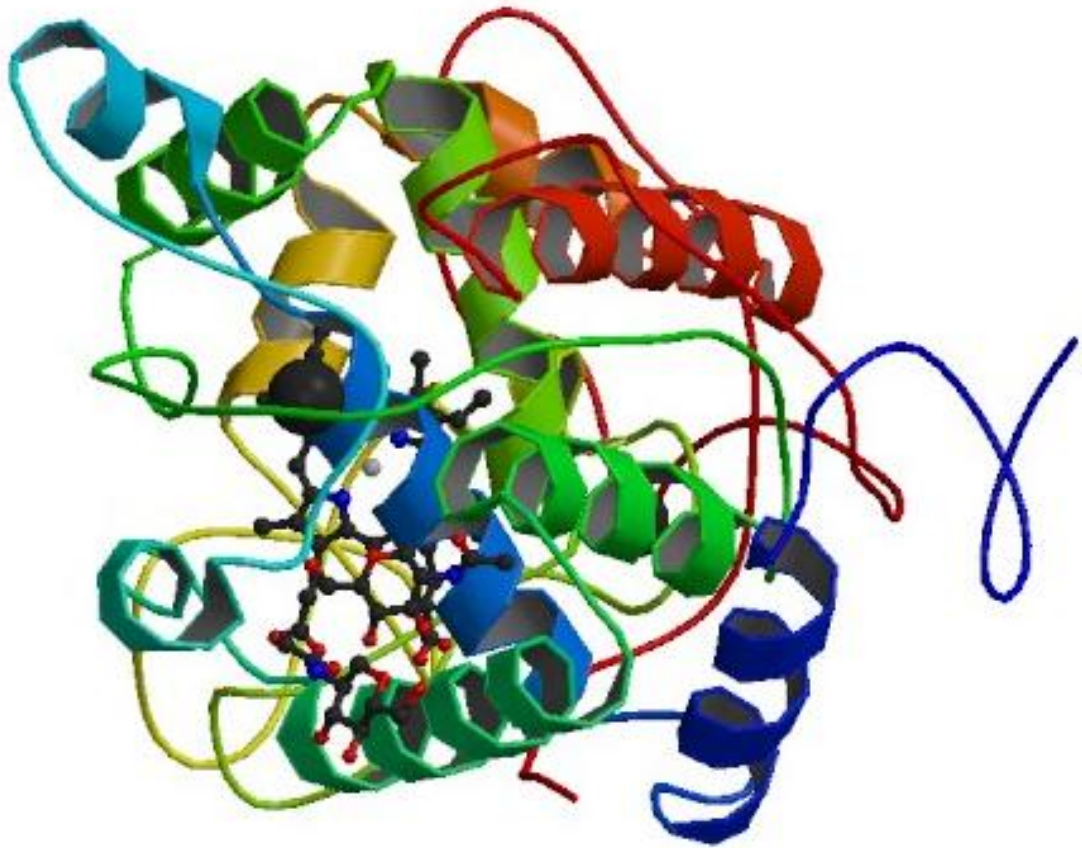
##### **3.7.1.1. Peroxidases (EC 1.11.1.7)**

As peroxidases (POD) são enzimas pertencentes ao grupo das oxirredutases (EC 1.11), sendo capaz de catalisar um grande número de reações oxidativas em plantas usando peróxido como substrato, ou, em alguns casos, oxigênio como um aceptor de hidrogênio, ou seja, catalisam a redução do peróxido de hidrogênio, enquanto um doador de elétrons é oxidado (FREITAS et al., 2008).

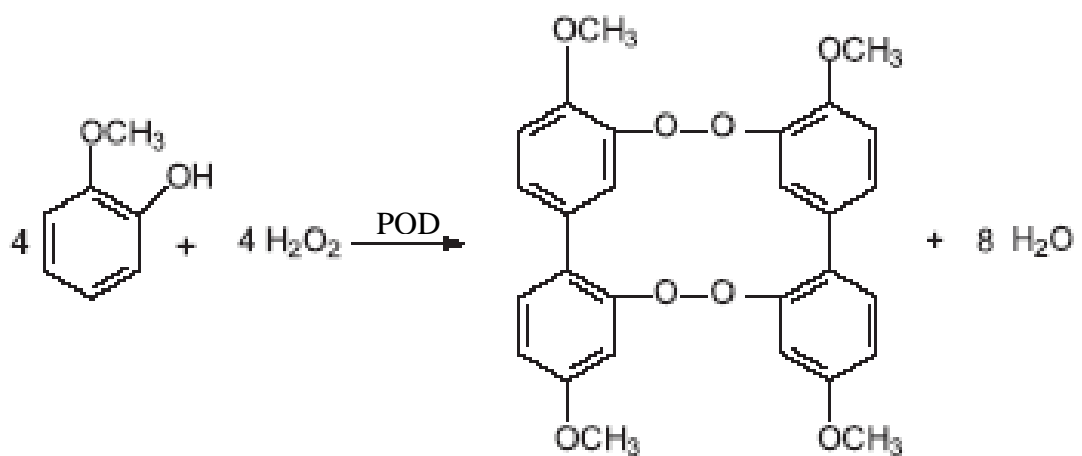
Essas enzimas são responsáveis pela deterioração oxidativa de muitos vegetais durante o armazenamento e está envolvida em diversas reações biológicas, como: reações de oxidação, ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, estresse fisiológico, oxidação de fenóis, infecções nos vegetais, regulação da elongação de células e outras. A investigação desse grupo de enzimas tem sido de grande importância para a tecnologia de alimentos, uma vez que a continuidade da atividade enzimática pode ocasionar mudanças na cor, variações de aroma, alterações no teor de vitaminas e mudanças na textura (FREITAS et al., 2008; GASPAR et al., 1982; KAO, 2003; CAMPOS et al., 2004; MACIEL et al., 2007).

Estruturalmente, as peroxidases podem ser divididas em quatro classes: peroxidases bacterianas, peroxidases de origem animal, peroxidases fúngicas e peroxidases de plantas. As peroxidases podem também ser divididas quanto à presença de um grupo heme, ou seja, podem ser classificadas como hêmicas e não-hêmicas (MARAÑÓN & VAN HUUSTEE, 1994).

A enzima peroxidase (Figura 6) possui um grupo prostético ferriprotoporfirina ( $Fe^{+++}$ ) pertencente à classe das hemeproteínas, o qual influencia as reações químicas catalisadas por esta enzima. A função da peroxidase é proteger os tecidos animal e vegetal contra os efeitos tóxicos do  $H_2O_2$  formado durante o metabolismo celular. A remoção do  $H_2O_2$  em nível celular, evita a formação do oxigênio singlete pela reação com o  $O_2$ . A POD oxida compostos fenólicos somente na presença do  $H_2O_2$ . Sua detecção, medida por espectrofotometria, é baseada no desenvolvimento da cor na presença do substrato: guaiacol-água oxigenada. O complexo peroxidase-peróxido formado oxida o guaiacol (incolor), transformando-o em um produto final colorido (o tetraguaiacol), conforme reação ilustrada na Figura 7 (ARAÚJO, 2004).



**Figura 6.** Estrutura da enzima peroxidase (Protein Date Bank/ PDB)



**Figura 7.** Esquema da reação na qual a enzima peroxidase converte o guaiacol e o peróxido de hidrogênio em tetraguaiacol (composto colorido) (FATIBELLO-FILHO & VIEIRA, 2002).

As peroxidases (POD) estão localizadas nas células das frutas e vegetais na forma parcialmente solúvel no citoplasma e parcialmente insolúvel quando ligada covalentemente e ionicamente à parede das células (VAMOS-VIGYÁGO, 1981; CLEMENTE, 1998). Durante o período de maturação, há um aumento da atividade enzimática devido ao aumento da solubilidade da enzima com o grau de maturação (LAURENTE & CLEMENTE, 2005). Por essa razão, tem sido considerada uma das principais enzimas responsáveis pela qualidade e deterioração em muitas frutas (MELLO & CLEMENTE, 1996). Muitos trabalhos têm sido realizados sobre a atividade enzimática da peroxidase em frutas e vegetais industrializados, com o objetivo de obter a inativação dessa enzima, sem perda das qualidades nutricionais e do “flavor” do alimento (ALVIM & CLEMENTE, 1998).

Diversas são as fontes vegetais de peroxidase, como pêssego (*Prunus persica*), inhame (*Alocasia macrorrhiza*), mandioca (*Manihot utilissima*), alcachofra (*Cynara scolymus L.*), batata doce (*Ipomoea batatas (L.) Lam.*), nabo (*Brassica campestris ssp. rapifera*), rabanete (*Armoracia rusticana*), abobrinha (*Cucúrbita pepo*) e outras (FATIBELLO-FILHO & VIEIRA, 2002). A fonte vegetal comercial mais utilizada de peroxidase é a raiz forte, que é geralmente cultivada e colhida em países de clima frio (MACIEL et al., 2006).

Na produção de sucos de frutas, muitas vezes se inclui a casca da fruta, e isto contribui geralmente para o aumento da atividade da POD no meio (CLEMENTE, 1996). A POD é uma enzima resistente a elevadas temperaturas e sua inativação tem sido frequentemente usada como índice da efetividade do branqueamento, tratamento térmico aplicado em alimentos para inibir a ação das enzimas. A perda dessa atividade enzimática num produto branqueado indica uma perda correspondente da atividade para outras enzimas de deterioração (ESKIN, 1990; LAURENTE & CLEMENTE, 2005). Segundo Araújo (2004), na maioria dos casos, o branqueamento entre 90-100°C/3 min é o suficiente para destruir a POD e conseqüentemente as demais enzimas e os microorganismos patogênicos presentes.

A peroxidase é importante do ponto de vista nutricional, de coloração e de *flavor*, devido à sua atividade levar à destruição da vitamina C e a descoloração de carotenóides e antocianinas, além de catalisar (grupo heme) a degradação não-enzimática de ácidos graxos insaturados, com a conseqüente formação de compostos voláteis (ARAÚJO, 2004; MACIEL et al., 2006).

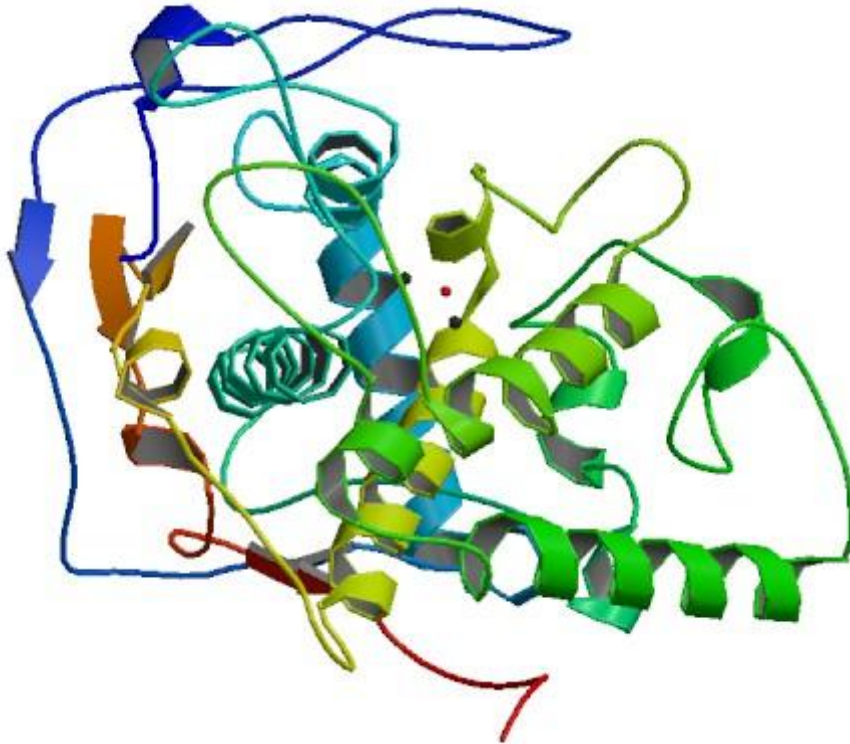
### 3.7.1.2. Polifenoloxidasas (EC 1.10.3.1)

As polifenoloxidasas (PPO), Figura 8, são enzimas pertencentes ao grupo das oxirredutases. São enzimas intracelulares encontradas em microorganismos e na maioria dos vegetais, principalmente em frutas.

Quando a maioria das frutas e vegetais é amassada, cortada ou triturada, rapidamente se torna escura, pois a enzima é exclusiva dos plastídeos e quando há o comprometimento da estrutura celular, pela alteração nas membranas, a mesma entra em contato com compostos fenólicos armazenados preferencialmente no vacúolo.

O escurecimento é iniciado pela oxidação enzimática de compostos fenólicos pela polifenoloxidasas. A ação dessas enzimas em várias frutas e vegetais *in natura*, processados e congelados, acarreta perdas econômicas consideráveis, diminuição da qualidade nutritiva, alterações do sabor desses alimentos, além de resultar, na maioria dos casos, em produtos com aparência ruim, os quais são rejeitados pelos consumidores. Embora indesejado na maioria dos casos, o escurecimento oxidativo em chá, café, cacau e ameixa seca é desejável (ARAÚJO, 2004; MAZZAFERA et al., 2002; LIMA et al., 2001).

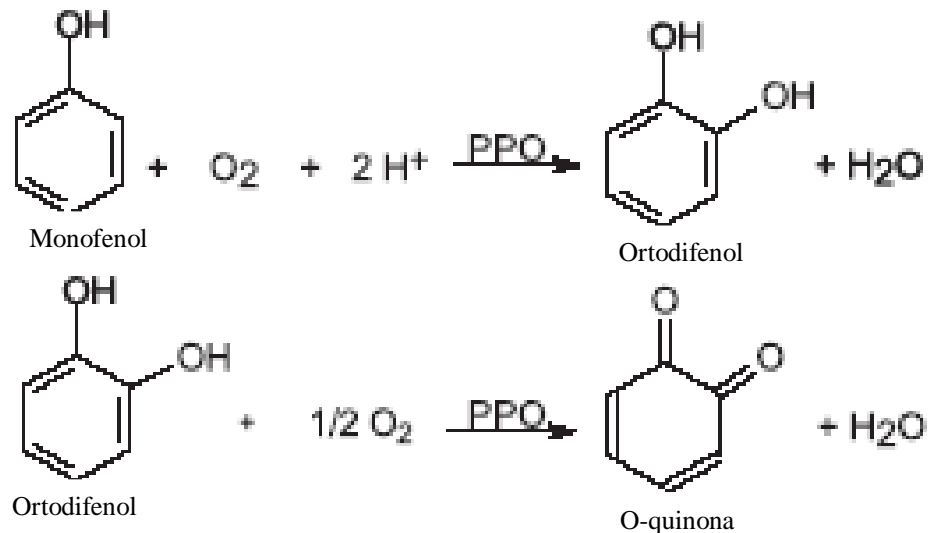
A PPO é encontrada em praticamente todos os tecidos vegetais, em concentrações especialmente altas em cogumelos, batata, pêssego, maçã, banana, manga, folhas de chá, abacate e café. As reações de escurecimento enzimático que envolvem a PPO ocorrem nos vegetais durante o processamento, armazenamento, mecanismo de defesa e durante a senescência quando a integridade da célula é rompida. Sua atividade pode variar em função da variedade, do estágio de maturação (sendo menor em frutos ou vegetais não amadurecidos) e das condições de cultivo (PIMENTA, 2001; CAMPOS et al., 2004; GOMES et al., 2001; ARAÚJO, 2004; FATIBELLO-FILHO & VIEIRA, 2002).



**Figura 8.** Estrutura da enzima polifenoloxidase (Protein Data Bank/ PDB)

Mazzafera et al. (2002), explicam que a oxidação de fenóis se dá em função da captura de elétrons por dois átomos de cobre que se encontram no sítio ativo da enzima, havendo o consumo de oxigênio durante o processo. A PPO contém cobre no centro ativo e catalisa dois tipos de reações (Figura 9), ambas envolvendo oxigênio. A primeira reação corresponde à hidroxilação de monofenóis formando orto-difenóis e a segunda à oxidação de orto-difenóis formando orto-quinonas. Os fenóis possuem, pelo menos, um anel benzênico, com um ou mais grupos hidroxila, livres ou substituídos. Algumas formas de fenóis podem ser convertidas em derivados com radicais de oxigênio, extremamente reativos. As polifenoloxidases atuam sobre uma grande variedade de substratos: citase p-cresol, tirosina e ácido p-cumárico como substratos monofenólicos, enquanto catecol, diidroxifenilalanina e ácido clorogênico são substratos difenólicos (VAMOS-VIGYAZO, 1981; GOMES et al., 2001; CAMPOS et al., 2004).

Na Figura 9 observa-se a formação de quinonas pela oxidação das hidroxilas fenólicas do catecol. A formação da quinona é dependente do oxigênio e da enzima. Uma vez formadas, as reações subseqüentes ocorrem espontaneamente, não dependendo mais da enzima nem do oxigênio (ARAÚJO, 2004; GOMES et al., 2001).



**Figura 9.** Reação de oxidação catalítica, pela PPO, do monofenol e ortodifenol produzindo o-quinona (FATIBELLO-FILHO & VIEIRA, 2002).

### 3.8. Compostos Fenólicos

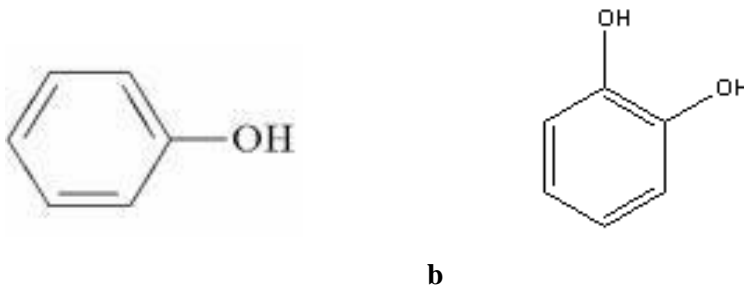
Compostos fenólicos (Figura 10) são bastante diversificados e distribuídos em plantas superiores, sendo encontrados em frutas e verduras onde constituem um dos principais grupos de metabólitos secundários com uma gama de diferentes estruturas e funções, mas geralmente possuem um anel aromático ligado a uma ou mais hidroxilas. Sua distribuição ocorre em todas as partes da planta, porém de forma quantitativa desigual, variando nos diferentes órgãos da mesma planta e ainda dentro de diferentes populações de uma mesma espécie (ROBARDS *et al.*, 1999). Tais compostos apresentam principalmente ações antiinflamatória, antialérgica, anticarcinogênica, antihepatotóxica, antiulcerogênica, antimicrobiana e antioxidante (SILVA et al, 2009)

Os vegetais possuem ampla variedade de compostos fenólicos. Entretanto, apenas uma parte relativamente pequena desses fenóis serve como substrato das enzimas oxidativas. A extensão na qual estes substratos fenólicos contribuem para o escurecimento enzimático depende da sua localização e concentração no substrato, assim como da intensidade de cor dos pigmentos macromoleculares obtidos das quinonas (VAMOS-VIGYÁGO, 1981).

Os compostos fenólicos atuam no mecanismo de defesa dos vegetais. Os fenóis exercem ação protetora e antioxidante. Os fenóis incluem isoflavonas, ácidos cinâmicos, derivados do ácido benzóico, antocianinas, chalconas e flavonóides, e são produzidos na rota do ácido chiquímico (VITTI, 2007).

O processo do escurecimento enzimático é desencadeado quando a integridade da célula é rompida. Nessa ocasião, os substratos fenólicos, de localização vacuolar, entram em contato com as enzimas catalisadoras das reações de oxidações de polifenóis. O escurecimento enzimático ocorre quando os substratos fenólicos, as enzimas, o íon metálico e o oxigênio encontram-se em condições ideais de pH, temperatura e atividade de água (ARTES et al., 1998; VITTI, 2007).

Compostos fenólicos foram encontrados em espécies de *Spondias* como a cajazeira (*Spondias mombin* L.) e o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.), conforme CORTHOOT et al. (1991). Oliveira et al. (2009) avaliaram a atividade antioxidante e compararam ao conteúdo de compostos fenólicos dos clones de cajá e umbu e a padrões antioxidantes. E Alves et al. (2000) também detectaram a presença de compostos fenólicos na caracterização da porção comestível do cajá em dois estádios de maturação.



**Figura 10.** Estrutura de compostos fenólicos: (a) ácido fênico (fenol) e (b) catecol (SILVA et al., 2009)



#### **4. ARTIGO CIENTÍFICO**

Os resultados, discussão e conclusões pertinentes a essa dissertação estão descritos no artigo intitulado “Caracterização parcial de enzimas oxidativas e quantificação de compostos fenólicos em frutos de três genótipos de cajazeira (*Spondias mombin* L.) nos estádios de maturação verde e maduro” a ser encaminhado para a revista Química Nova cujas normas encontram-se no anexo A.

**Caracterização parcial de enzimas oxidativas e quantificação de compostos fenólicos em frutos de três genótipos de cajazeira (*Spondias mombin* L.) nos estádios de maturação verde e maduro**

Isabel Cristina Solano Guerra <sup>a</sup>, Milena Fernandes da Silva<sup>a</sup>, Naíra Paes de Moura <sup>b</sup>, Maria Taciana Holanda Cavalcanti <sup>c</sup>, Ana Lúcia Figueiredo Porto <sup>c</sup>, Samara Alvachian Cardoso Andrade<sup>d</sup>, Maria Inês Sucupira Maciel\* <sup>b</sup>.

<sup>a</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química. Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos. Recife/PE, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) Dept<sup>o</sup> de Ciências Domésticas (DCD). Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos. Recife/PE, Brasil

<sup>c</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) Dept<sup>o</sup> de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA). Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos. Recife/PE, Brasil

<sup>d</sup> Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Dept<sup>o</sup> de Engenharia Química. Av. Moraes Rego, Cidade Universitaria, Recife/PE, Brasil

\* Autor para correspondência. Tel. +55 81 3320 - 6536

Fax: +55 81 3320 - 6536

E-mail: m.ines@dcd.ufrpe.br

## Resumo

Este estudo objetivou caracterizar parcialmente as enzimas oxidativas e quantificar os compostos fenólicos em frutos de três genótipos de cajazeira (*Spondias mombin* L.) nos estádios de maturação verde e maduro, instalados no Banco Ativo de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA. Foram utilizados frutos verdes e maduros dos genótipos IPA 2.1, IPA 4.1 e IPA 6.1 com casca rígida e, respectivamente, de coloração totalmente verde e amarela. Após a coleta os frutos foram transportados, lavados, sanitizados e separados em: casca e polpa. Foram determinados os sólidos solúveis totais (SST), a acidez total titulável (ATT), o pH e os compostos fenólicos totais. Em seguida, o extrato bruto foi obtido utilizando-se EDTA,  $\text{CaCl}_2$  e PEG 10.000 e as atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) foram determinadas, como também a quantificação de proteínas solúveis. Com a maturação dos frutos detectou-se uma diminuição no teor de compostos fenólicos e nos teores de ATT, um aumento no conteúdo dos sólidos solúveis totais e o pH manteve-se estável nos diferentes estádios para polpa do IPA 2.1 e 4.11, enquanto no genótipo IPA 6.1 houve um aumento no pH durante o amadurecimento. Em frutos de cajá tanto na casca quanto na polpa no estágio de maturação maduro a enzima POD apresentou maior atividade que no estágio de maturação verde. Entre as médias da atividade da PPO em casca e polpa dos frutos dos genótipos de cajazeira em ambos os estádios de maturação apresentou diferença significativa, com maior atividade nas cascas, exceto para o genótipo IPA 4.1 verde. Dentre os genótipos no estágio maduro, o que apresentou maior atividade enzimática para POD e PPO no conjunto casca e polpa foi o IPA 6.1, exceto para o genótipo IPA 4.1 verde. Através da caracterização parcial da polpa do genótipo IPA 6.1 foi obtido o pH e temperatura ótima das enzimas POD e PPO, respectivamente, pH 7,0 e 50°C; pH 9,0 e 60°C. Ambas as enzimas mostraram-se estáveis a vários pHs, entre ácidos e básicos, mantendo-se 100% de atividade residual após 180 minutos. Enquanto nas temperaturas estudadas, para a POD manteve 100% de atividade residual após 10 minutos e para PPO apresentou-se relativamente estável nas temperaturas estudadas, mantendo atividade residual de 50% após 10 minutos a 90°C. O perfil enzimático para POD e PPO obtido com o extrato bruto da polpa madura do genótipo IPA 6.1 sugere a presença de isoformas.

**Palavras-chave:** *Spondias mombin* L, peroxidase, polifenoloxidase, compostos fenólicos.

## 1 – Introdução

Atualmente, há uma maior consciência da população sobre a importância do consumo de alimentos saudáveis na prevenção de doenças e na melhoria da qualidade de vida. Isto tem resultado em um aumento mundial no consumo de frutas, que é um alimento de ótima qualidade (AZZOLINI, 2002). As regiões Norte e Nordeste do Brasil, pelas condições climáticas, apresentam grande diversidade de espécies frutíferas tropicais nativas e exóticas, com boas perspectivas para utilização agroindustrial, que até o momento são pouco exploradas (SOUZA FILHO et al., 2002).

Entre as fruteiras exóticas nativas encontra-se a cajazeira (*Spondias mombin* L.), que é uma árvore frutífera da família *Anacardiaceae* e do gênero *Spondias*. Seus frutos são aromáticos, amarelo quando maduros, de sabor agridoce e acidez elevada, contendo carotenóides, açúcares, taninos, vitamina C e alto teor de pró-vitamina A. Tem participação crescente no agronegócio da região Nordeste, principalmente pela sua comercialização como fruta fresca, produção de polpas, sucos, refresco, licores, picolés, sorvetes, néctares e geléias de excelente qualidade, além de apresentar potencial de exploração farmacológica como antifúngico e antiviral natural (SACRAMENTO & SOUZA, 2000; PADETEC, 2007; MATTIETTO, 2005).

O cajá é um fruto altamente perecível, com período de comercialização limitado no máximo a três dias. O aumento da demanda vem despertando o interesse pelo seu cultivo, porém o incipiente acervo de informações e conhecimentos existentes impede a instalação de pomares comerciais (SANTOS 2005; SOUZA 1998).

Após a colheita das frutas e hortaliças inicia-se uma série de processos bioquímicos degradativos que aceleram a senescência, causando perdas de grande parte da produção.

Muitas dessas perdas podem ser atribuídas à ação de enzimas durante a pós-colheita (ZANATTA et al., 2006).

A atividade das enzimas oxidativas é desencadeada quando a integridade da célula é rompida. Nesta ocasião, os substratos fenólicos, de localização vacuolar, entram em contato com as enzimas catalisadoras das reações de oxidação de polifenóis. O processo oxidativo ocorre quando os substratos fenólicos, as enzimas, o íon metálico e o oxigênio se encontram em condições ideais de pH, temperatura e atividade de água (ARTES et al., 1998; VITTI, 2007).

As pesquisas com as espécies de *Spondias* ainda são escassas, existindo questionamentos a serem respondidos (LIMA et al., 2002), como por exemplo, o conhecimento das enzimas e compostos fenólicos presentes nos frutos da cajazeira nos seus diferentes estágios de maturação. Muitas enzimas são responsáveis por alterações na aparência, no sabor e aroma dos frutos *in natura* e em seus produtos industrializados, além disso, o uso delas é bastante amplo, sendo utilizados na química analítica, na tecnologia de alimentos, agricultura, medicina e estudos ambientais (FATIBELLO-FILHO & VIEIRA, 2002).

O presente trabalho objetivou caracterizar parcialmente as enzimas oxidativas e quantificar os compostos fenólicos em frutos de três genótipos de cajazeira (*Spondias mombin* L.) nos estádios de maturação verdes e maduros, instalados no Banco Ativo de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA.

## **2 – Material e Métodos**

### **2.1- Local de desenvolvimento da pesquisa**

As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos (LAFQA), no Laboratório de Tecnologia de Bioativos (Labtecbio) e Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) todos pertencentes a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) em Recife.

## 2.2- Material Vegetal

Foram utilizados 3 genótipos de cajazeira considerados superiores em relação às características agrônômicas do Banco Ativo de Germoplasma de cajazeira da estação experimental de Itambé, pertencente à Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA. O Banco está localizado na Zona da Mata Norte Pernambucana, Município de Itambé a 7°24'50'' de latitude sul e 35°06'30'' de longitude oeste, altitude de 190 m acima do nível do mar, solo classificado como Podzólico vermelho-amarelo. O clima, do tipo AS', na classificação de Köppen, tropical chuvoso (quente e úmido), com índice pluviométrico médio de 1200 mm/ano, temperatura média anual de 24 °C e umidade relativa do ar de 80%. A Coleção de Germoplasma de Cajazeira, instalada em julho de 1990, é constituída por 33 entradas, sendo cada uma delas representada por 1 planta. As mudas foram obtidas por meio de semente e plantadas no espaçamento 12x12 m.

Os frutos de três genótipos de cajazeira foram colhidos manualmente no estágio de maturação verde e maduro levando em consideração a coloração externa e sua textura. Em seguida foram identificados, acondicionados em caixas térmicas (isopor), devidamente refrigerados com gelo e imediatamente transportados ao LAFQA. As atividades enzimáticas foram determinadas espectrofotometricamente no Labtecbio/ UFRPE e LCTV/ UFRPE.

## 2.3 Análises físico-químicas

### 2.3.1 Análise do pH

Utilizou-se pHmetro em eletrodo de vidro e solução tampão de 4 e 7.

### 2.3.2 Determinação dos sólidos solúveis totais (SST)

Utilizou-se um refratômetro manual da marca ATAGO, cujo resultado foi expresso em °Brix.

### 2.3.3 Determinação da acidez total titulável (ATT)

Pelo método titulométrico utilizando uma solução de NaOH 0,1N e como indicador a fenoftaleína descrito pela A.O.A.C. (2002), os resultados foram expressos em percentual de ácido cítrico.

### 2.3.4 Determinação de fenólicos totais

Efetuada pela metodologia proposta por Wettasinghe e Shahidi (1999) usando reagente de Folin-ciocalteu (Merck), tendo a catequina como padrão.

## 2.4- Análises enzimáticas nos frutos

### 2.4.1 Obtenção do extrato bruto enzimático

O método de obtenção do extrato bruto enzimático foi baseado em Pereira (2003). As amostras foram separadas em casca e polpa. Cerca de 1g de matéria fresca foi macerada em nitrogênio líquido, com auxílio de almofariz e pistilo, em seguida adiciono-se 10 mL de Tampão Fosfato de Sódio 0,2M, pH 8,0 contendo EDTA, CaCl<sub>2</sub> e PEG 10.000 na concentração final de 0,01M, 0,2M e 2%, respectivamente. Durante toda essa fase experimental o material vegetal foi retido em banho de gelo à temperatura de,

aproximadamente, 4°C. Os extratos foram centrifugados a 8.000 rpm por 10 min a 4°C, e o sobrenadante foi mantido a -20°C até o momento das análises.

#### 2.4.2 Quantificação de proteínas solúveis

O método proposto para quantificação de proteínas solúveis foi realizado segundo metodologia proposta por Bradford (1976). Foi retirada uma alíquota de 50 µL do extrato bruto enzimático ao qual foi adicionados 1,5 mL do reagente de Bradford (solução diluída do *Coomassie brilliant blue*). A curva padrão foi feita com base em concentrações conhecidas de BSA (albumina soro bovino) e a leitura foi realizada no comprimento de 595 nm.

#### 2.4.3 Atividade da peroxidase [POD (E.C.1.11.1.7)]

Atividade da peroxidase foi realizada segundo metodologia proposta por Fatibello-Filho e Vieira (2002). A atividade da POD foi medida em um sistema de reação contendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e guaiacol como substrato. A mistura de reação foi constituída por 2,7 mL de guaiacol a 0,05M e 0,1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 10,3 mM em Tampão Fosfato de Sódio 0,1M pH 6,5, incubada a 25°C, em cubeta do espectrofotômetro. Em seguida foi adicionado 0,2 mL do extrato enzimático. A variação da absorbância a 470nm foi monitorada durante 1 minuto de reação a 25°C. Uma unidade de atividade de peroxidase (U) foi definida como a quantidade de enzima que causa aumento na absorbância de 0,001 por minuto a  $\lambda = 470\text{nm}$ .

#### 2.4.4 Atividade da polifenoloxidase [PPO (E.C.1.10.3.1)]

A atividade da polifenoloxidase foi realizada segundo metodologia proposta por Kar e Mishra (1976). A mistura de reação foi constituída de 1,0mL do extrato enzimático diluído 3 vezes e 4 mL de tampão fosfato 125 mM pH 6,8 contendo 50 µM de pirogalol, incubada durante 5 min a 25°C em cubeta para leitura espectrofotométrica a 420 nm. A reação foi



parada com 0,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5% (v/v). Uma unidade de atividade de PPO (U) foi definida como a quantidade de enzima que causa aumento na absorbância de 0,001.

O cálculo da atividade específica da peroxidase e da polifenoloxidase foi realizado dividindo-se a atividade total pelo conteúdo protéico para cada amostra.

## 2.5 Caracterização parcial bioquímica da peroxidase e da polifenoloxidase da polpa de cajazeira do genótipo IPA 6.1 no estágio de maturação maduro

### 2.5.1 Efeito do pH ótimo e da estabilidade na atividade da POD e da PPO

Para analisar o pH ótimo da atividade da POD e da PPO, a reação foi realizada com soluções de substrato (POD - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e guaiacol e PPO - pirogalol) preparadas em tampões (0,1M) com variação de pH entre 3,0 – 10,0 (pHs de 3,0 a 6,0 tampão citrato; pHs 6,0 a 8,0 tampão fosfato; pHs 8,0 a 9,0 tampão Tris-HCL e pHs 9,0 e 10,0 tampão glicina NAOH) a 25°C. A atividade da POD e PPO foi então mensurada de acordo com os itens 2.4.3 e 2.4.4.

Para o estudo da estabilidade ao pH, alíquotas de 1 mL do extrato enzimático e 1mL das soluções tampão a 0,1M para POD e 125 µM para a PPO nos valores de pH desejados (pHs de 3,0 a 6,0 tampão citrato; pHs 6,0 a 8,0 tampão fosfato; pHs 8,0 a 9,0 tampão Tris-HCL e pHs 9,0 e 10,0 tampão glicina NAOH) foram incubadas a 25°C por 3 horas. Após essa incubação, foi adicionado o tampão fosfato de sódio 0,1M pH 6,5 para a POD e o tampão fosfato 125 µM pH 6,8 para a PPO, para ajustar todas as amostras para um mesmo pH e, em seguida, as amostras foram analisadas quanto à atividade enzimática residual, nas condições ótimas de atividade das enzimas POD e PPO.

### 2.5.2 Efeito da temperatura ótima e da estabilidade na atividade da POD e da PPO

Para analisar a temperatura ótima da atividade da POD e da PPO, a reação para a determinação da atividade das enzimas foi realizada nas diferentes temperaturas (20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90° C). A temperatura em que foi verificada a atividade ótima foi utilizada nas determinações subseqüentes.

Nos estudos de estabilidade à temperatura, o extrato enzimático foi colocado nas temperaturas desejadas (30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90° C). Alíquotas foram retiradas nos tempos 0, 2, 4, 6, 8 e 10 minutos. As amostras foram analisadas quanto à atividade enzimática residual.

### 2.6 Análises Estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3x2x2 (genótipos, estágio de maturação verde e maduro, partes do fruto, casca e polpa), com três repetições de 10 frutas cada. Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias pelo teste “t” de student e pelo teste de Duncan, ambos em nível de significância de 5%.

## **3- Resultados e discussão**

### 3.1 Análises físico-químicas

Os valores das determinações do pH, SST, ATT e fenólicos totais da casca e polpa de frutos de três genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma do IPA, nos estádios verde e maduro encontram-se nas Tabelas 2, 3, 4 e 5.

Na determinação do pH , não houve diferença significativa entre as cascas e polpas verde, ocorrendo o mesmo entre as cascas e polpas madura. Comparando-se as cascas verde e madura observou-se diferenças significativas, exceto no IPA 4.1., observando-se no IPA 6.1 um aumento de pH com o avanço da maturação, ocorrendo o inverso com o IPA 2.1. O pH manteve-se estável nos diferentes estádios para polpa do IPA 2.1 e 4.1. , enquanto no genótipo IPA 6.1 houve um aumento no pH durante o amadurecimento.

Foi detectado diferenças significativas entre os três genótipos tanto nas diferentes partes do fruto quanto nos diferentes estádios de maturação, apresentando o IPA 2.1 valores de pH maiores, conforme observado na tabela 2.

**Tabela 2** Determinação do pH da casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.

| Genótipos | Estádio de maturação |              |              |              |
|-----------|----------------------|--------------|--------------|--------------|
|           | Verde                |              | Maduro       |              |
|           | Casca                | Polpa        | Casca        | Polpa        |
| 2.1       | 3,30±0,0*Aaa         | 3,10±0,0Aaa  | 3,13±0,06Baa | 3,10±0,0Aaa  |
| 4.1       | 2,90±0,0Aab          | 2,93±0,06Aab | 3,0±0,0Aab   | 2,97±0,06Aab |
| 6.1       | 2,77±0,06Bac         | 2,77±0,06Bac | 2,97±0,06Aab | 2,90±0,0Aab  |

Na horizontal letras iguais minúsculas no mesmo estágio de maturação e maiúsculas no mesmo tipo e diferente estágio de maturação, ambas não diferem significativamente ( $p>0,05$ ) pelo teste “t” de student; Na vertical letras minúsculas em itálico iguais não diferem significativamente ( $p>0,05$ ) pelo teste de Duncan . \* $\delta$ = desvio padrão

Segundo Oliveira Junior et al. (2004); Bora et al.(1991); Costa et al. (2004); Lima et al. (2002) e Noronha et al. (2000) os valores médios de pH em polpas não variaram significativamente durante o amadurecimento. Resultados diferentes foram obtidos por Narain et al. (1992) apresentando aumento no pH durante o amadurecimento em polpas de umbu. De

acordo com a Tabela 2, os valores de pH estão superiores ao exigido pelo Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para polpa madura de cajá, que é de 2,2 ( Brasil, 1999).

Os valores de SST (Tabela 3) para as polpas verdes e maduras de frutos de 3 genótipos de cajazeira estão próximos aos obtidos por Silva et al.(2008). No estágio de maturação verde não houve diferenças significativas entre os valores de SST nas cascas e polpas, exceto no IPA 2.1 apresentando maior teor na polpa (6,8° Brix), enquanto no estágio maduro houve, sendo o maior teor na polpa do fruto maduro (IPA 6.1 – 15,13° Brix).

**Tabela 3** Determinação dos sólidos solúveis totais (SST) da casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.

| Genótipos | Estádio de maturação |              |                    |               |
|-----------|----------------------|--------------|--------------------|---------------|
|           | Verde (° Brix) ±δ*   |              | Maduro (° Brix) ±δ |               |
|           | Casca                | Polpa        | Casca              | Polpa         |
| 2.1       | 6,20±0,20Bbb         | 6,8±0,20Baa  | 12,13±0,31Aba      | 13,20±0,20Aab |
| 4.1       | 6,47±0,12Baab        | 6,93±0,31Baa | 10,53±0,30Abb      | 15,27±0,12Aaa |
| 6.1       | 6,67±0,12Baa         | 6,87±0,30Baa | 9,60±0,40Abc       | 15,13±0,23Aaa |

Na horizontal letras iguais minúsculas no mesmo estágio de maturação e maiúsculas no mesmo tipo e diferente estágio de maturação, ambas não diferem significativamente ( $p>0,05$ ) pelo teste “t” de student; Na vertical letras minúsculas em itálico iguais não diferem significativamente ( $p>0,05$ ) pelo teste de Duncan . \*δ= desvio padrão

Entre os três genótipos em estudo os valores de SST nas diferentes partes do fruto e diferentes estádios de maturação apresentaram diferenças significativas, exceto as polpas verde que apresentaram valores próximos.

Durante o desenvolvimento do fruto verificou-se uma maior quantidade de SST em cascas e polpas maduras, conforme observado na tabela 3. Este comportamento também foi observado nos trabalhos de Sampaio et al. (2007); Narain et al. (1992); Silva et al. (2008);

Noronha et al. (2000); Bora et al.(1991); Oliveira Junior et al. (2004); Costa et al. (2004) e Lima et al. (2002). Segundo Azevedo (2006) os SST são usados como indicadores de maturidade, e esta elevação ocorre devido a uma acentuada conversão do amido em açúcares.

**Tabela 4** Determinação da acidez total titulável (ATT) da casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.

| Genótipos | Estádio de maturação                  |                    |                                      |                    |
|-----------|---------------------------------------|--------------------|--------------------------------------|--------------------|
|           | Verde (% ácido cítrico) $\pm\delta^*$ |                    | Maduro (% ácido cítrico) $\pm\delta$ |                    |
|           | Casca                                 | Polpa              | Casca                                | Polpa              |
| 2.1       | 2,49 $\pm$ 0,01Abb                    | 2,64 $\pm$ 0,02Aab | 2,48 $\pm$ 0,02Aab                   | 1,75 $\pm$ 0,04Bbc |
| 4.1       | 2,72 $\pm$ 0,23Aaab                   | 2,74 $\pm$ 0,06Aab | 2,48 $\pm$ 0,02Bab                   | 1,85 $\pm$ 0,05Bbb |
| 6.1       | 2,89 $\pm$ 0,02Aba                    | 3,16 $\pm$ 0,07Aaa | 2,65 $\pm$ 0,01Baa                   | 2,45 $\pm$ 0,02Bba |

Na horizontal letras iguais minúsculas no mesmo estágio de maturação e maiúsculas no mesmo tipo e diferente estágio de maturação, ambas não diferem significativamente ( $p>0,05$ ) pelo teste “t” de student; Na vertical letras minúsculas em itálico iguais não diferem significativamente ( $p>0,05$ ) pelo teste de Duncan.  $\delta$ = desvio padrão

Em relação à acidez total titulável (ATT), no estágio de maturação verde houve diferenças significativas entre os valores nas cascas e polpas. O maior valor encontrado foi na polpa verde do fruto do IPA 6.1 (3,16% ácido cítrico). Já no estágio maduro houve diferenças entre as cascas e polpas, sendo a maior média de ATT na casca do fruto (IPA 6.1 – 2,64 % ácido cítrico).

Comparando-se as cascas e polpas de frutos verdes e maduros dos 3 genótipos de cajazeira, conforme observado na tabela 4, houve divergência quanto ao estágio de maturação, os teores de ATT mostram-se mais elevados na casca e polpa do fruto verde e decrescente com o aumento da maturação, sofrendo variações significativas em função do grau de maturação.

Conforme Cavalini (2004) a acidez total titulável de um fruto é dada pela presença dos ácidos orgânicos e o teor desses ácidos tende a diminuir durante o processo de maturação devido à oxidação destes no ciclo dos ácidos tricarbóxicos em decorrência da respiração ou da conversão em açúcares. Vários autores estudando frutos de cajazeira como Sampaio et al. (2007), Silva et al. (2008), Costa et al. (1998), Moura et al., (2003) e Bora et al. (1991) constataram esta diminuição com o amadurecimento.

Comparando os resultados apresentados neste estudo em relação ao teor de ATT e pH em polpas verdes e maduras estes resultados são superiores aos obtidos por Silva et al. (2008) e Costa et al. (2004). Convém ressaltar que as características físico-químicas das frutas de uma determinada espécie variam, com o fator genético, com o local, a época de colheita, o estágio de maturação, os tratamentos culturais e outros (MATTIETTO, 2005).

**Tabela 5** Determinação de fenólicos totais da casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.

| Genótipos | Estádio de maturação               |                      |                                   |                      |
|-----------|------------------------------------|----------------------|-----------------------------------|----------------------|
|           | Verde (mg / 100g) $\pm$ $\delta$ * |                      | Maduro (mg / 100g) $\pm$ $\delta$ |                      |
|           | Casca                              | Polpa                | Casca                             | Polpa                |
| 2.1       | 193,23 $\pm$ 2,18Aaa               | 191,93 $\pm$ 2,94Aaa | 169,37 $\pm$ 0,75Bab              | 129,43 $\pm$ 1,60Bbc |
| 4.1       | 172,13 $\pm$ 1,34Bac               | 160,57 $\pm$ 1,60Abb | 186,93 $\pm$ 2,26Aaa              | 148,91 $\pm$ 1,73Bba |
| 6.1       | 186,83 $\pm$ 0,70Aab               | 146,77 $\pm$ 2,80Abc | 173,57 $\pm$ 5,15Bab              | 141,50 $\pm$ 3,22Abb |

Na horizontal letras iguais minúsculas no mesmo estágio de maturação e maiúsculas no mesmo tipo e diferente estágio de maturação, ambas não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) pelo teste "t" de student; Na vertical letras minúsculas em itálico iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Duncan. \* $\delta$ = desvio padrão

Em relação aos compostos fenólicos no estágio de maturação verde houve diferenças significativas entre os valores nas cascas e polpas, apresentando valores maiores nas cascas dos

frutos (IPA 2.1 – 193,23/100g). Já no estágio maduro houve diferenças entre as cascas e polpas, sendo a maior média de compostos fenólicos nas cascas do fruto (IPA 4.1 – 186,93mg/100g). Segundo Vitti (2007), os compostos fenólicos atuam no mecanismo de defesa dos vegetais, exercem ação protetora e antioxidante e, por isto mesmo, encontram-se em maior concentração nas cascas de frutos.

Comparando os compostos fenólicos entre as polpas, foram encontrados maiores quantidades em polpa verde. Portanto, ao longo da maturação do fruto houve uma diminuição nos compostos fenólicos. São escassos os estudos quantitativos do teor de compostos fenólicos em cajás. Os dados obtidos são similares aos encontrados por Azevedo (2006) e Lucena (2006), ambos os estudos em polpa de manga (*Mangifera indica* L.) e Fortes et al.(2009) em polpa de jabuticaba.

### 3.2 Atividade enzimática nos frutos

Os valores das atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase da casca e polpa de três genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma do IPA, nos estádios verde e maduro encontram-se nas Tabelas 6 e 7.

Ficou evidenciado, conforme a Tabela 6, que a atividade da peroxidase nas cascas dos frutos de todos os genótipos, em ambos os estádios de maturação foi maior, exceto no genótipo IPA 4.1 verde, que mesmo não diferindo estatisticamente, a casca apresentou média maior. A maior atividade da peroxidase, em casca de frutos verdes, foi observado no genótipo IPA 6.1 (8.746,78 U/mg) e em casca de frutos maduros do genótipo IPA 4.1 ( 276.869,8 U/mg) e IPA 6.1 (257.500 U/mg). Corroboram com esses resultados o estudo de Troiane et al. (2003), em uvas maduras (*Vitis vinifera* L.).

**Tabela 6** Atividade da peroxidase (POD) em casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária

| Genótipos | Estádio de maturação            |                                 |                                    |                                   |
|-----------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
|           | Verde (U/mg) $\pm\delta^*$      |                                 | Maduro (U/mg) $\pm\delta$          |                                   |
|           | Casca                           | Polpa                           | Casca                              | Polpa                             |
| 2.1       | 6344,28 $\pm$ 832,10 <i>Bab</i> | 2371,58 $\pm$ 289,44 <i>Bbb</i> | 133382,9 $\pm$ 21812,05 <i>Aab</i> | 56519,78 $\pm$ 4491,13 <i>Abb</i> |
| 4.1       | 2656,39 $\pm$ 114,24 <i>Bac</i> | 2539,78 $\pm$ 175,26 <i>Bab</i> | 276869,8 $\pm$ 16072,54 <i>Aaa</i> | 13670,14 $\pm$ 650,44 <i>Abc</i>  |
| 6.1       | 8746,78 $\pm$ 879,51 <i>Baa</i> | 3138,69 $\pm$ 134,12 <i>Bba</i> | 257500 $\pm$ 19472,72 <i>Aaa</i>   | 79354,00 $\pm$ 3704,24 <i>Abc</i> |

Na horizontal letras iguais minúsculas no mesmo estágio de maturação e maiúsculas no mesmo tipo e diferente estágio de maturação, ambas não diferem significativamente ( $p>0,05$ ) pelo teste “t” de student; Na vertical letras minúsculas em itálico iguais não diferem significativamente ( $p>0,05$ ) pelo teste de Duncan.  $\delta$ = desvio padrão

A maior atividade em casca é devido a peroxidase catalisar a oxidação de compostos fenólicos e estar envolvida em reações de oxidação, ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, estresse fisiológico, oxidação de fenóis, infecções nos vegetais e regulação da alongação de células (GASPAR et al., 1982; KAO, 2003; CAMPOS et al., 2004)

A Tabela 6 apresenta a comparação entre a atividade da peroxidase em cascas de cajá dos genótipos nos estádios verde e maduro. Observou-se que entre as cascas verdes todos os genótipos diferiram significativamente, porém nas cascas maduras apenas o genótipo IPA 2.1 apresentou menor atividade enzimática (133.382,9 U/mg). As cascas de cajás maduros dos genótipos IPA 2.1, IPA 4.1 e IPA 6.1 apresentaram respectivamente, 21, 104 e 29 vezes maior atividade de peroxidase, em relação às cascas de frutos verdes.

As atividades da peroxidase nas polpas maduras dos genótipos IPA 2.1 e IPA 6.1 foram 23 e 25 vezes maior do que nas verdes, enquanto a polpa do genótipo IPA 4.1 apresentou uma relação de grandeza bem menor, 5,4. Thé et al. (2001) em polpa de abacaxi



‘Smooth Cayenne’ e Azevedo (2006) em polpa de mangas (*Mangifera indica* L.) observaram também um aumento na atividade da PDO em diferentes estádios de maturação. Segundo Alvim & Clemente (1998) a peroxidase tem um aumento em sua solubilidade durante o período de maturação da fruta.

Pereira (2003) encontrou para a atividade enzimática da POD em polpa madura de cajá valor menor (16.475 U/mg) que os encontrados neste trabalho, exceto para o genótipo IPA 4.1. (13670,14 U/mg).

Comparando as atividades da peroxidase, conforme a tabela 6, dos três genótipos em estudo nas diferentes partes do fruto e diferentes estádios de maturação observou-se diferenças significativas, indicando maior atividade da peroxidase no genótipo IPA 6.1.

**Tabela 7** Atividade da polifenoloxidase (PPO) em casca e polpa de frutos verdes e maduros de 3 genótipos de cajazeira do Banco de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.

| Genótipos | Estádio de maturação       |                         |                           |                         |
|-----------|----------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
|           | Verde (U/mg) $\pm\delta^*$ |                         | Maduro (U/mg) $\pm\delta$ |                         |
|           | Casca                      | Polpa                   | Casca                     | Polpa                   |
| 2.1       | 2500,67 $\pm$ 336,03Aab    | 1679,74 $\pm$ 127,94Abc | 2746,41 $\pm$ 406,88Aac   | 1471,65 $\pm$ 169,81Abc |
| 4.1       | 2712,65 $\pm$ 112,72Bbb    | 3432,40 $\pm$ 95,51Aaa  | 4420,13 $\pm$ 155,54Aab   | 2104,01 $\pm$ 35,02Bbb  |
| 6.1       | 3818,46 $\pm$ 292,57Baa    | 2635,32 $\pm$ 89,42Bbb  | 8280,26 $\pm$ 450,77Aaa   | 4310,84 $\pm$ 254,94Aba |

Na horizontal letras iguais minúsculas no mesmo estágio de maturação e maiúsculas no mesmo tipo e diferente estágio de maturação, ambas não diferem significativamente ( $p>0,05$ ) pelo teste “t” de student; Na vertical letras minúsculas em itálico iguais não diferem significativamente ( $p>0,05$ ) pelo teste de Duncan.  $\delta$ = desvio padrão

A comparação entre as médias da atividade da polifenoloxidase em casca e polpa dos frutos dos genótipos de cajazeira em ambos os estádios de maturação apresentou diferença significativa, com maior atividade nas cascas, exceto para o genótipo IPA 4.1 verde (tabela 7).

Foi observado maior atividade de PPO nas cascas de frutos verde e maduro (3.818,46 U/mg e 8.280,26 U/mg) do genótipo IPA 6.1. Troiane et al. (2003), em uvas maduras (*Vitis vinifera* L.) obtiveram resultado inverso ao encontrado neste estudo.

A tabela 7 demonstra que houve diferença significativa entre as cascas verdes, o IPA 6.1 apresentou maior atividade da PPO. Entretanto em cascas de cajás maduros diferiram significativamente nos genótipos IPA 2.1, 4.1, 6.1, apresentaram respectivamente, 1,09, 1,63 e 2,16 vezes maior atividade de polifenoxidase, em relação às cascas de frutos verdes, sendo para o último genótipo o maior valor obtido.

Entre as cascas dos genótipos, aquelas do estágio maduro apresentaram atividades maiores que para as verdes, com exceção do IPA 2.1, que não diferiu significativamente apesar de apresentar valor superior à do estágio verde. Lima et al. (2001) em casca da umbu-cajeira (*Spondias spp*) obtiveram resultado inverso em seu estudo.

Segundo Botrel et al. (2002), a polifenoxidase é encontrada praticamente em todos os tecidos vegetais e sua atividade pode variar em função da espécie, variedade, estágio de maturação, condições de cultivo e mesmo com as práticas de manuseio e armazenamento adotados.

Conforme a tabela 7, a atividade da PPO entre as polpas verdes e as maduras dos genótipos demonstra diferenças significativas. Comparando as polpas não houve diferença no genótipo IPA 2.1, havendo diferenças nas demais. Observam-se nos trabalhos de Azevedo (2006) em polpa de manga (*Mangifera indica* L.) e Oliveira Junior et al. (2004) em polpa da fruta-de-lobo (*Solanun lycocarpum* St. Hil.) a redução da atividade da PPO nas polpas ao longo do amadurecimento dos frutos, enquanto Clemente & Costa (2006) em polpa de uvaia (*Pseudomyrcianthes pyriformis* (Camb.) Kaus) obtiveram resultado inverso.

Comparando as atividades da PPO dos três genótipos em estudo nas diferentes partes do fruto e diferentes estádios de maturação observou-se diferenças significativas, indicando maior atividade da PPO no genótipo IPA 6.1, exceto a polpa verde do IPA 4.1.

Essas variações enzimáticas de PPO em polpa de cajazeiras podem ser justificadas pelo tipo de solução extratora, faixa de pH, aditivo adicionado e substrato usados, visto que a interação destes fatores podem produzir resultados diferentes em tecidos vegetais diferentes (LIMA et al., 2001).

Dentre os genótipos no estágio maduro, o que apresentou maior atividade enzimática para POD e PPO no conjunto casca e polpa foi o IPA 6.1, exceto a polpa verde do mesmo.

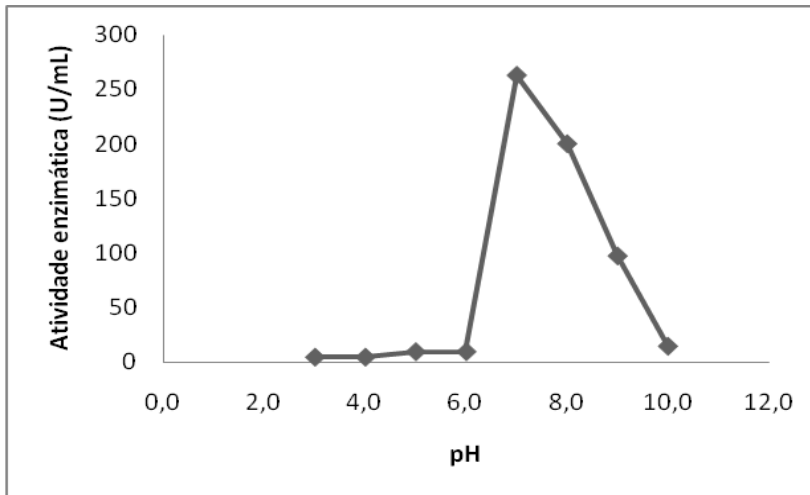
### 3.3 Caracterização parcial bioquímica da peroxidase e da polifenoloxidase da polpa de cajazeira do genótipo IPA 6.1 no estágio de maturação maduro

#### 3.3.1 Efeito do pH ótimo e da estabilidade na atividade da peroxidase

Os efeitos do pH na atividade e estabilidade foram estudados para a enzima peroxidase presente no extrato bruto da polpa do cajá (genótipo IPA 6.1) no estágio de maturação maduro, e os resultados obtidos estão apresentados nas figuras 11 e 12.

De acordo com os resultados apresentados na figura 11, o pH ótimo para a atividade da peroxidase no extrato bruto foi 7,0, indicando que esta enzima é neutra. Este dado mostra-se idêntico aos encontrados por Laurenti & Clemente (2005) em polpa de carambola (pH 7,0) e Lamikanra & Watson (2000) em polpa de melão (pH 7,0). E apresenta-se maior aos reportados por Brito et al.(2005) em seus experimentos com polpa de abacaxi IAC Gomo-de-mel (ph 4,5); por Zanatta et al.(2006) em polpa de goiaba; por Holschuch (2000)

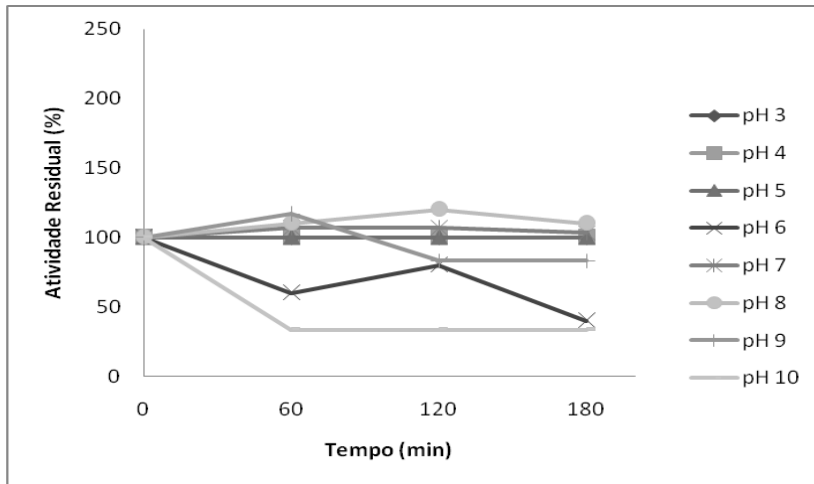
em polpa de carambola; por Lourenço & Neves (1997) em polpa de pêsego e por Pereira (2003) em polpa de cajá ( pH 4,5 em tampão acetato).



**Figura 11.** Efeito do pH na atividade da peroxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1

Em relação à estabilidade, os resultados (Figura 12) obtidos sugerem uma enzima estável a vários pHs, entre ácidos e básicos, mantendo 100 % de atividade residual após 180 minutos, nos pHs 3, 4, 5 e 7 (Figura 12). Mas, a pH 10 e 6, a enzima perdeu mais de 50 % de sua atividade após 180 minutos. O perfil enzimático obtido com o extrato bruto sugere a presença de isoformas, haja vista que o pH ótimo nos revela uma característica neutra e a estabilidade indica características ácidas, neutras a alcalinas.

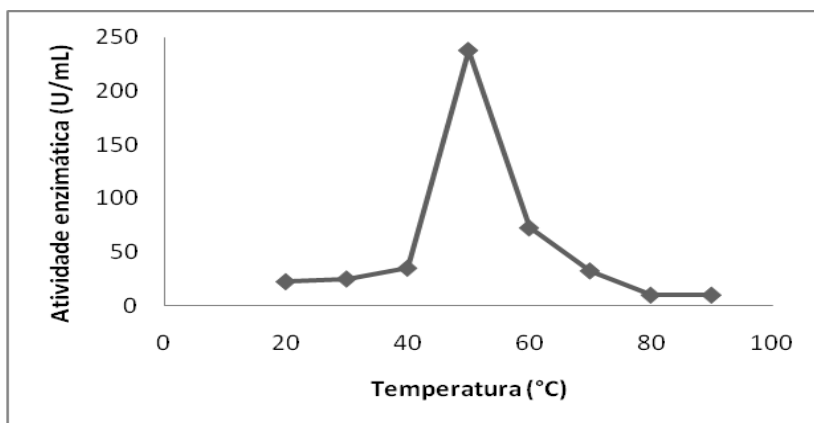
Pereira (2003) relatou que em polpa de cajá apresentou estabilidade na faixa de pH 2,6-10, mantendo atividade residual maior que 40% após 3h de incubação a 30°C e 24h a 5°C. Lourenço & Neves (1997) estudaram as características de peroxidase de pêsego e observaram que a enzima mostrou-se estável na faixa de pH 3-8 durante 2h a 30 °C.



**Figura 12.** Efeito do pH na estabilidade da peroxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1

Os efeitos da temperatura na atividade e estabilidade foram estudados para a enzima peroxidase presente no extrato bruto da polpa do cajá (genótipo IPA 6.1) no estágio de maturação maduro, e os resultados obtidos estão apresentados nas figuras 13 e 14.

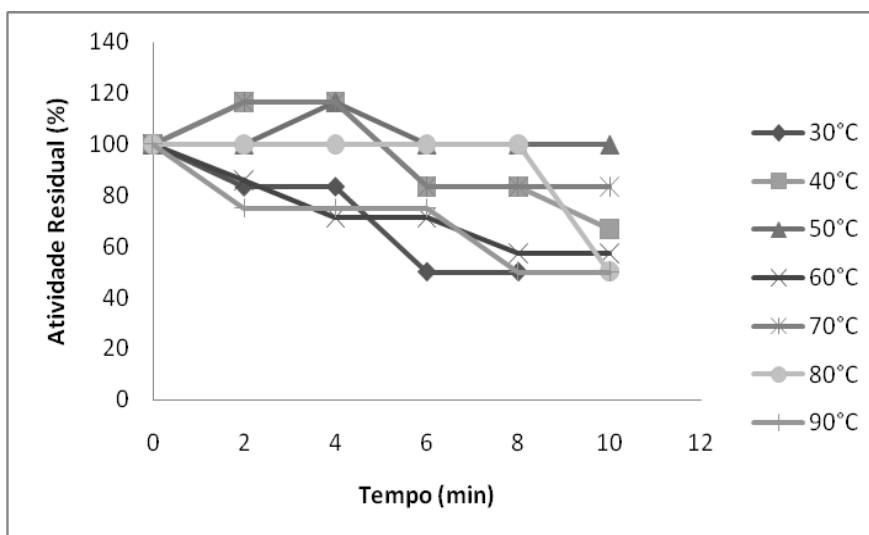
De acordo com os resultados a temperatura ótima é de 50 °C, apresentando um gráfico típico do efeito térmico na atividade enzimática (Figura 13). Resultado semelhantes aos encontrados por Brito et al. (2005) em seus experimentos com abacaxis (*Ananas comosus* (L.) Merrill) da cultivar IAC Gomo-de-mel e do clone IAC-1 e diferente do verificado por Pereira (2003) em polpa de cajá (35 °C).



**Figura 13.** Efeito da temperatura na atividade da peroxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1

Em relação à estabilidade, podemos observar que o extrato bruto é estável a 50 °C, mantendo 100 % de atividade residual após 10 minutos, a 80 °C é estável até 8 minutos, diminuindo sua atividade em 50 % após esse período, a 60 °C e 70 °C perder atividade após 2 minutos, diminuindo ao longo do tempo testado, chegando a 50 % após 10 minutos. O perfil de estabilidade térmica sugere a presença de isoformas.

Dados diferentes foram encontrados por Brito et al.(2005) em seus experimentos com abacaxis (*Ananas comosus* (L.) Merrill) da cultivar IAC Gomo-de-mel que mostrou-se estável após tratamento em temperaturas inferiores a 50°C, durante 30 minutos, retendo mais de 90% da atividade inicial, após 30 minutos a 70°C a atividade residual foi cerca de 15%; por Laurenti & Clemente (2005) que em polpa de carambola observou-se uma perda de aproximadamente 85% da atividade da enzima após 10 minutos de tratamento térmico a uma temperatura de 85°C e por Pereira (2003) em polpa de cajá a peroxidase é termoestável após 1h tratamento térmico a uma temperatura até 50°C.



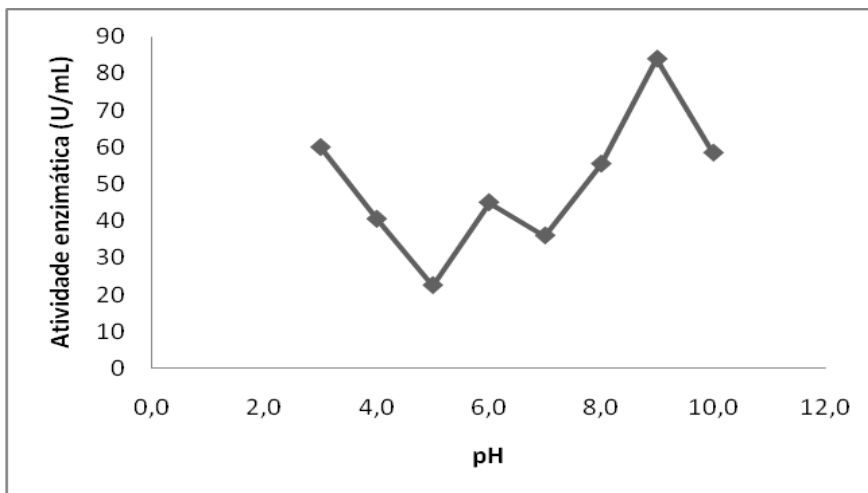
**Figura 14.** Efeito da temperatura na estabilidade da peroxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1

### 3.3.2 Efeito do pH ótimo e da estabilidade na atividade da polifenoloxidase

Os efeitos do pH na atividade e estabilidade foram estudados para a enzima polifenoloxidase presente no extrato bruto da polpa do cajá (genótipo IPA 6.1) no estágio de maturação maduro, e os resultados obtidos estão apresentados nas figuras 15 e 16.

De acordo com os resultados apresentados na figura 15, o pH ótimo para a atividade da polifenoloxidase no extrato bruto foi 9,0, com atividade de 80 U/mL, indicando que esta enzima é alcalina. Entretanto, em pH 3 foi obtido mais de 60 U/mL, o que não ficou tão distante dos 80 U/mL anteriormente citados. Estes resultados sugerem a presença de isoformas no extrato testado, o que já se esperava, tendo em vista ser um extrato bruto.

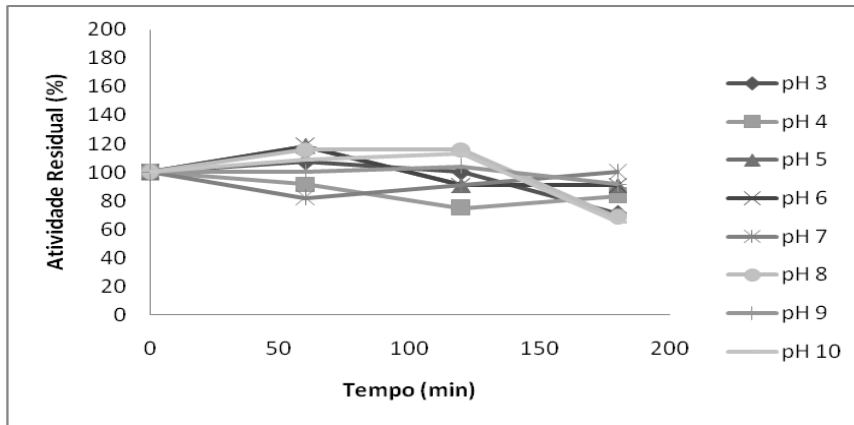
Resultados diferentes de pH ótimo desse estudo foram determinados por Zanatta et al. (2006) em estudos com polpa de goiaba (pH 6,8) e por Lima et al. (2001) em polpa de pinha (pH 6,5).



**Figura 15.** Efeito do pH na atividade da polifenoloxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1

Em relação à estabilidade, os resultados obtidos sugerem uma enzima estável a vários pHs, entre ácidos e básicos, mantendo aproximadamente 100 % de atividade residual após

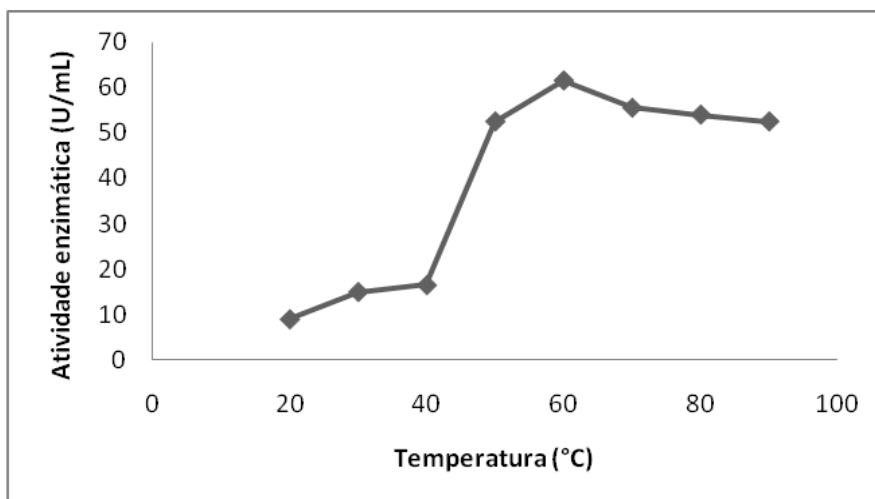
180 minutos, nos pHs testados (Figura 16). O perfil enzimático obtido com o extrato bruto sugere a presença de isoformas.



**Figura 16.** Efeito do pH na estabilidade da polifenoloxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1

Os efeitos da temperatura na atividade e estabilidade foram estudados para a enzima polifenoloxidase presente o extrato bruto da polpa do cajá (genótipo IPA 6.1) no estágio de maturação maduro, e os resultados obtidos estão apresentados nas figuras 17 e 18.

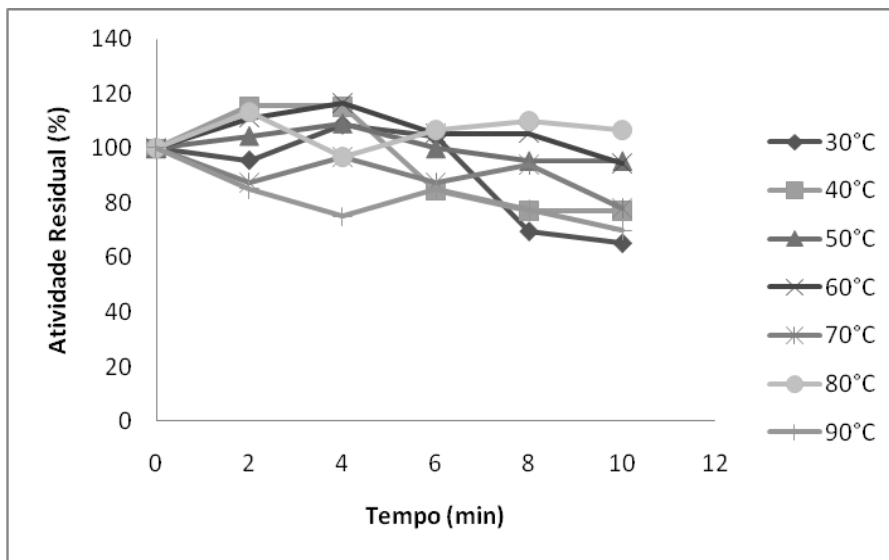
De acordo com os resultados (Figura 17) a temperatura ótima é de 60 °C, apresentando atividade enzimática na temperatura de 90 °C. Dados diferentes foram obtidos por Lima et al. (2001) em estudos com polpa de pinha (20 °C).



**Figura 17.** Efeito da temperatura na atividade da polifenoloxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1



Em relação à estabilidade, podemos observar que o extrato bruto é relativamente estável nas temperaturas estudadas, mantendo atividade residual de 50 % após 10 minutos a 90 °C. O perfil de estabilidade térmica sugere a presença de isoformas.



**Figura 18.** Efeito da temperatura na estabilidade da polifenoloxidase de extrato bruto da polpa do fruto do genótipo IPA 6.1

#### 4. Conclusões

Com a maturação do fruto detectou-se uma diminuição no teor de compostos fenólicos e ATT, e um aumento no conteúdo dos sólidos solúveis totais e no pH, exceto nas polpas do IPA 2.1 e 4.1, as quais mantiveram-se estáveis nos diferentes estádios de maturação.

A atividade da peroxidase foi maior nas cascas dos frutos de todos os genótipos, em ambos os estádios de maturação.

A atividade da polifenoloxidase foi maior nas cascas dos frutos, em ambos os estádios de maturação com exceção do genótipo IPA 4.1 no estágio verde.

Nas condições do experimento dentre os genótipos estudados, o que apresentou menor atividade enzimática para a peroxidase na polpa foi o IPA 2.1, destacando-se entre os outros para um processo de industrialização.

O genótipo IPA 6.1 apresentou a maior atividade de PPO nas cascas dos frutos verde e maduro.

Dentre os genótipos no estágio maduro, o que apresentou maior atividade enzimática para POD e PPO no conjunto casca e polpa foi o IPA 6.1, exceto a polpa verde do mesmo.

A peroxidase da polpa madura do genótipo IPA 6.1 apresentou atividade ótima em pH 7,0 e mostrou-se estável a vários pHs , entre ácidos e básicos, mantendo-se 100% de atividade residual após 180 minutos.

A peroxidase da polpa madura do genótipo IPA 6.1 apresentou 50°C, mantendo 100% de atividade residual após 10 minutos.

A polifenoloxidase da polpa madura do genótipo IPA 6.1 apresentou atividade ótima em pH 9,0 e mostrou-se estável a vários pHs , entre ácidos e básicos, mantendo-se 100% de atividade residual após 180 minutos.

A polifenoloxidase da polpa madura do genótipo IPA 6.1 apresentou 60°C como temperatura ótima e mostrou-se relativamente estável nas temperaturas estudadas, mantendo atividade residual de 50% após 10 minutos a 90°C.

O perfil enzimático para peroxidase e polifenoloxidase obtido com o extrato bruto da polpa madura do genótipo IPA 6.1 sugere a presença de isoformas.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/Brasil) pela concessão da bolsa de Pós-graduação e a Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo suporte oferecido.

## Referências

- ALVIM, K.; CLEMENTE, E. Estudo da termoestabilidade de peroxidase extraídas da polpa e casca de mexerica (*Citrus deliciosa*). **Acta Scientiarum**, v. 2, p. 201-204, 1998.
- ARTES, F.; CASTANER, M.; GIL, M. I. El pardeamiento enzimático em frutas y hortalizas minimamente processadas. **Food Science Research Internacional**, v.6, p.377-389, 1998.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17<sup>th</sup> ed. Arlington, V.A.: AOAC, 2002.
- AZEVEDO, A. C. S. Estudo das enzimas oxidativas e presença de compostos bioativos em mangas (*Mangifera indica* L.) produzidas no Brasil. **Dissertação (Mestrado)**, UNICAMP, 2006.
- AZZOLINI, Marisa. Fisiologia pós-colheita de goiabas “Pedro Sato”: estádios de maturação e padrão respiratório. **Dissertação (Mestrado em Ciência)** – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.
- BORA, P. S. et al. Changes in physical and chemical composition during maturation of yellow mombin (*Spondias mombin*) fruits. **Food Chemistry**. Oxford: Elsevier. v. 41, p. 341-348, 1991.
- BOTREL, N. et al. Efeito da "mancha-chocolate" nas características físico-químicas e químicas de frutos de abacaxizeiro-'Pérola'. **Rev. Bras. Frutic.** v. 24, p. 77-81, 2002.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** v. 72, p.248-254, 1976.
- BRITO, Carlos Alexandre Kogushi de; SATO, Hélia Harumi; SPIRONELLO, Ademar and SIQUEIRA, Walter José. Características da atividade da peroxidase de abacaxis (*Ananas comosus* (L.) Merrill) da cultivar IAC Gomo-de-mel e do clone IAC-1. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.25, p. 244-249, 2005.

CAVALINI, F.C. Índices de maturação, ponto de colheita e padrão respiratório de goiabas 'Kumagai' e 'Paluma'. **Dissertação (Mestrado)**, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004.

CAMPOS, Ângela Diniz et al. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesq. agropec. bras.**, v. 39, p. 637-643, 2004.

COSTA, N. P. ; FILGUEIRAS, H. A. C. ; ALVES, R. E. ; SILVA, A. Q. da ; OLIVEIRA, A. C. de . Development and maturation of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) in northeast Brazil. **Proceedings Of The Interamerican Society For Tropical Horticulture**, v. 42, p. 301-306, 1998.

COSTA, N. P. da; LUZ, T. L. B.; GONÇALVES, E. P.; BRUNO, R.de L. A. Caracterização físico-química de frutos de umbuzeiro (*Spodias tuberosa*ARR. CÂM.) colhidos em quatro estádios de maturação. **Bioscience Journal**, v. 20, p.65-71, 2004.

FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. da C. Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. **Química Nova**, v. 25, p. 455-464, 2002.

FORTES, G. A. C.; GODOI, F. F. F.; NAVES, S. S.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C.. **Variação nos teores de polifenóis durante o amadurecimento do fruto de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*)**. In: 32 Reuniao anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza- Ceará. 32 reuniao anual Sociedade Brasileira de Química, 2009

GASPAR, T.H.; PENEL, C.L.; THORPE, T.; GREPPIN, H. **Peroxidases: a survey of their biochemical and physiological roles in higher plants**. Genève: Université de Genève, Centre de Botanique, Genève, 1982. 313p.

HOLSCHUCH, H.J. Isolamento, purificação e caracterização bioquímica da peroxidase de carambola (*Averrhoa carambola*, L.). **Tese (Doutorado)**, Universidade Estadual de Campinas, 2000.

KAO, C.H. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, v.39, p.83-89, 2003.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. **Plant Physiology**, v. 57, p. 315-319, 1976.

LAURENTI, C.; CLEMENTE, E.. Avaliação da atividade da peroxidase em carambola (*Oxalidacia avertrhoa*) em diferentes estádios de maturação. **Acta Scientiarum**. v. 27, p. 159-163,2005.

LAMIKANRA, O; WATSON, M.A. Cantaloupe melon peroxidase: Characterization and effects of additives on activity. **Nahrung-Food**, v.44, p.168-172, 2000.

LIMA, E. D. P. de A.; PASTORE, G. M.; LIMA, C. A. de Al. Extração e atividade da enzima polifenoloxidase em diferentes partes da pinha (*Annona squamosa* L.) nos estádios de maturação verde e maduro.**Agropecuária Técnica**, v 22, p. 33-43, 2001.

- LIMA, E. D. P. de A. et al. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias spp*) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p.338-343, 2002.
- LOURENÇO, E.J.; NEVES, V.A., Peroxidase solúvel de pêssego: Purificação parcial e propriedades. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.17, p.42-48, 1997.
- LUCENA, E. M. P. de. Desenvolvimento e Maturidade Fisiológica de Manga 'Tommy Atkins' no Vale do São Francisco. 2006. **Tese (Doutorado)**, Universidade Federal do Ceará, 2006.
- MATTIETTO, Rafaella de Andrade. Estudo tecnológico de um néctar misto de cajá (*Spondias Lutea* L.) e umbu (*Spondias Tuberosa*, Arruda Câmara). **Tese (Doutorado)**, Universidade Estadual de Campinas, 2005.
- MOURA, F. T. de; SILVA, S de M.; MARTINS, L. P.; MENDONÇA, R. M. N.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C. Evolução do Crescimento e da Maturação de Frutos de Cajazeira (*Spondias mombin* L.). **Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.**, v. 47, p.231-233, 2003.
- NARAIN, N.; BORA, P. S.; HOLSCHUH, H. J. ; VASCONCELOS, M. A. S.. Variation In Physical And Chemical Composition During Maturation Of Umbu (*Spondias Tuberosa*) Fruits. **Food Chemistry**, v. 44, p. 255-259, 1992.
- NORONHA, A. S. de N.; CARDOSO, E. de A.; DIAS, N. da S. Características físico-químicas de frutos de umbu-cajá *Spondias sp.* provenientes dos pólos Baixo-Jaguaribe (CE) e Assu-Mossoró (RN). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.2, p.91-96, 2000.
- OLIVEIRA JÚNIOR, E. N.; SANTOS, C. D.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, J. Z. L. Alterações pós-colheita da "fruta-de-lobo" (*Solanun lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento: análises físico-químicas, químicas e enzimáticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 410-413, 2004.
- PADETEC. Extrato da cajazeira (*Spondias mombin*). Disponível em: <<http://www.padetec.ufc.br/novapagina/vendas/cajazeira/cajazeira.php>> Acesso em: 07 nov. 2007.
- PEREIRA, Ana Maria. Purificação e Caracterização da Peroxidase do Taperebá (*Spondias lutea* L.). **Tese (Doutorado)**. Universidade Estadual de Campinas, 2003.
- SACRAMENTO, C.K.; SOUZA, F.X. de. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 42p. (Série Frutas Nativas).
- SAMPAIO, S. A. et al. Postharvest respiratory activity and changes in some chemical constituents during maturation of yellow mombin (*Spondias mombin*) fruit. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 27, p. 511-515, 2007.
- SANTOS, M. de F. G. Armazenamento de Cajá (*Spondias Mombin* L.) sob aplicação de coberturas de amido de mandioca. **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal da Paraíba, 2005.

SILVA JÚNIOR, J. F. et al. Recursos genéticos e melhoramento de fruteiras nativas e exóticas em Pernambuco. Disponível em: <<http://www.cpat.br/catalogo/livrorg/fruteirasnativas.pdf>> Acesso em: 04 mar. 2008.

SILVA, F. V. G. ; SILVA, S. M. ; SILVA, G. C. ; MOURA, F. T. . CARACTERIZAÇÃO DE FRUTOS DE CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) ORIUNDOS DE CLONES E PÉ-FRANCO EM TRÊS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO. In: I Simpósio Brasileiro sobre Umbu, Cajá e Espécies Afins., 2008, Recife. Anais do I Simpósio Brasileiro sobre Umbu, Cajá e Espécies Afins., 2008.

SOUZA, F.X., de. ***Spondias agroindustriais e os seus métodos de propagação***. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT:SEBRAE-CE, 1998. 28 p. (Documentos, 27).

SOUZA FILHO, M. S. M.; LIMA, J. R.; NASSU, R. T.; MOURA, C. F. H. Avaliação físico-química e sensorial de néctares de frutas nativas da região Norte e Nordeste do Brasil: estudo exploratório. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.5, p. 139-143, 2002.

THÉ, P. M. P.; CARVALHO, V. D.; ABREU, C. M. P. de; NUNES, R. P.; PINTO, N. A.V. D. Modificações na atividade enzimática em abacaxi ‘Smooth Cayenne’ em função da temperatura de armazenamento e do estágio de maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, p. 364-370, 2001.

TROIANI, Estela de Pieri; TROPIANI, C. T.; CLEMENTE, E. . Peroxidase and polyphenoloxidase in grape (*Vitis vinífera*). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 635-642, 2003.

VITTI, M. C. D. Respostas fisiológicas e bioquímicas de diferentes cultivares de batatas ao processamento mínimo. **Tese (Doutorado)**, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.

ZANATTA, C. L.; ZOTARELLI, M. F.; CLEMENTE, E. Peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em polpa de goiaba (*Psidium guajava* R.). **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 26, p. 705-708, 2006.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.1801-1812, 1999.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As pesquisas com as espécies de *Spondias* ainda são escassas, existindo questionamentos a serem respondidos como, por exemplo, o conhecimento das enzimas e compostos fenólicos presentes nos frutos da cajazeira nos seus diferentes estágios de maturação. Muitas enzimas são responsáveis por alterações na aparência, no sabor e aroma dos frutos *in natura* e em seus produtos industrializados, além disso, o uso delas é bastante amplo.

O presente trabalho objetivou caracterizar parcialmente as enzimas oxidativas e quantificar os compostos fenólicos em frutos de três genótipos de cajazeira (*Spondias mombin* L.), instalados no Banco Ativo de Germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, no estágio de maturação verde e maduro em suas casca e polpas. Vale salientar que este estudo faz parte de um projeto maior que visa selecionar os genótipos com as melhores características físicas, químicas e sensoriais para a agroindústria.

Com a maturação do fruto detectou-se uma diminuição no teor de compostos fenólicos e ATT, e um aumento no conteúdo dos sólidos solúveis totais e no pH, exceto nas polpas do IPA 2.1 e 4.1, as quais mantiveram-se estáveis nos diferentes estágios de maturação.

Nas condições do experimento dentre os genótipos estudados, o que apresentou menor atividade enzimática para a peroxidase na polpa foi o IPA 2.1, destacando-se entre os outros para um processo de industrialização. E dentre os genótipos no estágio maduro, o que apresentou maior atividade enzimática para POD e PPO no conjunto casca e polpa foi o IPA 6.1, exceto a polpa verde do mesmo.

A peroxidase da polpa madura do genótipo IPA 6.1 apresentou atividade ótima em pH 7,0 e mostrou-se estável a vários pHs, entre ácidos e básicos, mantendo-se 100% de atividade residual após 180 minutos. Através da caracterização parcial da polpa do genótipo IPA 6.1 foi obtido o pH e temperatura ótimas das enzimas POD e PPO, respectivamente, pH 7,0 e 50°C; pH 9,0 e 60°C. Ambas as enzimas mostraram-se estáveis a vários pHs, entre ácidos e básicos, mantendo-se 100% de atividade residual após 180 minutos. Enquanto nas temperaturas estudadas, para a POD manteve 100% de atividade residual após 10 minutos e para PPO apresentou-se relativamente estável nas temperaturas estudadas, mantendo atividade residual de 50% após 10 minutos a 90°C. O perfil enzimático para POD e PPO obtido com o extrato bruto da polpa madura do genótipo IPA 6.1 sugerindo a presença de isoformas. Portanto, mostra-se necessário a realização de experimentos complementares.



## REFERÊNCIAS

- ALVIM, K.; CLEMENTE, E. Estudo da termoestabilidade de peroxidase extraídas da polpa e casca de mexerica (*Citrus deliciosa*). **Acta Scientiarum**, v. 2, p. 201-204, 1998.
- ALVES, R. E.; FILGUIERAS, H. A. C.; MOURA, C. F. H. **Caracterização de frutas nativas da América Latina**. Jaboticabal: UNESP/SBF, 2000.
- ANDREUCCETTI, Caroline. Avaliação da qualidade do tomate de mesa tratado com gás etileno. **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Estadual de Campinas, 2005.
- ARTES, F.; CASTANER, M.; GIL, M.I. El pardeamiento enzimático em frutas y hortalizas minimamente processadas. **Food Science Research Internacional**, v.6, p.377-389, 1998.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos – Teoria e Prática**. 3ª Edição. Editora UFV. 2004. 478p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17<sup>th</sup> ed. Arlington, V.A.: AOAC, 2002.
- AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114p.
- AZEVEDO, A. C. S. Estudo das enzimas oxidativas e presença de compostos bioativos em mangas (*Mangifera indica* L.) produzidas no Brasil. **Dissertação (Mestrado)**, UNICAMP, 2006.
- AZZOLINI, Marisa. Fisiologia pós-colheita de goiabas “Pedro Sato”: estádios de maturação e padrão respiratório. **Dissertação (Mestrado)** – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.
- BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 433p.
- BRADFORD M. M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. 72: 248-254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 122, de 10 de setembro de 1999. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 13 de set. de 1999. Seção 1, p. 72-76.
- BOTREL, N. et al. Efeito da "mancha-chocolate" nas características físico-químicas e químicas de frutos de abacaxizeiro-'Pérola'. **Rev. Bras. Frutic.** v. 24, p. 77-81, 2002.

- BORA, P. S. et al. Changes in physical and chemical composition during maturation of yellow mombin (*Spondias mombin*) fruits. **Food Chemistry**. Oxford: Elsevier. v. 41, p. 341-348, 1991.
- BOSCO, J.; SOARES, K. T.; AGUIAR FILHO, S. P. de; BARROS, R. V. **A cultura da cajazeira**. João Pessoa: Embrapa, 2000. 229 p. (Documentos, 28).
- BRITO, Carlos Alexandre Koguish de; SATO, Hélia Harumi; SPIRONELLO, Ademar and SIQUEIRA, Walter José. Características da atividade da peroxidase de abacaxis (*Ananas comosus* (L.) Merrill) da cultivar IAC Gomo-de-mel e do clone IAC-1. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.25, p. 244-249, 2005.
- CAMPOS, Ângela Diniz et al. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesq. agropec. bras.**, v. 39, p. 637-643, 2004.
- CASSIMIRO, C. M. **Recursos genéticos e melhoramento de *Spondias* no estado da Paraíba: cajazeira, cirigueleira e cajaraneira**. In: Ildo Eliezer Lederman; José severino de Lira Júnior; Josué Francisco da Silva Júnior. (Org.). *Spondias no Brasil: Umbú, Cajá e Espécies Afins*. 1 ed. Recife: Editora Universitária da UFRPE, v. 1, p. 63-68 , 2008.
- CAVALINI, F.C. Índices de maturação, ponto de colheita e padrão respiratório de goiabas 'Kumagai' e 'Paluma'. **Dissertação (Mestrado)**, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/Faepe, 1990. 320 p.
- CLEMENTE, C. R. **Aspectos de fruticultura da Amazônia**. Informativo da sociedade brasileira de fruticultura, Jaboticabal, v.1, p. 2-5, 1982.
- CLEMENTE, E. Isolamento, purificação e termoestabilidade da isoperoxidase do suco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 16, p. 1-5, 1996.
- CLEMENTE, E. Purification and thermostability of isoperoxidase from oranges. **Phytochemistry**, v.49, p.29-36, 1998.
- CORTHOUT, J.; PIETERS, L.; CLAEYS, M.; VANDEN BERGHE, D.; VLIETINCK, A. Antiviral Ellagitannins from *Spondias Mombin*. **Phytochemistry**. v.30. p.1129-1130, 1991.
- COSTA, N. P.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E. ; SILVA, A. Q. da ; OLIVEIRA, A. C. de . Development and maturation of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) in northeast Brazil. **Proceedings Of The Interamerican Society For Tropical Horticulture**, v. 42, p. 301-306, 1998.
- COSTA, N. P. da; LUZ, T. L. B.; GONÇALVES, E. P.; BRUNO, R.de L. A. Caracterização físico-química de frutos de umbuzeiro (*Spodias tuberosa*ARR. CÂM,) colhidos em quatro estádios de maturação. **Bioscience Journal** v. 20, p.65-71, 2004.
- ESKIN, N. A. M. Biochemistry of Foods. 2a edição. **Academic Press**, Canadá Serie, p. 506-507, 1990.

- FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. da C. Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. **Química Nova**, v. 25, p. 455-464, 2002.
- FREITAS, Andreia Andrade de et al. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 172-177, 2008.
- FORTES, G. A. C ; GODOI, F. F. F. ; NAVES, S. S. ; FERRI, P. H. ; SANTOS, S. C. **Varição nos teores de polifenóis durante o amadurecimento do fruto de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*)**. In: 32 Reuniao anul da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza- Ceará. 32 reuniao anual Sociedade Brasileira de Química, 2009
- GASPAR, T.H.; PENEL, C.L.; THORPE, T.; GREPPIN, H. **Peroxidases: a survey of their biochemical and physiological roles in higher plants**. Genève: Université de Genève, Centre de Botanique, Genève, 1982. 313p.
- GOMES, M. R. A.; OLIVEIRA, M. G. DE A.; CARNEIRO, G. E. S.; BARROS, E. G. DE; MOREIRA, M. A. propriedades físico-químicas de polifenoloxidase de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, p.69-72, 2001.
- HOLSCHUCH, H.J. Isolamento, purificação e caracterização bioquímica da peroxidase de carambola (*Averrhoa carambola*, L.). **Tese (Doutorado)**, Universidade Estadual de Campinas, 2000.
- KAO, C.H. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, v.39, p.83-89, 2003.
- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. **Plant Physiology**, v. 57, p. 315-319, 1976.
- KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004. 452p.
- IBRAF - INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. Dados sobre exportações em 2006. Net. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br>>. Acesso em: 04 mar. 2008.
- LAMIKANRA, O; WATSON, M.A. Cantaloupe melon peroxidase: Characterization and effects of additives on activity. **Nahrung-Food**, v.44, p.168-172, 2000.
- LAURENTE, C.; CLEMENTE, E. Avaliação da atividade da peroxidase em carambola (*Oxalidacia avarrhoa*) em diferentes estádios de maturação. **Acta Scientiarum**, v. 27, p. 159-163, 2005.
- LIMA, E. D. P. de A.; PASTORE, G.M.; LIMA, C. A. de Al. Extração e atividade da enzima polifenoloxidase em diferentes partes da pinha (*Annona squamosa* L.) nos estádios de maturação verde e maduro. **Agropecuária Técnica**, Areia v 22, p. 33-43, 2001.
- LIMA, E. D. P. de A.; PASTORE, G. M.; LIMA, C. A. de A.. Purificação da enzima polifenoloxidase (PFO) de polpa de pinha (*Annona squamosa* L.) madura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, p. 98-104, 2001.

LIMA, E. D. P. de A. et al. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias spp*) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p.338-343, 2002.

LIRA JÚNIOR, José Severino de; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, Ildo Eliezer; Moura, R. J. M. de. **Recursos Genéticos de Spondias em Pernambuco: cajazeira, cirigueleira e cajá-umbuzeiro**. In: Ildo Eliezer Lederman; José severino de Lira Júnior; Josué Francisco da Silva Júnior. (Org.). *Spondias no Brasil: Umbú, Cajá e Espécies Afins*. 1 ed. Recife: Editora Universitária da UFRPE, v. 1, p. 80-85, 2008.

LOURENÇO, E.J.; NEVES, V.A., Peroxidase solúvel de pêssigo: Purificação parcial e propriedades. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.17, p.42-48, 1997.

LUCENA, E. M. P. de. Desenvolvimento e Maturidade Fisiológica de Manga 'Tommy Atkins' no Vale do São Francisco. **Tese (Doutorado)**, Universidade Federal do Ceará, 2006.

MACIEL, Hermelinda Penha Freire; GOUVEA, Cibele Marli Cação Paiva; PASTORE, Gláucia Maria. Obtenção de nova fonte de peroxidase de folha de *Copaifera langsdorffii* Desf. com alta atividade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, p. 735-739, 2006.

MACIEL, Hermelinda Penha Freire; GOUVEA, Cibele Marli Cação Paiva; PASTORE, Gláucia Maria. Extração e caracterização parcial de peroxidase de folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, p. 221-225, 2007.

MARTINS, Carlos Roberto; CANTILLANO, Rufino Fernando Flores; FARIAS, Roseli de Mello; ROMBALDI, Cesar Valmor. Atividade polifenoxidase e compostos fenólicos em pós-colheita de pêssigos cultivado em pomar com cobertura vegetal e cultivo tradicional. **Cienc. Rural**, v.34, p. 749-754, 2004.

MATTIETTO, Rafaella de Andrade. Estudo tecnológico de um néctar misto de cajá (*Spondias Lutea* L.) e umbu (*Spondias Tuberosa*, Arruda Câmara). **Tese (Doutorado)**, Universidade Estadual de Campinas, 2005.

MAZZAFERA, Paulo; GONCALVES, Kátia Viviane; SHIMIZU, Milton Massao. Extração e dosagem da atividade da polifenoxidase do café. **Sci. agric**, v. 59, p. 695-700, 2002.

MEDEIROS, C. P. C. de; CORREIA, D.; LUZ, J. M. Q.; ROSSETTI, A. G.; BENBADIS, A. K. Cultivo in vitro de explantes nodais de cajazeira (*Spondias monbim* L.): etapa de desinfestação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, p. 144-147, 2000.

MELLO, T.E.; CLEMENTE, E. Thermostability of crude extract of peroxidase from pineapple. **Rev. Unimar**, v. 18, p. 757-763, 1996.

MOURA, F. T. de; SILVA, S. de M.; MARTINS, L. P.; MENDONÇA, R. M. N.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C. Evolução do Crescimento e da Maturação de Frutos de Cajazeira (*Spondias mombin* L.). **Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.** v. 47, p.231-233, 2003.

NARAIN, N.; BORA, P. S.; HOLSCHUH, H. J. ; VASCONCELOS, M. A. S.. Variation In Physical And Chemical Composition During Maturation Of Umbu (*Spondias Tuberosa*) Fruits. **Food Chemistry**, v. 44, p. 255-259, 1992.

NORONHA, A. S. de N.; CARDOSO, E. de A.; DIAS, N. da S. Características físico-químicas de frutos de umbu-cajá *Spondias sp.* provenientes dos pólos Baixo-Jaguaribe (CE) e Assu-Mossoró (RN). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.2, p.91-96, 2000.

OLIVEIRA JÚNIOR, E. N.; SANTOS, C. D.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, J. Z. L. Alterações pós-colheita da "fruta-de-lobo" (*Solanun lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento: análises físico-químicas, químicas e enzimáticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, p. 410-413, 2004.

OLIVEIRA, M. S. C. et al. Atividade seqüestradora de radical livre e teor de compostos fenólicos de clones de espécies *Spondias* cultivados em Pacajus-ce. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2008/trabalhos/7/7-89-462.htm>. Acessado em: 09 ago.2009.

PADETEC. Extrato da cajazeira (*Spondias mombin*). Disponível em: <<http://www.padetek.ufc.br/novapagina/vendas/cajazeira/cajazeira.php>> Acesso em: 07 nov. 2007.

PEREIRA, Ana Maria. Purificação e Caracterização da Peroxidase do Taperebá (*Spondias lutea* L.). **Tese (Doutorado)**. Universidade Estadual de Campinas, 2003.

PIMENTA, C. J. Época de colheita e tempo de permanência dos frutos á espera da secagem, na qualidade do café (*Coffea arábica* L.). 2001. 145 p. **Tese (Doutorado)** Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

PINTO, W. da S. et al. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p. 1059-1066, 2003.

RIBEIRO, R. M. A. Glossário de termos de coleta e conservação de recursos genéticos. **Ciência da Informação**, vol. 24, 1995.

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

RODRIGUES-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. Carotenóides e valor nutritivo de vitamina A em cajá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 9, p.148-162, 1989.

SACRAMENTO, C.K.; SOUZA, F.X. de. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 42p. (Série Frutas Nativas).

SADLER, G. D.; MURPHY, P. A. pH and titratable acidity. In: NIELSEN, S. S. **Food analysis**. 2. ed. New York: Aspen Publishers, Inc.1998. p.99-117.

SAMPAIO, S. A. et al. Postharvest respiratory activity and changes in some chemical constituents during maturation of yellow mombin (*Spondias mombin*) fruit. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 27, p. 511-515, 2007.

SANTOS, M. de F. G. Armazenamento de Cajá (*Spondias Mombin L.*) sob aplicação de coberturas de amido de mandioca. **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal da Paraíba, 2005.

SILVA, A. Q., SILVA, H. Cajá, uma frutífera tropical. **Informativo SBF**. V. 14, 1995.

SILVA, A. A. S. T. et al. Estudo das melhores condições para a determinação de fenólicos totais em sucos de frutas empregando o sistema de análises em fluxo. Disponível em: <http://sec.s bq.org.br/cd29ra/resumos/T1542-1.pdf>. Acessado em: 09 ago.2009.

SILVA, F. V. G. ; SILVA, S. M. ; SILVA, G. C. ; MOURA, F. T. . CARACTERIZAÇÃO DE FRUTOS DE CAJAZEIRA (*Spondias mombin L.*) ORIUNDOS DE CLONES E PÉ-FRANCO EM TRÊS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO. In: I Simpósio Brasileiro sobre Umbu, Cajá e Espécies Afins., 2008, Recife. Anais do I Simpósio Brasileiro sobre Umbu, Cajá e Espécies Afins., 2008.

SILVA JÚNIOR, J. F. et al. Recursos genéticos e melhoramento de fruteiras nativas e exóticas em Pernambuco. Disponível em: <<http://www.cpsa.embrapa.br/catalogo/livroorg/fruteirasnativas.pdf>> Acesso em: 04 mar. 2008.

SILVA, M.V. da; ROSA, C.I.L.F.; VILAS BOAS, E. V. de B. Conceitos e métodos de controle do escurecimento enzimático no processamento mínimo de frutas e hortaliças. **Boletim do Centro de Pesquisas e Processamento de Alimentos**, v. 27, p. 83-96, 2009.

SOARES, Edson Basílio; GOMES, Regina Lucia Ferreira; CARNEIRO, Júlia Geracila de Mello e *et al.* Caracterização física e química de frutos de cajazeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol.28, p.518-519, 2006.

SOARES, T.A.L. Propagação vegetativa da cajazeira (*Spondias mombin L.*) através de estacas de raiz. **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal do Ceará, 1998.

SOUZA FILHO, M. S. M.; LIMA, J. R.; NASSU, R. T.; MOURA, C. F. H. Avaliação físico-química e sensorial de néctares de frutas nativas da região Norte e Nordeste do Brasil: estudo exploratório. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.5, p. 139-143, 2002.

SOUZA, F. X. de. Efeito do porta-enxerto e do método de enxertia na formação de mudas de cajazeira (*Spondias mombin L.*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.22, p.286-290, 2000.

SOUZA, F.X. de.; BLEICHER, E. Comportamento da cajazeira enxertada sobre umbuzeiro em Pacajus, CE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p.790-792, 2002.

SOUZA, F.X. de.; LIMA, R.N. Enraizamento de estacas de diferentes matrizes de cajazeira tratadas com ácido indolbutírico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.37, p.189-194, 2005.

SOUZA, F.X. de; INNECCO, R.; ARAÚJO, C. A. T. **Métodos de enxertia recomendados para a produção de mudas de cajazeira e de outras fruteiras do gênero *Spondias***. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1999. 8p. (Comunicado Técnico, 37).

SOUZA, F.X., de. ***Spondias* agroindustriais e os seus métodos de propagação**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT:SEBRAE-CE, 1998. 28 p. (Documentos, 27).

THÉ, P. M. P.; CARVALHO, V. D.; ABREU, C. M. P. de; NUNES, R. P.; PINTO, N. A.V. D. Modificações na atividade enzimática em abacaxi 'Smooth Cayenne' em função da temperatura de armazenamento e do estágio de maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, p.364-370, 2001.

TROIANI, Estela de Pieri ; TROPIANI, C. T. ; CLEMENTE, E. . Peroxidase and polyphenoloxidase in grape (*Vitis vinífera*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 635-642, 2003.

VAMOS-VIGYAZO, L. Polyphenoloxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **Food Science Nutrition**. v. 49, p. 127, 1981.

VEIGA, R. F. A. Bancos de germoplasma. Disponível em: <<http://www.biota.org.br/iRead?57+livros.biota+129>> Acesso em: 31 jan. 2009.

VITTI, M. C. D. Respostas fisiológicas e bioquímicas de diferentes cultivares de batatas ao processamento mínimo. **Tese (Doutorado)**, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.

ZANATTA, C. L.; ZOTARELLI, M. F.; CLEMENTE, E. Peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em polpa de goiaba (*Psidium guajava* R.) **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, V. 26, p. 705-708, 2006.

ZERAIK, Ana Eliza; SOUZA, Fernanda Sant'Ana de; FATIBELLO-FILHO, Orlando ; LEITE, Oldair D.. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v. 31, p. 731-734, 2008.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.1801-1812, 1999.

**ANEXO A- Normas do periódico Química Nova**



## Normas de submissão à Química Nova

ISSN: 0100-4042 (versão eletrônica)

**Geral** - Serão considerados para publicação na Revista Química Nova manuscritos que cubram as áreas tradicionais da Química bem como artigos sobre Ensino de Química, História da Química, Política Científica, etc, além de artigos de áreas afins, desde que tenham acentuado conteúdo químico. Os trabalhos devem se encaixar dentro de uma das modalidades abaixo:

**Artigos Originais** (em português, inglês ou espanhol): refere-se a trabalhos inéditos de pesquisa. Devem seguir a forma usual de apresentação, contendo Introdução, Resultados e Discussão, Parte Experimental etc, de acordo com as peculiaridades de cada trabalho. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

**Artigos de Revisão** (em português, inglês ou espanhol): destinados à apresentação do progresso em uma área específica de Química, com o objetivo de dar uma visão crítica do estado da arte do ponto de vista do especialista altamente qualificado e experiente. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

É imprescindível que, na referida área, o autor tenha publicações que comprovem a sua experiência e qualificação. Antes do envio do manuscrito, o autor deverá submeter à editoria, por e-mail, um resumo da revisão pretendida, acompanhado de uma carta explicativa da pertinência do trabalho. O material será analisado pelos Editores e, uma vez aprovado, será solicitado ao autor o envio do manuscrito completo, dentro das normas de *QN*, e só então será dado início ao processo de avaliação pelos assessores.

O Corpo Editorial de *QN* poderá, eventualmente, convidar pesquisadores qualificados para submeter artigo de revisão.

**Artigos sobre Educação** (em português ou espanhol): trabalhos de pesquisas relacionadas ao ensino de Química e divulgação de experiências inovadoras no ensino de graduação e pós-graduação. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

**Notas Técnicas** (em português, inglês ou espanhol): trabalhos de comunicação de métodos, validação de métodos, técnicas, aparelhagens ou acessórios desenvolvidos no laboratório de origem do autor do manuscrito. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

**Assuntos Gerais** (em português, inglês ou espanhol): abordagem de assuntos de interesse geral dos químicos, tais como política científica, programas de graduação e pós-graduação, história da química. etc. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas etc. e todas as páginas deverão ser numeradas.

**PREPARAÇÃO DE MANUSCRITOS** – Todos os trabalhos deverão ser digitados em espaço duplo, utilizando somente Microsoft Word. A seguir, deve ser gerado um único arquivo no formato *.pdf*, do trabalho todo, para ser submetido através do sistema *on line de QN*. A revista não aceita mais a submissão de trabalhos por outra forma.

A primeira página deverá conter o título do trabalho, nome e endereço dos autores. Havendo autores com diferentes endereços, estes deverão vir imediatamente após o nome de cada autor. Os autores deverão ser agrupados por endereço. O autor para correspondência, que deverá ser o mesmo que submete o artigo *on line*, deverá ser indicado com asterisco (\*) e seu e-mail colocado no rodapé da página (um só e-mail).

A segunda página deverá conter o título e o resumo do trabalho em inglês (abstract), com no máximo 100 (cem) palavras, e a indicação de 3 palavras-chave (keywords), também em inglês.

As figuras (incluindo gráficos, esquemas, etc) deverão ser em número máximo de 7 figuras simples e ter qualidade gráfica adequada (usar somente fundo branco). Para número maior ver o item Material Suplementar. As figuras, tabelas, esquemas, etc deverão ser colocadas após as referências e devidamente identificadas pelo respectivo número. Se escaneadas, deverão ser em alta resolução (*800 dpi/bitmap para traços*). No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente, além de boa qualidade gráfica. Considerar que as figuras deverão ter largura máxima de uma coluna (8,5 cm).

Figuras coloridas terão custo de publicação repassado aos autores, quando da publicação. Esse valor só poderá ser informado aos autores quando o trabalho estiver previsto para ser publicado, ocasião em que a gráfica fornece o orçamento.

Para figuras, gráficos, esquemas, tabelas, etc idênticos aos já publicados anteriormente na literatura, os autores deverão pedir permissão para publicação junto à empresa/sociedade científica que detenha os direitos autorais e enviá-la à editoria de *QN* junto com a versão final do manuscrito.

As referências deverão ser numeradas consecutivamente no texto, na forma de expoentes, após a pontuação (se houver). A lista de referências deverá ser colocada no final do texto. As legendas das figuras, gráficos e esquemas deverão ser colocadas em uma única folha à parte, separadas das figuras. A seguir, deverão ser colocadas as figuras, os gráficos, os esquemas, as tabelas e os quadros. Colocar os títulos acima de cada tabela. No texto, deverá ser indicada apenas a inserção de cada um(a).

## **Referências**

### ***Revistas:***

Será utilizada a abreviatura da revista como definida no Chemical Abstracts Service Source Index (ver <http://www.cas.org/sent.html>). Caso a abreviatura autorizada de uma determinada revista não puder ser localizada e não for óbvio como o título deve ser

abreviado, deve-se citar o título completo.

1. Varma, R. S.; Singh, A. P.; *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, *67*, 518.

2. No caso especial da revista citada não ser de fácil acesso, é recomendado citar o seu número de Chemical Abstract, como segue:

Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; *Izv. Vyssh. Uchebn. Zadev.; Khim. Khim. Tekhnol.* **1976**, *19*, 708. (CA 85:78051s).

3. Caso o trabalho tenha doi, mas não a referência completa, citar doi da seguinte maneira:

Vidotti, M.; Silva, M. R.; Salvador, R. P.; de Torresi, S. I. C.; Dall'Antonia, L. H.; *Electrochimica Acta* (2007), doi:10.1016/j.electacta.2007.11.029.

É recomendado o uso de referências compostas na medida do possível, em lugar de uma lista de referências individuais. O estilo das referências compostas é o seguinte:

4. Varela, H.; Torresi, R. M.; *J. Electrochem. Soc.* **2000**, *147*, 665; Lemos, T. L. G.; Andrade, C. H. S.; Guimarães, A. M.; Wolter-Filho, W.; Braz-Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1996**, *7*, 123; Ângelo, A. C. D.; de Souza, A.; Morgon, N. H.; Sambrano, J. R.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 473.

#### **Patentes:**

Devem ser identificadas da seguinte forma (na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado entre parênteses).

5. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* 79 73,771 **1979**. (CA 91:P193174v)

6. Kadin, S.B.; *US pat.* 4,730,004 **1988**. (CA 110:P23729y)

7. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T. *Br PI* 9.604.468-3, **1999**.

#### **Livros:**

*com editor(es):*

8. Regitz, M. Em *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry*; Regitz,

M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, cap. 2.

*sem editor(es):*

9. Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 5<sup>th</sup> ed., Wiley: New York, 1988.

***Programas de computação (Softwares):***

10. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement*; Universidade de Göttingen, Alemanha, 1993.

***Teses:***

11. Velandia, J. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.

***Material apresentado em Congressos:***

12. Ferreira, A. B; Brito, S. L.; *Resumos da 20<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Poços de Caldas, Brasil, 1998.

***Páginas Internet:***

<http://www.s bq.org.br/jbcs>, acessada em Junho 2001.

***Material não publicado:***

Para material aceito para publicação: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, no prelo. Para material submetido mas ainda não aceito: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido. Para trabalho não publicado ou comunicação pessoal: Magalhães, U. H.; trabalho não publicado ou Magalhães, U. H., comunicação pessoal. Os resultados não publicados só poderão ser citados

Os autores devem procurar seguir, naquilo que for possível, as normas recomendadas pela IUPAC, inclusive o Sistema Internacional de Unidades. Sobre a nomenclatura de compostos (orgânicos e inorgânicos) já há traduções para a língua portuguesa publicadas em QN. Quanto aos Símbolos e Terminologias, onde não há tradução, espera-se que adaptação seja feita pelos autores, criando então, paulatinamente, um conjunto de normas em português.

**SUBMISSÃO DOS ARTIGOS** – A *QN* oferece aos autores a submissão *on line*, que pode ser acessada através do registro de Login e Senha. É possível registrar-se em nossa home page (<http://quimicanova.s bq.org.br>) usando a opção Novo Usuário. Usuários da plataforma do JBCS, já estão cadastrados na base (pois ela é comum às duas revistas), devendo utilizar o mesmo Login e Senha. Após estar cadastrado no sistema, o autor pode facilmente seguir as instruções fornecidas na tela. Será solicitada a submissão de um único arquivo do manuscrito completo, em formato *.pdf*. Está disponível uma ferramenta para gerar o arquivo *.pdf*, a partir de arquivo *.doc* ou *.rtf*, com envio automático para o e-mail do autor. Tão logo seja completada a submissão, o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que este seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail com o número de referência do trabalho.

Se não for recebido o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão.

O autor poderá acompanhar, diretamente através do sistema, a situação de seu manuscrito.

Ao fazer a submissão, solicita-se uma carta de apresentação, que deverá ser digitada no local indicado, sendo obrigatória a apresentação dos e-mails de todos os autores. Além disso, devem ser enviados também os nomes, instituições a que pertencem e e-mails de três ou quatro possíveis assessores, que não podem pertencer à(s) mesma(s) instituição(ões) dos autores.

**Material Suplementar** – Esta modalidade foi criada para que na versão impressa da revista apareça o número estritamente necessário de figuras e tabelas (6 a 7 figuras simples). Ressalta-se que, como este material ficará disponível apenas na versão *on line*, figuras, tabelas e ilustrações coloridas apresentadas na forma de material suplementar não terão custo repassado aos autores, nem limite de páginas. Porém, devem ter boa qualidade gráfica.

O material suplementar deverá ser colocado no final do trabalho, com indicação clara. Deverá ser submetido um único documento *.pdf*, incluindo o material suplementar.

Os Editores poderão solicitar aos autores, em qualquer fase da tramitação, a separação de Material Suplementar.

**MANUSCRITOS REVISADOS** – Manuscritos enviados aos autores para revisão deverão retornar à Editoria dentro de prazo máximo de três meses ou serão considerados retirados, sendo que o sistema encerra o processo, não permitindo que seja reaberto. Vencido o prazo, deverá ser feita nova submissão, dando início a um novo processo.

A submissão do manuscrito revisado deverá ser feita pelo mesmo autor, usando o Login e a Senha registrados anteriormente. O autor deve seguir as instruções fornecidas na tela, para envio do documento *.pdf* completo da versão revisada e das respostas aos assessores, detalhando as alterações feitas na nova versão e justificando as alterações sugeridas nos pareceres e que não foram aceitas pelos autores. Esses dois arquivos devem ser enviados através da seção Envio de Nova Versão, na Página do Autor, no sistema de

submissão *on line* de *QN*.

Tão logo seja completada a submissão o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que ele seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail contendo o número de referência do trabalho.

Se não receber o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão.

O autor poderá acompanhar, diretamente através do sistema, o status de seu manuscrito.

**VERSÃO FINAL** – Quando for solicitada a versão final, o autor receberá instruções específicas quanto a programas para envio de arquivos (texto, figuras, tabelas, etc) . Arquivos em formato *.pdf* não são mais solicitados nessa fase.

Se as Figuras forem escaneadas, deverão ser em alta resolução (*800 dpi/bitmap para traços*) com extensão *tif* ou *jpg*, desde que nas dimensões especificadas pelos Editores. As fotos ou desenhos com cor (*300 dpi/grayscale*) deverão ser enviadas com extensão *tif/jpg*, com largura máxima total de 8,5 cm para não haver problemas ao aplicá-las no padrão da Revista. Outras extensões possíveis: *cdr, eps, cdx ou opj*. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente.

*A Editoria de QN reserva-se o direito de efetuar, quando necessário, pequenas alterações nos manuscritos, de modo a adequá-los às normas da revista ou tornar seu estilo mais claro, respeitando, naturalmente, o conteúdo do trabalho. Qualquer que seja a natureza do manuscrito submetido, ele deve ser original em nível de metodologia, informação, interpretação ou crítica. A qualificação do trabalho será atestada por dois consultores, indicados pela Editoria.*