



**Extratos proteicos e fenólicos de batata doce: Efeito de métodos combinados de inativação enzimática sobre suas funcionalidades**

**Palavras-Chave: Proteína, Antocianina, Polifenoloxidase**

**Autores(as):**

**Isabella de Almeida Pina – FEA UNICAMP**

**Profª Orientadora: Carolina Siqueira Franco Picone – FEA UNICAMP**

**Co-orientadora: Ana Clara Troya Raineri Fiocco – FEA UNICAMP**

**1. Introdução:**

A batata doce (*Ipomoea batatas* L.) apresenta considerável fração proteica e fenólica em sua composição. Entretanto, suas funcionalidades podem ser comprometidas pela ação da enzima polifenol oxidase (PPO), enzima que contém cobre, catalisando a hidroxilação de certos fenóis e, portanto, originando o-quinonas. As o-quinonas condensam e reagem não enzimaticamente com aminoácidos e proteínas, resultando na formação de pigmentos de melanina marrom/escuro (Severini et al., 2003) e comprometendo a reconhecida ação antioxidante das antocianinas, bem como o valor nutricional das proteínas (Pourcel et al., 2007). A utilização de ácido ascórbico concomitante ao tratamento térmico pode potencializar a inativação desta enzima. Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito destes processos (isolados ou combinados) sobre as propriedades funcionais da proteína de batata doce e dos extratos fenólicos obtidos a partir da casca do tubérculo.

**2. Metodologias gerais**

A batata doce foi descascada manualmente e ambos, tubérculo e casca, passaram por análise centesimal através de metodologias oficiais da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) 2006. Ambas as frações (casca e tubérculo em cubos) foram submetidas a diferentes processos de inativação enzimática, conforme indicado no Quadro 1. Cada procedimento foi realizado em triplicata.

**Quadro 1 – Diferentes meios de imersão para inativação enzimática**

<b>CT</b>	<b>MB</b>	<b>AB50</b>	<b>B50</b>	<b>AA</b>
-	0,05 mM metabisulfito de sódio/ 3 min/ 25 °C	0,8 mM ác. ascórbico/ 3 min/ 50 °C	água destilada/ 3 min/ 50 °C	0,8 mM ác. ascórbico/ 3 min/ 25 °C

Após a extração do amido, realizou-se as extrações da proteína e dos compostos da casca. A proteína foi extraída através de precipitação isoelétrica (pH 4,1) (MU, 2009). Posteriormente, o pH da solução proteica foi ajustado para 7,0. Para os compostos fenólicos da casca, realizou-se extração ácida com ácido cítrico, conforme Ekaputra & Pramitasari (2020) com algumas modificações. O extrato foi concentrado em rotaevaporador Evaporador Rotativo TECNAL TE-211 (Brasil) a 45 °C e mantido em frascos âmbar sob refrigeração para futuras análises. A proteína foi analisada quanto à atividade PPO através de espectrofotômetro a 410 nm, utilizando 4-metil-catecol como substrato (Manohan & Wai, 2012; Niphadkar *et al*, 2015). Após essa análise, o extrato proteico foi liofilizado em liofilizador LIOBRAS Liotop LP820 (Brasil) e analisado quanto à solubilidade (BRADFORD, 1976), raio hidrodinâmico e potencial zeta. A antocianina do extrato fenólico foi quantificada por pH diferencial (Moura e colaboradores, 2019). Para identificação e quantificação de flavonoides totais utilizou-se quercetina como padrão (Lobo et al, 2021). Ambos os extratos, fenólico e proteico, foram analisados quando a concentração de proteína por Kjeldahl (N = 6,25), fenólicos totais por Folin-Ciocalteu (Dias, 2016) e capacidade antioxidante através do método de ABTS (Rufino e colaboradores, 2007).

### 3. Análises e resultados

#### 3.1. Análise centesimal

Os resultados da análise centesimal da casca e tubérculo de batata doce estão na Tabela 1 abaixo e estão em concordância com a literatura (ANDRADE, 2002).

**Tabela 1** - Análise centesimal do tubérculo e da casca da batata doce

	Umidade (%)	Lípideos (%)	Cinzas (%)	Proteína (%)	Carboidratos (%)
<b>Tubérculo</b>	78,25 ± 0,33	0,45 ± 0,07	1,78 ± 0,14	4,23 ± 0,16	93,55 ± 0,16
<b>Casca</b>	79,72 ± 0,24	1,4 ± 0,17	7,05 ± 0,66	4,48 ± 0,30	87,07 ± 0,66

#### 3.2. Caracterização do extrato da proteína

A Tabela 2 apresenta as caracterizações do extrato proteico quanto à quantidade de proteína, atividade enzimática remanescente de PPO, quantidade de fenólicos totais e capacidade antioxidante. De maneira geral, houve diminuição da atividade enzimática nas amostras que receberam tratamento em comparação à amostra controle. Isso se dá uma vez que o ácido ascórbico e seus sais neutros atuam reduzindo as quinonas de volta à fenóis, antes de formarem pigmentos escuros (COSTA, 2010). O metabissulfito, por sua vez, atua como inibidor químico e age diretamente sobre o sítio ativo da PPO, além de reagir com as quinonas formadas, o que evita que se polimerizem gerando compostos incolores estáveis (COSTA, 2011). Embora a temperatura de desnaturação da PPO seja entre 70 – 90 °C, a amostra de 50 °C apresentou diminuição na atividade da enzima. (LUÍZ, 2007).

Em relação à quantidade de fenólicos totais, nota-se que o valor da amostra B50 foi o único maior quando comparado ao controle. O uso da temperatura pode ser favorável para extração de fenólicos, uma vez que o calor pode tornar as paredes celulares permeáveis, aumentando a solubilidade e a difusão dos compostos a serem extraídos. (OLIVEIRA, 2014).

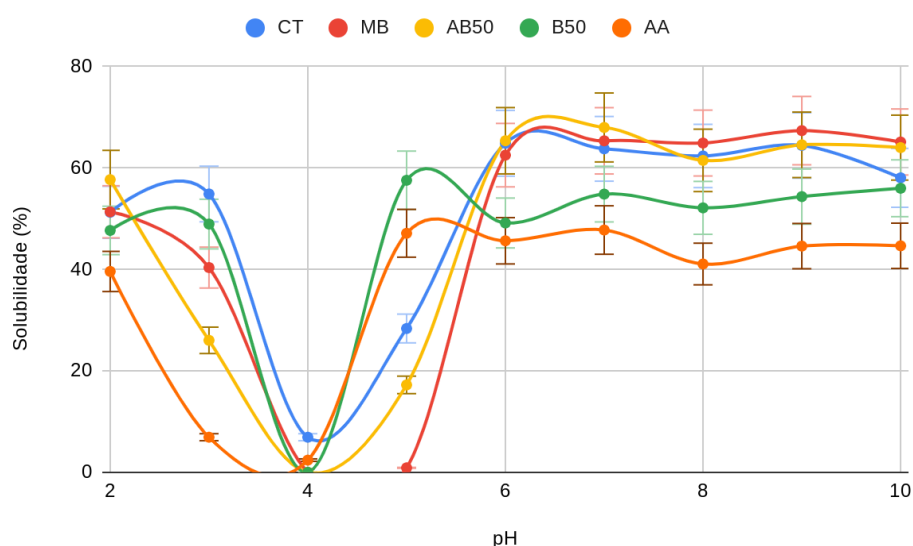
Todas as amostras tratadas apresentaram maior capacidade antioxidante quando comparadas ao controle (Tabela 2). De fato, a enzima polifenoloxidase influencia negativamente na capacidade antioxidante uma vez que catalisa reações de oxidação capazes de provocar escurecimento enzimático, o que explica os menores valores da amostra controle.

**Tabela 2** - Proteína bruta, atividade enzimática, quantificação de fenólicos e capacidade antioxidante dos extratos de proteína.

Amostra	% Proteína bruta	Atividade Enzimática (U/min)	Fenólicos totais (mgE ác. gálico)	Capacidade antioxidante ( $\mu\text{M}$ trolox/L)
CT	38,98 $\pm$ 2,21 <sup>a</sup>	48,65 $\pm$ 5,78 <sup>a</sup>	99,59 $\pm$ 4,34 <sup>a</sup>	565,32 $\pm$ 9,26 <sup>a</sup>
MB	36,50 $\pm$ 1,55 <sup>a</sup>	26,84 $\pm$ 5,98 <sup>b</sup>	88,24 $\pm$ 1,85 <sup>b</sup>	895,04 $\pm$ 1,55 <sup>b</sup>
AB50	39,02 $\pm$ 4,05 <sup>a</sup>	29,55 $\pm$ 2,48 <sup>b</sup>	95,01 $\pm$ 3,39 <sup>a</sup>	866,16 $\pm$ 9,42 <sup>b</sup>
B50	28,19 $\pm$ 7,89 <sup>ab</sup>	27,33 $\pm$ 5,66 <sup>b</sup>	131,78 $\pm$ 12,10 <sup>c</sup>	683,13 $\pm$ 2,20 <sup>c</sup>
AA	20,50 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>	27,53 $\pm$ 3,71 <sup>b</sup>	63,97 $\pm$ 2,01 <sup>d</sup>	613,21 $\pm$ 14,61 <sup>a</sup>

Quanto à análise estatística dos dados, letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa  $p < 0,05$ .

**Figura 1** - Solubilidade da proteína determinada em pH de 2 a 10.



Observa-se que a solubilidade da proteína AB50 aumentou (68%), sugerindo-se que a temperatura utilizada (50 °C) pode promover alterações estruturais, contribuindo para maior solubilidade. As amostras AA e B50 apresentaram menores valores de solubilidade em quase todos os valores de pH analisados, o que pode estar relacionado com a concentração de proteína no extrato (20% e 30%, respectivamente) ser menor que as demais amostras (faixa de 30-45%). Em pH diferentes do ponto isoelétrico da proteína (entre pH 4 e 5) ocorre um aumento da solubilidade proteica, devido ao aparecimento de cargas positivas ou negativas em excesso sobre as cadeias de proteínas, que favorecem a interação carga-momento do dipolo da água (CARNEIRO, 1997).

### 3.3. Caracterização do extrato da casca

Os resultados obtidos na caracterização dos extratos fenólicos encontram-se na Tabela 3. A antocianina é um composto fenólico sensível à luz, temperatura e pH. Observa-se que a amostra

controle apresentou menor quantidade de antocianina, indicando que os tratamentos foram eficientes ao promoverem maior extração de antocianinas. Observa-se que as amostras tratadas com ácido ascórbico apresentaram maior quantidade de flavonóides (Tabela 3). Isso se dá devido ao caráter protetor do ácido ascórbico, de forma a evitar danos fotoquímicos.

**Tabela 3** - Quantificação de antocianina, flavonóides e fenólicos totais, proteína bruta e capacidade antioxidante de cada extrato da casca.

Amostra	Concentração de antocianina (mg L <sup>-1</sup> )	Concentração de flavonóides (mg L <sup>-1</sup> )	% Proteína bruta (b. u.)	Fenólicos totais (mgE ác. gálico)	Capacidade antioxidante (mM trolox/L)
CT	10,39 ± 0,91 <sup>a</sup>	148,73 ± 3,01 <sup>a</sup>	0,20±0,06 <sup>a</sup>	81,04±5,15 <sup>a</sup>	1,70±0,01 <sup>ac</sup>
MB	13,69 ± 1,29 <sup>b</sup>	168,12 ± 1,29 <sup>b</sup>	0,09±0,01 <sup>b</sup>	66,08±4,96 <sup>b</sup>	1,42±0,01 <sup>b</sup>
AB50	14,39 ± 2,46 <sup>ab</sup>	181,77 ± 0,17 <sup>c</sup>	0,08±0,01 <sup>ab</sup>	100,81±1,30 <sup>c</sup>	1,78±0,04 <sup>c</sup>
B50	17,97 ± 6,44 <sup>abc</sup>	99,16 ± 8,32 <sup>d</sup>	0,13 ± 0,05 <sup>ab</sup>	134,42 ± 1,71 <sup>d</sup>	0,60±0,05 <sup>d</sup>
AA	20,09 ± 2,03 <sup>c</sup>	127,87 ± 3,57 <sup>e</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>a</sup>	83,16±10,60 <sup>ab</sup>	1,60±0,01 <sup>a</sup>

Quanto à análise estatística dos dados, letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa  $p < 0,05$ .

O extrato controle apresentou considerável capacidade antioxidante quando comparado às outras amostras. A maior concentração de proteínas presentes no extrato controle pode colaborar com sua alta atividade antioxidante, conforme a Tabela 3. Entretanto, o ácido ascórbico associado ao tratamento térmico apresentou o maior valor, o que pode estar relacionado à alta concentração de flavonóides nessa amostra, compostos com alta capacidade antioxidante. O metabissulfito de sódio reage rapidamente com vários compostos, podendo se ligar a eles reversivelmente (QUEIROZ, 2006). No caso dos fenólicos totais, sugere-se que o metabissulfito tenha reagido com fenólicos, o que justifica o valor mais baixo.

#### 4. Conclusão

A partir dos resultados obtidos, verifica-se a importância dos tratamentos de inativação enzimática, tanto para a proteína como para os compostos extraídos da casca. Na proteína, a inativação enzimática promoveu benefícios relacionados à capacidade antioxidante e solubilidade. O uso de ácido ascórbico junto à temperatura (AB50) se mostrou mais eficiente quando comparado a cada método isolado (amostras AA e B50). Para os extratos da casca, o tratamento, com ácido ascórbico principalmente, permitiu uma maior extração das antocianinas, além de garantir o aumento de flavonóides e da capacidade antioxidante das amostras.

#### BIBLIOGRAFIA

ANDRADE, Rafael Leite Pinto de; MARTINS, José Francisco Pereira. Influência da adição da fécula de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) sobre a viscosidade do permeado de soro de queijo. *Food Science and Technology*, v. 22, p. 249-253, 2002.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18.ed. Gaithersburg, 2006.

CARNEIRO, J. G. M. Características Funcionais de Concentrados Protéicos de Soro de Leite de Cabras. Campinas, 1997. Tese de Doutorado - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

COSTA, A.. Determinação da atividade enzimática e antioxidante de variedades comerciais de Ananas comosus e avaliação do efeito de tratamento térmico e do uso de aditivos químicos. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 2011.

COSTA, A.C.; Estudo da conservação do pêssego (*Prunus persica* L.) minimante processado. Tese (Doutorado), Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, p.77, Pelotas, 2010.

de MOURA, S. C. S. R., Berling, C. L., Garcia, A. O., Queiroz, M. B., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. (2019). Release of anthocyanins from the hibiscus extract encapsulated by ionic gelation and application of microparticles in jelly candy. *Food Research International*, 121(November 2018), 542–552. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.010>

DIAS, Tiago. Determinação do teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu)- Espectrofotometria Universidade Federal de Goiás. Laboratório de Nutrição e Análise de Alimentos. 2016.

EKAPUTRA, T., & Pramitasari, R. Evaluation of physicochemical properties anthocyanin extracts and powders from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) *Food Research*, 4(6), 2020-2029. 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(6\).195](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(6).195)

LOBO, Viviane da Silva et al. Quantificação de flavonoides totais da *Eruca vesicaria* (L.) Cav. cultivada de forma hidropônica na região oeste do Paraná. *Revista Fitos*, v. 15, n. Supl 1, p. 79-92, 2021.

LUÍZ, Rúbia Caroline; HIRATA, Talita Akemi Medeiros; CLEMENTE, Edmar. Cinética de inativação da polifenoloxidase e peroxidase de abacate (*Persea americana* Mill.). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 31, p. 1766-1773, 2007.

MU, Tai-Hua; TAN, Sze-Sze; XUE, You-Lin. The amino acid composition, solubility and emulsifying properties of sweet potato protein. *Food Chemistry*, v. 112, n. 4, p. 1002-1005, 2009.

MANOHAN, D., & Wai, W. Characterization of Polyphenol Oxidase in Sweet Potato (*Ipomoea Batatas* (L.)). *Journal for the Advancement of Science & Arts*, 3(1), 14-31. 2012. Disponível em: <http://www.ucsiuniversity.edu.my/cervie/pdf/ijasa/paperV3N1-2.pdf>

NIPHADKAR, S. S., Vetal, M. D., & Rathod, V. K. (2015). Purification and Characterization Polyphenol Oxidase from Waste Potato Peel by Aqueous Two-Phase Extraction. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 45(7), 632–649. <https://doi.org/10.1080/10826068.2014.940970>

OLIVEIRA, D. S. Nova metodologia para extração de compostos fenólicos de vinho tinto e avaliação da estabilidade dos extratos obtidos. 150f. 2014. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de alimentos). Universidade Federal de Viçosa. 2014

POURCEL, L., Routaboul, J. M., Cheyrier, V., Lepiniec, L., & Debeaujon, I. (2007). Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science*, 12(1), 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.11.006>

PRIOL, L. Le, Dagmey, A., Morandat S., Saleh, K., Kirat, K. El, & Nesterenko, A. Comparative study of plant protein extracts as wall materials for the improvement of the oxidative stability of sunflower oil by microencapsulation. *Food Hydrocolloids*, 95(January), 105-115. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.026>

QUEIROZ, Yara Severino de et al. Influência dos aditivos alimentares na atividade antioxidante in vitro de produtos de alho. *Alimentos e nutrição*, v. 17, n. 3, p. 287-293, 2006.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. 2007.

SEVERINI, C., Baiano, A., De Pilli, T., Romaniello, R., & Derossi, A. (2003). Prevention of enzymatic browning in sliced potatoes by blanching in boiling saline solutions. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 657–665. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00085-9](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00085-9)