

2004

MARCOS ANTONIO BACARIN

Sidnei Deuner

## CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DA INVERTASE ÁCIDA SOLÚVEL EM TUBÉRCULOS DE BATATA: ENERGIA DE ATIVAÇÃO E EFEITO DE INIBIDORES

Tubérculos de batata quando armazenados a temperaturas inferiores a 10°C sofrem um processo chamado adoçamento de baixa temperatura, acumulando açúcares solúveis totais e ao serem processados na forma de “chips”, resultam em produtos de coloração escura, resultado da reação entre açúcares redutores (glicose e frutose) e aminoácidos livres. Um dos mecanismos propostos para explicar este fato é o aumento na atividade da invertase ácida. No entanto, os mecanismos de controle da atividade da invertase ainda não estão bem entendidos. Na tentativa de elucidá-los foi realizada a caracterização parcial da invertase ácida solúvel de tubérculos maduros de batata com base no efeito de inibidores e energia de ativação. Após a colheita os tubérculos de batata cv. Pérola, foram acondicionados a 4°C no escuro por 30 dias. A seguir as amostras foram congeladas até o momento do processamento, que consistiu da purificação parcial da invertase por maceração, centrifugação, precipitação com sulfato de amônio e diálise obtendo-se o extrato protéico. A partir do extrato protéico realizaram-se ensaios de cinética enzimática para determinação da Velocidade Máxima da reação ( $V_{m\acute{a}x}$ ) e da constante de Michaelis e Menten ( $K_M$ ) variando-se a concentração de sacarose e determinando-se a velocidade da reação, medida pela liberação de açúcares redutores. Realizada a cinética enzimática, adicionou-se glicose e frutose nas concentrações de 1 e 10 mM ao meio da reação determinando a cinética na presença destes inibidores. A relação entre a concentração de substrato e velocidade da reação foi expressa a partir dos gráficos duplos recíprocos (Lineweaver-Burk). A cinética enzimática para os tubérculos na presença do inibidor glicose nas concentrações de 1 e 10 mM mostrou incremento no valor de  $k_M$  e redução na  $V_{m\acute{a}x}$ , fato este caracterizando a glicose como inibidor não competitivo. Quando da adição de frutose, nas mesmas concentrações, verificou-se grande incremento no  $k_M$  e no  $V_{m\acute{a}x}$ , porém menor, caracterizando a frutose como inibidor competitivo. Para a energia de ativação, verificou-se que a enzima invertase apresenta dois picos de ativação, o primeiro entre as temperaturas de 15 a 45°C e um segundo, mais acentuado, entre a faixa de 45 e 60°C com valores de 38,60 e 48,87 KJ mol<sup>-1</sup> em pH 4,5, respectivamente. Após este valor houve decréscimo na velocidade da reação. Estes resultados demonstram que a invertase ácida solúvel é enzima resistente a altas temperaturas.