

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

GENI APARECIDA SILVA

Efeito das radiações ionizantes em bananas (Musa cavendishii):

Ação sobre a atividade das peroxidases

Trabalho experimental apresentado à Faculdade
de Ciências Farmacêuticas da Universidade de
São Paulo, para obtenção do grau de Mestre,
em Ciência dos Alimentos.

São Paulo
1976

8921

USP-CQ
664.88
S586e

Efeito das radiações ionizantes em bananas (*Musa cavendishii*): ação sobre a atividade das peroxidases



08921-F

Efeito das radiações ionizantes em
bananas (*Musa cavendishii*):

Ação sobre a atividade das peroxidases

Trabalho experimental apresentado à Faculdade
de Ciências Farmacológicas da Universidade de
São Paulo, para obtenção do grau de Mestre,
em Ciências das Farmácias.

Apresentação

Agradeço aos meus pais, especialmente ao meu pai, por me terem ensinado a importância da família e do trabalho.

Este livro é dedicado a todos os que acreditam no futuro e buscam a melhoria constante.

Com carinho e respeito, dedico este trabalho a todos os meus familiares e amigos.

Espero que este livro possa trazer alguma contribuição para a melhoria da qualidade de vida de todos.

Com gratidão e esperança, dedico este trabalho a todos os que acreditam no futuro.

Com carinho e respeito, dedico este trabalho a todos os meus familiares e amigos.

À minha mãe

Aos meus irmãos

Ao Marcos

Agradecimentos

À Prof. M.A.Pourchet Campos, pela acolhida que nos proporcionou ao Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos e o apoio constante recebido.

Ao Prof. José Carlos Barbério, pela orientação e apoio prestados no presente trabalho, auxiliando-nos em nosso início na pesquisa científica.

Ao Prof. Franco M. Lajolo, pela inestimável colaboração prestada, guiando-nos na elaboração deste trabalho.

Aos demais professores do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pelos conhecimentos transmitidos e também aos funcionários e colegas que sempre colaboraram conosco.

À Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e a Fundação ABIF de Biociências, pelas bolsas de estudo concedidas auxiliando-nos na realização do presente trabalho.

À Fundação Universidade Estadual de Londrina, pelo apoio proporcionado, possibilitando o nosso comparecimento a este Departamento durante a realização do trabalho aqui relatado e, em especial, aos colegas Prof. Joaquim Kauru Hamada e Prof. Dalva Trevisan que colaboraram em nossas atividades didáticas concomitantes com a presente pesquisa.

Ao Instituto de Radioterapia Oswaldo Cruz, permitindo-nos a utilização da fonte de irradiação necessária aos nossos experimentos, principalmente, ao Prof. Dirceu Martins Vizeu por sua efetiva colaboração.

As bibliotecárias das bibliotecas do Conjunto das Químicas e Instituto de Energia Atômica, pelo inestimável auxílio na elaboração das referências bibliográficas deste trabalho.

Aos amigos, pela contribuição constante de seus incentivos.

SUMÁRIO

	pág.
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 - Ação geral das peroxidases vegetais	3
2.1.1 - Ação das peroxidases na maturação de frutos	4
2.2 - Efeito de radiação gama em peroxidases vege- tais	5
2.3 - Efeito de radiação gama em bananas	8
3 - OBJETIVOS	10
4 - MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1 - Material	12
4.2 - Métodos	12
4.2.1 - Fonte de irradiação	12
4.2.2. - Doses empregadas	13
4.2.3 - Armazenamento dos frutos	13
4.2.4 - Medida do grau de maturação dos frutos	13
4.2.5 - Obtenção dos extratos enzimáticos ..	14
4.2.8 - Medida da atividade enzimática	15
5 - RESULTADOS	16
5.1 - Efeito das doses empregadas na maturação dos frutos de banana	16
5.2.- Efeito das doses empregadas na atividade en- zimática em função da estocagem dos frutos após irradiação	18
6 - DISCUSSÃO	27
7 - CONCLUSÕES	31
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
9 - SUMMARY	46

1 - INTRODUÇÃO

A aplicação de radiações ionizantes em frutos frescos merece atenção tanto quanto à destruição de microorganismos patogênicos como ao atraso do amadurecimento.

Em geral, não é a mesma faixa de doses de radiação que produz os dois efeitos. Os microrganismos necessitam de doses tão grandes para a destruição que podem ser prejudiciais à qualidade do fruto.

O emprego das radiações no retardo do amadurecimento dos frutos é muito promissor, porém mais estudos devem ser realizados desde que alterações fisiológicas e bioquímicas tam bém ocorrem neste caso.

Os processos de preservação dos alimentos industria lizados requerem que certas enzimas sejam inativadas enquanto que no caso de frutos "in natura" este efeito não é desejável. Após a colheita, os frutos continuam sendo organismos vivos e sob irradiação podem ter alterada a atividade enzimática, mas não reprimida, como poderíamos esperar, e este fato pode ser determinante para a qualidade desejada.

As peroxidases podem ilustrar o que acabamos de relatar. Trata-se de enzimas universalmente distribuídas e envolvidas em vários fenômenos observados nos vegetais, tanto

endógenos como exógenos, fisiológicos e acidentais⁽¹⁸⁾.

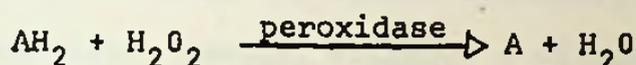
O estudo do efeito de radiações ionizantes sobre estas enzimas torna-se, então, de muito interesse. Principalmente, se efetuado num produto tão facilmente perecível como é a banana e cuja exploração comercial, pelo nosso país, deixa muito a desejar em comparação com outros países produtores deste fruto.

Levando em conta as boas condições de cultivo deste fruto em grande parte do nosso território e os benefícios sócio-econômicos resultantes de uma menor perda da produção agrícola, o emprego das radiações no atraso do amadurecimento dos frutos de banana é uma possibilidade já concreta, tendo em vista legislação regulamentar (Decreto nº 72718 de 29 de agosto de 1973) e figurando entre os objetivos do Programa de Irradiação de Alimentos do Brasil⁽⁸⁰⁾.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - Ação geral das peroxidases

As peroxidases catalizam reações nas quais o peróxido de hidrogênio é um aceptor de elétrons. Promovem, então, a transferência de hidrogênio conforme o seguinte esquema:



Os estudos iniciais sobre estas enzimas só levavam em conta a forma solúvel (citoplasmática), porém, mais recentemente, foram efetuados vários estudos da forma ligada, ou seja, associada a mitocôndria⁽³¹⁾⁽⁵⁵⁾, ribossomos⁽³⁴⁾⁽³⁶⁾⁽⁵⁹⁾, cromossomos⁽⁵⁸⁾, núcleos⁽³⁶⁾⁽⁵⁸⁾, parede celular⁽²⁾⁽³⁾⁽⁹⁾⁽¹²⁾⁽³⁶⁾⁽⁵⁵⁾⁽⁵⁶⁾⁽⁵⁸⁾⁽⁷¹⁾⁽⁷⁹⁾ e membrana celular⁽¹¹⁾⁽³⁶⁾⁽⁵⁶⁾.

A peroxidase está envolvida na biossíntese do etileno⁽¹⁶⁾⁽¹⁹⁾, na destruição da auxina⁽⁸⁾⁽¹²⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁵⁾⁽³⁷⁾⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁸⁾⁽⁶¹⁾⁽⁶⁴⁾⁽⁶⁹⁾, é reduzida por giberelina em plantas anãs onde, normalmente, ocorrem em quantidades elevadas⁽¹⁹⁾. Há um grande aumento na atividade peroxidásica em tecidos infectados por fungos o que confere resistência à doença⁽⁵⁾⁽¹⁹⁾⁽⁶⁶⁾. A peroxidase está também associada com a maturação de

tecidos, cessação de crescimento celular e perda da extensibilidade da parede celular⁽²⁰⁾. A formação de lignina é outro processo onde há atuação da peroxidase⁽³³⁾⁽⁶⁵⁾, que também catalisa a formação de ligações fortes entre este composto e carboidratos⁽⁷⁶⁾. Sabe-se também, que a peroxidase atua na adaptação de vegetais ao clima⁽²⁶⁾⁽³⁸⁾, na defesa dos vegetais à injúria mecânica⁽²⁾⁽³⁾⁽¹⁹⁾, no desenvolvimento⁽²³⁾ e abscisão de folhas⁽³⁵⁾⁽⁵⁷⁾, na germinação de sementes⁽⁴⁷⁾⁽⁵⁴⁾⁽⁷³⁾, integridade de membranas⁽¹¹⁾, controle respiratório⁽¹⁾, na formação de fibras⁽³⁰⁾, tendo, ainda, sido proposta como integrante do sistema de origem do vacúolo⁽⁵⁶⁾.

A peroxidase exemplifica como uma simples atividade química pode controlar fenômenos internos, genéticos e hormonais (giberelina, auxina, etileno e citoquinina)⁽¹⁸⁾⁽²¹⁾⁽⁴⁸⁾⁽⁵³⁾⁽⁶³⁾ e externos (ferimento, temperatura e luz)⁽¹⁸⁾.

2.1.1 - Ação das peroxidases na maturação de frutos

A atividade da peroxidase aumenta consideravelmente juntamente com o climatério respiratório e evolução do etileno em mangas⁽³⁹⁾. A deposição de lignina em peras sofre maior influência devido à localização desta enzima do que pelo conteúdo total ou distribuição das isoenzimas⁽⁶⁰⁾. Ainda, em peras e em tomates⁽¹⁷⁾, foi encontrado que as isoenzimas da ácido indolacético oxidase correspondiam às formas de iso-

peroxidases mais ativas. O amadurecimento de bananas é reprimido pelo ácido 2,4-dicloro-fenoxi-isobutírico, substância anti-auxina, suportando a teoria de que o sítio da interação anti-auxina é a ácido indolacético oxidase⁽²⁷⁾ que nada mais é do que a peroxidase solúvel que apresenta também aquela atividade enzimática em contraste com a forma ligada. A peroxidase foi proposta recentemente⁽²⁴⁾ como parâmetro de amadurecimento e senescência de maçãs, onde apresenta dois picos, o primeiro associado com a degradação de hormônios que retardam o amadurecimento e o segundo é sugerido como defesa contra hidroperóxidos.

2.2 - Efeito de radiação gama em peroxidase vegetais

GIACOMELLI & CERVIGNI⁽²²⁾ estudaram o efeito de diferentes velocidades de radiação gama (5-42,6 r/h)^(*) em ervilhaca (*Vicia sativa*), levando em conta a variação da atividade de peroxidase entre outros parâmetros. A atividade desta enzima nas plantas irradiadas foi maior que nas plantas controle. Foi possível, inclusive, estabelecer uma relação entre a exposição à irradiação, necessária para a produção de um de

(*) 1r = 1 roetgen, quantidade de radiação ionizante que produz íons suficientes em 1 cm³ de ar seco para conduzir 1 esu de eletricidade (62). Trata-se de uma medida de exposição, (1Kr = 1000r). 1 r equivale a 84 ergs/g ar.

terminado aumento na atividade da peroxidase que, por sua vez, produzia um certo dano morfológico. As plantas que não apresentaram variação morfológica após irradiação não mostraram nenhuma modificação na atividade da peroxidase.

Laranjas irradiadas também tiveram a atividade da peroxidase solúvel aumentada quando irradiadas nas doses de 14-280 Krad^(*) sendo que o efeito foi intensificado com doses acima de 56 Krad⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾. As camadas mais externas dos frutos foram mais afetadas pelos efeitos da irradiação.

Foi sugerido⁽⁶⁷⁾, também, que a peroxidase estivesse associada à radiosensibilidade de leguminosas uma vez que, sementes irradiadas com 0,1 ou 10 Kr tiveram a atividade desta enzima aumentada nos feijões fava mas não nos trifólios.

O efeito da radiação gama (5 Kr) também foi estudado em sistemas enzimáticos de sementes de milho⁽¹³⁾ provocando aumento na atividade e diferenças no arraste de algumas isoperoxidasas.

OGAWA e col.⁽⁴⁹⁾⁽⁵⁰⁾⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾ estudaram o efeito de radiação gama em raízes de batata doce. A aplicação de doses de 5 a 120 Krad⁽⁵¹⁾ nas raízes que foram cortadas em discos e incubadas aerobicamente produziu resultados da ação da radiação na peroxidase que são relatados na Tabela I.

(*) 1 rad: é a unidade de radiação que confere 100 erg de energia por grama de substância irradiada (62). Trata-se de uma medida de absorção. (1 Krad = 1000 rad).

Tabela I

Efeito da radiação gama na atividade da peroxidase

Dose (Krad)	Peroxidase (*)
0,0	100
5,0	115
10,0	95
20,0	110
30,0	119
60,0	135
90,0	175
120,0	138

(*) Atividade nos discos incubados por 48 h após corte, como porcentagem da amostra não irradiada.

A dose de 60 Krad e as maiores estimularam a atividade peroxidásica significativamente, sendo que a dose de 90 Krad produziu maior aumento desta atividade enzimática.

As várias isoperoxidasas foram estimuladas da mesma maneira pela irradiação (90 Krad) do que pelo etileno exógeno (10 ppm)⁽⁵⁰⁾⁽⁵²⁾ e a síntese protéica "de novo" necessária para o desenvolvimento da peroxidase foi indicada pela aplicação de cicloheximida em ambos os discos de tecidos, irradia -

dos e não irradiados⁽⁵²⁾.

2.3 - Efeito da radiação gama em bananas

O efeito da radiação gama em bananas foi estudado por vários pesquisadores visando principalmente o estabelecimento de níveis ótimos que eliminassem a contaminação por microrganismos⁽¹⁴⁾⁽⁷⁰⁾ ou retardassem o processo de amadurecimento dos frutos⁽⁶⁾⁽¹⁰⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁶⁾⁽⁷⁰⁾⁽⁷⁴⁾.

THOMAS et al.⁽⁷⁴⁾ relataram que as discordâncias que parecem haver nos resultados dessas pesquisas devem ser atribuídas a diferentes variedades empregadas, ao estágio de maturação dos frutos no ato da irradiação e ao intervalo de tempo decorrido entre a colheita e a irradiação.

Estes mesmos autores estudaram o efeito da radiação gama em cinco variedades de banana cultivadas na Índia levando em conta os parâmetros acima e estabeleceram os níveis de radiação ionizante necessários para retardar o amadurecimento de cada variedade assim como a dose máxima tolerada pelas mesmas variedades. As doses que retardaram o amadurecimento estavam entre 20 e 40 Krad e a máxima tolerada entre 30 a 50 Krad.

Eles verificaram, também, que o amadurecimento foi comparativamente mais lento quando os frutos da banana foram irradiados antes do tratamento com etileno do que quando foi

feito tratamento inverso, o que sugere que a diminuição da sensibilidade dos frutos irradiados à ação do etileno seja devida às inibições que a radiação gama induza nas bananas em amadurecimento.

Além disso, foi estudado o efeito de radiações ionizantes em polifenoloxidase de banana⁽⁶⁾⁽⁷⁵⁾, originando aumento em ambas as atividades, cresolase e catecolase, por ativação enzimática e não síntese "de novo"⁽⁷⁵⁾.

Também foi observado⁽⁴⁾ que não houve variações significativas na composição química e no tipo de microrganismo natural na variedade de bananas Dominico- quando irradiada nas doses de 1 a 50 Krad e armazenadas a $18 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $50 \pm 2\%$ de umidade.

O efeito da dose que retarda o amadurecimento de frutos de banana foi estudado com respeito ao metabolismo dos carboidratos⁽⁴⁴⁾⁽⁷²⁾, tendo se verificado alteração na via pentose fosfato.

3 - OBJETIVOS

Baseando-nos no que foi relatado anteriormente procuramos, neste trabalho, estudar o comportamento da peroxidase da polpa de banana, submetendo o fruto à ação de radiações ionizantes.

Para isso decidimos:

- a) utilizar lotes de banana nanica (*Musa cavendishii*) no estágio de pré-climatério;
- b) aplicar diferentes doses de radiação ionizante, aproximando-nos da faixa que provoca retardo do amadurecimento de bananas⁽⁷⁰⁾⁽⁷⁵⁾;
- c) proceder à extração de peroxidase solúvel (citoplasmática) e ligada (a membranas, paredes e organelas celulares) durante o armazenamento, nos frutos irradiados e nos frutos controle;
- d) armazenar os frutos irradiados e não irradiados em ambiente de temperatura controlada;
- e) obter extratos enzimáticos de banana, irradiada e não irradiada, nos estágios de pré-climatério, climatério e pós climatério;

- f) verificar a possível variação da atividade dos extra -
tos enzimáticos obtidos em função da dose de radiação
aplicada.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Material

Os frutos de banana pertenciam à variedade vulgarmente denominada nanica (*Musa cavendishii*) e provieram do mercado local, portanto, sujeitos a colheita, transporte e estocagem comercial antes de serem ensaiados por nós.

Em todos os experimentos utilizamos frutos individuais e, para tanto, assim que adquiríamos as pencas, procedíamos ao destacamento dos frutos utilizando lâminas e, em seguida, mergulhávamos as extremidades cortadas em solução desinfectante de hipoclorito comercial em água na proporção de 1:1 por 1 a 2 minutos.

Utilizamos somente os frutos que não apresentavam lesão por choque mecânico, corte ou infecção.

4.2 - Métodos

4.2.1 - Fonte de irradiação

A fonte de irradiação por nós utilizada foi um ace-

lerador linear VARIAN/CLINAC, de 4 milhões de elétrons \dot{v} clts (instalado no Instituto de Radioterapia Oswaldo Cruz) o qual fornecia 300 a 768 rad por minuto de exposição.

4.2.2 - Doses empregadas

As doses de radiação ionizante utilizadas foram: 10, 20, 30 e 40 Krad e foram administradas a grupos de banana num ca inferior a cinco e no máximo dez frutos individuais.

4.2.3 - Armazenamento dos frutos

As bananas irradiadas e respectivo controle foram es tocadas durante o período dos experimentos em ambiente de tem peratura controlada dentro dos limites de 23-25°C a fim de evitar as variações metabólicas devidas a grandes oscilações de temperatura muito comuns no nosso clima.

4.2.4 - Medida do grau de maturação dos frutos

4.2.4.1 - Medida da relação polpa-casca

Trata-se da razão entre o peso da polpa e o da cas ca que aumenta continuamente à medida que a banana vai amadu-

recendo⁽⁶⁸⁾⁽⁷⁵⁾.

4.2.4.2 - Medida de respiração

A respiração foi avaliada por meio de titulação do dióxido de carbono desprendido dos frutos recolhido em solução de Ba(OH)_2 0,1 N conforme THOMAS, DHARKAR e SREENIVASAN⁽⁷⁵⁾ e foi expressa em miligramas de dióxido de carbono por quilo-grama de fruto e por hora.

4.2.5 - Obtenção dos extratos enzimáticos

Realizamos extrações de peroxidase solúvel (plasmática) e ligada (a partículas, membranas e paredes celulares). Utilizamos um método de extração baseado nos trabalhos de HAARD e TOBIN, 1971⁽²⁸⁾ e HAARD, 1973⁽³¹⁾ que demonstram que a atividade da peroxidase solúvel de polpa de banana permanece relativamente constante com o decorrer do amadurecimento quando se emprega complexador de taninos adequado, em meio da extração de baixa força iônica.

Na obtenção dos extratos de peroxidase solúvel, homogenizamos as amostras em tampão fosfato 0,05M pH 6,0 com caseína e polivinilpirrolidona em suspensão, funcionando como complexadores de taninos. Em seguida, centrifugamos a 60.000 g utilizando o sobrenadante como extrato de peroxidase solúvel e

dissolvemos o precipitado em tampão fosfato 0,05M pH 6,0 com CaCl_2 0,8M em suspensão; novamente centrifugamos a 60.000 g e utilizamos o novo sobrenadante como extrato da peroxidase ligada. A enzima ligada obtida nestas condições está representada em maior proporção por peroxidase ligada à mitocôndria e outras organelas celulares⁽²⁹⁾⁽³¹⁾.

4.2.6 - Medida das atividades enzimáticas

A atividade enzimática de ambos os extratos enzimáticos foi estimada com o emprego de o-dianisidina (3,3'-dimetoxibenzidina) como doador de hidrogênio e peróxido de hidrogênio como oxidante, conforme método preconizado pelo manual da Worthington Biochemical Corporation⁽⁷⁷⁾.

As leituras de densidade óptica foram realizadas a 460 nm em espectrofotômetro Beckman, modelo ACTA III.

Expressamos a atividade enzimática como a variação de densidade óptica a 460 nm por minuto, por mililitro de extrato. Relacionamos a atividade das amostras irradiadas com a atividade da amostra controle, obtida no mesmo dia, admitindo o valor 100 para a atividade desta.

Em ensaios preliminares avaliamos a atividade enzimática dos extratos pelo método do guaicol⁽⁷⁾.

5 - RESULTADOS

5.1 - Efeito das doses empregadas na maturação dos frutos de banana

Na Figura 1, vemos reunidos os conteúdos de dióxido de carbono desenvolvidos pelos diferentes grupos de frutos irradiados e não irradiados em função do tempo de estocagem, após aplicação de radiação ionizante.

Nenhuma das doses aplicadas provocou atraso no desenvolvimento do climatério das bananas por nós ensaiadas em relação ao grupo controle.

Estes dados estão de acordo com nossas outras observações quanto ao amadurecimento (relação polpa-casca e coloração da casca) que também não variaram significativamente nos diferentes grupos.

A coloração da casca passou de verde a amarelo com muitas manchas marrom, durante o período do experimento, em todas as amostras sistematicamente.

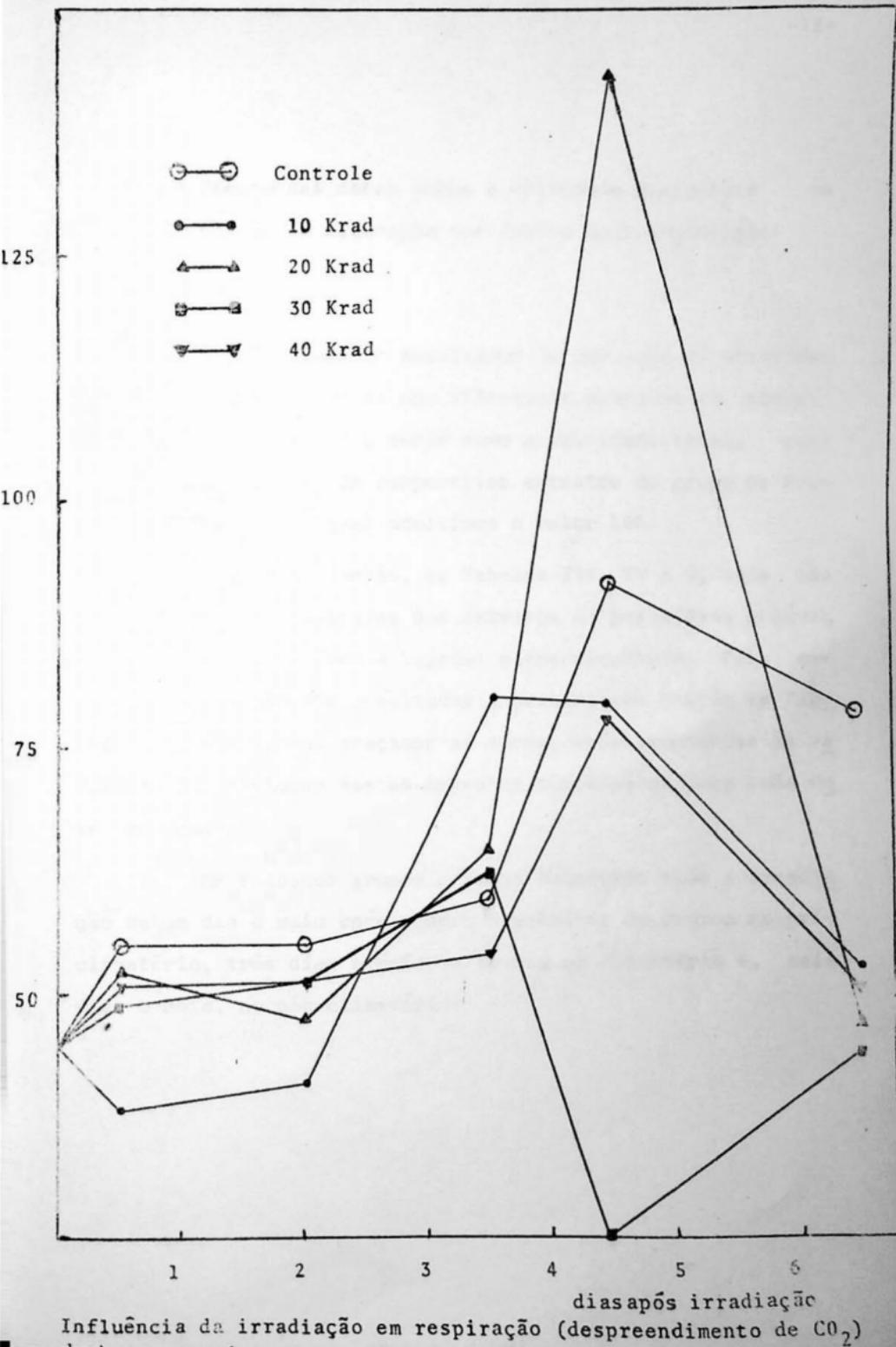
A variação na relação polpa-casca é apresentada na Tabela II.

Tabela II

Variações da relação polpa-casca em função da dose de radiação aplicada e do tempo de armazenamento

Doses (Krad)	Dias após irradiação				
	0	1/2	2	3 1/2	6 1/2
0	1,38	1,56	1,72	2,04	2,20
10	1,38	--	1,59	2,26	2,56
20	1,38	--	1,45	2,29	2,61
30	1,38	--	1,57	2,32	2,54
40	1,38	--	1,61	2,30	2,33

FIGURA 1



5.2 - Efeito das doses sobre a atividade enzimática em função da estocagem dos frutos após irradiação

Apresentamos os resultados da variação da atividade enzimática por nós obtida nos diferentes extratos de peroxidase (solúvel e ligada), assim como a atividade total, sempre relacionados com os respectivos extratos do grupo de frutos controle para o qual admitimos o valor 100.

Obtivemos, então, as Tabelas III, IV e V, onde são apresentados os resultados dos extratos de peroxidase solúvel, ligada e total (solúvel + ligada) respectivamente. Para melhor visualização dos resultados, apresentamos também as Figuras 2, 3, 4 e 5 onde traçamos as curvas correspondentes às variações da atividade destes extratos enzimáticos para cada dose empregada.

Em todos os grupos o tempo decorrido após a irradiação de um dia e meio corresponde a extratos de frutos no pré-climatério, três dias e meio, a frutos no climatério e, seis dias e meio, no pós-climatério.

Tabela III

Efeito da irradiação na atividade de peroxidase solúvel

Doses (Krad)	Dias após irradiação			
	0	1 1/2	3 1/2	6 1/2
0	100	100	100	100
10	100	91,67	81,82	134,55
20	100	100	81,82	134,55
30	100	100	100	109,09
40	100	66,67	113,64	134,55

Tabela IV

Efeito da irradiação na atividade de peroxidase ligada

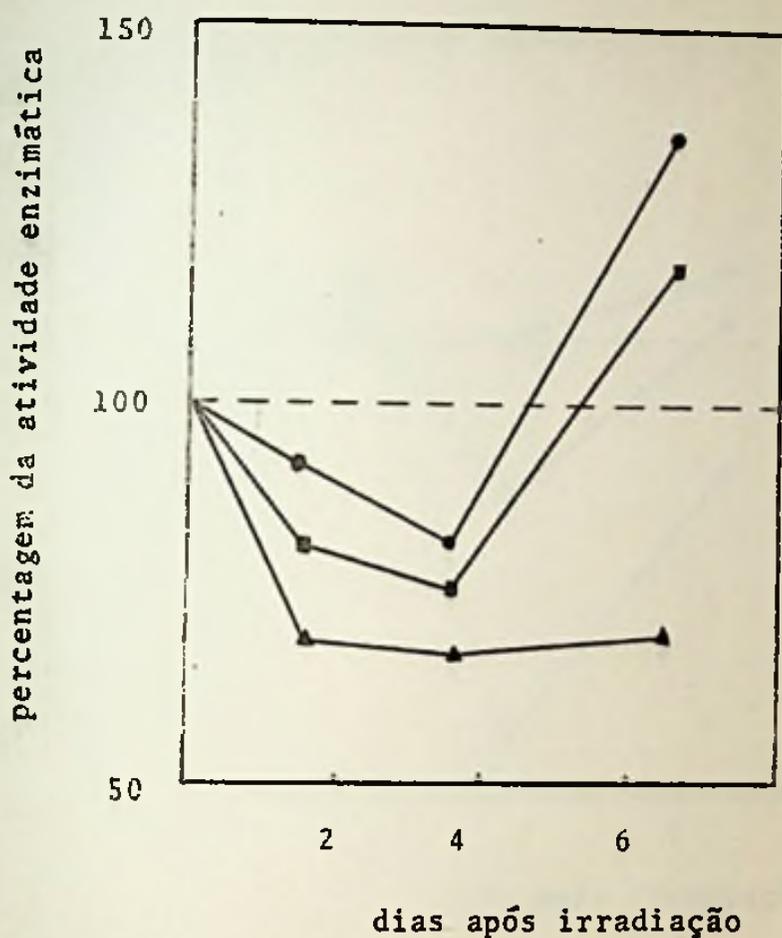
Doses (Krad)	Dias após irradiação			
	0	1 1/2	3 1/2	6 1/2
0	100	100	100	100
10	100	68,75	67,38	69,52
20	100	68,75	75,89	66,31
30	100	107,20	47,52	81,82
40	100	123,96	53,19	81,28

Tabela V

Efeito da irradiação na atividade total da peroxidase

Doses (Krad)	Dias após irradiação			
	0	1 1/2	3 1/2	6 1/2
0	100	100	100	100
10	100	81,48	76,18	118,05
20	100	86,11	79,50	117,23
30	100	103,24	79,50	102,17
40	100	92,13	102,17	121,03

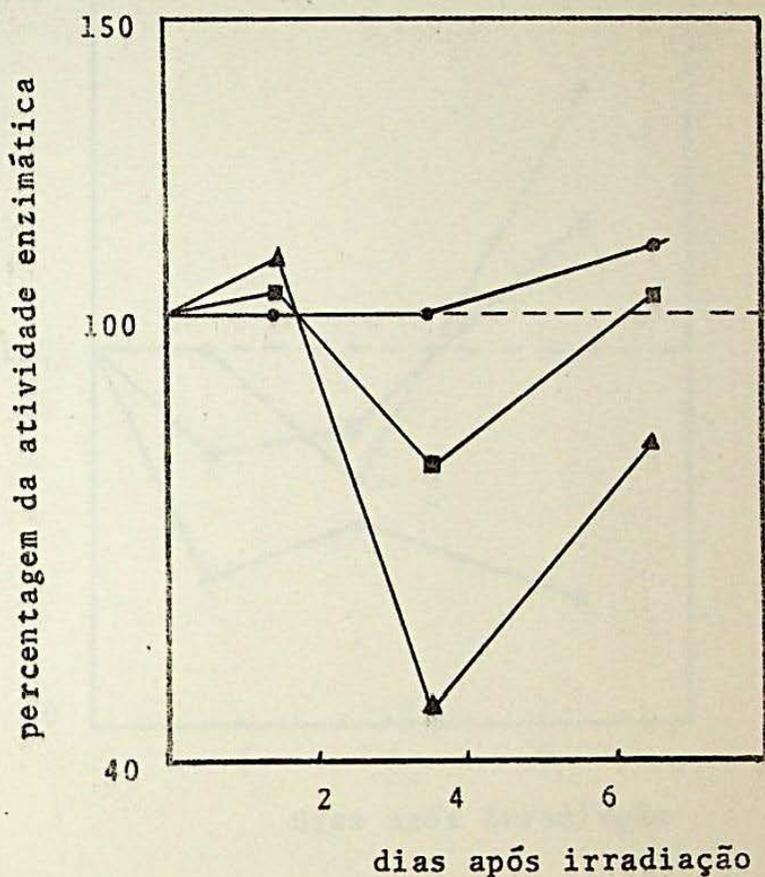
FIGURA 2



- peroxidase solúvel
- ▲—▲ peroxidase ligada
- peroxidase total

Variação da atividade da peroxidase em função da aplicação de 10 Krad de radiação ionizante à banana nanica durante o armazenamento dos frutos.

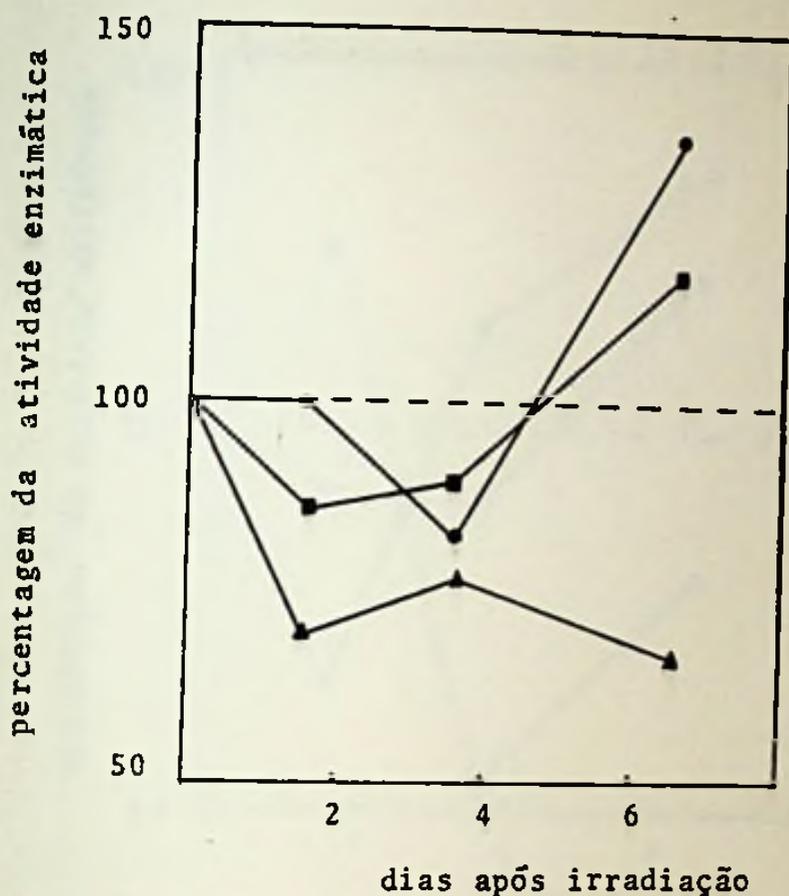
FIGURA 3



- peroxidase solúvel
- ▲—▲ peroxidase ligada
- peroxidase total

Variação da atividade da peroxidase em função da aplicação de 20 Krad de radiação ionizante à banana nanica durante o armazenamento dos frutos.

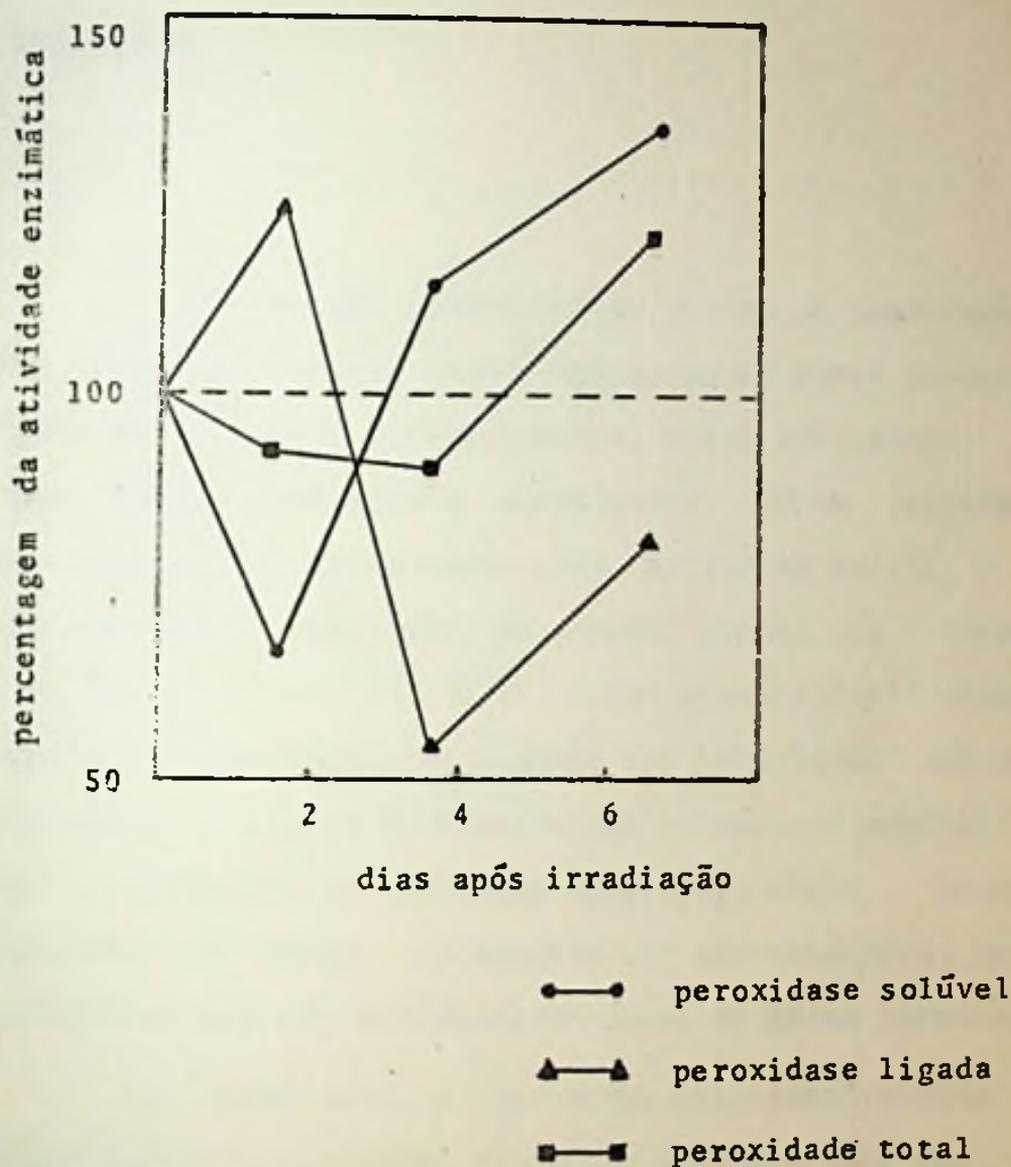
FIGURA 4



- peroxidase solúvel
- ▲—▲ peroxidase ligada
- peroxidase total

Variação da atividade da peroxidase em função da aplicação de 30 Krad de radiação ionizante à banana nanica durante o armazenamento dos frutos.

FIGURA 5



Varição da atividade da peroxidase em função da aplicação de 40 Krad de radiação ionizante à banana nanica durante o armazenamento dos frutos.

6 - DISCUSSÃO

O fato de não termos obtido atraso no amadurecimento dos frutos de banana, quando aplicamos as doses preconizadas para este fim por outros autores, mesmo utilizando frutos bem verdes, pode parecer conflitante. Porém empregamos frutos tratados comercialmente para consumo no varejo, o que parece explicar o resultado, de acordo, aliás, com observações de THOMAS e col.⁽⁷⁵⁾, pois, estes pesquisadores observaram que o amadurecimento de bananas foi mais lento quando a irradiação precedeu ao tratamento com etileno ao contrário de quando a irradiação foi aplicada após o uso deste hormônio amadurecedor de frutos. As bananas por nós ensaiadas, haviam sido tratadas com gás amadurecedor antes de serem irradiadas.

Por outro lado, a dose ótima que causa retardo no amadurecimento da variedade de banana ensaiada pode não estar entre as escolhidas, mas ser intermediária a duas delas.

Neste trabalho, o principal objetivo foi estudar o efeito da radiação nas peroxidases utilizando a faixa de dose que provoca o atraso do amadurecimento e não determinar a dose ótima que produzisse este efeito. Por isso, utilizamos somente as doses referidas não nos preocupando com o fato de ter ou não incluído a dose exata que seria a que aumentaria a

vida útil da banana nanica na maior extensão.

Quanto ao comportamento da peroxidase extraída dos frutos irradiados após armazenamento, pode-se verificar que a enzima solúvel, em geral, teve a atividade aumentada ou diminuiu pouco em relação às atividades observadas nos extratos de enzima ligada, quase sempre diminuídas.

A dose de 30 Krad foi a que menos influenciou a atividade enzimática da peroxidase solúvel e os maiores aumentos de atividade foram observados nos extratos obtidos nos frutos do estágio de pós-climatério, em todas as doses.

Após seis dias e meio de armazenamento das bananas irradiadas, obtivemos peroxidases solúveis que se portaram da maneira encontrada por outros autores em outras fontes vegetais, ou seja, mostraram atividade aumentada em todas as doses em relação à controle.

Por exemplo, citamos OGAWA E URITANI⁽⁵¹⁾ que encontraram aumentos na atividade da peroxidase solúvel de fatias de batata doce irradiadas e incubadas, em seguida, por dois dias (Tabela I), GIACOMELLI e CERVIGNI⁽²²⁾ que obtiveram efeito idêntico na atividade peroxidásica de *Vicia sativa* irradiada intermitentemente e MONSELISE e KAHAN⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾ que relataram aumentos na atividade de peroxidase solúvel obtida de frutos cítricos irradiados utilizando doses de 14-280 Krad, obtendo efeitos máximos de 8 dias após a irradiação.

Por outro lado, a atividade da peroxidase ligada diminuiu na maioria dos extratos só apresentando aumento de ati

vidade as amostras dos extratos de frutos no pré-climatério, ou seja, pouco após a irradiação, e irradiados com 30 e 40 Krad.

Porém, quanto ao comportamento da peroxidase ligada frente à irradiação não encontramos dados na literatura com os quais pudéssemos fazer comparações. A maioria dos pesquisadores que estudou a peroxidase extraída de vegetal irradiado, não levou em consideração a forma ligada desta enzima.

Considerando a atividade total apresentada pelas duas formas de peroxidase observamos que os extratos obtidos dos frutos em pós-climatério foram os que apresentavam aumento na atividade enzimática, enquanto os extratos obtidos no climatério sofreram maior diminuição, com exceção da amostra que recebeu 40 Krad que quase não alterou sua atividade.

Julgamos que mais pesquisas, neste campo, devam ser efetuadas a fim de se conhecer o mecanismo pelo qual a irradiação provoca alterações na atividade enzimática da peroxidase, enzima que está intimamente envolvida nos processos de amadurecimento de frutos. No nosso caso, um primeiro passo seria a separação das isoenzimas da peroxidases que tiveram a atividade alterada a fim de saber se há formação ou desaparecimento de alguma forma enzimática por ação da irradiação ou se há apenas intensificação ou inibição nas formas que normalmente ocorrem.

De qualquer forma, tendo em vista a importância que representa a banana no contexto econômico dos aspectos de pro

dução e consumo e, o destacado papel fisiológico das peroxidases no processo de amadurecimento de frutos, acreditamos que nosso objetivo foi, em parte, alcançado. Pois, em função da variação de doses de radiação ionizante a que foram submetidos os frutos, constatamos, de fato, variações na atividade das peroxidases.

7 - CONCLUSÕES

O presente trabalho experimental permite concluir que quando se irradia frutos de banana nanica (*Musa Cavendishii*) no pré-climatério:

7.1 - As doses de radiação ionizantes, próximas às preconizadas como responsáveis pelo atraso do amadurecimento de frutos de banana (10, 20, 30 e 40 Krad), promovem variação na atividade enzimática das peroxidases.

7.2 - A peroxidase solúvel tem a atividade aumentada enquanto a ligada é diminuída na maioria dos extratos de frutos irradiados.

7.3 - A peroxidase solúvel sofre maior aumento na atividade, quando extraída de frutos na fase de pós-climatério, em todas as doses empregadas.

7.4 - A peroxidase ligada sofre maior diminuição na ativi
dade quando extraída de frutos próximos ao climaté
rio nas 4 doses utilizadas.

7.5 - A atividade total da peroxidase revelou-se umenta
da quando extraída de frutos no pós-climatério e di
minuída no climatério.

7.6 - A dose de menor influência na atividade da peroxidase
solúvel foi a de 30 Krad.

- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - AYLWARD, F. & HAISMAN, D.R. - Oxidation systems in fruits and vegetables - Their relation to the quality of preserved products. Advanc.Food Res., New York, 17:1-76, 1969.
- 2 - BIRECKA, H.; CATALFAMO, J.; URBAN, P. - Cell isoperoxidase in sweet potato plants in relation to mechanical injury and ethylene. Plant Physiol., Bethesda, 57(1) : 74-9, 1976.
- 3 - BIRECKA, H. & MILLER, A. - Cell wall and protoplast isoperoxidases in relation to injury, indolacetic acid, and ethylene effects. Plant Physiol., Bethesda, 53(4): 569-74, 1974.
- 4 - CABRERA MOSQUEDA, L. et al. - Cambios inducidos en plátanos dominico mediante rayos gamma. Tecnol.Aliment., México, 8(8):276-81, 1973.
- 5 - CATEDRAL, F. & DALY, J.M. - Partial characterization of peroxidase isoenzymes from rust-affected wheat leaves. Phytochem., Oxford, 15(5):627-31, 1976.

- 6 - CHACHIN, K. et al. - Control of maturation of fruits by gamma radiation. I - Effects of gamma radiation on after-ripening and quality of banana fruits. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, Tokyo, 12(9):367-72, 1965. Apud Chem.Abstr., Columbus, 64:18302c, 1966.
- 7 - CHANCHE, S. & MAEHLI, C.A. - Assay of catalases and peroxidases. Meth.Enzymol., New York, 2:770-3, 1955.
- 8 - DARBYSHIRE, B. - Glycoprotein nature of indoleacetic acid oxidase peroxidase fractions and their development in pea roots. Physiol.Plant., Copenhagen, 29(3):293-7, 1973.
- 9 - DARIMONT, E. et al. - Isoperoxidases and hidroxiprolin in the cell walls of lentil roots. Biochim.Biophys. Acta, Amsterdam, 321(2):461-6, 1973.
- 10 - DHARKAR, S.D. - Delayed ripening of tropical fruits (mango and banana) by use of gamma rays. In: SEMINAR ON FOOD IRRADIATION, Trombay, 1969. Proceedings. Trombay, Bhabha Atomic Research Centre, 1969. p.74-7.
- 11 - DILLEY, D. - Enzymes. In: HULME, A.C. - The biochemistry of fruits and their products. London, Academic Press, 1970. v. 1, p. 195.

- 12 - ELKINAWY, M. & JAN, R. - Levels of indol-3-ylacetic acid (IAA), IAA-oxidase, and peroxidase in developing cucumber seedlings. Physiol.Plant., Copenhagen, 29 (2):250-5, 1973.
- 13 - ENDO, T. - Comparison of the effects of gamma-rays and maleic hydrazide on enzyme systems of maize seed. Radiat.Bot., Oxford, 7(1):35-40, 1967.
- 14 - FERGUSON, W.E. et al. - The effects of radiation on bananas. Food Technol., Chicago, 20(2):203-5, 1966.
- 15 - FOX, L. R.; PURVES, W. K.; NAKADA, H. I. - The role of horseradish peroxidase in indole-3-acetic acid oxidation. Biochemistry, Easton, 4(12):2754-63, 1965.
- 16 - FOWLER, J.L. & MORGAN, P.W. - Relation of the peroxidative indolacetic acid oxidase synthesis in cotton. Plant Physiol., Bethesda, 49(4):555-9, 1972.
- 17 - FRENKEL, C. - Involvement of peroxidase from pear, tomato, and blueberry fruit in ripening. Plant Physiol., Bethesda, 49(5):757-63, 1972.
- 18 - GALSTON, A.W. & DAVIES, P.J. - Hormonal regulation in higher plant. Science, Washington, 163(3873):1288-97, 1969.

- 19 - GALSTON, A.W. & DAVIES, P.J. - Mecanismos de controle do desenvolvimento vegetal. São Paulo, Edgard Blücher/Ed. Univ.S.Paulo, 1972. 171 p.
- 20 - GARDNER, M.G. & CLELAND, R. - Peroxidase changes during the cessation of elongation in *Pisum sativum* stems. Phytochem., Oxford, 13(7):1005-8, 1974.
- 21 - GASPAR, T.; KHAN, A.A.; FRIES, D. - Hormonal control of isoperoxidases in lentil embryonic axis. Plant Physiol., Bethesda, 51(1):146-9, 1973.
- 22 - GIACOMELLI, M. & CERVIGNI, T. - Changes in peroxidase activity, ascorbic and dehydroascorbic acid content in *Vicia sativa* grown under chronic γ -irradiation. Radiat.Bot., Oxford, 4(4):395-403, 1964.
- 23 - GORDON, J.C. - Changes in total nitrogen, soluble protein, and peroxidases in the expanding leaf zone of eastern cottonwood. Plant Physiol., Bethesda, 47(5):595-9, 1971.
- 24 - GORIN, N. & HEIDEMA, F. T. - Peroxidase activity in golden delicious apples as a possible parameter of ripening and senescence. J.Agric.Food Chem., Washington, 24(1):200-1, 1976.
- 25 - GOVE, J.P. & HOYLE, M.C. - Isoenzymic similarity of indolacetic acid oxidase to peroxidase in birch and horseradish. Plant Physiol., Bethesda, 56(5):684-7, 1975.

- 26 - HAARD, N.F. - Chilling injury of green banana fruit. Kinetic anomalies of IAA oxidase at chilling temperatures. J. Food Sci., Chicago, 38(5):907-8, 1973.
- 27 - HAARD, N.F. - Inhibition of ripening and indole-3-acetyl acid oxidase of banana fruit p-2-4-chlorophenoxy - isobutyric acid. J. Food Sci., Chicago, 38(4):639-41, 1973.
- 28 - HAARD, N. F. - Upsurge of particulate peroxidase in ripening banana fruit. Phytochem., Oxford, 12(3): 555-60, 1973.
- 29 - HAARD, N. F. - Variant and invariant properties of the mitochondrial fraction isolated from ripening banana fruit. J. Food Sci., Chicago, 35(6):751-6, 1970.
- 30 - HAARD, N. F. et al. - Ethylene induced isoperoxidase changes during fiber formation in postharvest asparagus. J. Food Sci., Chicago, 39(3):452-6, 1974.
- 31 - HAARD, N.F. & HULTIN, H.O. - An improved technique for the isolation of mitochondria from plant tissue. Analyt. Biochem., New York, 24(2):299-304, 1968.
- 32 - HAARD, N.F. & TOBIN, C.L - Patterns of soluble peroxidase in ripening banana fruits. J. Food Sci., Chicago, 36(6):854-7, 1971.

- 33 - HARKIN, J.M. & OBST, J.R. - Lignification in trees. Indication of exclusive peroxidase participation. Science, Washington, 180(4083):296-8, 1973.
- 34 - JAN, R. - Properties of the ribosome-bound peroxidase of cabbage roots. Physiol.Plant, Copenhagen, 29(2) : 247-9, 1973.
- 35 - KAR, M. & MISHRA, D. - Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiol., Bethesda, 57(2):315-19 , 1976.
- 36 - LEE, T.T. - Cytokinin control in subcellular localization of indolacetic acid oxidase and peroxidase. Phytochem., Oxford, 13(11):2445-53, 1974.
- 37 - MACHACKOVA, I; GANCEVA, K.; ZMRHAL, Z. - Role of peroxidase in the metabolism of indole-3-acetic acid and phenols in wheat. Phytochem., Oxford, 14(56): 1251-4, 1975.
- 38 - McCOWN, B. H.; HALL, T. C.; BECK, G.E. - Plant leaf and stem proteins. II - Isozymes and environmental change. Plant Physiol., Bethesda, 44(2):210-6, 1969.

- 39 - MATOO, A. K. & MODI, V. V. - Ethylene and ripening of mangoes. Plant Physiol., Bethesda, 44(2):308-10,1969.
- 40 - MONSELISE, S.P. & KAHAN, R.S. - Changes in composition and in enzymatic activities of flavedo and juice shamouti oranges following gamma radiation. Radiat. Bot., Oxford, 6(3):265-74, 1966.
- 41 - MONSELISE, S.P. & KAHAN, R.S. - Effect of gamma radiation on appearance, composition and enzymatic activities of citrus fruits. In: PANEL ON PRESERVATION OF FRUITS AND VEGETABLES BY RADIATION, ESPECIALY IN THE TROPICS, Vienna, 1966. Proceedings. Vienna, IAEA, 1968. p. 93-104.
- 42 - MONSELISE, S.P.; RIOV, J.; KAHAN, R.S. - Some changes in enzymatic activities of citrus peel tissues after fruit irradiation. In: PANEL ON ENZYMOLOGICAL ASPECTS OF THE APPLICATION OF IONIZING RADIATION TO FOOD PRESERVATION, Vienna, 1968. Proceedings, Vienna,IAEA, 1969. p.71-81.
- 43 - MOY, J. H. - Dosimetry, tolerance, and shelf life extention related to desinfestation of fruits and vegetables by gamma irradiation. Report. College of Tropical Agriculture, University of Hawaii, Honolulu, UH-235-P-5-X-1, 1971. 49 p.

- 44 - NAIR, P. M. et al. - Sprout inhibition of anions and potatoes and delayed ripening of bananas and mangoes by gamma irradiation. In: SYMPOSIUM ON RADIATION AND PRESERVATION OF FOOD, Bombay, 1972. Proceedings. Vienna, IAEA, 1973. p. 347-66.
- 45 - NANDA, K.K.; GURUMURTI, K.; CHIBBAR, R. N. - Evidence for the allosteric nature of IAA oxidase system in *Phaseolus mungo* hypocotyls. Experientia, Basel, 31 (6):635-7, 1973.
- 46 - NAQVI, M. H. et al. - Induction of ripening delay in bananas by various treatments. Nucleus, Karachi, 10 (1/4):31-44, 1973.
- 47 - NEVASERO, E. P.; BAUN, L. D.; JULIANO, B. O. - Grain dormance, peroxidase activity and oxygen uptake in *Oryza sativa*. Phytochem., Oxford, 14(9):1899-902, 1975.
- 48 - OCKERSE, R. & MUMFORD, L.M. - Regulation of peroxidase activity by gibberellin and auxin in pea stem segments. Canad.J.Bot., Ottawa, 51(11):2237-42, 1973.
- 49 - OGAWA, M. et al. - Effects of gamma ray irradiation on metabolic changes in potato tubers in response to cutting. Plant. Cell Physiol., Tokyo, 9(3): 511-8, 1968.

- 50 - OGAWA, M. & URITANI, I. - Effect of gamma radiation on peroxidase development in sweet potato disks. Radiat. Res., New York, 41(2):342-51, 1970.
- 51 - OGAWA, M. & URITANI, I. - Metabolic changes in sweet potato roots induced by gamma radiation in response to cutting. Radiat.Res., New York, 39(1):117-25,1969.
- 52 - OGAWA, M. & URITANI, I. - Metabolic changes in tissues prepared from irradiated sweet potato roots with regard to ethylene effects. Radiat.Bot., Oxford , 11(1):67-71, 1971.
- 53 - OSBORNE, D.J.; RIDGE, I.; SARGENT, J.A. - Ethylene and the growth of plant cells. Role of peroxidase and hydroxyproline-rich proteins. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PLANT GROWTH SUBSTANCES, 7th., Canberra , 1970. Proceedings. New York, Denis J.Springer, 1972. p.534-42.
- 54 - PALMIANO, E.P. & JULIANO, B.O. - Changes in the activity of some hydrolases, peroxidase, and catalase in the rice seed during germination. Plant Physiol., Bethesda, 52(3):274-7, 1973.
- 55 - PARISH, R. W. - Intracellular localition of phenol oxidases, peroxidase, and phosphatases in leaves of spinach beet (*Beta vulgaris* subspecies *vulgaris*). Europ.J.Biochem., Berlim, 31(3):446-55, 1972.

- 56 - PARISH, R.W. - Lysosome-concept in plants. I - Peroxidases associated with subcellular and wall fractions of developments. Planta, Berlin, 123(1):1-13, 1975.
- 57 - POOVAIAH, B.W. & RAUMUSSEN, H.P. - Peroxidase activity in the abscission zone of bean leaves during abscission. Plant Physiol., Bethesda, 52(3):263-7, 1973.
- 58 - RAA, J. - Cytochemical localization of peroxidase in plant cells. Physiol.Plant, Copenhagen, 28(1):132-3, 1973.
- 59 - RAA, J. - Properties of the ribosome-bound peroxidase IAA-oxidase of cabbage roots. Physiol.Plant, Copenhagen, 29(2):247-9, 1973.
- 60 - RANADIVE, A.S. & HAARD, N.F. - Peroxidase localization and lignin formation in developing pear fruit. J.Food Sci., Chicago, 37(3):381-3, 1972.
- 61 - RICARD, J. & JOB, D. - Reaction mechanisms of indole-3-acetate degradation by peroxidases. A stopped flow and low-temperature spectroscopic study. Europ.J. Biochem., Berlin, 44(2):359-74, 1974.

- 62 - ROMANI, R. J. - Radiobiological parameters in the irradiation of fruits and vegetables. Advanc.Food Res., New York, 15:57-103, 1966.
- 63 - RYCHTER, A. & LEWAK, S. - Apple embryos peroxidases. Phytochem., Oxford, 10(11):2509-13, 1971.
- 64 - SAIJO, R. & TAKEO, T. - Induction of peroxidase activity by ethylene and indole-3-acetic acid in tea shoots. Agric.Biol.Chem., Tokyo, 38(11):2283-4, 1974.
- 65 - SAUNDERS, B.C. et al. - Peroxidase. London, Butterworth, 1964. p.196-7.
- 66 - SEEVERS, P.M.; DALY, J.M.; CATEDRAL, F.F. - The role of peroxidase isozymes in resistance to stem rust disease. Plant Physiol., Bethesda, 48(3):353-60, 1971.
- 67 - SEISEBAEV, A.T. & BABEVA, M.K. - Changes in the activity of some oxidation-reduction enzymes in plants with different radiosensitivities. Radiobiologiya, Moscow, 9(2):257-61, 1969. Apud Chem.Abstr., Columbus, 71: 193135, 1969.
- 68 - SGARBIERI, V.C. & FIGUEIREDO, I.B. - Transformação bioquímicas da banana durante o amadurecimento. Rev.bras. Tecnol., Rio de Janeiro, 2(2):85-94, 1971.

- 69 - SHINSHI, H. & NOGUCHI, M. - Peroxidase from tobacco cell suspension cultures. I - Relations between peroxidase, IAA oxidase, and polyphenol oxidase. Phytochem., Oxford, 14(5/6):1255-8, 1975.
- 70 - SOMMER, N.F. & MAXIE, E. C. - Recent research on the irradiation of fruits and vegetables. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FOOD IRRADIATION, Karlsruhe, 1966 . Proceedings. Vienna, IAEA/FAO, 1966. p. 571-87.
- 71 - STAFFORD, H. A. & BRAVINDER-BREE, S. - Peroxidase isozymes of first internodes of *sorghum*. Plant Physiol., Bethesda, 49:950-6, 1972.
- 72 - SURENDRANATHAN, K. K. & NAIR, P.M. - Alterations in carbohydrate metabolism of gamma-irradiated *Cavendish* banana. Phytochem., Oxford, 12(2):241-9, 1973.
- 73 - TAO, K.L. & KHAN, A.A. - Changes in isoperaxidases during cold treatment of dorman pear embryo. Plant Physiol., Bethesda, 57(1):1-4, 1976.
- 74 - THOMAS, P.; DHARKAR, S.D.; SREENIVASAN, A. - Effect of gamma irradiation on the postharvest physiology of five banana varieties grown in India. J. Food Sci., Chicago, 36(2):243-7, 1971.

- 75 - THOMAS, P. & NAIR, P.M. - Effect of gamma irradiation on polyphenol oxidase activity and its relation to skin browning in bananas. Phytochem., Oxford, 10(4):771-7, 1971.
- 76 - WHITMORE, F.W. - Binding of ferulic acid to cell walls by peroxidases of *Pinus elliotti*. Phytochem., Oxford, 15(3):375-8, 1976.
- 77 - WORTHINGTON Manual - Peroxidase. In: Worthington Biochemical Corporation - Enzymes, enzyme reagents. Freehold, 1967. p.1.11.1.7.
- 78 - YAMAZAKI, H. & YAMAZAKI, I. - Reaction between indole-3-acetic acid and horseradish peroxidase. Arch.Biochem. Biophys., Baltimore, 154(1):147-59, 1973.
- 79 - YUNG, K.H. & NORTHCOTE, D.H. - Some enzymes present in the walls of mesophyll cells of tobacco leaves. Biochem. J., London, 151(1):141-4, 1975.
- 80 - ZONENSCHAIN, L. - Preparation for the introduction of food irradiation in Brazil. In: PANEL ON THE COMMERCIALIZATION OF IRRADIATED FOOD ITEMS ACCEPTED FOR HUMAN CONSUMPTION, Vienna, 1974. Proceedings. Vienna, IAEA, 1975. p. 142-53.

SUMMARY

Preclimacteric banana fruits called "nanica" (*Musa cavendishii*) were irradiated with 10, 20, 30 and 40 Krad. After the storage of fruits, the soluble and particulate peroxidase activities were measured already in the preclimacteric, and in the climacteric, and postclimacteric. The soluble peroxidase activity was higher in the extracts from post climacteric irradiated fruits, and the particulate peroxidase activity was lower in the extracts from climacteric and post-climacteric irradiated fruits. The whole peroxidase activity was higher in the extracts from postclimacteric irradiated fruits and lower in the climacteric, but not with bananas received 40 Krad, which whole peroxidase activity was higher. 30 Krad less affected the soluble peroxidase activity.