



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HORTICULTURA TROPICAL
FISIOLOGIA DE PLANTAS HORTÍCOLAS
CAMPUS DE POMBAL

LARISSE CADEIRA BRANDÃO

**ATIVIDADE DA FENILALANINA AMÔNIA-LIASE (PAL) E
COMPOSTOS BIOATIVOS EM *Nopalea cochenilifera* e *Opuntia
tuna***

**POMBAL – PB
2020**

LARISSE CADEIRA BRANDÃO

**ATIVIDADE DA FENILALANINA AMÔNIA-LIASE (PAL) E COMPOSTOS
BIOATIVOS EM *Nopalea cochenilifera* e *Opuntia tuna***

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Horticultura Tropical da Universidade Federal de Campina Grande em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre em Horticultura Tropical, linha de pesquisa: Fisiologia Vegetal de plantas hortícolas.

Orientador: D.Sc. Franciscleudo Bezerra da Costa

**POMBAL - PB
2020**

B817a Brandão, Larisse Cadeira.
Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) e compostos bioativos em
Nopalea cochenilifera e *Opuntia Tuna* / Larisse Cadeira Brandão. – Pombal, 2020.

70 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) – Universidade Federal de
Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2020.

"Orientação: Prof. Dr. Franciscleudo Bezerra da Costa".

Referências.

1. Palma. 2. Miúda. 3. Orelha de Elefante Mexicana. 4. Desenvolvimento de
cladódios. 5. Palma - Atividade enzimática. I. Costa, Franciscleudo Bezerra da. II.
Título.

CDU 633.2(043)


LARISSE CADEIRA BRANDÃO

**ATIVIDADE DA FENILALANINA AMÔNIA-LIASE (PAL) E COMPOSTOS
BIOATIVOS EM *Nopalea cochenilifera* e *Opuntia tuna***

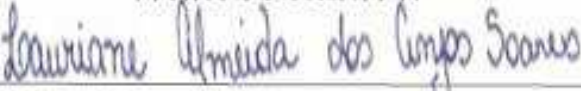
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Horticultura Tropical para obtenção do título de mestre.

APROVADA EM: 18 / 02 / 2020


EXAMINADORES




Prof. D.Sc. Franciscleudo Bezerra da Costa
PPGHT-CCTA-UFCG



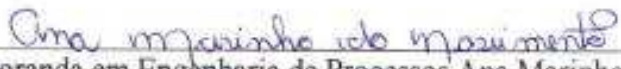
Prof. D.Sc. Lauriane A. Anjos Soares
PPGHT-CCTA-UFCG



Prof. D.Sc. Palmevi Augusto de Souza
IFRN-Campus Currais Novos



Prof. D.Sc. Wellington Souto Ribeiro
PPGHT-CCTA-UFCG



Doutoranda em Engenharia de Processos Ana Marinho do Nascimento
PPGEP-CCT-UFCG

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à Deus, que é meu melhor amigo, que me abençoa e coloca tantas pessoas boas no meu caminho.

A minha família, minha mãe, meu pai e meu irmão, que sempre me apoiaram em minhas escolhas e são a razão para eu continuar lutando, mais do que por mim, faço por vocês. Mãe, obrigada pela dedicação e cuidado, por ser meu incentivo para seguir. Pai, obrigada por me encorajar a seguir sempre adiante não importa as circunstâncias. João Hugo Brandão, obrigada por ser a certeza de que não estou só nesse mundo, por ser meu companheiro.

Ao meu orientador Franciscleudo Costa, pela paciência e orientação nesses dois anos, por acreditar em mim e me incentivar. Sempre disse que o senhor é o professor que quero me tornar um dia.

A Ayanne Malaquias, Josylene Araújo, Sabrina Vieira e Bruna Rocha, por me ajudarem e acompanharem em todo o experimento. Em especial agradeço a Ana Marinho e a Álvaro Silva por estarem comigo desde o início me ajudando e ensinando, mais que colegas de laboratório, se tornaram amigos, me ajudando nos momentos difíceis.

Aos amigos Augusto Morais, Fernanda Aquino, Larissa Mércia, Lorena Peixoto, Mirela Peixoto, Reijannya Silva, Laize Rayne, Nadla Camila, Luana Barbosa, Fernanda Medeiros, Mayrlo Viana e Michael Gomes, pelo apoio e contribuição desde o começo dessa caminhada.

À toda a equipe do laboratório de Análise de Alimentos e demais amigos que de alguma forma contribuíram com esse trabalho.

A turma do mestrado 2018.1, que também contribuíram para essa conquista.

Agradeço também a Wellington Ribeiro e aos professores do programa por todos os ensinamentos.

Aos professores Lauriane Soares e Pahlevi Souza por aceitarem fazer parte da banca da dissertação e também por contribuírem com esse trabalho.

E, por fim, agradeço ao Campus Pombal da UFCG e a todos que contribuem para realização do meu sonho, como também, do sonho de muitas outras pessoas que batalham diariamente em busca do seu crescimento profissional.

“Tudo o que fizer, fazei-o de todo coração, como es estivesse servindo ao Senhor e não as pessoas”.

(Colossenses 3.23)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Principais aminoácidos formados pela via biossintética do ácido chiquímico	17
Figura 2.	Principais compostos fenólicos derivados da enzima fenilalanina amônio-liase (PAL)	18
CAPÍTULO 1		
Figura 1.	Área experimental (A), identificação dos cladódios terciários (B) e colheita dos cladódios (C) da palma <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm Dyck	32
Figura 2.	Sequência de tamanhos dos cladódios para análises físicas da palma ‘Miúda’– <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm Dyck.	33
Figura 3.	Fluxograma de obtenção de amostras para as análises físico-químicas da palma ‘Miúda’– <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm Dyck. Plantio (A), implantação do sistema de irrigação (B), sistema de irrigação (C), coleta dos cladódios (D) e (E), separação dos cladódios em laboratório (F), análises físicas (G), obtenção do extrato para análise enzimática (H), análise enzimática (I), (J), (K) e (L) análises físico-químicas	34
Figura 4.	Massa fresca (A), comprimento longitudinal (B) e comprimento transversal (C) de cladódios jovens de palma ‘Miúda’– <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm Dyck.	38
Figura 5.	Potencial hidrogeniônico pH (A), concentração de ions H ⁺ (B) sólidos solúveis (C), acidez titulável (D) e ratio (E) de cladódios de palma ‘Miúda’– <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm Dyck.....	40
Figura 6.	Açúcares totais (A), açúcares redutores (B) e açúcares não redutores (C) de cladódios de palma ‘Miúda’– <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm Dyck	42
Figura 7.	Vitamina C (A), flavonoides (B), antocianinas (C) e compostos fenólicos (D) de cladódios jovens de palma ‘Miúda’– <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm Dyck.	43
Figura 8.	Atividade enzimática da Fenilalanina amônia-liase PAL em	

cladódios jovens de palma ‘Miúda’– <i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm Dyck.	45
---	----

CAPÍTULO 2

Figura 1. Área experimental (A), identificação dos cladódios terciários (B) e colheita dos cladódios de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’ – <i>Opuntia tuna</i> L.	53
Figura 2. Sequência de tamanhos de cladódios de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’ - <i>Opuntia tuna</i> L.	54
Figura 3. Fluxograma de obtenção de amostras para as análises físico-químicas da palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’ - <i>Opuntia tuna</i> L.. Plantio (A), implantação do sistema de irrigação (B), sistema de irrigação (C), coleta dos cladódios (D), separação dos cladódios em laboratório (E), análises físicas (F), análise enzimática (G), obtenção do extrato para análise enzimática (H), análises físico químicas (I), (J) e (K), leitura das amostras em espectrofotômetro (L)	55
Figura 4. Massa fresca (A), comprimento longitudinal (B) e comprimento transversal (C) de cladódios jovens de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’- <i>Opuntia tuna</i> L.	59
Figura 5. Potencial hidrogeniônico pH (A) e concentração de ions H ⁺ (B), sólidos solúveis (C), acidez titulável (D) e ratio (E) de cladódios jovens de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’- <i>Opuntia tuna</i> L. .	61
Figura 6. Açúcares totais (A), açúcares redutores (B) e açúcares não redutores (C) de cladódios jovens de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’- <i>Opuntia tuna</i> L.	63
Figura 7. Vitamina C (A), flavonoides (B), antocianinas (C) e compostos fenólicos (D) de cladódios jovens de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’- <i>Opuntia tuna</i> L.	64
Figura 8. Atividade enzimática da Fenilalanina amônia-liase PAL em cladódios jovens de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’- <i>Opuntia tuna</i> L.	66

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	v
RESUMO GERAL	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO GERAL	11
2. OBJETIVOS	12
2.1. Objetivo Geral.....	12
2.2. Obetivos Específicos.....	12
3. REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1. Origem e introdução na palma no Brasil.....	13
3.2. Características morfológicas da palma.....	14
3.3. Metabolismo secundário das plantas.....	15
3.4. Compostos Bioativos.....	18
3.4.1. Polifenóis.....	19
3.4.2 Antocianinas.....	20
3.4.3 Carotenóides.....	20
3.5. Atividade enzimática.....	21
3.6 Atividade da fenilalanina amônia-liase - pal (e.c. 4.3.1.5) em plantas.....	22
4.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
CAPÍTULO 1	29
ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA FENILALANINA AMÔNIA LIASE EM CLADÓDIOS JOVENS DE PALMA (<i>Nopalea cochenilifera</i> (L.) Salm Dyck)	29
RESUMO	29
ABSTRACT	30
1.INTRODUÇÃO	31
2.MATERIAL E MÉTODOS	32
2.1. Coleta dos cladódios de palma ‘Miúda’.....	32
2.2 Delineamento experimental.....	33
2.3 Análises físicas, químicas e bioquímicas.....	33
2.4. Análise enzimática.....	36
2.5. Análise estatística.....	37

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4. CONCLUSÃO	45
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
CAPÍTULO 2	49
ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA FENILALANINA AMÔNIA LIASE EM CLADÓDIOS JOVENS DE PALMA (<i>Opuntia tuna L.</i>)	49
RESUMO	49
ABSTRACT	50
1.INTRODUÇÃO	51
2.MATERIAL E MÉTODOS	52
2.1. Coleta dos cladódios de palma ‘Orelha de Elefante’.....	52
2.2. Delineamento experimental.....	54
2.3 Análises físicas, químicas e bioquímicas.....	54
2.4. Análise enzimática.....	57
2.5. Análise estatística.....	58
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
4. CONCLUSÃO	67
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

RESUMO GERAL

BRANDÃO, L. C. **Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) e compostos bioativos em *Nopalea cochenilifera* e *Opuntia Tuna***. 2020. 70 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) - Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2020.

A fenilalanina amônia-liase é uma enzima do metabolismo secundário que influencia nas características de qualidade da palma. Nesse contexto, objetivou-se determinar a atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase e compostos bioativos em cladódios de palma em diferentes estádios de desenvolvimento. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com a espécie ‘Miúda’ – *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck e ‘Orelha de Elefante Mexicana’ – *Opuntia tuna* L., em 5 estádios de desenvolvimento dos cladódios. O tamanho 4 foi de 0,0 – 4,0 cm; o 8 foi de 4,1 – 8,0 cm; o 12 foi de 8,1 – 12,0 cm; o 16 foi de 12,1 – 16,0 cm e o tamanho 20 foi de 16,1 – 20,0 cm, em desenvolvimento transversal dos cladódios, com cinco repetições. Foram realizadas análises dos diâmetros longitudinal e transversal, massa fresca, espessura, pH, íons H⁺, sólidos solúveis, acidez titulável, ratio, açúcares totais, açúcares redutores, açúcares não redutores, vitamina C, flavonoides, antocianinas, compostos fenólicos e da enzima fenilalanina amônia-liase. Na palma ‘Miúda’, as características foram significativas, à exceção das antocianinas e da enzima. A atividade enzimática se deu de maneira estável, não deferindo entre os tamanhos analisados, devido a espécie não se encontrar em condições de estresse no ambiente, além disso, a espécie apresenta crescimento mais lento, conseqüentemente uma atividade metabólica menos intensa. Com relação a palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’, todas as características foram significativas. De maneira geral, a atividade enzimática teve crescimento do tamanho 4 ao 12, onde houve um pico na atividade enzimática, seguido de um decréscimo da atividade enzimática nos tamanhos 16 e 20. A alta atividade da enzima ocorreu devido às condições de estresse do ambiente e ao crescimento acelerado da espécie que conseqüentemente produz uma atividade metabólica mais intensa, obtendo assim uma atividade enzimática maior. Ainda foi possível perceber, aumento nos valores dos compostos bioativos, analisados para as duas espécies, havendo uma correlação positiva entre a atividade da enzima e os compostos fenólicos para a espécie ‘Orelha de Elefante Mexicana’.

PALAVRAS-CHAVE: *Miúda*; *Orelha de Elefante Mexicana*; *Desenvolvimento de cladódios*;

GENERAL ABSTRACT

BRANDÃO, L. C. **Activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL) and bioactive compounds in *Nopalea cochenilifera* and *Opuntia Tuna***. 2020. 70 f. Dissertation (Master in Tropical Horticulture) - Federal University of Campina Grande, Pombal, 2020.

Phenylalanine ammonia lyase is an enzyme of secondary metabolism that influences the quality characteristics of the palm. In this context, the objective was to determine the enzymatic activity of phenylalanine ammonia lyase and bioactive compounds in palm cladodes at different stages of development. The design used was completely randomized, with the species 'Miúda' - *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck and 'Orelha de Elefante Mexicana' - *Opuntia tuna* L., in 5 stages of development of the cladodes. Size 4 was 0.0 - 4.0 cm; the 8 was 4.1 - 8.0 cm; the 12 was 8.1 - 12.0 cm; the 16 was 12.1 - 16.0 cm and the size 20 was 16.1 - 20.0 cm, in transversal development of the cladodes, with five repetitions. Analyzes of longitudinal and transversal diameters, fresh mass, thickness, pH, H⁺ ions, soluble solids, titratable acidity, ratio, total sugars, reducing sugars, non-reducing sugars, vitamin C, flavonoids, anthocyanins, phenolic compounds and the phenylalanine enzyme ammonia-lyase. In the 'Miúda' palm, the characteristics were significant, with the exception of anthocyanins and the enzyme. The enzymatic activity occurred in a stable manner, not differing between the sizes analyzed, due to the species not being in conditions of stress in the environment, in addition, the species presents a slower growth, consequently a less intense metabolic activity. Regarding the palm 'Mexican Elephant Ear', all characteristics were significant. In general, enzyme activity grew from sizes 4 to 12, where there was a peak in enzyme activity, followed by a decrease in enzyme activity in sizes 16 and 20. The high enzyme activity occurred due to the stress conditions of the environment and to the accelerated growth of the species which consequently produces a more intense metabolic activity, thus obtaining a greater enzymatic activity. It was also possible to notice an increase in the values of bioactive compounds, analyzed for both species, with a positive correlation between the activity of the enzyme and the phenolic compounds for the species 'Mexican Elephant Ear'.

KEY WORDS: *Small; Mexican Elephant Ear; Development of cladodes.*

1 INTRODUÇÃO GERAL

A palma é uma cactácea adaptada a ambientes áridos e semiáridos e é amplamente cultivada no Nordeste brasileiro, servindo como uma opção alimentar para os animais, principalmente durante o período de estiagem, sendo uma excelente fonte de fibras, vitamina A, minerais, proteínas e demais nutrientes (PEREIRA e LOPES, 2011).

A palma também pode ser utilizada na alimentação humana, porém, nos últimos anos têm-se dado maior atenção por parte dos consumidores em relação aos produtos que consomem, sendo a aparência uma das principais características que influenciam na hora de se adquirir um produto, incluindo aroma, textura e sabor. Muitas dessas características podem ser modificadas pela ação de enzimas em processos naturais das frutas e hortaliças, que com o passar do tempo podem acarretar injúrias e conseqüente perda da qualidade nutritiva devido a alterações do sabor desses alimentos, ocasionando perdas econômicas consideráveis que tornam o produto rejeitado pelos consumidores (BATISTA et al., 2010).

A principal enzima do metabolismo secundário que influencia nessas características é a fenilalanina amônia-liase (PAL), visto que é uma enzima sensível a mudanças fisiológicas da planta, como, crescimento, estresse hídrico, estresse salino, herbivoria e mudanças decorrentes da temperatura e umidade (PINTO et al., 2011). Nesse contexto, a PAL é uma enzima que catalisa a síntese de compostos secundários que interferem no sabor como os flavonóides, na textura como as pectinas e também com ação antioxidante como o caso dos compostos fenólicos e flavonóides, atuando contra a decomposição e oxidação dos tecidos pelos radicais livres (PICOLI et al., 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar a atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase e compostos bioativos em cladódios de palma em diferentes estádios de desenvolvimento.

2.2 Específicos

- ✓ Determinar a atividade da PAL em cladódios jovens de palma.
- ✓ Identificar qual espécie e estágio de desenvolvimento da palma possui menor atividade oxidativa.
- ✓ Verificar qual a espécie e estágio de desenvolvimento da palma possui maior concentração de compostos bioativos.
- ✓ Comparar as características avaliadas em função da atividade enzimática.
- ✓ Observar a funcionalidade e atuação da PAL diante do metabolismo secundário.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ORIGEM E INTRODUÇÃO DA PALMA NO BRASIL

A palma, dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* teve sua origem na América do Norte e do Sul. Sendo o gênero *Opuntia* que o mais importante e tendo o México como centro de origem, devido o grande número de espécies presentes em seu território (ARBA et al., 2017). Sendo introduzida no Brasil no final do século XIX, há pouco mais de 100 anos para ser utilizada na indústria têxtil, mais especificamente para a produção da cochonilha (*Dactylopius coccus*), inseto que produz um corante vermelho chamado de carmim, antigamente muito utilizado para tingir tecidos (PEREIRA ; LOPES, 2011). Com o passar do tempo e desenvolvimento de novas tecnologias, o uso desse tipo de corante foi sendo substituído e com isso a palma obteve o papel principal de forragem, sendo basicamente utilizada como ração animal.

A cultura da palma possui grande potencial para as regiões áridas e semiáridas, por tolerar prolongados períodos de estiagem, devido a sua fisiologia, tendo maior expressão de cultivo na área de pecuária leiteira do semiárido do Nordeste brasileiro, sendo considerado um excelente alimento energético. A presença de palma na dieta, substitui em parte capins e grãos, aumentando a palatabilidade e a ingestão que favorece o aproveitamento dos nutrientes (NEVES et al., 2010; ROCHA, 2012).

Por possuir mecanismos fisiológicos que a torna uma das plantas mais adaptadas às condições ecológicas das zonas áridas e semiáridas do mundo, a palma vem se adaptando com relativa facilidade ao semiárido do Nordeste Brasileiro (OLIVEIRA et al., 2010).

Segundo Araujo (2009), a palma tem se destacado como alternativa de sustentabilidade para a pecuária regional, por ser uma espécie com maior eficiência no uso da água, apresentando elevada capacidade produtiva de biomassa, além de ser uma planta de múltiplos usos pela variedade dos seus produtos e subprodutos.

No Brasil, o uso da palma, na alimentação humana ainda enfrenta resistência da população, sendo que em outros países, como o México, Itália e Japão (NUNES, 2011), seu consumo é muito praticado e apreciado, em especial, o cladódio que contém uma boa fonte de nutrientes. O caule é do tipo cladódio, suculento, constituído principalmente de água e carboidratos, incluindo fibras, proteínas e minerais. Possui ainda valores consideráveis de fitoquímicos com propriedades antioxidantes como vitamina C, clorofilas, carotenoides e

fenólicos, quando comparados a outras hortaliças (FARIAS, 2013). Com isso, cada vez mais vem se desenvolvendo estudos sobre o uso da palma e sua atuação mediante a dieta humana.

3.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DA PALMA

A palma pertence ao reino vegetal; subreino Embriophyta; divisão Spermatophyta; subdivisão Angiospermae; classe Liliatae; família Cactaceae; subfamília Opuntioideae; tribo Opuntiae; gênero *Opuntia*; subgêneros *Opuntia* e *Nopalea* (SILVA, 2016).

Essa planta apresenta caule suculento, com casca verde e falta de folhas copadas. O órgão tipo caule, conhecido como cladódio é tipicamente oblonga a espatulada-oblonga, com 30 a 40 cm de comprimento e, algumas vezes, maiores de 70 a 80 cm e 18 a 25 cm de largura, e o peso de seus cladódios podem variar de 350 g até 1,8 kg, dependendo da espécie (JÚNIOR et al., 2014; FROTA et al., 2015).

Os cladódios da palma são revestidos por uma cutícula espessa, que é coberta por uma estrutura cerosa que diminui a perda de água por transpiração, protegendo contra o excesso de radiação solar. Esses órgãos também apresentam grande capacidade de armazenamento de água, por possuírem parênquima abundante com células que contêm grandes vacúolos (FARIAS, 2013).

O clima da região semiárida é seco, com temperaturas que variam de 23 a 27 °C, apresentando forte insolação (2.800h luz ano), evapotranspiração potencial média de 2.000 mm anuais, umidade relativa do ar em torno de 50%, resultando num balanço hídrico negativo com solo ralo e bioma Caatinga (GUIMARÃES et al., 2016). Segundo Silva et al. (2011) a região ainda apresenta variabilidade de precipitação pluvial não uniforme em todo o Nordeste do Brasil, com os maiores valores de coeficiente de variação de precipitação pluvial e número de dias de chuvas do que aqueles apresentados no litoral e agreste nordestino. A precipitação pluvial pode variar consideravelmente, até mesmo dentro de alguns quilômetros de distância e em escalas de tempo diferentes. Sendo a maior parte da região Nordeste do Brasil situada dentro da zona semiárida, com grandes problemas para a sociedade e para os ecossistemas naturais, decorrentes das secas periódicas.

As cactáceas, assim como a palma, realizam um tipo específico de fotossíntese, que corresponde ao metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), no qual a captação atmosférica diária de CO₂ e a perda de água ocorrem principalmente à noite, proporcionando alta eficiência no uso da água quando comparado com o metabolismo que outras plantas realizam (FARIAS, 2013). Essas plantas abrem seus estômatos à noite onde por falta de luz, não ocorre

fotossíntese, acarretando assim o acúmulo de ácido málico que é o ácido predominante nas cactáceas, para que durante o dia este seja utilizado nos demais processos da planta (COSTA; MARENCO, 2007).

3.3 METABOLISMO SECUNDÁRIO DAS PLANTAS

As reações metaólicas consistem no conjunto de alterações químicas que estão ocorrendo continuamente nas células. O conjunto de determinadas reações direcionadas por enzimas específicas pode ser chamado de rota metabólica (SILVA, 2009).

A partir disso, muitas enzimas são responsáveis por modificações que ocorrem na aparência, no sabor e aroma dos frutos naturais e processados, além disso, o uso delas é bastante amplo. As enzimas são amplamente utilizadas na química analítica, na tecnologia de alimentos, agricultura, medicina e estudos ambientais (ROTILI, 2012).

Uma vez que as reações geradas através da ação enzimática são muito importantes nos alimentos, pode ocorrer a formação de compostos altamente desejáveis e também podem ocasionar consequências indesejáveis. As reações enzimáticas ocorrem no alimento natural e também durante seu processamento e armazenamento (ROTILI, 2012).

Os produtos secundários, provenientes dessas reações, possuem uma ação contra a herbivoria, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente e microrganismos simbiotes, além disso, também possuem ação protetora aos estresses abióticos, relacionados com as mudanças de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição a radiação ultravioleta e deficiência de nutrientes minerais (SILVA, 2014).

Estudos bioquímicos associam a produção de etileno com a ativação do metabolismo dos fenilpropanóides induzindo a síntese dos compostos fenólicos dos vegetais, em função principalmente do aumento da atividade de enzimas deste metabolismo, sobretudo da fenilalanina amônia-liase (PAL). Diversas substâncias são produzidas durante o metabolismo secundário de frutas e hortaliças, incluindo grande número de compostos fenólicos, como lignina, flavonoides, compostos de defesa contra herbivoria e patógenos, entre outros (PICOLI et al., 2010).

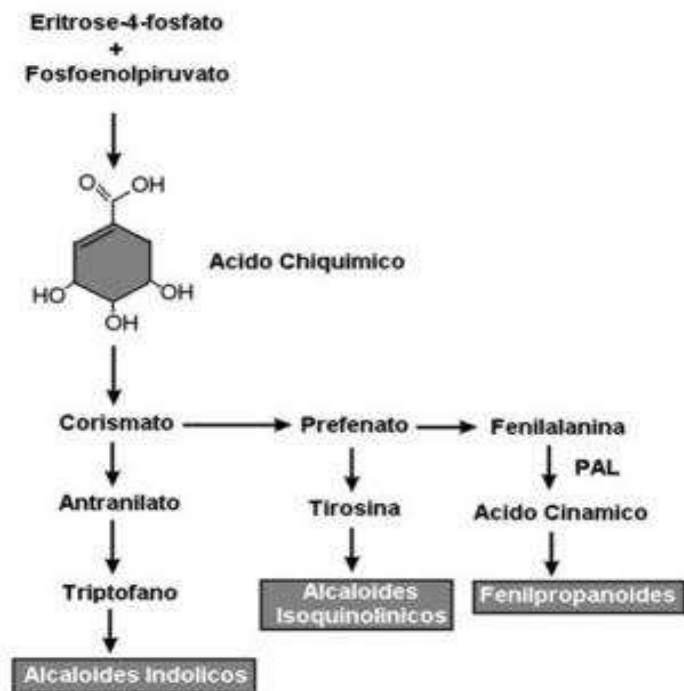
A partir da oxidação enzimática dos compostos fenólicos por polifenoloxidasas pode ocorrer o escurecimento nos tecidos da planta, causando alterações indesejáveis na cor, no sabor, e na textura dos vegetais (ROTILI, 2012). Os fenóis estão localizados no vacúolo das plantas, e nos tecidos com injúrias mecânicas, normalmente notam-se danos em membranas,

sendo o tonoplasto (membrana que envolve o vacúolo) um dos locais afetados, o que origina um vazamento de fenóis (PICOLI et al., 2010; CRUZ, 2015).

Nas células, as enzimas são responsáveis por milhares de reações químicas coordenadas que não ocorrem isoladamente, elas são organizadas em cadeias de múltiplas etapas denominadas rotas ou vias, nas quais o produto de uma reação serve como substrato da reação posterior. No entanto, diferentes vias se inter-relacionam, formando uma rede integrada e objetiva de reações químicas, denominada metabolismo. Cada via é composta de cadeias multienzimáticas e cada enzima, por sua vez, pode exibir importantes características catalíticas e regulatórias (CORTEZ et al., 2017).

A via do ácido chiquímico (Figura 1) ocorre nas plantas, fungos e bactérias, mas não em animais. Diante disso, os aminoácidos triptofano e fenilalanina são considerados essenciais, como a tirosina pode ser formada a partir da fenilalanina, ela não é considerada essencial na dieta humana (RIBEIRO et al., 2007).

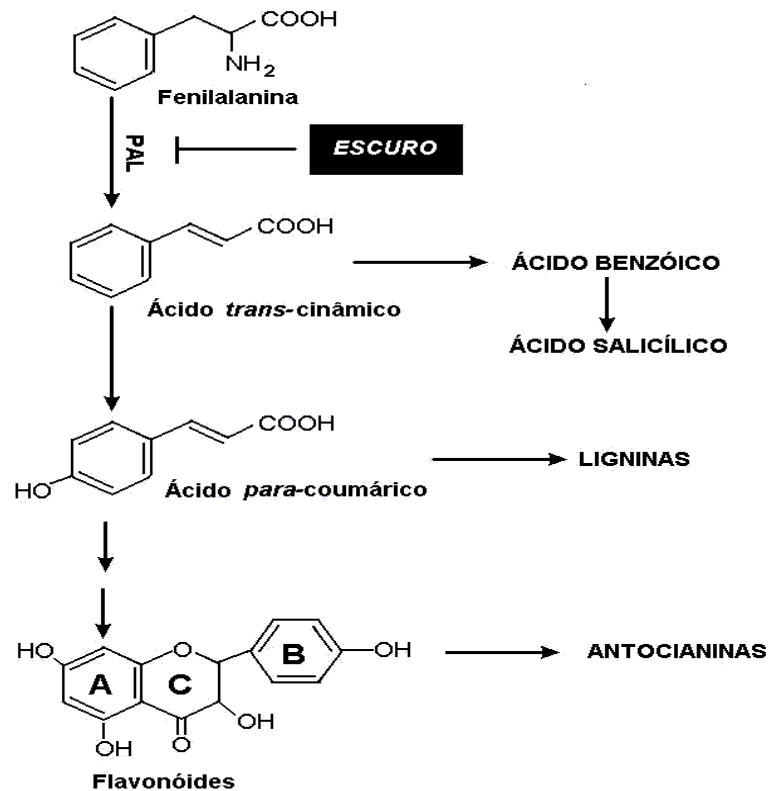
O ácido chiquímico pode ser metabolizado em ácido corísmico, pela incorporação de uma molécula de fosfenolpiruvato seguida de uma eliminação do tipo 1,4 do grupo fosfato. A redução do corismato e a incorporação de amônia conduzem a via do antranilato, que forma o aminoácido triptofano, precursor dos alcalóides indólicos. Um rearranjo intramolecular do ácido corísmico produz o ácido prefênico. A descarboxilação deste, seguida da aromatização e transaminação produz o aminoácido fenilalanina. Uma rota alternativa, a partir do ácido prefênico, conduz a formação de tirosina. A fenilalanina pela ação da PAL (fenilalanina amônia-liase) perde uma molécula de amônia, originando o ácido cinâmico. A regulação desta enzima é um fator crítico na produção dos metabólitos do chiquimato (SILVA, 2009).



Fonte: PERES (2004).

Figura 1: Principais aminoácidos formados pela via biossintética do ácido chiquímico.

A principal enzima da via do ácido chiquímico é a fenilalanina amônia-liase (PAL) (Figura 2). Essa enzima retira uma amônia da fenilalanina ocasionando a formação do ácido cinâmico. A PAL é regulada por fatores ambientais tais como, o nível nutricional, a luz (pelo efeito do fitocromo) e infecção por fungos. Entre as substâncias formadas após a ação da PAL estão o ácido benzóico, o qual dá origem ao ácido salicílico, um importante composto na defesa das plantas contra patógenos (BARROS et al., 2010).



Fonte: PERES (2004)

Figura 2. Principais compostos fenólicos derivados da enzima fenilalanina amônio-liase (PAL).

3.4 COMPOSTOS BIOATIVOS

As frutas e hortaliças são fontes de vitaminas, minerais e fibras, sendo alimentos nutricionalmente importantes da dieta. Ultimamente, maior atenção tem sido dada a estes alimentos uma vez que evidências epidemiológicas têm demonstrado que o consumo regular de vegetais está associado à redução da mortalidade e morbidade por algumas doenças crônicas não transmissíveis (MELO et al., 2008; MONDONI et al., 2010).

A maioria dos compostos bioativos são evidenciados e estudados como sendo a responsável pelos efeitos benéficos de uma dieta rica em frutas e hortaliças. Esses compostos variam em estrutura química e conseqüentemente, na função biológica. Contudo eles apresentam algumas características em comum: pertencem a alimentos do reino vegetal, são substâncias orgânicas e geralmente de baixo peso molecular (CANELLA et al., 2018).

As substâncias bioativas são definidas como nutriente e/ou não nutrientes com ação metabólica ou fisiológica específica. Estas substâncias agem como antioxidantes, ativando

enzimas de detoxificação hepática, com efeitos no bloqueio de atividade de toxinas virais ou bacterianas, atuando também na inibição da absorção do colesterol, podendo diminuir a agregação plaquetária, e também destruir bactérias gastrintestinais nocivas (QUEIROZ, 2012).

O consumo de frutas e hortaliça auxilia no combate ao risco de incidência de mortalidade por câncer e doenças cardíacas, devido à presença destes compostos bioativos oriundos do metabolismo secundário, especialmente flavonoides e antocianinas, que possuem grande capacidade de reagir com radicais livres contribuindo na prevenção de doenças cardiovasculares, circulatórias, neurológicas e cancerígenas. Estes compostos possuem atividade antiinflamatória, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana e antineoplásica (JACQUES et al., 2010; VERRUCK et al., 2018).

Os compostos bioativos podem ser consumidos nos alimentos *in natura* como também processados ou inseridos em outro produto. Deste processo surgem, por exemplo, as cápsulas de fibras e aminoácidos, os leites enriquecidos com ácidos graxos (ômega 3 e 6) e as vitaminas (BATISTA, 2010; CANELLA et al., 2018).

Os principais compostos bioativos são:

3.4.1 POLIFENÓIS

Os frutos e hortaliças contêm, além dos nutrientes essenciais e de micronutrientes como minerais, fibras e vitaminas, diversos compostos secundários de natureza fenólica, denominados polifenóis (COSTA; JORGE, 2011). Os polifenóis abrangem um extenso grupo de substâncias que podem ser de estruturas simples e complexas, derivadas dos aminoácidos fenilalanina e da tirosina, possuem um anel aromático contendo pelo menos uma hidroxila (ESCALADA et al., 2011).

Os grupos de compostos encontram-se divididos em várias classes, segundo o esqueleto carbônico dos fitoquímicos, dentre as quais se destacam a dos ácidos fenólicos e a dos flavonóides. A capacidade antioxidante dos polifenóis é devida principalmente as suas propriedades redutoras, cuja intensidade da ação antioxidante oferecidas por estes fitoquímicos é diferenciada uma vez que depende do número e posição de hidroxilas presentes na molécula (GASIC et al., 2014; FERREIRA et al., 2016).

Os polifenóis exercem função de fotoproteção nas plantas, na defesa contra microorganismos e insetos, como também são responsáveis pela pigmentação e por algumas características organolépticas dos alimentos (BALOGH et al., 2011).

As substâncias fenólicas possuem funções fisiológicas importantes, desempenhando papel fundamental na prevenção de doenças crônico-degenerativas, atuando como antioxidantes, além de possuírem propriedades antialérgicas, antiinflamatórias, antimicrobiana e efeito cardioprotetor e vasodilatador (DEL RE; JORGE, 2012; FRANÇA et al., 2013).

3.4.2 ANTOCIANINAS

As antocianinas são pigmentos hidrossolúveis de coloração variando do azul à púrpura encontrados em frutos e hortaliças. A degradação das antocianinas ocorre devido ao aumento de temperatura e da atividade enzimática das glicosidases e polifenoloxidasas (VIEIRA, 2019).

Existe um grande interesse no estudo das antocianinas em diversas áreas, como na saúde, devido ao seu grande potencial terapêutico e farmacológico, apresentando propriedades de supressão de radicais livres, a cardioproteção, a capacidade de redução dos níveis de colesterol e triglicérides, como também atuam no diabetes e no mal de Alzheimer como agentes antioxidantes, entre outras propriedades (MARÇO et al., 2008; QUEIROZ, 2012).

As flavonas, flavanonas, flavanóis, catequinas ou epicatequinas e antocininas formam o grupo dos flavanoides, um potente grupo de antioxidantes que ocorrem naturalmente em frutas frescas (especialmente laranja, morango, jabuticaba, uva rosada e cacau), vegetais (especialmente alho, cebola roxa, repolho roxo, berinjela, batata-doce e soja), nos chás e nos vinhos tintos (EFRAIM et al., 2011). As antocianinas agem na proteção contra a oxidação do LDL-colesterol, reduzindo os radicais livres, atuam também contra alergias, inflamações, úlceras, virose, tumores, hepatotoxinas e também na inibição da agregação plaquetária, reduzindo as cardiopatias e trombooses e a síntese de estrógeno (SANTANA, 2016).

3.4.3 CAROTENÓIDES

Os carotenoides são considerados um tipo de terpeno pigmentado, de cores amarelo, laranja e vermelho, que estão presente nas frutas e verduras possuindo um alto valor nutricional. São identificados 1.600 compostos químicos divididos em duas classes de moléculas. Os carotenos, que se pode dá como exemplo o beta-caroteno, pode ser encontrado na cenoura e no dendê; o licopeno encontrado no tomate e na melancia; a luteína encontrada nos vegetais verdes, e as xantofilas (zeaxantina, criptoxantina e astaxantina). Os carotenos auxiliam na proteção contra o câncer de bexiga, útero, próstata, pulmão e coloretal. O

licopeno oferece proteção contra outros antioxidantes. Alguns terpenos encontrados nas frutas cítricas, os limonóides, têm ação quimioterápica (ZERAIK; YARIWAKE, 2008).

Os carotenoides recebem muita atenção devido aos estudos relatarem que estes compostos possuem potenciais benéficos que extrapolam a síntese de vitamina A, devido a atuarem como agentes profiláticos contra diversas doenças, principalmente o câncer. Alguns carotenoides, como a luteína e zeaxantina protegem o olho contra degeneração macular, a betacriptoxantina está relacionada à diminuição do risco de câncer de pulmão, e o consumo de produtos ricos em licopeno tem associação à proteção contra certos tipos de câncer, sobretudo o de próstata (QUEIROZ, 2012)

3.5 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

As enzimas são agentes catalisadores das reações que acontecem nos sistemas biológicos. Elas possuem eficiência catalítica extraordinária, geralmente muito maior que a dos catalisadores sintéticos; têm um alto grau de especificidade por seus substratos, aceleram reações químicas específicas e ainda, funcionam em soluções aquosas e em condições muito suaves de temperatura e pH (LEHNINGER, 2014).

As enzimas possuem um centro ativo, que é o local onde se processam as reações com determinados substratos. O centro ativo é constituído de modo geral de alguns resíduos de aminoácidos da cadeia de proteína e um grupo não-protéico, sendo responsável pela atividade biológica da enzima. Algumas enzimas dependem apenas da sua própria estrutura protéica (apoenzima) para exercer sua atividade, enquanto outras necessitam também de um ou mais componentes não proteicos chamados de cofatores, que podem ser íons metálicos ou moléculas orgânicas denominadas de coenzimas. Muitas enzimas dependem dos cofatores e das coenzimas. Outras enzimas possuem um grupo prostético que é similar ao cofator, mas está firmemente ligado à apoenzima. O complexo cataliticamente ativo enzima-cofator é denominado de haloenzima (BRASIL, 2011).

Todas as enzimas são proteínas, com exceção de um pequeno grupo de moléculas de RNA com propriedades catalíticas. A atividade catalítica das enzimas dependem da integridade da sua conformação protéica nativa. A atividade catalítica geralmente se perde quando uma enzima é desnaturada ou dissociada em subunidades. A atividade catalítica é sempre suspensa quando uma enzima é quebrada em seus aminoácidos componentes. Assim, as estruturas protéicas primária, secundária, terciária e quaternária das enzimas são essenciais para o exercício da atividade catalítica (LEHNINGER, 2014).

Uma reação catalisada enzimaticamente ocorre no interior de uma cavidade, na estrutura molecular da enzima chamada de sítio ativo. Este sítio ativo que contém aminoácidos cujas cadeias laterais criam uma superfície complementar ao substrato, permitindo que as enzimas atuem na ruptura de uma determinada ligação química. O sítio ativo liga-se ao substrato, formando um complexo enzima-substrato que resultará na enzima e seu produto (BRASIL, 2011).

Qualquer que seja o mecanismo catalítico de uma reação, uma vez que as moléculas de substratos tenham reagido, a enzima separa-se dos produtos, liberando a molécula de enzima para novas reações. Deste modo, as enzimas não são consumidas nas reações que catalisam e proporcionam a catálise que é um processo a velocidade de uma reação aumenta por diminuir a energia de ativação da mesma, sem alterar a termodinâmica da reação. A velocidade da reação reflete a energia de ativação, ou seja, uma energia de ativação alta corresponde a uma reação lenta (DIAS, 2012).

3.6 ATIVIDADE DA FENILALANINA AMÔNIA-LIASE - PAL (E.C. 4.3.1.5) EM PLANTAS

A fenilalanina amônia-liase (PAL) é a primeira enzima do metabolismo do fenilpropano; catalisadora da reação de desaminação da L-fenilalanina, produzindo ácido trans-cinâmico e amônia. O ácido cinâmico é o precursor de muitos constituintes secundários das plantas. A desaminação ocorre em nível de citoplasma, e em algumas espécies catalisada através de inúmeras isoenzimas da PAL (BORSATTI et al., 2015).

A PAL está situada em um ponto de ramificação entre o metabolismo primário e secundário, e catalisa a reação da formação de muitos compostos fenólicos (ALMEIDA et al., 2012).

A enzima, descoberta por KOUKOL; CONN em 1961, foi isolada e caracterizada em *hordeum vulgare*. A faixa de pH ótimo encontra-se entre os valores de 8,8 a 9,2, sendo que o sistema é ativado na faixa de pH 8,0 a 10,6. Quando se refere a estabilidade térmica, a enzima não apresenta perda da atividade a 50 °C por 10 minutos. A enzima é constituída de 4 subunidades, sendo o P.M. da molécula intacta de aproximadamente 330.000. Experimentos revelaram que a PAL é inibida por pelo seu produto final, o ácido t-cinâmico (MACHADO, 1993).

A Glicose-6-fosfato-desidrogenase (G-6P-DH) é uma enzima precursora do metabolismo dos fenilpropanóides (ACEVEDO; CLAVIJO, 2008). Visto que é através dela

que a glicose-6P é desidrogenada, levando a uma sequência formadora da fenilalanina, que ao ser desaminada pela ação catalisadora da fenilalanina amônia-liase (PAL) produz ácido t-cinâmico. A medição da atividade das duas enzimas permite avaliar a intensidade do fluxo para o metabolismo dos fenilpropanóides e desta maneira, estimar a produção dos compostos flavonoides (BORSATTI et al., 2015).

A PAL tem como substrato o aminoácido fenilalanina. Esta é uma enzima chave para todas as vias de síntese de compostos fenólicos, os quais estão envolvidos com resistência a pragas e patógenos. Esta enzima é a responsável pela primeira de uma série de reações metabólicas, que gera inúmeros produtos naturais baseados em fenilpropanos, incluindo a lignina, certos pigmentos e protetores contra a luz ultravioleta. A produção de tal enzima é regulada durante o crescimento vegetal, mas é também induzida em células vizinhas ao local de infecção por vários estímulos ambientais, como infecção, ferimentos, contaminação por metais pesados, luz e reguladores de crescimento (PINTO et al., 2011).

Os mecanismos de defesa contra ataques de patógenos ou herbívoros estão sempre ativos nos vegetais, funcionando como sistemas de proteção relacionados com a biossíntese de compostos secundários que interferem ou alteram a palatabilidade (flavonóides, quinonas, alcalóides), complexam proteínas (taninos), secretam substâncias urticantes (terpenos), produzem substâncias impermeabilizantes (cutina, ceras), alteram a resistência celular (pectina, lignina) e evitam ainda decomposição e a oxidação de tecidos, combatendo radicais livres, atuando com antioxidantes (flavonóides) (RODRIGUES DAS DÔRES, 2007).

Outra importante classe de compostos derivados da PAL é representada pelos flavonóides. Embora os flavonóides sejam quase ausentes em fungos, algas, briófitas e pteridófitas, sua importância nas angiospermas é muito grande. Os flavonóides e taninos presentes na casca do caule de angiospermas funcionam como feitos antiinflamatórios e antiulcerativos (SILVA et al., 2015).

Os fenólicos são um grupo de compostos que estão presentes no nosso dia a dia, embora nem sempre nos demos conta disso. Desse modo, muito do sabor, odor e coloração de diversos vegetais que apreciamos são gerados por compostos fenólicos (OLIVEIRA et al., 2009).

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO, J. C.; CLAVIJO, J. Investigación agronómica em Colombia. In: CLAVIJO, J. (Coord.). **Tiametoxam: um nuevo concepto em vigor e produtividade**. Bogotá: Syngenta, 2008. p. 34-92.
- ALMEIDA, H. O. et al. Enzima marcadoras de indução de resistência diferencialmente reguladas em soja resistente e suscetível à ferrugem-asiática-da-soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.2, p.163-172,2012.
- ARAUJO, A. M. de.; **Interação entre adubação fosfatada e espaçamento no cultivo da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) no estado da Paraíba**. 2009. 67 f. (Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrosilvipastoris do Semi-Árido).
- ARBA, M. et al. Biology, flowering and fruiting of the cactus *Opuntia* spp.: a review and some observations on three varieties in Morocco. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 60, 2017.
- BALOGH, T. S. et al. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 4, p. 732-742, 2011.
- BARROS, F. C. et al. Indução de resistência em plantas à fitopatógenos. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2. 2010.
- BATISTA, P. F. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante em frutas produzidas no Submédio do Vale do São Francisco**. 2010. 162p. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2010.
- BATISTA, R. D. S. R. et al. Bebida mista à base de goiaba (*Psidium guajava* L.) e palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*): desenvolvimento e aceitabilidade. **Arch Latinoam Nutr**, v. 60, n. 3, p. 285-90, 2010.
- BORSATTI, F. C. et al. Indução de resistência e qualidade pós-colheita de amora-preta tratada com ácido salicílico. **Revista Brasileira de Fruticultura Jaboticabal**, v. 37, n.2, p.318-326, 2015.
- BRASIL, F. I. Enzimas: Natureza e ação nos alimentos. **Revista-fi**, v. 9, n. 03, p. 2015, 2011.
- CANELLA, D. S. et al. Consumo de hortaliças e sua relação com os alimentos ultraprocessados no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 52, p. 50, 2018.
- CORTEZ, D. V.; DE CASTRO, H. F.; ANDRADE, G. S. S. Potencial catalítico de lipases ligadas ao micélio de fungos filamentosos em processos de biotransformação. **Química Nova**, v. 40, n. 1, p. 85-96, 2017.
- COSTA, G. F da; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 2, p. 229-234, 2007.

COSTA, T.; JORGE, N. Compostos bioativos benéficos presentes em castanhas e nozes. **Journal of Health Sciences**, v. 13, n. 3, 2015.

CRUZ, F. J. R. Respostas bioquímicas e fisiológicas de plantas jovens de cana-de-açúcar sob diferentes concentrações de NaCl no solo. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus Jaboticabal, 2015.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012.

DIAS, F. RF; FERREIRA, V. F.; CUNHA, A. C. Uma visão geral dos diferentes tipos de catálise em síntese orgânica. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 840-871, 2012.

DA FROTA, LOPES, M. N. et al. Palma Forrageira na Alimentação Animal. **Embrapa Meio-Norte-Documentos (INFOTECA-E)**, 2015.

EFRAIM, P; ALVES, A. B; JARDIM, D. C. P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 3, p. 181-201, 2011.

ESCALADA, G. et al. Influencia de la zona de cultivo y procesamiento de la yerba mate sobre su contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante. **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 15, p. 66-74, 2011.

FARIAS, V. F. S. **Avaliação do desenvolvimento, qualidade e capacidade antioxidante em brotos de palma (*Opuntia* sp.) para o consumo humano**. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2013.

FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C. **Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática**. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 3, 455-464, 2002.

FERRERA, T. S. et al. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em erva-mate sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 588-596, 2016.

FRANÇA, B. K. et al. Peroxidação lipídica e obesidade: métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **GE jornal português de gastroenterologia**, v. 20, n. 5, p. 199-206, 2013.

GAŠIĆ, UROŠ. et al. Phenolic profile and antioxidant activity of Serbian polyfloral honeys. **Food Chemistry**, v. 145, p. 599-607, 2014.

GUIMARÃES, S. O. et al. Projeções de Mudanças Climáticas sobre o Nordeste Brasileiro dos Modelos do CMIP5 e do CORDEX. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 31, n. 3, p. 337-365, 2016.

HORST, M. A.; LAJOLO, F. M. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In: COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 2. ed. São Paulo: Manole Ltda, 2007. Cap. 35. p. 697-716.

JACQUES, A. C.; PERTUZATTI, P. B.; BARCIA, M. T.; ZAMBIAZI, R. C.; CHIM, J. F.; **Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*rubus fruticosus*) cv. TUPY**. Quim. Nova, Vol. 33, No. 8, 1720-1725, 2010.

JÚNIOR, J. G. B. G. et al. Palma forrageira na alimentação de ruminantes: cultivo e utilização. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 2, p. 78-85, 2014.

MACHADO, I. S. **Atividade de enzimas do metabolismo de compostos secundários comprometidos com o enraizamento “in vitro” de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden**. USP - São Paulo, 1993.

MARÇO, P. H; POPPI, R. J; SCARMINO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

MELO, E. A.; MACIEL; M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. **Capacidade antioxidante de frutas**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. vol. 44, n. 2, abr./jun., 2008.

MONDINI, L. et al. Consumo de frutas e hortaliças por adultos em Ribeirão Preto, SP. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, p. 686-694, 2010.

NASCIMENTO, J. P.; **Caracterização morfométrica e estimativa da produção de opuntia ficus-indica, mill sob diferentes arranjos populacionais e doses de fósforo no semi-árido da paraíba, BRASIL**. Patos, PB: UFCG, 2008. 48 f. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrosilvipastoris no Semi-Árido.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2011. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NEVES, A. L. A. et al. Plantio e uso da palma forrageira na alimentação de bovinos leiteiros no semiárido brasileiro. **Embrapa Gado de Leite-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 7p. 2010.

NUNES, C. D. S. Usos e aplicações da palma forrageira como uma grande fonte de economia para o semiárido nordestino. **Revista Verde**, 6(1), 58-66. 2011.

OLIVEIRA, Al. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, F. T. de.; SOUTO, J. S.; SILVA, R. P. da.; FILHO, F. C. de A.; JÚNIOR, E. B. P.; **Palma forrageira: adaptação e importância para os Ecossistemas áridos e semiáridos**. Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v.5, n.4, p. 27 - 37 outubro/dezembro de 2010.

PEREIRA, E. F. P.; LOPES, P. S. de Q. **Palma-ouro verde do semiárido**. João Pessoa-PB, 2011.

PERES, L. E. P. In: **Metabolismo secundário**. São Paulo: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2004.

PICOLI, A. A.; FARIA, D. B.; JOMORI, M. L. L.; KLUGE, R. A. **Avaliação de biorreguladores no metabolismo secundário de beterrabas inteiras e minimamente processadas**. *Bragantia*, Campinas, v. 69, n. 4, p. 983-988, 2010.

PINTO, M. S. T.; RIBEIRO, J. M.; OLIVEIRA, E. A. G.; **O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas**. *Revista Brasileira Bioci.*, Porto Alegre, v. 9, n. 2, p. 241-248, abr./jun. 2011.

QUEIROZ, E. de R. **Frações de Lichia: Caracterização química e avaliação de compostos bioativos**. (Mestrado em agroquímica) UFLA – MG, 2012.

RIBEIRO, N. D. et al. Composição de aminoácidos de cultivares de feijão e aplicações para o melhoramento genético. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1393-1399, 2007.

ROCHA, J. E. S. Palma forrageira no Nordeste do Brasil: estado da arte. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Documents (INFOTECA-E)**, 2012.

RODRIGUES DAS DÔRES, R. G.; **Análise morfológica e fitoquímica da fava d’anta (*dimorphandra mollis* Benth)**. (Doutorado em fitotecnia) – UFV – Viçosa – Brasil, 2007.

ROTILI, M. C. C. **Respostas bioquímicas, físico-químicas e micorbiológicas do maracujá amarelo durante armazenamento em atmosfera modificada e em diferentes temperaturas**, Marechal Cândido Rondon, UNIOESTE, 2012. (Dissertação – Mestrado em agronomia).

SANTANA, D. A. **Análise de compostos fenólicos e atividade antioxidante em cachaças baianas**. 2016.

SILVA, A. F.; RABELO, M. F. R.; ENOQUE, M. M. Diversidade de angiospermas e espécies medicinais de uma área de Cerrado. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 17, n. 4, p. 1016-1030, 2015.

SILVA, G. T. **Contribuição para o conhecimento de espécies da família cactaceae: usos pela medicina popular e potencial terapêutico**. 2014.

SILVA, R. R.; SAMPAIO, E. V. S. B. Palmas forrageiras *Opuntia fícus-indica* e *Nopalea cochenillifera*: sistemas de produção e usos. **Revista Geama**, v. 1, n. 2, p. 151-161, 2016.

SILVA, S. A. S.; **Biossíntese de produtos Naturais**. UFAL - Maceió, 2009.

SILVA, V. P. R. et al. Análise da pluviometria e dias chuvosos na região Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 15, n. 2, 2011.

VERRUCK, S; PRUDENCIO, E. S; DA SILVEIRA, S. M. COMPOSTOS BIOATIVOS COM CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA EM FRUTAS. In: **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**. 2018.

VIEIRA, E. L. Apontamentos e práticas de fisiologia pós-colheita de frutos e hortaliças. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. UFRB. Bahia, 2019.

ZERAIK, M. L.; YARIWAKE, J. H. Extração de β -caroteno de cenouras: uma proposta para disciplinas experimentais de química. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1259-1262, 2008.

CAPÍTULO 1

ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA FENILALANINA AMÔNIA LIASE EM CLADÓDIOS DE PALMA (*Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck)

Resumo: *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck é uma espécie xerófila com potencial de exploração no nordeste brasileiro, por ser eficaz no uso da água. Possui resistência em fertilidade do solo e a cochonilha do carmim, e é uma espécie exigente em umidade e em temperatura noturna mais amena. É nesse cenário que a fenilalanina amônia-liase (PAL) entra como uma enzima sensível ao estado fisiológico da planta. Assim, objetivou-se avaliar a atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase em cladódios de palma *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck em diferentes estádios de desenvolvimento. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com a espécie ‘Miúda’– *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck e 5 estádios de maturação dos cladódios. O tamanho 4 foi de 0,0 – 4,0 cm; o 8 foi de 4,1 – 8,0 cm; o 12 foi de 8,1 – 12,0 cm; o 16 foi de 12,1 – 16,0 cm e o tamanho 20 foi de 16,1 – 20,0 cm, em desenvolvimento transversal dos cladódios, com cinco repetições. Foram realizadas análises dos diâmetros longitudinal e transversal, massa fresca, espessura, pH, íons H^+ , sólidos solúveis, acidez titulável, ratio, açúcares totais, açúcares redutores, açúcares não redutores, vitamina C, flavonoides, antocianinas, compostos fenólicos e da enzima fenilalanina amônia-liase. As avaliações foram significativas com exceção das antocianinas e para a enzima (PAL). A massa fresca, comprimento longitudinal, comprimento transversal, espessura, íons H^+ , açúcares solúveis, acidez, açúcares redutores, açúcares não redutores, flavonoides, antocianinas, vitamina C e compostos fenólicos, aumentaram com o estádio de desenvolvimento. A atividade enzimática foi estável, devido a espécie ‘Miúda’ não ter sofrido estresse e devido seu crescimento ser mais lento, conseqüentemente seu metabolismo será menos acelerado.

Palavras chaves: *Cladódio de palma; Miúda; Atividade enzimática da palma.*

**ENZYMATIC ACTIVITY OF PHENYLALANINE AMMONIUM LIASE PALM
CLADODS (*Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck)**

Abstract. *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck is a xerophilous species with potential for exploration in northeastern Brazil, as it is effective in the use of water. It has resistance in soil fertility and the carmine scale, and is a species that is demanding in humidity and in milder night temperature. It is in this scenario that phenylalanine ammonia lyase (PAL) enters as an enzyme sensitive to the physiological state of the plant. Thus, the objective was to evaluate the enzymatic activity of phenylalanine ammonia lyase in palm cladodes *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck at different stages of development. The design used was completely randomized, with the species' Miúda'– *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck and 5 maturation stages of the cladodes. Size 4 was 0.0 - 4.0 cm; the 8 was 4.1 - 8.0 cm; the 12 was 8.1 - 12.0 cm; the 16 was 12.1 - 16.0 cm and the size 20 was 16.1 - 20.0 cm, in transversal development of the cladodes, with five repetitions. Analyzes of longitudinal and transversal diameters, fresh mass, thickness, pH, H + ions, soluble solids, titratable acidity, ratio, total sugars, reducing sugars, non-reducing sugars, vitamin C, flavonoids, anthocyanins, phenolic compounds and the phenylalanine enzyme ammonia-lyase. The evaluations were significant with the exception of anthocyanins and the enzyme (PAL). The fresh mass, longitudinal length, transverse length, thickness, H + ions, soluble sugars, acidity, reducing sugars, non-reducing sugars, flavonoids, anthocyanins, vitamin C and phenolic compounds, increased with the stage of development. The enzymatic activity was stable, because the species 'Miúda' did not suffer stress and because its growth is slower, consequently its metabolism will be less accelerated.

Key words: *Palm cladodium; Small; Enzymatic activity of palm.*

1 INTRODUÇÃO

As adaptações anatômicas e fisiológicas da palma Miúda (*Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck) a regiões áridas e semiáridas do mundo, torna a opção de cultura xerófila com maior potencial de exploração no nordeste brasileiro. Na cultura xerófila, cada órgão da planta, com raízes, acúleos, folhas, flor e fruto, tem adaptações de extrema eficácia no aproveitamento da água, além do metabolismo do ácido crassuláceo (CAM) que a diferencia das demais plantas. Esse conjunto garante a sobrevivência em longos períodos de estiagem (DA FROTA et al., 2015).

Uma grande vantagem adaptativa da palma é ter caule na forma de cladódio, com alto conteúdo hídrico e baixa frequência estomática. Dessa forma, a perda de água é drasticamente reduzida. O parênquima esponjoso é responsável pelo volume armazenado de água para o clorênquima, onde está localizado o aparato fotossintético. Isso faz com que o clorênquima se mantenha hidratado, permitindo a fotossíntese mesmo em condições de estresse hídrico prolongado (DA FROTA et al., 2015).

Apesar de ser adaptada ao semiárido, essas cultivares necessitam de condições mínimas de temperatura e umidade para expressar seu potencial produtivo. A portaria 295 de 3 de agosto de 2011, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011), adota para o cultivo da palma, em condições de baixo risco climático, os seguintes critérios: temperatura média anual 27,0 °C, temperatura máxima 33,0 °C e precipitação anual média 360 a 800mm/ano.

É nesse cenário que a fenilalanina amônia-liase (PAL) entra como uma enzima sensível ao estado fisiológico da planta. Mudanças na atividade podem ocorrer durante o crescimento e diferenciação dos tecidos, ou ainda, podem acompanhar eventos traumáticos ou patológicos, ou a ação da luz (DIAS et al., 2015). Essa enzima retira uma amônia da fenilalanina formando o ácido cinâmico e os fenilpropanóides que são derivados da L-fenilalanina. A PAL é regulada por fatores ambientais como o nível nutricional, temperatura, umidade, a luz pelo efeito fitocromo e infecção por fungos. A atividade da PAL é determinada pela quantificação do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina (DE MOURA et al., 2013; UMESHA, 2006)

Vários são os fatores que podem influenciar na produtividade da palma forrageira: fertilidade do solo, pluviosidade, temperatura, densidade de plantio, vigor das mudas e ataque

de pragas e doenças. Nos estados de Pernambuco, Alagoas e Ceará, a palma forrageira sofre intenso ataque de colchonilha do carmim, causando elevados danos causando sérios prejuízos para o agronegócio pecuário (DA SILVA et al., 2014).

Nesse sentido, objetivou-se avaliar a atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase em cladódios de palma 'Miúda' em diferentes fases de crescimento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 COLETA DOS CLADÓDIOS DE PALMA MIÚDA

Foram utilizados cladódios terciários de palma da espécie 'Miúda' – *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck proveniente da fazenda experimental Professor Rolando Enrique Rivas Castellón do (CCTA), pertencente a UFCG, em São Domingos, Paraíba, Brasil, localizada a 6°48'45" de latitude Sul e 37°55'43" de longitude Oeste, a uma altitude de 190 m cerca de 38 km de Pombal, Paraíba (Figura 1A). O clima predominante da região é do tipo BSh (Köppen), semiárido quente, com precipitação anual média de 750 mm e chuvas concentradas nos meses de dezembro a abril (SOUZA et al., 2016). A temperatura e umidade relativa são 36° C e 20%, respectivamente. Os cladódios foram identificados (Figura 1B) e colhidos manualmente às 7:00 horas da manhã (Figura 1C). Logo em seguida os cladódios foram acondicionados em bandejas de polietileno e transportados para o laboratório.

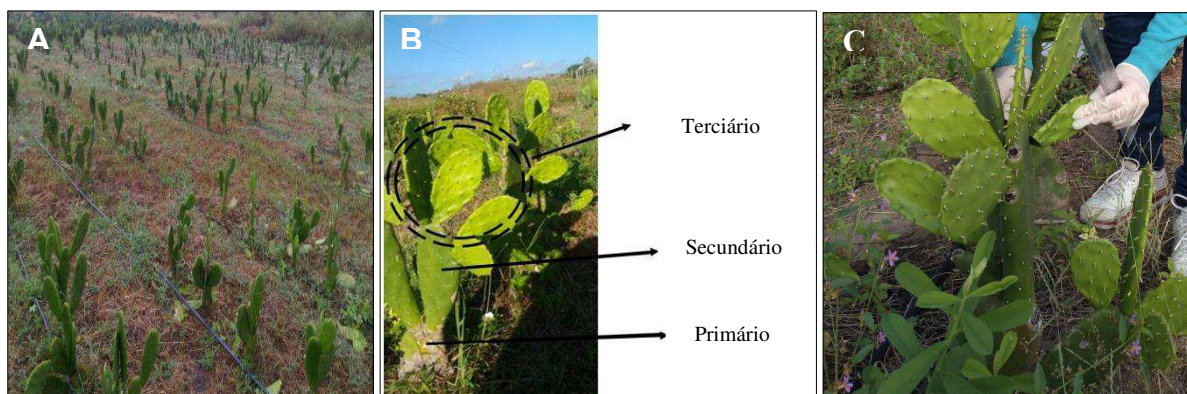


Figura 1. Área experimental (A), identificação dos cladódios terciários (B) e colheita dos cladódios (C) da palma 'Miúda' – *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck.

As análises foram realizadas nos laboratórios de Química, Bioquímica e Análise de Alimentos do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Pombal, Pombal, PB.

No laboratório, os cladódios de palma foram selecionados visualmente quanto à ausência de danos físicos, ataque de pragas e doenças. Para a padronização dos lotes o diâmetro longitudinal dos cladódios foi definido entre 0 e 20 cm, com um paquímetro digital (Digimess, modelo OUW269), conforme Farias (2013).

2.2 DELINEANDO EXPERIMENTAL

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com a espécie ‘Miúda’ – *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck e tratamentos compostos por 5 estádios de desenvolvimento dos cladódios. O tamanho 4 foi de 0,0 – 4,0 cm; o 8 foi de 4,1 – 8,0 cm; o 12 foi de 8,1 – 12,0 cm; o 16 foi de 12,1 – 16,0 cm e o tamanho 20 foi de 16,1 – 20,0 cm, em crescimento transversal dos cladódios, com cinco repetições.

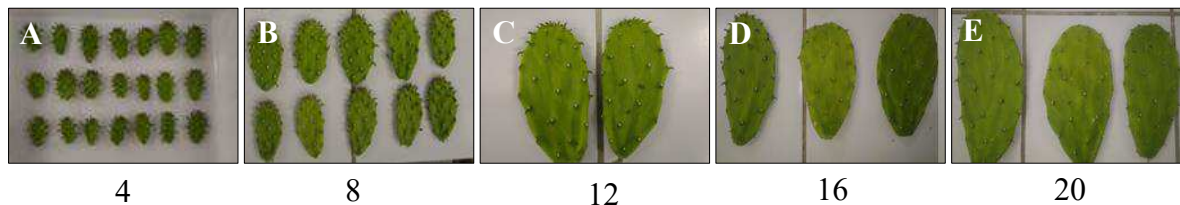


Figura 2. Sequência de tamanhos dos cladódios para as análises físicas da palma ‘Miúda’ – *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck.

2.3 ANÁLISES FÍSICAS, QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS

As avaliações físicas foram realizadas logo após a colheita, utilizando os cladódios terciários de palma. Em seguida, os cladódios foram limpos, cortados e processados em liquidificador, para a realização das análises químicas e bioquímicas. O extrato de cada amostra de palma foi obtido pesando 50 gramas de massa e processando com 50 mL de água destilada, em proporção de 1/1.



Figura 3. Fluxograma de obtenção de amostras para as análises físicas-químicas da palma ‘Miúda’– *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck. Plantio (A), implantação do sistema de irrigação (B), sistema de irrigação (C), coleta dos cladódios (D) e (E), separação dos cladódios em laboratório (F), análises físicas (G), obtenção do extrato para análise enzimática (H), análise enzimática (I), (J), (K) e (L) análises físico-químicas.

2.3.1 Massa fresca (g): A massa fresca foi determinada por pesagem dos cladódios jovens em balança semianalítica (Marte, modelo AY220) com precisão de 0,01 g. Para obtenção da massa fresca de cada tamanho e de cada repetição também foi obtida a partir de amostras compostas, utilizando mais de um cladódio e obtida a média no final.

2.3.2 Diâmetro do cladódio (cm): Os diâmetros longitudinal, transversal e espessura dos cladódios, foram estimados com paquímetro digital (Digimess, modelo OUW269). Foram totalizadas 25 amostras, com cinco diferentes tamanhos de cladódio. De cada tamanho, foi feito cinco repetições, cada repetição era constituída de uma amostra composta com mais de

um cladódio. Os tamanhos 4 e 8 , foram utilizados 10 cladódios. Para os tamanhos 12, 16 e 20, foram utilizados 5 cladódios.

2.3.3 Potencial Hidrogeniônico (pH): O pH do extrato dos cladódios foi determinado com potenciômetro digital de bancada (Digimed, modelo DM-22).

2.3.4 Concentração de íons H^+ (μM): uma leitura direta da polpa em potenciômetro digital e calculada de acordo com a equação: $pH = \log [H^+]$.

2.3.5 Sólidos solúveis (%): O extrato foi filtrado em duas camadas de gaze para a obtenção do suco para determinação dos sólidos solúveis que foi medido em refratômetro digital (Hanna, modelo HI96801) com correção automática de temperatura, medido em porcentagem.

2.3.6 Acidez titulável (%): Três gramas do extrato dos cladódios foram adicionados a 47 mL de água destilada e mais três gotas de fenolftaleína. A solução foi titulada com NaOH 0,1 M até o ponto de viragem do indicador fenolftaleína, confirmado pela faixa de pH 8,1. A acidez total titulável foi expressa como porcentagem de ácido málico.

2.3.7 Razão sólidos solúveis e acidez titulável (Ratio): foi obtida por meio da divisão entre os valores de sólidos solúveis e acidez titulável (IAL, 2008).

2.3.8 Açúcares solúveis totais ($g\ 100\ g^{-1}$): Os açúcares solúveis foram determinados pelo método da Antrona (YEMM; WILLIS, 1954). O extrato foi obtido pela diluição de 4 gramas de polpa em 50 mL de água destilada. As amostras foram preparadas em banho de gelo adicionando-se em um tubo 0,2 mL do extrato, 0,8 mL de água destilada e 2,0 mL da solução de antrona 0,2%, seguida de agitação e repouso em banho termostático a 100 °C por 3 minutos. A leitura das amostras foi em espectrofotômetro (Spectrum, modelo 1105) a 620 nm, utilizando-se como referência a glicose para obtenção da curva padrão e os resultados expressos em $g\ 100\ g^{-1}$.

2.3.9 Açúcares redutores ($g\ 100\ g^{-1}$): O extrato foi obtido pela diluição de 4 gramas de polpa em 50 mL de água destilada. Foi adicionado em um tubo 1 mL do extrato e 0,5 mL de DNS. Agitou-se e levou-se ao banho-maria a 100 °C por 15 minutos, logo após foi deixado para

esfriar e adicionado 3,5 mL de água destilada. As leituras foram determinadas em espectrofotômetro (Spectrum, modelo 1105) a 540 nm e os resultados expressos em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.3.10 Açúcares não redutores ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$): Foram obtidos subtraído os açúcares solúveis totais pelos os açúcares redutores e os resultados expressos em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.3.11 Ácido ascórbico ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$): Três gramas do extrato dos cladódios foram adicionados a 47 mL de ácido oxálico 0,5% e titulado através do método de Tillmans com solução de 2,6 diclorofenol indofenol, até atingir a coloração rosa conforme método (365/IV) descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e os resultados expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.3.12 Flavonóides e Antocianinas ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$): Foram determinados de acordo com a metodologia de Francis (1982). Foi pesado um grama de amostra e adicionado 10 mL de Etanol-HCL. Foi macerado e recolhido em um tubo, sendo mantido na geladeira por 24 horas. Após 24 horas, foi filtrado e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Spectrum, modelo 1105) a 374 nm para flavonoides e a 535 nm para as antocianinas e os resultados expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.3.13 Compostos fenólicos totais ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$): Foram estimados a partir do método de Folin & Ciocalteu descrito por Waterhouse (2006), por meio da mistura de 1000 μL do extrato de palma, constituído por 4 gramas de palma diluídas em 100 mL de água e 125 μL do reagente folin-ciocalteu, seguido de agitação e repouso por 5 minutos. Logo após o tempo de reação, foram adicionados 250 μL de carbonato de sódio, seguida de nova agitação e repouso em banho-maria a 40 °C, por 30 minutos. A curva padrão foi preparada com ácido gálico, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Spectrum, modelo 1105) a 765 nm e os resultados expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.4 ANÁLISE ENZIMÁTICA

2.4.1 Obtenção dos extratos: Com uma faca retirada da geladeira, os cladódios de palma foram picados em pedaços bem pequenos. Logo após, foi pesado 0,5 g da amostra, em balança digital e em seguida macerado com 3 ml da solução TrisHCl pH 7,8. Depois de maceradas, as amostras foram filtradas em seringa com algodão. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 4 °C por 60 minutos, após a centrifugação o sobrenadante utilizado

para medir a atividade da PAL, estimado a partir da reação de Tris-HCl 100 mM (pH 8,8) contendo L-fenilalanina 11 mM, durante 15 minutos, a 30 °C e efetuado a leitura em espectrofotômetro (Spectrum, modelo 1105).

2.4.2 *Fenilalanina amônia-liase, PAL (E.C. 4.3.1.5)*: A formação do ácido *trans*-cinâmico foi monitorado a 290 nm, os resultados estimados por meio de curva padrão do ácido cinâmico 5 mM. A atividade da enzima foi expressa em mmol PAL min⁻¹ g⁻¹ de broto de palma, como descrito por Ali; Hahn; Paek (2007) com adaptações.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A correlação dos dados e a correlação de Pearson foram feitas por meio do *software* AgroEstat[®] (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2015).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa fresca, comprimento longitudinal e transversal, espessura, pH, H⁺, sólidos solúveis, acidez titulável, ratio, açúcares totais, redutores e não redutores, vitamina C, flavonóides e compostos fenólicos houve diferir entre os tamanhos da palma pelo teste F à 1% de probabilidade (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise estatística pelo teste F referentes as variáveis estudadas.

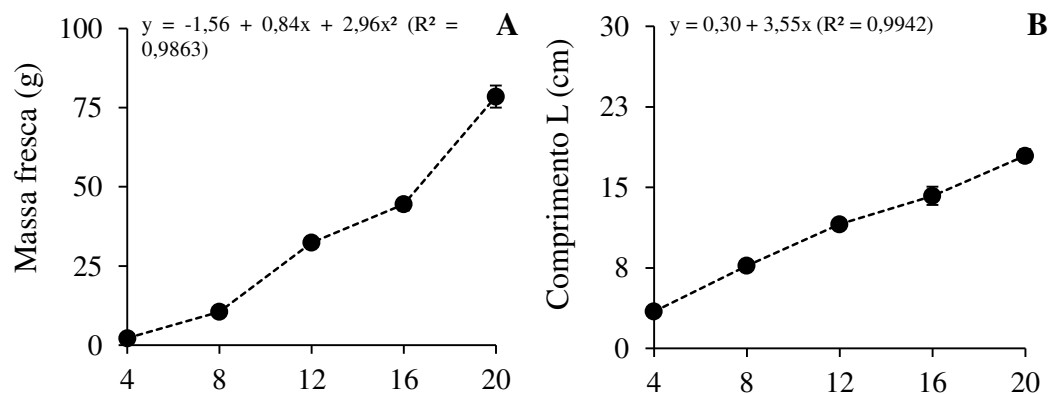
Variáveis	Valor de F	CV (%)
Massa fresca	119,19**	18,41
Comprimento L	572,74**	4,79
Comprimento T	341,67**	5,96
Espessura	245,03**	4,25
pH	568,11**	0,88
H ⁺	406,48**	7,13
Sólidos Solúveis	47,60**	5,10
Acidez Titulável	1174,62**	3,11

Ratio	288,21**	17,00
Açúcares totais	37,64**	7,96
Açúcares redutores	72,50**	4,89
Açúcares não Redutores	36,45**	8,10
Vitamina C	86,74**	3,17
Flavonóides:	10,22**	5,63
Antocianinas:	ns	-
Compostos Fenólicos	33,03**	6,58
Enzima	ns	-

** Significativo à 1% de probabilidade pelo teste F

Ns Não significativo

Observa-se aumento da massa fresca com o aumento do tamanho dos cladódios, com o tamanho 20 apresentando as maiores médias (Figura 4A). Segundo Degli Esposti et al. (2009), isso ocorre devido a ação conjunta de processos de divisão e expansão celular e maturação que acontece com o passar do tempo. Semelhante as dimensões, o acúmulo de massa fresca dos cladódios ajustou-se a um padrão de desenvolvimento, em resposta ao aumento dos tamanhos dos cladódios.



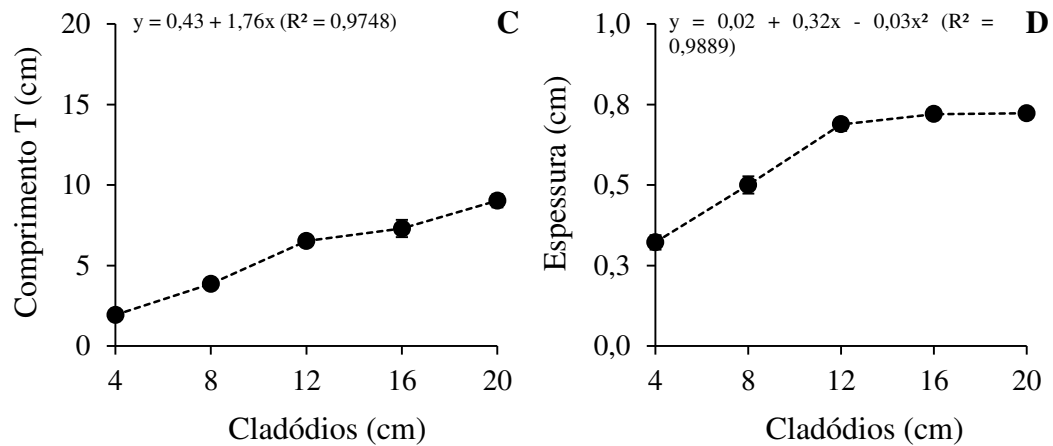


Figura 4: Massa fresca (A), comprimento longitudinal (B) e comprimento transversal (C) de cladódios jovens de palma ‘Miúda’–*Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck.

Para o comprimento longitudinal e transversal, o tamanho de 20 diferiu dos demais tamanhos, sendo ele o maior valor (Figura 4B e Figura 4C). Os cladódios apresentam uma evolução no diâmetro longitudinal e transversal devido ao estágio no qual há elevada divisão celular, seguida a fase no qual predomina a expansão celular, sendo acumulado pelo de açúcares e outros compostos (Giehl et al., 2008).

A espessura dos tamanhos 12, 16 e 20 foram maiores e diferiram dos tamanhos 4 e 8 (Figura 4D). A espessura ajustou-se ao padrão de desenvolvimento, em resposta à aumento dos tamanhos, havendo acréscimo na espessura durante o desenvolvimento do cladódio. A partir do tamanho de 12 a espessura do cladódio começou a estabilizar.

Com relação ao pH, o tamanho 4 diferiu estatisticamente dos demais, sendo ele o maior (Figura 5A). Como foi visto nos resultados da acidez titulável, a medida que o pH diminui, a acidez aumenta, comportamento esperado visto que a acidez varia em função da região, do vigor e da idade da planta. Segundo Cantwell (2001), as plantas adaptadas as condições edafoclimáticas são pertencentes à categoria dos não climatéricos, que devem ser colhidos ao atingirem a maturação fisiológica, por apresentarem uma lenta redução na taxa de respiração e atividade metabólica pouco elevada ao longo do tempo. Deste modo a redução de alguns compostos não é decorrentes apenas de sua fisiologia, mas também de danos físicos a casca durante a colheita. Então mudanças nas características internas como a redução do pH pode ocorrer, o que foi observado uma redução gradativa do pH com o passar do tempo e o aumento da acidez. O aumento da acidez pode ser explicado, devido aos ácidos orgânicos, principalmente ao acúmulo de ácido málico proveniente da fotossíntese.

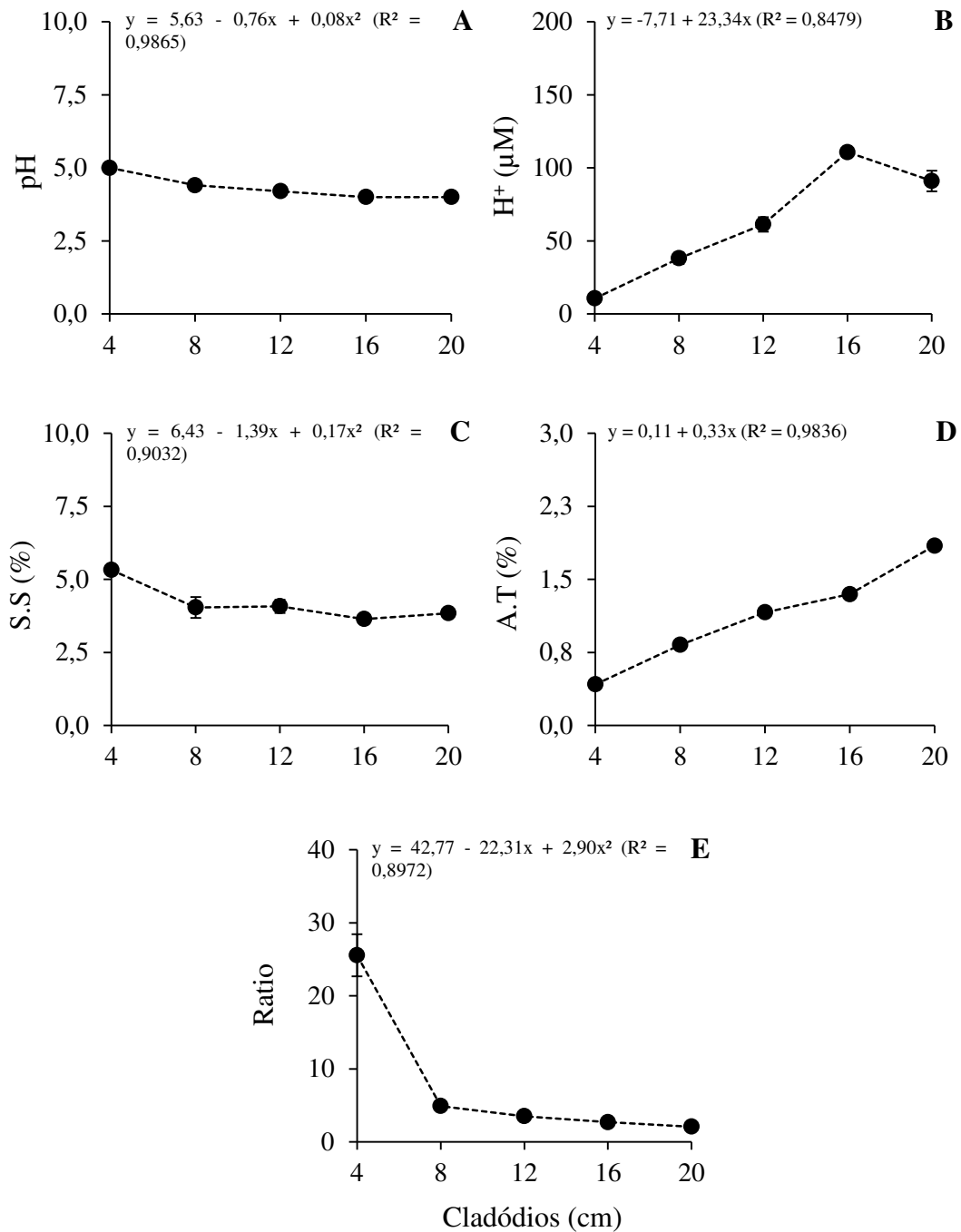


Figura 5: Potencial hidrogeniônico pH (A), concentração de íons H^+ (B) sólidos solúveis (C), acidez titulável (D) e ratio (E) de cladódios de palma ‘Miúda’- *Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck.

Para a característica H^+ , o tamanho 16 diferiu estatisticamente dos demais, sendo ele o maior (Figura 5B). A concentração de H^+ foi maior no tamanho 16 devido o pH ter sido menor nesse mesmo tamanho. Sendo o pH uma característica determinada pela concentração de íons de Hidrogênio, quando menor o pH, maior a concentração de íons H^+ .

Os sólidos solúveis foram maiores para o tamanho 4 e diferiu dos demais. De acordo

com a (Figura 5C) houve decréscimo dos teores de sólidos solúveis quando os tamanhos dos cladódios foram aumentando. Díaz Medina et al. (2006) observaram o mesmo comportamento com o passar do tempo, com redução de 14,98% para 14,05% de sólidos solúveis. Os sólidos solúveis refere-se a quantidade de sólidos dissolvidos na polpa, sendo variável com a espécie, a cultivar, o estágio de maturação e o clima (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O decréscimo do teor de sólidos solúveis pode ser explicado por um aumento de respiração na polpa quando elas estão em temperatura ambiente, ao que leva, conseqüentemente, ao aumento do consumo de reservas, ocasionando assim o decréscimo do teor de sólidos solúveis com o aumento dos tamanhos dos cladódios (ANTUNES et al., 2003).

A acidez titulável foi maior no tamanho 20 (Figura 5D). A medida que a acidez foi aumentando o pH foi diminuindo. O aumento da acidez pode ser explicado, devido aos ácidos orgânicos, principalmente ao acúmulo de ácido málico proveniente da fotossíntese.

Conforme os dados obtidos para o Ratio (SS/AT) o tamanho 4 deferiu estatisticamente dos demais, sendo ele o maior (Figura 2C). Foi observado que houve um decréscimo nos valores do SS/AT (Figura 5E). Essa relação é uma das formas mais utilizadas para avaliação do sabor, visto que dá uma ideia do equilíbrio entre esses dois compostos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Com relação as variáveis açúcares totais, açúcares redutores e açúcares não redutores, o tamanho 12 diferiu estatisticamente dos demais, sendo o maior valor (Figura 6A, 6B e 6C). Essas variáveis obtiveram acréscimo do tamanho 4, 8 e 12. O aumento dos teores de açúcares que ocorreu nos tamanhos 4, 8 e 12, segundo Walter et al. (2015) isso ocorre devido ao amido acumulado, que é sintetizado na atividade fotossintética, que é hidrolisado em moléculas menores de açúcar. Frota (2015) afirma que a composição químico-bromatológico da palma forrageira é bastante variável, e ocorre de acordo com a espécie e variedade envolvida, idade, estação do ano e condições agrônômicas, como tipo de solo, clima, condições de crescimento e disponibilidade de nutrientes.

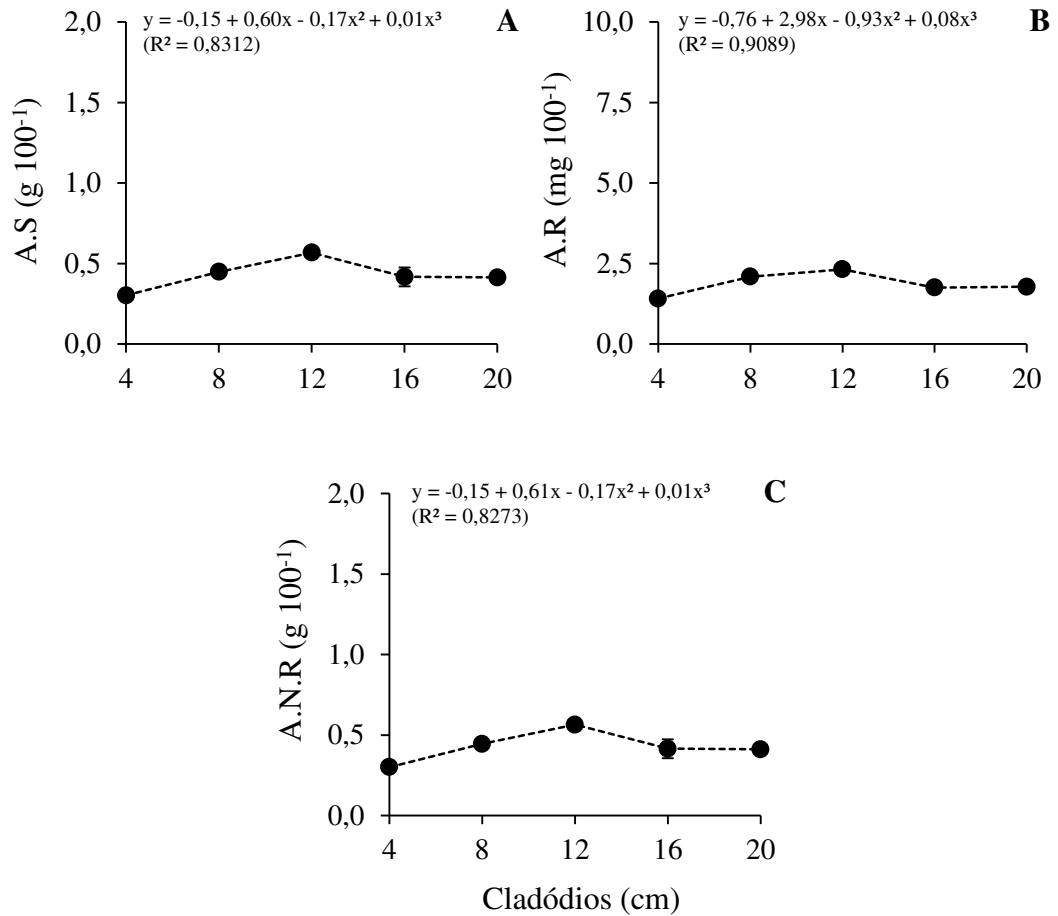
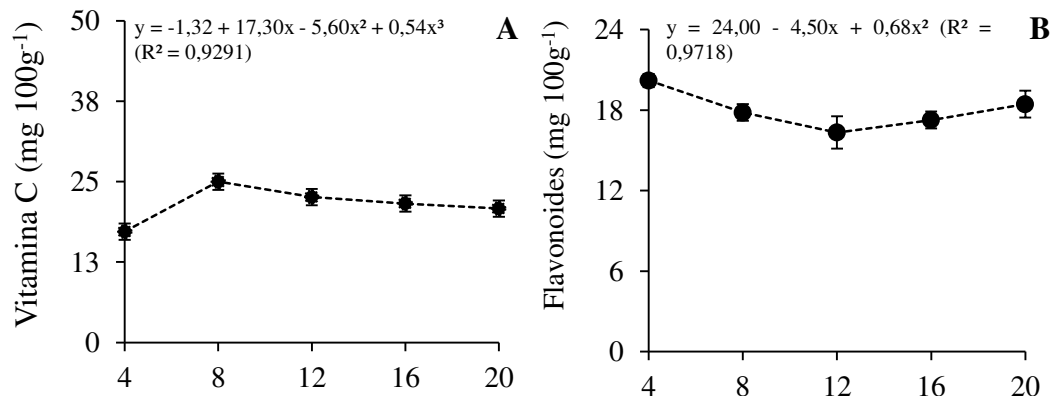


Figura 6: Açúcares totais (A), açúcares redutores (B) e açúcares não redutores (C) de cladódios de palma ‘Miúda’–*Nopalea cochenilifera* L..

Com relação a análise de vitamina C o tamanho 8 deferiu estatisticamente dos demais, sendo o maior valor. No tamanho 8 foi encontrado teores mais elevados de vitamina C (Figura 7A), sendo uma característica importante, visto que os valores de vitamina C é utilizado como padrão de qualidade, variando de acordo com as condições de cultivo.



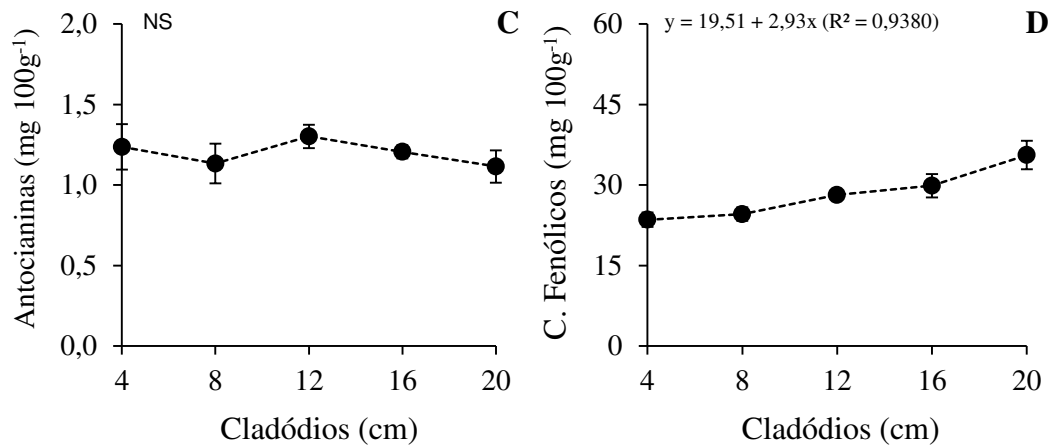


Figura 7: Vitamina C (A), flavonoides (B), antocianinas (C) e compostos fenólicos (D) de cladódios jovens de palma ‘Miúda’–*Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck.

Quando aos flavonóides o tamanho 4 diferiu dos demais tamanhos, sendo o maior valor (Figura 7B). Houve uma redução nos valores de flavonoides com o aumento do tamanho, isso pode ser explicado devido os flavonoides serem pigmentos que podem ser degradados ao longo do tempo.

Para variável antocianinas os tamanhos não diferiram estatisticamente entre si (Figura 7C). As antocianinas são pigmentos hidrossolúveis de coloração variando do azul à púrpura, cuja função é a proteção das plantas contra a luz ultravioleta. A degradação das antocianinas pode ocorrer devido ao aumento de temperatura e da atividade enzimática das glicosidases e polifenoloxidasas (VIEIRA, 2019).

De acordo com os dados obtidos para compostos fenólicos, o tamanho 20 diferiu estatisticamente dos demais (Figura 7D). O aumento gradativo dos teores de compostos fenólicos observado, pode ser explicado devido ao acúmulo de compostos secundários formados ao longo da vida da planta, ou seja, ao acúmulo dos compostos com o passar do tempo e o aumento dos tamanhos. Os compostos fenólicos são responsáveis pelo sabor, odor, coloração dos vegetais. Além disso, os compostos são importantes para proteger as plantas contra os raios UV, insetos, fungos, vírus e bactérias. Também é responsável pela produção de lignina, a qual proporciona o desenvolvimento do sistema vascular. Os compostos fenólicos são sintetizados a partir de duas rotas metabólicas principais: a via do ácido chiquímico e via do ácido mevalônico (DIAS et al., 2015)

De maneira geral, foi observado redução na atividade da fenilalanina amônia liase (PAL) ao longo do tempo (Figura 8), isso pode ocorrer pela diluição da proteína pelos tecidos do cladódio, a medida que mesmo vai ficando maior. A PAL é a principal enzima da via do

ácido chiquímico para a produção de compostos secundários da planta, essa enzima é regulada por fatores ambientais e sua atividade pode ser maior ou menor em resposta ao estresse.

Nesse contexto, a atividade enzimática da palma ‘Miúda’ se deu de maneira estável, ou seja, a atividade da enzima não deferiu para os diferentes tamanhos, devido as condições que a espécie se encontrava. Estando sob condições de irrigação, a palma ‘Miúda’ não sofreu tantas condições de estresse, portanto, a atividade na PAL não foi alta. Isso é explicado pelas condições de crescimento, porque a palma ‘Miúda’ é mais exigente quanto a umidade, sendo menos resistente a seca e seu crescimento mais lento, isso dependendo da quantidade de água disponibilizada para o seu desenvolvimento, corroborando que a palma miúda é menos eficiente no uso da água.

Lira et al. (2015) em estudo em Serra Talhada, PE, avaliaram o desempenho de crescimento das variedades Orelha de Elefante, Miúda e IPA Sertânia, e observou um crescimento rápido na variedade Orelha de Elefante por ser mais ativa com uso da água e as variáveis meteorológicas do local.

A atividade enzimática da palma ‘Miúda’ também pode ser explicada devido aos cladódios terem sido coletados para análises 30 dias depois de ser feito a poda. Então os cladódios já poderiam ter maior estabilização no seu metabolismo, atingindo sua maturidade fisiológica, desta forma que a atividade enzimática estaria mais estável.

Segundo Taiz e Zeiger (2017), plantas em crescimento intenso têm maior atividade metabólica e maior demanda pelos seus diferentes órgãos com a taxa de fluxo alta. Por outro lado, plantas maduras ou em crescimento lento, têm atividade metabólicas menor e consequentemente, menores taxas de fluxo de fotoassimilados.

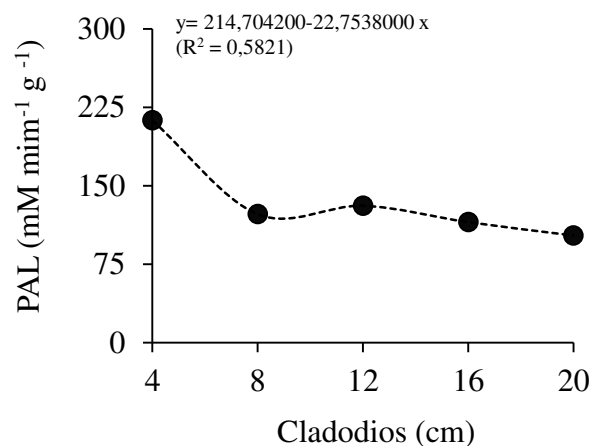


Figura 8: Atividade enzimática da Fenilalanina amônia-liase PAL em cladódios jovens de palma ‘Miúda’–*Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck.

Não houver correlação significativa entre entre as variáveis analisadas abaixo, na palma ‘Miúda’.

Tabela 2: Correlação de Pearson entre as características estudadas para a palma ‘Miúda’–*Nopalea cochenilifera* (L.) Salm Dyck.

	Flavonoides	Antocianinas	C. Fenólicos
Antocianinas	0,02800NS	-	-
Compostos fenólicos	-0,1690NS	-0,0807NS	-
Enzimas	0,04056NS	0,26101NS	-0,2843NS

4 CONCLUSÕES

A atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) na palma ‘Miúda’ se deu dentro dos padrões, apresentando atividade estável. Isso ocorreu devido as condições ambientais que foram favoráveis para a planta não sofrer estresse.

Uma respota para a fenilalanina amônia-liase (PAL) ter obtido atividade dentro dos padrões, pode está relacionado a colhida, já que os cladódios foram colhidos 30 dias após a poda, tendo em vista que os cladódios tinham meia idade, o que poderia ter atingido uma estabilidade no seu metabolismo, e conseqüentemente resutou numa atividade da enzimatica mediana.

Os cladódios de palma nos tamanhos etudados, houve aumento na maiorias quanto as característas físicas, físico-químicas e bioquímicas, possuindo potencialidade de aplicação, podendo ser utilizada na alimentação humana.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, M. B.; HAHN, E.; PAEK, K. Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in Panax ginseng bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, v.12, p.607-621, 2007.

ALVES, M. A. Tese (Doutorado em Nutrição) – Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco Caracterização e aspectos pós-colheita dos frutos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller oriundos de Arcoverde-Pernambuco. Recife. 2008.

ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J.; DE SOUZA, C. M. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 413-419, 2003.

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P.; BRON, I. U. Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 2, p. 139-145, 2004.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. 2015. AgroEstat – sistema para análises estatística de ensaios agrônômicos. Jaboticabal: FCAV/UNESP. 396p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Aprova o Zoneamento Agrícola de Risco Climático para a cultura de palma forrageira no Estado do Rio Grande do Norte**. Portaria nº 295/2011. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 5 ago. 2011. Seção 1, p. 40. Disponível em: . Acesso em: 25 mai. 2019. Referência introdução

CANTWELL, M. Manejo pós-colheita de frutas e verduras de palma forrageira. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; PIMIEN-TA-BARRIOS, E. **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. João Pessoa. FAO/ Sebrae, 2001. V. 132, p. 123-139.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. Ed. rev. Lavras, UFLA, 2005.

DA FROTA, LOPES, M. N. et al. Palma Forrageira na Alimentação Animal. **Embrapa Meio-Norte-Documentos (INFOTECA-E)**, 2015.

DA SILVA, L. M. et al. Produtividade da palma forrageira cultivada em diferentes densidades de plantio. **Ciência Rural**, v. 44, n. 11, p. 2064-2071, 2014.

DE MOURA ,G. A. M. N.; et al. Aspectos bioquímicos da resistência do algodoeiro à ramulose potencializada pelo silício. **Bragantia**, v. 72, n. 3, p. 292-303, 2013.

DEGLI ESPOSTI, M. D.; DE SIQUEIRA, D. L.; ROBERTO CECON, P. Crescimento de frutos da tangerineira 'Poncã' (*Citrus reticulata Blanco*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 657-661, 2009.

DIAS, T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em frutos de tomateiros mutantes fotomorfogênicos. **Ciência Rural**, p. 782-787, 2015.

DÍAZ MEDINA, E. M.; RODRÍGUEZ, E. M.; DÍAZ ROMERO, C. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. Food 135 **Chemistry**, v. 103, p. 38-45, 2006.

DOUSSEAU, S. **Ação reguladora de eliciadores nas características bioquímicas, ecofisiológicas, anatômicas e na produção e qualidade de óleo essencial de Piper mollicomum Kunth**. 2013.

FARIAS, V. F. S.; **Avaliação do desenvolvimento, qualidade e capacidade antioxidante em brotos de palma (*Opuntia* sp.) para o consumo humano**. 2013. 78 f. Dissertação

(Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2013.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.). **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 181-207.

GIEHL, R. F. H. et al. Crescimento e mudanças físico-químicas durante a maturação de frutos de meloeiro (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* Naud.) híbrido torreon. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 371-377, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 4ed. São Paulo: IAL, 2008. 1020 p.

JÚNIOR, J. G. B. G. et al. Palma forrageira na alimentação de ruminantes: cultivo e utilização. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 2, p. 78-85, 2014.

LIRA, M. A.; et al. **Palma Forrageira: Cultivo e Usos**. Cadernos do Semiárido: Riqueza e Oportunidade. 2015.

MATARAZZO, P. H. M. et al. Desenvolvimento dos frutos de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) em Viçosa-MG. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 131-142, 2013.

SOUZA, F. M.; LIMA, E. C. S.; SÁ, F. V. S.; SOUTO, L. S.; ARAÚJO, J. ES.; PAIVA, E. P. Doses de esterco de galinha e água disponível sob o desenvolvimento inicial de milho. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 5, p. 64-69, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre. Artimed. 6° Ed, 2017, p.719.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase in tomato seedlings and its relationships to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, v.34, p.68-71, 2006.

VIEIRA, E. L. **Apontamentos e práticas de fisiologia pós-colheita de frutos e hortaliças**. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. UFRB. Bahia, 2019.

WATERHOUSE, A. Folin-ciocalteau micro method for total phenol in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, p. 3-5, 2011.

WALTER, L. C.; ROSA, H. T.; STRECK, N. A. Mecanismos de aclimação das plantas à elevada concentração de CO₂. **Ciência Rural**, v. 45, n. 9, p. 1564-1571, 2015.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, p.508-515, 1954.

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA FENILALANINA AMÔNIO LIASE EM CLADÓDIOS JOVENS DE PALMA (*Opuntia tuna* L.)

Resumo: A ‘Orelha de Elefante Mexicana’- (*Opuntia tuna* L.) é uma cactácea, e possui boa adaptação às regiões áridas e semiáridas, apresenta alta eficiência no uso da água e é resistente a períodos longos de estiagem, devido a espécie possuir metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), e ser cultivada em condições de sequeiro. É nesse cenário que a fenilalanina amônia-liase (PAL) entra como uma enzima sensível ao estado fisiológico da planta. Então, objetivou-se determinar a atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase (PAL) em cladódios de palma *Opuntia tuna* L. em diferentes estádios de desenvolvimento. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com a espécie ‘Orelha de Elefante Mexicana’- *Opuntia tuna* L., e 5 estádios de maturação dos cladódios. O tamanho 4 foi de 0,0 – 4,0 cm; o 8 foi de 4,1 – 8,0 cm; o 12 foi de 8,1 – 12,0 cm; o 16 foi de 12,1 – 16,0 cm e o tamanho 20 foi de 16,1 – 20,0 cm, em desenvolvimento transversal dos cladódios, com cinco repetições. Foram realizadas análises dos diâmetros longitudinal e transversal, massa fresca, espessura, pH, íons H^+ , sólidos solúveis, acidez titulável, ratio, açúcares totais, açúcares redutores, açúcares não redutores, vitamina C, flavonoides, antocianinas, compostos fenólicos e da enzima fenilalanina amônia-liase. As avaliações foram significativas para todas as variáveis analisadas. A massa fresca, comprimento longitudinal, comprimento transversal, espessura, H^+ , acidez titulável, açúcares solúveis, açúcares redutores, açúcares não redutores, antocianinas, flavonoides e compostos fenólicos aumentaram com o estádio de desenvolvimento. A atividade enzimática teve um crescimento do tamanho 4 ao 12, onde houve um pico na atividade enzimática e depois houve um decréscimo da atividade enzimática nos tamanhos 16 e 20, a alta atividade da enzima ocorreu devido às condições de estresse do ambiente e ao crescimento acelerado da espécie que conseqüentemente produz uma atividade metabólica mais intensa. Houve correlação positiva entre os valores da PAL e dos compostos fenólicos.

Palavras chaves: *Cladódio de palma; Orelha de Elefante Mexicana; Atividade enzimática da palma.*

**ENZYMATIC ACTIVITY OF PHENYLALANINE AMMONIUM LIASE PALM
CLADODS (*Opuntia tuna* L.)**

Abstract: The 'Mexican Elephant Ear' - (*Opuntia tuna* L.) is a cactus, has a good adaptation to arid and semi-arid regions, has high efficiency in the use of water and is resistant to long periods of drought, due to the species having acid metabolism crassulaceae (CAM), and be grown under rainfed conditions. It is in this scenario that phenylalanine ammonia lyase (PAL) enters as an enzyme sensitive to the physiological state of the plant. Then, the objective was to determine the enzymatic activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL) in *Opuntia tuna* L. palm cladodes at different stages of development. The design used was completely randomized, with the species 'Mexican Elephant Ear' - *Opuntia tuna* L., and 5 maturation stages of the cladodes. Size 4 was 0.0 - 4.0 cm; the 8 was 4.1 - 8.0 cm; the 12 was 8.1 - 12.0 cm; the 16 was 12.1 - 16.0 cm and the size 20 was 16.1 - 20.0 cm, in transversal development of the cladodes, with five repetitions. Analyzes of longitudinal and transversal diameters, fresh mass, thickness, pH, H⁺ ions, soluble solids, titratable acidity, ratio, total sugars, reducing sugars, non-reducing sugars, vitamin C, flavonoids, anthocyanins, phenolic compounds and the phenylalanine enzyme ammonia-lyase. The evaluations were significant for all the variables analyzed. The fresh mass, longitudinal length, transverse length, thickness, H⁺, titratable acidity, soluble sugars, reducing sugars, non-reducing sugars, anthocyanins, flavonoids and phenolic compounds increased with the development stage. Enzyme activity grew from size 4 to 12, where there was a peak in enzyme activity and then there was a decrease in enzyme activity in sizes 16 and 20, the high activity of the enzyme occurred due to stress conditions in the environment and accelerated growth of the species that consequently produces a more intense metabolic activity. There was a positive correlation between the values of PAL and phenolic compounds..

Key words: *Palm cladodium; Mexican Elephant Ear; Enzymatic activity of palm.*

1 INTRODUÇÃO

Nas regiões semiáridas, as atividades agrícolas devem ser manejadas de maneira que o sistema de produção seja o mais sustentável possível. Para isto, é essencial o uso de espécies adaptadas às condições climáticas com destaque para as altas temperaturas e déficit hídrico. Dentre as quais destaca-se a palma forrageira “Orelha de Elefante Mexicana”- *Opuntia tuna* L., por ser uma cactácea, com boa adaptação às regiões áridas e semiáridas, apresenta tolerância a longos períodos de estiagem e alta eficiência no uso da água, devido a mesma possuir metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), sendo cultivada tradicionalmente em condições de sequeiro (DE QUEIROZ et al., 2015).

Introduzidas no Nordeste, a palma “Orelha de Elefante Mexicana”, é menos exigente quanto a fertilidade do solo, no entanto apresenta grande quantidade de espinhos, o que pode comprometer sua palatabilidade e dificultar seu manejo como planta forrageira. Para facilitar o seu manjo e fornecer aos animais, a palma depois de cortada por ser queimada para eliminar os espinhos (CAVALCANTI et al., 2008).

A presença de espinhos dificulta o manejo como forrageira, no entanto essa característica, apesar de indesejável na alimentação animal, garante a esse material maior resistência à seca, pois os espinhos servem pra reduzir a temperatura do caule durante o dia (FROTA et al., 2015; RAO et al., 2006).

Devido a palma forrageira vegetar em ambientes onde o estresse hídrico é quase constante ao longo do ano, fazendo com que essa planta desenvolvesse características xeromórficas. Diferente de outras plantas xerófilas, a palma apresenta sistema radicular superficial, mais parecido com o de uma gramínea, que explora quase toda a porção superficial do solo, com elevada capacidade de absorção de água das chuvas. As raízes se apresentam como um conjunto de redes finas, com maior concentração nas regiões próximas da camada superficial do solo (10 a 20 cm), adaptadas para absorver a água de chuvas leves e até do orvalho, caracterizando uma vantagem em locais de índice pluviométrico baixo. Outra característica é a morte e a renovação de um porcentual das raízes, conforme a falta de água por períodos mais prolongados e o retorno da umidade ao solo. O caule tipo cladódio com alto conteúdo hídrico é também outra grande vantagem adaptativa (FROTA et al., 2015; RAO et al., 2006).

O metabolismo CAM é considerado a chave para o sucesso e sobrevivência em regiões áridas e semiáridas. As plantas CAM abrem seus estômatos durante à noite e os mantém fechados durante o dia. Por essa razão, conseguem manter alta eficiência do uso da água, abrindo os estômatos apenas com as temperaturas mais baixas durante a noite. Isso minimiza a perda de água, pois H₂O e CO₂ têm a mesma via de difusão (TAIZ; ZEIGER, 2017).

A composição química-bromatológica da palma é bastante variável. Essa variação ocorre de acordo com a espécie e variedade envolvida, idade, estação do ano e condições agronômicas, como o tipo de solo, clima, condições de crescimento e disponibilidade de nutrientes. A palma apresenta baixa porcentagem de matéria seca, consequentemente altos teores de água. Dessa forma, rações com grande proporção de palma normalmente têm alta umidade, também é rica em minerais, sobretudo cálcio, potássio e magnésio (DA FROTA et al., 2015).

É nesse cenário que a fenilalanina amônia-liase (PAL) entra como uma enzima extremamente sensível ao estado fisiológico da planta. Mudanças na atividade podem ocorrer durante o crescimento e diferenciação dos tecidos, ou ainda, podem acompanhar eventos traumáticos ou patológicos, ou a ação da luz (DIAS et al., 2015). Essa enzima retira uma amônia da fenilalanina formando o ácido cinâmico e os fenilpropanóides que são derivados da L-fenilalanina pela ação da PAL. Essa enzima é regulada por fatores ambientais como o nível nutricional, a luz pelo efeito fitocromo e infecção por fungos. A atividade da PAL é determinada pela quantificação do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina (DE MOURA et al., 2013, 2013; UMESHA, 2006)

Objetivou-se determinar a atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase em cladódios de palma “Orelha de Elefante Mexicana” em diferentes estádios de desenvolvimento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 COLETA DOS CLADÓDIOS JOVENS DE PALMA ‘ORELHA DE ELEFANTE’

Foram utilizados cladódios terciários de palma da espécie ‘Orelha de Elefante Mexicana’- *Opuntia tuna* L. proveniente da Fazenda experimental professor Rolando Enrique Rivas Castellón do (CCTA), pertencente à UFCG, em São Domingos, Paraíba, Brasil,

localizada a 6°48'45'' de latitude Sul e 37°55'43'' de longitude Oeste, a uma altitude de 190 m cerca de 38km de Pombal, Paraíba (Figura 1A). O clima predominante da região é do tipo BSh (Köppen), semiárido quente, com precipitação anual média de 750 mm e chuvas concentradas nos meses de dezembro a abril (SOUZA et al., 2016). A temperatura e umidade relativa são 36° C e 20%, respectivamente. Os cladódios foram identificados (Figura 1B) e colhidos manualmente às 7:00 horas da manhã (Figura 1C). Logo em seguida os cladódios foram acondicionados em bandejas de polietileno e transportados para o laboratório.

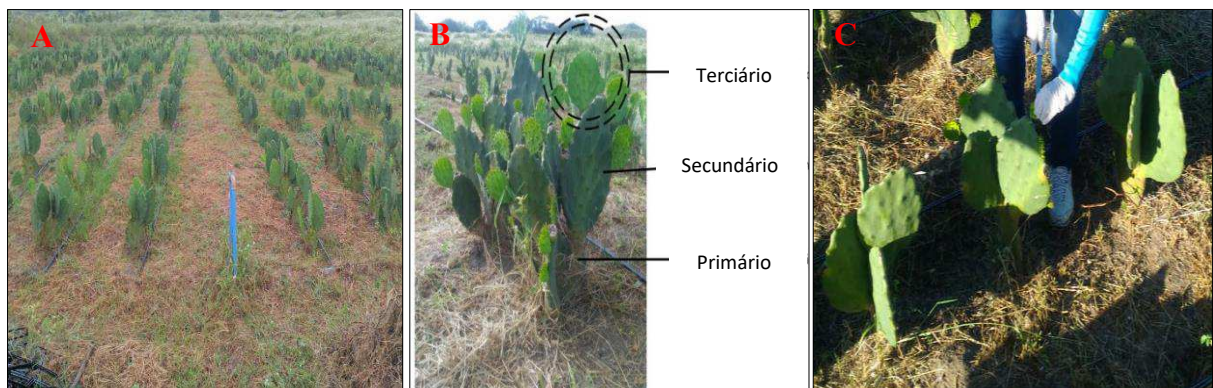
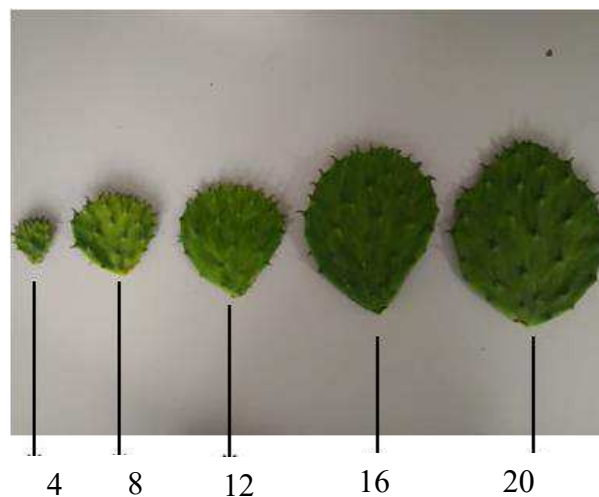


Figura 1. Área experimental (A), identificação dos cladódios terciários (B) e colheita dos cladódios de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’ - *Opuntia tuna* L.

As análises foram realizadas nos laboratórios de Química, Bioquímica e Análise de Alimentos do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Pombal, Pombal, PB. No laboratório, os cladódios de palma foram selecionados visualmente quanto à ausência de danos físicos, ataque de pragas e doenças. Para a padronização dos lotes o diâmetro longitudinal dos cladódios foi definido entre 0 e 20 cm, com um paquímetro digital (Digimess, modelo OUW269), conforme Farias (2013).

2.2 DELINEANDO EXPERIMENTAL

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com a espécie ‘Orelha de elefante Mexicana’- *Opuntia tuna* L. e tratamentos compostos por 5 estádios de desenvolvimento dos cladódios. O tamanho 4 foi de 0,0 – 4,0 cm; o 8 foi de 4,1 – 8,0 cm; o 12 foi de 8,1 – 12,0 cm; o 16 foi de 12,1 – 16,0 cm e o tamanho 20 foi de 16,1 – 20,0 cm, em crescimento transversal dos cladódios, com cinco repetições.



Fonte: Autora, 2019.

Figura 2. Sequência de tamanhos de cladódios de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’ - *Opuntia tuna* L.

2.3 ANÁLISES FÍSICAS, QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS

As avaliações físicas foram realizadas logo após a colheita, utilizando os cladódios terciários de palma. Em seguida, os cladódios foram limpos, cortados e processados em liquidificador, para a realização das análises químicas e bioquímicas. O extrato de cada amostra de palma foi obtido pesando 50 gramas de massa e processando com 50 mL de água destilada, em proporção de 1/1.



Figura 3: Fluxograma de obtenção de amostras para as análises físico-químicas da palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’ - *Opuntia tuna* (L.). Plantio (A), implantação do sistema de irrigação (B), sistema de irrigação (C), coleta dos cladódios (D), separação dos cladódios em laboratório (E), análises físicas (F), análise enzimática (G), obtenção do extrato para análise enzimática (H), análises físico químicas (I), (J) e (K), leitura das amostras em espectrofotômetro (L).

2.3.1 Massa fresca (g): A massa fresca foi determinada por pesagem dos cladódios jovens em balança semianalítica (Marte, modelo AY220) com precisão de 0,01 g. Para obtenção da massa fresca de cada tamanho e de cada repetição também foi obtida a partir de amostras compostas, utilizando mais de um cladódio e obtida a média no final.

2.3.2 Diâmetro do cladódio (cm): Os diâmetros longitudinal, transversal e espessura dos cladódios, foram estimados com paquímetro digital (Digimess, modelo OUW269). Foram

totalizadas 25 amostras, com cinco diferentes tamanhos de cladódio. De cada tamanho, foi feito cinco repetições, cada repetição era constituída de uma amostra composta com mais de um cladódio. Os tamanhos 4 e 8, foram utilizados 10 cladódios. Para os tamanhos 12, 16 e 20, foram utilizados 5 cladódios.

2.3.3 Potencial Hidrogeniônico (pH): O pH do extrato dos cladódios foi determinado com potenciômetro digital de bancada (Digimed, modelo DM-22).

2.3.4 Concentração de íons H^+ (μM): uma leitura direta da polpa em potenciômetro digital e calculada de acordo com a equação: $pH = \log [H^+]$.

2.3.5 Sólidos solúveis (%): O extrato foi filtrado em duas camadas de gaze para a obtenção do suco para determinação dos sólidos solúveis que foi medido em refratômetro digital (Hanna, modelo HI96801) com correção automática de temperatura, medido em porcentagem.

2.3.6 Acidez total titulável (%): Três gramas do extrato dos cladódios foram adicionados a 47 mL de água destilada e mais três gotas de fenolftaleína. A solução foi titulada com NaOH 0,1 M até o ponto de viragem do indicador fenolftaleína, confirmado pela faixa de pH 8,1. A acidez titulável foi expressa como porcentagem de ácido málico.

2.3.7 Razão sólidos solúveis e acidez titulável: Foi obtida por meio da divisão entre os valores de sólidos solúveis e acidez total titulável (IAL, 2008).

2.3.8 Açúcares solúveis totais ($g\ 100\ g^{-1}$): Os açúcares solúveis foram determinados pelo método da Antrona (YEMM; WILLIS, 1954). O extrato foi obtido pela diluição de 4 gramas de polpa em 50 mL de água destilada. As amostras foram preparadas em banho de gelo adicionando-se em um tubo 0,1 mL do extrato, 0,9 mL de água destilada e 2,0 mL da solução de antrona a 0,2%, seguida de agitação e repouso em banho termostático a 100 °C por 3 minutos. A leitura das amostras foi em espectrofotômetro (Spectrum, modelo 1105) a 620 nm, utilizando-se como referência a glicose para obtenção da curva padrão e os resultados expressos em $g\ 100\ g^{-1}$.

2.3.9 Açúcares redutores ($g\ 100\ g^{-1}$): O extrato foi obtido pela diluição de 4 gramas de polpa em 50 mL de água destilada. Foi adicionado em um tubo 0,5 mL do extrato e 0,5 mL de DNS.

Agitou-se e levou-se ao banho-maria a 100 °C por 15 minutos, logo após foi deixado esfriar e adicionado 4,0 mL de água destilada. As leituras foram determinadas em espectrofotômetro (Spectrum, modelo 1105) a 540 nm e os resultados expressos em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.3.10 Açúcares não redutores ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$): Foram obtidos subtraído os açúcares solúveis totais pelos os açúcares redutores e os resultados expressos em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.3.11 Ácido ascórbico ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$): Três gramas do extrato dos cladódios foram adicionados a 47 mL de ácido oxálico 0,5% e titulado através do método de Tillmans com solução de 2,6 diclorofenol indofenol, até atingir a coloração rosa conforme método (365/IV) descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e os resultados expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.3.12 Flavonóides e Antocianinas ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$): Foram determinados de acordo com a metodologia de Francis (1982). Foi pesado um grama de amostra e adicionado 10 mL de Etanol-HCL. Foi macerado e recolhido em um tubo, sendo mantido na geladeira por 24 horas. Após 24 horas, foi filtrado e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Spectrum, modelo 1105) a 374 nm para flavonoides e a 535 nm para as antocianinas e os resultados expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.3.13 Compostos fenólicos totais ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$): Foram estimados a partir do método de Folin & Ciocalteu descrito por Waterhouse (2006), por meio da mistura de 1000 μL do extrato de palma, constituído por 4 gramas de palma diluídas em 100 mL de água e 125 μL do reagente folin-ciocalteu, seguido de agitação e repouso por 5 minutos. Logo após o tempo de reação, foram adicionados 250 μL de carbonato de sódio, seguida de nova agitação e repouso em banho-maria a 40 °C, por 30 minutos. A curva padrão foi preparada com ácido gálico, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Spectrum, modelo 1105) a 765 nm e os resultados expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

2.4 ANÁLISE ENZIMÁTICA

2.4.1 Obtenção dos extratos: Com uma faca retirada da geladeira, os cladódios de palma foram picados em pedaços bem pequenos. Logo após, foi pesado 0,5 g da amostra, em balança digital e em seguida macerado com 3 ml da solução TrisHCl pH 7,8. Depois de

maceradas, as amostras foram filtradas em seringa com algodão. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 4 °C por 60 minutos, após a centrifugação o sobrenadante utilizado para medir a atividade da PAL, estimado a partir da reação de Tris-HCl 100 mM (pH 8,8) contendo L-fenilalanina 11 mM, durante 15 minutos, a 30 °C e efetuado a leitura em espectrofotômetro (Spectrum, modelo 1105).

2.4.2 *Fenilalanina amônia-liase, PAL (E.C. 4.3.1.5)*: A formação do ácido *trans*-cinâmico foi monitorado a 290 nm, os resultados estimados por meio de curva padrão do ácido cinâmico 5 mM. A atividade da enzima foi expressa em mmol PAL min⁻¹ g⁻¹ de broto de palma, como descrito por Ali; Hahn; Paek (2007) com adaptações.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A correlação dos dados e a correlação de Pearson foram feitas por meio do *software* AgroEstat[®] (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2015).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as variáveis massa fresca, comprimento longitudinal, comprimento transversal, espessura, pH, H⁺, sólidos solúveis, acidez titulável, ratio, açúcares totais, açúcares redutores, açúcares não redutores, vitamina C, flavonoides, antocianinas, compostos fenólicos e enzima houve diferença significativa entre os tamanhos da palma pelo teste F à 1% de probabilidade (Tabela 1).

Tabela 1 Resumo da análise estatística pelo teste F referentes as variáveis estudadas.

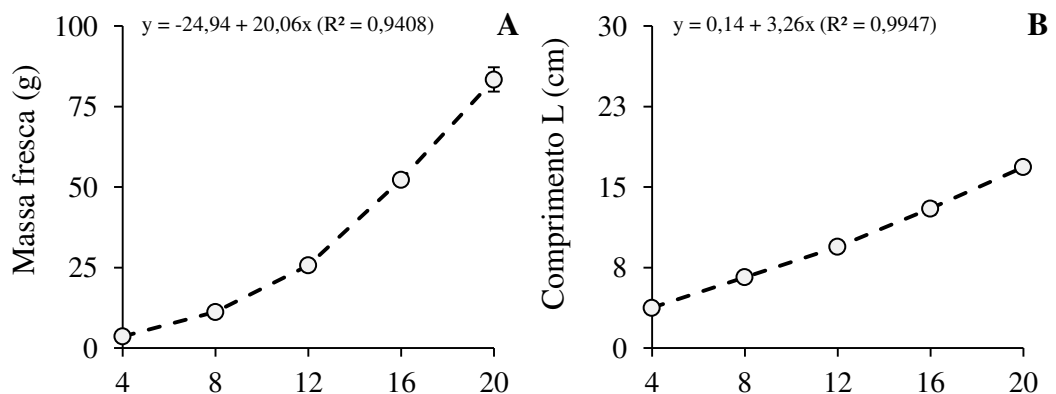
Variáveis	Valor de F	CV (%)
Massa fresca	80,51 ^{**}	23,12
Comprimento L	496,46 ^{**}	5,22
Comprimento T	232,87 ^{**}	7,24
Espessura	54,86 ^{**}	6,54
pH	197,63 ^{**}	1,14

H ⁺	96,62 ^{**}	12,82
Sólidos Solúveis	28,33 ^{**}	3,78
Acidez	563,88 ^{**}	5,55
Ratio	292,93 ^{**}	13,37
Açúcares totais	55,67 ^{**}	4,05
Açúcares redutores	47,44 ^{**}	7,16
Açúcares não Redutores	58,37 ^{**}	3,97
Vitamina C	14,19 ^{**}	7,64
Flavonóides:	20,56 ^{**}	4,70
Antocioaninas:	20,44 ^{**}	7,25
Compostos Fenólicos	28,85 ^{**}	4,97
Enzima	8,14 ^{**}	-

^{**} Significativo à 1% de probabilidade pelo teste F

^{Ns} Não significativo

Os cladódios apresentaram aumento da massa fresca e o tamanho 20 atingiu maior massa fresca (Figura 4A). Segundo Degli et al. (2009) o aumento da massa é devido a ação conjunta de processos da divisão celular, expansão celular e amadurecimento que acontece com o decorrer do tempo. Semelhante as dimensões, o acúmulo de massa fresca dos cladódios ajustou-se a um padrão de desenvolvimento, em resposta ao aumento dos tamanhos dos mesmos.



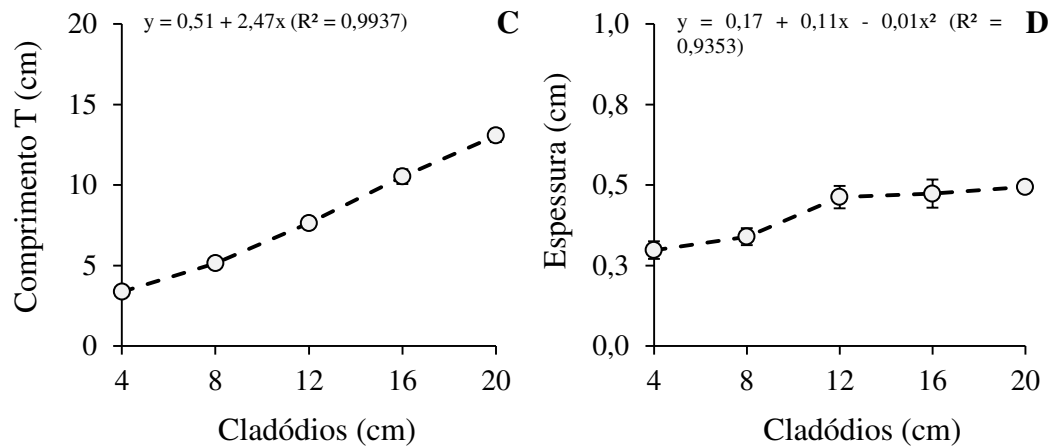


Figura 4: Massa fresca (A), comprimento longitudinal (B) e comprimento transversal (C) de cladódios jovens de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’- *Opuntia tuna* L.

O tamanho 20 diferiu estatisticamente dos demais em relação ao comprimento longitudinal e transversal (Figura 4B e 4C). Segundo Giehl et al. (2008) os cladódios apresentam uma evolução no diâmetro longitudinal e transversal devido ao estágio no qual há elevada divisão celular, seguida a fase no qual predomina a expansão celular até o amadurecimento, sendo marcado pelo acúmulo de açúcares e outros compostos.

Para a espessura os tamanhos 12, 16 e 20 não diferiram estatisticamente entre si e diferiu estatisticamente dos demais, sendo o maior valor os tamanhos 12, 16 e 20 (Figura 4D). A espessura ajustou-se ao padrão de desenvolvimento, em resposta à aumento dos cladódios, havendo acréscimo na espessura durante o seu desenvolvimento. A partir do tamanho de 12 a espessura do cladódio começou a estabilizar. Segundo Donato et al. (2014), espécies que tem maior capacidade fenotípica, apresentam maior capacidade de adaptações as condições do habitat. O conhecimento das variáveis morfométricas, como a altura da planta, alogamento e espessura dos cladódios, é importante para se avaliar o potencial de adaptação de uma espécie ou variedade ao ambiente que é cultivada. Nascimento et al. (2011) constataram espessura média de 0,5 cm em palma da espécie Gigante, semelhante a média observada no presente trabalho.

Para o pH, o tamanho 4 diferiu estatisticamente dos demais (Figura 5A). O pH, potencial hidrogênio, representa o inverso da concentração de íons de hidrogênio. O pH também aumenta com a redução da acidez e vice-versa (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Houve acréscimo da acidez titulável com o aumento dos tamanhos dos cladódios, consequentemente houve uma redução no pH. No trabalho de Pereira et al. (2013), ocorreu acréscimo da acidez titulável nos cladódios de palma com o passar dos dias. Lins et al. (2011)

encontraram valores similares ao deste trabalho, sendo a acidez titulável nos cladódios de variam em torno de 1,5 e 0,8 %. A característica apresentada nos valores encontrados podem ser influenciado pelo metabolismo CAM (Metabolismo Ácidos das Crassuláceas), em virtude da produção de ácido málico.

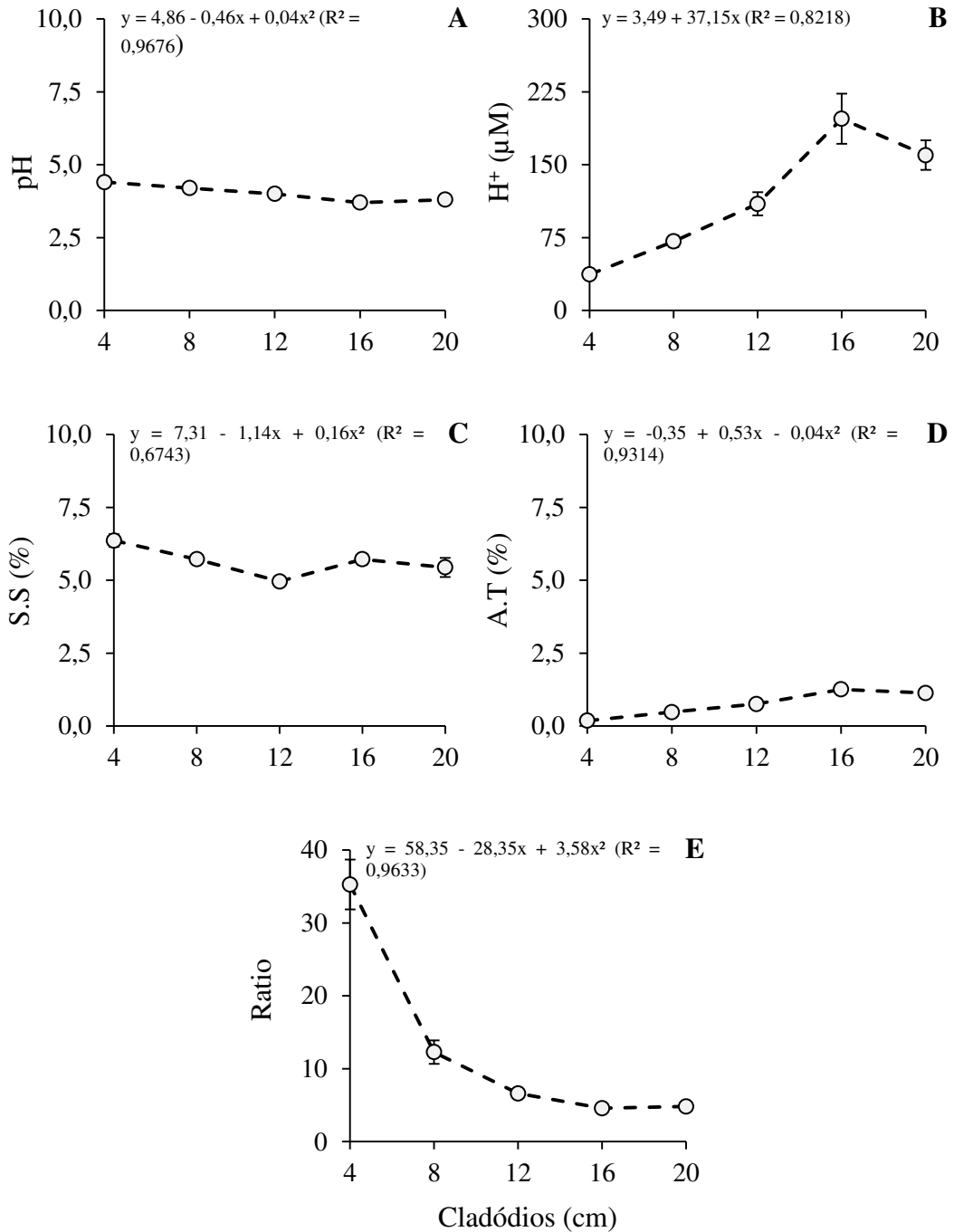


Figura 5: Potencial hidrogeniônico pH (A) e concentração de ions H^+ (B), sólidos solúveis (C), acidez titulável (D) e ratio (E) de cladódios jovens de palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’ - *Opuntia tuna* L.

Para o H^+ o tamanho 16 diferiu estatisticamente dos demais tamanhos, sendo o maior valor (Figura 5B).

Para os sólidos solúveis houve diferença significativa entre os tamanhos da palma pelo teste F à 1% de probabilidade (Figura 5C), sendo que o tamanho 4 diferiu estatisticamente dos demais. Pereira et al. (2012) observaram valores de sólidos solúveis em cladódios de palma, variando entre 3,27 a 3,68%. Os sólidos solúveis é a quantidade de sólidos que se encontram dissolvidos na polpa, sendo variável com a espécie, a cultivar, o estágio de maturação e o clima (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O decréscimo do teor de sólidos solúveis pode ser explicado, segundo Antunes et al. (2003), pelo aumento de respiração na polpa quando elas estão em temperatura ambiente, ao que leva, conseqüentemente, ao aumento do consumo de reservas, ocasionando assim o decréscimo do teor de sólidos solúveis com o aumento dos tamanhos dos cladódios.

No que se refere a acidez titulável o tamanho 16 diferiu estatisticamente (Figura 5D) . O aumento da acidez pode ser explicado, devido aos ácidos orgânicos, principalmente ao acúmulo de ácido málico proveniente da fotossíntese.

Com relação aos valores do ratio o tamanho 4 apresentou diferença significativa (Figura 5E). Foi observado que houve decréscimo nos valores do SS/AT. Essa relação é uma das formas mais utilizadas para avaliação do sabor, essa relação dá uma ideia do equilíbrio entre esses dois compostos, quanto maior os valores dessa relação, mais suave será o sabor (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Quanto aos açúcares solúveis os tamanhos 16 e 20 não diferiram entre si (Figura 6A). Segundo Walter et al. (2015), esse comportamento ocorreu devido o amido acumulado, sintetizado na atividade fotossintética e que é hidrolisado em moléculas menores de açúcar. Frota (2015) afirma que a composição químico-bromatológico da palma forrageira é bastante variável, de acordo com a espécie e variedade envolvida, como: idade, estação do ano e condições agrônômicas, tipo de solo, clima, condições de crescimento e disponibilidade de nutrientes. No estudo realizado por Ribeiro et al. (2010) foi observado que, o teor de açúcar total encontrada nos cladódios velhos foi maior quando comparado a este trabalho.

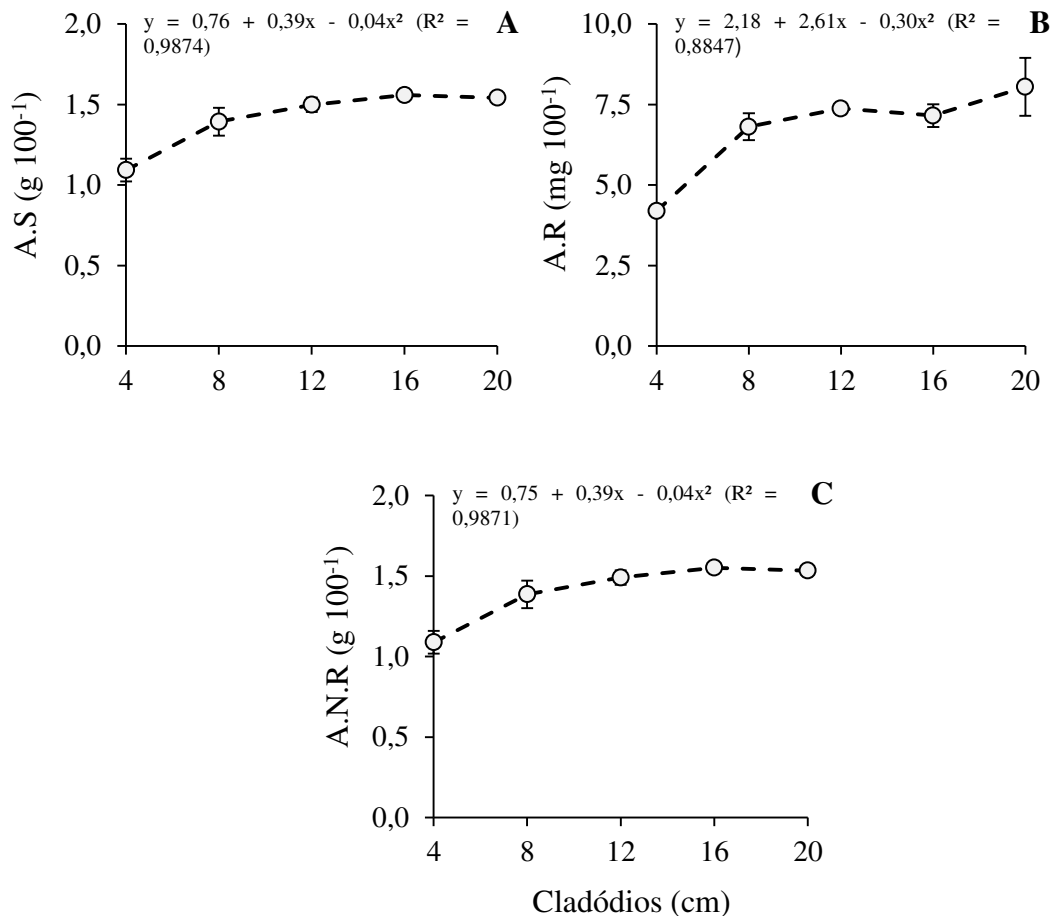


Figura 6: Açúcares totais (A), açúcares redutores (B) e açúcares não redutores (C) de cladódios jovens de palma ‘Orelha de elefante Mexicana’- *Opuntia tuna* L.

Com relação os açúcares redutores os tamanhos 12, 16 e 20 não diferiram entre si (Figura 6B). Houve acréscimo dos açúcares redutores com o aumento dos tamanhos dos cladódios. Esse comportamento ocorreu devido as conversões sofridas nos tecidos vegetais, que gerou a concentração desses compostos progressivamente nas células (AZZOLINE et al., 2004)

Para os açúcares não redutores os tamanhos 16 e 20 apresentou diferença significativa entre si, apresentando os maiores valores (Figura 6C). Houve acréscimo nos teores de açúcares não redutores.

De acordo com os valores obtidos para vitamina C, os tamanhos 4, 16 e 20 não diferiram, apresentando os maiores valores (Figura 7A). Os teores de vitamina C aumentaram do 12 para o 16 e o 20, esse comportamento já era esperado tendo em vista que a vitamina C tendem a aumentar, sendo uma característica importante porque a vitamina C é utilizada como índice de qualidade dos alimentos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

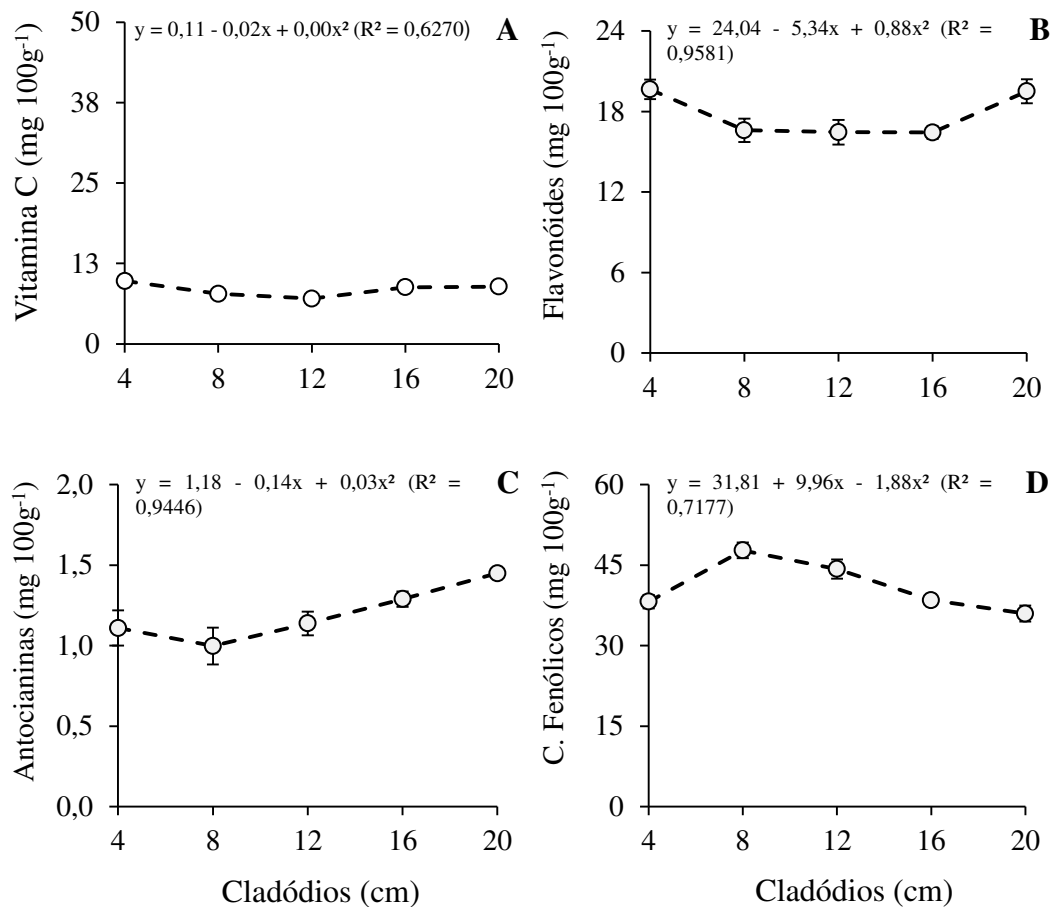


Figura 7: Vitamina C (A), flavonoides (B), antocianinas (C) e compostos fenólicos (D) de cladódios jovens de palma ‘Orelha de elefante Mexicana’- *Opuntia tuna* L.

Para os flavonoides os tamanhos 4 e 20 não apresetou diferença siguinificativa (Figura 7B). Os teores de flavonoides diminuíram com o aumento dos cladódios e no último tamanho obteve um acréscimo nesses teores. Segundo Volp et al. (2009), os pigmentos naturais estão relacionados com importantes atividades biológicas. Seus efeitos benéficos em relação à saúde estão relacionados com suas propriedades antioxidantes, proteção contra danos oxidativos a componentes celulares, efeitos antiinflamatórios e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis.

Na quantificação das antocianinas, os tamanhos 16 e 20 não diferiram entre si, (Figura 7C). Houve aumento nos teores de antocianinas com crescimento dos cladódios. As antocioninas são moléculas pertencentes a subclasse dos flavonoides, a dos polifenóis. Elas são responsáveis pelas cores atrativas vermelhas, roxas e azuis de muitas flores, frutos e folhas (SCHIOZER; BARATA, 2013). Segundo Vieira (2019), a degradação das antocininas ocorre devido ao aumento da temperatura, atividade enzimática entre outros fatores.

Nos valores obtidos de compostos fenólicos, foi observado que os tamanhos 8 e 12

foram diferentes entre si (Figura 7D). Nos valores de compostos fenólicos houve aumento do tamanho 4 até 12. Os compostos fenólicos são responsáveis pelo sabor, odor, coloração dos vegetais. Além disso, são importantes para proteger as plantas contra os raios UV, insetos, fungos, vírus e bactérias. Também é responsável pela produção de lignina, a qual proporciona o desenvolvimento do sistema vascular. Os compostos fenólicos são sintetizados a partir de duas rotas metabólicas principais: a via do ácido chiquímico e via do ácido mevalônico. Da Silva et al. (2017), obteve valores menores de compostos fenólicos em cladódios jovens de palma e resultados maiores em cladódios velhos, o autor afirma que, quanto maior o estágio de desenvolvimento, maior será a concentração de fenólicos.

Para a enzima, houve diferença significativa entre os tamanhos da palma pelo teste F à 1% de probabilidade, sendo o maior valor no tamanho 12 (Figura 8). De maneira geral, a atividade enzimática teve crescimento do tamanho 4 ao 12, onde houve um pico na atividade enzimática e depois houve decréscimo nos tamanhos 16 e 20. A fenilalanina amônia-liase é uma enzima que aumenta sua atividade em resposta a estresses abióticos e bióticos, sendo é considerada importante na proteção contra os mesmos.

A indução de atividade da PAL em resposta a condições estressantes tem sido considerada como mecanismos defensivos das plantas contra o estresse. A partir disso, a atividade enzimática da ‘Orelha de Elefante Mexicana’ foi maior devido às condições que a espécie se encontrava-se, com crescimento acelerado. A espécie foi menos irrigada e o efeito da poda pode ter causado estresse na planta, sem tempo suficiente para sua cicatrização. O crescimento acelerado da ‘Orelha de Elefante Mexicana’, pode ser explicado, porque a espécie é muito eficiente no uso da água consequentemente menos resistente em umidade.

Lira et al. (2015) em estudo em Serra Talhada, PE, avaliaram o desempenho de crescimento das variedades Orelha de Elefante, Miúda e IPA Sertânia, e observaram um crescimento rápido na variedade ‘Orelha de Elefante Mexicana’ por ser mais eficiente no uso da água que as demais espécies, se sobressaindo assim em crescimento, de acordo com as variáveis meteorológicas do local. A alta atividade enzimática pode estar relacionada com a idade dos cladódios.

Os cladódios da palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’ foram coletados 15 dias após a poda, ou seja, os cladódios encontravam-se muito jovens e isso pode ter ocasionado uma atividade metabólica acelerada, fazendo com que a atividade enzimática fosse maior. Grisi et al. (2008), afirmaram que quando a expansão foliar está em pleno progresso, a atividade metabólica é intensificada nesse período, essa característica é uma maneira que a planta jovem encontrou para assumir com rapidez a posição ereta.

Por ser uma espécie mais resistente ao estresse, também pode ter ocasionado uma maior atividade anezimática, segundo Chaman et al. (2003), submeteram plantas de cevada á infestação de pulgões, e observaram que a cultivar mais tolerante a este patógeno apresentou maior aumento na atividade da enzima PAL quando comparada a cultivar mais suscetível.

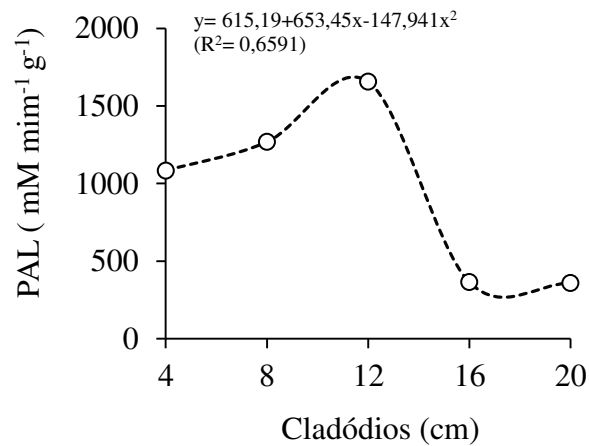


Figura 8: Atividade enzimática da Fenilalanina amônia-liase PAL em cladódios jovens de palma ‘Orelha de elefante Mexicana’ - *Opuntia tuna* L.

Não houve correlação significativa entres os teores de antocianinas e flavonoides. Entretanto, houve correlação positiva entre as variáveis enzima e compotos fenólicos (Tabela 2).

Segundo Dias et al. (2015), o grupo de compostos fenólicos é importante para proteger as plantas contra os raios UV, insetos, fungos, vírus e bactérias. Há inclusive certas espécies vegetais que desenvolveram compostos fenólicos para inibir o crescimento de outras plantas competidoras.

Além de sua importância na proteção das plantas contra fatores ambientais e bióticos adversos, acredita-se que os compostos fenólicos tenham sido fundamentais para a própria conquista do ambiente terrestre pelas plantas. Esse é o caso da lignina, a qual proporcional o desenvolvimento do sistema vascular, dando rigidez aos vasos.

Esses compostos são sintetizados a partir da rota metabólica da via do ácido chiquímico. Contudo, a principal enzima da via do ácido chiquímico é a fenilalanina amônio liase (PAL), o que explica a correlação positiva entre a enzima e os compostos fenólicos (Tabela 2). A PAL retira uma amônia da fenilalanina formando o ácido cinâmico, tendo em vista que é regulada por fatores ambientais como o nível nutricional, a luz (pelo efeito do fitocromo) e infecção por fungos.

Tabela 2: Correlação de Pearson entre as características estudadas da palma ‘Orelha de Elefante Mexicana’ – *Opuntia tuna* L..

	Flavonóides	Antocianinas	C. Fenólicos
Antocianinas	0,36631NS		
Compostos fenólicos	-0,5364**	-0,5691**	
Enzimas	-0,0875NS	-0,42510*	0,56135**

4 CONCLUSÕES

A alta atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) na espécie ‘Orelha de Elefante Mexicana’ se deu devido as condições ambientais que ela se encontrava, como o pouco tempo de cicatrização da poda e poucos dias de irrigação, portanto a espécie estava sob condições mais adversas, o que explica a alta atividade enzimática em resposta ao estresse sofrido.

A atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) pode esta relacionada com a colhida, tendo em vista que os cladódios foram colhidos 15 dias após a poda, encontrava-se jovem sendo o metabolismo da mesma mais acelerado, ocasionando alta atividade enzimática.

Os cladódios de palma nos tamanhos estudados, houve aumento na maiorias quanto as características físicas, físico-químicas e bioquímicas, possuindo potencialidade de aplicação, podendo ser utilizada na alimentação humana.

Houve correlação positiva entre as variáveis enzima e compostos fenólicos, devido a fenilalanina amônia-liase (PAL) ser a enzima precursora para a formação do grupo fenólicos, indicando a quantidade de metabólitos secundários, que são essenciais para a estrutura celular e manutenção do organismo da planta.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, M. B.; HAHN, E.; PAEK, K. Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in Panax ginseng bioreactor root suspension cultures. **Molecules**, v.12, p.607-621, 2007.
- ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J.; DE SOUZA, C. M. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 413-419, 2003.
- AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P; BRON, I. U. Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 2, p. 139-145, 2004.
- BARBOSA, J. C; MALDONADO JUNIOR, W. 2015. AgroEstat – sistema para análises estatística de ensaios agronômicos. Jaboticabal: FCAV/UNESP. 396p.
- CAVALCANTI, M. C. A.; BATISTA, A. M. V.; GUIM, A.; LIRA, M.A.; RIBEIRO, V.L. e RIBEIRO NETO, A.C. 2008. Consumo e comportamento ingestivo de caprinos e ovinos alimentados com palma gigante (*Opuntia ficus-indica Mill*) e palma orelha-deelefante (*Opuntia sp.*). *Acta Scientiarum Animal Sciences*. 30(2): 173-179.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. Ed. rev. Lavras, UFLA, 2005.
- DA FROTA, M. N. L. et al. Palma Forrageira na Alimentação Animal. **Embrapa Meio-Norte-Documentos (INFOTECA-E)**, 2015.
- DA SILVA, M. S. et al. Pós-colheita de frutos de palma (*Opuntia ficus-indica*) em dois estádios de maturação. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 12, n. 5, p. 907-911, 2017.
- DE MOURA ,G. A. M. N.; et al. Aspectos bioquímicos da resistência do algodoeiro à ramulose potencializada pelo silício. **Bragantia**, v. 72, n. 3, p. 292-303, 2013.
- DE QUEIROZ, M. G. et al. Características morfofisiológicas e produtividade da palma forrageira em diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 19, n. 10, 2015.
- DEGLI ESPOSTI, M. D; DE SIQUEIRA, D. L; ROBERTO CECON, P. Crescimento de frutos da tangerineira'Poncã'(*Citrus reticulata Blanco*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 657-661, 2009.
- DIAS, T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em frutos de tomateiros mutantes fotomorfogenéticos. **Ciência Rural**, p. 782-787, 2015.
- DONATO, P. E. R. et al. Morfometria e rendimento da palma forrageira 'Gigante'sob diferentes espaçamentos e doses de adubação orgânica. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 1, p. 151-158, 2014.

FARIAS, V. F. S.; **Avaliação do desenvolvimento, qualidade e capacidade antioxidante em brotos de palma (*Opuntia* sp.) para o consumo humano**. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2013.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.). **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 181-207.

GIEHL, R. F. H. et al. Crescimento e mudanças físico-químicas durante a maturação de frutos de meloeiro (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* Naud.) híbrido torreon. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 371-377, 2008.

GRISI, P. U. et al. **Desenvolvimento inicial de hymenaea courbaril l.(leguminosae-caesalpinioideae)**. II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais. Brasília, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 4ed. São Paulo: IAL, 2008. 1020 p.

JÚNIOR, J. G. B. G. et al. Palma forrageira na alimentação de ruminantes: cultivo e utilização. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 2, p. 78-85, 2014.

LINS, H. A.; FREIRE, F. H. P.; PEREIRA, E. M.; ALBUQUERQUE, J. R. T.; NETO, I. P. A. N.; SILVA, F. B.; MEDEIROS, J. E., **Qualidade pós-colheita em brotos de palma forrageira produzida a partir de diferentes fontes de esterco e concentrações de nutrientes em solução nutritiva**, 2º Congresso Brasileiro de Palma e outras Cactáceas, Anais... 008, 2011.

LIRA, M. A. et al. **Palma Forrageira: Cultivo e Usos**. Cadernos do Seemiárido: Riqueza e Oportunidade. 2015.

NASCIMENTO, J. P.; SOUTO, J. S.; SANTOS, E. S.; DAMASCENO, M. M.; RAMOS, J. P. F.; SALES, A. T.; VIEIRA LEITE, M. L. M. Caracterização morfológica de *Opuntia ficus-indica* sob diferentes arranjos populacionais e fertilização fosfatada. **Tecnologia & Ciências Agropecuária**, v.5, n.3, p.21-26, 2011. 30 Jun. 2013.

PEREIRA, E. M. et al. Fontes de esterco e concentrações de nutrientes na solução nutritiva na produção e qualidade de brotos de palma forrageira. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 4, p. 226-231, 2012.

PEREIRA, E. M. et al. Qualidade pós-colheita e processamento mínimo de brotos de palma *Opuntia ficus-indica* Mill. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 3, p. 229-234, 2013.

RAO, K. V. M.; RAGHAVENDRA, A. S.; REDDY, K. J. (Ed.). **Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants**. Dordrecht: Springer, 2006. 351 p.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 728 p.

RIBEIRO, E. M.; de O.; SILVA, N. H. da.; LIMA FILHO, J. L. de.; BRITO, J. Z. de.; SILVA, M. da P. C. da. Study of carbohydrates present in the cladodes of *Opuntia ficus-indica* (fodder palm), according to age and season. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 933-939, Oct./Dec. 2010.

SCHIOZER, A. L. et al. Estabilidade de corantes e pigmentos de origem vegetal. *Revista Fitos*. 2013.

SOUZA, F. M.; LIMA, E. C. S.; SÁ, F. V. S.; SOUTO, L. S.; ARAÚJO, J. ES.; PAIVA, E. P. Doses de esterco de galinha e água disponível sob o desenvolvimento inicial de milho. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 5, p. 64-69, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre. Artimed. 6° Ed, 2017, p.719.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase in tomato seedlings and its relationships to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, v.34, p.68-71, 2006.

VASCONCELOS, A. G. V. de et al. Seleção de clones de palma forrageira resistentes à cochonilha-do-carmim (*Dactylopius sp*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 5, p. 827-831, 2009.

VIEIRA, E. L. **Apontamentos e práticas de fisiologia pós-colheita de frutos e hortaliças. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas**. UFRB. Bahia, 2019.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 1, p. 157-166, 2009.

WALTER, L. C.; ROSA, H. T.; STRECK, N. A. Mecanismos de aclimação das plantas à elevada concentração de CO₂. **Ciência Rural**, v. 45, n. 9, p. 1564-1571, 2015.

WATERHOUSE, A. Folin-ciocalteau micro method for total phenol in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, p. 3-5, 2011.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, p.508-515, 1954.