**Caracterización e inhibición química de la enzima Polifenoloxidasa extraída de paltas variedad Hass**

Biondi Benuzzi N. (1), Melo G. (1), Sancho MI. (1), Gasull E. (1)

(1) Área de Química Física, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. Av. Ejército de los Andes 950, San Luis, Argentina.

Dirección de e-mail: esgasu@nsl.edu.ar

La Polifenoloxidasa (PFO) es una enzima endógena presente en los alimentos que cataliza las reacciones de pardeamiento enzimático, las cuales modifican las propiedades sensoriales y nutricionales de los mismos. La importancia de realizar un estudio fisicoquímico de esta enzima en alimentos de origen vegetal, radica en la necesidad de encontrar métodos que inhiban la acción de la enzima, prolongando la vida útil del alimento. La actividad de PFO puede ser inhibida por procesos físicos, o bien empleando inhibidores químicos. En el presente trabajo se realizó una caracterización fisicoquímica de la PFO extraída de paltas variedad Hass (*Persea Americana*), y se obtuvieron sus condiciones óptimas de funcionamiento como así también su estabilidad térmica. La actividad de la enzima extraída fue determinada por espectrofotometría UV-Vis midiendo absorbancia cada 5 s, durante aproximadamente 3 min a la longitud de onda máxima del producto de la reacción (420 nm) en medio buffer fosfato a pH óptimo. La unidad de actividad de la enzima (UE) se definió como el aumento de 0,001 unidades de absorbancia por minuto y por mL de extracto de enzima. Los ensayos fueron realizados por duplicado y se empleó ANOVA para su análisis estadístico. Los resultados obtenidos indican que esta PFO presenta una actividad óptima a pH 5 y a 35ºC. Aplicando el tratamiento de Lineweaver-Burk se determinaron los parámetros cinéticos de la enzima empleando catecol como sustrato: Vmáx = 7,16 UE y KM = 17,20 mM. La inhibición de la PFO extraída de palta se analizó empleando diferentes compuestos de conocida acción inhibitoria, tales como ácido ascórbico (AA), isoascorbato de sodio (IA), ácido cítrico (AC) y ácido gentísico (AG), en un intervalo de concentraciones de 23 uM a 36 mM. De los estudios cinéticos se observa el siguiente orden en la capacidad inhibitoria: ác. Cítrico < ác. Gentísico < ác. Ascórbico < isoascorbato de sodio. El AC produce una reducción en la actividad enzimática del 64% a una concentración de 15,7 mM, mientras que el AG reduce la actividad de la enzima en un 58% a una concentración de inhibidor del 1,1 mM. Por su parte el AA y el IA reducen la actividad en un 7,7% y un 13% en concentraciones de 23,1 uM y 27,6 uM, respectivamente. Esto indica que para producir una disminución de la actividad enzimática comparable a aquella producida con AC o AG se requiere una menor concentración de IA o AA. Finalmente, se determinaron los mecanismos de inhibición de estos agentes químicos sobre la actividad de la PFO, obteniéndose que AG es un inhibidor competitivo, en tanto que AA e IA presentan inhibición del tipo acompetitiva, mientras que AC muestra un mecanismo de inhibición tipo mixto.

Palabras Clave: Persea Americana, Pardeamiento Enzimático, Capacidad Inhibitoria