

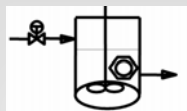
ANÁLISE BIOQUÍMICA DE ALIMENTOS

Diana Vieira; Rita Carvalho

Escola Secundária Forte da Casa; Escola Secundária do Restelo



ISEL



CEEQ

Centro de Estudos de Engenharia Química



UNIÃO EUROPEIA
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional

POCTI

Programa Operacional
Ciência Tecnologia Inovação
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E DO ORDENAMENTO DO TERRITÓRIO



Objectivo

Estudo da eficácia de um método de branqueamento de cogumelos por doseamento da actividade da tirosinase.



Introdução

Os cogumelos contêm enzimas activas, que fomentam a sua degradação, quer em termos da sua qualidade quer em termos do seu valor nutricional. Este processo ocorre também quando os produtos estão congelados. Para evitar o seu apodrecimento, estes alimentos são muitas vezes branqueados antes de serem congelados ou enlatados, de modo a inactivar as enzimas. A tirosinase, catecol oxidase ou polifenoloxidase (EC1.10.3.1) pertence ao grupo das oxidoreduções, catalisa a oxidação tanto de monofenóis como difenóis, e evidencia-se pela sua actividade em substratos característicos. Esta é uma das enzimas responsáveis pelo processo de escurecimento enzimático nos cogumelos, quando cortados e expostos ao ar, uma vez que a acção desta enzima reagindo com os compostos fenólicos naturais e o oxigénio atmosférico são oxidados a o-quinona. Assim, a prevenção da ruptura dos tecidos ou a inactivação das enzimas por calor, pode reduzir o escurecimento enzimático dos mesmos.

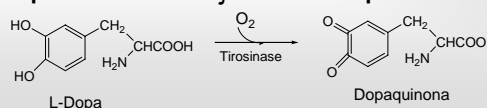
Métodos

Branqueamento: Ferver as amostras (não trituradas) em água durante 5 min.

Extracção da tirosinase: Trituração e homogeneização de cogumelos, em tampão *p*-nitrofenol 16mM pH=7.0. Centrifugação do homogeneizado a 10000 rpm durante 20 min.

Doseamento de proteína: Método de ligação do corante Azul de Coomassie G-250, utilizando albumina do soro bovino como proteína padrão.

Doseamento enzimático: Doseamento da actividade enzimática, através da medição da taxa de formação do dopaquinona a partir da oxidação de L-dopa. A reacção foi seguida espectrofotometricamente a 490nm.



Agradecimentos

À Ciência Viva (Agência Nacional pela Cultura Científica e Tecnológica), ao Centro de Estudos de Engenharia Química - Instituto Superior de Engenharia de Lisboa (CEEQ-ISEL) e, em especial, ao Prof. Doutor Amin Karmali, à Eng^{ma} Magda Semedo e à técnica Sandra Silva por se terem disponibilizado para nos proporcionar este estágio, familiarizando-nos com o ambiente no laboratório e pela simpatia com que o fizeram.

Resultados

Tabela 1 – Detecção da Actividade da Tirosinase nas amostras em estudo.

Actividade Enzimática	<i>Pleurotus ostreatus</i>		
	c/branqueamento	s/branqueamento	
		Frescos	Degradados
Tirosinase (U/g de amostra)	—	70	20,8

Gráfico 1 – Determinação da actividade específica da tirosinase extraída de *Pleurotus ostreatus* degradados, que não sofreu branqueamento.

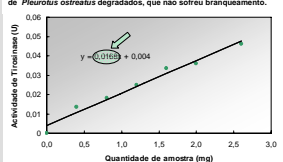
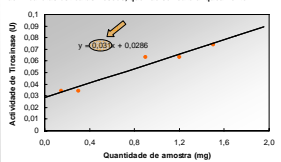


Gráfico 2 – Determinação da actividade específica da tirosinase extraída de *Pleurotus ostreatus* frescos, que não sofreu branqueamento.



Conclusões

Através da Tabela 1, pode-se verificar que o método de branqueamento foi eficaz, uma vez que este tratamento provocou a inactivação da actividade da tirosinase.

Para a tirosinase extraída dos *Pleurotus ostreatus* sem branqueamento, foi determinada a actividade específica, obtendo-se um valor de 0,0168 U/mg de proteína para os cogumelos degradados (Gráfico 1), enquanto que para os cogumelos frescos o valor obtido de 0,031 U/mg de proteína (Gráfico 2).

Referências

- Seo, S.-Y., Sharma, V. K., Sharma, N. (2003) Mushroom Tyrosinase: Recent Prospects. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 2837-2853.
- Zamora-Martín, M.-E., Rojas-Melgarejo, F., García-Cánovas, F., García-Ruiz, P. A. (2006) Direct immobilization of tyrosinase enzyme from natural mushrooms (*Agaricus bisporus*) on D-sorbitol cinnamic ester. *J. of Biotechnology*, **126**, 295-303.
- Halaoui, S., Asther, M., Sigoillot, J.-C., Hamdi M. and Lomascolo A. (2006) Fungal tyrosinases: new prospects in molecular characteristics, bioengineering and biotechnological applications. *J. Appl. Microbiol.*, **100**, 219-232.
- Espin, J. C., García-Ruiz, P. A., Tudela, J., García-Cánovas, F. (1998) Study of stereospecificity in mushroom tyrosinase. *Biochem. J.*, **331**, 547-551.