



**ISEL**

# ANÁLISE BIOQUÍMICA DE ALIMENTOS

Bruno Raquel; Célia Gonçalves

Escola Secundária Eça de Queirós



## OBJECTIVO

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

## INTRODUÇÃO

Os vegetais e os cogumelos contêm enzimas activas, que provocam a sua degradação após a colheita, quer em termos da sua qualidade quer em termos do seu valor nutritivo. Este processo ocorre inclusivamente quando os produtos estão na forma congelada. Para evitar a sua deterioração, estes alimentos são muitas vezes branqueados antes de serem congelados ou enlatados, de modo a inactivar as enzimas.

A peroxidase (EC 1.11.1.7) tem sido considerada uma das principais enzimas responsáveis pela deterioração da qualidade em muitos frutos congelados. As peroxidases são oxidoreductases e são membros do grupo de enzimas que catalisam reacções de oxidação-redução. Esta enzima pode participar num grande número de reacções oxidativas e de biodegradação, tais como mudança de cor, degradação da clorofila, oxidação de fenóis, oxidação do ácido indol acético, e muitos destes factores também podem ser associados com sabor, cor, textura e qualidade nutricional dos alimentos. Uma vez que a peroxidase é uma das enzimas mais termoestáveis em plantas, é considerada um indicador da eficácia do branqueamento na medida em que os tratamentos térmicos necessários para inactivar a peroxidase também inactivam a maior parte das outras enzimas.

A tirosinase, catecol oxidase ou polifenoloxidase (EC 1.14.18.1) pertence também ao grupo das oxidoreductases, catalisa a oxidação tanto de monofenóis como difenóis, e distingue-se pela sua actividade em substratos específicos. 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 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 2 minutos.

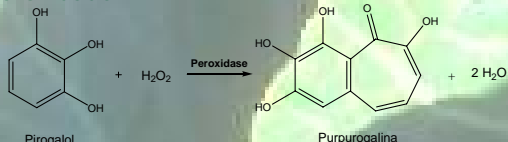
### Extracção das Enzimas

**Peroxidase:** Trituração e homogeneização de couves, em tampão fosfatos de sódio 50mM pH=7.0. Centrifugação do homogeneizado a 1000 x g durante 2 min.

**Tirosinase:** Trituração e homogeneização de cogumelos, em tampão fosfatos de potássio 25mM com ascorbato 1mM pH=6.0. Centrifugação do homogeneizado a 1000 x g durante 2 min.

### Doseamento Enzimático

#### Peroxidase:



Doseamento da actividade enzimática da peroxidase, através da medição da taxa de formação de produto (purpurogalina) a partir da oxidação de pirogalol, por um método espectrofotométrico a um comprimento de onda fixo (420nm).

**Tirosinase:** Doseamento da actividade enzimática, através da medição da taxa de formação o-benzoquinona a partir da oxidação de catecol (1,2-dihidroxibenzeno), na presença de ácido L-ascórbico. A reacção foi seguida espectrofotometricamente a 265nm.



### Doseamento de Proteína

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

## RESULTADOS

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

| Actividade Enzimática              | COUVES          |                 | COGUMELOS       |                 |
|------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                    | c/branqueamento | s/branqueamento | c/branqueamento | s/branqueamento |
| <b>Peroxidase (U/g de amostra)</b> | 0.18            | 7.54            | —               | 1.2             |
| <b>Tirosinase (U/g de amostra)</b> | —               | —               | —               | 272             |

## CONCLUSÕES

Através da Tabela 1, pode-se verificar que o método de branqueamento foi eficaz quer nas couves quer nos cogumelos, uma vez que este tratamento provocou uma redução drástica na actividade das duas enzimas estudadas nos alimentos. Efectivamente as couves que sofreram este tratamento apresentam uma actividade da peroxidase residual devido à sua elevada termoestabilidade.

Para a peroxidase extraída das couves sem branqueamento, foi determinada a actividade específica, obtendo-se um valor de 0.549 UI/mg de proteína.

## REFERÊNCIAS

- Gasowska, B., Kafarski, P. and Wojtasek, Hubert, *Interaction of mushroom tyrosinase with aromatic amines, o-diamines and o-aminophenols*. Biochimica et Biophysica Acta 1673: 170-177, 2004;
- Halaoui, S., Asther, M., Sigollot, J.-C., Hamdi M. and Lomascolo A., *Fungal tyrosinases: new prospects in molecular characteristics, bioengineering and biotechnological applications*. J. Appl. Microbiol. 100: 219-232, 2006;
- Ninfali, P. and Bacchiocca, M., *Parameters for the detection of post-harvest quality in fresh or transformed horticultural crops*, Food, Agriculture & Environment. Vol.2(1): 122-127, 2004;
- [http://www.sigmaaldrich.com/Area\\_of\\_Interest/Europe\\_Home/Portugal.html](http://www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Europe_Home/Portugal.html) (20 Julho 2006).

## Agradecimentos

A 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 e à Eng<sup>a</sup> Magda Semedo por se terem disponibilizado para nos proporcionar este estágio, familiarizando-nos com o ambiente no laboratório e pela simpatia com que o fizeram, e à simpática Prof<sup>a</sup>. Eng<sup>a</sup> Sónia Martins pela ajuda que nos deu durante o estágio.

Gráfico 1 – Determinação da actividade específica da peroxidase detectada em couve que não sofreu branqueamento.

