



ISOLAMENTO DE UM INIBIDOR DE TRIPSINA DE SEMENTES DE *Hymenaea courbaril* Lee & Langenh POR CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA

MONICA SILVA DE BRITO(1) - YURI FONTENELE SOUZA(2) - KARIANE RODRIGUES DE SOUSA(3) - HÉVILA OLIVEIRA SALLES(4) - LÚCIA BETÂNIA DA SILVA ANDRADE(5) -

1. Graduanda do Curso de Biologia/UVA, Bolsista IC/FUNCAP - 2. Graduanda do Curso de Biologia/UVA, Bolsista CNPq/PIBIC/UVA - 3. Bacharel em Biologia/UVA - 4. Pesquisadora Embrapa Caprino e Ovinos - 5. Orientadora/Professora do Curso de Biologia, Bolsista de Produtividade em Pesquisa e Estímulo à Interiorização/BPI (FUNCAP) -

PALAVRAS-CHAVE

Jatobá. Inibidor de Protease. Antinutricional. Sementes.

APOIO

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP)

INTRODUÇÃO

Hymenaea courbaril, conhecida como jatobá, é uma leguminosa arbórea variando de 15 a 20 metros. Possuindo um fruto indeiscente, com 2 a 4 sementes envoltas por uma polpa farinácea sendo comestível e muito nutritiva (LORENZI, 2002). Sementes de leguminosas são ricas em proteínas relacionadas à defesa vegetal, tais como inibidores de enzimas proteolíticas, as quais podem formar complexos com enzimas, diminuindo a digestibilidade das proteínas na dieta, sendo, por esse motivo, considerados fatores antinutricionais. Além do mais, os inibidores vegetais podem atuar como inibidores de enzimas exógenas, nos processos de defesa da planta contra o ataque de pragas e patógenos. Os inibidores de tripsina estão entre os mais bem estudados (XAVIER-FILHO, 1993; RYAN, 1990; WALKER et al., 1998).

OBJETIVOS

Isolamento de inibidor de tripsina em uma fração protéica de sementes de *H.courbaril*, por cromatografia de troca iônica.

MATERIAL E MÉTODOS

A obtenção do extrato protéico (EJB) foi feita a partir da farinha de sementes de jatobá extraída com tampão fosfato de sódio 0.1 M, pH 7.0, contendo NaCl 0,15 M, na proporção de 1:10 (m/v). Em seguida, foi adicionado álcool etílico 50% (v/v), para retirada de açúcares. Centrifugado a 10.000 x g, por 30 min, a 4 °C. O sobrenadante foi dialisado contra tampão de extração. Ao EBJ foi adicionado sulfato de amônio, na faixa de saturação (30-60%), o extrato foi centrifugado e o precipitado, denominado F3060, foi dialisado e liofilizado. A cromatografia de troca iônica foi realizada em coluna aniônica (DE-52) onde foi aplicado 30 mg da F3060. O pico não retido (PNR) foi eluído com tampão tris/HCl 50mM pH 7,5, e os picos retidos eluídos com o mesmo tampão contendo NaCl 0,2 M (P2) ou 0,4 M (P4). Para os ensaios de detecção do inibidor de tripsina, foi utilizada a metodologia descrita por Kakade et al.(1974). A eletroforese foi realizada segundo metodologia descrita por Laemmli (1970).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade de inibidor de tripsina foi detectada nas proteínas não retidas na coluna, com 98,22% de inibição, mostrando que o inibidor concentrou-se nesse pico. No pico P2, a porcentagem de inibição para a tripsina foi baixa (25,53%), quando comparada com a do pico não retido. O pico P4 não apresentou inibição. A SDS-PAGE do PNR revelou o aparecimento de 2 bandas bem proeminentes, uma com massa molecular aparente em torno de 60 kDa e outra com aproximadamente 15 kDa.

CONCLUSÕES

A cromatografia de troca iônica mostrou-se eficiente nos primeiros passos de isolamento do inibidor de tripsina de sementes de *H. courbaril*. No entanto, será necessário o uso de outras técnicas cromatográficas nos passos seguintes de purificação. Visto a grande eficiência inibitória para tripsina que o pico não retido apresentou, a seqüência do estudo é de grande importância para possíveis aplicações desses inibidores no controle de pragas e microrganismos patogênicos.

REFERÊNCIAS

- KAKADE, M. L.; et al., Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chemistry*, v.51, p.376-382, 1974.
- LORENZI, H. *Arvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Vol 1.4 ed. Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum, 2002,p.172.
- RYAN, C. A. Proteases inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, v. 28, p. 424-449, 1990.
- WALKER, A. J., et al. Characterisation of the midgut digestive proteinase activity of the two-spot ladybird (*Adalia bipunctata* L.) and its sensitivity to proteinase inhibitors. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v. 28, p.173-180, 1998.
- XAVIER-FILHO, J. The biological roles of serine and cysteine proteinase inhibitors in plants. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*.v.4, n.1, p.1- 6, 1992.