VII EAITI 2017 ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA | 09 e 10 de novembro de 2017

PURIFICAÇÃO DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS DO LÁTEX DE *Tabernaemontana catharinensis*

Leonardo Yudi Matsumoto (PIBITI/CNPQ/Universidade Estadual de Maringá), Arildo José Braz de Oliveira, ajboliveira@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Farmácia.

Bioquímica, Enzimologia

Palavras Chave: *Tabernaemontana catharinensis, Proteases, Látex, Enzimas.*

Resumo

O objetivo principal deste trabalho foi concentrar, purificar e testar a atividade enzimática presente no látex de *T. catharinensis*. Através de um ensaio de atividade caseinolítica avaliou-se a atividade proteolítica presente nas amostras de látex frente à caseína. Neste mesmo teste papaína e pancreatina foram utilizadas para fins comparativos. As atividades enzimáticas encontradas foram de 0,94 para o látex, 0,023 para a papaína e 1,46 para a pancreatina. Foi demonstrado que as enzimas presentes no látex apresentaram uma boa atividade proteolítica quando comparada com proteases já estudadas e utilizadas comercialmente.

Introdução

O gênero *Tabernaemontana* pertence à família Apocynaceae. *Tabernaemontana catharinenses* A. DC., conhecida como "Leiteira" (erva leitera), é uma árvore lactífera comum que cresce em pastagens dos Estados brasileiros de São Paulo e norte Paraná (Correa, 1984; Lorenzi, 1999).

Estudos prévios confirmaram a presença de enzimas proteolíticas no látex bruto de *T. catarinenses*. Análises realizadas demonstraram que as enzimas presentes no látex apresentam valores de atividade enzimática próximos aos de enzimas já conhecidas e utilizadas comercialmente como papaína e pancreatina. Também foi demonstrado que as enzimas em estudo possuem a capacidade de hidrolisar diferentes substratos proteicos, dentre eles gelatina (colágeno) e caseína.

Material e Métodos

A metodologia utilizada no presente estudo incluíram as etapas de coleta do látex, diálise, ultrafiltração, ensaio da atividade caseinolítica e Eletroforese em Gel de Poliacrilamida (SDS-Page).

Resultados Obtidos

A análise das atividades enzimáticas para diferentes enzimas demonstrou inicialmente uma irregularidade quanto ao valor de U. A justificativa para tal diferença pode estar no fato de que enzimas possuem diferentes especificidades frente a um substrato comum. Neste experimento em específico, como pode ser observado na Tabela 1, a enzima mais eficaz na degradação da caseína é a Pancreatina, seguida da enzima presente no látex, e por fim a Papaína. A utilização do branco contendo amostra enzimática foi realizada com o intuito de descontar as taxas de absorbância proveniente dos aminoácidos livres da própria enzima em estudo. Dessa forma, seria possível analisar somente os aminoácidos livres originados a partir da degradação da proteína substrato.

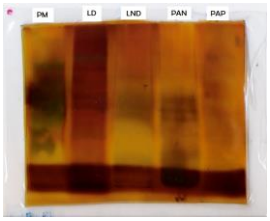


Figura 1. Gel corado contendo bandas de proteína

Tabela 1. Análise da atividade enzimática de Látex *T.catharinensis*, *Papaína e Pancreatina.*o

Amostra	Atividade (U) com branco comum	Atividade (U) com branco contendo as enzimas
Látex	0,94	1,38
Papaína	0,023	0,64
Pancreatina	1,46	3,87

Conclusão

Como demonstrado, as proteínas do látex de *Tabernaemontana catharinensis A. DC*. apresentaram uma boa atividade proteolítica quando comparada com a atividade de uma protease já conhecida e utilizada pelo mercado. Destaca-se também o fato descoberto em estudos anteriores, de que as enzimas presentes na amostra apresentam uma ação não específica, hidrolisando tanto a proteína do leite (caseína) quanto às proteínas presentes na gelatina (colágeno). Essa propriedade permite o uso da enzima em variados setores da indústria alimentícia.

Agradecimentos

Ao CNPq, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste projeto.

[1] Agrawal, A. A.; Lajeunesse, M. J. e Fishbein, M. Entom. Exp. et App. **2008**, 128, 126.

[2] Andrade, M. T. Bioorg. Med. Chem. **2005**, 13, 4092.

[3] Correa, M. P. Dic. Plant. Uteis. Brasil. **1984**,1, 632.