

Determinação da Atividade Peroxidásica Presente na Polpa do Fruto do Mata-fome (*Pithecellobium dulce* Roxb.)

Simone Torres de Oliveira¹ (IC)*, Victor Paulo M. Aragão¹ (IC), Lúcia Betânia da Silva Andrade¹ (PQ) e Murilo Sérgio da Silva Julião² (PQ). E-mail: simonetorreslagoinha@hotmail.com

1. Coordenação de Biologia, Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA (Sobral – CE).

2. Coordenação de Química, Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA (Sobral – CE).

Palavras Chave: Peroxidase, Mata-fome, Zimograma.

Introdução

Há uma tendência recente da utilização de tecidos de vegetais e/ou extratos brutos no lugar de enzimas purificadas em procedimentos enzimáticos de análise e/ou na confecção de biossensores [1]. A peroxidase (POX), encontrada em tecidos de vegetais e animais, catalisa a oxidação pelo peróxido de hidrogênio de alguns substratos como mono e difenóis, polifenóis, aminofenóis, entre outros. O mata-fome (*Pithecellobium dulce* Roxb.) pertencente à família leguminosae (Mimosoideae) é um vegetal de origem exótica com floração nos meses de agosto a dezembro. O uso de extratos brutos de vegetais como fonte enzimática, tem se tornado frequente devido à grande variedade de vegetais que podem ser utilizados como uma fonte alternativa à obtenção da enzima POX e ao baixo custo do processo. O objetivo deste trabalho foi determinar a atividade específica da POX via espectrofotometria e em gel de poliacrilamida (zimograma da POX) nas frações de proteínas presentes no extrato do fruto verde do mata-fome.

Resultados e Discussão

O extrato bruto vegetal foi obtido a partir da trituração de 60,00 g da polpa do fruto verde do mata-fome na presença de tampão fosfato (pH 6,8) e PVP 10000. Este foi filtrado em tecido de malha fina e centrifugado a 10620xg por 20 minutos a 4 °C. O precipitado foi descartado e o sobrenadante foi fracionado com (NH₄)₂SO₄ em três faixas de saturação: 0-30%, 30%-60%, 60%-90%. Foram realizados testes de atividade para a POX [2], determinação de proteínas totais [3] e atividade em gel nativo de poliacrilamida (zimograma para POX).

Os resultados para a determinação de proteínas totais e da atividade da POX em extratos não-fracionados e nas frações 0%30%; 30%60% e 60%90% demonstraram que a fração 30%60% contém uma maior concentração de proteínas, a fração 60%90% apresenta a maior atividade enzimática e a fração 0%30% apresenta quantidades desprezíveis, Tabela 1. Os resultados do zimograma para a POX (Fig. 1) mostraram o aparecimento de bandas protéicas com atividade para GPOX. Nenhuma atividade foi observada na F0%30%. Na F30%60% (Fig. 1, coluna 3) foram observadas pelo menos 3 formas de peroxidases, enquanto na F60%90%, pelo menos 2 bandas protéicas foram evidenciadas (Figura 1, coluna 3).

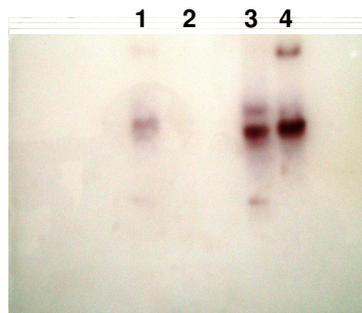


Figura 1. Zimograma para GPOX em gel nativo de poliacrilamida do extrato enzimático bruto e frações do fruto verde do mata-fome: extrato bruto (1), F0%30% (2), F30%60% (3) e F60%90% (4).

Tabela 1. Atividade, proteína total e atividade específica da POX encontrada no extrato do mata-fome submetido ao fracionamento com (NH₄)₂SO₄.

Extrato Vegetal	Proteína total (mg/mL)	Atividade (U/mL)	Atividade específica (U/mg)
Não fracionado	0,786	34,2	43,5
Fração 0%30%	0,972	—	—
Fração 30%60%	3,74	161	43,0
Fração 60%90%	2,03	194	95,6

Conclusões

Os resultados mostram que para futuros procedimentos de purificação da POX, a fração 60%90% é a mais adequada, demonstrando que simples procedimentos de purificação parcial podem aumentar o rendimento de obtenção da mesma.

Agradecimentos

À Fundação Cearense de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP pela concessão da Bolsa de Produtividade e Interiorização, Universidade Estadual Vale do Acaraú e ao Núcleo de Biotecnologia de Sobral – NUBIS/UVA.

1. Fatibello-Filho, O.; Vieira, I. C. *Quim. Nova.* **2002**, 25, 455.

2. Zeraik, A. E.; Souza, F. S.; Fatibello-Filho, O.; Leite, O. D. *Quim. Nova.* **2008**, 31, 731.

3. Bradford, M. M. *Anal. Biochem.* **1976**, 72, 248.