

Otimização da extração do inibidor de tripsina encontrado em *Ricinus communis*.

Vinicius O. Ramos^{1(PG)*}, Custódio D. Santos^{1(PQ)}, Geraldo A. Carvalho^{1(PQ)}, Dejene S. Alves^{1(PG)}, João Otávio Oliveira^{1(IC)}, Mariana A. Braga^{1(IC)}, Livia C. Sátiro^{1(IC)}, Mayara N. S. Guedes^{1(PG)}, Estela R. Queiroz^{1(PG)}.

¹Universidade Federal de Lavras – Departamento de química – Cx postal 3037, CEP 37200-000, Lavras MG
*viniciusoramos@posgrad.ufla.br.

Palavras Chave: *Tripsina*, *Inibidor*, *Spodoptera frugiperda*, *Ricinus communis*.

Introdução

O uso indiscriminado de agroquímicos no controle de infestações em lavouras tem criado populações de insetos resistentes a estes produtos. Com isso há a necessidade do uso doses cada vez maiores para se obter o efeito desejado, aumentando os custos de ambientais e de produção, o que afeta diretamente o consumidor final com o aumento dos preços.

Estratégias de controle que utilizem mais de um produto, ou ainda, mais de um método de controle, como a aplicação do defensivo em dosagens menores que as recomendadas em conjunto com algum tipo de predador natural, patógeno ou ainda o uso de extratos de plantas são as práticas mais recomendadas aos produtores^{1,2}.

Neste trabalho buscou-se otimizar a proporção do meio extrator e o tempo de extração do inibidor de tripsina encontrado em torta de mamona, visto que este possui atividade deterrente para a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797), uma das pragas de maior impacto econômico na cultura do milho.

Resultados e Discussão

As sementes de mamona variedade Guarani foram trituradas e seu óleo foi extraído em Soxhlet Tecnal modelo TE 044 com éter etílico à 60°C trocando-se o éter a cada hora por 16 horas, o teor de óleo removido foi de 45,88%.

O efeito da proporção entre massa de torta e volume de solvente (água) foi avaliado com o objetivo de se utilizar o menor volume com maior capacidade de extração do inibidor. As proporções testadas foram 1:10; 1:20; 1:30 e 1:40 (p:v), sendo o extrato na proporção 1:40 o que apresentou maior inibição.

O efeito do tempo de extração na inibição de tripsina foi avaliado nos tempos 30, 60 e 90 minutos com o objetivo de reduzir o tempo de análise. Após a agitação os extratos foram colocados em estufa à 45°C até completa remoção do solvente e ressuspendidos em 5ml de água. A relação maior inibição por menor tempo escolhida foi a extração por 30 minutos.

Para detectar o inibidor foi realizado um ensaio cinético com quatro tempos utilizando-se 200µl do homogeneizado de tubo digestivo de *S. frugiperda*

convenientemente diluído, 200µl do extrato inibitório e 800µl de BApNA (Benzoil-D,L-Arginina-p-Nitroanilida) 1,2532 mmol.l⁻¹ em tampão Gli-NaOH 0,1 M como substrato. A reação foi paralisada com 200µl de ácido acético 30%¹. A tripsina reage com o BApNA, que é incolor, liberando p-nitroanilida que possui coloração amarela e é detectada espectrofotometricamente a 410nm⁴. As absorbâncias x tempos são então plotadas em um gráfico e utilizando-se a inclinação da reta do controle menos a inclinação da reta do tratamento e dividindo o resultado pela inclinação da curva padrão encontrada por Erlanger⁵ encontra-se o valor em Unidades de Inibição de Tripsina (UIT) que corresponde a quantidade em nmol de p-nitroanilida que deixa de ser formada por minuto devido à presença do inibidor.

Tabela 1. Fatores que influenciam a inibição

Proporção (p:v)	1:10	1:20	1:30	1:40
UIT/g torta	14,34 a ^o	15,82ab	38,74bc	51,64c
Tempo (min)	30	60	90	
UIT/g semente	24,96a	25,25a	21,23a	

^o Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Conclusões

O tempo de 30 minutos foi o escolhido para ser utilizado, pois os valores de inibição não variaram estatisticamente e a melhor proporção na extração do inibidor foi 1:40.

Agradecimentos

À Fapemig, CNPq e CAPES pelas bolsas concedidas e a UFLA pela disponibilização dos recursos físicos.

¹ Mendez, W. A et al. *Biological Control*. 2002, 25, 195-206.

² Ramos-Lopez, M. A. et al. *African Journal of Biotechnology*. 2010, 9, 1359-1365.

³ Ong, E. S. *Journal of Chromatography B*. 2004, 812, 23-33.

⁴ Rossi, G. D. et al. *Ciência e Agrotecnologia*. 2010, 34,361-366.

⁵ Erlanger, B. F. et al. *Archives of Biochemistry an Biophysics*. 1961, 95, 29-35.