

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

CARACTERIZAÇÃO DE CARBOXIPEPTIDASE A OBTIDA DE FARELO DE SOJA

DE PAULA, Mariane
KUPSKI, Larine; BADIALE-FURLONG, Eliana
marianedipaula@hotmail.com

Evento: Congresso de Iniciação Científica
Área do conhecimento: Ciências Agrárias

Palavras-chave: carboxipeptidase A, farelo de soja.

1 INTRODUÇÃO

A contaminação micotoxicológica de alimentos amplamente consumidos mundialmente, tem se tornado preocupante para diversos setores. Portanto, técnicas que visem à prevenção ou descontaminação das mesmas torna-se uma alternativa interessante para contribuir com a segurança alimentar. Com relação à ocratoxina A (OTA) um dos processos de descontaminação ocorre mediante ação enzimática de carboxipeptidase A, que pode ser obtida de diferentes fontes. Neste trabalho foi avaliado o farelo de soja, como fonte de carboxipeptidase A, visando empregá-la posteriormente para a degradação de ocratoxina A.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

As pesquisas e utilização de enzimas apresentam impacto em diferentes setores da ciência e tecnologia. Esta versatilidade, vem de sua ampla distribuição em diferentes seres vivos e capacidade de realizar grandes transformações químicas sob condições moderadas.

Um exemplo desta ação é a enzima carboxipeptidase, produzida no pâncreas de animais superiores ou de outras fontes vegetais e microbianas (WHITAKER, 1994). Um dos possíveis empregos desta enzima é a degradação micotoxicológica de ocratoxina A, um composto tóxico produzido por fungos filamentosos sob condições de estresse, contaminante principalmente de cereais (ZAIN, 2011).

Poucos estudos apontam a extração desta enzima em fontes vegetais, tais como soja, feijão, e porções externas de cereais, como arroz e trigo. Assim empregar estas matrizes para extração de enzimas de valor comercial pode ser bastante promissor, por agregar valores a materiais nem sempre adequados para uso, como materiais para produção de alimentos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Foi utilizado o farelo de soja, proveniente do comércio local. Para extração enzimática este foi padronizado para a granulometria de 24 mesh. A enzima carboxipeptidase A foi extraída do farelo com água destilada, na proporção 1:5 (p/v), em banho ultrassônico de 40hz durante 30 minutos. O resíduo sólido foi separado por centrifugação a 4°C durante 10 minutos e o sobrenadante (extrato bruto) foi precipitado com acetona na proporção 1:3 (v/v) a 0°C por 24 horas. Após esse período o precipitado foi ressuspensado em tampão Tris HCl pH 7,5 25mM com NaCl 0,5M em estudo para posterior determinação de proteínas e carboxipeptidase A.

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

A atividade de carboxipeptidase A foi determinada em um tubo, adicionando 0,1 mL de extrato enzimático e 2,9 mL do substrato. Foi lido no espectro a 254nm a cada 1 minuto, tomando-se a tangente da região linear (PEDROCHE et al., 2002). Para determinação da atividade específica, a atividade foi correlacionado com o teor de proteína solúvel dos extratos, quantificados pelo método de Lowry et al. (1951). Uma unidade foi definida como a quantidade de proteína necessária para hidrolisar 1µmol de H-PHE por minuto.

A enzima foi caracterizada quanto a temperatura ótima, pH ótimo, força iônica e concentração do tampão.

Os resultados foram expressos em atividade relativa, sendo esta a razão entre a atividade específica em determinada condição e a atividade específica ótima.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentadas as condições ótimas reacionais de carboxipeptidase A.

Tabela 1 – Condições ótimas reacionais de carboxipeptidase A.

<i>T</i> (°C)	<i>AR</i> (%)	<i>pH</i> ^P	<i>AR</i> (%)	<i>FI</i> (M)	<i>AR</i> (%)	<i>CT</i> (mM)	<i>AR</i>
30	100,0	3,5	38,9	0,0	17,5	5	52,4
35	55,5	4,5	44,4	0,1	27,5	10	95,0
40	38,8	5,5	55,5	0,5	50,0	15	96,0
50	38,8	6,5	88,8	1,0	100,0	20	75,0
60	SA	7,5	100,0	1,5	67,5	25	100,0
		8,5	38,9	2,0	25,0	30	12,5
						40	55,0
						50	40,0
						100	SA

T-temperatura; AR- atividade relativa; FI-força iônica, CT- concentração do tampão, SA-sem atividade.

Com o aumento da temperatura ocorreu a diminuição da atividade, indicando a desnaturação proteica em temperaturas acima de 40 °C; com relação ao pH, a enzima demonstrou melhor ação em meio neutro. Com relação às características do sistema tamponante, observa-se a importância da adição salina para aumentar a força iônica do meio e conseqüentemente a ação enzimática.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A carboxipeptidase A de farelo de soja apresentou como condições ótimas reacionais a temperatura de 30 °C, pH 7,5 com meio contendo tampão 25mM com adição de NaCl 1M. Estas condições ótimas serão utilizadas para descontaminação de ocratoxina A em farinhas de trigo.

REFERÊNCIAS

LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, M. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v.193, n.1, p. 265-275, 1951.

PEDROCHE, J.; YUST, M.M.; GIRÓN-GALLE, J.; VIOQUE, J.; ALAIZ, M.; MATEO, C.; GUISÁN, J.M.; MILLÁN, F. Stabilization-immobilization of carboxypeptidase A to aldehyde-agarose gels. A practical example in the hydrolysis of casein. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, n.5, p. 711-718, 2002.

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

WHITAKER, J.R. **Principles of enzymology for the food sciences**. 2.ed. New York: Marcel Dekker Inc., 1994.

ZAIN, M.E. Impact of mycotoxins on humans and animals. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 15, n.2, p. 129-144, 2011.