

APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DE PROTEÍNAS DE *Moringa oleifera*

Paiva, P. M. G.

Departamento de Bioquímica, CCB, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

Plantas são fontes de proteínas bioativas. *Moringa oleifera* (Moringaceae) é uma espécie nativa da Índia bem adaptada às condições de clima e solo do Brasil. As sementes de *M. oleifera*, por conterem compostos hábeis em reduzir a quantidade de partículas em suspensão, são utilizadas no tratamento de água para consumo humano. As flores, ricas em cálcio, potássio e antioxidantes ( $\alpha$  e  $\gamma$ -tocoferol), são utilizadas na dieta humana. Santos *et al.* (*Water Research*, vol. 39, 975-980, 2005) revelaram a presença nas sementes da lectina WSMoL (do inglês *water soluble M. oleifera lectin*). Lectinas, proteínas hemaglutinantes que interagem com carboidratos livres ou presentes em superfícies celulares, exibem diversas propriedades biológicas incluindo atividade antibacteriana e inseticida. O procedimento para o isolamento de WSMoL foi definido por Coelho *et al.* (*Chemosphere*, vol. 77, 934-938, 2009) e incluiu as etapas de extração de proteínas com água, precipitação da lectina com sulfato de amônio (60% de saturação) e cromatografia em coluna de quitina. WSMoL aglutinou eritrócitos de Coelho e foi ativa na faixa de pH 4,5 a 9,5 e após aquecimento a 100 °C por 5 h. A atividade hemaglutinante da lectina foi inibida por D(+)-frutose e *N*-acetilglicosamina. Ferreira *et al.* (*Letters in Applied Microbiology*, vol. 53, 186-192, 2011) demonstraram a atividade coagulante de WSMoL utilizando o modelo de água turva com caolin. A lectina reduziu a turbidez da água de modo similar ao sulfato de alumínio utilizado como controle positivo. Os autores também demonstraram que WSMoL é um agente antibacteriano sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e espécies presentes em água do Riacho do Cavouco (Campus da UFPE). WSMoL por sua habilidade em reduzir turbidez e contaminação bacteriana contribui para a melhoria da qualidade da água tratada com as sementes de *M. oleifera*. WSMoL foi avaliada quanto a atividade inseticida contra o mosquito vetor da dengue (*Aedes aegypti*) e contra cupim da espécie *Nasutitermes corniger* (*Chemosphere*, vol. 77, 934-938, 2009; *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol.65, 982e989, 2011). Extratos contendo a lectina prolongaram o tempo de desenvolvimento larval e WSMoL foi larvicida sobre o 4<sup>o</sup>

estágio larval. Larvas tratadas com WSMoL apresentaram aumento do volume do lúmen intestinal e hipertrofia de segmentos. Santos *et al.* (*PLoS One*. 7:e44840, 2012) revelaram que WSMoL estimula a oviposição de *A. aegypti* e apresenta atividade ovicida impedindo o desenvolvimento ou matando o embrião dentro do ovo. WSMoL não foi um inseticida eficiente contra *N. corniger* matando soldados e operários somente em elevada concentração. Proteínas de flores de *M. oleifera* foram extraídas com água utilizando-se liquidificador e o extrato de flores obtido foi capaz de inibir tripsina bovina. A inibição de proteases pode interferir em vários processos biológicos e tem sido indicada a participação de inibidores de tripsina de origem vegetal no mecanismo de defesa das plantas contra o ataque de microrganismos e insetos. O extrato de flores inibiu o crescimento de bactérias presentes na água do Riacho do Cavouco (*Advances in Environmental Research* ISBN 9781614700074, vol. 21, 269-285, Nova Publishers Inc., 2011) e matou larvas de *A. aegypti* dos 2<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> estágios. Avaliação da atividade de tripsina em extratos de intestinos de larvas tratadas e não tratadas com o extrato revelou que a atividade de tripsina do intestino das larvas tratadas com o extrato foi menor do que aquela detectada no extrato proveniente de larvas não tratadas (*Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, vol. 79, 135-152, 2012). O extrato de flores não inibiu a atividade de acetilcolinesterase das larvas. O extrato de flores apresentou baixa atividade inseticida sobre *N. corniger*. Proteases de plantas participam em vários processos biológicos incluindo mobilização de proteínas e mecanismo de defesa. Proteínas de flores de *M. oleifera* extraídas com NaCl 0,15 M foram precipitadas com sulfato de amônio (60%) e a fração rica em proteína foi avaliada quanto à atividade caseinolítica utilizando-se azocaseína como substrato. A fração apresentou atividade caseinolítica e a especificidade desta atividade foi avaliada após incubação das caseínas bovinas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$  com a fração por 10, 30, 60 e 120 min e 24 h. A hidrólise das caseínas foi acompanhada pelo aumento da absorbância a 366 nm e pelo perfil eletroforético em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio. A fração hidrolisou eficientemente  $\kappa$ -caseína e promoveu baixa degradação de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caseínas (*Food Chemistry*, vol. 135, 1848-1854, 2012). Enzimas que hidrolisam ligações peptídicas presentes em caseínas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$  são utilizadas na coagulação de leite para produção de queijos e o nível de proteólise influencia no rendimento, consistência e sabor do queijo produzido. A fração de proteínas de flores foi investigada quanto à presença de atividade coagulante de leite utilizando-se leite desnatado. O leite foi tratado com a fração em tubo de ensaio e após incubação a 37 °C observou-se a separação entre o soro

e o coágulo. O estudo revelou que o mecanismo da coagulação do leite pela preparação de flores de moringa em presença de cálcio envolve a hidrólise da caseína  $\kappa$ . Queijos foram produzidos utilizando-se a fração de proteínas de flores ou quimosina. O queijo produzido com a enzima de flores foi mais rico em substâncias voláteis do que aquele produzido com quimosina. A atividade coagulante de leite e a baixa hidrólise das caseínas  $\alpha$  e  $\beta$  estimulam o uso da enzima de flores de moringa na indústria alimentícia para produção de queijos.

Palavras chave: *Moringa oleifera*, atividade antibacteriana, atividade inseticida, atividade coagulante de leite.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FACEPE, MCTI.