

PRODUÇÃO DE MATRIZES PARA CROMATOGRAFIA DE AFINIDADE A PARTIR DE POLISSACARÍDEOS DE SEMENTES

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Realizar a produção a baixo custo de matrizes de cromatografia de afinidade produzidas a partir de polissacarídeos obtidos de sementes de plantas.

1.2 Objetivos específicos

- Extrair polissacarídeos das sementes de plantas encontradas na região da Chapada do Araripe, Ceará;
- Realizar a reticulação dos polissacarídeos por diferentes metodologias, utilizando epícloridrina, tetraborato de sódio, formaldeído e/ou glutaraldeído como agentes reticulantes;
- Preparar pelo menos as matrizes cromatográficas;
- Avaliar a capacidade das matrizes produzidas em reter lectinas;
- Utilizar as matrizes cromatográficas obtidas para purificação de lectinas vegetais.

2 METODOLOGIA

2.1 Material vegetal

As sementes utilizadas neste projeto serão coletados de plantas encontradas na região da Chapada do Araripe, Ceará, principalmente nas cidades de Crato, Barbalha, Missão Velha e Brejo Santo. Exsiccatas das espécies coletadas serão produzidas e depositadas no Herbário da Universidade Federal do Cariri – UFCA, localizado no Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade – CCAB.

2.2 Extração e precipitação

Os polissacarídeos podem ser obtidos puros mediante extração aquosa após o endosperma ser separado do embrião. Esse processo pode ser realizado pela fervura das sementes em água ou álcool até que a separação manual dos componentes da semente seja possível (BUCKERIDGE; DIETRICH; LIMA, 2000).

Após aquecimento das sementes em água fervente, por 20 minutos, seguido por intumescimento, em água, por uma noite. O endosperma, após separação do tegumento e embrião da semente, será lavado, moído em liquidificador (10 minutos) e extraído com água a temperatura ambiente. O extrato obtido será tratado com etanol (3

volumes). O precipitado obtido será redissolvido em água, reprecipitado com 3 volumes de etanol e o precipitado final, liofilizado.

2.3 Reticulação

A reticulação dos polissacarídeos, processo também denominado de reação de entrecruzamento, é um tipo de modificação química que visa unir suas cadeias poliméricas, ou ainda, ligar suas cadeias às de outros polímeros gerando redes poliméricas híbridas. Agentes de reticulação são substâncias que apresentam baixa massa molar e grupos funcionais reativos capazes de permitir a formação de ligações inter ou intracadeias poliméricas (BERGUER et al., 2004)

Desta forma, serão utilizadas metodologias de reticulação identificadas a partir de um levantamento bibliográfico dos trabalhos que utilizaram a epicloridrina, tetraborato de sódio, formaldeído e/ou glutaraldeído como agentes reticulantes.

2.4 Rendimento

O rendimento da matriz cromatográfica produzida será avaliado a partir da massa de matriz obtida após a reticulação em relação à massa inicial de polissacarídeos obtidos após a extração, precipitação e secagem.

2.5 Cromatografia de afinidade

Para avaliar a capacidade de retenção de lectinas, colunas cromatográficas serão montadas com as matrizes reticuladas. Serão aplicados extratos de plantas que comprovadamente apresentem atividade lectínica, identificados através de um levantamento bibliográfico. As amostras serão sempre aplicadas em excesso, de modo a melhor se poder avaliar a capacidade de retenção das matrizes.

A pureza das lectinas obtidas será determinada por eletroforese em gel de poliacrilamida em presença de SDS, seguindo a metodologia descrita por Laemmli (1970).

3 CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

ATIVIDADES	Meses											
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
Revisão/atualização bibliográfica	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Coleta material vegetal	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Extração e precipitação			●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Reticulação dos polissacarídeos			●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Cromatografia de afinidade				●	●	●	●	●	●	●	●	●
Eletroforese das proteínas purificadas						●	●	●	●	●	●	●
Escrita e publicação de trabalho científico						●	●	●	●	●	●	●
Escrita de relatório final								●	●	●	●	●