

AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE TRIPTOFANO POR MEIO DE ÁGUA OZONIZADA UTILIZANDO ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO

III SIMPÓSIO DE PESQUISA DO ECOSISTEMA ANÍMA

O SABER SE MANIFESTA NA EXPERIMENTAÇÃO.



Maria Verônica Pires¹; Sarah Santana Faustino Silva¹; Carlos José de Lima (Dr.)^{1,2}; Adjaci Uchoa Fernandes (Dr.)^{1,2}

Universidade Anhembi Morumbi (UAM), Rua Casa do Ator, 275, São Paulo, SP, Brasil

² Centro de Inovação, Tecnologia e Educação (CITÉ), Parque Tecnológico de São José dos Campos, Estrada Dr. Altino Bondensan, 500, São José dos Campos, SP, Brasil
mariaveronicapires46@gmail.com

Introdução

As proteínas são o principal componente da maioria dos sistemas biológicos, tanto em células e tecidos quanto em fluidos, sendo, alvo de danos oxidativos (DAVIES, 2005; 2003). A oxidação pode ocorrer tanto na estrutura quanto em cadeias laterais de resíduos de aminoácidos (DAVIES 2003; STADTMAN 2003), determinando toxicidade celular, com consequências deletérias na estrutura e função (LI 2020).

O triptofano (TRP) é um aminoácido essencial para a síntese proteica, abundante em interações proteína-proteína, e muito suscetível à oxidação. As propriedades espectrofotométricas do TRP permitem avaliar suas concentrações, sobretudo por meio da detecção de produtos de degradação (EHRENSHAT, 2015).

O ozônio é um poderoso agente oxidante com ação antimicrobiana, amplamente utilizado na desinfecção de água potável e tratamento de feridas (PATIL, 2011). Em soluções aquosas, é decomposto gerando radicais superóxido ($O_2^{\bullet-}$), hidroperóxidos (HO_2^{\bullet}) e hidroxila (OH^{\bullet}) (KANOLSKY, 1991). Esses radicais oxidam a superfície bacteriana, principalmente ácidos graxos polinsaturados e aminoácidos, enzimas ou proteínas (LI 2020). A difusão do ozônio através da membrana celular bacteriana determina dano ao DNA ou em proteínas intracelulares, comprometendo a reparação e transcrição, resultando em perda da viabilidade celular (PATIL, 2011).

Objetivos

O objetivo deste estudo é analisar a capacidade de oxidação proteica produzida por uma solução aquosa ozonizada utilizando espectrofotometria de absorção e a degradação do triptofano.

Metodologia

❖ **Solução Aquosa Ozonizada:** Um recipiente com 500 mL de água destilada foi borbulhado por quinze minutos, a uma temperatura de 21 °C, obtendo concentração final de O_3 de 6,38 mg/L

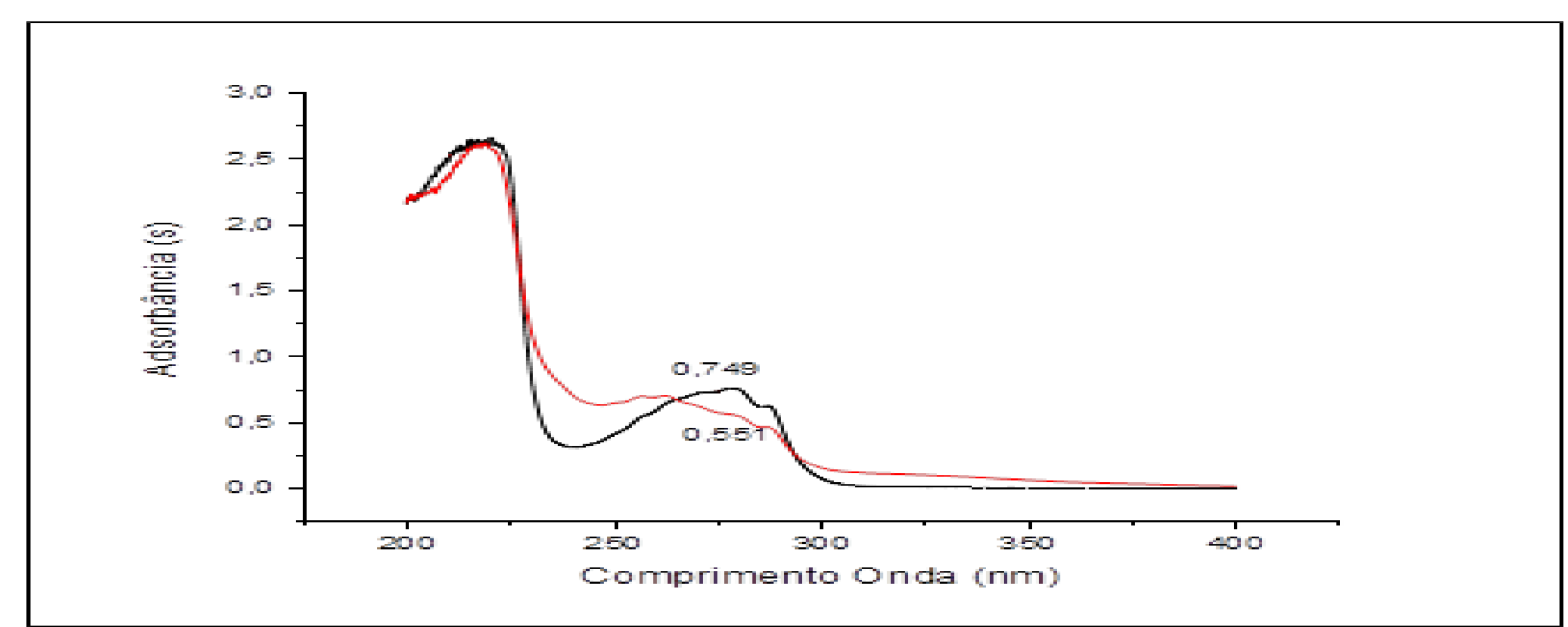
❖ **Espectroscopia UV-vis de Varredura:** Espectros de varredura do TRP em água destilada e em água ozonizada foram obtidos na faixa espectral de 200 a 400 nm, com uma absorbância máxima de até 1.

❖ **Espectroscopia UV-vis de Fotometria:** Para construção da curva de degradação do triptofano, o espectrofotômetro foi calibrado com uma solução de água destilada no comprimento de onda (λ) de 280 nm, região na qual o TRP tem sua máxima absorção por conter um grupo indol que absorve luz ultravioleta

❖ **Coefficiente de Extinção do Triptofano:** A concentração do triptofano foi calculada utilizando a Lei de Lambert-Beer (Equação 1 -Quadro 1). Consideramos o coeficiente de extinção molar (ξ em $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) do L-TRP em 280 nm de 5500. A extinção do TRP pelo O_3 corresponde à relação gráfica entre os valores de absorbância de concentração.

Resultados

A absorbância do L-TRP para o comprimento de onda 280 nm em solução de água destilada foi de 0,749 com concentração de 1,55 mg/dL, enquanto na solução de água ozonizada foi de 0,551 mg/dL com uma concentração de 1,15 mg/dL. Os valores correspondem a uma redução de 25,8%, observada no período inicial de degradação. A Figura 1 apresenta o espectro de absorbância do triptofano em solução inicial e após a diluição com solução aquosa ozonizada



•Figura1: Espectro de absorvância do triptofano: Curva em preto espectro de TRP Curva em vermelho: TRP após exposição à água ozonizada

A curva de extinção do L-TRP em água destilada ozonizada, observada por 30 minutos, para comprimento de onda de 280 nm, apresenta absorbância inicial de 0,176, concentração de 0,37 mg/dL. Em cinco minutos ocorre declínio de 38%, absorbância de 0,114, concentração de 0,23 mg/dL e, ao final de 25 minutos, valores de 0,106, concentração de 0,22 mg/dL, representando declínio de 40,5%, momento em que apresenta estabilidade. A Figura 2 representa a curva de extinção do L-TRP.

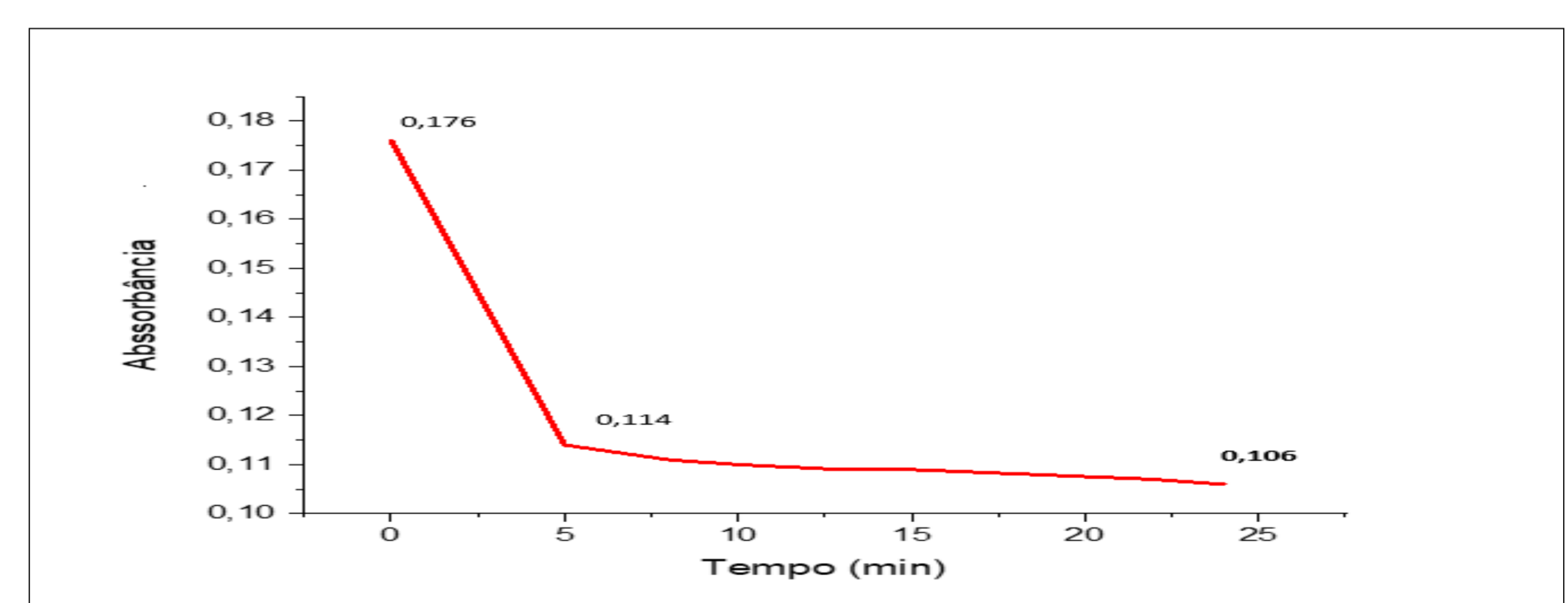


Figura 2 Curva de extinção do L-TRP em solução de água destilada ozonizada.

Conclusões

Os resultados demonstram que o triptofano pode interagir com o ozônio, contido na solução de água ozonizada. As observações permitirão o uso do método em estudos posteriores para avaliar a eficiência do O_3 em solução aquosa no tratamento de patologias infecciosas.

EHRENSHAFT, M; DETERDING, LJ; STADTMAN, ER; LEVINE, RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. Amino Acids. 2003 Dec;25(3-4):207-18. doi: 10.1007/s00726-003-0011-2. Epub 2003 Jul 29. PMID: 14661084.

MASON, RP: Tripping up Trp: Modification of protein tryptophan residues by reactive oxygen species, modes of detection, and biological consequences. Free Radic Biol Med. 2015 Dec;89:220-8. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.08.003. Epub 2015 Sep 21. PMID: 26393422; PMCID: PMC4684788.