

M. S.



D. N. S.

SERVIÇO NACIONAL DE MALÁRIA

Diretor: Dr. MANOEL FERREIRA

PUBLICAÇÕES AVULSAS

DO

INSTITUTO AGGEU MAGALHÃES

Recife (Pe.)

BRASIL

O EQUIPAMENTO ENZIMÁTICO DO APARELHO DIGESTIVO DE *AUSTRALORBIS GLABRATUS* — II — AMILASE DA GLÂNDULA DIGESTIVA.

Bento Magalhães Neto

Arildo Marinho de Almeida

Estudos sobre fisiologia e bioquímica dos caramujos da espécie *Australorbis glabratus* já vêm sendo realizados, desde algum tempo, neste Laboratório (Edwards, Magalhães Neto & Dobbin Jr., 1951, Magalhães Neto, 1953, 1953a, 1953b e Magalhães Neto & Almeida, 1953).

Em prosseguimento a estas pesquisas no que diz respeito às enzimas digestivas, tentou-se verificar a presença de amilase na glândula digestiva, enzima esta que já tinha sido assinalada no estômago por Magalhães Neto & Almeida (1953).

Nestas experiências foram usados animais apanhados no campo e colocados durante 24 horas em água destilada no congelador.

A obtenção do extrato enzimático obedeceu à técnica descrita por Magalhães Neto & Almeida (1953) com uma modificação que consistiu no emprêgo do micro-homoginizador de Blender (1951), usando-

Trabalho apresentado na VI Reunião da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Ribeirão Preto em novembro de 1954.

se o glicerol a 50% e obtendo-se um homogeinizado em que cada mililitro correspondia a 0.010 g de tecido fresco.

A preparação do substrato obedeceu à técnica: 5g de fécula de batata, foram colocados em um becher contendo, aproximadamente, 50 ml de água destilada e o conjunto aquecido até se tornar opalescente e, ainda quente, transferido para um liquidificador com cerca de 40 ml de água destilada, para obtenção de uma suspensão coloidal homogênea. Em seguida o volume foi completado até 100 ml.

A ação enzimática foi determinada em função da concentração dos açúcares redutores libertados, cuja dosagem foi realizada pelo processo de Folin & Wu (1920) em colorímetro foto-elétrico de Klett-Summerson.

Foram realizadas três séries de experiências, a primeira para determinar pH ótimo da enzima, a segunda, teve por objetivo verificar a atividade em função do tempo e na terceira procurou-se verificar a capacidade de inibição do nitrito de sódio.

A primeira série foi feita do seguinte modo:

Colocou-se em um balão de Erlenmeyer de 125 ml. 6.3 ml de substrato de amido a 5%, 12.5 ml de solução tampão de fosfato, 0.5 ml do extrato enzimático e 5 gotas de tolueno. Foram utilizados tampões dos seguintes pH: 2.2, 3.0, 4.0, 5.0, 5.6, 5.8, 6.0, 6.6, 7.4, 8.4 e 10.0.

As determinações foram feitas em dois grupos às temperaturas de 28°C e 37°C e os resultados expressos em mg de açúcares redutores após 24 horas de contacto (Quadro I). Em ambos os grupos

Q U A D R O I

pH	28°C	37°C
2.2	1.00	0.64
3.0	3.60	2.00
4.0	4.00	7.47
5.0	4.50	—
5.6	5.20	9.81
5.8	64.00	48.85
6.0	42.20	21.76
6.6	20.00	17.40
7.4	8.00	2.13
8.4	6.00	1.32
10.0	0.80	0.17

foi usado um branco para cada tubo, em que a quantidade do extrato enzimático foi substituído por igual quantidade de água destilada.

Para a segunda série de experiências a técnica adotada foi a seguinte: Colocou-se em um balão Erlenmeyer de 125 ml. 24 ml. do substrato de amido tamponado a pH 5.8, 1 ml. do extrato enzimático e 10 gotas de tolueno. Os balões foram colocados às temperaturas de 28°C e 37°C e com intervalo de 24 horas retiradas alíquotas de 2 ml e dosados os açúcares redutores, até um máximo de 5 dias. (Quadro II).

Q U A D R O II

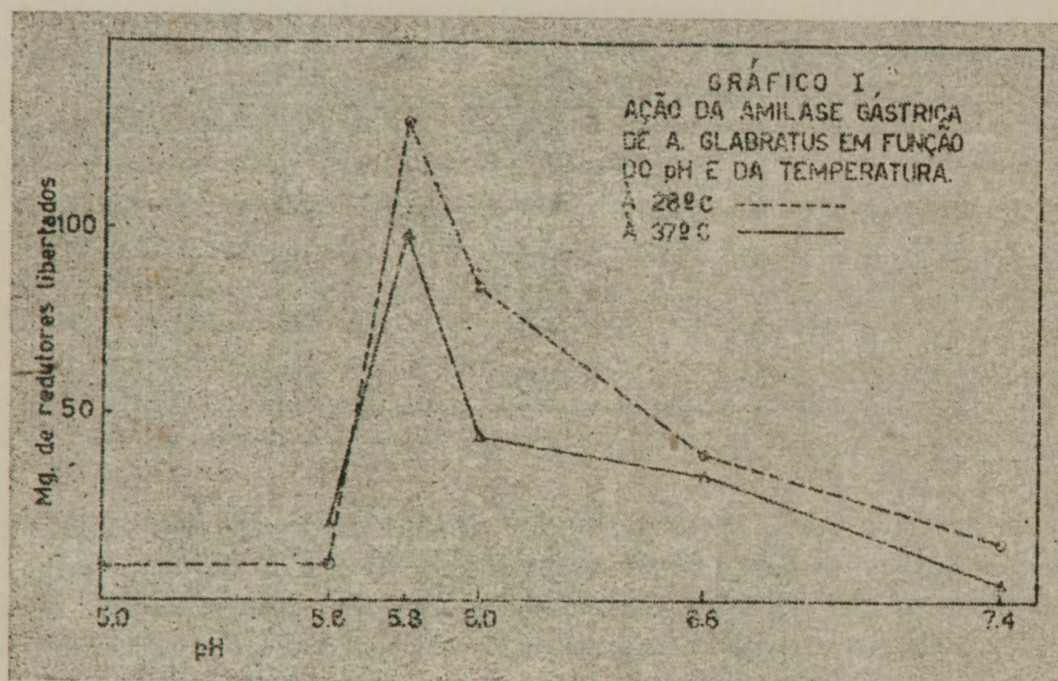
Dias	28°C	37°C
1	154	31
2	159	56
3	196	93
4	228	125
5	243	140

Na terceira série de experiências foram colocados em cada um dos dois balões de Erlenmeyer empregados, 50 ml da solução tampão de fosfato de pH 5.8 com cloreto de sódio de concentração final 0.04M e 10ml do extrato enzimático. A um dos balões acrescentou-se 50 ml da solução de nitrito de sódio e no outro 50 ml de água destilada. Feito isto, foram os balões colocados no congelador durante 24 horas, tendo-se antes o cuidado de revesti-lo de papel preto a fim de protegê-lo contra a luz. Após este período de tempo foi retirada uma alíquota de cada balão e acrescentada igual porção de uma solução de amido a 1%, colocando-se a mistura em estufa a 37°C sendo os açúcares redutores dosados após os tempos determinados (Quadro III). Para eliminar qualquer reação duvidosa por parte do amido e do nitrato de sódio usou-se um branco para cada balão.

Q U A D R O III

	Mg reductores libertados	
	60 minutos	30 minutos
Sem inibidor	6.0	6.0
Com inibidor	6.0	0.0

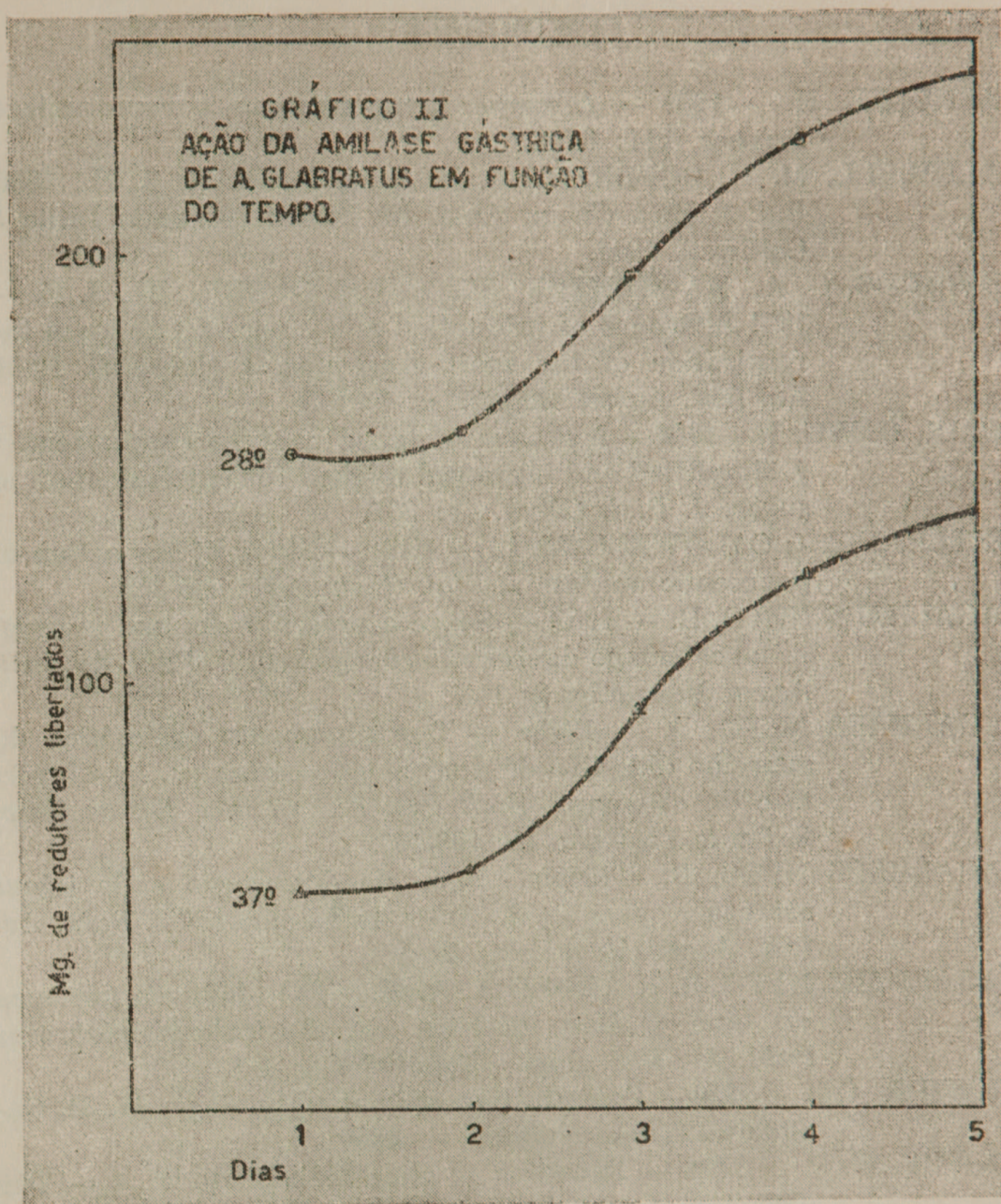
Os resultados obtidos podem, ainda, ser observados nos gráficos I e II.



A presença de amilase já tem sido assinalada na glândula digestiva não só de moluscos herbívoros como também de crustáceos.

Segundo Prosser (1950) as amilases animais são glicosidases e, a despeito das pequenas diferenças do pH ótimo, são idênticas, sendo, responsáveis pela digestão do glicogênio pois que, provavelmente não existe uma glicogênese específica.

A enzima aqui encontrada tem um ótimo de ação em pH 5,8 e sua ação se faz sentir melhor a 28°C que a 37°C e é inibida fortemente pelo nitrito de sódio 2M.



S U M M A R Y

The authors detected the presence of an amilase in the digestive gland of *Australorbis glabratus* with an optimum pH around 5.8 and temperature of 28°C.

BIBLIOGRAFIA

- BRENDLER, H. — 1951 — A simple inexpensive microhomogenizer. *Science*, 114: 61-62.
- CALDWELL, M. L., DOEBBEDING, E. S., & MARIAN, S. H., 1936. *Ind. & Eng. Chem. Anal. ed*, 8: 181. Segundo Little & Caldwell. 1942.
- EDWARDS, G. A., MAGALHÃES NETO, B. & DOBBIN JR., J. E. — 1951 Influence of infestation and other factors upon the respiration of the snail, *Australorbis glabratus*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães*, 1: 9-26.
- FOLIN, O. WU, H.—1920— A system of blood analysis supplement. 1 A simplified and improved method for determination of sugar. *J. Biol. Chem.* 41: 367.
- LITTLE, J. E. & CALDWELL, M. L. — 1942 — Study of the action of pancreatic amilase *J. Biol. Chem.* 142: 585-593.
- MAGALHÃES NETO, B. — 1953 — Sôbre a presença de uma invertase no estômago de *Australorbis glabratus*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães* 2: 1-4.
- MAGALHÃES NETO, B. — 1953a — O equipamento enzimático do aparelho digestivo de *Australorbis glabratus*. 1 — Invertase do estômago. *Biol. Fac. Fil. Cien. e Letras Univ. S. Paulo Zoologia*. 18: 103-108.
- MAGALHÃES NETO, B. —1953b— Ação da dessecação e do jejum sôbre a respiração de *Australorbis glabratus*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães*, 2: 5-9.
- MAGALHÃES NETO, B. & ALMEIDA, A. M.—1953—Sôbre a presença de uma amilase gástrica em *Australorbis glabratus* *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães* 2: 1-4.
- PROSSER, C.L. —1950— Comparative animal physiology, W. B. Saunders C°, Philadelphia, — 1950.
- ROGERS, W. P. — 1940 — Digestion in parasitic nematodes. 1 — The digestion of carbohydrate. *J. Helminthol.* 18: 143-154.
- SHERMAN, H. C., CALDWELL, M. L. & ADAMS, M., — 1930 — *J. Biol. Chem.* 88: 295. Segundo Little & Caldwell. 1942.
- SHERMAN, H. C., CALDWELL, L., & ADAMS, M., — 1930 — *J. Am. Chem. Soc.* 50: 2529, 2535 e 2538. Segundo Little & Caldwell. 1942.