

Caracterização de bioligantes em *Ricinus communis* L. por SEC-UV-VIS

André B. Barreto¹(IC), Luana B. Mellendez²(PG), Thaís L. Braga²(IC), Aída M. B. Bittencourt Filha²(PQ), Emmanoel V. da Silva Filho¹(PQ), Silvana V. Rodrigues²(PQ), Silvia M. Sella²(PQ)*.

¹ Departamento de Geoquímica, Universidade Federal Fluminense, Outeiro de São João Batista, s/n. Centro-24050-150, Niterói, RJ, ggasela@vm.uff.br

² Departamento de Química Analítica, Universidade Federal Fluminense, Outeiro de São João Batista, s/n. Centro-24050-150, Niterói, RJ..

Palavras Chave: extração, proteínas, mamona, SEC-UV-VIS.

Introdução

O estudo de especiação de complexos metálicos em tecidos biológicos é fundamental para o entendimento dos mecanismos de acumulação de metais em análises genéticas e proteômicas. Assim, o objetivo deste trabalho é estudar os processos de extração e separação de proteínas em plantas utilizando SEC com detector UV-VIS; e através da comparação das massas moleculares obtidas com dados da literatura, sugerir os possíveis bioligantes presentes nas plantas. Para tal, cerca de 400 mg (n=4) de amostras de folha e raiz de mamona (*Ricinus communis* L.) foram submetidas a três diferentes soluções extratoras¹. Os extratos obtidos foram filtrados e imediatamente injetados no sistema SEC-UVVIS.

Resultados e Discussão

A calibração da coluna revelou uma excelente correlação ($r^2 = 0.9954$) entre a constante de distribuição (Kav) e a massa molecular dos marcadores.

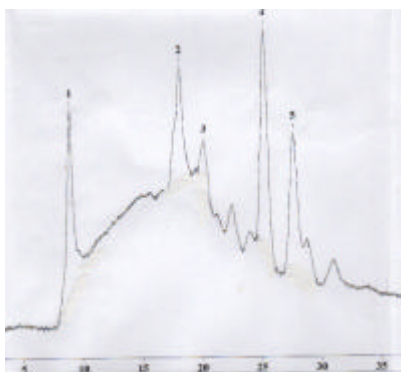


Figura 1. Cromatograma do UV-VIS obtido em coluna Superdex Peptide HR 10/30 do extrato 1 (Tris-HCl, pH=7.4) da amostra de raiz da *Ricinus communis* L.. Cromatógrafo Bischoff, λ 254nm.

A composição qualitativa dos cromatogramas obtidos (exemplificada na Figura 1) após extrações tanto das folhas quanto das raízes foi similar, com o aparecimento de vários picos de proteínas de baixa massa molecular. Destes, 3 picos foram

caracterizados e as massas moleculares obtidas são apresentadas na Tabela 1. Os resultados apresentados referem-se a solução extratora E1, recomendada para remoção de complexos metálicos solúveis em água, a qual apresentou maior intensidade dos picos 2 e 3 comparados aos dados obtidos nos extratos E2 (Tris-HCl + SDS, pH=7,4) e E3 (tampão acetato, pH=4,6).

Tabela 1. Tempo de retenção médio (min, n=3) Kav e massa molecular das proteínas na raiz e na folha de mamona, separadas em coluna Superdex Peptide HR 10/30. E1: Tris-HCl (pH=7.4)

Picos	TR (min)	Kav	MM (Da)
1	8,89	0,004949	> 7000
2	18,2	0,44379	339
3	20,03	0,53005	158

*Kav = $(v_e - v_0) / (v_t - v_0)$ onde v_e volume de eluição, v_0 volume de exclusão, v_t volume de permeação

A faixa de aplicabilidade da coluna está entre 100 a 7000Da. O pico 1 corresponde aos compostos com massa superior a 7000 Da, que foram eluídos no volume de exclusão da coluna. O pico 2 corresponde ao bioligante de massa molecular 339 Da, provavelmente glutatona (GSH), um tri-peptídeo composto de ácido glutâmico, cisteína e glicina. O pico 3 de massa molecular 158Da provavelmente corresponde a um produto de degradação de proteína contendo cisteína¹.

Conclusões

A utilização do sistema SEC-UV-VIS se mostrou adequada para a separação e mapeamento das proteínas na mamona. Estudos estão sendo realizados com objetivo de identificar os metais associados a estas proteínas.

Agradecimentos

Ao PIBIC-CNPq.

¹ Poléc-Pawlak, K.; Ruzik, R.; Abranski, K.; Ciurzynska, M.; Gawronska, H. *Anal. Chem. Acta* **2005**, 540, 61.