

Desenvolvimento de procedimento para extração de proteínas em amostras de tecido bovino visando análises de fracionamento

Rodolfo Carapelli ^{1,2*} (PG), Ana Rita A. Nogueira ^{1*} (PQ) *rcarapelli@pop.com.br

1- Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP. Caixa Postal 339, 13560-970, São Carlos, SP.

2- Grupo de Análise Instrumental Aplicada, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, SP

Palavras Chave: Proteínas, preparo de amostra, tecido bovino.

Introdução

A carne bovina é importante componente para uma dieta saudável, sendo um alimento nutricionalmente denso devido à alta quantidade de proteínas, associada a um baixo valor calórico. É estimado que cerca de 40% de todas as proteínas e enzimas contém íons metálicos na estrutura. Para a análise de metaloproteínas, é necessária a utilização de processos de extração brandos, que não comprometam a estrutura dos compostos, tornando essa uma das etapas mais críticas. Neste trabalho foi desenvolvido e avaliado um método de extração de proteínas em amostras de carne de bovinos, visando a determinação de metaloproteínas¹.

Resultados e Discussão

Foram estudados: tipo (tris-HNO₃ e fosfato) e concentração (1,00 a 10,0 mmol L⁻¹) de tampão, adequados para serem empregados nas extrações. A avaliação dos resultados foi efetuada com o emprego de padrão de ovalbumina, cromatografia de exclusão por tamanho e detecção espectrofotométrica. Na figura 1 são apresentados os resultados obtidos para o tampão Tris-HNO₃, bastante similares aos obtidos para o tampão fosfato.

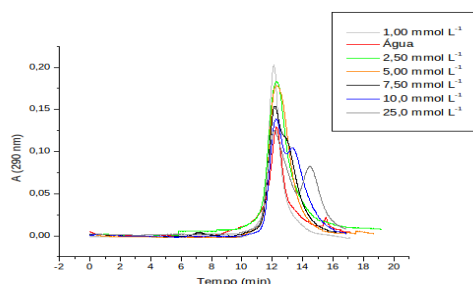


Fig 1. Cromatogramas utilizando tampão Tris-HNO₃

A elevação da concentração do tampão provocou perda de resolução nos picos cromatográficos, até o aparecimento de um segundo pico (a partir de 7,50 mmol L⁻¹), provavelmente produto de degradação. Por isso, optou-se por trabalhar com ambas as soluções na concentração 1,00 mmol L⁻¹. A seguir foi realizado um planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹, sendo tecido de rim bovino liofilizado e moído utilizado como amostra e as respostas obtidas em 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

concentração de proteínas pelo método de Bradford². No planejamento foram avaliados: tempo, tipo e volume de tampão, utilização de temperatura e centrifugação. Os resultados mostraram que somente as variáveis - tipo e volume de tampão foram significativas ao nível de 95%, sendo que tampão fosfato no maior volume (15 mL) foi mais efetivo. Para melhorar a eficiência de extração foi testado o emprego de surfactantes⁴. Foram avaliados um surfactante catiônico (CTABr, CMC 4,00 mmol L⁻¹), um aniônico (SDS, CMC 0,12 mmol L⁻¹) e um não-iónico (TritonX-100, CMC 0,47 mmol L⁻¹) em concentrações 0,5, 1,0 e 2,0 CMC. Os resultados são apresentados na figura 2.

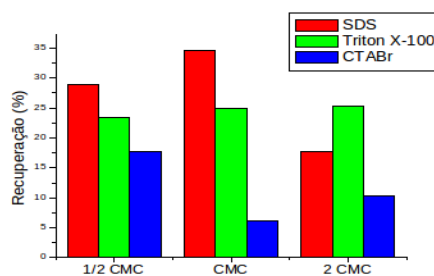


Fig 2. Emprego de surfactantes.

O emprego de SDS com 1,0 CMC foi o mais eficiente. Quando comparado com o método de Kjeldahl (extrapolado para proteína total), conseguiu-se uma extração de cerca de 30% para amostras de rim. Em amostras sem gordura, esse valor chegou a 50%.

Conclusões

Apesar de o método proposto não extrair o total de proteínas, apresenta potencialidade para ser empregado no preparo de amostra de tecido bovino visando análise de fracionamento mineral. Possibilita diminuição de erros de manipulação e a extração de maneira a não degradar as proteínas, fundamental na análise de fracionamento. Visando aumento da eficiência de extração testes com relação ao pH do extrator estão em andamento.

Agradecimentos

CNPq, CAPES, FAPESP

² Garcia, S. G.; Magalhães, C. S., Arruda, M. A. Z. Talanta 2006, 69, 1.

³ Bradford M. M. Anal. Biochem. 1976, 72, 248.