



## **EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS EM TECIDOS VEGETAIS DE CAMU-CAMU**

Bárbara Bianca Silva Lima, Universidade Federal de Roraima, E-mail:

[barbarabianca.lima@gmail.com](mailto:barbarabianca.lima@gmail.com);

Edvan Alves Chagas, Embrapa Roraima, E-mail: [edvan.chagas@embrapa.br](mailto:edvan.chagas@embrapa.br);

Rita de Cássia Pompeu de Sousa, PPG-Bionorte/Embrapa Roraima, E-mail:

[rita.sousa@embrapa.br](mailto:rita.sousa@embrapa.br);

Rosemary Vilaça, Embrapa Roraima, E-mail: [rosemary.vilaca@embrapa.br](mailto:rosemary.vilaca@embrapa.br).

### **INTRODUÇÃO**

Estudar o proteoma do fruto do camu-camu (*Myrciaria dúbia*), em diferentes estádios de maturação possibilita o aprofundamento de conhecimento quanto a fisiologia desse vegetal, gerando perspectivas para a obtenção de produtos biotecnologicamente importantes, através da detecção de proteínas, a qual se dá através de métodos que possibilitem a extração de proteína de tecidos do fruto.

A *Myrciaria dubia*, cresce na margem dos rios e lagos de toda a bacia Amazônica. No Estado de Roraima, Amazônia Setentrional, foram registradas populações naturais a partir de expedições em todos os municípios nos anos de 2010 e 2015, no período seco e chuvoso, em áreas alagáveis, matas ciliares dos rios e seus afluentes, lagos e igarapés (CHAGAS et al., 2015).

Neste contexto, a aplicação de uma abordagem de estudo baseada na análise proteômica diferencial em órgãos distintos de cascas e sementes de *Myrciaria dubia* possibilita a identificação de prováveis proteínas relacionadas a alterações moleculares ligadas ao metabolismo de modo geral em sementes de frutíferas, pois, se houver abundância relativa de proteínas nas amostras analisadas, indica-se uma baixa taxa metabólica nas vias oxidativas e de degradação, normalmente ativadas no processo de pós-colheita dos frutos.

Um dos procedimentos utilizados para detecção de proteínas é por meio da variação de cor da solução quando compostos químicos reagem com proteínas. É ampla a variedade de compostos capazes de reagir com proteínas e formar compostos coloridos. Existem reações de coloração que são específicas para certos grupos funcionais de aminoácidos como, também, existem reações gerais que caracterizam grupamentos comuns a todas as proteínas.

## OBJETIVOS

Objetivou-se com este trabalho extrair e qualificar proteínas da semente do fruto de *Myrciaria dubia* em diferentes estádios de maturação.

## MATERIAIS E MÉTODOS OU METODOLOGIAS

O trabalho foi executado no laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Roraima. As amostras de sementes e cascas foram obtidas de frutos maduros e imaturos oriundos de uma coleção plantas de *Myrciaria dubia* no campo experimental da empresa localizado na região da Serra da Prata, em Mucajaí - Roraima.

Para a extração das proteínas foi aplicado um dos protocolos proposto por Souza (2010), realizando as adaptações necessárias. As cascas e sementes (Figura 1-A e B) foram extraídas dos frutos *in natura*, as quais foram trituradas em nitrogênio líquido. Em seguida foi adicionado em cada amostra de tecido do fruto triturado, solução tampão PBS (solução salina tamponada) e posteriormente as amostras foram incubadas a 24°C por um período de 24 horas (figura 1-B). Após o tempo de incubação as amostras foram agitadas e centrifugadas a 1300 rpm por 10 minutos. Dessa forma se obteve o sobrenadante de cada amostra, o qual continha proteína, sendo comprovada posteriormente por meio de análise qualitativa de proteína.

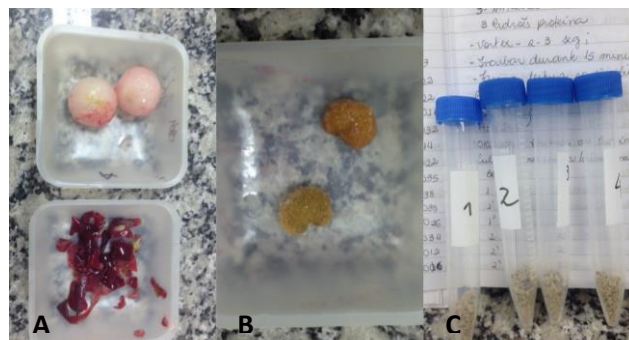


Figura 1: A - casca do fruto camu camu; B - semente do fruto camu camu; C - amostras com solução tampão.

A análise qualitativa de proteínas foi feita com base na alteração de cor da solução. Para o desenvolvimento da mesma, foram utilizados os reagentes hidróxido de sódio e sulfato de cobre. Durante o procedimento foram preparados uma solução de referência com água e três repetições da amostra com proteína de semente de camu-camu. Em cada frasco foi adicionado os dois reagentes citados acima.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 representa o resultado da análise qualitativa. O frasco representado pela letra B contém a solução de referência e os representados pelos números I, II e III são repetições de uma amostra obtida na extração de proteína da semente de *Myrciaria dubia*. Ao ser adicionado na solução de referência o hidróxido de sódio e o sulfato de cobre, a cor da solução foi alterada para azul, as repetições das amostras, ao sofrerem o mesmo tratamento, tiveram sua cor alterada de azul para azul-esverdeado, indicando assim a presença de proteína.

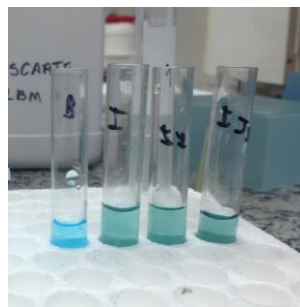


Figura 2: análise qualitativa de proteína.

A melhor preparação da amostra é aquela que utiliza um menor número possível de reagentes com a mínima manipulação (ANDRADE, CELEDÓN e LABATE, 2006). O procedimento aplicado atende essas recomendações, possibilitando informações preliminares e seguras, sobre a presença de proteínas em materiais nativos da Amazônia, caso da *Myrciaria dubia* o qual, cresce na margem dos rios e lagos de toda a bacia Amazônica.

Uma reação geral que caracteriza ligações peptídicas é chamada reação de biureto, nome dado à estrutura originada a partir da decomposição da uréia, quando esta é submetida a uma temperatura de aproximadamente 180°C e que fornece resultado positivo nesse teste (Petkowicz, 2007). O biureto, ao reagir com íons  $\text{Cu}^{2+}$  em meio alcalino, resulta em uma solução de coloração violeta. Sendo que, a intensidade da coloração violeta varia de acordo com a concentração de proteínas na amostra analisada (Figura 2).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos, sendo os mesmos positivos, foram avaliados observando-se a intensidade da coloração, a qual variou de acordo com a concentração de proteínas em



cada amostra. O meio extrator, permite a extração de proteína da semente de forma simples e mais rápida que outros métodos extratores propostos. A partir do extrato obtido, há possibilidade de aplicação do protocolo padrão para determinação da concentração protéica em sementes da *M. dúbia*, com vistas ao fornecimento de dados para avaliação do perfil proteômico desse tecido.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALMEIDA, V. V., CANESIN, E. A., SUZUKI, R. M., PALIOTO, G. F. Análise Qualitativa de Proteínas em Alimentos Por Meio de Reação de Complexação do Íon Cúprico. *Química Nova na Escola*, v. 35, p. 34-40, 2013.

ANDRADE, A.; CELEDÓN, P.A.F.; LABATE, C.A.O proteoma da madeira. *Biociência, Ciência & Desenvolvimento*. Ano IX, No 36. janeiro/junho, 2006. Disponível em [www.biociencia.com.br](http://www.biociencia.com.br). Acesso em janeiro 2014.

CHAGAS, E.A.; LOZANO, R.M.B.; BACELAR-LIMA, C.G.; GARCIA, M.I.G.; OLIVEIRA, J.V.; SOUZA, O.M.; MORAIS, B.S.; CHAGAS, P.C.; ARAÚJO, M.C.R. Variabilidade intraespecífica de frutos de camu-camu em populações nativas na Amazônia Setentrional. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2015 (no Prelo).

SOUZA, A. L. Análise proteômica de semente e pericarpo de guaraná em diferentes estádios de maturação. 2010. 140 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, 2010.