

Extração e caracterização das Kafirinas do sorgo sacarino

Juliana Aparecida Scramin¹; Silvio Fontes²; José Avelino Santos Rodrigues³, Luiz Alberto Colnago⁴; Rubens Bernardes Filho⁴; Lucimara Aparecida Forato⁴

¹Aluna de doutorado em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, ju.biotec08@gmail.com;

²Aluno de graduação de Bacharelado em Química, Universidade São Paulo, São Carlos, SP;

³Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG;

⁴Pesquisador(a), Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

As Kafirinas fazem parte da classe das prolaminas que são proteínas de reserva de cereais. No sorgo são conhecidas como kafirinas e no milho como zeínas. Elas são solúveis em soluções alcoólicas e insolúveis em água devido ao seu alto conteúdo de resíduos de aminoácidos apolares. No sorgo, as kafirinas representam em torno de 70% de suas proteínas totais e de acordo com sua solubilidade elas podem ser classificadas em frações protéicas denominadas kafirinas α , γ , β e δ , sendo as primeiras as mais abundantes, representando cerca de 80 % das kafirinas totais. Elas apresentam duas bandas no gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS/PAGE) com massas relativas (Mr) de 23 e 25 KDa. Contudo, estudos estruturais sobre essas proteínas são escassos, sendo geralmente comparadas à conformação das zeínas. Dados da literatura indicam 40% α -helice para kafirinas em t-butanol 60%. Assim, o objetivo deste trabalho foi extrair as Kafirinas α , caracterizá-las pela SDS/PAGE e analisar as suas estruturas secundárias (ES) no estado sólido, pois são proteínas insolúveis, pela espectroscopia na região do infravermelho (IV). Para isso as Kafirinas α foram obtidas a partir do sorgo sacarino branco, contendo taninos, cedido pela Embrapa Milho e Sorgo. A metodologia de extração consistiu na extração do óleo dos grãos moídos, em soxlet com hexano. A massa residual foi agitada por 6 horas com solução aquosa de NaCl 0,5 mol/L para remoção das albuminas e globulinas. A massa residual foi agitada por 24 horas em etanol 70% e 90%. O etanol 70% foi utilizado, pois há dados na literatura de que este solvente não desnatura as zeínas; testou-se também o etanol 90% devido à maior hidrofobicidade das kafirinas quando comparadas às zeínas. Após evaporação do etanol as proteínas foram liofilizadas. As extrações com etanol 70% e 90% apresentaram rendimento de 8 e 7%, respectivamente. Pela SDS/PAGE observou-se duas bandas proeminentes com Mr de 23 e 25 KDa, representando as Kafirinas α . Assim como na literatura também se observou traços de Kafirinas γ que geralmente são co-purificadas com a fração α . Os espectros de IV das proteínas extraídas foram obtidos sob a forma de pastilha de KBr, e as suas ES foram calculadas por um método de reconhecimento de padrões, utilizando a banda de amida I (1800 a 1600 cm^{-1}). As kafirinas obtidas com etanol 70% apresentaram 45% de α -helice, 20% de folhas β , 24% de voltas e 11% de outras estruturas, e quando extraídas com etanol 90% apresentaram 51% de α -helice, 10% de folhas β , 25% de voltas e 10% de outras estruturas. Este resultado de maior proporção de estruturas helicoidais pode ser atribuído ao aumento da concentração de etanol, que tem efeito indutor de estruturas do tipo α -hélice; além disso, houve uma diminuição relevante das estruturas do tipo folhas β . Isto indica que assim como para as zeínas o etanol 70% é o solvente mais adequado para se extrair as kafirinas, uma vez que a as ES estão próximas as encontradas na literatura.

Apoio financeiro: Embrapa/CNPq (PIBIC)

Área: Biotecnologia / Bioquímica de macromoléculas