

## Análise da conformação de proteínas de reserva do sorgo sacarino por RMN de $^{13}\text{C}$ no estado sólido

*Tatiana S. Ribeiro*<sup>1</sup>

*Manoel Messias P. Miranda*<sup>2</sup>

*Juliana Scramin*<sup>3</sup>

*Lucimara Forato*<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pós-doutoranda em Instrumentação Agropecuária, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, tsantanaribeiro@yahoo.com.br;

<sup>2</sup>Aluno de graduação Engenharia Elétrica, USP, São Carlos, SP;

<sup>3</sup>Aluna de doutorado em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;

<sup>4</sup>Pesquisadora, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) no estado sólido é uma poderosa ferramenta não destrutiva para obter informações sobre os componentes de proteínas e outros diversos materiais. As kafirinas são proteínas de reserva (prolaminas) do sorgo sacarino e podem ser encontradas no endosperma do grão de sorgo, correspondendo à aproximadamente 70 % das proteínas totais do grão. Elas são obtidas de fontes naturais renováveis, são atóxicas e apresentam características altamente hidrofóbicas, o que possibilita o seu uso na formação de filmes comestíveis para o recobrimento tanto de frutos como de outros alimentos. No entanto, devido à sua insolubilidade em água, essas proteínas, não têm estrutura resolvida. O objetivo deste trabalho foi aplicar a técnica de Ressonância Magnética Nuclear no Estado Sólido para estudar as conformações da proteína, extraída por métodos diferentes, dos grãos de sorgo sacarino BR5021. A diferença desta extração está no uso ou não do reagente bissulfito. O espectrômetro de RMN utilizado foi um Varian, modelo Inova 400, campo de 9,4T. Foram obtidos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  em estado sólido com a técnica de polarização cruzada, rotação da amostra no ângulo mágico (CPMAS) e desacoplamento de alta potência. Usou-se um pulso de  $\pi/2$  de 4  $\mu\text{s}$ , tempo de contato de 1ms, 1024 pontos, tempo de repetição de 3s, desacoplador com banda de 60 KHz e janela espectral de 40 KHz. As amostras foram empacotadas em rotores de zircônia de 5 mm e submetidas a uma rotação no ângulo mágico de 8 KHz. Foram obtidos 1000 transientes e os espectros foram filtrados com função de decaimento exponencial ( $I_b = 20$ ). Primeiramente foi realizada a expansão entre os sinais, que foi de  $-165$  ppm a  $-200$  ppm, com o objetivo de visualizar melhor os picos típicos das carbonilas que é sensível às estruturas secundárias da proteína. Como o sinal da carbonila é largo, foi calculada a sua segunda derivada e o ajuste do sinal, para encontrar todos os sinais correspondentes à sua estrutura. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  referente à extração da proteína sem bissulfito observou-se sinais em  $-172$ ,  $174$  e  $176$  ppm, atribuídos à carbonila de estruturas folha- $\beta$ , desordenada e  $\alpha$ -hélice, respectivamente e indicaram que estas kafirinas possuem 84 % de estrutura  $\alpha$ -hélice, 14 % de estruturas desordenadas e 2% de estruturas folha- $\beta$ . Nas extrações com bissulfito observaram-se sinais à  $-172$  e  $176$  ppm, atribuídos às carbonilas de estruturas folha- $\beta$  e  $\alpha$ -hélice respectivamente e indicaram que estas kafirinas possuem 89 % de estrutura  $\alpha$ -hélice e 11 % de folha- $\beta$ . Ambos os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido destas proteínas são típicos de estruturas predominantes do tipo  $\alpha$ -hélice, mas a extração com bissulfito apresentou uma contribuição importante do tipo folha- $\beta$ , além de não apresentar estruturas desordenadas.

**Apoio financeiro:** Embrapa, processo nº 384334/2011-3/Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio.

**Área:** Instrumentação Agropecuária