

QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ELETROFORÉTICA DE PROTEÍNAS DO CASCO DE TARTARUGA

AZEVEDO, T. L.*; STEPHAN, M. P.*; SCARLATO, R.**; SANTOS, A. A.*

*Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro,RJ; **Doutora pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

tatiana@ctaa.embrapa.br

As proteínas naturais vêm despertando interesse pela possibilidade de aplicação na elaboração de filmes biodegradáveis, entre as quais destacam-se as proteínas de soja, o glúten, a gelatina, o colágeno e a queratina. O principal constituinte do casco de tartaruga é a queratina, que pode ser extraída através da quebra das pontes dissulfeto com rompimento das cadeias polipeptídicas. O presente trabalho teve como objetivo quantificar e caracterizar a queratina do casco de tartaruga criada em cativeiro. A extração foi realizada com casco desidratado e moído. As proteínas totais solúveis foram extraídas com uma solução de NaOH (1M) em banho-maria, obtendo-se um teor de proteínas de 2,1%, através da quantificação pelo método colorimétrico de Bradford. A caracterização das proteínas do casco de tartaruga foi realizada por eletroforese SDS-PAGE. As amostras foram obtidas através de duas diferentes extrações: I) tampão fosfato (20mM) pH=7,5/KCl (0,45M) com agitação em “blender” por 2min e II) tampão uréia (8M)/ SDS (0,26M)/ 2-mercaptoetanol (1,66M) em pH=9,0 mantido sob agitação por 1h a vácuo. Os extratos foram filtrados e os sobrenadantes centrifugados a 4000 rpm. Os extratos foram submetidos a diferentes condições de precipitação: acetona, álcool etílico e ácido tricloroacético (20%), visando a concentração das proteínas. As amostras foram aplicadas no gel de poliacrilamida: extrato bruto (sem concentrar) e os três extratos ressuspensos nas mesmas soluções extratoras após precipitação com as diferentes soluções (concentrados). A amostra tratada com o sistema de extração I apresentou migrações no gel (12% acrilamida) semelhantes quando precipitado em acetona e etanol, com aparecimento de bandas difusas percorrendo o topo do gel até a faixa de massa molecular em 50 kDa. É importante ressaltar que para a amostra não concentrada foi observada uma banda menos corada que migrou do topo do gel até a faixa de 70 kDa. Para as amostras tratadas com o sistema II não foram observadas bandas difusas. Apresentando quatro bandeamentos fracamente corados na faixa de 200 a 50 kDa e um intenso bandamento no topo do gel. Estes resultados indicam que a extração realizada no item II teria provocado a quebra das ligações dissulfeto, com rompimento das proteínas, gerando cadeias polipeptídicas de menor tamanho. O método II se mostrou adequado para a extração de proteínas do casco de tartaruga, sendo mais econômico e de maior praticidade, quando comparado a outros, pela possibilidade de substituição da atmosfera de nitrogênio pela utilização da atmosfera de vácuo.

PALAVRAS-CHAVE: casco de tartaruga, proteínas, eletroforese SDS-PAGE