

TESTE DE EFICIÊNCIAS METÓDOS DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DAS FOLHAS DE *Moringa oleifera* Lamark

TEST OF METHODIC EFFICIENCIES OF PROTEIN EXTRACTION OF LEAVES OF *Moringa oleifera* Lamark

¹PEREZ, Isabella Miranda; ²GARCIA, Anderson

¹ Discente do Curso de Ciências Biológicas – Faculdades Integradas de Ourinhos - FIO/FEMM, ² Professor orientador - Faculdades Integradas de Ourinhos - FIO/FEMM

RESUMO

A *Moringa oleifera* Lamarck é a espécie mais conhecida da família Moringaceae. A espécie tem ampla adaptação climática e está entre as fontes vegetais mais ricas, sendo utilizada para diversos fins. A planta, apesar das grandes propriedades e potencialidades já relatadas, ainda passa por diversos estudos, pesquisas e descobertas. O objetivo do presente trabalho foi analisar e comparar o rendimento da extração de proteínas totais das folhas de *Moringa oleifera* Lamarck, utilizando dois diferentes métodos de extração; sacarose/TCA/acetona e glicerol/TCA/acetona. O teor de proteínas totais foi estimado utilizando o método de Bradford. O método sacarose/TCA/acetona obteve rendimento de 1,36mg/mL e o glicerol/TCA/acetona 0,95mg/mL. Diante dos resultados é possível concluir que dentre os métodos aqui avaliados, o mais eficiente na extração de proteínas das folhas de *M. oleifera* é o sacarose/TCA/acetona.

Palavras Chave: Proteínas Totais. Extração de Proteínas. *Moringa oleifera*.

ABSTRACT

The *Moringa oleifera* Lamarck is the best-known species of the Moringaceae family. The species has a wide climatic adaptation and is among the richest vegetable sources, being used for several purposes. The plant, despite the great properties and potentialities already reported, still goes through several studies, research and discoveries. The objective of the present work was to analyze and compare the yield of total protein extraction from *Moringa oleifera* Lamarck leaves using two different extraction methods; sucrose / TCA / acetone and glycerol / TCA / acetone. Total protein content was estimated using the Bradford method. The sucrose / TCA / acetone method yielded 1.36 mg / mL and glycerol / TCA / acetone 0.95 mg / mL. Considering the results, among the methods used, the most suitable for the extraction of total proteins from the leaves of *M. oleifera* is sucrose / TCA / acetone.

Keywords: Protein Yield. Protein Extraction. *Moringa oleifera*.

INTRODUÇÃO

Moringa oleifera Lamarck é considerada uma hortaliça arbórea de pequeno porte e duradoura pertencente à família Moringaceae. A planta tem crescimento rápido, podendo atingir até 12 metros de comprimento, possui caule estreito, casca espessa de cortiça esbranquiçada, longas vagens, frutos secos com sementes aladas, folhas pequenas com trocas anuais, e flores brancas ou creme perfumadas, sendo sua copa aberta em forma de sombrinha (SCHWARTZ, 2000, apud, GUALBERTO, et al., 2014).

A planta é natural do noroeste indiano mas é cultivada em todo o mundo devido a sua tolerância a seca e desenvolvimento e adaptação fáceis à diferentes climas e

tipos de solos, requerendo o mínimo de atenção. No Brasil ela é relativamente recente e teve sucesso no sertão nordestino (SCHWARTZ, 2000, apud, GUALBERTO, et al., 2014).

Seu uso na alimentação e medicina é conhecido desde os tempos antigos pelos povos Egípcios, Indianos, Jamaicanos, Africanos e Norte Asiáticos. Devida às suas propriedades relatadas, a *M. oleifera*, é alvo de vários estudos, dentre eles destaca-se a qualidade nutricional, apresentando o alto teor de carboidratos, proteínas e lipídeos, sendo ácido oleico o ácido graxo mais presente. Também foram identificados alguns constituintes químicos no óleo da planta como fitol, timol, octadecano, ácido hexadecanoico, docosano, tetracosano, 4-hidroxifenil-acetonitrila (GUALBERTO, et al., 2014; JESUS, et al., 2013).

Quanto a suas propriedades medicinais, é relatada a presença de diferentes classes de compostos ativos que tem grande potencial para uso medicinal. O aproveitamento da planta é algo bem interessante pois possuem dessa forma várias utilidades como: propriedade flocculantes e coagulantes, método natural de purificação da água, alimentação, indústria de cosméticos, produção de biodiesel, usos medicinais em que alguns estudos demonstraram sua eficiência em dezenas de doenças: anti-diarréica, anti-inflamatória, anti-microbiana, anti-espasmódica, anti-diabética, diurética e vermífuga, ação anti-tumoral, anti-pirética, anti-piléica, hepatoprotetora, estimulante cardíaco e circulatório, antioxidante contribuem para atividade antipalúdica, entre outros. Mas como os estudos são recentes em sua maior parte a planta é utilizada como forma dieta humana (SOMSAK, 2016, COLOMBO, 2012, apud, JESUS, et al., 2013).

Diante das propriedades apresentadas, o presente trabalho tem por objetivo avaliar dois métodos de extração de proteínas, pré-avaliados e escolhidos por análise da literatura pertinente para estudos proteômicos com *Moringa oleifera* Lamarck.

MATERIAL E METODOS

O desenvolvimento da pesquisa foi realizado através das técnicas experimentais, procedimentos e condutas laboratoriais por Silva e Souza (2009) e Riffel et al. (2012), acrescidos de modificações.

Material Vegetal e preparo

O material foi gentilmente cedido por Elizabete Lopes de Ourinhos – SP. As folhas, previamente lavadas em solução de hipoclorito de sódio 1% e secas em estufa, foram pulverizadas em um béquer na presença de nitrogênio líquido com a ajuda de um almofariz e armazenadas em congelador a -20°C.

Métodos de extração

Foram utilizados dois métodos de extração à saber; Método Sacarose/TCA/acetona (Tris-HCl 40mM; Sacarose 250mM; ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 10mM; fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) 1mM e β -mercaptoetanol 2%) e Método Glicerol/TCA/acetona: Tris-HCl 50mM; Glicerol 5%; KCl 100mM; Triton 4%; PMSF 2mM; β -mercaptoetanol 2%)

Extração das proteínas

Do material pulverizado, foi transferida 1g de massa para dois tubos de micro centrífuga de 50mL e em cada tubo foi adicionado 10mL do tampão de extração correspondente ao método e agitados levemente em banho de gelo por 2 horas. Em seguida o material foi centrifugado a 12.000 rpm por 15 minutos e os sobrenadantes transferidos para outros tubos contendo mais 10 mL de tampão de extração e repetido o procedimento. Os sobrenadantes foram transferidos novamente para novos tubos e adicionado 10 mL da solução de 10% ácido tricloroacético (TCA) em acetona e incubado em refrigerador a -20°C por 24 horas. Passado o período de incubação, os materiais foram centrifugados e lavados três vezes com a solução de TCA/acetona e uma vez com etanol 80%. Os precipitados resultantes foram mantidos em capela de exaustão até a secagem e armazenados a -20°C até seu uso.

Quantificação de proteínas totais

Os precipitados foram ressuspensos em 1 mL de tampão TRIS 10 mM e seguidos para quantificação utilizando o método de Bradford (BRADFORD, 1976).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a quantificação de proteínas totais extraídas foi confeccionada uma curva-padrão (Figura 1) onde utiliza-se soro albumina bovina (BSA) como padrão e a

concentração proteica da amostra calculada através da equação da reta $y=ax+b$, onde "y" é a absorbância e "x" é a concentração.

De acordo com os resultados apresentados na tabela 1, o método sacarose/TCA/acetona obteve rendimento de 1,36 mg/L e o método glicerol/TCA/acetona, 0,95 mg/mL.

Figura 1. Curva-padrão de soro albumina bovina (BSA) para quantificação de proteínas totais.

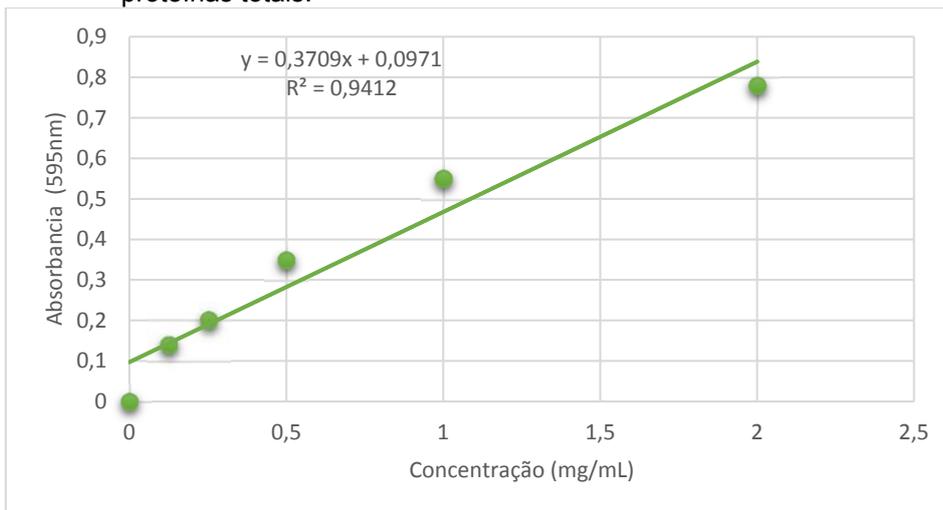


Tabela 1 – Dados da quantificação da extração de proteínas totais pelos métodos testados.

Extrato proteico bruto	Absorbância em 595nm	[] mg/mL
Sacarose/TCA/acetona	0,600	1,36
Glicerol/TCA/acetona	0,450	0,95

Silva (2009), comparou o rendimento da extração de proteínas totais das folhas e raízes de *Piper tuberculatum* utilizando vários tampões de extração, dentre eles, os que obtiveram maior eficiência foram os tampões contendo sacarose e glicerol em sua composição, onde proporcionou um rendimento de 2200 µg/mL e 3256 µg/mL respectivamente.

Riffel (2012), também avaliou diversos métodos de extração de proteínas totais para raízes e folhas de cana-de-açúcar, sendo um deles o método TCA/acetona modificado, onde obteve rendimento de 17,26 e 5,10 mg/g de tecido de folhas e raízes respectivamente.

CONCLUSÃO

Em termos quantitativos, a extração realizada pelo método sacarose/TCA/acetona é maior na extração de proteínas das folhas da *Moringa oleifera* Lamarck. Esses dados corroboram para escolha do melhor método de extração, principalmente para estudos proteômicos.

REFERÊNCIAS

BRADFORD; M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, USA, v. 72, p. 248-254, 1976.

COLOMBO, Moacir. **Moringa Oleífera**. [mensagem eletrônica]. Mensagem recebida por: <pamellatuyuty.tmjr@gmail.com> em 07 jun. 2013.

GUALBERTO, A. F., et al., Características, propriedades e potencialidades da moringa (*Moringa oleifera* Lam.): Aspectos agroecológicos., **Revista Verde**, v 9, n. 5 , p. 19 - 25, dez, 2014

JESUS, A. R., et al, Cultivo da Moringa Oleífera., **Instituto Euvaldo Lodi – IEL/BA**, jul, 2013.

RIFFEL, Alessandro; VIANA, Luciana da Silva; COSTA, João Gomes da; SANT'ANA, Antônio Euzébio Goulart. **Avaliação de Métodos de Extração de Proteínas de Tecido Foliar e Radicular de Cana-de-açúcar para Estudos de Proteômica**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2012. 20 p. (Boletim de Pesquisa/Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1678-1953; 71).

SILVA,, R, S. SOUZA, C. R. B. Extração e análise eletroforética em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de proteínas totais de folhas e raízes de *Piper tuberculatum*. **Acta Amazônica**, v. 39, n.2, p.255-260, 2009.

SOMSAK. V., et al., Antimalarial Properties of Aqueous Crude Extracts of *Gynostemma pentaphyllum* and *Moringa oleifera* Leaves in Combination with Artesunate in *Plasmodium berghei*-Infected Mice., **Hindawi Publishing Corporation Journal of Tropical Medicine**, Volume 2016, Article ID 8031392, 6 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8031392>.