

P 014

CARACTERIZAÇÃO DE CUCURBITÁCEAS (MELANCIA E ABÓBORA): PERFIL ELECTROFORÉTICO DE POLIPÉPTIDOS E CONTEÚDO TOTAL EM ANTIOXIDANTES

Mendrico, T.; Quedas, F. e Pinto, P.

Escola Superior Agrária de Santarém
Quinta do Galinheiro, S. Pedro, 2001-904 Santarém
Contacto: Paula Pinto - e-mail: mpinto@esa-santarem.pt

1. INTRODUÇÃO

O trabalho desenvolvido teve como objectivo comparar as diferentes *accessions* do Banco Português de Germoplasma Vegetal de cucurbitáceas dos géneros *Cucurbita* spp. e *Citrullus lanatus*, de modo a fazer-se uma caracterização qualitativa e quantitativa de diferentes variedades, tendo-se enquadrado no projecto “Recursos Genéticos de Cucurbitáceas – Abóboras e Melancias” (projecto nº 58 da acção 8.1 do programa Agro). Das *accessions* provenientes do Banco Português de Germoplasma Vegetal e semeadas na ESAS, foram recolhidas 68 amostras de melancia (*Citrullus lanatus*) e 6 de abóbora chila (*Cucurbita ficifolia*). Foram ainda analisadas 10 amostras de abóbora menina (*Cucurbita máxima*) provenientes da Universidade do Algarve.

As amostras foram utilizadas para o estudo da variabilidade do perfil proteico entre as diferentes *accessions*. Esse estudo foi efectuado por electroforese em gel de poliacrilamida com SDS.

Nos últimos anos, os consumidores têm vindo a aperceber-se da estreita interligação entre a saúde e a alimentação. Há já um elevado número de estudos que comprovam o benefício da ingestão de antioxidantes presentes nos alimentos. Estudos recentes sugerem que o licopeno, um dos carotenóides mais abundante na melancia, previne o desenvolvimento de alguns tipos de cancro e doenças cardiovasculares (Giovannucci, 2002; Rissanen, *et al.*, 2003). Por essa razão, procedeu-se ainda ao estudo do conteúdo total de antioxidantes nas diferentes *accessions* de melancia e abóbora.

2. METODOLOGIA

2.1. Estudo da variabilidade do perfil proteico entre as diferentes *accessions*

As proteínas das diferentes *accessions* foram extraídas com uma solução tampão Tris-HCl 60 mM a pH 7,5 (extração não desnaturante) e doseadas pelo método de Bradford (1976). As proteínas extraídas foram separadas por SDS-PAGE, sistema descontínuo (Gel de resolução 15% T, gel de concentração 4% T), num sistema Mini-Protean® 3 Cell da BioRad. Os geles foram corados pelo método do nitrato de prata (Blum *et al.*, 1987).

2.2. Estudo do conteúdo total de antioxidantes nas diferentes *accessions* de melancia e abóbora

Os antioxidantes totais das diferentes *accessions* foram extraídos (Djuric e Powell, 2001), obtendo-se duas fracções, uma aquosa e outra orgânica, as quais foram analisadas em duplicados pelo método TEAC – “Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity” através do ensaio de inibição com tempo pré-estabelecido (Rice-Evans e Miller, 1994).

3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

3.1. Estudo da variabilidade do perfil proteico entre as diferentes *accessions*

Analisando a figura 1, referente à análise de diferentes *accessions* de melancia e abóbora pode observar-se que o perfil electroforético das melancias é muito semelhante, no que diz respeito às abóboras, existem diferenças no perfil electroforético das abóboras meninas e chilas. As diferenças observadas parecem ser a nível da quantidade de polipéptidos que podem resultar de ligeiras diferenças na quantidade de proteína aplicada por poço.

Analisando os geles referentes à melancia, observam-se algumas diferenças nas zonas de massas moleculares entre 14 e 21 KDa e entre 31 e 45 KDa, não sendo no entanto muito marcantes. O polipéptido de 18,6 KDa assinalado no gel C parece ser mais acentuado nas amostras dos poços 15 e 17 (correspondentes às *accessions* 6103 e 7826 do BPGV), embora também exista em todas as outras *accessions* analisadas. Os polipéptidos assinalados no gel A não se encontram presentes nas amostras dos poços 1 e 3 (*accessions* 2533 I e 4773 I do BPGV). No perfil electroforético das abóboras meninas (gel D e E) não existem muitas diferenças, notando-se, no entanto, que o polipéptido de 22,9 KDa assinalado no gel A se destaca bastante nesta *accession* não parecendo ser uma consequência da aplicação de uma maior quantidade de proteína nesse poço. Assim como o

polipéptido de 6,9 KDa que se destaca nas amostras 21, 24 e 25 (*accessions* 8301 A, 8301 B e 8288 do BPGV). Os polipéptidos de 14,4 e 13,8 KDa assinalados no gel B destacam-se nestas amostras.

Em relação ao gel F referente às diferentes *accessions* de abóbora chila, pode observar-se que o perfil electroforético é muito semelhante. Algumas diferenças podem ser observadas nas amostras 32 e 35 (*accessions* 31/2002 B e 06648 A do BPGV).

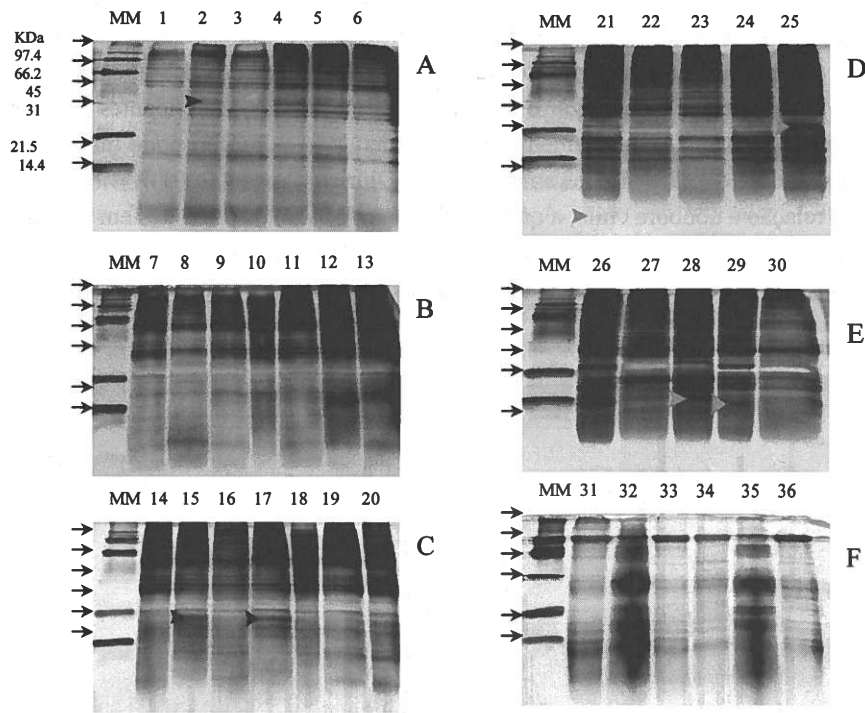


Fig. 1. Análise de diferentes *accessions* de melancia (A, B e C) e abóboras, abóbora menina (D e E) e abóbora chila (F). As proteínas foram separadas por SDS-PAGE num gel de 15% T. MM – Marcadores de massa molecular; Poços 1 a 36 – *accessions* analisadas.

A – A seta indica dois polipéptidos com massa molecular de 33,1 e 32,4 KDa.

C – As setas indicam polipéptidos com massa molecular de 18,6 KDa.

D – As setas indicam polipéptidos com massa molecular de 22,9 e 6,9 KDa.

E – As setas indicam polipéptidos com massa molecular de 14,4 e 13,8 KDa.

3.2. Estudo do conteúdo total de antioxidantes

Os resultados obtidos sugerem a existência de um conteúdo em antioxidantes mais elevado na melancia do que na abóbora (fig. 2). De um modo geral, a fracção orgânica é mais rica em antioxidantes, com excepção das amostras 1, 6, 10, 16 e 30 de melancia (*accessions* 2393, 3353, 4149/A, 5365 A e 7826 do BPGV). Djuric e Powell (2001) no estudo que elaboraram, também obtiveram um conteúdo em antioxidantes mais elevado na fracção orgânica da melancia. No entanto, no caso do tomate, foi observado um maior nível de antioxidantes na fracção aquosa.

Das amostras analisadas, 56% apresentaram um valor nulo de antioxidantes na fracção aquosa. Este facto deriva da grande instabilidade dos antioxidantes, pelo que será necessário optimizar o método de extracção dos antioxidantes de forma a evitar perdas. O congelamento de amostras após extracção pode também ter conduzido à degradação dos antioxidantes (Djuric e Powell, 2001).

Em relação à abóbora chila, a quantidade de antioxidantes presentes em ambas as fracções é praticamente nula em todas as *accessions* analisadas. No entanto observou-se que existem mais antioxidantes na fracção orgânica.

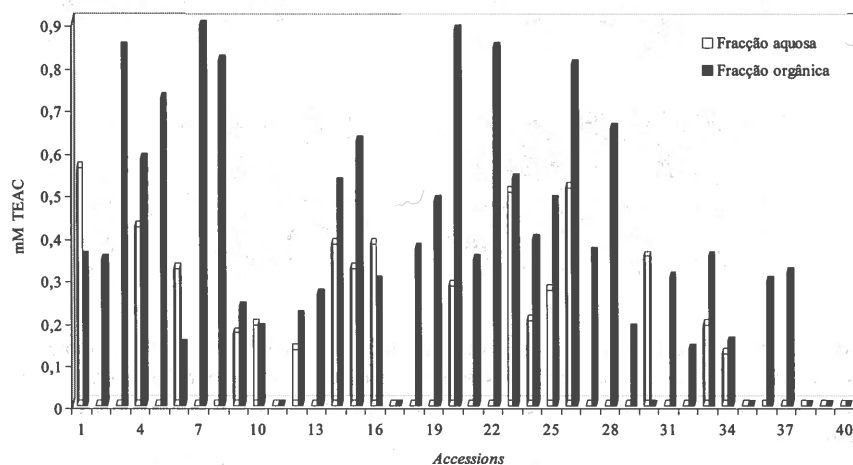


Fig. 2. Comparação da capacidade antioxidante total (mM TEAC) das diferentes *accessions* de melancia e abóbora menina (1 a 30 - melancia, 31 a 40 - abóbora menina).

4. REFERÊNCIAS

- BLUM, H., BEIER, H., GROSS, H.J. (1987), *Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels*. Electrophoresis **8**, 93-99.
- BRADFORD, M. M. (1976), *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-Dye Binding*, Anal. Chem. **72**, 248-254.
- DJURIC, Zora & POWEL, Lakesha C. (2001), *Antioxidant capacity of lycopene – containing foods*, International Journal of Food Sciences and Nutrition **52**, 143-149.
- GIOVANNUCI E. (2002), *A review of epidemiologic studies of tomatoes, lycopene, and prostate cancer*, Experimental Biology and Medicine **227** (10), 852-859 in página da Internet (consulta realizada em 24/03/03).
- RICE-EVANS, Catherine & MILLER, Nicholas J. (1994), *Total antioxidant status in plasma and body fluid*, Methods in Enzymology **234**, 279-293.
- RISSANEN T. H., VOUTILAINEN S., NYSSONEN K., SALONEN R., KAPLAN G. A., SALONEN J. T. (2003), *Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor study*, American Journal of Clinical Nutrition **77** (1), 133-138 in página de Internet (consulta realizada em 24/03/03).