

# 11º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS

16 a 20 de Outubro de 2011  
Campos do Jordão - SP



## ANÁLISE CONFORMACIONAL DA GLIADINA POR ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO.

Andresa C. Ribeiro<sup>\*</sup>, Rosane M. D. Soares<sup>1</sup>, Nádyá P. Silveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>\* - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Campus do Vale, Rio Grande do Sul - RS  
Avenida Bento Gonçalves, 9500; 91501-910 Porto alegre - RS - [desa.ribeiro@bol.com.br](mailto:desa.ribeiro@bol.com.br)

**Resumo:** A gliadina, proteína do glúten, é um biopolímero de grande interesse industrial, muito utilizada na confecção de biomateriais. Além disso, esta proteína tem sido sugerida como responsável pela toxicidade conhecida como doença celíaca. Por esta razão, neste trabalho, a mesma foi analisada em solução de dimetilsulfóxido (DMSO) e etanol/água 60/40% (v/v) simulando o pH gástrico (1,2) e intestinal (6,8). A conformação desta proteína em solução foi analisada usando a técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS). A técnica utilizada forneceu informações sobre o tamanho das partículas e o índice de polidispersão. Observou-se um acréscimo no tamanho das partículas ao se aumentar o pH das amostras nas soluções analisadas.

**Palavras-chave:** gliadina, conformação, pH, espalhamento dinâmico

### *Gliadin conformation analysis by dynamic light scattering*

**Abstract:** The gliadin, gluten protein, is a biopolymer of great industrial interest, widely used in the biomaterial manufacture. Moreover this protein has been suggested as responsible for toxicity known as celiac disease. The same was examined in a solution of dimethylsulfoxide and ethanol/water 60/40% (v/v) in gastric (1.2) and intestinal (6.8) pH. The conformation of this protein in solution was analyzed using the technique of dynamic light scattering. The technique provided information on the particle size and polydispersity. There was an increase in particle size by increasing the pH of the samples analyzed in the solutions.

**Keywords:** gliadin, conformation, pH, dynamics scattering

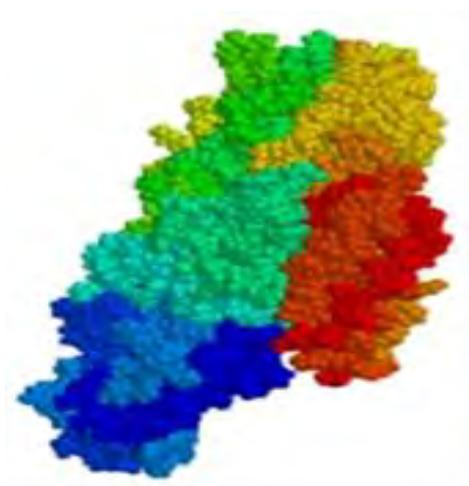
### Introdução

A gliadina é uma proteína do glúten de grande interesse industrial, como revelado pelos inúmeros trabalhos realizados sobre este biopolímero [1]. A mesma possui uma nomenclatura geral baseada em sua mobilidade eletroforética em pH ácido:  $\alpha$ -gliadina,  $\beta$ - gliadina,  $\omega$ - gliadina e  $\gamma$ -gliadina [2]. As  $\beta$ -gliadinas,  $\alpha$ -gliadinas e  $\gamma$ -gliadinas possuem características estruturais semelhantes, consistindo de domínios repetitivos N-terminal e não-repetitivos C-terminal, com três ou quatro ligações dissulfeto intramoleculares. Já a  $\omega$ -gliadina é estruturalmente distinta, sendo formada por um único domínio repetitivo sem resíduos de *L*-cisteína e, conseqüentemente, sem ligações dissulfeto. [3]. Sua sequência peculiar (rica em prolínas e glutaminas) e estrutura têm sido sugeridas como responsável pela toxicidade conhecida como doença celíaca. Esta doença é caracterizada por atrofiar totalmente ou parcialmente a mucosa do intestino delgado, causando uma má absorção dos alimentos em determinados indivíduos [1]. Estudos têm mostrado que a interação da gliadina com polissacarídeos (entre eles dextrina e goma arábica) podem afetar a estrutura secundária da mesma

[4]. Futuramente deseja-se observar a interação entre a gliadina um polissacarídeo (o amido) usando-o talvez, como um “sequestrante”, diminuindo a toxicidade da proteína no organismo. Desta forma, a partir da análise conformacional da proteína mais facilmente será a compreensão de sua interação com outras moléculas.

Além disso, sendo um biopolímero, esta proteína pode ser usada na fabricação de biomateriais e vários estudos sugerem sua aplicação em filmes comestíveis, na confecção de embalagens, na preparação de nanopartículas para liberação controlada de drogas, entre outros [1,3].

Estudos recentes evidenciam que a estrutura da gliadina e/ou suas frações não é/são completamente conhecida (s) (fig. 1) o que a torna muito interessante sob o ponto de vista científico em diversas áreas [5].



**Figura 1:** Representação da estrutura tridimensional da gliadina [6].

Argumentos teóricos e experimentais em estudos envolvendo partículas em solução sugerem que interações entre partículas, o meio solvente e o pH podem levar a uma re-estruturação do material [7]. Esta re-estruturação pode levar a um aumento da dimensão da partícula através de agregação ou diminuição de seu tamanho [8].

Visando avaliar e conhecer a conformação da gliadina em solução utilizou-se a técnica de espectroscopia de espalhamento de luz dinâmica (DLS). A técnica de espalhamento de luz foi escolhida, pois é considerado um método não destrutivo para o estudo de fluidos complexos, ou seja, soluções de polímeros e biopolímeros, suspensões coloidais, sistemas micelares e nanopartículas de uma forma geral. É uma técnica muito importante, pois dimensiona partículas (em solução ou suspensão) com tamanhos entre 2 nm e 500 nm. A partir dela é possível se determinar o índice de polidispersão (PD.I), o coeficiente de difusão e o raio hidrodinâmico (Rh) da partícula espalhante [9].

Então, o objetivo deste trabalho, é avaliar o tipo de conformação encontrada para a proteína nos solventes dimetilsulfóxido (DMSO) e solução aquosa de etanol 60% (v/v) nos pHs gástrico (1,2) e intestinal (6,8).

## Experimental

### *Material*

As amostras de gliadina (composta por suas subfrações conhecidas como  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\omega$ - e  $\gamma$ -) (Sigma Aldrich<sup>®</sup>) foram utilizadas sem qualquer purificação. Os demais reagentes utilizados apresentam grau analítico.

### *Métodos*

As amostras analisadas neste trabalho foram obtidas pela dissolução do biopolímero em estudo (gliadina) na concentração de 250 mgL<sup>-1</sup> nos solventes dimetilsulfóxido (DMSO) e também solução de etanol/água 60/40% (v/v). As soluções foram mantidas sob agitação por 36 h (para as amostras em DMSO) e 24 h (soluções em etanol 60%), todas à temperatura de aproximadamente 50°C. Após completa dissolução, ajustou-se o pH das soluções para 6,8 (pH intestinal) e para 1,2 (pH gástrico). Após, as mesmas foram centrifugadas e reservadas para serem usadas na técnica de espalhamento de luz.

## Resultados e Discussão

As tabelas 1 e 2 mostram os valores de raio hidrodinâmico em função do pH nos dois solventes analisados.

**Tabela 1.** Influência do pH sobre o raio hidrodinâmico e índice de polidispersão para solução aquosa de etanol 60%

<b>Amostra</b>	<b>Rh (nm)</b>	<b>Erro (<math>\pm</math>)</b>	<b>Índice de polidispersão</b>	<b>Erro (<math>\pm</math>)</b>
<b>pH 6,8</b>	445,06667	5,8657	0,30567	0,01721
<b>pH 1,2</b>	162,53333	5,97188	0,424	0,02594

**Tabela 2.** Influência do pH sobre o raio hidrodinâmico e índice de polidispersão para solução de DMSO

<b>Amostra</b>	<b>Rh (nm)</b>	<b>Erro (±)</b>	<b>Índice de polidispersão</b>	<b>Erro (±)</b>
<b>pH 6,8</b>	613,46667	5,76223	0,51	0,03635
<b>pH 1,2</b>	471,36667	5,48511	0,625	0,007

De maneira geral, foi observado que ocorre um aumento no raio hidrodinâmico da partícula com o aumento do pH. No entanto, ocorre paralelamente uma redução na polidispersão (PD.I) das mesmas. Cabe ressaltar que para o solvente etanol/água 60/40% (v/v) tanto o aumento do tamanho da partícula como a diminuição da polidispersão ocorreu de forma mais significativa.

O raio hidrodinâmico reflete o tamanho aparente da partícula levando-se em conta sua hidratação e solvatação [9]. O comportamento observado revela que o tamanho das partículas de gliadina está intimamente relacionado à variação de pH e também ao solvente utilizado. A diminuição do pH provoca a formação de agregados ao sistema. Nota-se também que nas amostras que estão na presença de etanol/água 60/40% (v/v) esta agregação é muito mais evidente. Já o índice de polidispersão (PD.I) está relacionado com a homogeneização da partícula com o solvente. Um decréscimo na polidispersão significa uma melhor homogeneidade da partícula (PD.I < 0,3 indicam a formação de um sistema monodisperso [10].

Análises de intensidade de luz por espalhamento de luz também foram realizadas e as taxas de contagem estão registradas na Tabela 3.

**Tabela 3:** Medidas de intensidade

<b>Amostra (na concentração 250 mgL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Intensidade (90°)</b>	<b>Intensidade (45°)</b>
<b>Gliadina em DMSO (pH 6,8)</b>	4,57 kcps	23,93 kcps
<b>Gliadina em DMSO (pH 1,2)</b>	4,17 kcps	24 kcps
<b>Gliadina em etanol/água 60/40% (v/v) (pH 6,8)</b>	92,57 kcps	331,4 kcps
<b>Gliadina em etanol/água 60/40% (v/v) (pH 1,2)</b>	5,0 kcps	15,3 kcps

A taxa de contagem é proporcional à intensidade de luz espalhada e pode mudar devido a alterações na estrutura da membrana, no tamanho ou nas concentrações de partículas [10]. No caso em estudo,

pode-se supor que ao se reduzir o pH das amostras de gliadina, houve uma redução no tamanho nas mesmas. Ao se reduzir o tamanho, houve uma diminuição na taxa de contagem, conseqüentemente na intensidade da luz espalhada. Isso ocorre, pois ao se medir a taxa de contagem se mede o volume de espalhamento cilíndrico nele sofrido. Desta forma, ao se reduzir o tamanho, o volume também diminui e conseqüentemente a intensidade de luz espalhada. Nota-se que esta diminuição na taxa de contagem não foi significativa nas amostras dissolvidas em DMSO. Possivelmente devido a diminuição de tamanho não ter sido muito evidente comparada as amostras em solução aquosa de etanol 60%.

### **Conclusões**

A partir dos resultados alcançados é possível concluir que o aumento do pH acarretou um aumento no tamanho das partículas de gliadina nos dois solventes analisados. Esta alteração no tamanho ficou mais evidenciada nas amostras dissolvidas em solução aquosa de etanol 60%. Além disso, houve um decréscimo no índice de polidispersão das soluções neste aumento de pH, o que favoreceu a formação de um sistema monodisperso. Análises de intensidade também foram realizadas e comprovaram os resultados anteriores, visto que houve um acréscimo na taxa de contagem durante o aumento de pH. Estes resultados ainda estão sob investigação e para que a conformação da proteína em estudo seja melhor compreendida, diversos estudos ainda estão sendo conduzidos e serão utilizados para melhor compreensão do sistema gliadina-amido em solução.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem a Capes e ao CNPq pelo suporte financeiro.

### **Referências Bibliográficas**

1. F. Secundo, N. J. Guerriere, N., *J. Agric. Food Chem.* 2005, v. 53, p. 1757 – 1764.
2. A. Donald, M. D. Antonioli. *Mod Pathol* 2003; 16(4): 342-346.
3. R. M.D. Soares, Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008
4. L. Liang, M. Pinier, J. Leroux, M. Subirade. *Biopolymers*, 2008, v. 93, n. 2, p. 169 – 178.
5. R. M. D. Soares; V. Soldi, *Material Science and Engineering*, 2010, p. 691 698.
6. *Absolute Astronomy*. Disponível em: <<http://www.absoluteastronomy.com/topics/Gliadin>>, acesso em: 07 mai, 2010.
7. Y. Tu, Y. Luo, H. Ågren,; *J. Phys. Chem.* 2005, 109, 16730.
8. F. C. Giacomelli, N. P. Silveira, P. Stepanek, *Macromolecules* 2009, 42, 3818.

9. N. P. Silveira, F. C. Giacomelli, UFRGS, 2008, p. 93,
10. N. Michel, A. S. Fabiano, A. Polidori, R. Jack, B. Pucci. *Chemistry and Physics of Lipids* 2006, 139 p. 11–19.