

2 – DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS EM PLANTAS FORRAGEIRAS:

(XI) – *Setaria sphacelata* (Schum). Staf e *Sorghum sudanensis*

INTRODUÇÃO

Dando seqüência ao estudo da composição dos aminoácidos livres e daqueles resultantes da hidrólise das proteínas, os autores analisam a *Setaria sphacelata* e o *Sorghum sudanensis* (TENÓRIO, 1968).

MATERIAL E MÉTODOS

As duas forragens, recém-colhidas, foram homogeneizadas em liquidificador na proporção de 160 g para 600 ml de água deionizada durante 30 minutos, separando-se o líquido por prensagem.

a) Aminoácidos livres (CASCON, 1955)

O líquido obtido foi centrifugado e o sobrenadante tratado com acetona gelada para uma concentração final de 70%. A mistura foi colocada no refrigerador durante duas horas e, em seguida, centrifugada a fim de eliminar o precipitado. O sobrenadante foi evaporado à secura em banho-maria e a vácuo e dissolveu-se o resíduo com água deionizada para um volume final de 5 ml.

b) Hidrólise das proteínas (CASCON, 1955)

O resíduo obtido na prensagem foi submetido à hidrólise ácida.

Dentre os métodos citados na literatura (BLOCK et Ali., 1958) escolhemos o refluxo com HCl e ácido fórmico a 90% (v/v) durante 24 horas, utilizando 10 ml da mistura para cada grama de material. Concluído o tempo de hidrólise, filtramos e evaporamos à secura, dissolvendo o resíduo com água deionizada, completando o volume para 5 ml.

Em virtude de a hidrólise ácida levar à decomposição total do triptófano, foi feita uma hidrólise alcalina sob refluxo, utilizando-se uma solução de hidróxido de bário a 14% (10 ml/g), durante 24 horas. Concluída a hidrólise, neutralizamos com ácido sulfúrico 1N e separamos o precipitado por centrifugação. Evaporamos à secura e o resíduo foi dissolvido em isopropanol a 10%, completando-se o volume para 2 ml.

c) Separação dos aminoácidos.

As soluções obtidas no final da extração dos aminoácidos livres e da hidrólise ácida foram cromatografadas em colunas de Dowex 50W-X12, forma H (20 x 1 cm). Inicialmente foram passados 500ml de água deionizada e em seguida os aminoácidos foram eluídos com 250 ml de hidróxido de amônio 5N. A solução amoniacal foi evaporada à secura e o resíduo dissolvido com isopropanol a 10% para um volume final de 2 ml.

Os cromatogramas foram todos desenvolvidos à temperatura de 25°C, utilizando-se papel Whatman nº 1. Inicialmente foram realizados cromatogramas monodimensionais em n-butanol, ácido acético e água (4:1:1) com a finalidade de determinar a quantidade adequada de solução para ser aplicada nos cromatogramas bidimensionais.

Estes cromatogramas foram revelados com uma solução de ninhidrina a 200 mg% em acetona com 0,5% de ácido acético, seguindo-se aquecimento em estufa a 100°C durante 5 minutos.

Os cromatogramas bidimensionais foram desenvolvidos com n-butanol, ácido acético e água (4:1:1) e em fenol, água e amônia na segunda direção (MaC FARREN, 1960).

Outros cromatogramas foram desenvolvidos para confirmação de alguns aminoácidos por revelação com reativos e também para separação de metionina da valina e da leucina e isoleucina, que não apresentam boa separação nos cromatogramas bidimensionais.

Foram realizados os reativos de Sakaguchi (CARRAZZONI et al., 1970) para a revelação da arginina, de Pauly (BLOCK et al., 1958) para tirosina e histidina, isatina a 200 mg% em acetona (MaC FARREN, 1960) seguindo-se aquecimento a 100°C durante 5 minutos, para prolina e hidroxiprolina, de Ehrlich para identificação do triptófano, utili-

zando-se a solução em isopropanol a 10% originária da hidrólise alcalina.

Para separação da metionina da valina, utilizamos a mistura butanol terciário, metanol e água (4:5:1). A separação da leucina da isoleucina foi obtida com butanol normal tamponado a pH 12 (CASCON, 1955).

RESULTADOS

Os aminoácidos detectados encontram-se explicitados nos Quadros I e II.

QUADRO I Aminoácidos da *Setaria sphacelata*.

AMINOÁCIDOS	Floração		juvenil-indutivo	
	livres	após hidrólise	livres	após hidrólise
Ácido aspártico	1	3	—	4
Âc. gama-aminobutírico	—	4	—	—
Ácido glutâmico	2	2	2	4
Alanina	3	4	3	4
Arginina	2	1	1	2
Asparagina	—	2	1	2
Cistina ou cisteína	—	1	—	—
Fenilalanina	2	2	—	—
Glicina	2	2	1	2
Histidina	—	—	—	2
Isoleucina	2	1	—	—
Leucina	2	1	—	1
Lisina	1	1	2	2
Metionina	—	1	—	1
Prolina	2	1	—	2
Serina	2	2	1	3
Treonina	2	1	1	—
Triptófano*	—	—	—	2
Valina	2	2	—	1
Glicosamina	—	2	—	—

* Constatado após hidrólise alcalina.

+ O número destas representa uma relação semi-quantitativa dos aminoácidos, obtido pela intensidade de cor nos cromatogramas.

QUADRO II – Aminoácidos do *Sorghum sudanensis*.

AMINOÁCIDOS	Floração		Juvenil-indutivo	
	livres	após hidrólise	livres	após hidrólise
Ácido/aspártico	2	1	3	4
Ác. gama-aminobutírico	2	—	—	3
Ácido glutâmico	3	—	3	4
Alanina	4	3	3	4
Arginina	1	2	1	2
Asparagina	1	—	—	4
Cistina ou cisteína	—	—	—	1
Fenilalanina	1	2	2	2
Glicina	2	3	2	3
Histidina	—	—	—	2
Isoleucina	1	2	2	2
Leucina	1	2	2	2
Lisina	1	2	2	2
Metionina	2	2	1	1
Prolina	—	1	1	4
Serina	1	2	2	2
Tirosina	—	—	—	2
Treonina	1	2	1	2
Triptófano*	—	1	4	4
Valina	2	2	2	2
Glicosamina	2	—	—	2

* Constatado após hidrólise alcalina.

+ O número delas representa uma relação semi-quantitativa dos aminoácidos, obtido pela intensidade de cor nos cromatogramas.

DISCUSSÃO

a) *Setaria sphacelata*

Observando o Quadro I nota-se a ausência da tirosina em ambos os estádios. No estágio juvenil-indutivo está ausente o ácido gama-butírico, cistina ou cisteína fenilalanina e a glicosamina, enquanto que no estágio de floração está ausente a histidina e o triptófano.

b) *Sorghum sudanensis*

O Quadro II indica a ausência da cistina ou cisteína, histidina e tirosina no estágio de floração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BLOCK, R.J. et alii. **Paper chromatography and paper electrophoresis**. New York, Academic Press, 1958.
2. CARRAZZONI, E.P. et alii. Determinação de aminoácidos em plantas forrageiras. I – *Pennisetum purpureum* Schm. Var. Merker. Publicação avulsa do Inst. Biociências UFPE, 1970.
3. CASCON, S.C. Os aminoácidos do mate. **Bol. Instituto de Química Agrícola do Rio de Janeiro**, (38), 1955.
4. MacFARREN, E.F. Buffered filter paper chromatography of the aminoacids. **Analysis chemistry**, 23(168), 1960.
5. TENÓRIO, E.C. **Gramíneas do município do Recife**. Recife, Secretaria da Agricultura, 1968.