

Análise eletroforética da farinha de trigo sarraceno em comparação com a farinha de trigo suave

M.L.P. de Francischi¹, J.M. Salgado¹, M.T.V. Carvalho², y E. Derbyshire¹

RESUMO. A composição das proteínas álcool solúveis (prolaminas) obtidas das farinhas de trigo sarraceno e trigo suave por dois procedimentos foram analisadas por eletroforese a pH 3,1 e, após dissociação, na presença de dodecil sulfato de sódio a pH 8,0. Os perfis obtidos da fração prolamina do trigo sarraceno foram muito diferentes tanto qualitativamente como quantitativamente daqueles da prolamina, do trigo suave. Parece, portanto, provável que os efeitos adversos associados com dietas alimentares contendo gliadina de trigo a pacientes celíacos seriam reduzidos e possivelmente evitados se a farinha de trigo fosse substituída pela farinha de trigo sarraceno.

SUMMARY. *Electrophoretic analysis of meal of buckwheat in comparison with common wheat flour.* The composition of the alcohol soluble proteins (prolamins) obtained from buckwheat meal and common wheat flour by two procedures were analysed by electrophoresis at pH 3.1 and, after dissociation, in the presence of sodium dodecyl sulphate at pH 8. The profiles obtained from the prolamin fraction of buckwheat were very different, qualitatively and quantitatively, from those of the prolamin of common wheat. It is probable therefore that the adverse effects associated with the presence of wheat gliadin in diets of patients with celiac disease would be reduced and possibly avoided if wheat flour was substituted by flour from buckwheat

INTRODUÇÃO

O trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum*, Moench) é uma planta herbácea da família Polygonaceae e não possui qualquer afinidade botânica com as gramíneas. Embora denominada «trigo» ela não apresenta analogia morfológica com o trigo comum, quer pela coloração, quer pela conformação do grão (noz triangular) (1).

A conotação dada ao trigo sarraceno como cereal é devido a similaridade das características do seu grão com a dos cereais típicos, tanto quanto a predominância do teor amiláceo como a utilização alimentar dada aos seus grãos.

A doença celíaca, também conhecida como enteropatia sensível ao glúten, esprú-celíaco ou esprú não tropical, é uma doença caracterizada por danos à mucosa do intestino delgado e má absorção, o que compromete a utilização de vários nutrientes pelo organismo (2).

É uma enfermidade de caráter genético que é ativada, em indivíduos susceptíveis, pela ingestão do glúten de trigo e

proteínas similares (prolaminas) de outros cereais como aveia, centeio e cevada. Mais precisamente, é a fração gliadina contida no glúten a responsável por distúrbios no metabolismo das células epiteliais do intestino delgado produzindo uma alteração funcional global das mesmas através de mecanismos ainda não esclarecidos (3).

Como o trigo sarraceno, botanicamente não é um cereal, não se espera que contenha prolaminas tóxicas (4). Além disso, sua principal proteína é uma globulina, é nutricionalmente superior à dos cereais (5,6).

Neste estudo as composições das proteínas solúveis em etanol (prolaminas) obtidas de trigo sarraceno por dois procedimentos foram analisadas por eletroforese e comparadas com a composição da prolamina do trigo suave.

MATERIAL E METODOS

Os grãos de trigo sarraceno foram fornecidos pela Cooperativa Tritícola Mista Vacariense Ltda., Vacaria, RS. Os grãos foram triturados num moinho Buhler-Miag, mod. MLV-202 e obteve-se uma fina farinha quase branca. A farinha de trigo suave, foi obtida no comércio local.

Uma porção da farinha de trigo sarraceno foi agitada em etanol 70% (1g farinha/20 ml) a temperatura ambiente por 1 hora e o material insolúvel foi removido do extrato por centrifugação a 20.000 x g a 4°C por 30 minutos. Porções da

1 Setor de Nutrição Humana e Alimentos, Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz» - Universidade de São Paulo, Cx. Postal 09, Piracicaba, São Paulo, Brasil. CEP 13.418-900.

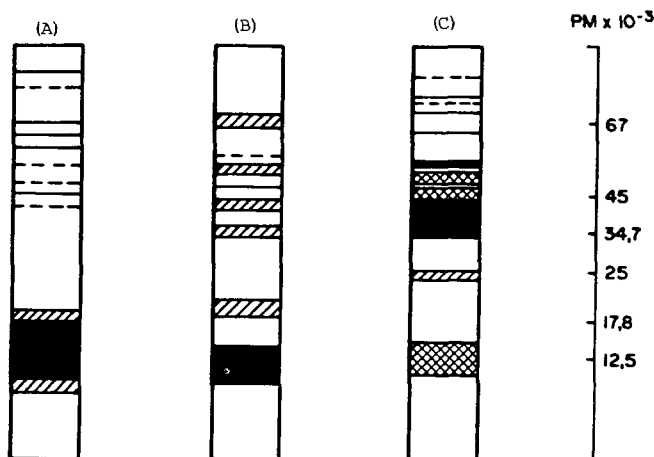
2 Seção de Biologia de Proteínas Vegetais do Centro de Energia Nuclear na Agricultura-CENA, Universidade de São Paulo, Cx. Postal 96, Piracicaba, São Paulo, Brasil. CEP 13.418-900.

mesma farinha e da farinha de trigo foram agitadas em NaCl 10% (1g farinha/20ml), a temperatura ambiente por 1 hora, centrifugadas e submetidas a re-extrações por duas vezes, nas mesmas condições. O resíduo foi então extraído por duas vezes com etanol 70% sob as mesmas condições. Os extratos alinos sucessivos contendo proteínas albumínicas e globulínicas foram combinados entre si, bem como também o foram os extratos alcoólicos contendo as prolaminas (7).

As concentrações proteicas foram determinadas pelo método de Bradford (8). A eletroforese das frações de prolamina na ausência de agentes dissociantes foi feita em géis de poliacrilamida (7,5% em acrilamida) usando-se o sistema sódio-lactato, pH 3,1 adaptado do método descrito por Barriga et al (9), após a concentração das amostras de trigo sarraceno por diálise. O indicador verde de metila foi adicionado às amostras como um marcador e uma pré-corrída foi efetuada a 15 mA por 20 minutos. A separação eletroforética foi iniciada a 5 mA por 1 hora completada a 17 mA por 6 horas. A eletroforese sob condições dissociantes foi realizada em géis de poliacrilamida (12,5%) sob as condições de Laemmli (10). As amostras foram dissociadas em dodecil sulfato de sódio 0,2%, 2-mercaptoetanol 0,01M sob aquecimento por 10 minutos. Da mesma maneira foram também tratadas as proteínas de pesos moleculares conhecidos: albumina de soro bovino (PM 67.000), ovoalbumina (PM 45.000), pepsina (PM 34.700), quimotripsinogênio (PM 25.000). A eletroforese foi iniciada com uma corrente constante de 10 mA até o marcador azul de bromo-fenol atingir o gel de pequenos poros e foi completada a 30 mA por aproximadamente 3 horas. As proteínas separadas foram coradas com Coomassie Blue 0,05% por uma noite.

FIGURA 1

Perfis eletroforéticos de extratos proteicos de trigo sarraceno e de trigo obtidos sob condições dissociantes:
a) trigo sarraceno extraído com etanol 70%, b) trigo sarraceno extraído com etanol 70% prévia extração com NaCl, c) trigo, extraído como em b)



RESULTADOS E DISCUSSAO

Quantidades iguais de proteína ($1,13 \pm 0,01$ mg/g de farinha) foram extraídas de farinhas de trigo sarraceno por extração direta com etanol e pela extração com etanol após extensiva extração prévia da farinha com NaCl 10%. Esta quantidade é apenas ligeiramente menor do que aquela ($1,4$ mg/g de farinha) calculada dos dados apresentados para a fração prolaminica de trigo sarraceno por Skerrit (7), e confirma o baixo teor desta proteína na farinha desta espécie. A proporção das proteínas álcool solúveis em relação às proteínas salino solúveis (1:25) também foi muito baixa, em concordância com as observações de Tahir & Farraq (11). Esses autores, realizaram análises quantitativas da várias frações proteicas e verificaram que os grãos de sarraceno geralmente contém um baixo conteúdo de prolamina e um elevado teor de albuminas + globulinas o que os difere dos cereais que contém prolaminas como sua principal fração proteica.

As proteínas álcool solúveis das duas preparações de trigo sarraceno também diferiram da prolamina do trigo suave durante a eletroforese em géis de poliacrilamida num sistema de lactato de sódio a pH 3.1. Enquanto que a fração do trigo suave produziu um perfil característico e bem definido sob condições ácidas, o trigo sarraceno não entrou no gel. Skerrit (7) também não obteve resultados eletroforéticos satisfatórios para as proteínas álcool solúveis de trigo sarraceno sob as mesmas condições e relatou que mesmo num gel a 3% em acrilamida uma proporção substancial da proteína não conseguiu entrar no gel. Em nossos experimentos observamos que uma pequena quantidade do marcador verde de metila aplicado com as amostras de trigo sarraceno migrou em direção ao ânodo na fase inicial da eletroforese. Isto não ocorreu com o marcador aplicado com as amostras de trigo suave e pode ser indicativo da possível presença nas frações de trigo sarraceno de uma proteína altamente ácida (pH menor que 3.1) que se complexaria com o verde de metila. É interessante salientar que um fenômeno similar foi observado com um extrato alcoólico obtido de arroz (Derbyshire et al, não publicado).

Pequenas diferenças foram observadas entre as duas preparações de trigo sarraceno quando estas foram examinadas por eletroforese sob condições dissociantes (Fig. 1). O perfil da amostra extraída diretamente com etanol incluiu dois componentes com PMs maiores que 67.000 daltons e estes não foram detectados na outra preparação. Também, as intensidades relativas das bandas menos proeminentes diferiram entre as preparações. Mais evidentes foram as diferenças observadas entre os perfis de prolamina do trigo sarraceno e do trigo comum sob as mesmas condições (Fig. 1). O componente dominante nos perfis das duas preparações de prolamina do trigo sarraceno tiveram aproximadamente PM de 12.000 daltons enquanto que no perfil da prolamina de trigo a principal banda corresponde ao PM de 35.000 daltons. Além

disso, os perfis de trigo sarraceno contiveram três ou quatro bandas que não foram visualmente detectadas no perfil de trigo que por sua vez apresentou bandas ausentes das preparações de sarraceno.

Por outro lado, pelo menos cinco bandas, incluindo-se o componente de 12.000 daltons foram comuns às duas espécies.

Estes resultados e os dados relatados por Skerit (10) mostram que a fração prolamina do trigo sarraceno é muito diferente da gliadina de trigo tanto quantitativa como qualitativamente. Parece, portanto, provável que os efeitos adversos associados com dietas alimentares contendo gliadina de trigo a pacientes celíacos seriam grandemente reduzidos e possivelmente evitados se a farinha de trigo fosse substituída pela farinha de trigo sarraceno. No entanto, a detecção de prolamina menos intensamente coradas e de pesos moleculares correspondentes em ambos tipos de farinhas sugere que uma estratégia mais segura seria utilizar farinha de trigo sarraceno da qual a fração prolamina tenha sido removida, ainda que a igualdade de tamanho não implica na similaridade da estrutura primária e nem nas propriedades fisiológicas de proteínas. As semelhanças observadas entre a fração preparada de trigo sarraceno pela extração direta e a prolamina (*Sensu stricto*) obtida após extração prévia com NaCl demonstra que o procedimento mais simples é adequado para a preparação da farinha livre de prolamina.

Com base nesses resultados, sugere-se fazer outros estudos que demonstrem que realmente os efeitos da doença celíaca poderiam ser evitados consumindo-se produtos com trigo sarraceno.

REFERENCIAS

1. Pace T. Cultura do trigo sarraceno; história, botânica e economia. Rio de Janeiro. 71p. 1964.
2. Cole S.G. & Kagnoff M.F. Celiac disease. Annual Review of Nutrition, Palo Alto, 5:241-66, 1985.
3. Cervetto J.L. Doença celíaca. In: Pena F.J.; Wheba J.; Fagundes Neto V. Gastroenterologia pediátrica. São Paulo, Medsi, 27:198-208. 1983.
4. Campbell J.A. Diet therapy of celiac disease and dermatites herpetiformis. World Review of Nutrition and Dietetics, Basel, 51: 189-233. 1987.
5. Pomeranz Y. & Robbins G.S. Amino acid composition of buckwheat. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 20 (2): 270-4. 1972.
6. Thaira H. Buckwheat. In: Johnson A.H. & Peterson M.J. 1a. ed. Encyclopedia of food technology, Westport, AVI, 139p. 1974.
7. Skerit J.H. Molecular comparison of alcohol soluble wheat and buckwheat proteins. Cereal Chemistry, St. Paul, 63(4): 365-9, April. 1986.
8. Bradford M.M. A rapid and sensitive methods for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254. 1976.
9. Barriga P.B., Gonzales J.A., Mansilla R.T., Manguián N.T. Catálogos de fórmulas de electroforegramas de trigos cultivados en Chile. Agro Sur, Valdivia, 13(1): 13-23. 1985.
10. Laemmly V.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature, London, 227:680-5. 1970.
11. Tahir I. & Farraq S. Grain composition in some buckwheat cultivars (*Fagopyrum spp*) with particular reference to protein fraction. Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition, Dordrecht, 34(2):153-8. 1985

Recibido: 27-07-1992

Aceptado : 22-08-1994