



## ANÁLISE DE PERFIS DE AMINOÁCIDOS EM SEMENTES DE *ERAGROSTIS TEFF* POR HPLC ACOPLADA AO SISTEMA DE DETECÇÃO CE LIF

Juliana Bondan da Silva<sup>1</sup>

Cleonice Hoffmann<sup>2</sup>

Jean fachini<sup>3</sup>

Julia Pereira Unfer<sup>4</sup>

Maria Clara Goersch<sup>5</sup>

Jaqueline Nascimento Picada<sup>6</sup>

### Resumo

*Eragrostis tef* é um cereal cultivado no leste da África desde 1800, nativo da Etiópia, representa o principal grão consumido pela população local. Muito resistente a pragas e doenças, apresenta uma composição nutricional surpreendente. Possui cerca de 350 espécies de *Eragrostis*, nas quais a *E. teff* é a única cultivada para consumo. O composto hidroalcoólico de *E. teff* induziu mutações nas linhagens TA102, TA1535, TA100, TA98 e TA97a, havendo índices mutagênicos nos controles positivos e em algumas dosagens da linhagem TA102. O objetivo deste trabalho é analisar a composição de aminoácidos de sementes secas do *E.teff* e verificar o potencial mutagênico do extrato hidroalcoólico da farinha que provem das sementes, utilizando o teste *Salmonella*/microsoma (teste de Ames).

Palavras-chave: *Salmonella*; mutagênicos; linhagens.

### INTRODUÇÃO

*Eragrostis teff* (Zucc) é um cereal originário da Etiópia, muito utilizado na região por ser muito resistente a condições climáticas e crescer de forma rápida. Pertencente à família Poaceae e subfamília Chloridoideae, é um cereal alelotretaplóide ( $2n= 4x =40$ ), ou seja, possui 40 cromossomos, e embora pouco conhecido em outras regiões do mundo possui cerca de 350 espécies de *Eragrostis*, nas quais a *E. teff* a única cultivada para consumo e a *E. pilosa* a única semelhante cito e morfológicamente ao grão (ASSEFA et al., 2015).

É considerado uma cultura órfã devido as suas melhorias genéticas e por ser de apenas interesse regional, apesar da baixa produtividade do *E teff* é a maior fonte de alimento cultural na região, cerca de 6 milhões de pequenos agricultores na Etiópia plantam anualmente em

<sup>1</sup> Aluna do Curso de Graduação em Biologia – Bolsista Fapergs – julianabonda@gmail.com

<sup>2</sup>Aluna do Curso de Graduação em Biomedicina- Bolsista Fapergs-cleo2506@hotmail.com

<sup>3</sup>Aluno do Curso de Graduação em Biomedicina-Bolsista CNPq-jeanfachini@hotmail.com

<sup>4</sup>Aluna do Curso de Graduação em Biomedicina- Voluntária-julia.unfer@hotmail.com

<sup>5</sup>Aluna de Mestrado do PPGBioSaúde – mariaclaranovoemail@gmail.com

<sup>6</sup>Professora orientadora – jnpicada@gmail.com

média 3 milhões de hectares, representando 24% da produção total de grãos e cereais (CENTRAL STATISTICAL AGENCY, 2009).

É um grão muito resistente a pragas, por este motivo pode ser facilmente armazenado sem perder a sua viabilidade. A sua quantidade de aminoácidos é superior à maioria dos grãos, dentre esses aminoácidos a lisina encontra-se em maior concentração entre vários grãos, exceto no arroz e aveia (CENTRAL STATISTICAL AGENCY, 2009).

O *E. teff*, em conjunto com o sorgo e milho, são plantas C4 ao contrário da maioria dos outros grãos (C3), assim, utilizam o dióxido de carbono de forma mais eficiente durante o processo de fotossíntese (INGRAM; DOYLE, 2003).

Este demora em média de 50-140 dias até a maturação e cresce de 20-156 cm de altura. É um cereal livre de glúten, sendo ótimo para a produção de alimentos como pães, panquecas, mingau e até mesmo na produção de cevada e malte para celíacos. A sua descrição é baseada nas variedades de cor dos seus grãos, ramificações e no tamanho das inflorescências da planta. A classificação para fins de mercado se dá pela cor das sementes (branco, vermelho ou marrom e misto), o grão quando descascado apresenta predominante e mais comum o branco creme, marrom claro e marrom escuro (ASSEFA et al., 2015).

*E. teff* possui uma grande quantidade de amido, cerca de 73% e em comparação a outros grãos essa concentração se encontra superior. Os aminoácidos essenciais encontrados estão em ótimo equilíbrio, além disso, aminoácidos como Isoleucina, leucina, valina, tirosina, treonina, Metionina, fenilalanina, arginina, alanina e histidina estão em maior quantidade comparada a outros cereais e grãos (GEBREMARIAM et al., 2012).

A principal fonte de gordura são os ácidos graxos, onde o teor de gordura bruta está entre 2 e 3% com a média de 2,3% em relação ao trigo, arroz integral e centeio, já o teor de fibra bruta está entre 3 a 100g.

Este trabalho teve como objetivo analisar a composição de aminoácidos de sementes secas do teff e verificar o potencial mutagênico do extrato hidroalcolico da farinha que provem das sementes, utilizando o teste *Salmonella*/microsoma (teste de Ames), em linhagens TA1535, TA97a, TA98, TA100 e TA102 de *Salmonella typhimurium*.

## **METODOLOGIA**

As sementes Teff foram secas a 60 ° C durante 12 h e depois moídas até se obter um pó fino. Após hidrólise ácida, as amostras foram filtradas, neutralizadas e derivatizadas utilizando naftaleno-2,3-dicarboxialdeído. Os solutos foram então separados por HPLC utilizando uma fase estacionária C-18 e água acidificada com ácido trifluoroacético (pH 2) e

acetonitrilo como a fase móvel binária. A saída da coluna foi acoplada a um capilar de um equipamento CE com sistema de detecção LIF. Logo após, foi realizado o ensaio de mutagenicidade conforme descrito por Maron e Ames (MARON and AMES, 1983). Foram utilizadas amostras contendo 100 µL das linhagens de *Salmonella typhimurium* TA98, TA97a, TA100, TA102 e TA1535 adquiridas da Universidade da Califórnia, Berkeley, CA, EUA. A atividade mutagênica foi determinada de acordo com o procedimento de pré-incubação por 20 minutos à 37 °C. Foram utilizadas cinco concentrações não citotóxicas do composto hidroalcolico *E. teff*. Em seguida, 2 ml de ágar de superfície (0,6% de ágar, 0,5% de NaCl, 50 µM de histidina, 50 µM de biotina, pH 7,4, 42 °C) foram adicionados ao tubo de ensaio e imediatamente vertida sobre uma placa contendo meio mínimo (1,5% de ágar, sais de Vogel-Bonner E, 2% de glicose). O 4-nitroquinolina (4-nqo) (0,5 µg/placa) foi utilizada como controle positivo para as linhagens TA98, TA97a e TA102, nas duas linhagens restantes TA100 e TA1535, foi utilizada como controle positivo a Azida Sódica (1 µg/placa). As placas foram incubadas no escuro a 37 °C durante 48 horas antes da contagem das colônias revertentes.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Os resultados apresentaram que o composto hidroalcolico de *E. teff* induziu mutações nas linhagens TA1535, TA100 e TA102, por substituição por pares de base, e nas linhagens TA97a e TA98, por deslocamento no quadro de leitura. Houve índice mutagênico nos controles positivos de todas as cepas. A cepa TA102 obteve um índice de mutagenicidade nas doses de 1,000, 2,000 e 5,000.

Tabela 1. Indução de revertente *his+* em linhagens de *S. typhimurium* tratadas com o composto hidroalcoólico *Eragrostis teff* sem ativação metabólica (S9 mix).

<i>S. typhimurium</i> strains											
Substância	Concentração (µg/placa)	TA98		TA97a		TA100		TA1535		TA102	
		Rev/placa <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup>								
Sem ativação metabólica (-S9)											
NC <sup>c</sup>	-	32,7 ± 3,1	-	106,3 ± 3,6	-	106,0 ± 1,000	-	9,0 ± 4,0	-	394,7 ± 19,4	-
CxAE	250	21,3 ± 1,6	0,65	96,7 ± 12,5	0,90	97,7 ± 19,4	0,92	10,0 ± 1,7	1,11	421,7 ± 80,9	1,06
	500	23,0 ± 2,7	0,70	73,7 ± 5,6	0,69	101,3 ± 26,6	0,95	13,3 ± 2,9	1,47	424,3 ± 23,5	1,07
	1000	24,7 ± 8,0	0,74	84,7 ± 26,2	0,79	106,7 ± 17,8	1,00	14,3 ± 1,6	1,58	541,7 ± 58,1*	1,37
	2000	23,7 ± 1,6	0,72	69,3 ± 11,7	0,65	102,0 ± 3,7	0,96	15,3 ± 1,6	1,7	601,3 ± 43,6**	1,52
	5000	26,0 ± 5,6	0,80	71,0 ± 18,6	0,66	111,3 ± 10,7	1,05	16,3 ± 6,7	1,8	671,3 ± 74,3***	1,70
PC <sup>d</sup>	0.5 (4NQO) 1 (NaN <sub>3</sub> )	186,0 ± 25,03***	5,68	278,0 ± 57,7***	2,61	1084 ± 94,5***	10,22	505,0 ± 38,0***	56,1	4658 ± 584,0****	11,80

<sup>a</sup>Número de revertentes/placa: Média de três experimentos ± SD; <sup>b</sup>MI: Índice Mutagênico (nº. de *his+* induzidos na amostra/nº. de *his+* espontâneo no controle negativo); <sup>c</sup>NC: Controle negativo:DMSO70% . <sup>d</sup>PC: controle positivo (-S9) azida sódica para TA100 e TA1535; 4-NQO para TA97a, TA98 e TA102; diferença significativa em relação ao controle negativo. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*  $p < 0.0001$  (ANOVA, teste de Dunnett).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O composto hidroalcoólico de *E. teff* é capaz de induzir mutações por substituição por pares de bases e deslocamento no quadro de leitura, na ausência de metabolização há presença de substâncias de caráter mutagênico em algumas linhagens e dosagens do composto.

## REFERÊNCIAS

ASSEFA K, CANNAROZZI G, GIRMA D, KAMIES R, CHANYALEW S, PLAZA-WÜTHRICH S, BLÖSCH R, RINDISBACHER A, RAFUDEEN S, TADELE Z. Genetic diversity in tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter]. *Frontiers in Plant Science*, v. 6, p. 177, 2015.

CENTRAL STATISTICAL AGENCY. Agrícola Pesquisa de Amostras 2016/2017 sobre a área e a produção das principais culturas (exploração camponesas privadas, época do meher). *Boletim Estatístico*, v. 1, p. 10-12, 2017.

GEBREMARIAM, M.M.; ZARNKOW, M.; BECKER, T. Teff (*Eragrostis tef*) as a raw material for malting, brewing and manufacturing of gluten-free foods and beverages: a review. *Journal of Food Science and Technology*, v. 51, p. 2881-2895, 2012.

INGRAM, A. L.; DOYLE, J. J. The origin and evolution of *Eragrostis tef* (Poaceae) and related polyploids: evidence from nuclear waxy and plastid rps16. *American Journal of Botany*, New York. v. 90, p. 116-122, 2003.

MARON, D.M.; AMES, B. N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, v. 113, p. 173-215, 1983.