

M. ALVES DA SILVA

M.^a HELENA GIL

M.^a LUÍSA FERREIRA

Estudos de Investigação e Tecnologia Têxteis

Centro de Estudos de Química

Laboratório Químico

Universidade de Coimbra



CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS LÃS PORTUGUESAS

I—Composição aminoácida da lã Merino Corrente do Alentejo

Apresentam-se os resultados de análises de aminoácidos efectuadas em dois tipos importantes de lãs portuguesas. Faz-se a comparação desses tipos de lã com um tipo semelhante de lã Merino australiana, especialmente quanto aos teores de cistina e ácido cisteico.

I — INTRODUÇÃO

Se bem que algumas características tecnológicas das lãs nacionais tenham sido estudadas por diversos investigadores, nomeadamente da Junta Nacional dos Produtos Pecuários, pode dizer-se que a caracterização físico-química das lãs portuguesas está ainda por fazer.

O estudo das propriedades características das lãs nacionais tem, no entanto, particular interesse, por contribuir com elementos informativos não só para o melhoramento das características industriais da fibra, que se vem realizando nas últimas décadas, por métodos genéticos e pela racionalização da exploração ovina, como também para uma mais correcta utilização dessas lãs nos processos de fabrico têxteis e até para mais exacta comparação delas com as lãs estrangeiras.

Uma das características químicas importantes da lã é a composição aminoácida da proteína que a constitui e, em particular, o teor de certos aminoácidos, nomeadamente a cistina. A determinação completa (ou praticamente completa) da composição aminoácida da lã foi efectuada primeiramente na Austrália, por SIMMONDS (1) para uma lã Merino australiana 64's (diâmetro médio 21-23 μm) por cromatografia em resinas de permuta iónica e, independentemente e quase na mesma altura em Inglaterra, por CORFIELD e ROBSON (2), na mesma qualidade de lã Merino australiana, por cromatografia em colunas de amido.

Como ponto de partida para um estudo físico-químico desenvolvido das lãs portuguesas, cuja falta acabámos de assinalar, pareceu-nos, por isso, de grande utilidade proceder ao estudo da composição aminoácida de um tipo importante das lãs nacionais.

Escolhemos o Merino Corrente branco do Alto Alentejo pelo quantitativo e valor da sua produção. Considerámos também o Merino Saragoço, fortemente pigmentado — muito menos importante quanto à quantidade produzida, mas ainda significativo —, pela possível influência que a pigmentação poderia ter na composição aminoácida.

Utilizámos na análise aminoácida o método da cromatografia de hidrolisados da proteína em resinas de permuta iónica de MOORE e STEIN (3, 4, 5), conjuntamente com métodos específicos para di-

versos aminoácidos, como a triptofana, a cistina, a cisteína e o ácido cisteico. Não dispondo de um analisador automático de aminoácidos que nos teria permitido analisar com rapidez um maior número de amostras da lã considerada, recorremos ao conjunto de colunas e colector de fracções montado originalmente pelo Dr. Alfredo P. Gouveia (6) no nosso Laboratório.

2 — PARTE EXPERIMENTAL

2.1 — PREPARAÇÃO DA LÃ PARA A ANÁLISE

As madeixas de lã, de que se eliminou a parte das pontas, degradada por acção fotoquímica durante o crescimento da fibra, foram sujeitas a extracção, sucessivamente com éter etílico e álcool etílico, em Soxhlet, para eliminação das matérias gordas ou ceras e da matéria saponificada que acompanham o pêlo; lavaram-se seguidamente as fibras com água da torneira a fim de eliminar terras e impurezas vegetais e peptídeos solúveis e depois em diversas passagens por água destilada; finalmente deixaram-se secar ao ar. Sempre que necessário, determinou-se o peso anidro de amostras por secagem em estufa a 105 °C, durante 2 horas.

2.2 — PREPARAÇÃO DOS HIDROLISADOS

2.2.1 — HIDRÓLISE ÁCIDA

As amostras (pesadas sempre com o rigor de 0,1 mg) de cerca de 0,100 g cada, quando destinadas à separação cromatográfica dos aminoácidos, ou de cerca de 1,000 g, quando destinadas a análises de ácido cisteico, colocaram-se com 10 ou 20 cm³ de HCl 6N, respectivamente, cada uma delas, em tubos de *pyrex* que se fecharam à chama. Aqueceram-se os tubos numa estufa a 105 °C, durante 24 horas, havendo o cuidado de os agitar de tempos a tempos, nas primeiras horas, para mais rápida penetração do ácido.

Deixados arrefecer e abertos os tubos, filtrou-se o conteúdo por cadinhos de vidro de placa fil-

trante, especialmente no caso das amostras de lã Saragoço, por se verificar que os grânulos de pigmento preto dessa lã não eram destruídos durante a hidrólise. Por destilação a baixa pressão, a temperatura de cerca de 50 °C, concentraram-se as soluções até 2-3 cm³ de volume. Por três vezes se adicionaram porções de cerca de 10 cm³ de água e se continuou a destilação, da última vez até à secura, para eliminação total do HCl. Finalmente os resíduos foram transferidos com água destilada para balões graduados de 10 ou 25 cm³, que se encheram até à marca e se guardaram no frigorífico até serem necessários para continuação da análise.

No caso das análises de cistina e cisteína, a hidrólise das amostras de lã, respectivamente de cerca de 1,000 g e 30 mg, cada, efectuou-se em balões graduados de 100 cm³ com ácido sulfúrico 6N (8 cm³) e na estufa a 105 °C, durante 10 horas, no caso da cistina, e 2 horas, no da cisteína, com agitação dos balões cada meia hora. Findo o período de hidrólise, retiraram-se os balões da estufa, deixaram-se arrefecer até à temperatura ambiente e perfez-se até à marca com água destilada. Seguidamente, filtrou-se cada uma das soluções por placa de vidro poroso.

2.2.2 — HIDRÓLISE ALCALINA

Esta forma de hidrólise utilizou-se apenas nas amostras destinadas à determinação da triptofana, sabido que este aminoácido é, em grande parte, destruído na hidrólise ácida da proteína.

A cada amostra (cerca de 0,200 g) juntaram-se 20 cm³ de solução 6N de hidróxido de bário, em tubos de *pyrex* que se fecharam à chama e se colocaram numa estufa a 105 °C. Deixou-se prosseguir a hidrólise durante 5 horas, com agitação ocasional dos tubos. Depois de arrefecido e neutralizado com ácido acético glacial, o hidrolisado foi tratado com 20 cm³ de uma solução saturada de sulfato de prata, para precipitar todo o sulfeto possivelmente existente na solução. Seguidamente precipitou-se o bário por adição de ácido sulfúrico concentrado em ligeiro excesso e filtrou-se. O volume do filtrado foi ajustado a 100 cm³ com água destilada.

2.3 — PREPARAÇÃO DAS COLUNAS

Utilizaram-se duas colunas de resina, uma de Dowex 50-X8 com 100 cm de altura e 1 cm de diâmetro, para a separação dos aminoácidos mono e dicarboxílicos, e outra de AMINEX-MS (Bio-Rad Laboratories, Richmond, Califórnia) com 18 cm de altura e 0,9 cm de diâmetro, para a separação dos aminoácidos básicos (arginina, histidina e lisina). A preparação das colunas fez-se segundo a técnica descrita por MOORE, SPACKMAN e STEIN (5).

2.4 — PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES-TAMPÃO E DOS REAGENTES DE NINIDRINA, DE FOLIN E DE ELLMAN

As soluções-tampão de citrato de sódio necessárias para a eluição da coluna de Dowex 50-X8 prepararam-se, segundo as indicações de MOORE, SPACKMAN e STEIN (5), em volumes de 40 dm³, com os valores de pH ajustados a 3,25 e 4,25, respectivamente. A eluição da coluna de Aminex-MS fez-se com um tampão de citrato de sódio, ajustado a pH 5,28, de que se prepararam 20 dm³.

O ajustamento rigoroso do valor de pH das soluções-tampão é particularmente importante para se conseguir uma separação satisfatória dos aminoácidos e foi feito com um aparelho de pH Beckman, modelo Research. Os tampões conservaram-se no frigorífico, durante as determinações, tendo-se adicionado a cada um deles 1 g de fenol por litro para impedir o desenvolvimento de microrganismos.

Preparou-se também duma só vez a quantidade (5 dm³) de tampão de acetato de sódio 4N, de pH 5,51, necessária para a composição do reagente de ninidrina, dissolvendo 2720 g de acetato de sódio tri-hidrato em 2000 cm³ de água, adicionando seguidamente 500 cm³ de ácido acético glacial e juntando água até perfazer o volume de 5 dm³.

O reagente de ninidrina, usado na determinação colorimétrica da generalidade dos aminoácidos, preparou-se segundo as indicações de MOORE e STEIN (7): dissolveram-se 20 g de ninidrina e 3 g de hidrindantina em 750 cm³ de 2-metoxietanol (*metilcellosolve*); seguidamente adicionaram-se 250 cm³ de tampão de acetato de sódio a pH 5,51.

O reagente de CHINARD (8) necessário para a determinação colorimétrica da prolina preparou-se por dissolução de 1,25 g de ninidrina em 30 cm³ de ácido acético glacial e 20 cm³ de ácido fosfórico 6M.

O reagente de ninidrina-cádmio (9) para a análise do ácido cisteico obteve-se por dissolução de 100 mg de acetato de cádmio em 10 cm³ de água e adição consecutiva, à solução resultante, de 3 cm³ de ácido acético glacial, 100 cm³ de acetona e 1 g de ninidrina.

Os três reagentes de ninidrina conservaram-se em frascos escuros sob atmosfera de nitrogénio e no frigorífico. O reagente de FOLIN (10) utilizado na determinação colorimétrica da cistina foi preparado do seguinte modo: dissolveram-se 200 g de tungstato de sódio di-hidrato, isento de molibdénio, em 400 cm³ de água; depois de adição de 100 cm³ de ácido fosfórico a 85 %, ferveu-se em refluxo durante 1 h. Findo este período, removeu-se o condensador e adicionou-se água de bromo, gota a gota até se obter cor amarelo-acastanhada. O excesso de bromo foi seguidamente expulso por ebulição (15 min.). Deixou-se arrefecer, filtrou-se para um balão graduado de 1000 cm³ e perfez-se até à marca com água destilada. O reagente, de cor amarelada, conservou-se num frasco escuro.

O reagente de ácido 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzóico (11) utilizado na determinação colorimétrica da cisteína preparou-se da seguinte maneira: dissolveram-se 50 mg de ácido 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzóico e 20 mg de sal di-sódico do ácido etileno-diamina-tetraacético em 100 cm³ de tampão de tris-(hidroximetil)-metilamina (2-amino-2-(hidroximetil)-propanodiol-1,3) 0,1M ajustado a pH 7,4 com ácido clorídrico.

2.5 — CROMATOGRAFIA E ELUIÇÃO DOS HIDROLISADOS

A coluna dos aminoácidos neutros e ácidos foi regenerada com NaOH 0,2N e equilibrada com tampão a pH 3,25, previamente aquecido para expulsar o ar, a que se adicionou 0,5 cm³ do detergente BRIJ 35 (Atlas Powder Co., Wilmington, Delaware) por cada 100 cm³, para facilitar o contacto com a resina, e 0,5 cm³ por 100 cm³ de tioglicol

como antioxidante para protecção da metionina. A coluna manteve-se a 50 °C por circulação, numa manga envolvente, de água aquecida a essa temperatura num banho termostático. Utilizou-se 1 cm³ do hidrolisado. A eluição fez-se com o mesmo tampão, até se terem recolhido, com o colector de fracções, 226 fracções de 1 cm³ em tubos de vidro de 10 cm × 1,3 cm. Nesse momento, a eluição passou a fazer-se com o tampão de pH 4,25 e continuou-se a recolha de fracções até se obterem 400, na totalidade.

A coluna dos aminoácidos básicos, por sua vez, foi regenerada com NaOH 0,35N e equilibrada com o tampão de pH 5,28, também previamente aquecido para expulsar o ar, a que se juntou 0,5 cm³ de BRIJ 35 por cada 100 cm³. Na eluição feita com esse tampão, recolheram-se 120 fracções de 1 cm³.

2.6 — DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DOS AMINOÁCIDOS

A cada tubo com 1 cm³ de solução eluída juntou-se 1 cm³ do reagente de ninidrina. Depois de tapados com papel de estanho, os tubos, em grupos de 40, aqueceram-se num banho de água em franca ebulição, durante 15 min., para desenvolvimento da cor púrpura. Deixaram-se então arrefecer e a cada um deles juntou-se 1 cm³ de solução de etanol a 50 % (v/v). Seguidamente mediram-se as densidades ópticas da cor desenvolvida em cada um dos tubos, num espectrofotómetro, a 570 nm, feitas as necessárias diluições com solução de etanol a 50 %.

O cálculo da concentração de cada aminoácido, uma vez estabelecida a sua posição na sequência das fracções eluídas, fez-se por intermédio de uma curva-padrão estabelecida com leucina previamente purificada, corrigido o somatório das densidades ópticas medidas nas diferentes fracções por que se distribuía cada aminoácido, por aplicação de um factor correspondente ao rendimento de cor do aminoácido relativamente à leucina. Utilizaram-se os valores dos rendimentos de cor dos diferentes aminoácidos em relação à leucina, determinados por MOORE e STEIN (4).

No caso particular da prolina, localizada a sua posição por meio de uma cromatografia prévia,

utilizou-se um método colorimétrico baseado no de TROLL e LINDSLEY (12). A cada fracção de 1 cm³ juntou-se consecutivamente 1 cm³ de ácido acético glacial e 1 cm³ do reagente de Chinard. Aqueceram-se seguidamente os tubos para desenvolvimento da reacção de cor num banho de água à ebulição durante 1 hora. Deixaram-se então arrefecer até à temperatura ambiente e procedeu-se à extracção do corante em cada um, com 3 cm³ de benzeno. Mediu-se finalmente a densidade óptica na fase benzénica a 515 nm. O cálculo da concentração deste aminoácido fez-se a partir de uma curva-padrão determinada com o aminoácido puro.

2.7 — DETERMINAÇÃO SEPARADA DE OUTROS AMINOÁCIDOS

2.7.1 — TRIPTOFANA

Para a determinação deste aminoácido utilizou-se a hidrólise alcalina referida atrás. A sua determinação nos hidrolisados fez-se pelo método colorimétrico de JUNEJA, SULE e CHIPALKATTI (13). À solução final do hidrolisado (10 cm³) acidificada com HCl concentrado (15 cm³) juntou-se *p*-dimetilaminobenzaldeído (reagente de Ehrlich) (15 mg) e deixou-se reagir a 5 °C, durante 2 horas. O composto corado foi então revelado com nitrito de sódio (0,5 mg) e a densidade óptica medida a 600 nm. A concentração calculou-se a partir de uma curva-padrão determinada, nas mesmas condições, para o aminoácido puro.

2.7.2 — CISTINA

Utilizou-se o método de SHINOHARA (14), com o reagente de Folin, normalizado pela Comissão Técnica da Federação Internacional das Indústrias de Lanifícios (15). Os hidrolisados de lã são tratados com solução de piro-sulfito de sódio (metabi-sulfito de sódio) a 10 % (p/v) para reduzir a cistina a cisteína e esta é determinada por oxidação com ácido fosfotúngstico, em que se forma um complexo fosfotúngstico de cor azul, cuja densidade óptica se mede a 720-890 nm (utilizámos

720 nm). O método permite também a determinação da cisteína, existente em pequeníssimas quantidades na lã virgem, quando utilizado o reagente fosfotúngstico sem prévia redução do hidrolisado com o sulfito.

2.7.3 — CISTEÍNA

Em virtude das diminutas quantidades do aminoácido existentes na lã utilizou-se, por se obterem com ele resultados mais rigorosos, o método colorimétrico de ELLMAN (11) modificado por SWANEPOEL (16), em que se junta ao hidrolisado (1 cm³), consecutivamente, 10 cm³ de tampão de tris-(hidroximetil)-metilamina 1M a pH 7,4, 1 cm³ do reagente de ácido 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzóico e 20 cm³ de tampão de tris-(hidroximetil)metilamina 3M. A densidade óptica da cor amarela mediu-se a 412 nm.

2.7.4 — ÁCIDO CISTEICO

O ácido cisteico resulta da oxidação da cistina. Verificou-se também a presença deste aminoácido nas lãs consideradas, sobretudo na Merino Saragoço, formado possivelmente por foto-oxidação do resíduo de cistina. Utilizou-se na sua determinação o método de electroforese de baixa tensão desenvolvido por DIEHL (17) e normalizado pela Comissão Técnica da Federação Internacional das Indústrias de Lanifícios (18). O aminoácido, depois de separado dos restantes por electroforese em papel, é tratado, ainda no papel, com o reagente de cádmio-ninidrina; extraída a substância corada com metanol, mede-se a densidade óptica a 500 nm.

3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na análise da composição aminoácida da lã Merino Corrente branca e da lã Merino Saragoço do Alentejo, por separação cromatográfica de hidrolisados (com excepção da triptofana, determinada separadamente), registam-se no Quadro I. No mesmo quadro se incluem os valores obtidos, respectivamente, por SIMMONDS (1) e por CORFIELD e ROBSON (2) em amostras de um

mesmo tipo de lã Merino australiana (64's) de diâmetro médio semelhante aos das lãs portuguesas que analisámos.

Quadro I

Composição aminoácida da lã Merino Corrente branca e da lã Merino Saragoço do Alto Alentejo

Aminoácido	μmole/grama de lã			
	Merino Corrente branca	Merino Saragoço	Lã Merino Australiana	
			Corfield e Robson (2)	Simmonds (1)
Alanina	538	516	482	415
Arginina	551	568	562	602
Ácido aspártico	548	518	511	503
Cistina (1)	748	656	856	940
Fenilalanina	260	248	248	205
Glicina	759	746	732	692
Ácido glutâmico	1 019	1 081	985	1 019
Histidina	77	77	77	58
Isoleucina	297	289	282	236
Leucina	701	640	678	579
Lisina	239	253	225	191
Metionina	60	60	37	40
Prolina	582	590	590	634
Serina	932	989	1 008	856
Tirosina	309	276	303	353
Treonina	579	587	598	554
Triptofana	48	39	47	102
Valina	529	486	486	427
N. amídico	785	785	785	1 000

(1) Valores obtidos por função aminoácido.

Os valores encontrados neste trabalho são muito semelhantes aos apresentados por CORFIELD e ROBSON, havendo apenas certa discrepância nos teores de alanina, cistina, metionina, serina (no caso da lã Merino branca) e triptofana (no caso da lã Merino Saragoço). Notam-se, no entanto, apreciáveis diferenças nos teores de diversos aminoácidos ao fazer-se a comparação com os resultados da análise de SIMMONDS. Semelhante discrepância existe, aliás, entre os resultados das análises de SIMMONDS e de CORFIELD e ROBSON, já notada por estes últimos autores (2) e considerada por eles como superior ao que se poderia esperar de análises de amostras de lã da mesma proveniência e do mesmo tipo.

Para além da possibilidade de certas discrepâncias se deverem ao uso de diferentes métodos analíticos ou de diferentes técnicas de hidrólise, como se mostrará adiante, as diferenças nos teores dos diferentes aminoácidos deverão atribuir-se à variabilidade da composição aminoácida da fibra, de amostra para amostra. Na realidade, o estudo da estrutura morfológica da fibra de lã mostra que ela não é constituída por uma proteína homogênea e são, pois, perfeitamente admissíveis variações nos teores dos aminoácidos. Efectivamente, SIMMONDS (19) em subsequentes análises da composição aminoácida de amostras de lã provenientes de animais diferentes, da mesma e de diferentes raças, e de diferentes partes do velo de um mesmo animal pôde comprovar a existência de diferenças nos teores dos diversos aminoácidos, embora só as do ácido aspártico, cistina, glicina, fenilalanina, serina e treonina, em amostras provenientes de diferentes animais, se tenham revelado estatisticamente significativas.

Nestas circunstâncias podemos considerar os teores dos aminoácidos encontrados para as lãs portuguesas análogos aos da lã australiana, na generalidade dos aminoácidos, excepto possivelmente nos casos da triptofana, metionina e cistina.

Os resultados obtidos para a triptofana são semelhantes aos de Corfield e Robson, mas nitidamente inferiores aos de Simmonds. Esta discrepância deve atribuir-se ao uso de diferentes métodos, já que nos três trabalhos se determinou a triptofana separadamente dos outros aminoácidos. Simmonds utilizou o método de GOODWIN e MORTON (20)

em que se efectua uma hidrólise rápida da proteína com NaOH 1N, enquanto Corfield e Robson recorreram ao método de MOORE e STEIN (21), baseado numa hidrólise com hidróxido de estrôncio. O próprio SIMMONDS (19) supõe que o método por ele utilizado forneça resultados anormalmente elevados, devendo o teor de triptofana por ele apresentado encarar-se com reserva. Deste modo, a concordância do teor da triptofana, que encontramos para as lãs portuguesas objecto deste estudo, com o apresentado para a lã australiana por Corfield e Robson deve interpretar-se como uma confirmação do resultado destes investigadores. Conclui-se que também no teor deste aminoácido não há diferença sensível entre a lã Merino do Alentejo e a lã Merino australiana.

Por sua vez, o teor de metionina encontrado é substancialmente mais alto do que os dos investigadores britânicos e australiano. Dada a pequeníssima quantidade deste aminoácido existente na constituição da ceratina, é possível que o valor apresentado no Quadro I esteja afectado de apreciável erro e anormalmente elevado.

Passando ao caso da cistina, verifica-se que os teores encontrados por eluição da coluna cromatográfica são consideravelmente inferiores aos valores fornecidos por Corfield e Robson e por Simmonds. Há que referir, no entanto, que o valor dado por Simmonds não é o correspondente ao método cromatográfico mas sim o de uma análise pelo método de Shinohara, pois o valor obtido por aquele método foi inferior em 38 % (sendo, portanto, 583 $\mu\text{mole/g}$) e seria segundo SIMMONDS anormalmente baixo. Este investigador (1) atribuiu o facto à dificuldade em se determinar rigorosamente o teor de cistina no método cromatográfico, em virtude da natureza irregular da banda da cistina e da existência de uma pequena banda desconhecida imediatamente antes da da cistina (que mais tarde se verificou ser de mesocistina (19)). Também CORFIELD e ROBSON (2) observaram que o método de Shinohara conduzia a valores mais altos para o teor de cistina. No entanto, o valor encontrado, por este método (1024 $\mu\text{mole/g}$) foi por eles considerado como excessivamente elevado.

Também STEIN e MOORE (22) haviam observado que o método cromatográfico fornecia valores de

cistina baixos, em comparação com o método de Shinohara, no caso da análise aminoácida da globulina β e da serralbumina bovina, facto que atribuíram aos diferentes tempos de hidrólise utilizados num e noutro caso. (Deste argumento discordam, no entanto, Corfield e Robson, por não terem observado variações no teor de cistina dado pelo método de Shinohara quando fizeram variar o tempo de hidrólise entre 4 e 24 horas.)

Nestas circunstâncias e normalizado entretanto o método de Shinohara para a análise da cistina na lã, procedemos à determinação do teor deste aminoácido em numerosas amostras de lã Merino Corrente branca do Alentejo, por esse método, a fim de estabelecer se o baixo teor de cistina recuperado na eluição dos hidrolisados dessa lã seria uma deficiência da análise cromatográfica ou se corresponderia efectivamente a uma menor proporção deste aminoácido na lã do Alentejo em comparação com a lã Merino australiana.

A cistina tem particular importância na química e tecnologia da lã, em virtude da elevada percentagem deste aminoácido na ceratina, da sua acção reticulante na estrutura molecular da proteína e da sensibilidade que o resíduo aminoácido apresenta às condições climáticas ambientes durante o crescimento da fibra e a diversas condições de processamento utilizadas no fabrico industrial.

A foto-oxidação da lã conduz a um amarelecimento da fibra. MACLAREN (23) mostrou que as fibras amarelecidas, por acção da luz solar ou de irradiação com luz ultravioleta ou de uma lâmpada de xenónio, apresentavam diminuição do teor de cistina e aumento dos teores de cisteína e de ácido cisteico. Embora as pontas das fibras mais afectadas por acções do meio ambiente tivessem sido removidas antes da análise como se referiu atrás, não se pode excluir a hipótese de que mesmo a metade da fibra do lado da raiz tenha sofrido alguma alteração. Efectivamente, as lãs Merino portuguesas apresentam ligeiro tom amarelado em comparação com a lã Merino australiana, o qual poderá ter origem pigmentar, mas poderia também estar relacionado com uma alteração química da fibra, devida a particularidades das condições ambientes e de exposição durante o crescimento.

Por estes motivos, procedemos também à determinação dos teores de cisteína e de ácido cisteico,

conjuntamente com as análises de cistina, pelos métodos referidos na parte experimental. Os resultados obtidos registam-se no Quadro II.

Quadro II

Teores de cistina, cisteína e ácido cisteico na lã Merino Corrente branca do Alentejo

Aminoácido	$\mu\text{mole/grama de lã}$	
	Merino Corrente Alentejo	Merino australiano (Maclaren (23))
Cistina (¹)	944 (a)	978
Cisteína	15 (b)	$\left\{ \begin{array}{l} 0 \text{ (hidrolisados)} \\ 22 \text{ (fibra intacta)} \end{array} \right.$
Ácido cisteico	25 (c)	14

(¹) Valores obtidos por função aminoácido.

(a) Coeficiente de variação = 5,6 %.

Intervalo de confiança $\pm 32 \mu\text{mole/g}$ (95 % prob.).

(b) Coeficiente de variação = 2,9 %.

Intervalo de confiança $\pm 0,3 \mu\text{mole/g}$ (95 % prob.).

(c) Coeficiente de variação = 11,9 %.

Intervalo de confiança $\pm 3 \mu\text{mole/g}$ (95 % prob.).

O teor de cistina encontrado pelo método de Shinohara é muito semelhante ao apresentado por Simmonds (Quadro I) para a lã Merino australiana e também ao dado por Maclaren para um tecido de lã do mesmo tipo. Temos de concluir, pois, que o baixo teor de cistina obtido na análise por separação cromatográfica se deve a incompleta recuperação do aminoácido na eluição e que ainda no caso deste aminoácido a lã Merino do Alentejo não difere significativamente da lã Merino australiana.

Pelo que respeita à cisteína, o valor obtido corresponde ao pequeno teor deste aminoácido existente na lã. Ainda que MACLAREN (23) a não tenha encontrado nos hidrolisados que analisou, facto que atribuiu a oxidação do aminoácido durante a hidrólise, o teor por nós determinado está de acordo com o obtido por aquele investigador para a fibra intacta pelo método de LEACH (24) e com os apresentados por outros autores (25).

No caso do ácido cisteico, o valor obtido é da ordem de grandeza do apresentado por Maclaren para o tecido de lã Merino australiano no estudo do fotoamarelecimento referido e dos apresentados por SATLOW (26) para dois tipos de lã Merino australiana (16 e 22 μ moles/grama de lã). Embora este aminoácido possa ter resultado de ligeira foto-oxidação da lã, tem de pôr-se de parte este fenómeno como origem do tom amarelado das lãs Merino do Alentejo, já que as lãs da Austrália têm sensivelmente o mesmo teor de ácido cisteico e de cistina.

Passando à comparação da lã Merino Saragoço com a lã Merino branca, verifica-se pelo Quadro I que os teores dos diferentes aminoácidos são bastante semelhantes nas duas lãs, embora se notem diferenças mais apreciáveis (possivelmente não

fibras pigmentadas: um tom escuro, um tom médio e um tom claro.

No estudo do teor de cistina das lãs pigmentadas pelo método de Shinohara, procedemos a determinações separadas em fibras dos três tons referidos. Os resultados registam-se no Quadro III.

Os resultados obtidos indicam forte diminuição do teor de cistina nas fibras mais claras, como seria de esperar de uma acção foto-oxidativa sobre as fibras, que provocaria essencialmente a alteração dos resíduos de cistina. Que esta oxidação se produz comprova-o o maior teor de ácido cisteico que se observa nos tons mais claros relativamente ao castanho-escuro. Os teores de cistina e ácido cisteico obtidos no tom castanho-escuro são semelhantes, no entanto, aos observados na lã Merino branca.

Quadro III

Teores de cistina e ácido cisteico na lã Merino Saragoço do Alentejo

Aminoácido	μ moles/grama		
	Tom escuro	Tom médio	Tom claro
Cistina (1)	948 \pm 40 (95 % P. CV = 3,6 %)	798 \pm 96 (95 % P. CV = 9,9 %)	590 \pm 50 (95 % P. CV = 6,9 %)
Ácido cisteico	18 \pm 1 (95 % P. CV = 8,7 %)	30 \pm 2 (95 % P. CV = 8,4 %)	47 \pm 4 (95 % P. CV = 7,9 %)

(1) Valores obtidos por função aminoácido.

significativas) nos teores de ácido glutâmico, serina e tirosina. É notório, no entanto, uma menor percentagem de cistina. Este menor teor de cistina recuperado na eluição cromatográfica, relativamente à lã branca, e a observação de que as fibras se apresentavam bastante branqueadas nas pontas removidas antes da análise, levou à suspeita de que nesta lã haveria uma acção foto-oxidativa pronunciada, devida à maior absorção de energia radiante pelas fibras pigmentadas. Verificou-se efectivamente que no mesmo velo, mesmo excluídas as pontas das fibras, fortemente branqueadas, se podiam seleccionar três tons bem distintos de

Por seu turno, o aumento do teor de ácido cisteico na passagem do tom castanho-escuro para o tom mais claro é muito inferior ao que seria de esperar do decréscimo observado no teor de cistina. Isto sugere que os resíduos de cistina atacados por acção fotoquímica não seriam transformados exclusivamente em ácido cisteico, mas que se dariam também outras transformações. Sabe-se efectivamente que a degradação fotolítica da cistina é bastante complexa, produzindo-se não só cisão da ligação S-S, mas também das ligações C-N e C-S (27).

À luz da informação trazida pelos teores de cistina

nos três tons de lã pigmentada, sobre a degradação foto-oxidativa deste aminoácido, tem possivelmente de considerar-se como significativos os mais baixos teores de triptofano, tirosina e fenilalanina observados na lã Saragoço, relativamente à lã branca, já que diversos autores (23, 28, 29) verificaram que estes resíduos aminoácidos eram parcialmente destruídos durante a irradiação das fibras com luz solar ou com luz ultravioleta.

AGRADECIMENTOS

Manifestamos o nosso reconhecimento ao Dr. Alfredo P. Gouveia, pelas indicações sobre o funcionamento da montagem, da sua autoria, para a separação cromatográfica de hidrolisados de proteínas;

à Junta Nacional dos Produtos Pecuários, Lisboa, o amável fornecimento de amostras de diversos tipos de lãs nacionais;

à Federação Nacional dos Industriais de Lanifícios, Lisboa, a concessão de uma bolsa de estudo a um de nós (M. L. F.) para estudos de especialização têxtil;

ao Director do Laboratório Químico e do Centro de Estudos de Química, Professor Doutor Andrade de Gouveia, o seu especial interesse pelo desenvolvimento destes estudos e a sua integração no Projecto de Investigação em Química Orgânica (CQ1) patrocinado pelo Instituto de Alta Cultura.

BIBLIOGRAFIA

1. Simmonds, D. H., *Australian J. Biol. Sci.*, **7**, 98 (1954).
2. Corfield, M. C. e Robson, A., *Biochem. J.*, **59**, 62 (1955).
3. Moore, S. e Stein, W. H., *J. Biol. Chem.*, **192**, 663 (1951).
4. Moore, S. e Stein, W. H., *J. Biol. Chem.*, **211**, 893 (1954).
5. Moore, S., Spackman, D. H. e Stein, W. H., *Anal. Chem.*, **30**, 1185 (1958).
6. Gouveia, A. P. e Gouveia, A. J. A., em Junta de Investigações do Ultramar, «Estudos Científicos em Homenagem ao Prof. Dr. Carrington da Costa», Lisboa, 1962, p. 41.
7. Moore, S. e Stein, W. H., *J. Biol. Chem.*, **176**, 367 (1948).
8. Chinard, F. P., *J. Biol. Chem.*, **199**, 91 (1952).
9. Heilmann, J., Borrolier, J. e Watzke, E., *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **309**, 219 (1957).

10. Folin, O. e Marenzi, A. D., *J. Biol. Chem.*, **83**, 103 (1929).
11. Ellman, G. L., *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70 (1959).
12. Troll, W. e Lindsley, J., *J. Biol. Chem.*, **215**, 655 (1955).
13. Juneja, K. K., Sule, A. D. e Chipalkatti, V. B., *Textile Res. J.*, **38**, 461 (1968).
14. Shinohara, K., *J. Biol. Chem.*, **109**, 655 (1935).
15. International Wool Textile Organization, Standard 15-66, «Method for the Colorimetric Determination of Cystine plus Cystein in Wool Hydrolisates», Ed. International Wool Secretariat, Research Dept., Londres, 1966.
16. Toit, E., Van Rensburg, N. N. J. e Swanepoel, O. A., *J. African Chem. Inst.*, **27**, 52 (1965).
17. Diehl, J. F., *Anal. Chem.*, **31**, 1204 (1959).
18. International Wool Textile Organization, Standard 23-70, «Method for Determining the Cysteic Acid Content of Wool Hydrolisates by Paper Electrophoresis/Colorimetry», Ed. International Wool Secretariat, Research Dept., Londres, 1970.
19. Simmonds, D. H., *Proc. 1st Intern. Wool Textile Res. Conf., Vol. C, Part I*, 65 (1956).
20. Goodwin, T. W. e Morton, R. A., *Biochem. J.*, **40**, 628 (1946).
21. Moore, S. e Stein, W. H., *J. Biol. Chem.*, **178**, 53 (1949).
22. Stein, W. H. e Moore, S., *J. Biol. Chem.*, **178**, 79 (1949).
23. Maclaren, I. A., *Textile Res. J.*, **33**, 773 (1963).
24. Leach, S. J., *Australian J. Chem.*, **13**, 547 (1960).
25. Meichelbeck, H., Hack, A. G. e Sentler, C., *Z. Ges. Textil-Ind.*, **70**, 242 (1968).
26. Satlow, G., «Charakteristische Eigenschaften von Rohwollen», Forschungsberichte des Landes Nordrhein-Westfalen, Colónia, 1962.
27. Asquith, R. S. e Hirst, L., *Biochim. Biophys. Acta*, **184**, 345 (1969).
28. Inglis, A. S. e Lennox, F. G., *Textile Res. J.*, **33**, 431 (1963).
29. Asquith, R. S., Hirst, L. e Rivett, D. E., *Applied Polymer Symposia*, **18**, 333 (1971).

ABSTRACT

The results of amino acid analyses of two important types of Portuguese fine wools by ion exchange chromatography are reported. No significant differences were found between the amino acid composition determined for these wools and the ones reported by Simmonds and Corfield and Robson for Australian Merino 64's quality wool.

A separate study of the cystine and cysteic acid contents by specific methods shows them to be similar to the ones reported by Australian workers for the Australian merino wool.