

PRÁTICA Nº. 3.1

PIGMENTOS HIDROSSOLÚVEIS E LIPOSSOLÚVEIS
EM TECIDOS VEGETAIS

INTRODUÇÃO

As plantas possuem o equipamento bioquímico necessário para transformar substâncias pouco energéticas (CO_2 e H_2O) em moléculas ricas em energia (CH_2O). Na fotossíntese, a energia luminosa absorvida pelos pigmentos é transformada em energia química. Cada pigmento absorve determinados comprimentos de onda, refletindo outros, o que depende da sua estrutura química.

Além das clorofilas e dos carotenoides, que são lipossolúveis e encontram-se associados às membranas dos tilacoides, as plantas contêm outros pigmentos, como os flavonoides, que constituem uma série de compostos solúveis em água, tendo como estrutura básica um esqueleto C_{15} de flavona. Os flavonoides são pigmentos hidrossolúveis presentes nos vacúolos das células e representam o maior grupo de compostos fenólicos dos vegetais. Esses pigmentos se acumulam, especialmente, nas flores, conferindo-lhes as cores características, podendo variar do vermelho até a azul. Desses pigmentos, os mais conhecidos são as antocianinas, cada qual com uma cor distinta, que varia conforme o pH, ainda que algumas sejam incolores. Embora também se acumulem em grandes quantidades nas folhas de algumas espécies, os flavonoides (antocianinas e betalaínas) não participam diretamente da fotossíntese. Sua ação nas folhas tem sido comumente associada à proteção do aparelho fotossintético contra danos provocados pela radiação ultravioleta.

As antocianinas ocorrem na forma de glicosídeos, ligados comumente a uma ou duas unidades de glicose ou de galactose. A parte molecular, sem o açúcar, ainda mantém a sua coloração característica e é denominada antocianidina. O acúmulo de antocianinas em caules, folhas ou frutos é estimulado por níveis elevados de luz, por deficiência de certos nutrientes como nitrogênio, fósforo e enxofre e por temperaturas baixas. Além da sua importância como atrativo para insetos polinizadores, outros tipos de flavonoides também afetam a interação das plantas com certos organismos, como, por exemplo, com bactérias envolvidas na fixação biológica do nitrogênio e, também, com microorganismos fitopatogênicos. Além disso, os flavonoides têm sido utilizados como marcadores na quimiotaxonomia.

OBJETIVOS

Observar a separação de pigmentos lipossolúveis e hidrossolúveis, por meio de sua partição em solventes de baixa miscibilidade. Acompanhar as variações nas propriedades de alguns desses pigmentos, em função das variações no pH do meio ou de sua hidrólise parcial.

MATERIAIS

- Folhas coloridas de *Iresine herbstii* (Amarantaceae, coração-de-maria) que acumulam betalaína e, de *Codiaeum variegatum* (Euphorbiaceae, cróton) que acumulam antocianina



- Homogenizador ou liquidificador



- Tubos de ensaio (2,5 x 12,5 cm)



- Funil de vidro



- Pipetas



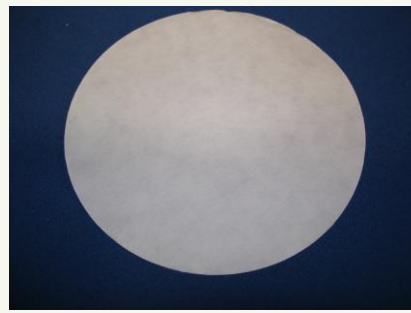
- Gaze



- Funil de separação



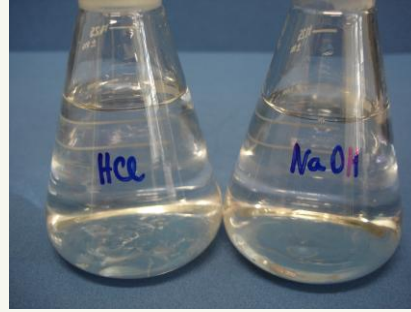
- Papel filtro



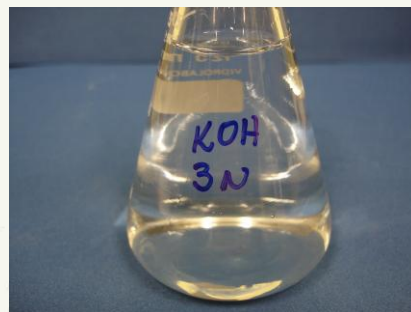
- Acetona 50% (v/v) e éter etílico



- NaOH 0,1 N e HCl 0,1 N



- KOH 3 N



PROCEDIMENTOS

Homogenize 15 g de folhas coloridas da espécie sugerida em 100 mL de acetona a 50% (v/v). Filtre o homogenato através de gaze e depois através de duas camadas de papel-filtro. Coloque 10 mL do filtrado em um funil de separação e adicione, escorrendo pelas paredes, a mesma quantidade de água. Execute movimentos leves de rotação no funil de separação e observe os resultados. Em seguida, adicione lentamente 10 mL de éter etílico. Execute movimentos leves de rotação no funil de separação e observe o que acontece. Recolha em tubos de ensaio a maior parte da camada inferior, descartando a interface. Em outro tubo de ensaio, recolha toda a camada superior obtida durante a separação.

Em um tubo de ensaio, adicione cerca de 5 mL da fração correspondente à camada inferior formada no funil de separação e dilua com igual volume de água destilada. Observe o resultado. Proceda da mesma forma utilizando 2 tubos de ensaio contendo material proveniente da camada superior, observando as diferenças.

A outros tubos de ensaio, adicione cerca de 5 mL da fração correspondente à camada inferior do funil de separação e acrescente, a cada um deles, uma quantidade diferente de gotas de HCl 0,1 N. Observe os resultados. Em seguida, adicione aos tubos quantidades variáveis de NaOH 0,1 N e HCl 0,1 N, observando o que acontece.

A um dos dois tubos de ensaio contendo a mistura proveniente da camada superior do funil de separação, acrescente algumas gotas de KOH 3 N. Agite ambos os tubos e observe o que acontece em cada um deles.

Explique todos os resultados obtidos.