

## BIB 315 – METABÓLITOS VEGETAIS: ORIGEM, DIVERSIDADE E APLICAÇÕES

### **Prática 11: Caracterização de algumas classes de metabólitos secundários envolvidas nas interações planta-ambiente**

**Objetivos:** Realizar a caracterização de algumas classes de metabólitos secundários, ainda não trabalhadas na disciplina, envolvidas nas interações das plantas com agentes bióticos e abióticos.

#### **1. GLICOSÍDIOS CIANOGENICOS**

A toxicidade das plantas cianogênicas é devida à liberação de HCN pela hidrólise do glicosídeo. O HCN é uma substância moderadamente tóxica devido à sua capacidade de formar complexos reversíveis com heme-proteínas. Papéis de picrato são preparados mergulhando-os em solução aquosa saturada (0,05 M) de ácido pícrico, previamente neutralizado com bicarbonato de sódio e filtrado. A coloração do papel muda de amarelo para marrom avermelhado se houver liberação de HCN da planta, sendo a intensidade da cor relacionada à quantidade de HCN presente.

Materiais frescos  – folha e raiz de mandioca, semente de maçã, semente de maracujá, folha de goiaba, folha de tumbérgia, folha de azaleia, folha de *Malvaviscus*

- Picar o material fresco a ser testado (folhas ou qualquer órgão vegetal) e transferir para um tubo de ensaio;
- Adicionar 5 mL de água e 2 gotas de diclorometano;
- Tampar o tubo com uma rolha que contenha o papel de picrato suspenso (cuidado para não deixar o papel em contato com a parede do tubo);
- Aquecer ( $\pm 70^{\circ}\text{C}$ ) em banho-maria por cerca de 2 horas. Observar a coloração do papel.

#### **2. TANINOS**

Os taninos são largamente distribuídos nas plantas vasculares, sendo que nas angiospermas estão particularmente associados à lenhosidade. Por definição, eles têm a habilidade de reagir com proteínas, formando co-polímeros estáveis, insolúveis em água. Devido a esta característica, utiliza-se desta reação para a sua caracterização.

Materiais secos  – folhas de *Thunbergia erectus*, *Nicotiana* sp, *Psidium guajava* - goiaba, *Piptadenia gonoacantha* - pau-jacaré

- Pesar cerca de 1 g do material seco e pulverizado;
- Extrair os taninos, a quente ( $\pm 50^{\circ}\text{C}$ ), com 8 mL de etanol 50% por 20 min;
- Filtrar o extrato;
- Transferir para outros dois tubos de ensaio 2 mL do extrato;
- Adicionar em um deles igual volume de solução de gelatina 2% e no outro solução de clara de ovo;
- Fazer outros dois tubos com 2 mL de etanol 50% + 2 mL solução de gelatina 2% ou 2 mL da solução de clara de ovo;
- Verificar a precipitação nos quatro tubos.

### 3. SAPONINAS

Saponinas são glicosídeos de triterpenoides (presentes em algumas Eudicotiledôneas, por exemplo, Sapindaceae) ou de esteroides (presentes em Monocotiledôneas) que apresentam a propriedade de redução da tensão superficial da água, acarretando a formação de espuma quando agitadas.

Materiais: *Sapindus saponaria*, *Illex paraguariensis*, 2 espécies de *Agave*.

#### Preparo e análise dos extratos das plantas:

- Pesar 1g do material seco e previamente triturado (anotar o valor exato da massa utilizada);
- Extrair sob refluxo com 45 mL de água por 30 min;
- Filtrar para balão volumétrico de 50 mL;
- Completar o volume com água para 50 mL em balão volumétrico;
- Transferir 10 mL do extrato para tubos de banho-seco;
- Agitar vigorosamente, de modo idêntico aos tubos para construção da curva padrão;
- Após 2 min, medir as alturas das camadas de espuma;
- Calcular, aproximadamente, a quantidade de saponina nas plantas utilizando o gráfico construído com a curva padrão.

#### Preparo da curva padrão:

- Preparar 50 mL de uma solução a 2% (m/v) de saponinas de extrato de folhas de *Tribulus terrestris*, levando em consideração que o material contém 90% de saponinas totais: pesar 1,111 g (1,000 / 0,9) do extrato, dissolver em 30 mL de água e completar o volume em balão volumétrico de 50 mL. (já preparada)
- Tomar alíquotas dessa solução de acordo com a tabela abaixo, transferindo para tubos de banho-seco:

	Sol. Extr. (mL)	Água (mL)	Massa de sapon. (mg)	Altura espuma (cm)
1	0	10	00	
2	2	8	40	
3	4	6	80	
4	6	4	120	
5	8	2	160	
6	10	0	200	

- Agitar vigorosamente os tubos, no sentido de seu comprimento, durante 30 seg.
- Aguardar 2 min e medir a altura da camada de espuma que persiste em cada tubo.
- Construir um gráfico, relacionando as alturas de espuma com a massa de saponinas.

#### **No relatório**

- Apresentar o resultado de todas as amostras utilizadas para o teste dos glicosídeos cianogênicos;
- Para os ensaios de taninos e de saponinas, apresentar os resultados do seu grupo. No caso de taninos, relacionar o resultado encontrado com aqueles obtidos na prática 6 (fenóis totais) e prática 9 (flavonoides). Para as saponinas, apresentar a quantidade aproximada, em porcentagem, presente no material.
- Apresentar como anexo o cálculo completo feito para a quantificação das saponinas.