

EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DAS CLOROFILAS *a* E *b* NAS FOLHAS DA *Xanthosoma sagittifolium*

Gabriela Coelho Couceiro¹, Yara Barbosa Bustamante¹, Janicy Arantes Carvalho¹, Diego Pachelli Teixeira¹, Patrícia Marcondes dos Santos², Milton Beltrame Junior¹, Andreza Ribeiro Simioni¹

¹ Universidade do Vale do Paraíba / Laboratório de Síntese Orgânica, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento-IP&D, São José dos Campos, São Paulo, 12.244-000, Brasil, gabi_couceiro@hotmail.com;

² Universidade do Vale do Paraíba / Faculdade de Engenharia Arquitetura e Urbanismo (FEAU), São José dos Campos, São Paulo, 12.244-000, Brasil, patriciams@univap.br;

Resumo - A planta *Xanthosoma sagittifolium* (taioba) é uma hortaliça que pode suprir muitas necessidades, sendo uma fonte de proteínas, cálcio, ferro, vitamina C e outros nutrientes. As clorofilas são os pigmentos mais abundantes nas plantas e possuem vários benefícios à saúde. Sendo assim, foi analisada a presença das clorofilas na espécie *Xanthosoma sagittifolium* devido ao seu papel na alimentação e seus benefícios à saúde. A concentração das clorofilas *a* e *b* foram determinadas por espectrofotometria UV-visível (Cl_a = 315,43 µg/mL e Cl_b = 62,79 µg/mL) e a relação de mg de clorofila por grama de planta foi 2,84 mg/g para a clorofila *a* e 0,57 mg/g para a clorofila *b*. A partir da análise dos pigmentos obtidos na separação cromatográfica, pode-se comprovar a presença de ambas as clorofilas na planta.

Palavras-chave: Clorofilas, *Xanthosoma sagittifolium*, Cromatografia.

Área do Conhecimento: Engenharias.

Introdução

A *Xanthosoma sagittifolium* (taioba) é uma espécie vegetal facilmente cultivada e apreciada em certas regiões, especialmente no meio rural. Esta planta apresenta um papel importante em dietas balanceadas, podendo auxiliar a suplementação das populações como fonte de cálcio, ferro, vitamina C, proteínas e outros nutrientes (PINTO et al., 2000).

As folhas das plantas apresentam diversos pigmentos como: clorofilas, carotenóides e flavanóides. As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais. Possuem vários benefícios à saúde, pois são ricas em antioxidantes, ajudam na circulação sanguínea, no controle da diabetes, regulam o intestino e têm ação antibacteriana (DELGADO-VARGAS et al., 2000; ALKEMA et al., 1982; VON ELBE, 2000). Os pigmentos fotossintéticos e a sua abundância variam de acordo com a espécie. A clorofila *a* está presente em todos os organismos que realizam fotossíntese oxigênica. Ela é o pigmento responsável por realizar o primeiro estágio do processo fotossintético, enquanto que os demais auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante (pigmentos acessórios). Os principais pigmentos acessórios incluem outros tipos de clorofilas: clorofila *b*, presente em vegetais superiores, algas verdes e algumas bactérias; clorofila *c*, em feófitas e diatomáceas; e clorofila *d*, em algas vermelhas (TAIZ et al., 2004).

A separação desses pigmentos vegetais pode ser realizada através de técnicas cromatográficas, (no presente estudo foi utilizado a cromatografia em coluna) sendo esta uma técnica utilizada para a separação de compostos orgânicos. Ela se baseia na polaridade relativa das moléculas envolvidas e também possui uma abordagem ilustrativa e relevante de alto impacto visual (FONSECA et al., 2004).

Este trabalho foi realizado visando analisar qualitativamente por cromatografia em coluna e quantitativamente por espectroscopia no UV-visível as clorofilas presentes na *Xanthosoma sagittifolium*.

Metodologia

As amostras foram coletadas no Centro de Estudos da Natureza na Universidade do Vale do Paraíba. Após a coleta, as amostras foram limpas, lavadas com água potável e, em seguida, enxaguadas com água destilada. Para a obtenção do extrato da planta, pesou-se 10 g de folhas picadas em pequenos pedaços. Adicionou-se 30 mL de hexano, 30 mL de etanol (1:1) e uma pequena quantidade de areia. A mistura foi macerada durante dez minutos e após esse período, o extrato obtido foi filtrado e armazenado longe do abrigo da luz (FONSECA et al., 2004).

O método quantitativo oficial publicado pela AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*, 1995) baseia-se em espectrofotometria estimando o teor total de clorofila através de fórmulas que consideram as absorções máximas de cada pigmento em determinados comprimentos de onda, dependendo do solvente analisado. Sendo assim, analisou-se o extrato obtido por espectroscopia no UV-visível em um equipamento *Cary 50 BIO-Varian Inc. Scientific Instruments*, Australia. A fim de calcular a concentração das clorofilas presentes utilizou-se as seguintes equações:

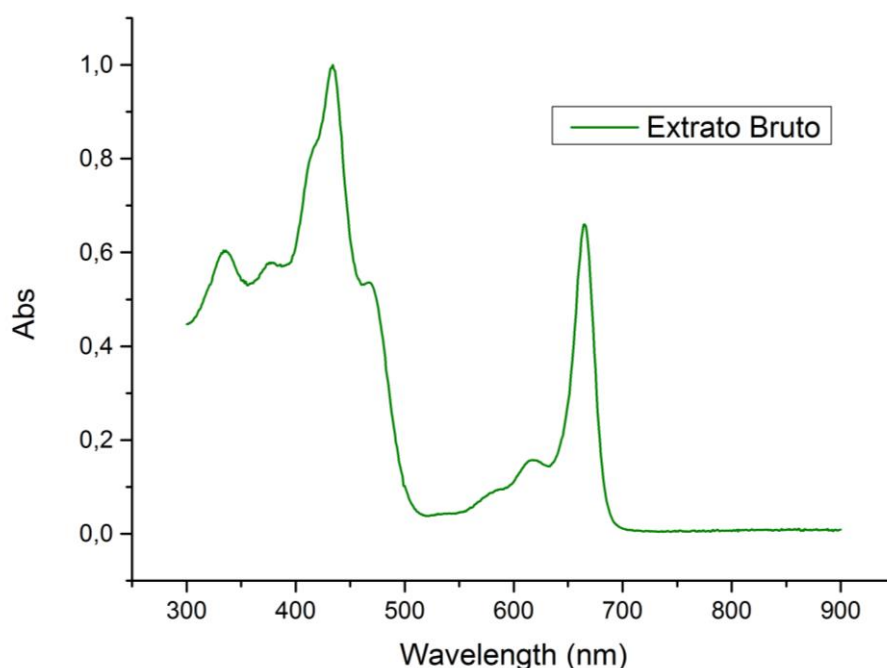
$Cla = 13,36 \times A_{664,1} - 5,19 \times A_{648,6}$ e $Clb = 27,43 \times A_{648,6} - 8,12 \times A_{664,1}$, onde Cla é a concentração da clorofila a, Clb é a concentração da clorofila b, $A_{664,1}$ é o valor da absorbância do extrato bruto obtida no comprimento de onda de 664 nm e $A_{648,6}$ a absorbância em 649 nm (LICHTENTHALER & BUSCHMANN, 2001).

Em trabalhos anteriores, verificou-se que é possível separar qualitativamente as clorofilas da *Xanthosoma sagittifolium* por cromatografia em coluna utilizando farinha de arroz como material alternativo para a fase fixa e metanol como fase estacionária (REZENDE, 2016). Esta coluna foi utilizada para a separação qualitativa dos pigmentos encontrados no extrato bruto. Após essa separação, os pigmentos foram analisados por espectroscopia no UV-visível em um equipamento *Cary 50 BIO-Varian Inc. Scientific Instruments*, Australia para quantificação das frações de clorofila (a e b).

Resultados

O espectro de absorção obtido para o extrato bruto (Figura 1) foi utilizado para a quantificação da concentração das clorofilas a e b seguindo a metodologia descrita por Lichtenthaler e colaboradores. Os resultados encontrados foram: Cla = 315,43 µg/mL e Clb = 62,79 µg/mL.

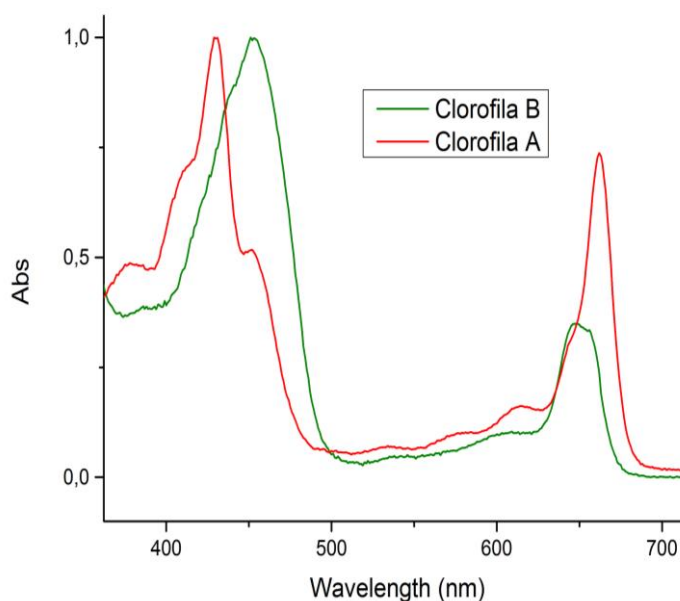
Figura1 – Espectro de absorção normalizado do extrato bruto.



A partir dos valores de Cla e Clb, determinou-se a massa em miligramas de clorofila *a* e *b* por grama de planta. Os valores encontrados foram: 2,84 mg/g de planta para a clorofila *a* e 0,57 mg/g para a clorofila *b*.

Após separação na coluna cromatográfica obteve-se três frações: pigmento verde claro, verde escuro e amarelo. Os pigmentos foram analisados por espectroscopia no UV-visível. Comparando os resultados obtidos com os encontrados na literatura, pode-se afirmar que o verde claro corresponde a clorofila *a* e o verde escuro da clorofila *b* (Figura 2). O pigmento amarelo corresponde aos carotenoides presente na planta e não foi utilizado neste estudo.

Figura 2 – Espectro de absorção normalizado da clorofila *a* e *b*.



Discussão

A mudança nas absorbâncias em cada comprimento de onda (clorofila *a* e *b*) é reflexo da concentração dos pigmentos nas folhas. A proporção relativa entre estes também influi na determinação do espectro, já que cada tipo de clorofila tem picos de absorção em distintos comprimentos de onda (LEXENGEL & POGGIAN, 1991). Este fator foi comprovado pelos espectros de absorção de cada uma das frações obtidas por cromatografia alternativa em coluna conforme apresentado na Figura 2.

Os resultados obtidos para a quantidade em miligramas de clorofila por grama de planta comprovam a predominância da clorofila *A* nas folhas da *Xanthosoma sagittifolium*. As plantas verdes contêm principalmente a clorofila *a*, que corresponde a aproximadamente 75% dos pigmentos verdes totais. Já a clorofila *b* é um pigmento suplementar na proporção de 3:1, embora valores maiores já tenham sido relatados na literatura. Essa proporção varia com condições de crescimento e fatores ambientais (GROSS, 1991).

A análise dos pigmentos obtidos através da separação cromatográfica comprovou a presença de ambas as clorofilas no extrato bruto e demonstrou que a clorofila *a* encontra-se em maior quantidade corroborando com os estudos descritos na literatura.

Conclusão

Neste trabalho foi realizada a extração de pigmentos fotossintéticos nas folhas da *Xanthosoma sagittifolium* e os mesmos foram separados por cromatografia alternativa em coluna, que se mostrou como uma metodologia eficiente para separação de extratos foliares.

As frações de clorofila (a e b) separadas foram estudadas qualitativa e quantitativamente seguindo a metodologia oficial estabelecida pela AOAC.

A clorofila possui grande potencial como antioxidante e como etapa futura do trabalho será avaliado o potencial antioxidante de cada uma das frações extraídas nas folhas da *Xanthosoma sagittifolium*.

Agradecimentos

A Universidade do Vale do Paraíba pela capacitação acadêmica.

Referências

ALKEMA, J.; SEAGER, S.L. The chemical pigments of plants. **Journal of Chemical Education**. V. 59, p. 183-186, 1982.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC), **Official Methods of Analysis**, 16ed, V1, cap.3, p26-28, 1995.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDESLOPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, biosynthesis, processing and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, V. 40, p. 173-289, 2000.

GROSS, J. **Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991, 351p.

FONSECA, S.F. et al. Extração de pigmentos do espinafre e separação em coluna de açúcar comercial. **Química Nova na Escola**, n. 20, p. 55-58, 2004.

LEXENGEL, V. & POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, V.3, p. 39-45, 1991.

LICHTENTHALER, H. K. & BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley & Sons. p. F4.3.1-F4.3.8. 2001.

PINTO, N.A.V.D.; CARVALHO, V. D. de; BOTELHO, V. A. V. A.; MORAES, A. R. de. Determinación Del potencial de fibras dietéticas em lãs hojas de taioba (*Xanthosoma sagittifolium* Schott). **Revista Alimentaria**, Madrid, v.5, n.312, p.87-90, 2000.

DE REZENDE, B.A., DA SILVA, T.G.P., CARVALHO J.A., PEREIRA, J.R., BELTRAME JR., M., DOS SANTOS, P.M., SIMIONI, A.R. **Desenvolvimento de cromatografia alternativa para separação das clorofilas da xanthosoma sagittifolium**. In: 14º CONGRESSO DE SAÚDE E QUALIDADE DE VIDA DO CONE LESTE PAULISTA, 2016, São José dos Campos. Universidade do Vale do Paraíba, 2016.

VON ELBE, J.H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Wisconsin - Madison, 2000. Cap.10, p.782-799, 2000.