

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DEPARTAMENTO DE QUÍMICA PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM QUÍMICA EM REDE NACIONAL



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DEPARTAMENTO DE QUÍMICA PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM QUÍMICA EM REDE NACIONAL

KIT EXPERIMENTAL DE EXTRAÇÃO E TESTES DE IDENTIFICAÇÕES DE METABOLITOS SECUNDÁRIOS

KIT EXPERIMENTAL DE EXTRAÇÃO E TESTES DE IDENTIFICAÇÕES DE METABOLITOS SECUNDÁRIOS

Produto educacional desenvolvido como proposta para obtenção do título de mestre do discente Leandro Soares, orientado pelos professores Dr. (s) João Rufino e Ronaldo Dionísio.

CARTA DE APRESENTAÇÃO

Caro professor, o presente trabalho é fruto de uma pesquisa realizada no mestrado profissional em química em rede nacional, onde, foi desenvolvida uma sequência didática investigativa com o tema de plantas medicinais para auxiliar o processo de ensino e aprendizagem do conteúdo de funções orgânicas, esperamos com esse produto criar um material que possa servir para auxiliar as aulas de química na educação básica, pois, temos consciência sobre o quão difícil é a labuta nesse nível de aprendizagem.

Sabemos também o quanto é precária as estruturas físicas dos estabelecimentos e o quão é difícil a aquisição de materiais e reagentes para realização de atividades experimentais, principalmente as relacionadas ao estudo da química orgânica, área que é necessário reagentes e materiais específicos. Podemos citar também a jornada de trabalho, onde, o professor possui pouco tempo para realizar pesquisas e preparar material para realização de aulas experimentais.

Diante disso, elaboramos uma proposta de um kit experimental de química orgânica, ele aborda experimentos acerca do tema plantas medicinais. Ele se baseia em testes fitoquímicos qualitativos de identificação de metabólitos secundários, para sua elaboração, foi levado em consideração alguns aspectos relacionados a complexidade dos testes e materiais envolvidos.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	5
METABÓLITOS SECUNDÁRIO	6
TÉCNICAS PARA EXTRAÇÃO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	11
TESTES DE IDENTIFICAÇÃO	13
REFERÊNCIAS	15

INTRODUÇÃO

O ensino de química atualmente, não vem conseguindo despertar o interesse dos jovens da educação básica pela carreira científica, podemos elencar alguns fatores que ocasionam tal evento, como: aulas majoritariamente expositivas que se resumem a mera memorização de regras, aulas com pouca ligação com o dia a dia do estudante, valorização do abstrato em detrimento aos fenômenos visíveis, entre outros.

Uma das alternativas para a superação desse obstáculo é a utilização de temáticas para se trabalhar os conteúdos curriculares, é importante ressaltar que a mesma deve ter uma estreita relação com o cotidiano dos estudantes, com isso, os estudantes podem dar significado aos conhecimentos aprendidos.

Outro caminho apontado na literatura é a realização de aulas experimentais, mas, é preciso ter cuidado, pois, a realização das mesmas por si só, não garante o processo de ensino e aprendizagem. A experimentação para o ensino pode assumir várias abordagens, como: demonstrativa, investigativa e tradicional.

Em estudos apresentados recentemente Silva, Perdigão e Albuquerque (2017), ambas as abordagens podem contribuir para o desenvolvimento cognitivo dos estudantes, acreditamos que a abordagem investigativa tem potencialidades para contribuir rumo a uma aprendizagem significativa.

Diante do exposto, assumimos que um kit experimental de testes de identificação de alguns metabolitos secundários possa contribuir significativamente para o processo de ensino e aprendizagem de química orgânica na educação básica.

METABÓLITOS SECUNDÁRIO

Foram selecionados sete metabólitos secundários que são: Antroquinonas, Flavonoides, Taninos, Saponinas, Cardioativos, Alcalóides e Triterpenos e esteroides para serem realizado os testes de identificação, para essa seleção foram levando em considerações os seguintes aspectos: complexidade dos testes e extrações, materiais e reagentes utilizados e periculosidade dos testes.

Serão apresentadas técnicas de extração e identificação, bem como, materiais usados nas práticas, propriedades terapêuticas e definição dos metabolitos secundários.

ANTROQUINONAS

As antraquinonas segundo a Sociedade Brasileira de Farmacognosia – SBF (2020a, n.p.) "são quimicamente definidas como substâncias fenólicas derivadas da dicetona do antraceno, "seus derivados geralmente possuem coloração alaranjado", sua estrutura genérica pode ser observada na Figura 1.

Figura 1: estrutura genérica das antroquinonas.

Fonte: SBF (2020a, n.p.)

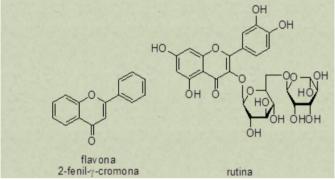
As plantas que possuem tal metabólito são empregadas terapeuticamente como laxativos e catárticos, por agirem irritando o intestino grosso, aumentando a motilidade intestinal e, por consequentemente, diminuindo a reabsorção de água.

FLAVONOIDES

Segundo a SBF (2020b, n.p.) "os flavonoides são compostos naturais, derivados da benzo-γ-pirona, apresentando a estrutura química C₆-C₃-C₆." Ocorrem

no estado livre ou, mais comumente, como *O*-glicosídeos, embora exista um número considerável de *C*-glicosídeos", por ser uma classe altamente diversificada, a Figura 2 traz algumas estruturas dos flavonoides.

Figura 2: exemplo da estrutura química de alguns compostos classificados como flavonoides.



Fonte: SBF (2020b, n.p.)

Os flavonoides são uma das classes de metabolitos secundários mais diversificada apontada pela literatura e possuem propriedades terapêuticas particulares como antiviral, anti-inflamatória, anti-ulcerativa, antiespasmódica e antioxidante.

TANINOS

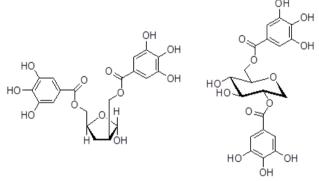
Os taninos são substâncias complexas presentes em inúmeros vegetais, os quais têm a propriedade de se combinar e precipitar proteínas de pele de animal, evitando sua putrefação e, consequentemente, transformando-a em couro.

"São substâncias detectadas qualitativamente por testes químicos ou quantitativamente pela sua capacidade de se ligarem ao pó de pele" (SBF, 2020c, n.p.). Eles podem ser classificados em condensados (A) ou hidrolisáveis (B), suas estruturas podem ser observadas nas Figuras 3 e 4.

Figura 3: exemplos de estruturas dos taninos condensados.

Fonte: SBF (2020c, n.p.)

Figura 4: exemplos de estruturas dos taninos hidrolisáveis.



Fonte: SBF (2020c, n.p.)

Plantas ricas em taninos são empregadas em patologias como feridas, queimaduras, problemas gastrointestinais, urinários e em quadros inflamatórios e diarreias.

SAPONINAS

Segundo SBF (2020d, n.p.) as saponinas são "Quimicamente, constituem um grupo heterogêneo, sendo classificados em glicosídeos saponosídicos do tipo esteroide (hecogenina) e do tipo triterpênico (ácido glicirretínico)". Pode-se observar suas estruturas na Figura 5.

Figura 5: estruturas químicas dos grupos das saponinas.

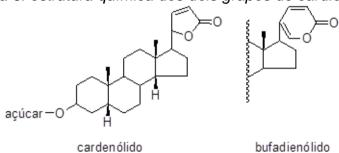
Fonte: SBF (2020d, n.p.)

As plantas que contêm esses metabólitos secundários geralmente são esternutatórios (provocam espirros) e irritantes para as mucosas.

CARDIOATIVOS

Quimicamente os cardioativos segundo SBF (2020e, n.p.) "as agliconas (ou geninas) desse grupo caracterizam-se pelo núcleo fundamental do ciclopentanoperidrofenantreno e são divididas em dois grupos de acordo com o anel lactônico insaturado ligado ao C-17: pentacíclico (*cardenólido*) ou hexacíclico (*bufadienólido*), suas estruturas" podem ser observadas na Figura 6.

Figura 6: estrutura química dos dois grupos de cardioativos



Fonte: SBF (2020e, n.p.)

As plantas ricas em cardioativos possuem ação no musculo cardíaco e são utilizados no tratamento de insuficiência cardíaca congestiva crônica.

ALCALÓIDES

Os alcaloides constituem um grupo heterogêneo de substâncias nitrogenadas, geralmente de origem vegetal, de caráter básico e que apresentam acentuada ação farmacológica em animais. Esses compostos são encontrados nos vegetais predominantemente na forma combinada, com ácidos orgânicos, e em concentração menor, na forma livre. Na Figura 7 é possível analisar as estruturas dos alcaloides.

Figura 7: Exemplos de estruturas químicas de alguns alcalóides.

Fonte: Nós X Drogas: uma batalha para vencermos (2020, n.p.)

Os alcaloides eram utilizados como forma de alcançar os "deuses". O uso terapêutico também marca a presença dos alcaloides na promoção da saúde, com a descoberta da Vincristina e Vinblastina, presentes na vinca para tratamento de câncer.

TRITERPENOS E ESTEROIDES

Terpenos são compostos derivados do ácido mevalônico, geralmente cadeias fechadas, compostas por um determinado número de carbonos entre 5C e 30C, a Figura 8 traz exemplos de estruturas dos terpenos e esteroides.

Figura 8: forma estrutural de alguns terpenos e esteroides.

COR

$$R_1$$
 R_2

1: R_1 , R_2 = 0

2: R_1 = OH, R_2 = H

3: R = OH

4: R = ONa

Fonte: Araújo et al. (2020, p.1761)

Os triterpenos e esteroides são metabólitos secundários de origem natural que constituem classes de substâncias promissoras com inúmeras propriedades biológicas já relatadas na literatura no tratamento do HIV.

TÉCNICAS PARA EXTRAÇÃO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A Quadro 1, mostra os procedimentos experimentais e os materiais necessários para a realização das extrações dos metabolitos secundários presentes em algumas plantas. Salientamos ainda que alguns dos materiais, podem ser adaptados à realidade vivida pelo professor, podendo haver a substituição de alguns materiais, desde que, não afete o procedimento experimental.

Quadro 1: materiais e técnicas de extração dos metabólitos secundários

Metabólito	Materiais	Modo de extração
Antroquinonas	1 cadinho 1 pipeta graduada de 10mL 1 tubo de ensaio 1 balança	1º - pulverizar 0,5g da planta. 2º - adicionar 5mL de éter etílico e deixa-se decantar, por 3 min. 2º - Transfere-se para 1 tubo de ensaio o sobrenadante. 3º - Se repete os procedimentos 2 e 3, com o sobrenadante do tubo de ensaio.
Flavonoides	1 balança 2 Pipeta graduada de 10mL. 1 pera pipetadora 150mL de etanol 70% Almofariz e pistilo 1 papel filtro 1 Balão volumétrico de 100mL 1 cadinho 2 pipetas de pasteur 1 funil	1º - Pesa-se 10g da planta e se moe em 10mL de etanol 70%, no almofariz e pistilo. 2º - filtra-se a amostra e coloca em um balão volumétrico de 100mL, e com auxílio do funil completa-se o volume com a mesma solução etanoica. 3º - Coloca-se 8mL da amostra com a pipeta graduada em um cadinho e leva a balho maria, para a eliminação dos líquidos, em seguida se adiciona 0,2mL de clorofórmio com a pipeta de pasteur até a eliminação do líquido, em seguida tirar do banho maria e adicionar 1mL de etanol 70%, com outra pipeta de pasteur.
Taninos	1 Balança 1 béquer de 100mL. 2 béqueres de 250mL. 150mL de água. 1 Fonte de calor 1 papel filtro	1º - Pesar 15 gramas da planta em um béquer de 100mL. 2º - Em um béquer de 250mL, adicionar 100mL de água mineral.

		3º - Colocar o material do
		béquer do procedimento 1, no béquer do procedimento 2. 4º Ferver a amostra do béquer após o procedimento 3. 5º deixar esfriar e filtrar para outro béquer de 250mL.
Saponinas; Triterpenos e esteroides	3 béqueres de 100mL. 1 fonte de calor 1 papel filtro 1 balança 20mL de água.	1º - Em um béquer de 100mL, pesar 2g da planta. 2º - Em um béquer de 100mL adicionar 10mL de água. 3º - Adicionar a amostra do procedimento 1, no béquer do procedimento 2. 4º - Levar a fonte de calor até ferver. 5º - Após esfriar, filtrar para outro béquer de 100mL.
Cardioativos	1 Balança 3 Béqueres de 100mL. 1 Fonte de calor. 3 Papel filtro. 100mL de etanol a 50%. 30mL de acetato de chumbo a 10%. 1 balão de decantação. 10mL de clorofórmio	1º - Pesar 5 gramas da planta em um béquer de 100mL. 2º - Em outro béquer de 100mL, adicionar 30mL de uma solução de etanol a 50%. 3º - Adicionar o material do procedimento 1, no béquer do procedimento 2 e levar a uma fonte de calor e deixar ferver por 10 min. 4º - Após esfriar e filtrar para outro béquer de 100mL. 5º - Depois, realizar o procedimento 2 e o procedimento 2 e o procedimento 3, por mais duas vezes. 6º - Coloca-se 30mL de uma solução de acetato de chumbo 10% no béquer do procedimento 5 e deixa esfriar. 7º - Transfere essa solução para um balão de decantação e adiciona-se 10mL de clorofórmio, espera a separação das fases e faz a decantação do clorofórmio.
Alcaloides	1 fonte de calor 1 pipeta graduada de 25mL 1 béquer de 50mL 1 balança	1º - Em um béquer, pesar 5g da planta. 2º - Com a pipeta graduada, adicionar 35 mL de ácido clorídrico a 10% no béquer do procedimento 1. 3º - Leva-se o béquer do procedimento 2, para a fonte de calor e deixa-se ferver por 15 mim.

Fonte: adaptado de Junqueira (2014) e SBF (2020f)

TESTES DE IDENTIFICAÇÃO

A Quadro 2, traz os procedimentos experimentais necessários para a realização dos testes de identificação de alguns metabolitos secundários presentes em algumas plantas. Salientamos ainda que alguns dos materiais, podem ser adaptados à realidade vivida pelo professor, podendo haver a substituição de alguns materiais, desde que, não afete o procedimento experimental.

Quadro 2: materiais e procedimentos experimentais para realização de testes de identificação de metabolitos secundários.

Metabólito	Materiais	Procedimentos
secundário		
Antroquinonas	1 pipeta de pasteur de plástico de 3mL 1 pipeta graduada de 10 mL 10mL de Hidróxido de amônio 10% 1 tubo de ensaio 1 pêra pipetadora	1º - Com uma pipeta graduada adicionar 5mL da amostra em um tubo de ensaio. 2º - Com a pipeta de pasteur adicionar 1mL ou 20 gotas de hidróxido de amônio e agitar. Positivo – desenvolve a coloração rósea
Flavonoides	1 pipeta de pasteur de plástico de 3mL 1 pipeta graduada de 10 mL 1g de magnésio em pó 10mL Ácido clorídrico concentrado 1 tubo de ensaio 1 pêra pipetadora	1º - Com a pipeta de pasteur colocar 2mL da amostra etanoica em um tubo de ensaio. 2º - Com cuidado, adicionar 0,2g de Magnésio em pó na amostra. 3º - com a pipeta graduada adicionar 1mL de HCl concentrado. Positivo – desenvolve a coloração rósea/vermelho.
Taninos	2 pipetas de pasteur de plástico de 3mL 1 pipeta graduada de 10 mL Água 10 mL de cloreto férrico a 1% em etanol 1 tubo de ensaio 1 pêra pipetadora	1º - Com uma pipeta de pasteur, colocar 2mL da amostra em tubo de ensaio. 2º - Com uma pipeta graduada, colocar 10mL de água no tubo com a amostra. 3º - Adicionar 6 gotas de Cloreto férrico, no tubo com a amostra com a pipeta de pasteur. Positivo – desenvolve a coloração Verde ou Azul, a depender do tanino presente
Saponinas e terpenos e esteroides	1 pipeta graduada de 10 mL 1 tubo de ensaio Água mineral 1 Fonte de calor 1 Garra de madeira 1 pêra pipetadora	1º Colocar em um tubo de ensaio 10mL de água com a pipeta graduada. 2º colocar 2g da amostra no mesmo tubo do procedimento 1, e ferver por 15 min. 3º Ao esfriar, agitar energicamente por 20 seg e marcar no tubo de ensaio o nível da espuma. Positivo – Permanência da espuma após 15 min.

Cardioativos	1 capsula de porcelana 1 pipeta de pasteur de plástico de 3mL 10 mL de ácido fosfórico concentrado 1 bastão de vidro 1 Luz ultravioleta	1º - Colocar a amostra em uma cápsula de porcelana, colocar 3 gotas de ácido fosfórico concentrado. 2º - Agitar com um bastão de vidro e observar em luz ultra violeta. Positivo – desenvolve a coloração amarelo ou esverdeado
Alcaloides	2 pipetas de pasteur de plástico de 3mL 10mL de uma solução saturada de lodeto de potássio. 1 tubo de ensaio	1º - Com a pipeta de pasteur, adicionar 2mL, da amostra em um tubo de ensaio. 2º - Com a pipeta de pasteur, adicionar 4 gotas de lodeto de potássio. Positivo – desenvolve a coloração Marrom

Fonte: adaptado de Lima (2012), Junqueira (2014) e SBF (2020f)

REFERÊNCIAS

ARAUJO, Francieli Casassa Vieira de; MARQUES, Fábio Gonçalves; SILVA, Cleuza Conceição da; SANTIN, Silvana Maria de Oliveira; NAKAMURA, Celso Vataru; ZAMUNER, Maria Lucília Motinha; SOUZA, Maria Conceição de. TERPENOS ISOLADOS DE Coussarea platyphylla Müll. Arg. (RUBIACEAE). **Química Nova**, [S.I.], v. 32, n. 7, p. 1760-1763, out. 20009. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/qn/v32n7/15.pdf. Acesso em: 20 jan. 2020

JUNQUEIRA, Shirlene Costa. **Transposição didatica das atividades experimentais em abordagem fitoquimica preliminar**: uma proposta teorico-experimental para o ensino médio. 2014. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade Anhanguera de São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível em: http://repositorio.pgsskroton.com/bitstream/123456789/3387/1/SHIRLENE%20COST A%20JUNQUEIRA.pdf. Acesso em: 15 fev. 2020.

SILVA, Leandro Soares; PERDIGÃO, Claudio Henrique Alves; ALBUQUERQUE, Leticia Lima. AULA EXPERIMENTAL: qual o melhor método?. In: Simpósio Brasileiro de Química, 13., 2015, Fortaleza. **Anais do SIMPEQUI.** Fortaleza: Impequi, 2015. p. 1-1. Disponível em: http://www.abq.org.br/simpequi/2015/trabalhos/91/6638-18267.html. Acesso em: 08 jan. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARCACOGNOSIA - SBF (Brasil). **Antraquinonas**. Disponível em: http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/antraquinonas.html. Acesso em: 20 jan. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARCACOGNOSIA - SBF (Brasil). **Flavonoides e Antocianos**. Disponível em: http://sbfgnosia.org.br/Ensino/flavonoides_e_antocianinos.html#:~:text=Os%20flavon oides%20s%C3%A3o%20compostos%20naturais,%2DC3%2DC6.&text=S%C3%A3 o%20conhecidos%20mais%20de%202000,usados%20como%20compostos%20mar cadores%20quimiossistem%C3%A1ticos. Acesso em: 20 jan. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARCACOGNOSIA - SBF (Brasil). **Saponinas**. Disponível em: http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/saponinas.html. Acesso em: 20 jan. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARCACOGNOSIA - SBF (Brasil). **Drogas cardioativas**. Disponível em: http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/drogas_cardioativas.html. Acesso em: 20 jan. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARCACOGNOSIA - SBF (Brasil). **Informações gerais**. Disponível em: http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/index.html. Acesso em: 20 jan. 2020.

NÓS X DROGAS: UMA BATALHA PARA VENCERMOS. **O QUE É UM ALCALOIDE?** Disponível em: http://djalmaxdrogas.blogspot.com/2013/03/o-que-e-um-alcaloide.html. Acesso em: 20 jan. 2020.