



Universidade
Federal de Pernambuco

PROPESQ
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS
DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Centro de Ciências Exatas e da Natureza

Departamento de Química Fundamental



**Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica para o Ensino Médio (PIBIC-
EM/UFPE/CNPq)
EDITAL 2017-2018**

Título do Projeto

**Caracterização dos extratos de *Syzygium malaccense* e seu emprego como
indicador natural de pH**

Orientadora

Profa. Dra. Ana Paula Silveira Paim

Co-orientadora

Profa. Dra. Ana Maria Alves de Souza

Bolsista

Filipe Gomes de Melo

Palavras-chave: cromatografia, indicador natural de pH, titulação, jambeiro vermelho, extração

Recife

Agosto 2018



SUMÁRIO

1. Introdução.....	3
1.1 Fundamentação teórica.....	4
2. Objetivos.....	6
3. Matérias e métodos.....	7
3.1 Preparação das placas de cromatografia.....	7
3.2 Preparação dos extratos.....	7
3.3 Cromatografia.....	7
3.4 Teste como indicador de pH.....	8
3.5 Separação do material da placa de cama grossa.....	8
4. Resultados e discussão.....	8
4.1 Extratos.....	9
4.2 Papel de filtro.....	9
4.3 Cromatografia de camada delgada em placas de sílica em gel.....	10
4.4 Cromatografia de alta performance	11
4.5 Cromatografia em camada grossa.....	11
5. Discussão.....	12
6. Conclusão.....	13
7. Bibliografia.....	14

1. INTRODUÇÃO

Ácidos e bases são conceitos fundamentais na química e bastante presentes no nosso dia a dia e no estudo de química do ensino médio. Os conceitos de ácidos e bases de Arrhenius, químico sueco, no fim do século XIX, estabeleceu que ácido é um composto que contém hidrogênio e reage com água para formar íons H_3O^+ , enquanto base é um composto que produz íons OH^- em água. Outros conceitos surgiram como o de Bronsted-Lowry e de Lewis, mas a definição de Arrhenius é a que primeiro se ensina aos alunos do ensino médio.

A medida do pH de uma solução aquosa pode ser realizada por diversos métodos, dentre eles estão os medidores de pH (equipamentos que transformam a concentração de H_3O^+ da solução em sinal elétrico) e os indicadores. Os indicadores ácido-base, também conhecidos como indicadores de pH, são substâncias orgânicas fracamente ácidas (indicadores ácidos) ou fracamente básicas (indicadores básicos) que mudam de cor em função do pH da solução (Baccan et al., 1979) pois essas substâncias apresentam comportamentos opostos. Os indicadores podem ser naturais ou sintéticos.

Materiais naturais são amplamente utilizados como indicadores de pH, sendo pesquisados por diversos pesquisadores. O uso de extratos de repolho roxo, sugerido pelo Grupo de Pesquisa em Educação Química (GEPEQ, 1995), é amplamente conhecido.

Existe uma importante demanda por novos indicadores de pH, de fácil obtenção e fabricação e de fácil armazenamento. Segundo esse contexto, o *Syzygium malaccense*, mais conhecido como Jambeiro Vermelho, é uma boa opção. Apesar de sua origem na Malásia o *Syzygium malaccense* é bem comum no norte, nordeste e sudeste brasileiros. Suas flores caem naturalmente, cobrindo o solo com um tapete rosa de beleza notável, mas que, sem nenhuma função, são recolhidos e descartados.

A coloração das flores do *Syzygium malaccense* é indicativo da presença de antocianinas que podem ser utilizadas como indicadores naturais em atividades experimentais no ensino básico. Devido a sua fácil coleta e seu possível potencial como indicador natural de pH, foi decidido continuar o trabalho anteriormente realizado por uma bolsista PIBIC-EM que realizou a extração das substâncias. No presente projeto foi proposto realizar a identificação das substâncias extraídas dos estames do Jambeiro vermelho.

1.1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O indicador natural é uma substância colorida extraída por processos físico-químicos (dissolução, precipitação, extração e outros) ou bioquímicos (fermentação) de uma matéria prima animal ou vegetal (Santos et al., 2012).

O uso de plantas comuns para fabricação de indicadores de pH é algo que já se vem sendo pesquisado a tempos. Terci e Rossi (2002) apresentam um trabalho sobre o uso de frutas comuns no Brasil como indicadores de pH em ambas formas, soluções e em papel. As frutas utilizadas foram *Morus nigra* (amora), *Myrciaria cauliflora* (jabuticaba), *Syzygium cumini* (jambolão) e *Vitis vinífera* (uva). Os autores observam como o uso de papel de filtro impregnado com os extratos durante a filtração pode substituir o papel tornassol, enquanto tiras de papel de filtro qualitativo mergulhadas nos extratos brutos apresentou resultados melhores, capazes de identificar faixas de pH. As soluções líquidas eram capazes de identificar faixas de pH mais estreitas quando comparadas aos papéis de filtro impregnados com os mesmos extratos. Tendo ambos suas vantagens e desvantagens em diferentes situações.

Santos et al. (2012) utilizaram os extratos preparados utilizando as flores das espécies *Hibiscus rosa-sinensis* e *Iroxa chinensi* como indicadores ácido-base naturais. Apresentando cores distintas e de fácil diferenciação para substâncias ácidas, básicas ou neutras.

Mota e colaboradores (2014) prepararam um indicador natural a partir da planta *Pterodon abruptus* (cangalheiro), espécie muito comum na região da Serra da Capivara. A capacidade do indicador foi comprovada com o uso de substâncias ácidas e básicas comuns no dia a dia dos alunos.

Lemos e Panaforte (2010) fizeram experimentos com a semente da planta popularmente conhecida como “Pacova”, os extratos foram obtidos da semente e foram testados com diversos produtos domésticos, tais como ácido muriático, suco de limão, soda limão, vinagre, água com gás, antiácido, álcool, clara do ovo, detergente, amoníaco e soda cáustica.

A árvore do jambo-vermelho possui forma piramidal com folhas grandes verde-escuras e muito brilhantes e pode alcançar até 20 metros de altura, tem sua floração de agosto a fevereiro, com frutificação de janeiro a maio. As flores são formadas por quatro pétalas agrupadas com inúmeros estames formando pompons. São flores de coloração púrpura, e quando caem no chão, formam lindos tapetes de flores que atraem as pessoas. Ainda oferecem sombra, beleza e frutos doces e perfumados, por todas essas características os jambeiros-vermelhos são utilizados como árvore ornamental (Moraes, 2017).



A casca e a polpa de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry) foram estudados através da caracterização física e química da casca e polpa (Augusta et al., 2010) e da quantificação da cor e de antocianinas na casca de jambo vermelho (Augusta et al., 2011).

Os compostos bioativos do jambo vermelho (*Syzygium malaccense*) também foram estudados nas frutas e folhas do jambo vermelho sendo identificados três antocianinas e dezesseis polifenóis (Batista et al., 2017). Nunes e colaboradores (2016) determinaram as características físico-químicas, os compostos bioativos e a atividade antioxidante do Jambo vermelho cultivados no Brasil, na casca e na porção comestível analisadas de forma independente. O conteúdo de compostos fenólicos totais e antocianinas, foram maiores na casca, com a cianidina-3-glicosídica sendo a antocianina majoritária. Os estudos mostraram o potencial do jambo como fonte de compostos antioxidantes com potenciais benefícios à saúde. Os trabalhos citados estudam a casca ou o fruto, não foi encontrado na literatura trabalhos envolvendo o emprego das folhas do Jambo.

A identificação dos compostos pode ser realizada por cromatografia em camada delgada (CCD). A CCD é uma técnica de adsorção líquido-sólido, onde a separação se dá pela diferença de afinidade dos componentes de uma mistura pela fase estacionária. O parâmetro mais importante a ser considerado em CCD é o fator de retenção (R_f), o qual é a razão entre a distância percorrida pela substância em questão e a fase móvel. Os valores ideais para R_f estão entre 0,4 e 0,6. A CCD pode ser empregada tanto na escala analítica quanto na preparativa. Normalmente as placas utilizadas são de vidro e a sílica gel é a fase estacionária mais utilizada para a preparação das placas (Degani et al., 1998).



2. OBJETIVOS

Os objetivos do projeto são:

1. Testar a afinidade de diferentes soluções com o estame;
2. Testar diferenças entre soluções do material macerado e em infusão;
3. Testar os diferentes extratos dos estames e suas reações quando misturados com substancias de diferentes pH;
4. Testar a possibilidade de utilizar papel de filtro expostos ao extrato como indicadores de pH;
5. Utilizar a cromatografia de camada delgada para testar diferentes extratos com diferentes eluentes;
6. Identificar as substancias extraídas das flores do jambeiro vermelho;
7. Validar o emprego das soluções com base na flor como indicadores naturais de pH;
8. Realizar estudos visando a possibilidade de uso dos indicadores de pH em amostras reais;
9. Separar e identificar as substancias presentes nos extratos de *Syzygium malaccense* para a confirmação da presença de antocianinas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Com os extratos dos estames das flores de Jambéiro Vermelho, armazenados sem incidência de luz (Bevilaqua e Souza, 2013) foi realizada a identificação dos compostos presentes nos mesmos. Foram testados métodos cromatográficos de identificação com diversos solventes como fase móvel: amônia, álcool, ácidos carboxílicos e outros.

Também foram realizados testes com os extratos de *Syzygium malaccense* e com o papel de filtro em contato com os extratos, como indicadores de pH.

3.1. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

Os extratos foram preparados a partir dos estames secos da flor do jambéiro vermelho. Os estames podem ser triturados com o solvente e posteriormente filtrados, ou postos em infusão com o solvente.

Diversas soluções foram preparadas com diferentes solventes, como acetona, etanol e acetato.

3.2 TESTE COMO INDICADOR DE pH

Para o teste da viabilidade das soluções com base no estame foi adicionado pequenas quantidades de ácido acético e hidróxido de sódio em tubos de ensaio com diferentes extratos.

Também foi testada a possibilidade de usar as tiras de papel de filtro que foram utilizadas para filtrar os extratos macerados ou que foram imersas nos extratos já prontos, como papel indicador de pH.

3.3 PREPARAÇÃO DE PLACAS DE CROMATOGRAFIA

As preparações de placas de cromatografia em camada delgada foram feitas utilizando sílica gel. Para a base rígida das placas foram utilizadas pequenas placas retangulares de vidro.

Uma mistura de sílica gel e água destilada, era preparada em béqueres utilizando um bastão de vidro para misturar. Para realizar a mistura a sílica era colocada no béquer e misturada com água na proporção 50 g para 30 mL, para alcançar a consistência desejada (líquido relativamente pastoso) adicionou-se água destilada de 5 em 5 mL. Quando a consistência desejada foi alcançada a mistura foi despejada nas placas de vidro, cobrindo toda superfície de um lado da placa de forma homogênea. Para melhor resultado é recomendado agitar levemente a placa para a dissipação de bolhas que podem causar problemas na placa final.



Diversas placas foram preparadas ao mesmo tempo e foram postas para secar em temperatura ambiente. Antes de serem utilizadas as placas foram colocadas na mufla em temperaturas de 37°C por cerca de 15 minutos para maior evaporação da água presente nas placas (visto que a água presente pode causar interferência na cromatografia).

O mesmo processo foi feito para a preparação das placas de camada grossa, porém utilizando uma placa de vidro quadrada de maiores dimensões, cerca de 15 cm de lado.

3.4 CROMATOGRAFIA

Para a cromatografia os extratos foram aplicados nas placas pequenas utilizando capilares, foram feitas duas aplicações de extratos diferentes na mesma placa. Já nas placas de camada grossa foram utilizadas seringas para aplicar o extrato concentrado em uma linha próxima a base da placa.

As placas foram colocadas para correr em cubas de vidro com diferentes fases moveis. Após as placas secarem foi utilizado iodo para revelação das manchas.

3.5 SEPARAÇÕES DO MATERIAL DA PLACA DE CAMADA GROSSA

Para a separação da matéria sólida da placa de camada grossa utilizou-se uma espátula para a quebra e separação das manchas em diferentes béqueres, então foi adicionado álcool etílico a cada béquer, que então foram misturados com bastão de vidro e filtrados. Para maior aproveitamento do material sólido, o processo é repetido 3 vezes ou mais.

4. RESULTADOS E DISCUÇÃO

4.1 EXTRATOS

Foi possível observar que os extratos dos estames do jambeiro vermelho podem ser utilizados como bons indicadores de pH, apresentando colorações distintas quando em contato com meio ácido e com meio básico (a mudança de cor é mais notável quando em contato com meio básico). Os melhores resultados foram obtidos quando o solvente foi o etanol, onde o extrato adquiriu coloração rosada em meio ácido e amarelo-dourado em contanto com meio básico, como mostra a Fig.1.

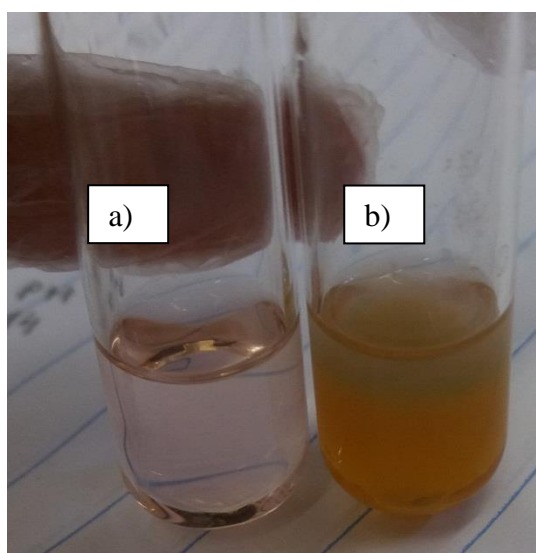


Figura 1. Extrato, em meio de etanol, do estame de jambeiro vermelho, na presença de a) vinagre e b) hidróxido de sódio.

4.2 PAPEL DE FILTRO

O uso do papel de filtro como indicador de pH se mostrou viável, tendo sua cor alterada quando em contato com solução de hidróxido de sódio (pH básico). Os melhores resultados foram observados com os papéis de filtro utilizados na filtração dos extratos em etanol ou deixados em contato com esses extratos. Apesar de ter sua cor pouco alterada quando em contato com pH ácido, o papel de filtro muda sua cor de maneira drástica para tons de verde quando em contato com pH básico, como mostra a Figura 2.

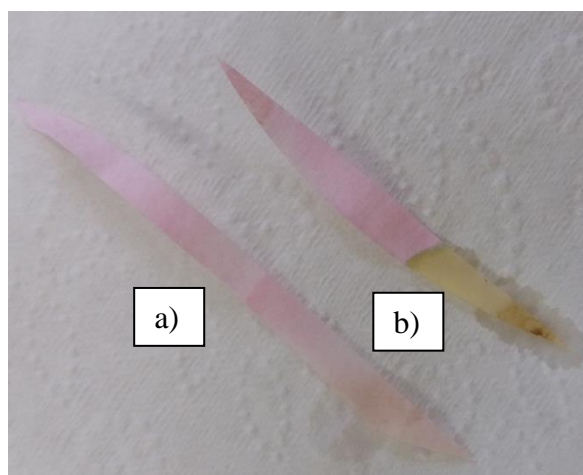


Figura 2. Papel de filtro utilizado para filtrar extrato com etanol exposto a: a) vinagre e b) hidróxido de sódio.

4.3 CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA EM PLACAS DE SÍLICA EM GEL:

Foi possível perceber que o material apresenta maior afinidade com solventes polares, visto que os melhores resultados foram com etanol e acetato. Foi possível observar a presença de, no mínimo, cinco substâncias presentes no extrato, cada qual com diferentes afinidades com o solvente, conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Valores de fator de retenção (Rf) do extrato de jambeiro em ácido acético:etanol para diferentes solventes

Mancha Solvente	1	2	3	4	5
Acetato	0,061	0,21	0,43	0,80	1,0
Acetato e etanol 70:30	0,090	0,28	0,44	0,78	0,9
Acetato e hexano 70:30	0,079	0,16	0,63	0,84	1,0
Acetato e etanol 80:20	0,076	0,37	0,75	0,90	N/A

N/A: não foi possível avaliar

A placa cromatográfica com as manchas dos diferentes compostos contidos no extrato é mostrada na Figura 3.

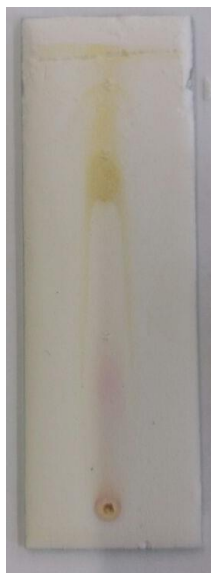


Figura 3. Placa cromatográfica do extrato ácido acético: etanol (85:15) corrido em acetato e etanol (80:20).

4.4. CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC)

Uma análise do material utilizando cromatografia líquida de alta performance com detector na região UV-visível (HPLC-UV-VIS) foi feita pelo estudante Gabriel Cicalese, que já participou deste projeto. Os extratos analisados foram preparados por Filipe e utilizaram: ácido acético, etanol e ácido acético com etanol (em proporções de 15 ml para 85 ml). As medidas foram feitas em dois comprimentos de onda, 500 e 700 nm e dois pHs diferentes: 1 e 4,5, os resultados encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Teores de antocianinas encontrados para extratos de jambeiro vermelho extraídos com diferentes solventes, em diferentes pHs e medidos em dois comprimentos de onda no HPLC-UV-VIS

Amostra	Abs (500 nm)	Abs (700 nm)	Abs (500 nm)	Abs (700 nm)	Antocianinas (mg/g de estame)
	pH 1	pH 1	pH 4,5	pH 4,5	
Etanol	0,476	0,16	0,442	0,178	0,1465
Ácido acético	0,135	0,027	0,08	0	0,0789
Ácido acético + etanol	0,534	0,208	0,512	0,241	0,1323

Observa-se que os teores de antocianinas totais variaram cerca de 50%, de acordo com o tipo de solvente utilizado para extração. Desta forma observa-se que maior teor foi obtido com o etanol e a mistura ácido acético:etanol, os quais devem ser mantidos para posteriores análises.

4.5 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA.

A cromatografia de camada delgada foi realizada com o intuito de separar as substâncias extraídas do Jambeiro, em um material sólido para sua posterior identificação, Figura 4. Uma alíquota do extrato foi adicionado na placa, no entanto, devido a dificuldades no cronograma causadas por problemas de saúde do aluno e reformas no laboratório, não foi possível realizar a análise. As placas apresentaram bons resultados na separação do material. Tais materiais foram usados para fazer cromatografia em placas menores para a confirmação de sua pureza.



Figura 4. Placa de camada delgada de sílica para o jambeiro vermelho extraído em etanol e utilizando como fase móvel acetato e etanol (80:20)

5. CONCLUSÃO

O extrato etanólico dos estames do Jambeiro Vermelho muda de cor de maneira perceptível quando em contato com ácidos ou bases, portanto o material pode ser utilizado como indicador de pH, principalmente para bases, seja na forma líquida ou como papel de filtro.

Por ser facilmente encontrado na região Nordeste, os estames do Jambeiro Vermelho são uma boa opção para ser utilizado no desenvolvimento de indicadores de pH. Também foi possível perceber que o material possui maior afinidade por substâncias polares como etanol ou acetona.

De acordo com a análise cromatográfica preliminar, os teores de antocianinas são maiores quando os compostos são extraídos com etanol. No entanto, mesmo a separação tendo sido feita, ainda não foi possível realizar a identificação individual dos compostos.



REFERÊNCIAS

Atkins, P.; Jones, L. Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente. Trad. Ignez Caracelli et al. Porto Alegre: Bookman, 2001.

Augusta, I.M.; Resende, J.M.; Borges, S.V.; Maia, M.C.A.; Couto, M.A.P.G. Caracterização física e química da casca e polpa de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 30, 2010,928-932.

Augusta, I.M.; Resende, J.M.; Borges, S.V.; Maia, M.C.A.; Couto, M.A.P.G. Quantificação da cor e de antocianinas monoméricas no pó da casca de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*) obtidas por spray dryer. *Revista Higiene Alimentar*. 25, 2011,488-487.

Baccan, N.; Andrade, J. C.; Godinho, O. E. S.; Barone, J. S.; Química Analítica Quantitativa Elementar, 2ª ed., Ed. Unicamp: Campinas, 1979.

Batista, A.G.; Silva, J.K.; Cazarina, C.B.B.; Biasoto, A.C.T.; Sawaya, A.C.H.F.; Prado, M.A. Red-jambo (*Syzygium malaccense*): Bioactive compounds in fruits and leaves. *LWT - Food Science and Technology*. 76, 2017, 284–291.

Belletatto, R.D. Utilização de indicadores orgânicos de pH no ensino de ácidos e bases: considerando alguns aspectos históricos. *História da Ciência e Ensino*. 6, 2012, 71-77.

Bevilaqua, G. C.; Souza, A.M.A. A utilização de extratos de *Syzygium malaccense* e *Terminalia catappa* como indicadores de pH. Trabalho apresentado na Feira Científico Cultural da UFPE e Colégio de Aplicação 2013.

Degani, A.L.G.; Cass, Q.B.; Vieira, P.C. Cromatografia: um breve ensaio. *Química Nova na Escola*. 7, 1998, 21-25.

GEPEQ. Equilíbrio Ácido Base. *Química Nova na Escola*. 1, 1995, 32.

Lemos, R.G.; Penaforte, G.S. Um Novo Indicador Natural ácido-base como Alternativa no Ensino de Química. In: 8º Simpósio Brasileiro de Educação em Química, 2010, Natal-RN.

Lima, V.A.; Battaggia, M.; Guaracho, A.; Infante, A. Demonstração do efeito tampão de comprimidos efervescentes com extrato de repolho roxo. *Química Nova na Escola*. 1, 1995, 33.

Moraes, Paula Lored. Jambo Vermelho. Disponível em: <<http://www.mundoeducacao.com.br/biologia/jambo-vermelho.htm>> Acesso em: 13/05/2017.

Nunes, P.C.; Aquino, J.C.; Rockenbach, I.I.; Stamford, T.L.M. Physico-Chemical Characterization, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Malay Apple [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry]. *PLoS ONE* 11, 2016, 1-11



Santos, L.G.V.; Rodrigues, L.B.; Lima, P.G.; Sousa, T.O.; Costa Neto, J.J.G.; Chaves, D.C. Indicadores naturais ácido-base a partir de extração alcoólica dos pigmentos das flores *Hibiscus rosa-sinensis* e *Iroxa chinensi*, utilizando materiais alternativos. In: Resumo VII CONNEPI 1, 2012, Palmas – TO.

Terci, D.B.L e Rossi, A.V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? Química Nova, 25, 2002, 684-688.

Assinatura do aluno

Assinatura da orientadora

____/____/____
Data