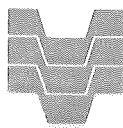


CLASS
AUTOR
TÍTULO



CETESB

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL

Cetesb - Companhia Ambiental
do Estado de São Paulo
Biblioteca Profº Drº Lucas Nogueira Garcez
Av. Profº Frederico Hermann Jr., 345 Pinheiros
05459-900 - São Paulo - Brasil
E-mail: biblioteca@cetesbnet.sp.gov.br

**Comparação entre Duas Metodologias de
Extração e Determinação de Aminoácidos
Livres em Amostras Foliaves**

São Paulo - 1997

CLASS.	0502
AUTOR	D651c
TOMBO	040680

(RCFT)

SECRET

SECRET

DIRETORIA DE RECURSOS HÍDRICOS E ENGENHARIA AMBIENTAL

DEPARTAMENTO DE QUALIDADE AMBIENTAL

DIVISÃO DE QUALIDADE DE SOLO, ÁGUA
SUBTERRÂNEA E VEGETAÇÃO

SETOR DE ECOSISTEMAS TERRESTRES

CETESB - Companhia Ambiental
do Estado de São Paulo

Biblioteca Prof^o Dr^o Lucas Nogueira Garcez
Av. Prof^o Frederico Hermann Jr., 345 Pinheiros
05459-900 - São Paulo - Brasil

e-mail: biblioteca@cetesbnet.sp.gov.br

**Comparação entre Duas Metodologias de
Extração e Determinação de Aminoácidos
Livres em Amostras Foliaves**

CETESB	FICHA TÉCNICA BIBLIOGRÁFICA
---------------	------------------------------------

DOCUMENTO

Tipo Relatório	Data março/98	Origem EQSE	Nº Página/V. 5	Nº Mapas
-------------------	------------------	----------------	-------------------	----------

TÍTULO DO DOCUMENTO

COMPARAÇÃO ENTRE DUAS METODOLOGIAS DE EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS LIVRES EM AMOSTRAS FOLIARES

AUTOR RESPONSÁVEL

Assinatura/Carimbo/Data

AUTORES/ENTIDADES OU UNIDADES A QUE PERTENCEM

Kátia Maria Diniz - CETESB
Rosa Maria Cerdeira Barros - FCF-USP
Úrsula Maria Lanfer Marquez - FCF-USP

DOCUMENTO AUTORIZADO POR

Assinatura/Carimbo/Data

DOCUMENTO REVISADO

Assinatura/Carimbo/Data

CLASSIFICAÇÃO DE SEGURANÇA

EXTERNA INTERNA
 RESERVADA

PALAVRAS CHAVES

metodologia; aminoácidos livres

CÓDIGO E TÍTULO DO PROJETO

DISTRIBUIÇÃO INTERNA

Áreas / Nº de cópias

USO DA BIBLIOTECA

Classificação de Assunto	Nº Documento	Visto/Carimbo/Data
--------------------------	--------------	--------------------

RESUMO

O relatório apresenta a comparação entre duas metodologias de extração e determinação de aminoácidos livres em amostras foliares: NaCl 0,1M + TCA 5% e MCW (metanol, clorofórmio e água).

O resultado indica que as duas metodologias são equivalentes.

OBSERVAÇÕES

USO DA BIBLIOTECA

Local	Editora
Idioma Português <input type="checkbox"/> Inglês <input type="checkbox"/> Espanhol <input type="checkbox"/> Francês <input type="checkbox"/> Alemão <input type="checkbox"/> Italiano <input type="checkbox"/>	
Série	

EQUIPE TÉCNICA

Kátia Maria Diniz - CETESB

Rosa Maria Cerdeira Barros - FCF-USP

Úrsula Maria Lanfer Marquez- FCF-USP

1. Introdução

Aminoácidos e outros compostos nitrogenados solúveis exercem papéis essenciais no metabolismo da planta: são os principais produtos de assimilação do nitrogênio e são precursores de proteínas e ácidos nucleicos.

Numerosos estudos indicam que plantas sujeitas a estresse ambiental apresentam acúmulo de aminoácidos livres. Esse acúmulo foi observado em diferentes tipos de estresse: hídrico, osmótico, por temperatura, por acidez intracelular, patológico, por injeção exógena de amônia, por deficiência mineral e por poluentes atmosféricos (DOHMEN, 1990; MIFLIN, 1980; RABE, 1990; VINCENT, 1990).

Para diagnosticar a contaminação de algumas espécies da Mata Atlântica da região de Cubatão-SP dentro do projeto "Avaliação de Efeitos de Poluentes Atmosféricos sobre a Vegetação em Áreas Críticas do Estado e São Paulo" alguns parâmetros foram analisados tais como análises químicas (teor foliar de macronutrientes e fluoretos), estudos de trocas gasosas (fotossíntese, respiração e condutância estomática), aspectos anatômico-foliares, bem como estudos bioquímicos (ácido ascórbico, taninos e aminoácidos livres).

A avaliação dos resultados do estudo de aminoácidos livres em plantas tolerantes à poluição atmosférica de Cubatão (DINIZ et al, 1994) indica que as plantas tolerantes têm se mostrado estressadas. As plantas sob estresse diminuem seus processos anabólicos mas continuam absorvendo nitrogênio (RABE, 1990). Este nitrogênio é reduzido a amônia que é tóxica para a planta. Para evitar os danos causados pela amônia, o vegetal captura esta amônia num esqueleto carbônico, sintetizando aminoácido. Desta forma, essas plantas conseguem sobreviver em áreas poluídas, embora sob estresse. O estudo de aminoácidos livres em plantas sensíveis aos poluentes atmosféricos de Cubatão (DINIZ et al, 1997) indicam que essas espécies sensíveis parecem não ser dotadas deste mesmo mecanismo metabólico, tendo seu metabolismo deprimido em presença de amônia, não conseguindo destoxicá-la na forma de aminoácidos livres.

A avaliação da concentração de aminoácidos livres em vegetais tem se mostrado um bom parâmetro de análise de estresse por poluentes atmosféricos da região de Cubatão-SP.

Os aminoácidos não são uma série homóloga mas uma variedade heterogênea de compostos alifáticos e cíclicos com grupos funcionais diversos. As particularidades físicas e químicas de cada aminoácido podem propiciar diferenças nos resultados analíticos obtidos, dependendo do método de análise utilizado. Por esse motivo achou-se conveniente comparar os resultados obtidos com o método (NaCl 0,1M e TCA 5%) já utilizado para determinação de aminoácidos livres das plantas da Mata Atlântica dentro deste projeto com um outro método de análise também consagrado (MCW-metanol, clorofórmio e água).

CETESB - Companhia Ambiental
do Estado de São Paulo
BIBLIOTECA

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho é comparar duas metodologias de extração e determinação de aminoácidos livres a fim de avaliar se apresentam diferenças nos resultados de análises de amostras foliares. As metodologias comparadas são a de extração com NaCl 0,1M contendo TCA (ácido tricloracético) 5% e a de extração com MCW (metanol, clorofórmio e água), método descrito por Bielecky & Turner (1966).

3. Materiais e Métodos

Para este trabalho foi selecionada a espécie *Miconia cabucu* por meio de uma planta adulta, do Vale dos Pilões em Cubatão-SP.

Foram coletadas amostras foliares de posição padrão (de 3ª a 5ª inserções do pecíolo), congeladas em campo com gelo seco, liofilizadas, moídas em moinho de facas de laboratório (Janke & Kunkel) e passadas em tamis de 0,250mm de abertura.

3.1 Extração com NaCl 0,1M Contendo TCA 5%

Foi pesado aproximadamente 0,3g da amostra e adicionados 5mL de NaCl 0,1M e 1mL de TCA (ácido tricloracético 30% w/w) deixados em agitação durante 3 horas em câmara fria. A mistura foi centrifugada a 10.000 rpm por 30 minutos. Recolheu-se o sobrenadante e adicionou-se 2 mL de água ao precipitado. Centrifugou-se novamente a 10.000 rpm por 30 minutos. Juntou-se o sobrenadante da segunda centrifugação com o da primeira. Ajustou-se o pH em 2,2 com NaOH e completou-se o volume com água a 10 mL em balão volumétrico. Filtrou-se com papel de filtro. Separou-se uma alíquota de 1mL em um Ependorf. Adicionou-se 0,5mL de tampão Na-S e filtrou-se em papel de filtro de 0,22 µm.

3.2 Extração com MCW

Foi pesado 0,1g da amostra, juntou-se 10mL de MCW (metanol, clorofórmio e água 12:5:3 v/v/v) em recipiente fechado e deixado em refrigerador por 3 dias. Após centrifugação a 1200 rpm por 5 minutos o sobrenadante foi coletado e o resíduo extraído com mais 6 mL de MCW. Após outra centrifugação os sobrenadantes foram combinados (16mL) e agitados com clorofórmio (4mL) seguido de água (6mL). A fase aquosa foi seca com nitrogênio. Este material foi ressuspendido em água e usado para determinação do total de aminoácidos.

4. Resultados

Avaliando-se os perfis de aminoácidos obtidos pelos dois métodos (Fig.1 e 2), pode-se observar semelhanças entre eles indicando que os resultados das análises são equivalentes.

5. Conclusões

O resultado obtido dá maior credibilidade ao método de análise de aminoácidos que já vem sendo utilizado neste projeto (NaCl + TCA), definindo-o como metodologia a ser adotada em futuras análises de aminoácidos que venham a ser necessárias.

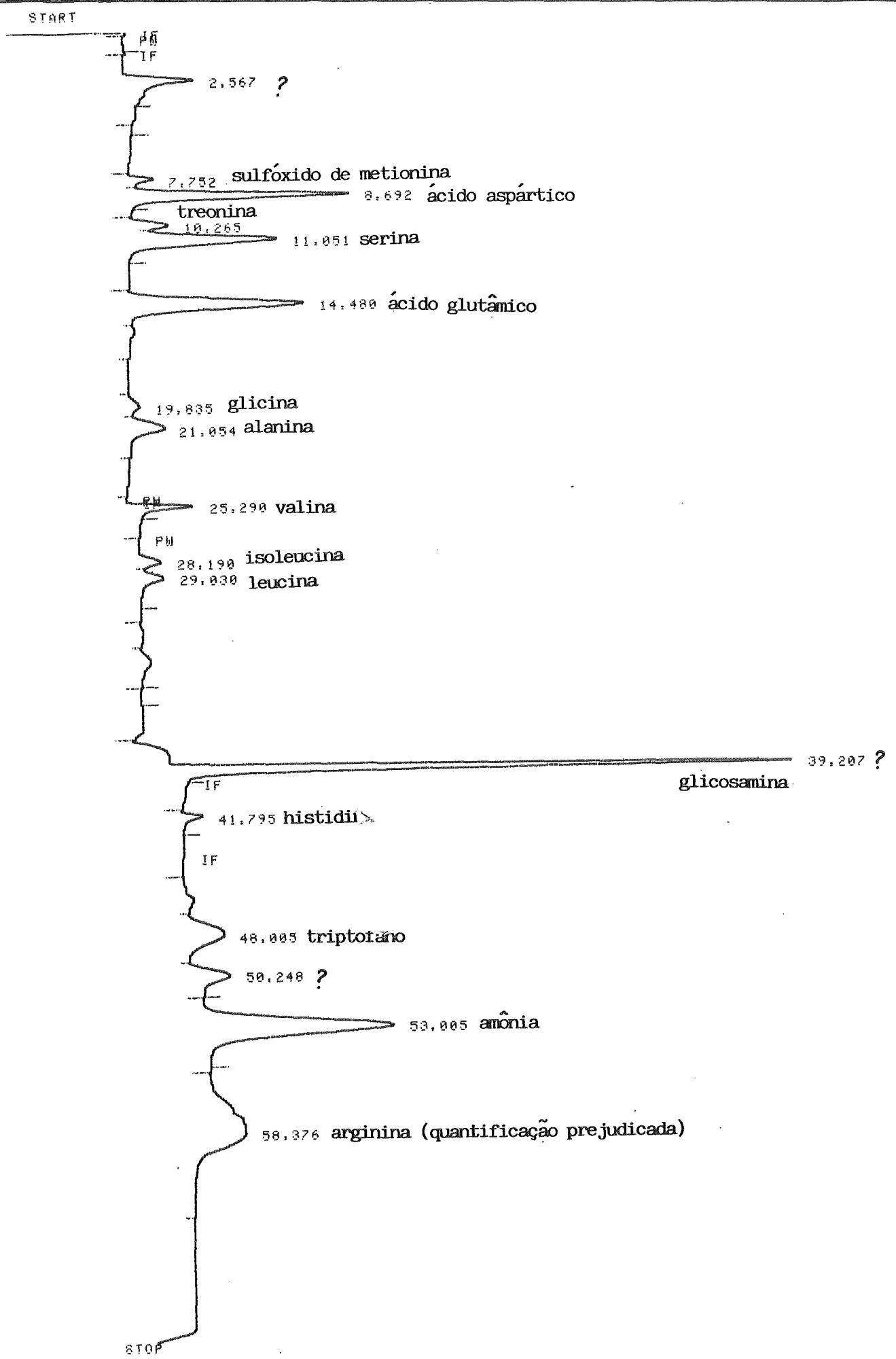


FIGURA 1: Aminograma 1
 Miconia cabucu Vale dos Pilões (Planta 3)
 Extração com MCW (metanol, clorofórmio e água)

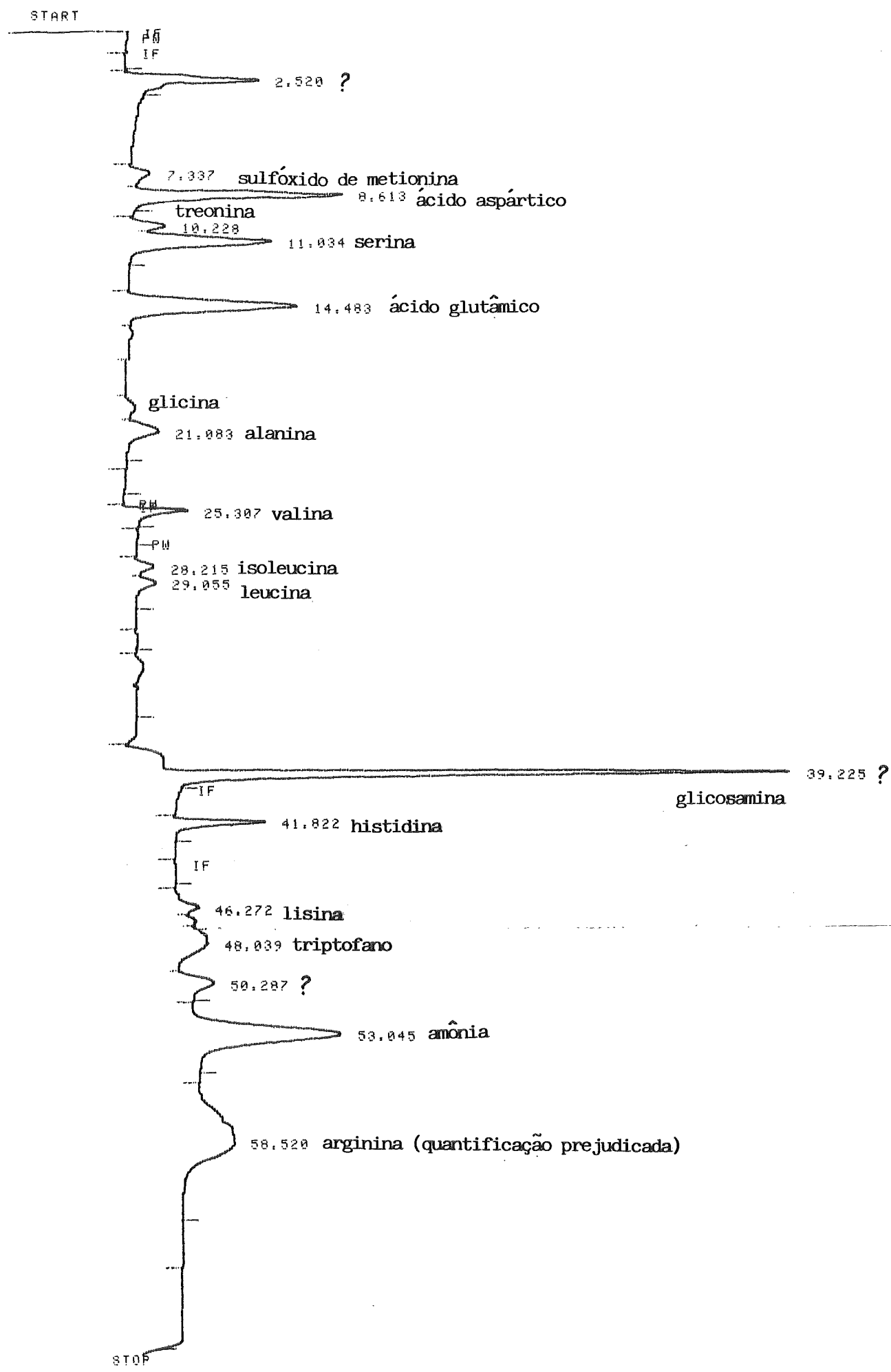


FIGURA 2: Aminograma 2
 Miconia cabucu Vale dos Pilões (Planta 3)
 Extração com NaCl + TCA (ácido tricloroacético)

6. Referência Bibliográfica

- BIELESKY, R.L. & TURNER N. A Separation and Estimation of Amino Acids in Crude Plant Extracts by Thin-Layer Eletrophoresis and Chromatography. **Analytical Biochemistry** 17, 278-293 (1966)
- DINIZ, K.M.; MARQUEZ, U.M.L.; BARROS, R.M.C.; POMPEIA, S.L. Composição de aminoácidos livres em plantas da Mata Atlântica sob estresse provocado por poluentes atmosféricos em Cubatão-SP. *In: Anais do X Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo. Santos-SP, setembro 1994*
- DINIZ, K.M.; BARROS, R.M.C.; MARQUEZ, U.M.L.; Composição e concentração de aminoácidos livres em espécies vegetais da Mata Atlântica em Cubatão-SP. Relação com a tolerância à poluição atmosférica. *In: Anais do XLVIII Congresso Nacional de Botânica Crato-CE, agosto 1997*
- DOHMEN, G.P. et al Biochemical response for norway spruce (*Picea abies*) towards 14 month exposure to ozone and acid mist: effects to amino acid and polyamine titers. **Environmental Pollution**, 64 (1990), 375-383
- MIFLIN, B.J. et al Ammonia assimilation. *In: The Biochemistry of Plants* (Stumpf, P.K. & Conn, E., Eds) Vol 5. Academic Press, New York, 1980
- RABE, E. Stress Physiology: The functional significance of accumulation of nitrogen-containing compounds. **Journal of Horticultural Science** 65 (1990) 231-243
- VINCENT, J.P. Influence d'une atmosphere urbaine sur les diferents fonctions d'une espece Lichenique. Etude *in situ* et en Chambrettes Experimentales. **The Science of the Total Environment** 95 (1990) 167-180

Entrada: 19/10/2011
Indicação:
Aquisição:
Preço:
Tombado em: 19/10/2011

6. Referências Bibliográficas

BILLESKY, R.L. & TURKEX / 7. Separation and determination of amino acids in urine by Thin Layer Electrophoresis and Chromatography. *Journal of Chromatography*, 203 (1960)

DINIZ, K.M., MARQUES, L.M.L., BARROS, R.M.C., FURTADO, R.M.C. & BARROS, R.M.C. Aminoácidos livres em plasma de Maus Albinos sob estresse provocado por poluentes atmosféricos em Curitiba-PR. In Anais do X Congresso da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Santos-SP, setembro 1994

DINIZ, K.M., BARROS, R.M.C., MARQUES, L.M.L., BARROS, R.M.C. & FURTADO, R.M.C. Aminoácidos livres em espécies / espécies de *Leishmania* em Curitiba-PR. In Anais do X Congresso da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Santos-SP, setembro 1994

DOEHLER, G.R. et al. Biochemical response for *Leishmania* towards the chronic exposure to noise and acid rain effects to amino acids and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Mol. Mutagen.* 04 (1990), 175-183

MERLIN, B.J. et al. Amino acid metabolism. In: *The Biochemistry of Stress* (Eds. R.K. & G. E., Eds) Vol. 2. Academic Press, New York, 1980

RABE, E. Stress physiology: the functional significance of neurotransmitter compounds. *Journal of Hereditary Science* 65 (1990) 231-235

VINCENT, J.R. Induction of acute stress response in the *Leishmania* parasite. *Environmental Health* 95 (1996) 167-180