

Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.
1994/95, XXIV-XXV

FELUL SI CONTINUTUL PIGMENTILOR CAROTENOIDICI DIN
FRUNZELE VESTEDE DE AESCLUSUS HIPPOCASTANUM L.

G.E. ROSCA, SANDA CRAPATUREANU, CARMEN SOCACIU,
G. NEAMTU

Abstract :

ROSCA E.G., S.CRAPATUREANU, C. SOCACIU, G. NEAMTU,
1995, The nature and the content of carotenoid
pigments from faded leaves of Aesculus hippocastanum L
(in Romanian). Not. Bot. Hort. Agrobot. , XXIV-XXV. 115-
123. Faded leaves of Aesculus hippocastanum L.
harvested in october and november, have a high
and various content of carotenoids. The content
of lutein and zeaxanthin is much higher in faded
leaves than in the green ones, that's why they are
recommended as an important natural source for
extraction (at an industrial level) of the mentioned
carotenoids. Faded leaves have a low biological value,
because they have a low content of provitaminic A
carotenoids. They have also a low content of
hydrocarbon carotenoids, but a high hydroxylic and
epoxydic content.

Key words: carotenoids, faded leaves of Aesculus
hippocastanum L.

Address : Universitatea de Stiinte Agricole și Medicină
Veterinară, Disciplina de Chimie și Biochimie
str. Mănăștur nr.3 ,RO - 3400 Cluj - Napoca,
ROMANIA .

Received : 15. 12. 1994.

Plantele din genul Aesculus, cu toate că au un areal mare de răspândire, fiind cultivate în numeroase țări, în parcuri și grădini publice, ca plante lemnoase ornamentale, sunt puțin cercetate până în prezent sub aspectul pigmentilor carotenoidici. Aceasta se datorează, probabil, faptului că florile au petale de culoare albă sau roșiatică, fiind sărace în carotenoide.

Din cele 18 specii ale acestui gen, cea mai răspândită în țara noastră este Aesculus hippocastanum, un copac înalt, de aproximativ 15-20 m, cu flori ale căror petale au culoare albă. Polenul are însă o culoare portocalie roșiatică, caracteristică ceto-carotenoidelor, fapt care a determinat cercetarea anterioară a pigmentilor carotenoidici ai acestei specii (1). Până în prezent se cunosc puține plante superioare care să conțină ceto-carotenoide și ceto-hidroxi-carotenoide în polen (2,3,4,5). Frunzele proaspete ale speciilor de Aesculus cercetate, conțin carotenoide comune, frecvent întâlnite în țesuturile verzi (1,3,6). Nu cunoaștem alte cercetări efectuate asupra pigmentilor carotenoidici din frunze veștede de Aesculus. Se știe că în timpul creșterii, maturării și îmbătrânirii frunzelor, se petrec modificări în privința felului și mai ales a conținutului de carotenoide (6,7). În general, conținutul carotenoidelor foliare crește treptat până în perioada de înflorire a plantelor, când atinge o valoare maximă, după care concomitent cu îmbătrânirea frunzelor, se produce o scădere a conținutului acestora. Apar interconversiuni între diferite tipuri de carotenoide și se produce o modificare a raportului dintre conținutul carotenoidelor hidrocarburice și al xantofilelor existent în frunzele tinere (6).

În această lucrare se prezintă, în premieră pe plan național și internațional, felul și conținutul carotenoidelor din frunzele veștede de Aesculus hippocastanum L. recoltate de pe copaci în lunile octombrie și noiembrie 1994, cu scopul de a cunoaște natura și conținutul carotenoidelor din aceste frunze și a le

recomanda eventual, spre a fi utilizate ca materie primă pentru extragerea la scara industrială a diferitelor tipuri de carotenoide.

Material și metodă

Pentru determinarea pigmentilor carotenoidici, s-au folosit frunze veștede, bine îngălbenite, recoltate în decursul lunilor octombrie și noiembrie 1994 de pe arborii de Aesculus hippocastanum de la Universitatea de Științe Agricole din Cluj-Napoca. Pentru determinări cantitative s-au folosit câte 30 g frunze galbene, proaspete, cu foarte puțină clorofilă în jurul nervurilor. Extragerea carotenoidelor din frunze s-a făcut cu un amestec de: eter de petrol-acetonă-metanol, în raport de 6:3:1. Pentru separarea și purificarea carotenoidelor s-a folosit cromatografia pe coloană, utilizând ca adsorbant un amestec format din oxid de magneziu și celită, în raport de 1:2 în volum. Eluarea coloanelor cromatografice s-a făcut cu un amestec de eter de petrol și acetonă, în raport de 8:2. Conținutul în acetonă s-a mărit treptat, în funcție de dezvoltarea zonelor, ajungând în final la valoarea maximă mai sus menționată.

Saponificarea extractului primar de pigmenti, s-a făcut cu o soluție etanolică de hidroxid de potasiu 8%, la rece, timp de 24 ore, cu agitarea ocazională a amestecului.

Extragerea, identificarea și dozarea carotenoidelor s-a făcut prin metode moderne, cromatografice și spectrometrice, frecvent utilizate în laboratoarele de specialitate, la fel ca și în lucrările anterioare (8,9). Conținutul pigmentilor carotenoidici prezentat, reflectă media a trei determinări.

Rezultate si discutii

Maximele de absorbtie si continutul pigmentilor carotenoidici din frunze verzi de Aesculus hippocastanum L., exprimat in :
[$\mu\text{g/g}$ material proaspăt] se prezintă in tabelul 1 :

Tabelul 1

Pigment	Maxime de absorbtie (nm)	Conținut, in $\mu\text{g/g}$ material proaspăt
Neoxantina	418,442,466	6.14
Violaxantina	418,445,468	11.23
Anteraxantina	422,445,472	4.16
Flavoxantina	421,449	9.52
Zeaxantina	424,449,478	25.65
Luteina	421,445,474	62.35
β -Criptoxantina	425,449,476	3.28
α -Criptoxantina	422,445,474	2.74
β - Caroten	425,448,475	5.63
α - Caroten	422,444,473	3.05
Carotenoide neidentificate	433,446,474	1.47
TOTAL Carotenoide		135.22
Carotenoide provitaminice		16.17 (12%)

Din cercetările efectuate, reiese că frunzele veștede de Aesculus hippocastanum L. au un conținut ridicat și variat de pigmenți carotenoidici, putând constitui o sursă naturală importantă pentru extragerea carotenoidelor la nivel industrial. Până în prezent, frunzele veștede de castan nu au o întrebuințare specială, fiind utilizate frecvent în legumicultură la prepararea mranitei și în zootehnie ca așternut la vite.

Utilizarea frunzelor de castan ca sursă industrială de carotenoide, ar contribui la valorificarea superioară a acestora, știut fiind faptul că peste 90% din frunze se distrug prin putrezire în timpul iernii și al primăverii timpurii. În frunzele veștede s-au identificat numai carotenoide biciclice, cu structură α - și β -iononică, având o repartiție relativ simetrică. Nu s-au identificat ceto- și ceto-hidroxi-carotenoide cu structură pentaciclică întâlnite în polen (3).

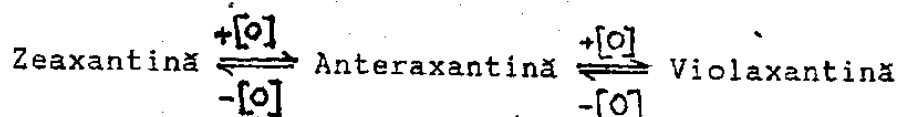
Pigmentul principal este Luteina, după care urmează în ordine descrescând : zeaxantina, violaxantina, flavoxantina, neoxantina, β -carotenul etc. Pigmenții carotenoidici sunt trecuți în tabelul 1, de jos în sus, în ordinea crescândă a puterii lor de adsorbție pe coloana cromatografică.

Sub aspect structural, ca element caracteristic, semnalăm conținutul total mai ridicat al carotenoidelor cu structură α -iononică față de cel al carotenoidelor cu structură β -iononică. Conținutul luteinei, α -carotenului și al α -criptoxantinei din frunzele uscate, este semnificativ mai mare decât în frunzele verzi, fapt ce denotă că pigmenții cu structură α -iononică, având sistemul polienic mai mic cu o dublă legătură (decît în sistemul β -iononic), sînt mai stabili și mai rezistenți la acțiunea variată a factorilor de mediu.

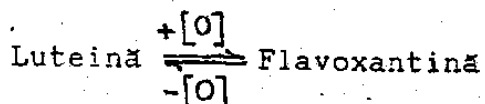
Dacă se compară pigmenții carotenoidici din frunzele veștede de Aesculus hippocastanum L. cu cei existenți în frunzele verzi ale acestei specii (1), sau cu frunzele verzi ale altor specii de castani (3,6), se constată o scădere accentuată a conținutului

carotenoidelor hidrocarburice și o creștere a conținutului carotenoidelor hidroxilice, în mod deosebit a hidroxi-epoxizilor, fapt ce demonstrează că în timpul îmbătrînirii frunzelor se produc interconversiuni între carotenoide. Sub influența condițiilor de mediu schimbate, a temperaturilor mai scăzute din lunile octombrie și noiembrie (față de lunile mai - septembrie) și datorită altor factori (ca: mediul acid celular, luminozitate scăzută etc), carotenoidele hidrocarburice se oxidează probabil și formează xantofile, iar acestea printr-o nouă oxidare formează hidroxi-epoxizi. Datorită probabil pH-ului acid din frunzele veștede, mai multe carotenoide (α - și β -caroten, α - și β -criptoxantina), apar sub formă de izomeri cis- și nu trans-, care sunt mai stabili și mai săraci în energie. Spre deosebire de frunzele verzi, cele veștede conțin un număr mai mare de epoxizi, prin intermediul cărora carotenoidele se pot transforma în diferiți metaboliți cu rol fiziologic important. Unii dintre acești metaboliți cum sînt acidul abscisic și xanthoxinul, sînt fitohormoni importanți, care grăbesc căderea frunzelor, inhibă germinarea semințelor, a mugurilor, tuberculilor, rizomilor și grăbesc intrarea plantelor în starea de repaus. Acești metaboliți carotenoidici, măresc rezistența plantelor ajunse în condiții de stress (ger, exces de umiditate, secetă, mediu alcalin, etc). Ei contribuie într-un procent însemnat la închiderea și deschiderea stomatelor foliare. În frunzele verzi tinere de Aesculus hippocastanum L., în faza dinaintea înfloririi plantelor, s-au identificat dintre epoxizi numai violaxantina și neoxantina, care de altfel sînt izomeri. În frunzele veștede, pe lângă acești epoxizi, s-au mai identificat : flavoxantina și anteraxantina. Dintre carotenoidele cu structură β -iononică existente în frunzele veștede, unele formează importante sisteme oxido-reducătoare, așa după cum sînt: zeaxantina, anteraxantina și violaxantina, care formează în plante ciclul epoxidic.

Aceste carotenoide prin primire sau cedare de oxigen epoxidic, se pot transforma reciproc unele în altele, contribuind la înlăptuirea unor procese de oxidoreducere :



Dintre carotenoidele cu structură α -iononică, un important sistem oxireducător formează cuplul :



Flavoxantina este un furanoid care se poate forma din eloxantina prin izomerizare în mediu acid .

Frunzele veștede se caracterizează printr-un conținut scăzut de carotenoide provitaminice A, fapt care le micșorează valoarea biologică. Din totalul de 135,22 $\mu\text{g/g}$ carotenoide foliare, numai 16,17 $\mu\text{g/g}$ sunt carotenoide provitaminice. Raportul dintre carotenoidele neprovitaminice și cele provitaminice A este de 7,36 la frunzele veștede și de 2 pînă la 3 la frunzele verzi. Raportul dintre carotenoidele oxigenate și cele hidrocarburice este de : 12,32 la frunzele veștede și de 2 pînă la 2,7 la frunzele tinere.

Dintre monohidroxi-carotenoide, în frunzele verzi de Aesculus hippocastanum L. s-a identificat numai β -criptoxantina, cu un conținut redus, iar în frunzele veștede s-au identificat atât α -cift și β -criptoxantină, cu un conținut relativ ridicat, în comparație cu conținutul lor din frunzele altor specii.

Intrucît luteina și zeaxantina reprezintă pigmentii majoritari, avînd în frunzele veștede un conținut cu mult mai mare decît în frunzele verzi, se recomandă utilizarea acestor frunze de castan ca materie primă pentru extragerea luteinei și a zeaxantinei la scară industrială. Acești pigmenti pot fi utilizați cu succes ca și coloranți naturali netoxici, în industria alimentară, farmaceutică, în cosmetică, sau ca adaos în hrana păsărilor și a peștilor, pentru îmbunătățirea coloritului gălbenușurilor de ouă,

a icrelor, grăsimii, penajului corpului etc.

În frunzele veștede de Aesculus hippocastanum L., cit și în cele verzi (1), alături de carotenoide se găsesc și pigmenți chinonici galbeni, care sînt puternic reținuți pe coloana cromatografică. Prezența pigmentilor chinonici, alături de carotenoide în frunzele speciilor de Aesculus, reprezintă un element caracteristic, cu importanță chemotaxonomică.

Ca element semnificativ, oarecum caracteristic frunzelor din genul Aesculus, semnalăm conținutul mai ridicat în carotenoide cu structură α -iononică, față de conținutul în carotenoide cu structură β -iononică. Raportul dintre conținutul carotenoidelor cu structură α -iononică față de cel al carotenoidelor cu structură β -iononică, este de : 1,41 - la frunzele veștede și subunitar la frunzele tinere verzi.

Concluzii

1. Frunzele veștede de Aesculus hippocastanum L. conțin carotenoide biciclice cu structură α - și β -iononică, într-o proporție simetrică. Pigmenții principali sînt luteina și zeaxantina, după care urmează (în ordine descrescînd a conținutului lor) violaxantina, neoxantina, β -carotenul, flavoxantina, β -criptoxantina, α -carotenul, α -criptoxantina și unele carotenoide incolore neidentificate.

2. În timpul creșterii și îmbătrînirii frunzelor de castan, se produc interconversiuni între carotenoide. Frunzele veștede au un conținut mai mic de carotenoide hidrocarburice, dar mai mare de hidroxi-carotenoide și epoxizi decît frunzele tinere verzi.

3. Sub aspectul structurii moleculare a carotenoidelor, în frunzele veștede predomină cantitativ carotenoidele cu structură α -iononică, față de cele cu structură β -iononică. Raportul dintre conținutul carotenoidelor cu structură α - și β -iononică, este de : 1,41 la frunzele veștede și subunitar la frunzele verzi.

4. Frunzele veștede se caracterizează printr-un conținut mai ridicat de luteină, α -caroten și α -criptoxantină decit conținutul acestor pigmenți în frunzele verzi.

5. Frunzele veștede de castan pot reprezenta o sursă naturală importantă pentru extragerea luteinei și a zeaxantinei la scară industrială.

6. În frunzele de castan, alături de carotenoide se găsesc pigmenți chinonici, care sunt puternic adsorbiți pe coloana cromatografică.

Bibliografie

1. NEAMȚU G., GH. ILLYES, C. BODEA, 1969, St. Cerc. Biochim., 12, 77.
2. SYKUT ANA, 1965, Bull. Acad. Polon. Sci. Ser., XIII, 5.
3. NEAMȚU G., C. BODEA, 1974, St. Cerc. Biochim., 17, 41.
4. GOODWIN T.W., 1980, "Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments", Acad. Press, London & New York, p.127.
5. NEAMȚU G., V. TĂMAȘ, 1986, "Pigmenți carotenoidici și metaboliti", vol.I, 41.
6. NEAMȚU G., T. LASZLÓ, CORINA BILAUȘ, 1979, St. Cerc. Biochim., 22, 39.
7. GROSS JEANA, "Pigments in Vegetables", 1991, Edit. van Nostrand Reinhold, New York, p. 136.
8. NEAMȚU G., I. CĂBULEA, CRENGUȚA TĂBĂCARU, CARMEN SOCACIU, SANDA CRĂPĂTUREANU, 1993, Rev. Roum. Biochim., 30, 127.
9. LUO W., G. NEAMȚU, K.L. SIMPSON, 1994, Rev. Roum. Biochim., 31, 33.