

AValiação de pigmentos presentes em gêneros de hortifruti de coloração roxa pela técnica de HPLC

Suelen Martinez Guterres¹

Anderson Santos de Freitas²

Raylane Ribeiro da Anunciação³

Cynthia Camila Ziech⁴

Helmoz Roseniaim Appelt⁵

Resumo:

Os flavonóides são pigmentos naturais que tem como função principal nas plantas protegê-las contra agentes oxidantes. Em geral os flavonóides são constituídos por três anéis e são capazes de sofrer modificações químicas, como hidroxilação, hidrogenação, metilação e sulfonação. Essa propriedade permitiu a formação de mais de quatro mil compostos flavonóides, que são agrupados em classes. Dentre as classes principais de flavonóides estão as antocianinas, flavanas, flavonas, os flavonóis e isoflavonóides. A cromatografia líquida de alta performance (CLAE) é um método físico-químico de separação de substâncias de grande eficiência. A técnica baseia-se nos princípios básicos da cromatografia, ou seja, a interação dos componentes de uma mistura entre duas fases diferentes e imiscíveis, sendo uma móvel e uma estacionária, porém com alto grau de pureza e livre de oxigênio e outros gases dissolvidos. O trabalho foi desenvolvido com os alunos do componente curricular Análise e Purificação de Compostos Orgânicos, do quinto semestre do curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal do Pampa, no semestre letivo 2017/01. Foram selecionados para análise os seguintes gêneros de hortifruti de coloração roxa: repolho roxo (*Brassica oleracea* var. capitata), cebola roxa (*Allium cepa*), berinjela (*Solanum melongena*), beterraba (*Beta vulgaris* esculenta) e figo (*Ficus carica*). Para cada gênero estudado, foram picados e pesados 15g de material, e adicionados 100mL de água. Os pigmentos foram extraídos por ebulição a 100°C por 15 minutos. Após resfriamento, as soluções foram filtradas e recolhidas em béqueres limpos. A análise cromatográfica foi realizada utilizando o equipamento Shimadzu Prominence HPLC, os dados da cromatografia foram analisados no detector de UV/visível e fluorescência entre 350 e 450 nm. A partir da análise dos hortifrutis selecionados, o detector de fluorescência entre 350 e 450 nm foi o que permitiu a melhor visualização e comparação dos dados. Os tempos de retenção que se assemelham apresentam-se na seguinte ordem: berinjela e a beterraba apresentam dois tempos em comum: 3,13 e 3,06min; 5,05 e 4,97 min, respectivamente. A beterraba e a cebola apresentam os tempos 2,66 e 2,56 min; 4,19 e 4,04 min,

respectivamente. A cebola e o figo apresentam os tempos 3,68 e 3,66 min; 14,5 e 14,13 min, respectivamente. O único valor compartilhado por mais de dois gêneros foi o pico em torno de 9 min. Quatro hortifrutis apresentaram esse pico: repolho (9,09 min), figo (9,04 min), berinjela (9,10 min) e cebola (8,91 min). Os picos registrados nessa amplitude de onda pertencem ao conjunto dos flavonóides, uma vez que estes compostos absorvem luz na faixa entre 350 e 380 nm. Com base nos resultados, pode-se concluir que os gêneros de hortifruti testados apresentam um pigmento comum em sua composição, que provavelmente é uma antocianina. Os demais pigmentos presentes são outros tipos de flavonóides responsáveis pela coloração característica de cada gênero.

Palavras-chave: flavonóides, antocianinas, HPLC.

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

AVALIAÇÃO DE PIGMENTOS PRESENTES EM GÊNEROS DE HORTIFRUTI DE COLORAÇÃO ROXA PELA TÉCNICA DE HPLC

¹ Aluno de graduação. suelen_guterres@yahoo.com.br. Autor principal

² Aluno de graduação. andersonsf234@gmail.com. Co-autor

³ Aluno de graduação. raylaneanunciacao@gmail.com. Co-autor

⁴ Aluno de graduação. cynthia.ziech@gmail.com. Co-autor

⁵ Docente. helmozappelt@unipampa.edu.br. Orientador



AVALIAÇÃO DE PIGMENTOS PRESENTES EM GÊNEROS DE HORTIFRUTI DE COLORAÇÃO ROXA PELA TÉCNICA DE HPLC

1. INTRODUÇÃO

Os flavonóides são pigmentos naturais que tem como função principal nas plantas protegê-las contra agentes oxidantes (LOPES et al., 2010). Em geral os flavonóides são constituídos por três anéis e são capazes de sofrer modificações químicas, como hidroxilação, hidrogenação, metilação e sulfonação. Essa propriedade permitiu a formação de mais de quatro mil compostos flavonóides, que são agrupados em classes (GEORVIEV et al., 2014). Dentre as classes principais de flavonóides estão as antocianinas, flavanas, flavonas, os flavonóis e isoflavonóides (LAZARY, 2010).

A cromatografia líquida de alta performance (CLAE) é um método físico-químico de separação de substâncias de grande eficiência. A técnica baseia-se nos princípios básicos da cromatografia, ou seja, a interação dos componentes de uma mistura entre duas fases diferentes e imiscíveis, sendo uma móvel e uma estacionária, porém com alto grau de pureza e livre de oxigênio e outros gases dissolvidos (DEGANI et al., 1998). Sendo uma das principais metodologias de separação e, em alguns casos, de análise de misturas, a compreensão dos princípios que envolvem a técnica de CLAE é importante para a formação de profissionais da área das ciências.

No presente trabalho, relata-se uma prática realizada no componente curricular Análise e Purificação de Compostos Orgânicos, no curso de Biotecnologia da UNIPAMPA, onde objetivou-se usar a CLAE para comparar diferentes gêneros presentes no hortifruti quanto aos pigmentos neles presentes.

2. METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido com os alunos do componente curricular Análise e Purificação de Compostos Orgânicos, do quinto semestre do curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal do Pampa, no semestre letivo 2017/01.

Foram selecionados para análise os seguintes gêneros de hortifruti de coloração roxa: repolho roxo (*Brassica oleracea* var. *capitata*), cebola roxa (*Allium cepa*), berinjela (*Solanum melongena*), beterraba (*Beta vulgaris esculenta*) e figo (*Ficus carica*). O procedimento de extração de flavonóides deu-se de acordo com IKAN (2003). Para cada gênero estudado, foram picados e pesados 15g de material, e adicionados 100mL de água. Os pigmentos foram extraídos por ebulição a 100°C por 15 minutos. Após resfriamento, as soluções foram filtradas e recolhidas em béqueres limpos.

A análise cromatográfica foi realizada utilizando o equipamento Shimadzu Prominence HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japan), equipado com bombas recíprocas Shimadzu LC-20AT conectadas a DGU 20A5 degasser e Integrador CBM 20A e detectores UV-Vis e Fluorescência e coluna cromatográfica C-18 250x4mm, tamanho de partícula 5µm (Shimadzu), calibrado e com uma fase móvel de água-metanol (70:30%). Foram injetados 2mL de cada solução no aparelho. Soluções de beterraba

e cebola foram diluídos 1:1, enquanto repolho, figo e berinjela não foram diluídos antes de serem injetados na máquina.

Posteriormente, os dados da cromatografia foram analisados no detector de UV/Visível e fluorescência entre 350 e 450 nm.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

A partir da análise dos hortifrutis selecionados, o detector de fluorescência entre 350 e 450 nm foi o que permitiu a melhor visualização e comparação dos dados. Os dados de tempo de retenção e porcentagem de área são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Diferentes tempos de retenção e porcentagens de área de absorção dos extratos dos gêneros de hortifruti testados.

Berinjela		Beterraba		Cebola Roxa		Figo		Repolho Roxo	
Tempo de retenção	% área	Tempo de retenção	% área	Tempo de retenção	% área	Tempo de retenção	% área	Tempo de retenção	% área
9,11	39,39	2,67	30,44	11,00	40,23	6,28	55,79	3,77	52,36
6,79	19,75	4,98	16,29	14,50	10,57	3,69	12,84	3,33	6,23
3,14	11,36	4,19	8,29	9,04	6,57	8,92	5,57	5,22	9,72
10,50	8,24	3,23	6,20	2,57	6,63	10,28	5,17	5,54	4,59
4,36	7,87	4,00	5,50	4,86	4,77	4,58	2,82	6,58	4,13
5,05	3,38	9,88	5,37	6,92	4,31	7,66	2,38	9,09	6,41
5,99	3,36	7,69	4,23	5,53	3,85	4,35	2,13	7,97	2,80
5,71	1,99	3,56	3,17	4,04	3,15	5,50	2,05	7,23	2,38
2,83	1,84	3,06	2,86	3,66	2,24	5,92	1,77	13,22	1,99
4,00	1,50	14,29	2,49	3,47	2,14	14,31	1,67	10,45	1,99

Os tempos de retenção que se assemelham apresentam-se na seguinte ordem: berinjela e a beterraba apresentam dois tempos em comum: 3,13 e 3,06min; 5,05 e 4,97min, respectivamente. A beterraba e a cebola apresentam os tempos 2,66 e 2,56min; 4,19 e 4,04min, respectivamente. A cebola e o figo apresentam os tempos 3,68 e 3,66min; 14,5 e 14,13min, respectivamente. O único valor compartilhado por mais de dois gêneros foi o pico em torno de 9min. Quatro hortifrutis apresentaram esse pico: repolho (9,09min), figo (9,04min), berinjela (9,10min) e cebola (8,91min).

Os picos registrados nessa amplitude de onda pertencem ao conjunto dos flavonóides, uma vez que estes compostos absorvem luz na faixa entre 350 e 380 nm (NASCIMENTO-TEIXEIRA et al., 2008).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados, pode-se concluir que os gêneros de hortifruti testados apresentam um pigmento comum em sua composição, que provavelmente é uma antocianina. Os demais pigmentos presentes são outros tipos de flavonóides responsáveis pela coloração característica de cada gênero.

5. REFERÊNCIAS

BRILHANTE, S. E. T.; OLIVEIRA NETO, F. B.; NEVES, L. A.; BERTINI, L. M. Determinação do teor de antocianinas e sua influência na variação da coloração dos extratos de flores do oeste potiguar. In: IX Congresso de Iniciação Científica do IFRN; 2013;Currais Novos.Currais Novos: Instituto Federal Rio Grande do Norte. 2013. p. 636-644.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B; VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. Química Nova na Escola, n.7, p.21-25, 1998.

IKAN, R. Natural Products - A laboratory guide. 2.ed. San Diego, 2013, 316p.

GEORVIEV V.; ANANGA A.; TSOLOVA V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. Nutrients. v. 6, n. 1, p. 391-415, 2014.

LAZARY, V.M.D. Efeitos do consumo do isoflavona na prevenção do câncer de mama. [Monografia]. Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde, Núcleo de Estudos em Educação e Promoção da Saúde, NESPROM, Brasília, 2010.

LOPES, R.M.; OLIVEIRA T.D.; NAGEM T.J.; PINTO A.D.S. Flavonóides. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. v. 3, n. 14, 2010.

NASCIMENTO-TEIXEIRA, L.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. Revista Ceres, v.55, n.4, p. 297-304, 2008.