

Extração, hidrólise e determinação de isoflavonas agliconas em grãos de soja por cromatografia líquida de alta eficiência.

Marcelo Ribani^{1,2} (PG)*, Tatiane do Valle² (TC), Melissa A.W. Guilherme² (TC), Carol H. Collins¹ (PQ), Carla B. G. Bottoli¹ (PQ)
* ribani@tecpa.br

¹LABCROM – Laboratório de Pesquisas em Cromatografia Líquida – Instituto de Química – Unicamp

²TECPAR – Instituto de Tecnologia do Paraná – Curitiba – Paraná

Palavras Chave: Isoflavonas, soja, extração, cromatografia, validação.

Introdução

A soja é um alimento que apresenta alto valor nutricional, tem uma composição química rica e é fonte de antioxidantes como as isoflavonas. As isoflavonas são compostos fenólicos, conhecidas como fitoestrogênios, encontradas em alimentos derivados de plantas (primeiramente em produtos à base de soja).

As isoflavonas contidas nos grãos de soja são constituídas de estruturas do tipo aglicona (daidzeína, gliciteína, genisteína) e glicosídicas (daidzina, glicitina e genistina), estas últimas em pequenas quantidades, sendo difícil sua separação e quantificação. Assim, neste trabalho foi proposto a adição de uma etapa de hidrólise ácida após a extração das isoflavonas, sendo possível transformar todas as formas glicosídicas na forma aglicona e posteriormente, quantificá-las.

Resultados e Discussão

O processo de extração sofreu várias adaptações do método de Griffith & Collison¹ até obter uma metodologia adequada para a quantificação. O sistema cromatográfico utilizado foi um cromatógrafo Merck Hitachi LaChrom, composto de uma bomba quaternária L-7100, um injetor automático L-7250, um detector com varredura espectral L-7455, um módulo de aquecimento de colunas L-7300. A coluna usada foi a Nova-Pak C-18 (3.9 mm d.i. x 150 mm), com partículas de 4 µm da Waters. A coluna foi mantida na temperatura de 35° C. Após a otimização da metodologia, foi realizada a validação analítica, na qual foram avaliados os parâmetros: seletividade, precisão, exatidão, linearidade e faixa de trabalho, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), robustez, e estabelecidos critérios de aceitabilidade para cada parâmetro. A curva analítica foi construída pelo método de superposição de matriz para eliminar os efeitos da matriz na determinação das isoflavonas, na faixa de concentração estudada. As curvas analíticas das isoflavonas apresentaram coeficiente de correlação maior que 0,99 para as isoflavonas: daidzeína (28.5 – 110.9 µg mL⁻¹); gliciteína (2.9 – 29.9 µg mL⁻¹); genisteína (11.8 – 89.7 µg mL⁻¹), sendo que o intervalo linear foi confirmado pelo gráfico de linearidade relacionando área por concentração (eixo y) e log da

concentração (eixo x). A linha obtida foi horizontal sobre toda a faixa linear assumindo um desvio de 15 %. A metodologia demonstrou ser exata e precisa dentro de um intervalo de confiança de 95% para uma distribuição normal *t*-Student. A robustez da metodologia foi avaliada e apresentou uma variação menor que dois desvios padrões nos efeitos avaliados. As quantidades de isoflavonas agliconas totais (daidzeína, gliciteína e genisteína) foram avaliadas em amostras de soja transgênica (BRS245RR) e não-transgênica (BRS133), plantadas em uma mesma região (norte do estado do PR) e no mesmo período do ano (agosto de 2006). Os resultados encontrados foram 228,2±15,2 mg 100 g⁻¹ para a soja transgênica e 283,5±12,4 mg 100 g⁻¹ para a soja não-transgênica, sendo o teor de cada uma das isoflavonas apresentado na tabela 1.

Tabela 1. Resultados obtidos das amostras de soja transgênica e não-transgênica. (média de 6 amostras)

	Soja (BRS245RR)		Soja (BRS133)	
	\bar{x}	i	\bar{x}	i
Daidzeína	145,7	8,7	180,6	7,4
Gliciteína	15,4	0,9	15,6	0,7
Genisteína	67,2	5,6	87,3	4,3
Total	228,2	15,2	283,5	12,4

i = incerteza expandida da medição

Conclusões

A metodologia analítica para determinação de isoflavonas agliconas em grãos de soja foi validada e demonstrou ser eficiente, uma vez que foi possível transformar todas as formas glicosídicas, presentes em pequenas quantidades, na forma aglicona. Com este método são empregados apenas padrões do tipo aglicona, minimizando os custos das análises.

Agradecimentos

TECPAR – Instituto de Tecnologia do Paraná.

CLASPAR – Empresa Paranaense de Classificação de Produtos

¹ Griffith A.P.; Collison, M.W., *J. Chromatogr. A*, **2001**, 913, 397.