

Determinação de ácidos fenólicos em forrageiras por CLAE

Mellina D. R. Santos¹ (PG), Aline de P. Vitor¹ (IC), Jailton da C. Carneiro² (PQ), Domingos S. C. Paciullo² (PQ), Maria A. C. Matos¹ (PQ)

*mellina_santos@yahoo.com.br

¹NUPIS – Núcleo de Pesquisa em Instrumentação e Separação Analíticas, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora – MG

²EMPRABA Gado de Leite – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Gado de Leite, Juiz de Fora - MG

Palavras Chave: Ácidos fenólicos, forrageira, CLAE.

Introdução

Algumas características químico-bromatológicas inerentes às forrageiras tropicais comprometem o seu valor nutritivo e também contribuem para o baixo desempenho dos bovinos em regime de pastejo. Os ácidos p-cumárico e ferúlico, principais ácidos fenólicos presentes em plantas (lignina “non-core”), estão associados aos componentes da parede celular através de ligações éster ou éter¹, podendo influenciar negativamente na digestibilidade das forrageiras. Neste trabalho propomos um método por cromatografia líquida de alta eficiência para separação de quatro ácidos fenólicos: ferúlico (FER), p-cumárico (CUM), cafeico (CAF) e shiquímico (SHI) e quantificação dos ácidos ferúlico e p-cumárico em forrageiras tropicais.

Resultados e Discussão

As medidas foram realizadas no HPLC Agilent 1100 series, detector UV-VIS MWD, injetor manual (20 µL) e coluna de RP C-18 Zorbax ODS. Composição e fluxo da fase móvel e comprimento de onda para detecção foram parâmetros estudados na otimização do método. Foram testados diferentes solventes orgânicos (metanol, acetonitrila, tetraidrofurano) e soluções aquosas em diferentes valores de pH (soluções de ácido fosfórico, ácido acético, tampão acetato e tampão fosfato). A melhor condição foi obtida com eluição isocrática usando como fase móvel acetonitrila/metanol/solução de H₃PO₄ pH 2,0 (10:12,5:77,5), fluxo de 1,0 mL·min⁻¹ e detecção em 236 nm. Avaliou-se repetibilidade, reprodutibilidade, linearidade e sensibilidade do método. As amostras foram tratadas com solução NaOH 1 mol·L⁻¹ por 24 h em banho ultratermostático a 20°C. Nestas condições, somente os ácidos ferúlico e p-cumárico éter-ligados à parede celular são extraídos¹. A curva analítica foi linear na faixa de 5,00 a 25,00 mg·L⁻¹ para os quatro ácidos, apresentando os seguintes coeficientes de correlação: 0,9995 (SHI), 0,9999 (CAF), 0,9999 (CUM) e 0,9999 (FER). O limite de detecção e o limite de quantificação foram respectivamente 0,20 mg·L⁻¹ e 0,68 mg·L⁻¹ para o SHI, 0,19 mg·L⁻¹ e 0,63 mg·L⁻¹ para o CAF, 0,25 mg·L⁻¹ e 0,83 mg·L⁻¹ para o CUM e 0,28 mg·L⁻¹ e 0,92 mg·L⁻¹ para o FER. Foram analisadas amostras fortificadas com padrão

dos ácidos onde os valores de recuperação variaram de 82% a 100% para o CUM e de 84 % a 104% para o FER. O método proposto foi aplicado a 5 amostras de forrageiras provenientes do campo experimental da EMBRAPA/Gado de Leite, sendo analisadas as frações colmo e folha. A tabela 1 mostra os valores obtidos para essas amostras, onde as concentrações variaram 4,04 a 5,63 mg·g⁻¹ matéria seca para ácido ferúlico e de 5,52 a 8,94 mg·g⁻¹ matéria seca para ácido p-cumárico.

Tabela 1: Concentração (desvio padrão) dos ácidos ferúlico e p-cumárico nas amostras de forrageiras.

Forrageiras	Ác. ferúlico (mg·g ⁻¹ mat. seca)	Ác. p-cumárico (mg·g ⁻¹ mat. Seca)
<i>Braquiária</i> (folha)	4,87 (0,08)	6,66 (0,09)
<i>Braquiária</i> (colmo)	5,63 (0,11)	8,94 (0,17)
<i>Mombaça</i> (folha)	4,07 (0,06)	5,52 (0,02)
<i>Mombaça</i> (colmo)	4,04 (0,03)	8,23 (0,33)
<i>Florona</i> (colmo)	4,52 (0,07)	8,76 (0,12)

Conclusões

A metodologia proposta apresentou boa linearidade e baixos limites de detecção e quantificação para os analitos. A recuperação média obtida nas amostras fortificadas com padrões dos ácidos foi de 93% para o CUM e 97% para o FER. O método proposto pode ainda ser adaptado para análise dos ácidos shiquímico e cafeico em outras matrizes.

Agradecimentos

PROPESQ/UFJF, CNPq e FAPEMIG.

¹ Soest, V. P. J. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press, Ithaca, NY, 1994.

² Deschamps, F. C. ; Ramos, L. P., L., R. Bras. Zootec., 2002, 31, 1634.