

Quantificação total de antocianinas de frutas típicas brasileiras por CLAE com uso de padrão de cianidina-3-glicosídeo.

Martha Maria Andreotti Favaro¹ (PG)*, Adriana Vitorino Rossi (PQ)

¹Instituto de Química – UNICAMP, CP 6154, CEP 13083-970, Campinas-SP, Brasil e-mail: *martha@iqm.unicamp.br.

Palavras Chave: antocianinas, fruta, corante, quantificação, CLAE.

Introdução

Antocianinas (ACYS) são corantes naturais, responsáveis pela coloração de azul a vermelho de flores, frutas e folhas e têm atraído o interesse de diversos segmentos industriais^{1,2}. Vários métodos são descritos para quantificação de ACYS em extratos de frutas, envolvendo principalmente as técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectrofotometria^{1,2}. O método oficial para quantificação de ACYS totais envolve medidas UV-VIS, sendo simples e sem uso de padrões. CLAE é utilizada principalmente para identificação das ACYS; a quantificação com esta técnica requer uma etapa prévia de identificação que envolve uso de padrões de ACYS que são comercializados a preços elevados. A proposta do presente trabalho, foi desenvolver a quantificação de ACYS por CLAE utilizando exclusivamente o padrão de cianidina-3-glicosídeo (ci-3-gli), antocianina mais comum nas frutas. A proposta foi testada com extratos secos de ACYS de frutos das famílias Myrtaceae, Moraceae e Rosaceae obtidos por um método de secagem¹ sob exaustão de fluxo de ar 0,6 m s⁻¹.

Procedimento Experimental

Nos procedimentos por CLAE, as amostras e o padrão foram solubilizados em metanol com 0,1 % HCl v/v para posterior injeção de 20 µL no cromatógrafo Shimadzu Prominece, com coluna C18 (Varian, Microsorb MV) e detector com arranjo de diodos SPD-M20A, usando como fase móvel água deionizada:acetonitrila: ácido fórmico 81:9:10 v/v/v com vazão de 1,0 mL min⁻¹, eluição isocrática em fase reversa por 40 min e detecção em 525 nm. Procedeu-se a adição de padrão ci-3-gli na amostra 1 de extrato seco para quantificar esta antocianina, cuja presença já havia sido confirmada nessas frutas⁴. Encontrou-se a concentração de 22,2 mg/L. Na sequência, a partir da Equação 1, correlacionou-se a área do pico correspondente à ci-3-gli e a concentração dessa antocianina com a área dos demais picos do cromatograma, correspondentes às outras ACYS do extrato para encontrar as concentrações das demais ACYS dessa amostra. Aplicando-se o mesmo raciocínio foram obtidas as concentrações de cada antocianina das demais amostras de extratos.

$$C_{\text{amostra}} = \frac{\text{Área do pico da amostra} \times C_{\text{padrão}}}{\text{Área do pico do padrão}} \quad \text{Equação 1}$$

Para quantificação pelo método oficial, os mesmos extratos secos utilizados para CLAE foram solubilizados em pH 1,0 e pH 4,5 e as medidas de absorbância foram realizadas no comprimento de onda de absorção máxima das ACYS e em 700 nm. Os resultados de concentração total de ACYS obtidos pelo método oficial foram comparados àqueles obtidos com as concentrações individuais de ACYS individuais obtidos por CLAE. Vale ressaltar que todos esses estudos foram realizados em 5 replicatas.

Resultados e Discussão

A concentração total de ACYS nas frutas estudadas encontrada pelo método oficial e pelo método proposto está descrita na Tabela 1. Testes estatísticos com nível de confiança de 95% indicaram que não há diferença significativa.

Tabela 1. Concentração de ACYS totais nas 3 amostras em estudo (mg ACYS/100 g de fruta).

A	Método Oficial ¹	Método CLAE
1	29±1	25±2
2	19±1	27±2
3	60±5	68±5

A = Frutas das famílias Myrtaceae, Moraceae e Rosaceae

Conclusões

A concordância dos resultados indica a adequação de considerar o padrão de ci-3-gli como parâmetro para quantificar as demais ACYS por CLAE, dispensando a etapa prévia detalhada para identificação, já que está presente em praticamente todas as frutas, como antocianina majoritária e tem tempo de retenção ~11 minutos. Vale destacar que este padrão tem o menor custo dentre todas ACYS.

Agradecimentos

À CAPES pela bolsa e ao Grupo CentroFlora, pelo convênio de colaboração com o GPQUAE – Grupo de Pesquisa em Química Analítica e Educação.

¹ Favaro, MMA; Dissertação de Mestrado, IQ-UNICAMP, Campinas, 2008.

² Harborne, J. B.; The Flavonoids: advanced in research since 1986, Chapman and Hall: New York, 5th edition, 1994.

³ Favaro, M. M. A. e Rossi, A. V.; Livro de Resumos 14º Encontro Nacional de Química Analítica, EP 010, 2007.

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

⁴ Sampaio, P. G. e Rossi, A. V.; Livro de Resumos 14º Encontro Nacional de Química Analítica, CR 083, **2007**.