

Comparação de Metodologias para a Pré-Purificação de Betanina a Partir do Extrato de Beterraba (*Beta vulgaris*, subsp. *Vulgaris*)

Nathana Barbosa Lopes^{1,*} (IC), Leticia Christina Pires Gonçalves¹ (PG), Bruno Martorelli Di Genova¹ (IC), Erick Leite Bastos¹ (PQ)

nathana.lopez@ufabc.edu.br

¹ Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC. Av. do Estado, 5001 – Bloco B, L201. 09210-170 Santo André, SP, erick.bastos@ufabc.edu.br

Palavras Chave: betalaínas, betanina, beterraba, ácido betalâmico

Introdução

A semi-síntese de novas betalaínas depende da obtenção de ácido betalâmico, que pode ser obtido pela hidrólise alcalina de betalaínas naturais como a betanina, principal pigmento da beterraba, sendo composta por um núcleo betalâmico e uma ciclo-DOPA glicosilada¹.

Tentativas de hidrólise de extrato de beterraba não purificado foram mal sucedidas devido à rápida oxidação do ácido betalâmico e/ou formação de outros produtos. Assim, no presente trabalho, aprimoramos as condições de purificação da betanina a partir de extrato bruto de beterraba para que esta pudesse ser hidrolisada gerando o ácido betalâmico.

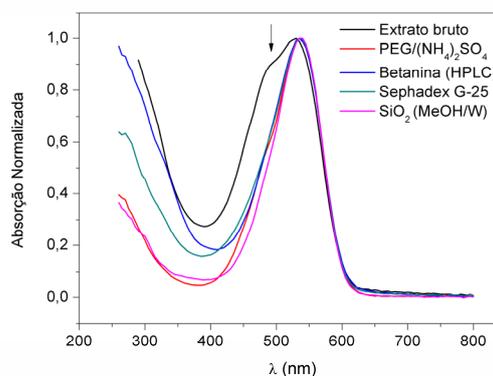
Resultados e Discussão

Extratos aquosos e orgânicos (metanol/água, 8:2 v/v) de raízes de beterraba orgânica fresca (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*) ou beterraba liofilizada foram acidulados até pH 3 com ácido acético glacial. Após concentração, o extrato aquoso foi purificado em coluna de gel de Sephadex G-25, tendo como eluente água. O extrato hidroalcolóico foi purificado por cromatografia em coluna de Silicagel 60, com metanol como eluente. Em ambos os casos, obtiveram-se frações de coloração magenta, ricas em betanina ($\lambda_{\text{max}}=536$ nm).² Essas frações foram evaporadas à pressão reduzida (25 °C, 20 Torr) e o resíduo foi dissolvido em etanol e, após precipitação a -18°C, foi centrifugado (5000 rpm, 25 °C). O precipitado magenta foi solubilizado em água e submetido à purificação por HPLC preparativo, o que resultou no isolamento de uma mistura de betanina e seu enantiômero isobetanina com >97% pureza, como aferido por eletroforese capilar analítica e espectrometria de massas (m/z 551.12, $[M+H]^+$).

Como alternativa, a extração foi realizada em meio aquoso contendo poli(etilenoglicol)/(NH₄)₂SO₄.³ O uso de PEG/(NH₄)₂SO₄ (Figura 1) resultou em uma pré-purificação da betanina favorecendo a purificação direta em escala preparativa por HPLC. Neste método, a adição de

PEG/(NH₄)₂SO₄ a um extrato bruto aquoso de beterraba, após vigorosa agitação, leva à separação de duas fases: a fase superior de coloração violeta escuro contendo principalmente o PEG e betanina, e a fase mais densa de coloração rosa contendo glicosídeos e outras substâncias. O PEG é extraído da fase contendo a betanina com clorofórmio e o volume da solução restante é reduzido por evaporação à pressão reduzida (25 °C, 20 Torr). A extração com clorofórmio visa recuperar o PEG, que pode ser reutilizado.

Figura 1. Espectro de absorção de soluções aquosas de extratos de beterraba de diversas origens. A seta indica a absorção por betaxantinas.



Conclusões

O uso de extração aquosa na presença de PEG/(NH₄)₂SO₄ possibilita boa pré-purificação e elimina a necessidade de cromatografia em coluna para a obtenção de betanina a partir de extrato de beterraba.

Agradecimentos

Auxílio financeiro: FAPESP (E.L.B., 07/00684-6; L.C.P.G., 07/59407-1), CAPES (E.L.B., 07/Pró-Equip.); à UFABC e ao IQ-USP pela infra-estrutura.

¹ Strack, D.; Vogt, T.; Schliemann, W. *Phytochemistry* **2003**, *62*, 247.

² Trezzini, G. T.; Zrýd, J. P. *Phytochemistry* **1991**, *30* (6), 1901.

³ Chetana Chethana, S.; Nayak, C. A.; Raghavarao, K. *J. Food Eng.* **2007**, *81* (4), 679.