

Desenvolvimento de método para extração de metabólitos secundários de folhas de cana-de-açúcar, visando análise metabolômica.

Gabriel Mazzi Leme^{1*} (PG), Paulo Roberto Ussoni Tomaz¹ (PG), Aline Coqueiro¹ (PG), Ana Paula Dias da Silva¹ (IC), Alberto José Cavalheiro¹ (PQ), Ossamu Hojo¹ (PQ), Vanderlan da Silva Bolzani¹ (PQ). (*gabrielmazzi@gmail.com)

NuBBE- Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", UNESP, Rua Professor Francisco Degni, s/n^o, Quitandinha, CEP: 14800-900, Araraquara, SP, Brasil.

Palavras Chave: metabólitos secundários; cana-de-açúcar, metabolômica.

Introdução

Metabolômica refere-se a uma abordagem bastante promissora na identificação e quantificação de todos os metabólitos de determinado órgão e/ou organismo, sendo uma técnica útil para análise de metabólitos secundários em matrizes complexas. Com o objetivo de desenvolver um método analítico de extração eficiente para os metabólitos secundários presentes em folhas de cana-de-açúcar, foi avaliada a influência de diversos parâmetros experimentais.

Resultados e Discussão

Um modelo Simplex-Centróide¹ foi aplicado para investigar a influência de diferentes proporções de solventes na preparação do extrato, considerando-se como resposta o número de picos obtidos nos cromatogramas obtidos por HPLC-DAD. A seleção dos solventes foi feita considerando-se o triângulo de seletividade de solventes de Snyder². A representação da superfície de resposta em função do número de picos é mostrada na figura 1.

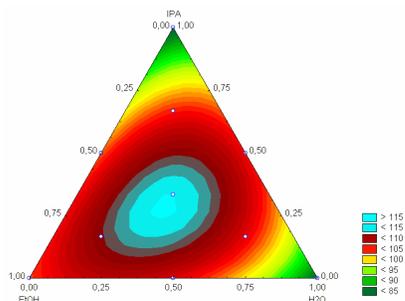


Figura 1. Superfície de resposta do número de picos em função das proporções de solventes.

A melhor condição de extração não é obtida pela simples triagem de solventes, assim, após seleção da melhor mistura de solventes extratores, utilizou-se um planejamento fatorial³ a fim de determinar o grau de importância de alguns parâmetros experimentais e as melhores condições para uma extração quantitativa. Neste trabalho foram avaliados a razão entre volume de solvente e massa

de amostra, número de extrações consecutivas e tempo de ultrasonicação, em função da área total dos cromatogramas HPLC-DAD.

Tabela 1. Fatores e níveis avaliados no planejamento fatorial.

Fator	Nível (-1)	Nível (+1)
Volume (mL)	2,0	4,0
Nº de extrações	1	3
Tempo US (min)	15	45

Conclusões

Levando-se em consideração a seletividade, o grau de toxicidade e custo, os solventes escolhidos para o planejamento do modelo Simplex-Centróide foram água, etanol e isopropanol. De acordo com a superfície de resposta obtida para as diferentes misturas, a proporção ideal para a extração do maior número de metabólitos foi H₂O/EtOH/IPA 0,30:0,45:0,25 (v/v). O planejamento fatorial mostrou que maior rendimento de extração é obtido após três extrações consecutivas, com relação m/v 1/10 e 15 min de ultrasonicação nessa ordem de importância para os parâmetros avaliados. Utilizando essas condições, foram obtidos em média, 120 picos cromatográficos quando o extrato foi analisado por HPLC-C18, utilizando condição cromatográfica ainda não otimizada. A identificação preliminar de flavonóides e vários ácidos fenólicos, entre os principais, ácido cumárico, ácido vanílico, ácido cafeico e ácido ferúlico foi possível através de HPLC-DAD-MS.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES, ao programa Biota – FAPESP, CNPq e Banco Real pelo auxílio financeiro.

¹Alves de Almeida, Aline; Scarmínio, Ieda Spacino. J. Sep. Sci. (2007), 30(3), 414-420.

²Snyder, Lloyd R.; Kirkland, Joseph J.; Dolan, John W.; Editors, Introduction to Modern Liquid Chromatography, John Wiley & Sons Inc., New York 1979, pp. 261 – 265.

³Song, Jiang-Feng; Liu, Chun-Quan; Li, Da-Jing; Jin, Bang-Quan. J. Chem. Technol. Biotechnol. (2007), 82(12), 1122-1126.