

Influência do pH sobre a fluorescência de uma sonda betalaínica

Bruno Martorelli Di Genova* (IC), Letícia Christina Pires Gonçalves (PG) e Erick Leite Bastos (PQ)

Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André - SP
bruno.genova@ufabc.edu.br

Palavras Chave: betalaínas, fluorescência, pigmentos naturais, efeito do pH.

Introdução

Betalaínas possuem grande importância econômica, sendo aplicados como aditivos em alimentos e cosméticos.¹ Contudo, pouco se sabe sobre a química destes pigmentos. A betanina, por exemplo, é o principal pigmento da beterraba e perde sua cor magenta característica em meio alcalino devido a hidrólise. Embora betanina não seja fluorescente, seus análogos de aminoácido são. A indicaxantina, betalaína da L-prolina, é um dos compostos responsáveis pela fluorescência natural em flores.²

Nosso grupo desenvolveu recentemente uma betalaína sintética contendo uma porção cumarínica (betacuma) que vem sendo aplicada como sonda fluorescente no estudo do *Plasmodium chabaudi*.³ O vacúolo parasitário é marcado pela sonda e os motivos para esta marcação ainda não estão claros. Assim, neste trabalho apresentamos os resultados preliminares do estudo da dependência da intensidade de fluorescência da betacuma com o pH do meio.

Resultados e Discussão

A maior dificuldade no estudo de betalaínas sintéticas é a sua preparação e purificação. Extrato aquoso de beterraba foi submetido a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para obtenção de betanina pura. A betanina purificada foi submetida a hidrólise alcalina (pH 11), na ausência de estabilizantes, resultando em uma mistura de ácido betalâmico e ciclo-DOPA glicosilada. A concentração de ácido betalâmico foi estimada a partir da concentração inicial de betanina, supondo estequiometria 1:1. Adicionou-se à solução uma quantidade adequada de aminocumarina e o pH do meio foi levado a 5. A formação de betacuma resulta em observável modificação da solução de amarelo para um tom salmão. Devido à presença de ciclo-DOPA no meio, betanina também é formada. Assim, a betacuma foi purificada por HPLC e caracterizada por espectrofotometria na região do UV-Vis.

Suspeitamos que o resultado obtido na marcação de *P. chabaudi* esteja relacionado ao aumento da acidez dentro do vacúolo parasitário. Contudo, não existem estudos sistemáticos a respeito da dependência das propriedades óticas de betalaínas com o pH. Os únicos valores de pK_a relatados

referem-se à betanina: pK_{a1} (HO-DOPA) = 8,5; pK_{a2} (C15-COOH) = pK_{a3} (C17-COOH) ~ 3,4.⁴ Desta forma, na Figura 1 são apresentados os valores do máximo de absorção e fluorescência (obtidos a partir da deconvolução das bandas dos espectros correspondentes) em função do pH do meio.

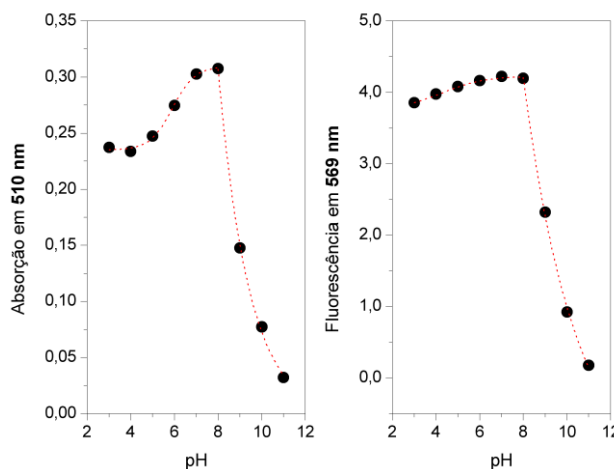


Figura 1. Máximo de absorção (510 nm) e emissão de fluorescência (569) da betacumarina em função do pH do meio.

Observa-se que há uma mudança significativa no perfil de absorção no intervalo de pH entre 2 e 8, enquanto a intensidade de fluorescência permanece pouco alterada. A queda abrupta em pH > 8 é resultado da hidrólise da betacuma.

Conclusões

Os resultados preliminares indicam que a fluorescência da betacuma não depende significativamente da acidez do meio no intervalo de pH entre 2 e 8.

Agradecimentos

FAPESP, CAPES, CNPq e UFABC.

¹ Stintzing, F. C.; Carle, R. *Trends in Food Science & Technology* **2007**, 18, 514.

² Gandia-Herrero, F.; Garcia-Carmona, F.; Escribano, J. *Nature* **2005**, 437, 334.

³ Gonçalves, L. C. P.; Tonelli, R. R.; Lopes, N. B.; Di Genova, B. M.; Baader, W. J.; Oliveira Jr., V. X.; Bastos, E. L. In *32ª Reunião da SBQ*; SBQ: Fortaleza, Ceará, 2009.

⁴ Nilsson, T. *Lantbruks-Hoegsk. Ann.* **1970**, 36, 179.