



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXVI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS **SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2022**

EXTRAÇÃO E ISOLAMENTO DE FENÓLICOS A PARTIR DO RESÍDUO DE *Ananas comosus*, UTILIZANDO CROMATOGRAFIA FLASH

Jacqueline Ribeiro dos Santos¹; Alessandro Branco²; Mara Marcia Sampaio Albuquerque³.

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: jacquelineuefs@gmail.com

2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: branco@uefs.br

3. Participante do projeto, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: maramarcia.s.a@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: *Ananas comosus*; cromatografia Flash; resíduo.

INTRODUÇÃO

Em consequência ao crescente aumento da demanda na produção de alimentos, a indústria alimentícia produz toneladas de resíduos agroindustriais através do processamento de frutas e verduras. A maior parte desses resíduos é descartada, gerando danos ambientais, e uma pequena parte é aproveitada na alimentação de animais (MAKRIS et al., 2007; MELO, 2011). No contexto da busca por estratégias economicamente sustentáveis, as pesquisas sobre a identificação de fontes de matéria-prima renovável são cada vez mais necessárias. Os resíduos agroindustriais são candidatos em potencial para a substituição de recursos não renováveis, pois possuem baixo custo relativo, são gerados em grande quantidade, e, constituem uma fonte alternativa e sustentável na obtenção de substâncias naturais de interesse industrial (BANERJEE, 2018; OLIVEIRA, 2015; NASCIMENTO, 2010) como, fenólicos, alcalóides, flavonóides, carotenóides, glicosídeos, taninos, saponinas, terpenóides e vitaminas (AYALA-ZAVALA, ROSAS-DOMINGUEZ, VEGA-VEGA, & GONZALEZ-AGUILAR, 2010). Nesse contexto, da busca sustentável por compostos de interesse industrial, as abordagens por cromatografia em coluna flash e cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), em contraste com os outros métodos cromatográficos, podem fornecer uma resposta rápida, com alta sensibilidade e eficiência de separação através do uso de colunas compactadas com pequenas partículas, além de oferecer uma ampla variedade de seletividade através das muitas combinações de solventes e colunas disponíveis. Com isso esse trabalho tem como o objetivo realizar análise fitoquímica, isolamento e purificação, por Cromatografia Flash e CLAE-DAD de compostos fenólicos oriundos do resíduo agroindustrial de *Ananas comosus*.

MATERIAL E MÉTODOS

1.1. Preparo das amostras

O Resíduo Agroindustrial de Abacaxi (*pomace*), *Ananas comosus*, resultante do processamento do fruto para produção de polpa para suco, foi armazenado em freezer a -18°C até sua posterior utilização. O resíduo foi pesado e seco em Liofilizador (Liotop - L101) por aproximadamente 26 h a -50°C para posterior extração.

1.2. Extração

Os extratos foram preparados por maceração. Uma amostra do resíduo liofilizado foi pesada e adicionada de Hexano P.A. por 72h, sob ausência de luz, para obtenção do extrato bruto hexânico (EBH), rico em compostos apolares. A mistura foi filtrada em filtro de papel, sob vácuo, e o resíduo foi reextraído com Etanol P.A. para obtenção do extrato bruto etanólico (EBE). O solvente foi evaporado em Rotaevaporador (IKA - RV 10) sob pressão reduzida e temperatura controlada de 60°C , e os extratos brutos concentrados e secos, foram armazenados em geladeira até o seu posterior uso.

1.3. Isolamento e identificação de compostos

O extrato bruto hexânico concentrado foi submetido à Cromatografia em Coluna Flash com sílica gel 60 eluída com gradiente de solventes em ordem crescente de polaridade (hexano – acetato de etila – etanol – água), resultando em 15 frações. As frações foram secas em capela à temperatura ambiente, e, posteriormente, analisadas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD).

1.4. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE do extrato bruto

As soluções do extrato bruto etanólico e das frações hexânicas foram preparadas na concentração de 1mg/ml e filtradas através de um filtro de membrana (Agilent Technologies, 13 mm X 0,2 μm) para posterior análise por CLAE-DAD. Os solventes da fase móvel foram Metanol (MeOH) (LiChrosolv, Darmstadt, Alemanha) e Água (H_2O) deionizada obtida por um sistema Milli-Q (Millipore Corporation, Burlington, Estados Unidos). A CLAE do extrato bruto etanólico foi realizada utilizando o seguinte gradiente de eluição: 0-20min - 30%B, 20-25min -100%B, 25-35min - 30%B, 35-37 min - 30%B, com tempo total da corrida de 37 min e fluxo de 1 mL/min. Posteriormente, o método foi otimizado. O detector DAD foi monitorado a 360 nm. A CLAE das frações hexânicas, por sua vez, foi realizada utilizando o esquema de eluição: 0min – 30%B; 0-30min – 100%B; 30-38min – 100%B; 38-40min – 30%B; 40-45min – 30%B. O volume de injeção foi de 40 μL , com fluxo de 1ml/min. A absorbância das amostras foi monitorada nas regiões de Uv-Vis em 206 nm; 210 nm; 214 nm; 220 nm; 240 nm; 260; 280 nm e 320 nm.

1.5. Espectrometria de Massas Multi-Estágio (ESI-EM/EM) das frações do extrato bruto

Frações do extrato bruto foram analisadas por espectrometria de massas com ionização por *electrospray* (ESI-EM/EM) em um espectrômetro de massas Thermo Scientific ion trap LTQ linear (San Jose, CA, USA). O espectro “*full scan*” das frações foram obtidas numa faixa de massa de 100-900 *m/z*. Será aplicada uma energia de 20% para realizar a fragmentação (EMⁿ) dos picos.

RESULTADOS ALCANÇADOS E DISCUSSÃO

1. Obtenção e caracterização de compostos fenólicos em frações do Extrato Bruto Etanólico de *A. Comosus*

O extrato etanólico foi submetido à partição líquido-líquido com acetato de etila, produzindo uma fase aquosa rica em açúcares solúveis, e uma fase orgânica (FOE). A FOE foi submetida a cromatografia em sílica Gel, do tipo Flash, e as frações foram separadas por um gradiente de eluição em ordem crescente de polaridade: hexano - acetato de etila - metanol - etanol-água, que resultou em 12 frações (FOE 1 – 12). Após análise em cromatografia em camada delgada, as frações semelhantes foram unidas. A fração FOE 2 revelou 6 picos majoritários. Os 3 primeiros picos apresentaram tempos de retenção (tR) 18.8, 19.4 e 21.1 minutos, com espectros absorvendo em regiões entre 200 e 400nm, perfil característico de flavonoides. Esse padrão foi observado na maioria dos picos majoritários avaliados na FOE 2 e da fração FOE 3.4. O espectro em uv de compostos desta classe, consiste tipicamente em duas bandas de maior absorção na região de 240 a 400 nm, sendo que a banda I absorve entre 300 e 400 nm e refere-se ao anel B (cinamoila) e a banda II absorve entre 240 e 285 nm e representa o anel A (benzoila) (ZUANAZZI & MONTANHA, 2007). O espectro do íon molecular *m/z* 179 gerou um único fragmento de *m/z* 135, sugerindo a presença de ácido cafeico comparando-se a dados da literatura. O íon molecular *m/z* 191, por sua vez, gerou 3 fragmentos de razão massa/carga 173, 155 e 111, que, segundo Masike et al. (2014) correspondem ao ácido 2-cafeoil-isocítrico. Os padrões de fragmentação dos íons moleculares *m/z* 225 e *m/z* 269, por sua vez, geraram, cada um, 4 fragmentos, correspondentes a 3-hexenal e à baicalina respectivamente. Cafeoilhexosídeo (Steingass et al., 2015) e uma hexametoxiflavona (Zhang et al., 2014), também foram identificados. As frações hexânicas apresentaram espectros de UV compatíveis com esteroides, alcaloides e outros compostos de natureza apolar. Foi possível identificar, através dos espectros de RMN (¹H, ¹³C) da Fração FOH 6, um composto nitrogenado da classe das benzoamidas, característico de vias metabólicas importantes na síntese de alcaloides.

CONCLUSÕES

A partir da técnica realizada, foi possível identificar e isolar o flavonol canferol através do resíduo líquido da *Agave sisalana*, além de identificar uma variedade de compostos fenólicos bioativos, saponinas, açúcares, terpenos e esteroides. Desta maneira, demonstrou-se que o canferol pode ser obtido por meio de uma técnica de baixo custo econômico e do resíduo agroindustrial, sendo esta fonte vegetal promissora para ser incorporada em sistemas de biorrefinaria multiproduto.

REFERÊNCIAS

- BANERJEE, Shivali et al. Valorisation of pineapple wastes for food and therapeutic applications. **Trends in Food Science & Technology**. [S.I.], v. 82, 60-70, set. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.024>>. Acesso em: 18 mar. 2020.
- BIESAGA, Magdalena. Influence of extraction methods on stability of flavonoids. **Journal of Chromatography A**, [S.I.], v. 1218, n. 18, p. 2505-2512, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.059>>. Acesso em: 17 mar. 2020.
- LI, Jian et al. Extraction and characterization of phenolic compounds with antioxidant and antimicrobial activities from pickled radish. **Food and Chemical Toxicology**, [S.I.], v. 136, p. 111050, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.111050>>. Acesso em: 17 mar. 2020.
- MAKRIS, D.P. et al. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.20, p.125-132, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.04.010>>. Acesso em: 11 mar., 2020.
- MANETTI, Liliana Maria; DELAPORTE, Rosemeres Horwat; LAVERDE JR, Antonio. Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 1885-1897, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000700035>>. Acesso em: 15 mar. 2020.
- MELO, Priscilla Siqueira et al. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, Santa Maria v. 41, n. 6, p. 1088-1093, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000600027>>. Acesso em: 18 mar. 2020.
- NASCIMENTO, Rosilda Josefa do; ARAÚJO, Cristiane Rodrigues de; MELO, Enayde de Almeida. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*Psidium guajava* L.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 209-216, abr./jun. 2010. Disponível em: <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev174/Art1741.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2020.
- OLIVEIRA, G. A. S. et al. Avaliação fotoquímica e screening da capacidade antioxidante de resíduos de umbu. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.4, p.341-348, 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/49600233_ATIVIDADE_ANTIOXIDANTE_DE_EXTRATOS_DE_RESIDUO_AGROINDUSTRIAL_DE_GOIABA_PSIDIUM_GUAJAVA_L>. Acesso em: 18 mar. 2020.
- PRADO, Adna. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Piracicaba-SP: Universidade de São Paulo, 2009. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-09112009-135846/pt-br.php>>. Acesso em: 17 mar. 2020.
- Rosa, M. F., et al. Valorização de resíduos da agroindústria. **II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais**. Foz do Iguaçu - PR, Palestra, v. 1, 98-105, 2011. Disponível em: <<http://www.sbera.org.br/2sigera/obras/p12.pdf>>. Acesso em: 11 mar., 2020.
- SOARES, M., et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 1, p. 059-064, Março 2008.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-29452008000100013>>. Acesso em: 18 mar. 2020.