



Identificação e Quantificação de Flavonoides na Polpa de Umbu por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Ronoel Luiz de Oliveira Godoy¹
Elaine Macedo do Nascimento²
Leilson Oliveira Ribeiro³
Luzimar da Silva Mattos do Nascimento⁴
Sidney Pacheco⁵
Renata Galhardo Borguini⁶
Virgínia Martins da Matta⁷
Nilton de Brito Cavalcanti⁸

Introdução

Os flavonoides são metabólitos secundários presentes em frutas e hortaliças que desempenham um papel fundamental na proteção contra agentes oxidantes como, por exemplo, raios ultravioleta, poluição ambiental, substâncias químicas presentes nos alimentos, entre outros, além de atuarem na redução do risco de um número elevado de patologias (MACHADO, 2005).

Fatores abióticos naturais como radiação solar, raios UV, períodos de seca ou chuva, nutrientes e estação do ano influenciam no metabolismo e na produção desses compostos; e fatores artificiais, como poluentes, podem interferir fazendo com que a planta produza maior ou menor quantidade de metabólitos secundários, incluindo flavonoides, como mecanismo de defesa contra patógenos como vírus, bactérias, fungos,

insetos (MACHADO, 2005). Dessa forma, a presença e a quantidade de flavonoides presentes em frutas e hortaliças estão diretamente ligadas aos fatores edafoclimáticos de uma região e à forma de cultivo, podendo ocorrer variações dessas substâncias em relação à matéria prima de origem.

Flavonoides são biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides e do acetato, precursores de vários grupos de substâncias como aminoácidos alifáticos, terpenóides, ácidos graxos, dentre outros (MANN, 1987). Eles podem ser subdivididos em 13 classes (BRAVO, 1998), sendo suas maiores classes os flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavona, di-hidroflavonois, e chalconas (YAO et al., 2004). Rutina e quercetina são substâncias de grande atividade antioxidante, que pertencem à classe dos flavonóis (THEUNIS et al., 2004).

¹ Farmacêutico, D.Sc. em Química Orgânica, pesquisador da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, ronoel.godoy@embrapa.br

² Graduanda em Tecnologia em Produção de Fármacos, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, Rio de Janeiro, RJ, elainenacmace@gmail.com

³ Químico Industrial, bolsista do CNPq-Brasil, mestrando em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, leilson@eq.ufrj.br

⁴ Química, técnica da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, luzimar.mattos@embrapa.br

⁵ Químico, M.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos, analista da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, sidney.pacheco@embrapa.br

⁶ Engenheira Agrônoma, D.Sc. em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, renata.borguini@embrapa.br

⁷ Engenheira Química, D.Sc. em Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, virginia.matta@embrapa.br

⁸ Administrador, M.Sc. em Extensão Rural, técnico da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, nilton.brito@embrapa.br

O umbu é o fruto do umbuzeiro, nativo de regiões semiáridas do nordeste brasileiro. Tendo sua origem na caatinga, o umbu desenvolve-se com mais frequência nos estados da Bahia, onde se encontra a maior produção, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba, sendo um fruto de clima tropical e seco (IBGE, 2008).

As frutas nativas, como o umbu, têm sido utilizadas historicamente por muitas famílias do sertão para o consumo familiar e para a obtenção de produtos artesanais como doces e geleias, além da comercialização do fruto "in natura" nas feiras regionais e para fábricas de polpas, que pagam preços irrisórios pelo fruto (XAVIER, 2010).

O maior conhecimento sobre os frutos nativos é essencial para a valorização dos mesmos, sendo importante gerar conhecimento sobre sua variabilidade genética, composição, atividade antioxidante, entre outras características. Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo identificar e quantificar flavonoides na polpa de umbu.

Metodologia

Matéria-prima

Foram utilizados frutos de umbu provenientes da Estação Experimental da Embrapa Semiárido em Petrolina, PE, e polpa de umbu comercial congelada, não pasteurizada, adquirida diretamente de uma indústria de polpa, localizada na Bahia, de dois lotes distintos (polpas A e B). Os frutos de umbu foram despulpados na Embrapa Agroindústria de Alimentos e a sua polpa foi congelada (polpa C).

Extração

As polpas foram submetidas a testes de extração baseados no método de extração de isoflavonas da AOAC International (2005). Nos testes iniciais, realizados com as polpas integrais, não foi possível realizar a identificação e quantificação dos flavonoides. Desse modo, as amostras das polpas foram liofilizadas, a fim de possibilitar uma melhor condição de extração e posterior quantificação dos flavonoides.

Pesou-se 10 g de cada amostra, sendo adicionados 40 mL de solução de extração metanol: água (80:20, v/v) e levando-se as amostras a banho-maria por 2 h a 65°C;

após o resfriamento, foram adicionados 3 mL de solução de saponificação NaOH 2 M, agitando por 10 min; adicionou-se 1 mL de ácido acético, avolumando para 50 mL; as amostras foram centrifugadas por 10 min a 6000 rpm, coletando-se o sobrenadante que foi filtrado com papel de filtro quantitativo e transferido para *vial*. A quantificação foi realizada por padronização externa, onde foi considerada a quantidade ($\mu\text{g/g}$) dos flavonoides rutina e quercetina contidos em cada polpa a partir da massa inicial de 10 g.

Análise cromatográfica

A análise cromatográfica foi feita em cromatógrafo líquido Alliance 2695 da Waters®, com detector de arranjo de diodos (DAD) 2996 da Waters® a 260 nm, coluna Thermo BDS Hypersil® C18 (100x4,6 mm 2,4 μm); fase móvel (A) ácido fórmico 1 % e (B) acetonitrila em modo gradiente; fluxo 1,3 mL/min; temperatura da coluna 45°C; volume de injeção 25 μL .

Resultados e discussão

Na análise da polpa comercial A foi identificado apenas o pico com a área referente ao flavonoide rutina (Figura 1). Ao se analisar a polpa comercial B (Figura 2) e a polpa C obtida na Embrapa (Figura 3), foi identificado, além da rutina, o pico equivalente ao flavonoide quercetina, ambos pertencentes à subclasse dos flavonóis. Estas substâncias foram quantificadas (Tabela 1) com base nas áreas identificadas, por meio de uma curva de calibração.

A variação na presença e na quantidade dos flavonoides entre as amostras pode ser atribuída tanto à diferença no processo de obtenção da polpa quanto à própria composição da matéria-prima original, pois, como já citado, os fatores edafoclimáticos e de manejo da cultura interferem na composição das frutas. Com relação à polpa comercial, apesar de serem do mesmo fabricante, que trabalha com matérias-primas com a mesma origem, a grande diferença entre elas se deve, provavelmente, ao tempo de fabricação e armazenamento em que as mesmas se encontravam. Foram utilizadas frutas de dois lotes, uma produzida em 2011 (A) e outra em 2013 (B), o que sugere que o tempo de armazenamento, ainda que sob congelamento, foi decisivo para a alteração do perfil qualitativo e quantitativo dos flavonoides da polpa de umbu.

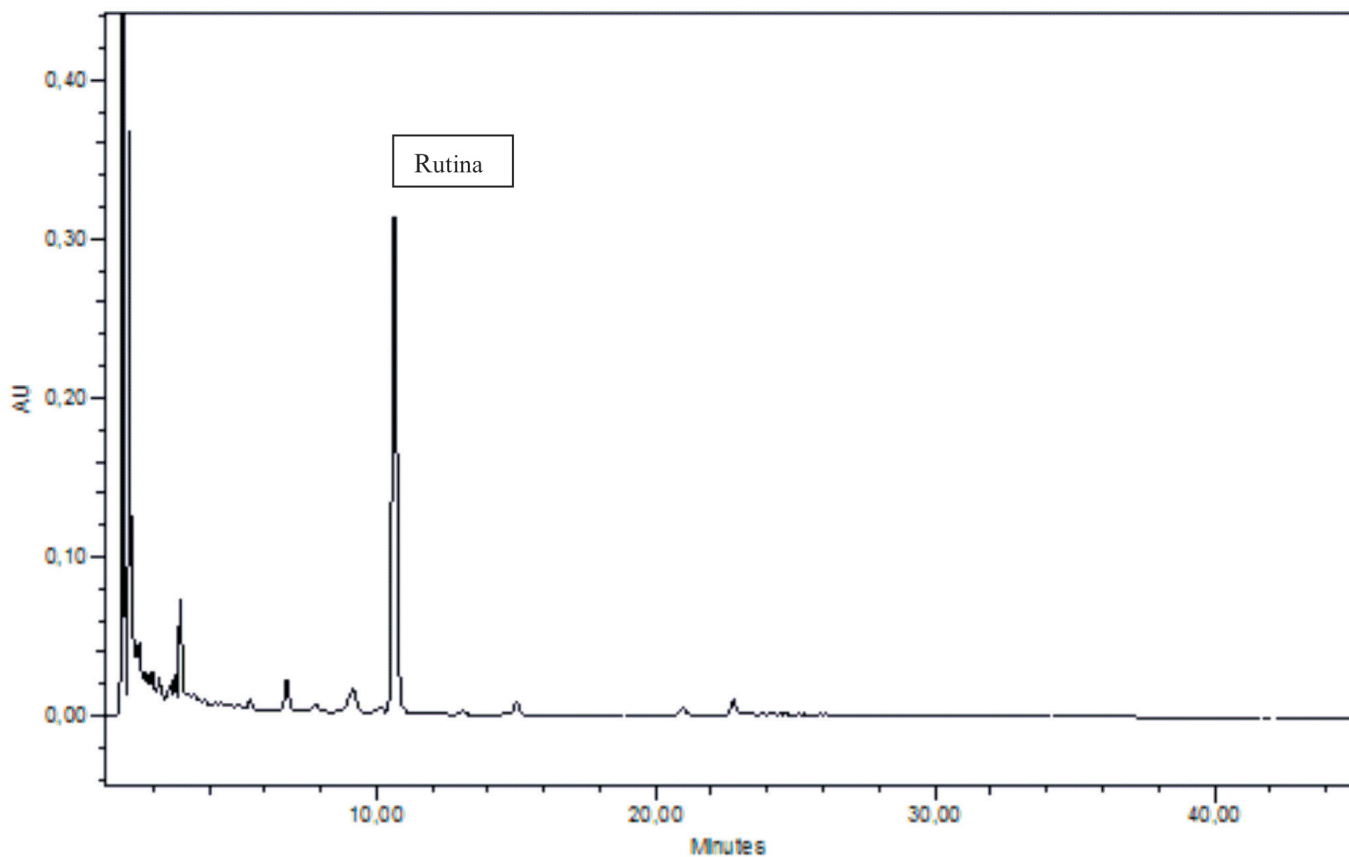


Figura 1. Cromatograma de polpa de umbu comercial (A) liofilizada, mostrando o seu perfil de flavonoides, obtido em sistema CLAE Alliance 2695 com detector de arranjo de diodos (DAD) 2996 da Waters®

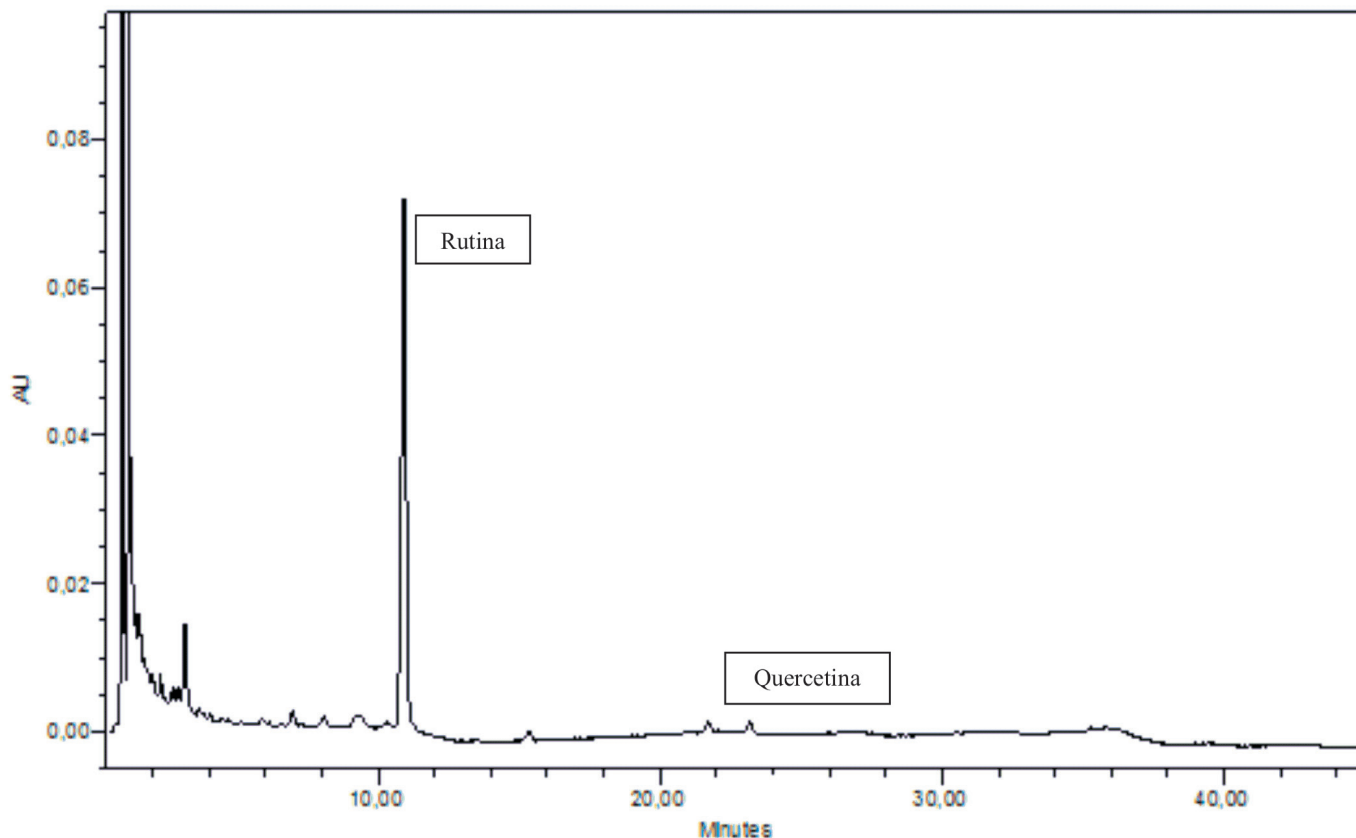


Figura 2. Cromatograma de polpa de umbu comercial (B) liofilizada, mostrando o seu perfil de flavonoides, obtido em sistema CLAE Alliance 2695 com detector de arranjo de diodos (DAD) 2996 da Waters®

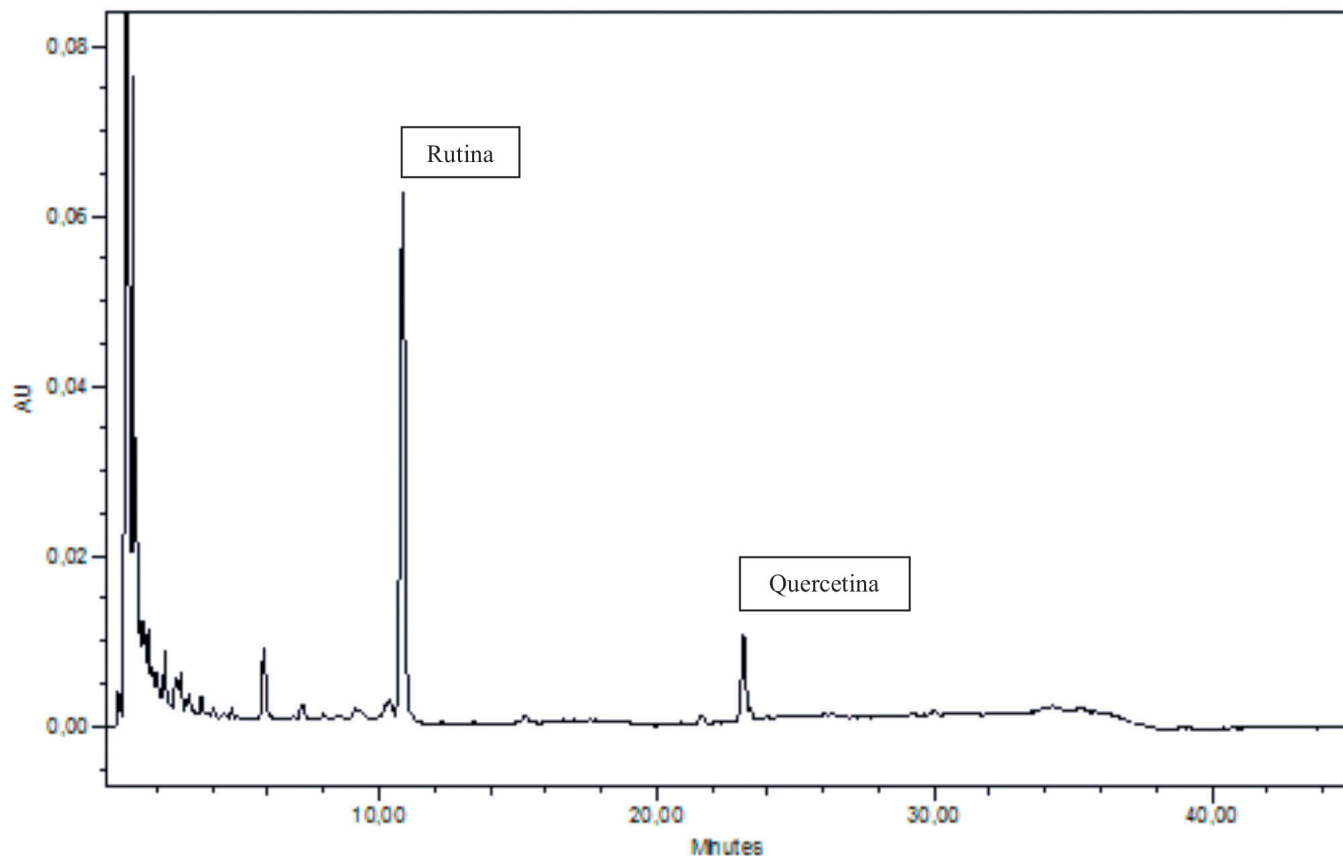


Figura 3. Cromatograma de polpa de umbu despulpada na Embrapa (C) liofilizada, mostrando o seu perfil de flavonoides, obtido em sistema CLAE Alliance 2695 com detector de arranjo de diodos (DAD) 2996 da Waters®

Tabela 1. Teores médios de flavonoides em polpas de umbu liofilizadas.

	Flavonoides ($\mu\text{g/g}^*$)	
	Rutina	Quercetina
Polpa C	457,5 \pm 26,16	51,0 \pm 2,82
Polpa comercial A	255,7 \pm 1,76	ND
Polpa comercial B	1004,5 \pm 60,27	23,5 \pm 0,86

* média das duplicatas \pm desvio padrão; ND: não detectado.

Referências

AOAC INTERNATIONAL. Method 2001.10. Determination of isoflavones in soy and selected foods containing soy. In: _____. **Official methods of analysis of AOAC International**. 18th ed. Gaithersburg, MD, 2005.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, Nov. 1998.

IBGE. **Produção da extração vegetal e da silvicultura 2006-2007**. Rio de Janeiro, 2008.

MACHADO, H. **Atividade dos flavonóides rutina e naringina sobre o tumor ascítico de Erlich "in vivo"**. 2006. 125 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.

MANN, J. **Secondary metabolism**. Oxford: Clarendon Press, 1987. 374 p.

THEUNIS, M.; KOBAYASHI, H.; BROUGHTON, W. J.; PRINSEN, E. Flavonoids, NodD1, NodD2, and Nod-Box NB15 modulate expression of the y4wEFG locus that is required for indole-3-acetic acid synthesis in *Rhizobium* sp. strain NGR234. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 17, n. 10, p. 1153-1151, Oct. 2004.

XAVIER, E. G. **COOPERCUC: um exemplo de gestão socioambiental sustentável para organizações coletivas no semiárido brasileiro**. 2010. 46 f. Monografia (Especialização em Gestão e Educação Ambiental) - Faculdade Regional de Filosofia, Ciência e Letras de Candeias, Candeias, 2010.

YAO, L. H.; JIANG, Y. M.; SHI, J.; TOMAS-BARBERAN, F.A.; DATTA, N.; SINGANUSONG, R.; CHEN, S. S. Flavonoids in Food and Their Health Benefits. **Plant Foods for Human Nutrition**, n. 59, p. 113-122, 2004.

Comunicado Técnico, 196

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Endereço: Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba
23020-470 - Rio de Janeiro - RJ

Fone: (0XX21) 3622-9600

Fax: (0XX21) 3622-9713

Home Page: <http://www.ctaa.embrapa.br>

E-mail: ctaa.sac@embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2013): tiragem (50 exemplares)

Comitê de Publicações

Presidente: Virgínia Martins da Matta

Membros: André Luis do Nascimento Gomes, Daniela De Grandi Castro Freitas, Leda Maria Fortes Gottschalk, Luciana Sampaio de Araújo, Ilana Felberg, Marília Penteado Stephan, Michele Belas Coutinho, Renata Torrezan

Expediente

Supervisão editorial: Daniela De G. Castro Freitas

Revisão de texto: Janine Passos Lima da Silva

Normalização bibliográfica: Luciana S. de Araújo

Editoração eletrônica: André Luis do N. Gomes e Marcos Moulin