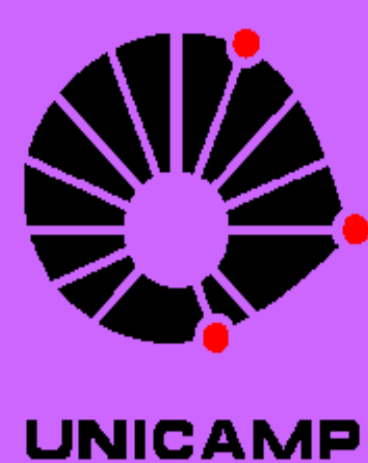


Aplicação do polimetiloctilsiloxano immobilizado sobre sílica na extração de antioxidantes em carqueja



Bruna Regina de Toledo Sampaio (IC), Carla Beatriz Grespan Bottoli (PQ)*

Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas
Campinas, São Paulo – BRASIL - * carlab@iqm.unicamp.br



Palavras-Chave: Antioxidantes, Extração em Fase Sólida, HPLC

INTRODUÇÃO

Os danos oxidativos induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados com a etiologia de várias doenças, incluindo doenças degenerativas tais como cardiopatias, aterosclerose e problemas pulmonares. A utilização de compostos antioxidantes encontrados na dieta ou mesmo sintéticos são um dos mecanismos de defesa contra os radicais livres.

O presente trabalho visa o estudo dos seguintes compostos fenólicos de ação antioxidante: ácido gálico, ácido rosmarínico, ácido caféico, ácido ferúlico e rutina em carqueja (*Baccharis trimera*). A carqueja foi escolhida por apresentar em sua composição vários compostos fenólicos fisiologicamente ativos, ou seja, apresentam propriedades anti-inflamatórias, anti-âncima, anti-asmática, antibiótica, anti-reumática, entre outras propriedades.

A técnica utilizada para a extração dos antioxidantes neste trabalho foi a extração em fase sólida (EFS), a qual é uma das ferramentas mais poderosas e mais empregadas em matrizes complexas. A EFS emprega sorventes recheados em cartuchos, nas formas de barril ou seringa, e os mecanismos de retenção são idênticos aqueles envolvidos em cromatografia líquida em coluna.

Esse projeto tem caráter de continuidade e possui como objetivo a aplicação de um novo sorvente para extração em fase sólida, desenvolvido no LABCROM (Laboratório de Pesquisas em Cromatografia Líquida) na extração e posterior determinação de antioxidantes em carqueja. O sorvente consiste no polímero PMOS, poli(metiloctilsiloxano), sorvido nos poros da sílica e posteriormente imobilizado através de tratamento térmico. A técnica a ser empregada para a quantificação é a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

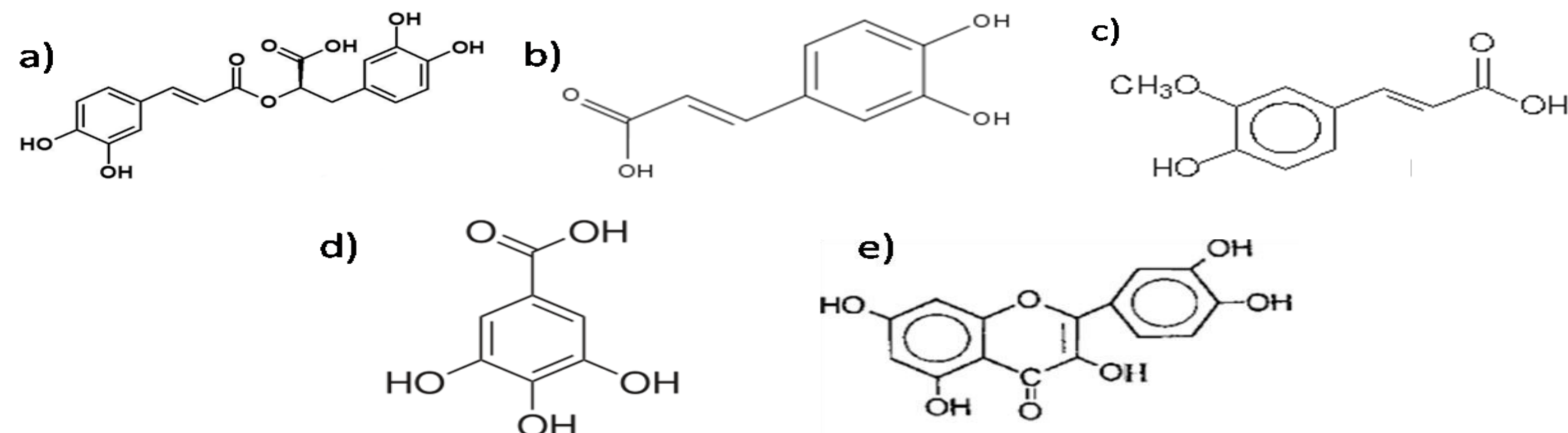


Figura 1: Estruturas Químicas dos Compostos Fenólicos: a) Ácido Rosmarínico, b) Ácido Caféico, c) Ácido Ferúlico, d) Ácido Gálico e e) Rutina

METODOLOGIA

Procedimento para o preparo dos cartuchos de EFS:

- 1) Secagem da sílica à 150°C por 24 horas.
- 2) Adicionou-se a sílica à uma solução de polimetiloctilsiloxano (PMOS) dissolvido em pentano formando um material com 40% (m/m) de PMOS.
- 3) Mistura sob agitação magnética por 3 horas.
- 4) Repouso para evaporação do solvente.
- 5) Fase sólida colocada em estufa à 40°C por 1 hora.
- 6) Imobilização Térmica: aquecimento do sorvente em estufa à 120°C por 4 horas em pressão atmosférica.
- 7) Confeção dos cartuchos: 500 mg de sorvente são adicionados em uma seringa de polipropileno de 5 mL, retido em dois filtros de polietileno.

Procedimento para obtenção do extrato das folhas de carqueja:

- 1) Em um balão de fundo redondo de 250 mL colocou-se 1g das folhas de chá maceradas junto com 150 mL de metanol (solvente extrator).
- 2) Acoplou-se ao balão um extrator e a esse um condensador.
- 3) Aqueceu-se o sistema com o auxílio de manta de aquecimento por 30 minutos.
- 4) A solução alcoólica foi então hidrolisada com 10 mL de uma solução metanol:água na proporção 33:66 em pH 2,65. A mistura foi deixada sob agitação magnética por 30 minutos.
- 5) Evaporação do solvente em rotaevaporador.
- 6) Adicionou-se à solução resultante 10 mL de metanol para a reconcentração do extrato.



Cartuchos de EFS

RESULTADOS E DISCUSSÃO

→ Otimização da Separação dos Antioxidantes utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Cromatógrafo à Líquido com modo de Eluição Isocrática

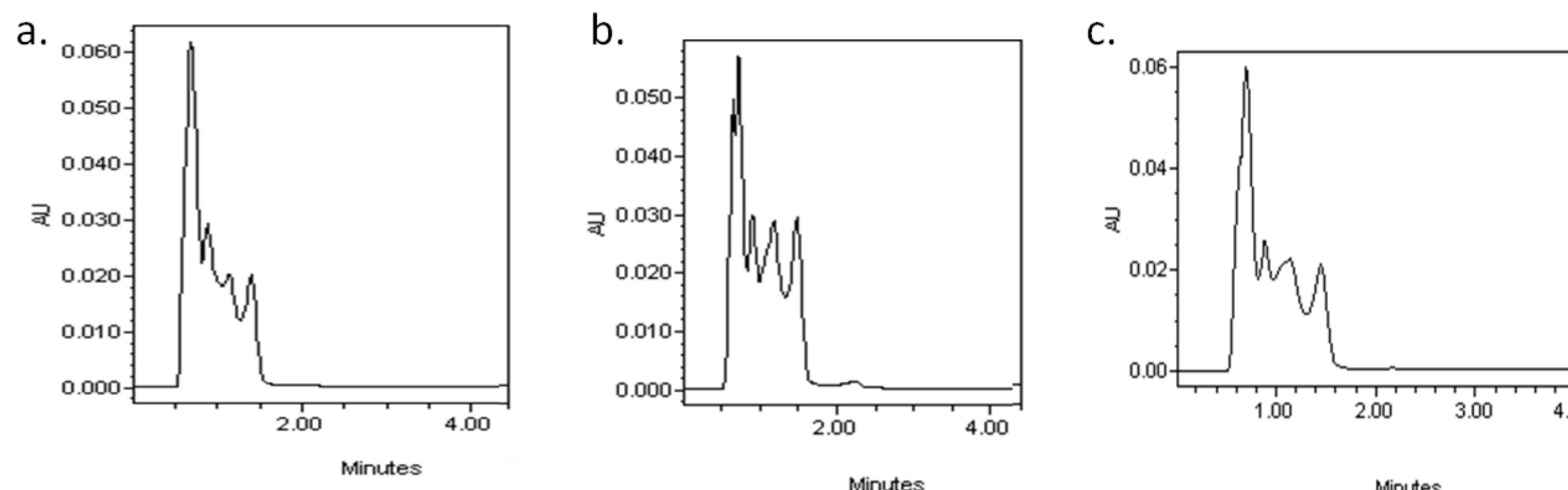


Figura 2. Cromatogramas da mistura de padrões dos antioxidantes (30 mg/L); **a.** Condições cromatográficas: fase móvel metanol:água na proporção 60:40 (v/v) acidificada em ácido fosfórico em pH 3.5, vazão 1 mL/min. Detecção: arranjo de diodos, 280 nm; **b.** Condições cromatográficas: fase móvel metanol:água na proporção 20:80 (v/v) acidificada em ácido fosfórico em pH 3.5, vazão 1 mL/min. Detecção: arranjo de diodos, 280 nm; **c.** Condições cromatográficas: fase móvel metanol:água na proporção 10:90 (v/v) acidificada em ácido fosfórico em pH 3.5, vazão 1 mL/min. Detecção: arranjo de diodos, 280 nm.

Cromatógrafo à Líquido com modo de Eluição por Gradiente

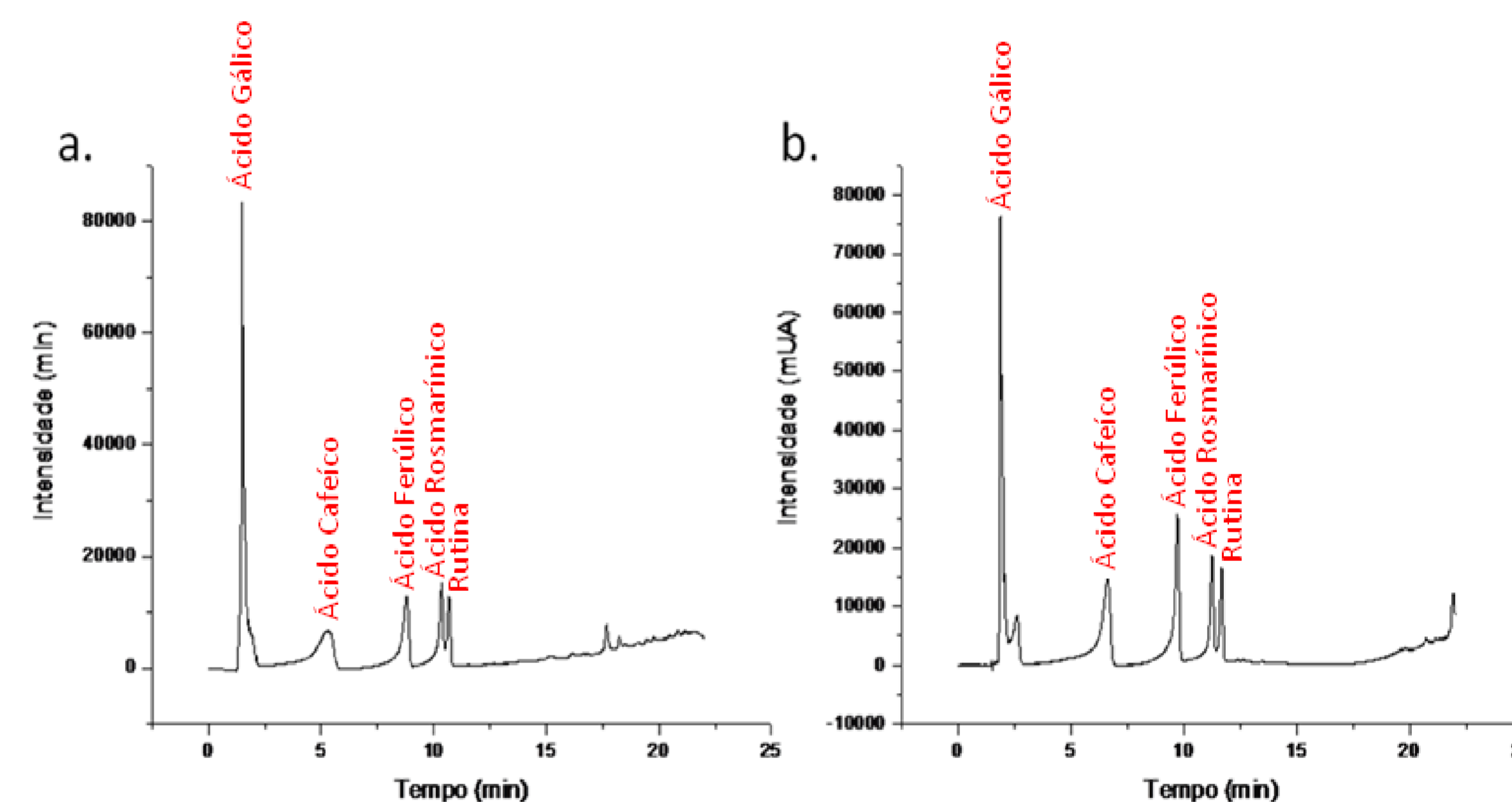


Figura 3. Cromatogramas da mistura de padrões dos antioxidantes (30 mg/L). Condições cromatográficas: acidificada com ácido fosfórico em pH 2.75 (A) e metanol (B); **a.** Programa de gradiente: de 30% a 40% de B em 3 minutos, de 40% a 60% de B em 4 minutos, de 60% a 80% de B em 5 minutos, de 80% a 100% de B em 5 minutos, de 100% a 50% de B em 1 minuto e de 50% a 30% de B em 4 minutos; **b.** Programa de gradiente: de 30% a 40% em 3 minutos, de 40% a 50% em 4 minutos, 50% por 5 minutos, de 50% a 100% em 6 minutos, de 100% a 50% em 1 minuto e de 50% a 30% em 4 minutos.

→ **Extração à quente dos antioxidantes das folhas de carqueja:** o metanol foi escolhido como solvente extrator devido principalmente à sua polaridade, semelhante aos antioxidantes; a extração é realizada à 70°C pois é uma temperatura alta o suficiente para aumentar a solubilidade dos analitos no solvente mas que não promove a degradação dos compostos em questão. Foi necessária a hidrólise do extrato pelo fato de os antioxidantes estarem complexados em açúcares.

CONCLUSÕES

- A separação dos compostos fenólicos com ação antioxidante foi otimizada com sucesso empregando-se o modo de eluição por gradiente.
- Foi otimizado um procedimento para extração dos antioxidantes das folhas da carqueja.
- Próximas Etapas: avaliação da EFS para a limpeza e concentração dos antioxidantes no extrato de carqueja e a validação do método, determinando-se os seguintes parâmetros: precisão, exatidão (recuperação), detectabilidade (limites de detecção e quantificação), linearidade e seletividade.

AGRADECIMENTOS

