

Determinação de carboidratos estruturais por HPLC com detecção no UV em forrageiras da espécie *Brachiaria Brizanta*

Rafael M. Dornellas^{1*} (PG), Michele F. Resende¹ (PG), Ana E. F. A. Castro¹ (IC), Jailton da C. Carneiro² (PQ), Domingos S. C. Paciullo² (PQ), Renato C. Matos¹ (PQ), Maria A. C. Matos^{1**} (PQ)

*rafaeldornellas@oi.com.br, **maria.auxiliadora@ufjf.edu.br

¹NUPIS – Núcleo de Pesquisa em Instrumentação e Separação Analíticas, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora – MG

²EMBRAPA Gado de Leite – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Gado de Leite, Juiz de Fora - MG.

Palavras Chave: *Brachiaria*, HPLC, carboidratos estruturais.

Introdução

Os carboidratos são importantes na nutrição de ruminantes, sendo sua principal fonte de energia. Nos ruminantes, 70 a 90% dos carboidratos consumidos são oriundos da parede celular vegetal. As gramíneas do gênero *Brachiaria* são largamente utilizadas em pastagens na América Tropical. É também o gênero mais usado no Brasil. Neste trabalho foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência, para a determinação dos carboidratos estruturais, glicose (Gli), arabinose (Ara) e xilose (Xil) em amostras de forrageira da espécie *Brachiaria Brizanta*. A detecção foi realizada na região do UV após derivatização com ácido p-aminobenzóico.

Resultados e Discussão

Utilizou-se para as medidas um HPLC Agilent 1100 series, com detector UV-VIS MWD, injetor manual (20 µL) e coluna de RP C-18 Zorbax ODS. Os parâmetros de análises (composição, fluxo e pH da fase móvel, comprimento de onda para detecção) foram previamente estudados. A melhor condição para execução das análises foi obtida com eluição isocrática usando fase móvel acetoneitrila/solução de H₃PO₄ pH 2,15 (1:99), fluxo de 1,50 mL.min⁻¹ e detecção em 305 nm. As amostras foram previamente extraídas com etanol 80% empregando ultra-som e em seguida tratadas com H₂SO₄ em banho ultratermostático a 30 °C¹; depois realizou-se uma hidrólise com H₂SO₄ 1,20 mol.L⁻¹ em chapa de aquecimento a 100 °C. Para a análise dos carboidratos estruturais na região do UV utilizou-se derivatização pré-coluna com o ácido p-aminobenzóico (PABA)². Os parâmetros para a derivatização foram previamente estudados e a melhor condição foi obtida em 10 minutos em um banho ultratermostático a 80 °C, com a solução de PABA 0,12 mol.L⁻¹. Aplicações do método proposto foram realizadas em amostras de folha e caule de *Brachiaria Brizanta*. Foram analisadas amostras de de três repetições (R1, R2 e R3) de *Brachiaria* sementeadas em diferentes regiões do solo, porém sob as mesmas condições de plantio, adubação e

15^o Encontro Nacional de Química Analítica e 3^o Congresso Iberoamericano de Química Analítica.

irrigação. A fim de avaliar a influencia da região do solo na concentração dos analitos. Cada repetição foi analisada em triplicata (TABELA 1):

TABELA 1: Concentração médias (DPR) de Gli, Ara, Xil nas amostras de caule e folha da *Brachiaria Brizanta* (mg.g⁻¹ mat. seca).

Repetição	Concentração, mg.g ⁻¹ mat. Seca (DPR %)					
	Glicose		Arabinose		Xilose	
	Caule	Folha	Caule	Folha	Caule	Folha
R1	118,9 (3,5)	101,8 (4,8)	13,2 (2,2)	14,3 (4,3)	75,7 (4,5)	64,7 (4,5)
R2	159,5 (2,1)	140,6 (0,9)	15,4 (4,0)	18,9 (4,7)	107,2 (2,7)	94,3 (2,2)
R3	188,4 (3,2)	102,4 (4,8)	17,9 (0,5)	16,9 (4,9)	119,6 (2,8)	80,8 (2,5)

DPR= desvio padrão relativo percentual (%)

A curva analítica foi linear na faixa de 0,16 a 0,80 mmol.L⁻¹ para Gli e Xil e 0,05 a 0,30 mmol.L⁻¹ para Ara com os seguintes coeficientes de correlação: 0,99916 (Gli), 0,99964 (Ara) e 0,99955 (Xil). Os limites de detecção e quantificação obtidos foram 0,37 e 0,99 µmol.L⁻¹ para Gli, 0,11 e 0,30 µmol.L⁻¹ para Ara, 0,32 e 0,86 µmol.L⁻¹ para Xil. A recuperação das amostras fortificadas variou de 92 a 95 % para Gli, de 82 a 84 % para Ara e de 72 a 74 % para Xil.

Conclusões

A metodologia proposta apresentou-se linear, com boa repetibilidade (DPR < 4,7%) e baixos limites de detecção e quantificação. Nas amostras de *Brachiaria Brizanta* as concentrações variaram de 101,8 a 188,4 (Gli); 13,2 a 18,9 (Ara) e de 64,7 a 119,6 (Xil) mg.g⁻¹ mat. seca de planta, mostrando a grande influência da região do solo plantado na concentração dos carboidratos estruturais.

Agradecimentos

PROPESQ/UFJF, CNPq, CAPES e FAPEMIG.

¹ Brito, C. J. F. A.; Rodella, A. R.; Deschamps F. C.; *R. Bras. Zootec.*, 2003, v.32, n.6, p.183534-184439.

² Meyer, A.; Raba, C.; Fischer, K.; *Anal. Chemistry*; 2001, v.73, p.2377-2382.