

## Desenvolvimento de um método de extração por ultra-som para a determinação de ácidos fenólicos em forrageiras tropicais

Mellina D. R. Santos<sup>1</sup> (PG)\*, Aline de P. Vitor<sup>1</sup> (IC), Jailton da C. Carneiro<sup>2</sup> (PQ), Domingos S. C. Paciullo<sup>2</sup> (PQ), Renato C. Matos<sup>1</sup> (PQ) e Maria A. C. Matos<sup>1</sup> (PQ)\*\*

\*mellina\_santos@yahoo.com.br, \*\*maria.auxiliadora@ufjf.edu.br

<sup>1</sup>NUPIS – 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

<sup>2</sup>EMBRAPA Gado de Leite – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Gado de Leite, Juiz de Fora – MG

Palavras Chave: Forrageira, ultra-som, ácidos fenólicos.

### Introdução

Os ácidos p-cumárico e ferúlico, principais ácidos fenólicos presentes em plantas (lignina "non-core"), estão associados aos componentes da parede celular através de ligações éster ou éter<sup>1</sup>. A extração a temperatura programada utilizando um banho ultratermostático a 20 °C por 24 h é o principal método para tratamento de amostras de forrageiras visando à quantificação os ácidos ferúlico e p-cumárico éster-ligados<sup>2</sup>. A fim de propor um método alternativo e mais rápido de extração, no presente trabalho desenvolveu-se uma nova metodologia de extração destes compostos em amostras de forrageiras aplicando o ultra-som e a quantificação por HPLC usando a padronização interna.

### Resultados e Discussão

Neste estudo foi utilizado um banho ultrassônico Unique, modelo USC2850, dotado de dois cristais piezoelétricos, operando a frequência de 25 kHz e potência de 120 W. O estudo foi realizado com a amostra (25,0 mg) de *P. maximum* (n = 3), extraída a temperatura ambiente com NaOH 1 mol L<sup>-1</sup> em diferentes tempos de sonicação: 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 min. Observou-se que os tempos de sonicação entre 15 e 90 minutos não foram suficientes para extrair completamente os ácidos éster-ligados, sendo que a concentração máxima de extração foi alcançada entre 120 e 150 min. Comparando-se as concentrações obtidas para sonicação por 120 min com as obtidas na extração em banho ultratermostático (20 °C por 24 h), observou-se que o ultra-som apresentou menores valores de desvio-padrão, mostrando-se mais reprodutível. A quantificação dos ácidos ferúlico e p-cumárico foi realizada no HPLC Agilent 1100 series, detector UV-VIS MWD, injetor manual (20 µL), coluna de fase reversa C-18 Zorbax ODS. O comprimento de onda para detecção, composição e fluxo da fase móvel foram parâmetros estudados. A melhor condição foi obtida por eluição isocrática com a composição da fase móvel acetonitrila/metanol/H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> pH 2,08 (13:12,5:74,5), 1 mL min<sup>-1</sup> e detecção em 316 nm. Foram realizados estudos para avaliação do método, aplicando padronização externa (MPE) e interna (MPI),

empregando os padrões de ácido m-cumárico como *surrogate* (PS) e o-cumárico como padrão interno (PI). Os métodos foram lineares em uma faixa de concentração de 3,00 a 30,00 mg L<sup>-1</sup>. Para a determinação dos limites de detecção e quantificação, repetitividade e recuperação, amostras (25,0 mg) de *P. maximum* foram extraídas com NaOH 1 mol L<sup>-1</sup> por 2 h em ultra-som. Nestas condições, apenas os ácidos ferúlico e p-cumárico éster-ligados à parede celular foram extraídos<sup>1</sup>. Os limites de quantificação por MPI e MPE foram 0,28 e 1,11 mg L<sup>-1</sup> para o ácido p-cumárico e 0,15 e 1,12 mg L<sup>-1</sup> para o ácido ferúlico. Na avaliação da repetitividade, a padronização interna apresentou DPR ≤ 1 %, e a padronização externa DPR = 4 %. Com relação a recuperação, o MPI (83 a 99 %) mostrou-se mais eficiente que MPE (82 a 91 %). O método proposto foi aplicado para a determinação dos ácidos ferúlico e p-cumárico em amostras de forrageiras (Tabela 1).

**Tabela 1.** Concentrações (n = 3) e intervalo de confiança (α = 0,05), em mg g<sup>-1</sup> peso seco, dos ácidos ferúlico e p-cumárico em amostras de *B. brizantha* e *P. maximum*.

Amostra	Fração	Concentração (mg g <sup>-1</sup> peso seco)	
		Ác. p-cumárico	Ác. ferúlico
<i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu	caule	7,99 ± 0,20	5,41 ± 0,25
	folha	5,98 ± 0,18	5,63 ± 0,12
<i>Panicum maximum</i> cv. Mombaca	caule	7,74 ± 0,33	4,19 ± 0,10
	folha	4,36 ± 0,14	3,35 ± 0,17

### Conclusões

O método proposto utilizando o ultra-som mostrou-se mais reprodutível e mais rápido (2 h) que o método convencional (24 h). A padronização interna apresentou menores valores de limites de quantificação, maior repetitividade e maiores valores de recuperação para amostras fortificadas com os ácidos ferúlico e cumárico.

### Agradecimentos

FAPEMIG, PROPESQ/UFJF, CAPES e CNPq

<sup>1</sup>Soest, V. P. J. Nutritional ecology of the ruminant. Ithaca: Cornell University Press, 1994.

<sup>2</sup>Deschamps, F. C. ; Ramos, L. P., L., R. Bras. Zootec., 2002, 31, 1634.