

# EXTRAÇÃO E SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA EM COLUNA ABERTA DE PIGMENTOS DO CARÁ-ROXO (*Dioscorea trifida*) COM UTILIZAÇÃO DE MATERIAIS ALTERNATIVOS

ALEXANDRA LIZANDRA GOMES ROSAS<sup>1</sup>; ADRIANA DILLENBURG MEINHART<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas – [lizandra.rosas2015@gmail.com](mailto:lizandra.rosas2015@gmail.com) 1

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – [adrianadille@gmail.com](mailto:adrianadille@gmail.com) 2

## 1. INTRODUÇÃO

A percepção dos consumidores em relação à segurança alimentar vem priorizando a preferência por pigmentos naturais em vez dos sintéticos (MANZOOR, *et al.*, 2021). O cará-roxo (*Dioscorea trifida*) é uma raiz tuberosa com coloração roxa, uma característica de concentração de antocianinas (COSTA, *et al.*, 2020). As antocianinas são uma classe de flavonoides abundantemente encontrados em fluidos de células vegetais e são amplamente distribuídos na natureza, seguros e não nocivos (WRIGHT *et al.*, 2021). Auxiliam no aumentam a vida útil dos alimentos por causa de suas propriedades antioxidantes e potencial antimicrobiano que as tornam atraentes como substitutos de pigmentos sintéticos (LIMA *et al.*, 2020). Apesar de seu potencial uso em diversos campos, as antocianinas têm limitações devido às instabilidades às condições ambientais externas, como luz, pH, oxigênio, temperaturar (LIU *et al.* 2020).

Diversas pesquisas inovadoras utilizam argila para desenvolver métodos de extração e purificação de bioativos, devido características adsorvente que ela possui (BRITO *et al.*, 2018). Estas argilas são capazes de purificar pigmentos de alimentos e protegendo-os de possíveis degradações (EHRENBERG *et al.*, 2019; MOTTA *et al.*, 2019). Tal fenômeno é possível pois os argilominerais apresentam elevada área superficial e alguns apresentam moderada carga parcial negativa em sua estrutura, o que facilita a adsorção de compostos polares (LU *et al.*, 2020). Um método simples de purificação/separação de pigmentos encontra-se na cromatografia (GENTILI *et al.*, 2019).

Neste contexto, a presente pesquisa propôs realizar o estudo sobre a utilização materiais alternativos (como a argila *montmorilonita*) para a purificação de antocianinas oriundas do cará-roxo utilizando a separação cromatografia em coluna aberta.

## 2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado em ambiente doméstico como parte do conteúdo de aulas práticas ministradas de forma remota da disciplina de “Análise de Alimentos por Cromatografia, Eletroforese Capilar e Espectrometria de Massas”, do PPGCTA da UFPEL.

Para o preparo do extrato primeiramente foram adquiridos o cará-roxo, limão e o vinagre comercial. Para a extração da mucilagem, o cará-roxo foi lavado em água corrente, descascado e cortado em cubos pequenos. Foram elaborados 2 extratos (contendo os analitos: antocianinas do cará-roxo). O primeiro foi de 30 g de cara-roxo solubilizado com 20 mL de limão e o segundo de 30g de cara-roxo

solubilizado com 20 mL de vinagre. Ambos foram triturados em liquidificador por 3 minutos, seguidos de filtração em malha de poliéster (40x40 cm<sup>2</sup>, 200 mesh).

Para o preparo do recheio da coluna foi utilizada a Argila Clarificante CHO (fornecida pela BENTONISA do Nordeste S.A. João Pessoa, Brasil). Pesou-se 4 g de argila para cada teste e foi misturado em água/sabão ou vinagre, conforme a Tabela 1. Em seguida, o recheio (FE) foi introduzido a coluna cromatográfica (seringa de 5 mL – com um pedaço pequeno de algodão no bico), em seguida adicionou-se o extrato de forma homogênea. Então foi adicionado o eluente (FM) não deixando a coluna secar para evitar a formação de canais.

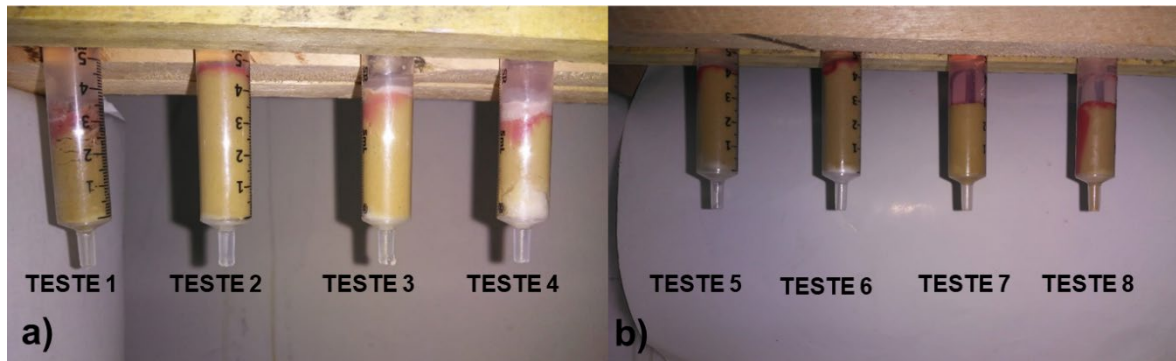
**Tabela 1: Condições de separação estudadas**

Teste	Recheio da Coluna	Extrato	Fase Móvel
1	Argila + água	Cará-roxo + limão	Limão + álcool + água
2	Argila	Cará-roxo + limão	Limão + álcool + água
3	Argila+ sabão + água	Cará-roxo + limão	Limão + álcool + água
4	Argila + limão	Cará-roxo + limão	Limão + álcool + água
5	Argila + água	Cará-roxo + vinagre	Vinagre + álcool + água
6	Argila	Cará-roxo + vinagre	Vinagre + álcool + água
7	Argila + sabão + água	Cará-roxo + vinagre	Vinagre + álcool + água
8	Argila + vinagre	Cará-roxo + vinagre	Vinagre + álcool + água

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizados oito testes como descrito na Tabela 1. Em todos os casos, utilizou-se o recheio de argila para cada fase estacionaria (FE). Os resultados do teste na Figura 1, nota-se na Figura 1a, os 4 primeiros testes onde foi utilizado o analito (extrato de cará-roxo solubilizado com limão). As colunas reterão a fração do analito, ou seja, possivelmente o pigmento e cará-roxo intercalam entre as lamelas da argila, formando um nanocompósito. Devido as partículas serem muito pequenas possivelmente houve grande compactação, mesmo após 24 horas não se observou separação em nenhum dos 4 testes iniciais.

As superfícies dos argilominerais são caracterizados pela presença de sítios ativos, estes pontos podem ser descritos com base na sua localização (aresta vs superfície), arranjo geométrico dos átomos na superfície, composição química e acessibilidade. Os sítios ativos são formados devido a dois fenômenos que ocorrem nas esmectitas: as substituições isomórficas e as interações das arestas (FONSECA, VAISS, *et al.*, 2018). Várias propriedades físico-químicas dos argilominerais estão intimamente associadas aos fenômenos de carga, dentre esses fenômenos tem-se a capacidade de troca de cátions; caráter anfótero e acidez superficial (ZHANG *et al.*, 2017).



**Figura 1:** Cromatografia em camada aberta de argila. a) com extrato de cará-roxo e limão; b) extrato de cará-roxo e vinagre.

#### 4. CONCLUSÕES

Foi produzido um experimento facilmente executado no laboratório ou em casa, utilizando materiais alternativos de fácil acesso. O objetivo do trabalho foi alcançado, uma vez que a técnica proposta com materiais alternativos foi desenvolvida com sucesso. O procedimento adotado foi adequado aos moldes de uma aula experimental do ensino remoto, a argila pode ser vantajosa, para outros estudos, devido ao tamanho das partículas, pois apresentou um bom empacotamento, porém, para este trabalho não foi viável sua utilização, pois parte não ocorreu a dessorção das antocianinas para obter as frações do pigmento, porém o uso da argila como protetora de antocianinas é promissor. Conclui-se que através do método de cromatografia em coluna aberta utilizando argila como fase estacionária foi possível adsorver as antocianinas do cará-roxo (*Dioscorea trifida*). A dessorção dos pigmentos da argila pode ser obtido empregando sistemas de vácuo em projetos futuros.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRITO, D. F., EDSON, C., FILHO, S., *et al.* "Journal of Environmental Chemical Engineering Organophilic bentonites obtained by microwave heating as adsorbents for anionic dyes", **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 6, p. 7080–7090, 2018. DOI: 10.1016/j.jece.2018.11.006.
- COSTA, J. C. M. da, LIMA MIKI, K. S., DA SILVA RAMOS, A., *et al.* "Development of biodegradable films based on purple yam starch/chitosan for food application", **Heliyon**, v. 6, n. 4, p. 03718, abr. 2020. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e03718.
- EHRENBERG, S., LEWKOWSKI, O., ERLER, S. "Dyeing but not dying: Colourful dyes as a non-lethal method of food labelling for in vitro-reared honey bee (*Apis mellifera*) larvae", **Journal of Insect Physiology**, v. 113, n. November 2018, p. 1–8, 2019. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2018.12.008.
- FONSECA, C. G., VAISS, V. S., WYPYCH, F., *et al.* "Investigation of the initial stages of the montmorillonite acid-activation process using DFT calculations", **Applied Clay Science**, v. 165, n. August, p. 170–178, dez. 2018. DOI: 10.1016/j.clay.2018.08.012.
- GENTILI, A., DAL BOSCO, C., FANALI, S., *et al.* "Large-scale profiling of carotenoids by using non aqueous reversed phase liquid chromatography – photodiode array detection – triple quadrupole linear ion trap mass spectrometry: Application to some varieties of sweet pepper (*Capsicum annum* L.)", **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 164, p. 759–767, fev. 2019. DOI:

10.1016/j.jpba.2018.11.042.

LIMA, L. C. B., SILVA, F. C., SILVA-FILHO, E. C., *et al.* "Saponite-anthocyanin derivatives: The role of organoclays in pigment photostability", **Applied Clay Science**, v. 191, n. December 2019, p. 105604, jun. 2020. DOI: 10.1016/j.clay.2020.105604.

LIU, P., LI, W., HU, Z., *et al.* "Isolation, purification, identification, and stability of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr", **LWT**, v. 126, n. October 2019, p. 109334, maio 2020. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.109334.

LU, Y., LI, Y., LIU, D., *et al.* "Adsorption of benzene vapor on natural silicate clay minerals under different moisture contents and binary mineral mixtures", **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 585, n. May 2019, p. 124072, jan. 2020. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2019.124072.

MANZOOR, M., SINGH, J., GANI, A., *et al.* "Valorization of natural colors as health-promoting bioactive compounds: Phytochemical profile, extraction techniques, and pharmacological perspectives", **Food Chemistry**, v. 362, n. May, p. 130141, nov. 2021. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.130141.

MOTTA, C. M., SIMONIELLO, P., ARENA, C., *et al.* "Effects of four food dyes on development of three model species, *Cucumis sativus*, *Artemia salina* and *Danio rerio*: Assessment potential risk for the environment", **Environmental Pollution**, v. 253, n. 1333, p. 1126–1135, 2019. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.06.018. WRIGHT, O. R. L., PHAN, A. D. T., HONG, H. T., *et al.*, "Bioactive Anthocyanins in Selected Fruits – A Foodomics Approach". **Comprehensive Foodomics**, [S.l.], Elsevier, 2021. p. 77–104. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.22785-6.

ZHANG, C., LIU, X., LU, X., *et al.* "Complexation of heavy metal cations on clay edges at elevated temperatures", **Chemical Geology**, v. 479, n. December 2017, p. 36–46, 2018. DOI: 10.1016/j.chemgeo.2017.12.027.