

PREPARAÇÃO DE PADRÕES CROMATOGRÁFICOS DE BETACAROTENO E ZEAXANTINA, COM CONFIRMAÇÃO ESTRUTURAL POR ESI/QqTOF

SCHULZ, D. F.***; PACHECO, S.**; ROSA, J. S.**; PINTO, A. C.*;

GODOY, R. L. O.**

*UFRJ, IQ, Cidade Universitária, CT, bloco A, lab 621, Ilha do Fundão, CEP 21945-970 - Rio de Janeiro, RJ – Brasil - (5521) 25627144.

**EMBRAPA-CTAA, lab de cromatografia líquida. Av. das Américas, 29501, CEP 23020-470 - Guaratiba, Rio de Janeiro, RJ – Brasil – (5521)36229792

danschulzms@gmail.com

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é hoje umas das técnicas de separação mais utilizada em laboratórios com a finalidade de identificação e quantificação de substâncias químicas, sejam estas, vitaminas, contaminantes, metabólitos vegetais, etc. Para isso se utiliza um padrão cromatográfico, quase sempre uma substância pura, que ao ser injetado numa concentração conhecida fornece os dados de tempo de retenção (t_R) e área dessa substância para a análise em questão. Contudo a obtenção desses padrões é crítico no Brasil, pois estes em sua maioria precisam ser importados, e devido às condições adversas enfrentadas durante o transporte perdem suas características, principalmente pureza. Os carotenóides possuem perfis de absorção bem característicos no comprimento de onda do ultravioleta (UV), tornando fácil sua caracterização utilizando detectores de arranjo de fotodiodos. Entretanto, a presença de grupos hidroxila não conjugados não afeta o cromóforo da molécula, tornando o espectro do betacaroteno praticamente idêntico ao da zeaxantina. Por isso, o objetivo desse trabalho foi confirmar por ESI/QqTOF a estrutura dos padrões isolados. O betacaroteno foi extraído de uma matriz bastante rica neste nutriente, a cenoura. Já para a zeaxantina, que é um carotenóide minoritário na maioria dos vegetais, sendo sua fonte principal para obtenção o milho, utilizou-se uma nova matriz, a laranjinha de jardim (*Solanum pseudocapsicum* L.), uma planta ornamental capaz de fornecer grandes quantidades de zeaxantina com pureza de 95,5%. A extração foi realizada de acordo com metodologia de Rodriguez-Amaya (2001) e a purificação com metodologia de Pacheco (2009). A caracterização por ESI/QqTOF foi realizada ressuspensando-se 5µg da substância isolada em 5mL de acetona grau HPLC Tedia, que foi então introduzida no Espectrômetro de Massas Synapt (Waters-USA), um duplo quadrupolo/tempo de voo, por infusão direta com fluxo de 5µL/min ajustado nos seguintes parâmetros: capilar: 4KV; cone: 25V; temperatura da fonte: 80°C; fluxo e temperatura do gás de desolvatação: 500L/h e 150°C, respectivamente. Os espectros obtidos confirmaram a estrutura das duas substâncias isoladas. O espectro do betacaroteno, mostrando o íon molecular (M^+), m/z 536 e o fragmento característico de carotenóides derivado da perda de tolueno ($M^+ - C_7H_8$) m/z 444. O espectro da zeaxantina, que apesar de apresentar duas hidroxilas forma preferencialmente o íon molecular quando em meio não suficientemente ácido, tanto em ESI quanto em APCI, m/z 568 e o fragmento originário da perda de tolueno, m/z 476. A confirmação estrutural de carotenóides com mesmo perfil de absorção no UV pode ser facilmente realizada através de ESI/QqTOF, garantindo, dessa forma, a qualidade do padrão.

Agradecimentos – CAPES, EMBRAPA, UFRJ e CNPq