

## DETERMINAÇÃO DE CATEQUINA E EPICATEQUINA EM CASCAS DE MAÇÃ POR HPLC-DAD

Isadora Sanches Scuisato (PIBIC/CNPq/FA/UEM)<sup>a</sup>, Nathália Elias Borges (Mestrado/CNPq/UEM)<sup>b</sup>, Oscar Oliveira Santos Junior<sup>b</sup> (Coorientador), Joana Schuelter Boeing<sup>b</sup> (Orientador). E-mail: jsboeing@uem.br.

<sup>a</sup>Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia de Alimentos, Maringá, PR.

<sup>b</sup>Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Química, Maringá, PR

**Área e subárea do conhecimento: Ciências Exatas e da Terra/Química**

**Palavras-chave:** compostos fenólicos; QuEChERS; *Malus domestica* Borkh.

### RESUMO

Neste estudo foi realizada a determinação de catequina e epicatequina em cascas de maçã empregando o método QuEChERS e a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de arranjo de diodos (HPLC-DAD). Foram analisadas seis variedades de maçãs, incluindo Fuji, Gala, Fengagi/Tessa, Dolce Vita, Evelina e Red Delicious. Entre essas variedades, as maiores quantidades de catequina e epicatequina foram encontradas nas variedades Fengagi/Tessa ( $54,56 \pm 1,90$  e  $95,65 \pm 5,02$  mg kg<sup>-1</sup>), Evelina ( $51,38 \pm 1,45$  e  $105,92 \pm 3,71$  mg kg<sup>-1</sup>) e Red Delicious ( $43,72 \pm 4,08$  e  $109,34 \pm 6,82$  mg kg<sup>-1</sup>). Esses resultados reforçam a casca da maçã como uma fonte rica em catequina e epicatequina, ampliando as possibilidades de aplicação dessa fruta.

### INTRODUÇÃO

As maçãs são uma fonte importante de nutrientes essenciais, como os carboidratos e vitaminas, além disso também são uma fonte importante de compostos bioativos que apresentam diversas propriedades biológicas (FENG *et al.*, 2021). Dentre os compostos com atividades biológicas importantes, podemos destacar os compostos fenólicos, como a catequina e a epicatequina. Estudos têm mostrado que a catequina e epicatequina, exercem múltiplos efeitos farmacológicos

e fisiológicos, incluindo as atividades anticâncer, anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica e antimutagênica (GADKARI & BALARAMAN, 2015).

Considerando as propriedades desses compostos e a sua aplicação atual na indústria alimentícia, na área médica, como fármacos, e no consumo *in natura*, esses compostos têm sido amplamente estudados e para este fim diversos métodos analíticos têm sido relatados para a sua determinação (identificação e quantificação). Além disso, na última década, tem havido uma demanda crescente por novos métodos analíticos mais confiáveis e precisos, com curto tempo de análise e custo reduzido, além de minimização do uso e geração de resíduos tóxicos. Nesse contexto, o presente projeto tem como finalidade fornecer dados analíticos consistentes acerca da presença e da quantidade da catequina e epicatequina presentes em extratos da casca da maçã. Para isso será utilizado o método QuEChERS como técnica de preparo de amostra, o qual, visa a extração dos compostos com rapidez, simplicidade, baixo custo, além de estar associado a uma etapa eficiente de *clean-up* e a HPLC-DAD como técnica de análise.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de maçã das variedades, Gala (Brasil), Fuji (Brasil), Red Delicious (Argentina), Evelina (Itália), Fengapi/Tessa (Itália) e Dolce Vita (Itália) foram adquiridas no comércio local da cidade de Maringá-PR. Primeiramente, as maçãs foram higienizadas com água destilada e Extran 5%, depois de secas foram descascadas com um descascador de alimentos. Em seguida, as cascas de cada maçã foram trituradas em um processador de alimentos, embaladas a vácuo e armazenadas em freezer a -18 °C até a realização das análises.

Para a extração da catequina e epicatequina, pesou-se 2,00 g da casca da maçã em um tubo Falcon de 15 mL, em seguida, adicionou-se 2,00 mL de acetonitrila, e realizou-se a agitação em vórtex por 1 min. A seguir, 0,8 g de sulfato de magnésio anidro ( $MgSO_4$ ), 0,2 g de cloreto de sódio (NaCl), 0,2 g de citrato de sódio diidratado ( $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ ) e 0,1 g de citrato de sódio sesquidratado ( $C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1,5H_2O$ ) foram adicionados e os tubos foram agitados por 1 min e centrifugados a 5000 rpm por 10 min. O sobrenadante (1,00 mL) foi coletado e adicionado a tubos Falcon de 15 mL individuais para realização da etapa de limpeza. Para isso, 75 mg de  $MgSO_4$ , 12,5 mg de terra ativada e 12,5 mg de amina primária e secundária foram adicionados, os tubos foram agitados em vórtex por 1 min e depois centrifugados (5000 rpm, 10 min). Os sobrenadantes foram filtrados em filtro de seringa de politetrafluoretileno (PTFE) (13 mm de diâmetro e 0,22  $\mu m$  de tamanho de poro) para posterior análise cromatográfica.

A análise cromatográfica dos compostos em estudo foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters® Alliance modelo e2695, com detector de arranjo de diodos Waters®, modelo 2998. O método baseou-se na separação cromatográfica empregando uma coluna de fase reversa (C<sub>18</sub>, ZORBAX SB-C18, 150 mm x 4,6 mm e 5 µm) a 25°C, em modo de eluição isocrática, empregando água acidificada com ácido fosfórico (pH = 3,00) e acetonitrila, em uma proporção de 80:20, v/v, como fase móvel. O fluxo foi de 0,5 mL min<sup>-1</sup>, volume de injeção de 10 µL e tempo de corrida de 6 min. A detecção e quantificação da catequina (tempo de retenção = 4,55 min) e epicatequina (tempo de retenção = 5,25 min) foi realizada no comprimento de onda de 210 nm. A catequina e epicatequina presentes nos extratos das cascas da maçã foram identificados pela comparação do tempo de retenção (t<sub>R</sub>) e dos espectros de absorção no UV-Vis obtidos com o DAD empregando o mix das soluções padrão dos compostos estudados. A análise quantitativa foi realizada pelo método de adição padrão e os resultados foram expressos em mg kg<sup>-1</sup> de amostra fresca.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, o método cromatográfico para determinação de catequina e epicatequina foi otimizado empregando as soluções padrão desses compostos, sendo os parâmetros otimizados descritos nos *Materiais e Métodos*. Posteriormente, o método QuEChERS foi utilizado para a extração dos analitos em estudo nas diferentes variedades da casca da maçã e para a limpeza dos extratos obtidos. Esse método apresenta várias vantagens por ser rápido, de fácil execução, efetivo, emprega quantidades reduzidas de amostra e solvente, além disso, apresenta uma etapa de limpeza para purificar os extratos obtidos, reduzindo o efeito de interferentes presentes na amostra. As concentrações da catequina e epicatequina determinadas nas cascas de maçã, encontram-se descritas na **Tabela 1**. As concentrações de catequina e epicatequina variaram entre as diferentes variedades analisadas, na qual as variedades Fengapi/Tessa, Evelina e Red Delicious apresentaram as maiores concentrações para ambos os analitos em estudo.

**Tabela 1.** Concentrações da catequina e epicatequina analisadas nas cascas da maçã.

Variedades	Compostos fenólicos (mg/kg em amostra fresca)	
	Catequina	Epicatequina
Fuji	32,10 ± 2,18 <sup>d</sup>	38,50 ± 3,05 <sup>d</sup>
Gala	40,88 ± 2,36 <sup>cd</sup>	79,33 ± 5,10 <sup>bc</sup>

Fengapi/Tessa	54,56 ± 1,90 <sup>a</sup>	95,65 ± 5,02 <sup>abc</sup>
Dolce Vita	33,24 ± 3,97 <sup>cd</sup>	82,77 ± 9,55 <sup>bc</sup>
Evelina	51,38 ± 1,45 <sup>ab</sup>	105,92 ± 3,71 <sup>ab</sup>
Red Delicious	43,72 ± 4,08 <sup>abc</sup>	109,34 ± 6,82 <sup>a</sup>

Os valores são a médias ± desvio padrão para as triplicatas. Os resultados de concentrações seguida da mesma letra não diferiu estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

## CONCLUSÕES

Em conclusão, os resultados deste estudo reforçam a casca das maçãs como uma fonte promissora de catequina e epicatequina. Além disso, o método de extração QuEChERS demonstrou ser uma técnica de preparo de amostra altamente eficaz para a análise desses compostos fenólicos na casca da maçã.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

FENG, S.; YI, J.; LI, X.; WU, X.; ZHAO, Y.; MA, Y.; BI, J. Systematic review of phenolic compounds in apple fruits: compositions, distribution, absorption, metabolism, and processing stability. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, p. 7-27, 2021. DOI:10.1021/acs.jafc.0c05481. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05481>. Acesso em: 01 setembro 2024.

GADKARI, P. V.; BALARAMAN, M. Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review. **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 122–138, 2015. DOI: 10.1016/j.fbp.2013.12.004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.12.004>. Acesso em: 01 setembro 2024.