

## ISOLAMENTO RÁPIDO DE PADRÕES DE CAROTENÓIDES COM ALTA PUREZA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ALTA EFICIENCIA

Sidney Pacheco<sup>1</sup>, Ronoel L. O. Godoy<sup>1</sup>, João Oiano-Neto<sup>1</sup>, Manuela C. P. Araujo<sup>1</sup>, Jeane S. Rosa<sup>1</sup> e Sâmara C. M. Assumpção<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ. E-mail: sidney@ctaa.embrapa.br; <sup>2</sup>Instituto Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

A quantificação de carotenóides por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) demanda padrões analíticos de alta pureza e confiabilidade. Estes padrões, mesmo procedentes de empresas renomadas, podem ter sua pureza comprometida, pois em geral são adquiridos através de importação e o tempo decorrido até o recebimento e as condições de armazenamento são pontos críticos na sua preservação. Uma alternativa utilizada com sucesso, é o isolamento e purificação de padrões no próprio laboratório. Cromatografia Líquida em coluna aberta é utilizada com sucesso, no entanto requer prática e o consumo de reagentes é alto, especialmente solventes orgânicos. O trabalho objetivou o isolamento de padrões de carotenóides, incluindo seus isômeros *cis*, utilizando a CLAE em escala analítica. Os padrões de  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno foram isolados da cenoura, os isômeros 9-*cis*- $\beta$ -caroteno e 13-*cis*- $\beta$ -caroteno da alface, a  $\beta$ -criptoxantina e zeinoxantina do cajá (*Spondias mombin* L.). Utilizou-se um cromatógrafo analítico Waters<sup>®</sup> composto por bomba W600, injetor automático 717plus, detector de arranjo de fotodiodos 996 e coluna de fase reversa C<sub>30</sub> Waters<sup>®</sup> YMC<sup>™</sup> Carotenoid S-3. Os carotenóides de interesse foram recolhidos manualmente na saída do detector. Com cinco injeções de 15 $\mu$ L do extrato concentrado de cenoura foram obtidos 16,5 $\mu$ g de  $\alpha$ -caroteno e 19,6 $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno, com pureza de 99,2 e 99,1% respectivamente. Da alface foram obtidos os isômeros 9-*cis*- $\beta$ -caroteno (98,3%), 13-*cis*- $\beta$ -caroteno (93,0%) e *all-trans*- $\beta$ -caroteno (99,8%). Do cajá obteve-se  $\beta$ -criptoxantina com 99,8% de pureza e zeinoxantina com 99,0%. Utilizando-se CLAE analítica foi possível preparar os padrões analíticos dos carotenóides e seus isômeros no próprio laboratório de maneira rápida e simples utilizando-se as próprias matrizes nas quais se deseja determinar a concentração dos carotenóides.

**Palavras-chave:** Carotenóides, isolamento de padrões, cromatografia líquida.

**Apoio Financeiro:** HarvestPlus.

## FAST ISOLATION OF CAROTENOIDS STANDARDS WITH HIGH PURITY BY ANALYTICAL LIQUID CHROMATOGRAPHY

Carotenoids quantification by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) demands analytical standards with high purity and reliability. Those standards, even obtained from renowned companies, it can have its purity compromised, because generally are acquired through importation and time spent for reception and storage conditions are critical points for its preservation. The alternative used, successfully, is the isolation and purification into the proper laboratory. Open column chromatography has been used successfully, however it requires practice and the reagents consumption is high, mainly organic solvents. The goal of this study has been to isolate carotenoids standards, including its *cis* isomers using HPLC in analytical scale. The standards of  $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -carotene carrot has been isolated from carrot; the isomers 9-*cis*- $\beta$ -carotene and 13-*cis*- $\beta$ -carotene from lettuce, and  $\beta$ -cryptoxanthin and zeinoxanthin from cajá (*Spondias mombin* L.). It has been used a Waters™ analytical chromatographic system constituted by a W600 pump, a 717plus auto sampler, a photodiodes array detector 996 and a reverse-phase column C<sub>30</sub> Waters® YMC™ Carotenoid S-3 . The carotenoids were collected manually into detector exit. With five injections of 15 $\mu$ L of concentrated extract of carrot, 16.5 $\mu$ g of  $\alpha$ -carotene and 19.6 $\mu$ g of  $\beta$ -carotene have been obtained, purity of 99.2 and 99.1% respectively. From lettuce were obtained the isomers 9-*cis*- $\beta$ -carotene (98.3%), 13-*cis*- $\beta$ -carotene (93.0%) and *all-trans*- $\beta$ -carotene (99.8%). From cajá were obtained  $\beta$ -cryptoxanthin with purity of 99.8% and zeinoxanthin with 99.0%. Applying the analytical HPLC, it has been possible to prepare the analytical standards of carotenoids and its isomers into the laboratory by a fast and simple way, using the same matrices in which the carotenoids concentration will be determined.

**Keywords:** Carotenoids, standards isolation, liquid chromatography.

**Financial Support:** HarvestPlus.

31 de maio a 5 de junho de 2009  
Aracaju - Sergipe