

ANÁLISES QUÍMICAS

Fenólicos Totais em Frutas



Espectrofotometro + Cubeta de Acrílico
Vortex (Agitador de Tubos)



Etanol

Cada amostra requer 10 mL de solução

Solução de Folin-Ciocalteu

Cada amostra requer 0,2 mL de solução

Solução de Carbonato de Sódio (20% w/v)

Cada amostra requer 1 mL de solução

Para 100 mL de solução → 20 g de Na_2CO_3

Para 200 mL de solução → 40 g de Na_2CO_3

Aquecer a mistura a 80°C por 10 min

Deixar descansar por pelo menos 12 h

Completar com água destilada para o volume original caso parte da água tenha evaporado

Solução de Ácido Gálico

Utilizado para fazer a curva de calibração

Para 100 mL de solução → 0,050 g de Ácido Gálico



Preparação

Pesar 5 g de Fruta *in Natura*

ou o equivalente em fruta seca de 5 g da fruta *in natura*

Macerar ou cortar a fruta em pedaços bem pequenos

Colocar a amostra em becker pequeno

Adicionar 10 mL de Etanol 96%

Homogeneizar usando um Turrax até formar uma pasta ou suco



Filtrar a amostra usando um filtro Whatman

Obs: umidecer o papel de filtro com água destilada antes de usar

Transferir para tubo de ensaio



Leitura

Ler absorbância em espectrofotômetro usando cubeta de acrílico

Branco = Água

Amostra = Fase sobrenadante (filtrado)

Para cada leitura use um tubo de ensaio

Adicionar 0,100 mL de amostra (ou água para o branco)

Adicionar 0,200 mL de solução de Folin-Ciocateu

Adicionar 2,000 mL de água destilada

Esperar por 3 min para reação e desenvolvimento de cor azul (caso ocorra)

Adicionar 1,000 mL de solução de carbonato de sódio

Agitar rapidamente e transferir para cubeta.

Leitura a 765 nm



Cálculo

Utilizar a curva de calibração para calcular a quantidade de Fenólicos Totais expressa em equivalente em Ácido Gálico



Observações

Leituras entre 0,200 a 2,500 são desejáveis

Caso a leitura da absorbância der abaixo de 0,200 então:

Pode ser necessário aumentar a quantidade de amostra inicial – o ideal é fazer testes iniciais com 2 g, 5 g e 10 g de amostra e verificar a melhor opção para a quantidade de amostra a ser utilizada.

Pode ser que a fruta não tenha quantidade significativa de fenólicos - verificar dados de literatura





Curva de Calibração

Fazer curva com pelo menos 5 pontos.

Ler absorbância em espectrofotômetro usando cubeta de acrílico

Para cada leitura use um tubo de ensaio

Adicionar x mL de solução de ácido gálico

Adicionar y mL de água destilada

Adicionar 0,200 mL de solução de Folin-Ciocateu

Adicionar 2,000 mL de água destilada

Em que: $x = 0,100; 0,200; 0,300; 0,400$ e $0,500$ mL

$y = 0,400; 0,300; 0,200; 0,100$ e $0,000$ mL

Obs: estes valores proverão uma curva para fenólicos totais entre 100 a 500 mg/L equivalente em ácido gálico

Esperar por 3 min para reação e desenvolvimento de cor azul (caso ocorra)

Adicionar 1,000 mL de solução de carbonato de sódio

Agitar rapidamente e transferir para cubeta.

Leitura a 765 nm

Fazer gráfico Abs x Conc.Ácido Gálico

