PERFIL QUÍMICO POR HPLC-UV, COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FAVAS DE BAUNILHAS (*Vanilla* spp.) PRODUZIDAS NO ESPÍRITO SANTO

Leonardo Bindelli Verly, Amanda Almudin Garcia, Rodolfo Moreira Baptista, José Arcanjo Nunes, Juliana Aparecida Severi.

Universidade Federal do Espírito Santo/ Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Alto Universitário, S/N - Guararema, Alegre - 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, leobindelli@gmail.com, a.almudingarcia@gmail.com, rodolfombaptista@outlook.com, nunesarcanjo@terra.com.br, juseveri@yahoo.com.br.

Resumo

As favas de baunilha apresentam ampla aplicação industrial e elevado valor comercial, embora a produção nacional ainda enfrente desafios relacionados ao cultivo, beneficiamento e comercialização. Este estudo teve como objetivo caracterizar o perfil químico e avaliar a atividade antioxidante de favas de *Vanilla* spp. produzidas no Espírito Santo. Os extratos, obtidos por maceração em solução hidroetanólica 1:1 (v/v), foram avaliados quanto ao perfil cromatográfico e à presença de vanilina por HPLC-UV, ao teor de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu e à atividade antioxidante in vitro pelo método de DPPH. As amostras apresentaram distintos perfis cromatográficos e variabilidade entre os lotes. O teor de compostos fenólicos totais variou de 16,99 a 53,78 mg EAG/g e os valores de CE_{50}, de 367,89 a 892,10 µg/mL. Os resultados evidenciam variabilidade na composição química e na atividade antioxidante das amostras e demonstram o potencial das baunilhas produzidas no Espírito Santo como fonte de compostos bioativos, reforçando a importância da caracterização e padronização da produção regional.

Palavras-chave: Farmacognosia. Folin-Ciocalteu. DPPH. Antioxidantes naturais. Controle de qualidade.

Área do Conhecimento: CIÊNCIAS EXATAS DA SAÚDE – Farmácia.

Introdução

O gênero *Vanilla* Plumier ex Miller, pertencente à família Orchidaceae, compreende entre 110 e 140 espécies distribuídas principalmente em regiões tropicais. Embora diversas espécies produzam frutos aromáticos, *Vanilla planifolia, V. tahitensis* e *V. pompona* apresentam maior relevância comercial, com predominância de V. planifolia em razão de seu rendimento e de suas características aromáticas (ANURADHA; SHYAMALA; NAIDU, 2013). No Brasil, também ocorrem espécies nativas com potencial econômico, entre as quais V. chamissonis, V. bahiana e V. phaeantha, ampliando as possibilidades de exploração e valorização da diversidade do gênero no país (SILVA *et al*., 2024).

O elevado valor econômico da baunilha está associado principalmente às características sensoriais de suas favas após o processamento pós-colheita. Quando verdes, as favas são praticamente inodoras e apresentam precursores aromáticos glicosilados, entre os quais se destaca a glicovanilina. Durante a cura, tradicionalmente constituída pelas etapas de escaldamento, sudorese, secagem e maturação, transformações enzimáticas e químicas promovem a formação de vanilina livre e de numerosos outros compostos responsáveis pelo aroma característico da especiaria (ODOUX; ESCOUTE; VERDEIL, 2006). Dessa forma, as características químicas do produto final podem ser influenciadas tanto pela espécie quanto pelas condições de cultivo, maturação e processamento pós-colheita (PARDÍO *et al*., 2018).

Além dos constituintes relacionados ao aroma, as favas de Vanilla spp. constituem matrizes fitoquímicas complexas que apresentam compostos fenólicos, como vanilina, ácido vanílico, álcool vanílico, flavonoides e outros constituintes minoritários. Esses compostos estão relacionados não apenas às características sensoriais, mas também às propriedades funcionais atribuídas à baunilha (ODOUX; ESCOUTE; VERDEIL, 2006). Entre essas propriedades, destaca-se a atividade antioxidante, associada à capacidade de diferentes constituintes fenólicos de interagir com espécies reativas por

mecanismos que envolvem transferência de elétrons ou de hidrogênio (DAI; MUMPER, 2010). A determinação de compostos fenólicos totais e a avaliação da capacidade de sequestro de radicais livres constituem, portanto, abordagens complementares à caracterização cromatográfica dessas matrizes.

A baunilha apresenta ampla aplicação nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica e constitui matéria-prima de elevado valor comercial. No Brasil, apesar do potencial de espécies cultivadas e nativas, a consolidação da cadeia produtiva ainda enfrenta desafios relacionados ao cultivo, beneficiamento, tecnologia e comercialização (GARCIA; BRUNELE; SEVERI, 2024; BRITO; JUNQUEIRA, 2025). Nesse contexto, a caracterização de favas produzidas em diferentes regiões pode fornecer informações relevantes sobre sua composição e contribuir para o conhecimento e a valorização da produção nacional.

No Espírito Santo, o cultivo de baunilha vem sendo realizado por produtores locais, incluindo espécies cultivadas e nativas. Entretanto, a variabilidade química das favas obtidas nessa produção ainda necessita ser caracterizada, especialmente quanto à presença de marcadores químicos de interesse, como a vanilina, ao teor de compostos fenólicos e à atividade antioxidante. A comparação com amostras comerciais pode, ainda, fornecer uma referência para a interpretação das características observadas nas amostras produzidas no estado.

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil cromatográfico e a presença de vanilina por HPLC-UV, determinar o teor de compostos fenólicos totais e avaliar a atividade antioxidante in vitro de extratos de favas de Vanilla spp. produzidas no Espírito Santo, utilizando amostras comerciais como referência comparativa.

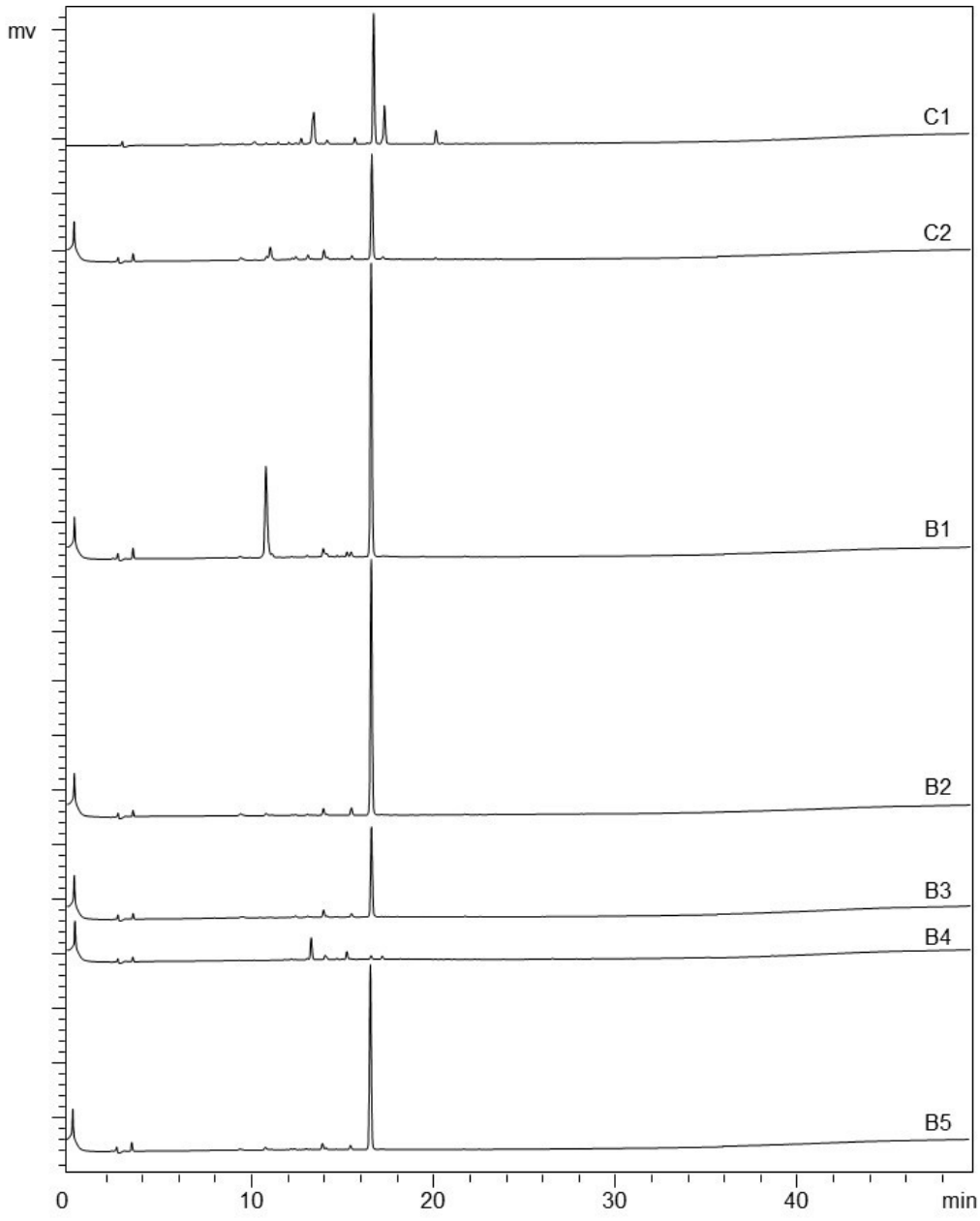
Metodologia

O estudo empregou duas amostras comerciais de *V. planifolia* (C1 e C2) e cinco amostras produzidas no Espírito Santo (B1–B5), pertencentes às espécies *V. planifolia* e *V. phaeantha*. Para obtenção dos extratos, as favas foram fragmentadas e submetidas à maceração por oito horas em solução hidroetanólica 1:1 (v/v). Os extratos foram filtrados, concentrados em rotaevaporador sob pressão reduzida e temperatura controlada, congelados a -80 °C, liofilizados e armazenados sob refrigeração. A caracterização química e a identificação da vanilina foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detector ultravioleta (HPLC-UV). Previamente à análise, os extratos solubilizados foram submetidos à purificação (*clean-up*) por Extração em Fase Sólida (SPE) em cartuchos C18. A separação foi realizada em coluna Phenomenex Synergi Hydro C18 (250 × 4,6 mm), utilizando como fase móvel água ultrapura (A) e acetonitrila (B), ambas acidificadas com 0,05% de ácido trifluoroacético (TFA), em gradiente linear de 5 a 95% de B em 55 min, vazão de 1 mL/min e volume de injeção de 10 µL. A vanilina foi identificada pela comparação do tempo de retenção das amostras com o padrão analítico, com detecção a 231 nm. Os dados foram adquiridos e tratados no software LCsolution (Shimadzu®). Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, adaptado para microplacas de 96 poços, com leitura a 725 nm e resultados expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG), conforme Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999). A atividade antioxidante *in vitro* foi avaliada pelo método de sequestro do radical DPPH, conforme Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com leitura a 517 nm após incubação ao abrigo da luz. A atividade foi expressa como Concentração Efetiva a 50% (CE_{50}), utilizando ácido gálico como controle positivo. Os dados experimentais e as curvas de calibração foram tratados no Microsoft Excel. A correlação de Pearson entre o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante e as curvas dose-resposta foram obtidas utilizando Python no ambiente Spyder.

Resultados

O perfil cromatográfico por HPLC-UV evidenciou diferenças entre as amostras comerciais e aquelas provenientes de produtores capixabas, tanto na intensidade dos sinais quanto no perfil dos picos detectados. O sinal atribuído à vanilina, identificado pela comparação do tempo de retenção com o padrão analítico, foi observado próximo a 17 minutos. As áreas dos sinais analíticos obtidos em 231 nm são variáveis: as amostras B2 e B1 apresentaram as maiores áreas do pico de vanilina, enquanto na amostra B4 o sinal é praticamente ausente. Os cromatogramas exibem ainda outros picos minoritários. O cromatograma pode ser observado na figura a seguir (Figura 1).

Figura 1 - Perfil cromatográfico das favas de baunilha por HPLC-UV (231 nm)

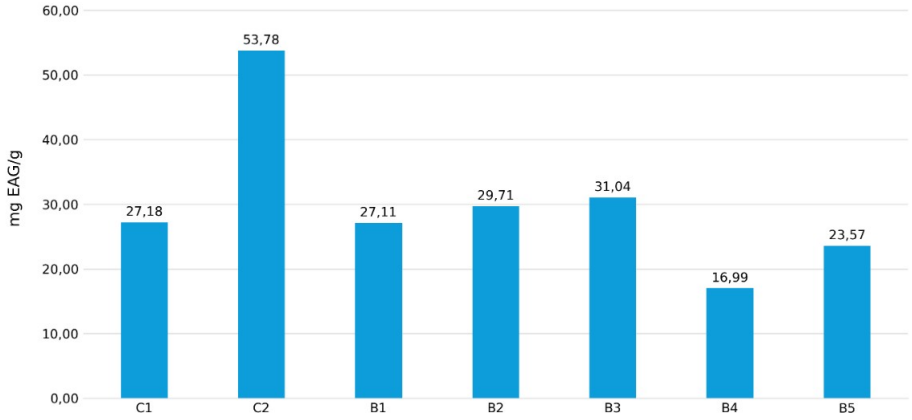


Fonte: Os autores (2026).

No ensaio de Folin-Ciocalteu, o teor de fenólicos totais abrangeu de 16,99 mg EAG/g (amostra B4) a 53,78 mg EAG/g (amostra C2). A amostra comercial C1 exibiu teor de 27,18 mg EAG/g, valor próximo ao das amostras capixabas B1 (27,11 mg EAG/g), B2 (29,71 mg EAG/g) e B3 (31,04 mg EAG/g). Os resultados globais e a capacidade redutora das matrizes frente ao complexo do reagente estão detalhados no gráfico da Figura 2.

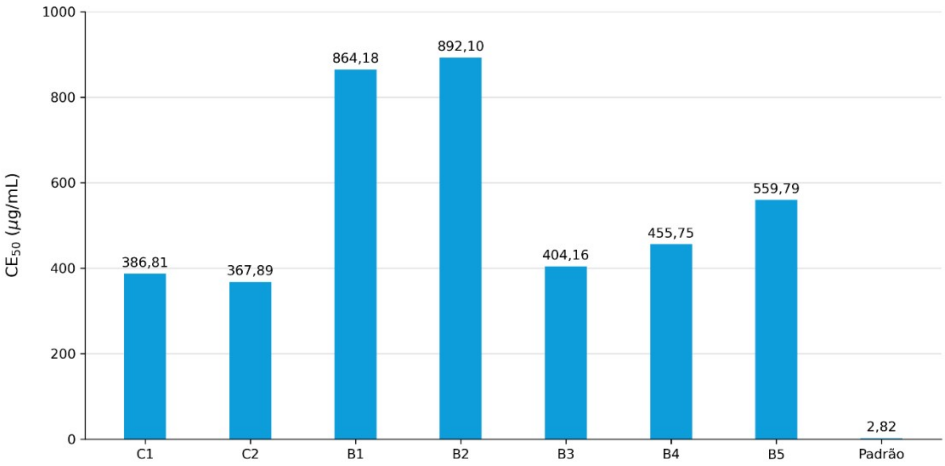
A atividade antioxidante, avaliada pelo ensaio de sequestro do radical DPPH, revelou valores da Concentração Efetiva a 50% (CE_{50}) entre 367,89 µg/mL (amostra C2) e 892,10 µg/mL (amostra B2), com valor médio de 561,52 µg/mL (Figura 3).

Figura 2 – Gráfico dos teores de compostos fenólicos das amostras de baunilha obtidos a partir do ensaio de Folin-Ciocalteu



Fonte: Os autores (2026).

Figura 3 – Gráfico dos valores de CE_{50} (µg/mL) das amostras de baunilha (C1, C2, B1–B5) obtidos no ensaio de sequestro do radical DPPH



Fonte: Os autores (2026).

Discussão

Os perfis cromatográficos obtidos por HPLC-UV evidenciaram diferenças entre as amostras analisadas, especialmente quanto à intensidade do sinal atribuído à vanilina. As amostras B1 e B2 apresentaram as maiores áreas relativas a esse pico, inclusive superiores às observadas nas amostras comerciais, enquanto em B4 o sinal foi pouco intenso. Considerando que as amostras foram analisadas nas mesmas condições experimentais, esses resultados evidenciam a variabilidade do perfil químico das favas avaliadas. Essa heterogeneidade pode estar relacionada a fatores como espécie, condições de cultivo, estádio de maturação e processamento pós-colheita, particularmente às etapas de cura, durante as quais ocorre a conversão de precursores glicosilados e a formação da vanilina livre (ODOUX; ESCOUTE; VERDEIL, 2006; PARDÍO *et al*., 2018). O perfil diferenciado da amostra B4 pode estar relacionado à sua identificação botânica como *V. phaeantha*. Estudos metabolômicos realizados com espécies brasileiras de *Vanilla* demonstraram diferenças interespecíficas em sua composição química, incluindo variações nos constituintes fenólicos, terpenoides e chalconas (LIMA *et al*., 2026). Dessa forma, a baixa intensidade do sinal atribuído à vanilina em B4, associada à presença de outros sinais cromatográficos, reforça a importância de considerar a espécie botânica na interpretação da composição química das favas. Entretanto, a identificação desses constituintes minoritários requer

análises complementares, uma vez que o perfil obtido por HPLC-UV, isoladamente, não permite estabelecer sua identidade.

Os resultados do ensaio de Folin-Ciocalteu também demonstraram variabilidade entre as amostras, com teores de compostos fenólicos totais entre 16,99 e 53,78 mg EAG/g e média de 29,91 mg EAG/g. Algumas amostras produzidas no Espírito Santo apresentaram valores próximos aos observados na amostra comercial C1, indicando, para esse parâmetro, características comparáveis às de um produto disponível comercialmente. A amplitude observada é compatível com a natureza complexa das favas de Vanilla e com resultados descritos na literatura (BUITIMEA-CANTUA *et al*., 2023; LÓPEZ; MACÍAS, 2013). Diferenças no teor de compostos fenólicos podem estar associadas a fatores intrínsecos, como espécie e composição química, e extrínsecos, incluindo condições de cultivo e processamento pós-colheita. Particularmente, as etapas de cura promovem transformações químicas e enzimáticas capazes de modificar a composição fenólica das favas (PARDÍO *et al*., 2018).

A atividade antioxidante avaliada pelo método de sequestro do radical DPPH apresentou ampla variação entre os extratos, com valores de CE_{50} entre 367,89 e 892,10 µg/mL. Como menores valores de CE_{50} correspondem a maior atividade antioxidante, as amostras comerciais C1 e C2 apresentaram os melhores resultados, ambas com CE_{50} inferior a 400 µg/mL. Entre as amostras capixabas, observou-se comportamento variável, indicando diferenças na capacidade de sequestro do radical DPPH. Essas diferenças podem estar relacionadas não apenas à quantidade total de compostos fenólicos, mas também à natureza e à proporção dos constituintes presentes nos extratos, uma vez que diferentes compostos fenólicos podem apresentar distintas capacidades de reação com o radical DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

Em conjunto, os resultados evidenciam expressiva variabilidade química e funcional entre as favas analisadas, tanto no perfil cromatográfico quanto no teor de compostos fenólicos e na atividade antioxidante. Essa heterogeneidade reforça a importância da caracterização das baunilhas produzidas no Espírito Santo e indica a necessidade de estudos adicionais que incluam a quantificação de marcadores químicos e a avaliação controlada de fatores como espécie, condições de cultivo e processamento pós-colheita, visando identificar sua contribuição para as diferenças observadas e subsidiar o estabelecimento de parâmetros de qualidade para a produção regional.

Conclusão

A caracterização química das favas de *Vanilla* spp. evidenciou expressiva variabilidade entre as amostras analisadas. Os perfis obtidos por HPLC-UV apresentaram diferenças na intensidade do sinal atribuído à vanilina e na ocorrência de outros sinais minoritários, demonstrando a heterogeneidade química das favas comerciais e produzidas no Espírito Santo. O teor de compostos fenólicos totais variou de 16,99 a 53,78 mg EAG/g, enquanto a atividade antioxidante apresentou valores de CE_{50} entre 367,89 e 892,10 µg/mL. As amostras comerciais apresentaram os menores valores de CE_{50}, indicando maior atividade antioxidante no ensaio de DPPH. Em conjunto, os resultados demonstram o potencial das favas produzidas no Espírito Santo como fonte de compostos fenólicos e evidenciam a importância da caracterização química da produção regional. Estudos adicionais, envolvendo a quantificação de marcadores químicos e a avaliação das condições de cultivo e processamento pós-colheita, poderão contribuir para a identificação dos fatores responsáveis pela variabilidade observada e para o estabelecimento de parâmetros de qualidade da baunilha capixaba.

Referências

ANURADHA, K.; SHYAMALA, B. N.; NAIDU, M. M. Vanilla: Its Science of Cultivation, Curing, Chemistry, and Nutraceutical Properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 12, p. 1250-1276, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1080/10408398.2011.563879. Acesso em: 30 ago. 2026.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25-30, jan. 1995. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5. Acesso em: 30 ago. 2026.

BRITO, C. C. B.; JUNQUEIRA, A. H. Cadeia Produtiva Da Baunilha E Desenvolvimento Regional: Gargalos Estruturais E Oportunidades Territoriais. **Revista de Geopolítica**, v. 16, n. 5, p. e1137-e1137,

2025. Disponível em: https://doi.org/10.56238/revgeov16n5-274. Acesso em: 30 ago. 2026.

BUITIMEA-CANTÚA, G. V. *et al*. Enzymatic Activity and Its Relationships with the Total Phenolic Content and Color Change in the High Hydrostatic Pressure-Assisted Curing of Vanilla Bean (*Vanilla planifolia*). **Molecules**, v. 28, n. 22, p. 7606, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/molecules28227606. Acesso em: 30 ago. 2026.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.3390/molecules15107313. Acesso em: 30 ago. 2026.

GARCIA, A. A.; BRUNELE, A. C. C.; SEVERI, J. A. Panorama da produção de baunilhas no Brasil. *In*: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, ed. 28, 2024, São José dos Campos. **Anais do XXVIII INIC.** São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2024. p. 1-6. Disponível em: https://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2024/anais/arquivos/RE_0217_0660_01.pdf. Acesso em: 30 ago. 2026.

LIMA, G. S. *et al*. Chemical diversity and species differentiation in Brazilian Vanilla: insights from LC-HRMS/MS metabolomics. **Metabolomics**, v. 22, n. 2, p. 48, 2026. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11306-026-02422-8. Acesso em: 30 ago. 2026.

LÓPEZ, A. R.; MACÍAS, M. P. C. Antioxidant capacity in vanilla extracts obtained by applying focused microwaves. In: **Food Nutr. Sci**. 2013. p. 244-253. Disponível em: http://dx.doi.org/10.4236/fns.2013.48A030. Acesso em: 30 ago. 2026.

ODOUX, É. Glucosylated aroma precursors and glucosidase(s) in vanilla bean (*Vanilla planifolia* G. Jackson). **Fruits**, v. 61, n. 3, p. 171-184, 2006. Disponível em: https://doi.org/10.1051/fruits:2006015. Acesso em: 30 ago. 2026.

ODOUX, E.; ESCOUTE, J.; VERDEIL, J.-L. The relation between glucovanillin, β-D-glucosidase activity and cellular compartmentation during the senescence, freezing and traditional curing of vanilla beans. **Annals of applied biology**, v. 149, n. 1, p. 43-52, 2006. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2006.00071.x. Acesso em: 30 ago. 2026.

PARDÍO, V. T. *et al*. Effect of endogenous and exogenous enzymatic treatment of green vanilla beans on extraction of vanillin and main aromatic compounds. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 6, p. 2059-2067, jun. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13197-018-3120-3. Acesso em: 30 ago. 2026.

SILVA, T. R. da *et al*. Espécies de Baunilha (Vanilla) do Brasil com Potencial Valor Econômico. **Revista Virtual de Química**, v. 16, n. 3, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.21577/1984-6835.20240001. Acesso em: 30 ago. 2026.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, San Diego, v. 299, p. 152-178, jan. 1999. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1. Acesso em: 30 ago. 2026.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), à Universidade Federal do Espírito Santo e à Cáritas Diocesana de Cachoeiro de Itapemirim pelo apoio recebido.