

Estabilidade de Carotenoides em Derivados de Milho Biofortificado com Precusores de Vitamina A Durante o Armazenamento

Betânia Diniz Volpi¹, Maria Cristina Dias Paes²; Joelma Pereira¹, Paulo Evaristo Oliveira Guimarães² e Natália Alves Barbosa³

¹Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 3037, Lavras, MG, CEP 37200-000, ²Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, Sete Lagoas, MG, CEP 35701-970, ³Centro Universitário de Sete Lagoas, Av. Marechal Castelo Branco, nº2765, Sete Lagoas CEP 35701-242
betaniavolpi@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Em anos recentes, a população mundial adquiriu a visão de que alimentos não são apenas para nutrir, mas oferecem também compostos ou elementos biologicamente ativos, que proporcionam benefícios adicionais à saúde (ASSUNÇÃO, 2003). Dentre os compostos bioativos estão os carotenoides, que além de serem corantes naturais dos alimentos, possuem também atividades biológicas importantes (SENTANIN, 2007). Há evidências de que estes compostos possam contribuir na prevenção da hipovitaminose A, degeneração macular relacionada à idade, enfermidades cardiovasculares, aumento da imunidade, inibição do câncer e diminuição do risco de formação de cataratas (NIIZU, 2005; UENOJO, 2007).

Os carotenoides compõem uma família de mais de 600 compostos lipossolúveis encontrados nas plantas (BRITTON, 2004; AMBRÓSIO, 2006), sendo que cerca de 50 possuem atividade pró-vitamina A. O β -caroteno é o que apresenta maior atividade pró-vitamínica. α -caroteno, β -criptoxantina e zeinoxantina também apresentam atividade pró-vitamínica (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Milhos biofortificados com carotenoides com atividade pró-vitamínica A, além de ferro e zinco estão sendo desenvolvidos no Brasil através do melhoramento genético de plantas, sendo essas cultivares a serem utilizadas em comunidades onde há elevada prevalência de carências nutricionais, especialmente hipovitaminose A e anemia ferropriva, ainda consideradas problemas de saúde no país (CARDOSO, 2007). Porém, somente foram analisados para carotenoides até o momento, grãos de cultivares e/ou linhagens biofortificadas não refletindo nas formas usualmente consumidas pela população.

Atualmente, sabe-se que produtos alimentícios processados podem sofrer alterações na sua composição química durante o processamento e/ou armazenamento. Essas alterações podem acarretar prejuízos do ponto de vista nutricional, visto que algumas estruturas químicas como as dos carotenoides são instáveis e, portanto, susceptíveis a oxidação e isomerização geométrica, principalmente, quando há presença e/ou disponibilidade de oxigênio, luz, calor, metais, enzimas e peróxidos (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997). Sendo assim, é crescente a demanda por conhecimento tanto da composição desses compostos quando da estabilidade deles nos alimentos após o processamento e/ou durante o armazenamento.

A retenção de carotenoides é sempre uma preocupação constante, e as atenções estão frequentemente focadas não somente no processo industrial, mas também nas condições de armazenamento que podem causar perdas em grande extensão (RODRIGUEZ-AMAYA, 2006; GAMA, 2007). Sabe-se que a facilidade de estocagem de um alimento relaciona-se com conveniência e com a preservação do fator nutricional que são desejáveis pelos



consumidores (SGARBIERI, 1986). Porém o armazenamento de um produto torna-se mais interessante quando é possível conciliar esses fatores. Portanto investigar a viabilidade desse processo é essencial uma vez que esses derivados resultam do processamento de grãos de milho de uma variedade sintética biofortificada e seus derivados representam a forma usual de consumo desse cereal. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a estabilidade de carotenoides em derivados de milho biofortificado estimando suas perdas durante o armazenamento através do estudo de retenção desses compostos.

MATERIAL E MÉTODOS

Três derivados, canjica, fubá e creme de milho, de uma variedade sintética de milho biofortificado com carotenoides precursores da vitamina A, em desenvolvimento na Embrapa Milho e Sorgo, foram avaliados neste estudo, após processamento dos grãos em moagem a seco, realizada em moinho local. Amostras de tamanho semelhante (500g), embaladas em polietileno de baixa densidade, foram identificadas conforme o produto e tempo de armazenamento e posteriormente distribuídas de forma aleatória em prateleiras no interior de uma câmara localizada na Embrapa Milho e Sorgo. Durante 24 dias as amostras foram mantidas em condições de temperatura e luz controladas em prateleiras, dentro de uma câmara, simulando condições usuais de armazenamento para comercialização em varejo. Quatro repetições de cada produto foram utilizadas para a avaliação a cada tempo de armazenamento, sendo as mesmas ocorridas aos dias 0, 3, 7, 10, 14, 17, 21 e 24 após o processamento. As condições de temperatura e luz foram monitoradas com uso de termômetro e termo-higrômetro, permanecendo a temperatura a $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e exposição do produto à luz por 14 horas/dia. Essas condições foram definidas após o monitoramento da área destinada ao armazenamento desses produtos em supermercado local. Amostras foram retiradas para análises químicas de acordo com a identificação de cada tempo e conduzidas ao laboratório em caixas térmicas de isopor com o objetivo de evitar transmissibilidade à luz, bem como variações de temperatura.

As amostras de canjica foram moídas em moinho do tipo ciclone com objetivo de obtenção de um produto com granulometria adequada (0,5mm) ao processo de extração. Para o fubá e creme de milho não foram necessários esse procedimento uma vez que esses produtos já possuem granulometria adequada ao processo.

Os carotenoides foram extraídos das amostras em esquema sequencial de solventes orgânicos conforme protocolo descrito por Kurilich e Juvik (1999) modificado, e quantificados em técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em cromatógrafo líquido Shimadzu, modelo LC-10 equipado com coluna polimérica YMC C 30 ($5\mu\text{m}$, $4,6 \times 250\text{mm}$, Waters, Milford, MA, USA), acoplado a detector de arranjo de diodo. O gradiente de eluição foi conduzido a $0,8\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ em condições de gradiente linear 80:20 a 20:80 de metanol:éter metil *tert*-butil em 25 minutos, seguido por constante de 80:20 em 5 minutos, finalizando com 9 minutos de equilíbrio. A temperatura de forno utilizada foi de 30°C , comprimento de onda 450nm e volume de injeção de $40\mu\text{L}$. A temperatura do laboratório foi mantida a 22°C durante todo o processo. Para identificação dos compostos foram utilizados padrões purificados a partir de cenoura, pimenta amarela e milho verde, seguindo protocolo descrito por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004).

Os resultados foram expressos em base seca, por meio da análise de umidade, seguindo o método 44-15 da AACC (2000). O teor de carotenoides totais (CT) foi obtido pela soma dos valores de todas as frações quantificadas sendo: luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, α -caroteno, β -caroteno, 9-*cis*- β -caroteno e 13-*cis*- β -caroteno. O percentual de retenção real foi



calculado de acordo com a fórmula proposta por Murphy, (1975). Os teores de carotenoides com atividade pró-vitamina A (proVA) foram obtidos por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Teor de carotenoide} = \text{total } \beta\text{-caroteno} + \frac{\text{total de } \alpha\text{-caroteno}}{2} + \frac{\text{total de } \beta\text{-criptoxantina}}{2} (\mu\text{g.g}^{-1})$$

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado (DIC), compondo um esquema fatorial 3 x 8, em que se estudou três derivados do milho (canjica, fubá e creme) durante oito períodos de armazenamento (0, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24 dias). Para a descrição das variáveis, em função dos períodos de armazenamento, foram feitas análises de regressão e os modelos de regressão linear foram selecionados, observando a significância do teste F, para cada modelo e seus respectivos coeficientes de determinação. Foi utilizado o Programa Sisvar (FERREIRA, 2000) para tais análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as variáveis analisadas foram detectados efeitos significativos ($p < 0,05$) da interação entre os tratamentos e tempo de armazenamento. Após o desdobramento foi aplicado a análise de regressão para o fator tempo dentro dos produtos. Na figura 1 está apresentada a variação de retenção real de carotenoides totais durante o armazenamento de derivados de milho biofortificado.

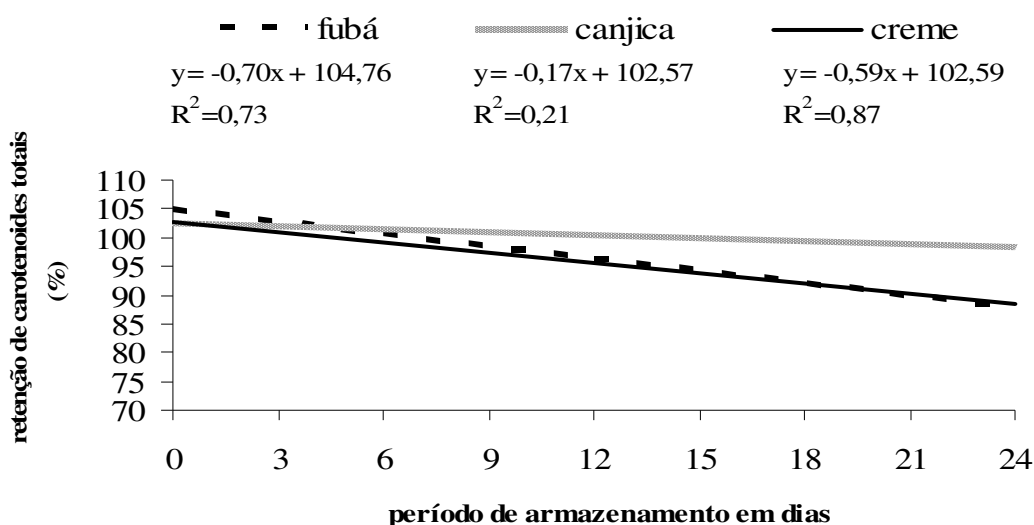


Figura 1. Variação da retenção real de carotenoides totais durante o armazenamento de derivados de milho a 27°C com luz por 14h/dia.

Os índices de retenção de carotenoides totais obtidos em função do tempo de armazenamento foram significativamente diferentes para os três produtos ($p \leq 0,05$), em regressão do tipo linear. Em relação à canjica os dados não se ajustaram ao modelo de regressão definido para esse produto. O índice de retenção de carotenoides totais verificado ao 24º dia para esse produto foi de 98,56%, evidenciando, que a retenção estimada ao final do período avaliado está próxima a 100% e que as perdas são portanto inexpressivas.



O efeito mais expressivo do armazenamento sobre a retenção de carotenoides totais nos derivados fubá e creme quando comparados à canjica pode ser justificado pelo fato desses pigmentos, após a desintegração do alimento e o rompimento de sua estrutura celular, permanecerem mais expostos a fatores adversos do meio, como presença de oxigênio e luminosidade durante a estocagem. Conforme informações da indústria onde foi realizado o processamento das amostras, a embalagem utilizada foi o polietileno de baixa densidade, sem barreira a luz, e com permeabilidade ao oxigênio em torno de 20%, o que contribuiria para a exposição dos carotenoides a fatores adversos nesses alimentos.

As médias de retenção de carotenoides totais verificados para fubá e creme de milho ao final do período de armazenamento foram 87,86% e 88,44% respectivamente. Índice de retenção semelhante (86,24%) foi reportado em um estudo onde se avaliou a polpa de pitanga sob congelamento após 30 dias de estocagem (LOPES et al, 2005), embora sejam distintas, as matrizes alimentícias e o processo utilizado em cada estudo.

Na figura 2 está apresentada a variação de retenção real de carotenoides proVA durante o armazenamento de derivados de milho biofortificado.

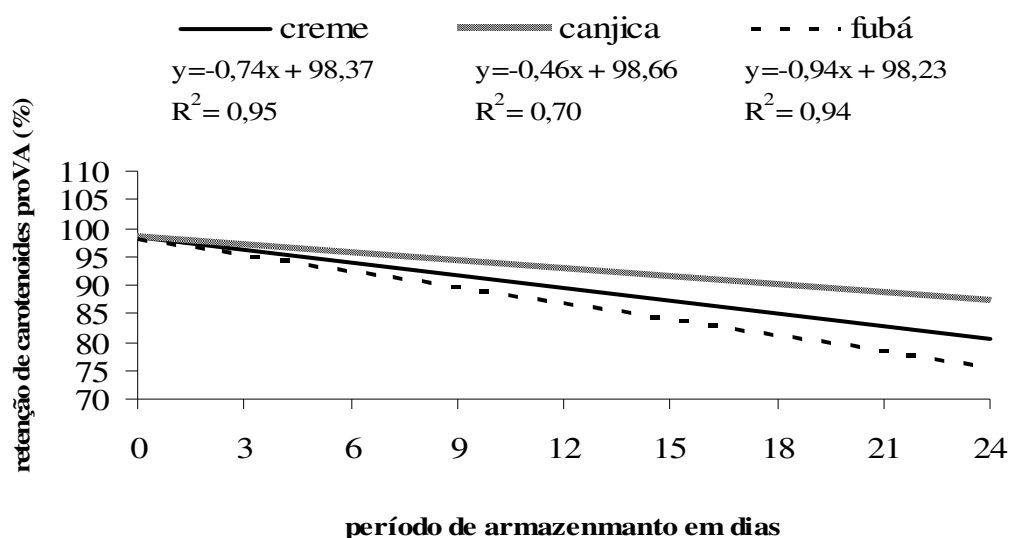


Figura 2. Variação da retenção real de carotenoides proVA durante o armazenamento de derivados de milho a 27°C com luz por 14h/dia.

A análise de regressão, com ajuste significativo, indicou tendência linear negativa para a retenção de carotenoides proVA nos três derivados (canjica, fubá e creme de milho). Observa-se ao final do período de armazenamento a canjica foi o derivado que apresentou essa evolução menos acentuada e conseqüentemente maior retenção.

Entretanto, ocorreram reduções significativas na retenção de carotenoides proVA ocorreram a partir do 17º, 7º e 10º dia de armazenamento, respectivamente, para canjica, fubá e creme de milho, indicando que a vida de prateleira desses produtos é pequena, conseqüência nesse caso específico da redução de seu valor nutricional. Essa informação é importante uma vez que a vida de prateleira de um produto está diretamente ligada ao planejamento de produção, armazenamento e manipulação do mesmo.



CONCLUSÃO

O armazenamento afeta de forma distinta a retenção de carotenoides em derivados de milho biofortificado. Há estimativa de diminuição linear dos índices de retenção de carotenoides totais e de carotenoides proVA durante o período avaliado. Entretanto, perdas importantes de carotenoides proVA são verificadas a partir do 14º, 7º e 10º dia para canjica, fubá e creme de milho respectivamente, limitando assim o período de estocagem desses produtos.



REFERÊNCIAS

AACC.AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Approved methods.10ed
Saint Paul:AACC International, Inc 2000.

AMBRÓSIO, C.L.B.; CAMPOS, F. de A.C. e S.; FARO, Z.P. de. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista Nutrição**, v.19, p.233-243, 2006.

ASSUNÇÃO, R. B., MERCADANTE, A.Z. Carotenoids and ascorbic acid composition from commercial products of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**. v.16, n.6, p647-657. 2003.

BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. **Carotenoids handbook**. Basel: Birkhauser Verlag. 2004. 562p.

CARDOSO, W. S. **Variabilidade de genótipos quanto à composição de carotenóides nos grãos visando a biofortificação**. 2007. (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

FERREIRA DF. **Sistema Sisvar para análises estatísticas**. Lavras: UFLA. 2000. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielff/dff02.htm>>. Acesso em 20/02/2010

GAMA, J. J. T., SILOS, C.M. . Effect of thermal pasteurization and concentration on carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice. **Food Chemistry**. v.100, n.4, p1686-1690. 2007.

KURILICH, A. C.; JUVIK, J. A. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.47, n.5, p.1948-1995. 1999.

LOPES, A. S., MATTIETTO, R.A., MENEZES, H.C. Estabilidade da polpa de pitanga sob refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.25, n.3, p553-559. 2005.

MURPHY, E. W.; CRINER, P. E.; GRAY, B. C. Comparisons of methods for calculating retentions of nutrients in cooked foods. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 23, n.6, 1975.

NIIZU, P. Y., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.18, n.8, p739-749. 2005.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M. HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis. Washington, DC and Cali: IFPRI and CIAT, 2004. 58p. (HarvestPlus Technical Monograph, 2). Disponível em: <<http://www.harvestplus.org/sites/default/files/tech02.pdf>>. Acesso em 23/12/08

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B., RODRIGUEZ, E.B., AMAYA-FARFAN, J. Advances in food carotenoid research: chemical and technological aspects, implications in human health. **Malaysian Journal of Nutrition**. v.12, n.1, p101-121. 2006.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington, DC: International Life Sciences Institute, 2001. 64p.



RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored foods. **USAID-OMNI**, Washington DC, 1997 . Disponível em: < <http://www.mostproject.org/PDF/carrots2.pdf> > Acesso em 25/09/08.

SENTANIN, M. A., RODRIGUEZ-AMAYA, D.,B. Teores de carotenóides de mamão e pêssego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27, n.1, p13-19. 2007.

SGARBIERI, V. C. Nutrição e tecnologia de alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 20, p.115-139. 1986.

UENOJO, M., MARÓSTICA JUNIOR, PASTORE, G.M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**. v.30, n.3, p616-622. 2007.

