

Ensaio comparativo para extração de carotenóides

Carolina Passos da Cunha¹; Sidney Pacheco² & Ronoel Luiz de Oliveira Godoy²

1. Discente do curso de Química Industrial da UFRRJ; 2. EMBRAPA Agroindústria de Alimentos.

Palavras-chave: CLAE, espectrofotometria, pigmentos.

Introdução

Os carotenóides pertencem a uma família de mais de 600 pigmentos lipossolúveis abundantes na natureza (KRINSKY & JOHNSON, 2005). São de grande importância nutricional por serem precursores da vitamina A, cuja carência está associada à cegueira noturna, morte prematura de crianças e xerofthalmia. O interesse por estes pigmentos tem aumentado muito nos últimos anos devido à de sua atividade antioxidante, reduzindo o risco do desenvolvimento de doenças degenerativas como o câncer, doenças cardiovasculares e formação de cataratas (KRINSKY, 1994; RIBEIRO & SERAVALLI, 2004). A exigência por métodos de extração e quantificação destes compostos mais rápidos, econômicos e eficientes é crescente, portanto o objetivo deste trabalho é a comparação do método de extração convencional de carotenóides (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001) que demanda grande consumo de solventes e tempo de extração, com a microextração, onde estes fatores são reduzidos, utilizando duas matrizes diferentes, cenoura e farinha de batata doce de polpa alaranjada e posterior análise por espectrofotometria e pelo método de cromatografia líquida otimizado e validado com redução no tempo de corrida por PACHECO (2009).

Material e métodos

Extração convencional: Foram pesados 0,5g de amostra para extração da farinha de batata doce de polpa alaranjada e 2g para extração da cenoura, macerados em graal de porcelana com 3g de celite e 50mL de acetona utilizando pistilo, a mistura foi filtrada a vácuo em funil de vidro com placa sinterizada, até que a matriz não apresentasse coloração característica de carotenóides. O extrato líquido foi transferido para funil de separação contendo 50mL de éter de petróleo. A mistura foi então lentamente lavada com 1500mL de água ultrapura. O extrato etéreo foi filtrado em sulfato de sódio anidro, e recolhido em balão volumétrico de 100mL e avolumado com éter de petróleo. A absorvância da solução foi lida em Espectrofotômetro Modelo UV-1800 – Shimadzu[®], para o cálculo de carotenóides totais. Foi evaporado 1mL da solução e ressuspendido com 100 μ L de acetona para obtenção do perfil cromatográfico e a quantificação de β -caroteno, α -caroteno e luteína.

Microextração: Foram pesados 10mg de amostra para extração da farinha de batata doce de polpa alaranjada e 100mg para extração da cenoura, macerados em tubo para microcentrifuga (eppendorf) de 2mL com 100mg de celite e 500 μ L de acetona utilizando bastão de vidro, a mistura foi centrifugada a 8000 rpm por 1 minuto e o sobrenadante transferido para bureta de 25mL contendo de 5 a 10mL de solução 5% de éter etílico em éter de petróleo até que a matriz não apresentasse coloração característica de carotenóides. O extrato foi então lentamente lavado com 60mL de solução aquosa 5% de NaCl e o volume final do extrato etéreo lido na bureta. Foram adicionados 10mg de sulfato de sódio anidro ao extrato. A absorvância da solução foi lida em Espectrofotômetro Modelo UV-1800 – Shimadzu[®], para o cálculo de carotenóides totais. Foi evaporado 1mL da solução e ressuspendido com 100 μ L de acetona para obtenção do perfil cromatográfico e a quantificação de β -caroteno, α -caroteno e luteína.

Condições cromatográficas: A análise cromatográfica baseia-se na metodologia validada por PACHECO (2009). Foi utilizado cromatógrafo líquido modular Waters composto por bomba 600, com degaseificador, injetor automático 717 plus e detector de arranjo de fotodiodos 996. Coluna YMC C₃₀ Carotenoid (250 x 4,6mm x 3 μ m), a 33°C, com eluição em gradiente de éter metil terc-butílico:metanol, fluxo 0,8mL/min, volume de injeção de 15 μ L e o tempo total de análise de 28 minutos.

Resultados e Discussão

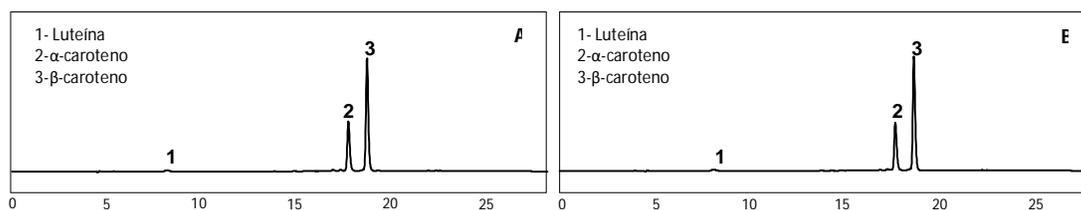
As análises foram realizadas em triplicata utilizando o método convencional e o método da microextração. Os resultados foram submetidos ao Teste Grubbs para exclusão de valores aberrantes. Os resultados dos ensaios estão listados na Tabela 1.

Tabela 1. Teor de carotenóides ($\mu\text{g}/100\text{g}$) em cenoura e farinha de batata doce de polpa alaranjada.

Matriz	Extração	β -caroteno	α -caroteno	Luteína	Totais	CV (%)
Cenoura	Microextração	11620	5162	246	17097	1,37
	Convencional	9764	4343	200	14395	0,98
Farinha de Batata Doce	Microextração	102739	8582	-	125090	3,48
	Convencional	91040	7227	-	108871	2,81

Verificou-se que os teores de carotenóides totais foram de 15 a 16% maiores nos resultados obtidos utilizando a microextração nas duas matrizes, portanto esta apresentou-se mais eficiente que a convencional. O coeficiente de variação apresentado pelo método da microextração foi maior que o da convencional, porém esta diferença não é significativa e é consequência da alíquota de amostra pesada ser menor para a microextração. O tempo requerido para a microextração foi de 30 minutos por extração e para a extração convencional foi de 50 minutos por extração, portanto houve uma redução 40 % do tempo de análise e 92 % em volume de solvente. O perfil cromatográfico manteve-se semelhante utilizando ambas extrações (Figura 1).

Figura 1. Cromatograma de extrato de cenoura da extração convencional (A) e microextração (B).



Conclusão

A microextração de carotenóides mostrou-se mais eficiente que a convencional e economicamente mais viável, devido a redução de gastos com solventes e tempo de extração, ideal para laboratórios analíticos que utilizem a análise rotineiramente. No entanto são necessários estudos mais profundos e validação da metodologia.

Referências Bibliográficas

KRINSKY, N.I. The biological properties of carotenoids. *Pure & Appl. Chem.* v. 66, p. 1003-1010, 1994.

KRINSKY, N. I. & JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 26, p. 459-516, 2005.

PACHECO, S. *Preparo de padrões analíticos, estudo de estabilidade e parâmetros de validação para ensaio de carotenóides por cromatografia líquida*. Seropédica, RJ, 2009. 117 p. Dissertação (Mestrado em Ciências-Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

RIBEIRO, E.P. & SERAVALLI, E. A. G.. *Química de Alimentos*. 1. ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 2004, p 155-157.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*, 2001. 64 p.