

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES EM SUCO PROCESSADO DE TANGERINA MURCOTE (*Citrus reticulata* Blanco L.).

Jeane Santos da Rosa¹; João Oiano-Neto²; Angela Aparecida Lemos Furtado³; Ronoel Luiz de Oliveira Godoy⁴; Renata Galhardo Borguni⁵; Sidney Pacheco⁶; Manuela Cristina Pessanha de Araujo Santiago⁷; Sérgio Macedo Pontes⁸; Danielle Gonçalves Franco⁹; Claudia Moraes de Rezende¹⁰

1 Mestre, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Rio de Janeiro, jeane@ctaa.embrapa.br; 2 Doutor, Embrapa Pecuária Sudeste, Rodovia Washington Luiz, km234, São Carlos, oiano@cppse.embrapa.br; 3 Doutora, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Rio de Janeiro, afurtado@ctaa.embrapa.br; 4 Doutor, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Rio de Janeiro, ronoel@ctaa.embrapa.br; 5 Doutora, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Rio de Janeiro, renata@ctaa.embrapa.br; 6 MSC, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Rio de Janeiro, sidney@ctaa.embrapa.br; 7 MSC, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Rio de Janeiro, manuela@ctaa.embrapa.br; 8 BSC, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Rio de Janeiro, macedo@ctaa.embrapa.br; 9 Técnica, Colégio de Aplicação Emmanuel Leontsinis (CAEL), Estrada da Caroba, 685, Rio de Janeiro, dane_cael@hotmail.com; 10 Doutora, Claudia Moraes de Rezende, UFRJ-PPGCAL, Avenida Athos da Silveira Ramos, 149 Bloco A, Rio de Janeiro, crezende@iq.ufrj.br.

Introdução

O Brasil continua sendo o maior produtor mundial de citros, com aproximadamente 20 milhões de toneladas, tendo como principal pólo produtor o Estado de São Paulo, com quase 80% da produção brasileira (IBGE, 2007). A produção brasileira é basicamente de laranjas destinadas principalmente ao processamento.

O *tangor Murcott* é o principal híbrido da tangerina plantado no Brasil, sendo conhecido nacionalmente como tangerina “Murcote”.

O sabor amargo dos sucos de frutas é uma característica indesejável para a produção e comercialização de sucos cítricos. De um modo geral, duas classes de compostos denominados limonóides e flavonóides são os principais fatores que causam o sabor amargo em sucos cítricos (BREKSA III *et. al.*, 2005).

Nas sementes, os limonóides majoritários (agliconas) são a limonina, nomilina, ácido obacunoico, ichangina, ácido desoxilimonoico e ácido nomilínico. Entretanto, a limonina é notadamente o principal agente causador do sabor amargo (MANNERS, 2007).

No caso dos flavonóides, os principais agentes causadores do sabor amargo são as flavanonas glicosiladas naringina e neohesperidina. Além disso, os flavonóides descritos para o gênero *Citrus* (Figura 1), assim como outros flavonóides encontrados na natureza, podem exercer importante papel no organismo humano como agentes antioxidantes (Ribeiro&Ribeiro, 2008).

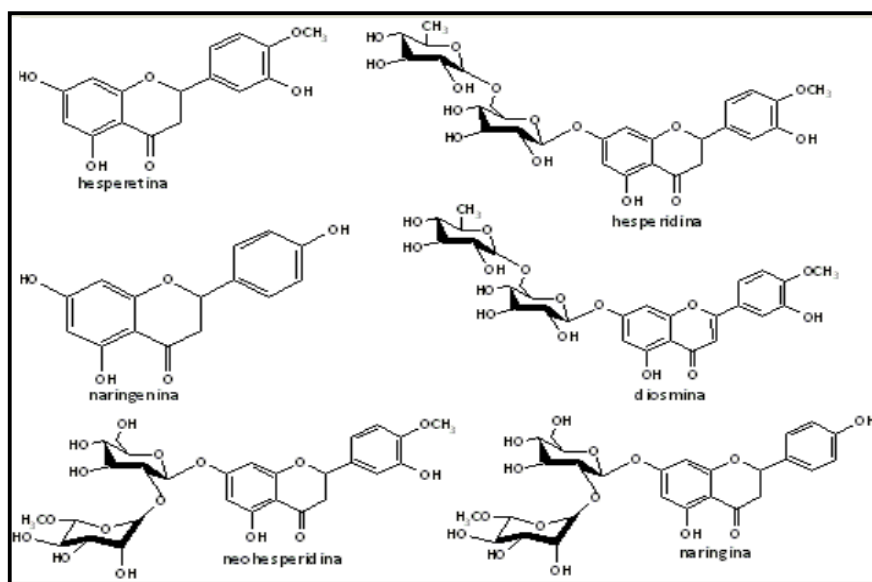


Figura 1: Alguns flavonóides do gênero citrus.

O presente estudo tem como objetivo quantificar, simultaneamente, as flavanonas glicosiladas hesperidina, naringina e neohesperidina, juntamente com a flavona diosmina e, as flavanonas não glicosiladas hesperetina e naringenina, em suco de tangerina processado.

Material e Métodos

As amostras de tangerina foram compradas no Ceasa do Rio de Janeiro, descascadas manualmente, colocadas em despoldadeira para produção do suco e peneirada por 0,6 mesh sendo em seguida pasteurizadas a 98°C por 4 minutos.

Todos os padrões de flavonóides foram Sigma-Aldrich. Acetonitrila (ACN), dimetilsulfóxido (DMSO), metanol (MeOH) e ácido acético (HAC) foram Tédia grau HPLC.

O suco de tangerina foi homogenizado em banho ultrassônico por 10 minutos e em seguida centrifugado por 30 minutos a 5000rpm. Aproximadamente 5g do sobrenadante foram pesados, em duplicata, para balão volumétrico de 25mL contendo, aproximadamente, 15 mL de solução de MeOH:H₂O 80:20 sendo deixados em banho ultrassônico por 30 minutos. Após, foram avolumadas, filtradas e microfiltradas em membrana teflon hidrofílico 0,22µm.

O cromatógrafo líquido usado foi um Waters Alliance[®] 2695 com detetor de arranjo de fotodiodos (PDA) Waters 2996[®].

Os padrões de flavonóides foram solubilizados em DMSO:ACN 80:20 (v/v). A fase móvel foi constituída de MeOH: HAC 4% 96:4 (solvente A) e MeOH: HAC 4% 9:91 (solvente B). A programação de gradiente variou a composição do solvente A de 20% a 60% em 13

minutos e logo depois à 95% até 19 minutos de corrida, voltando às condições iniciais em 22 minutos. A coluna utilizada a C₁₈ YMC-Pack[®] ODS-AM, (250x4,6 mm; 5µm), temperatura da coluna de 45°C, fluxo de 1,1mL/min., varredura no detetor PDA foi de 210-400nm com extração do cromatograma a 280nm, volume de injeção de 20µL e temperatura do injetor foi mantida a 10°C.

Resultados e Discussão

A Figura 1 representa os cromatogramas obtidos para o padrão com seis flavonóides de interesse (A), para uma amostra de suco de tangerina (B) e para uma amostra que sofreu adição padrão de naringina (C). Os espectros de absorção UV-VIS estão em ordem crescente de tempo de retenção.

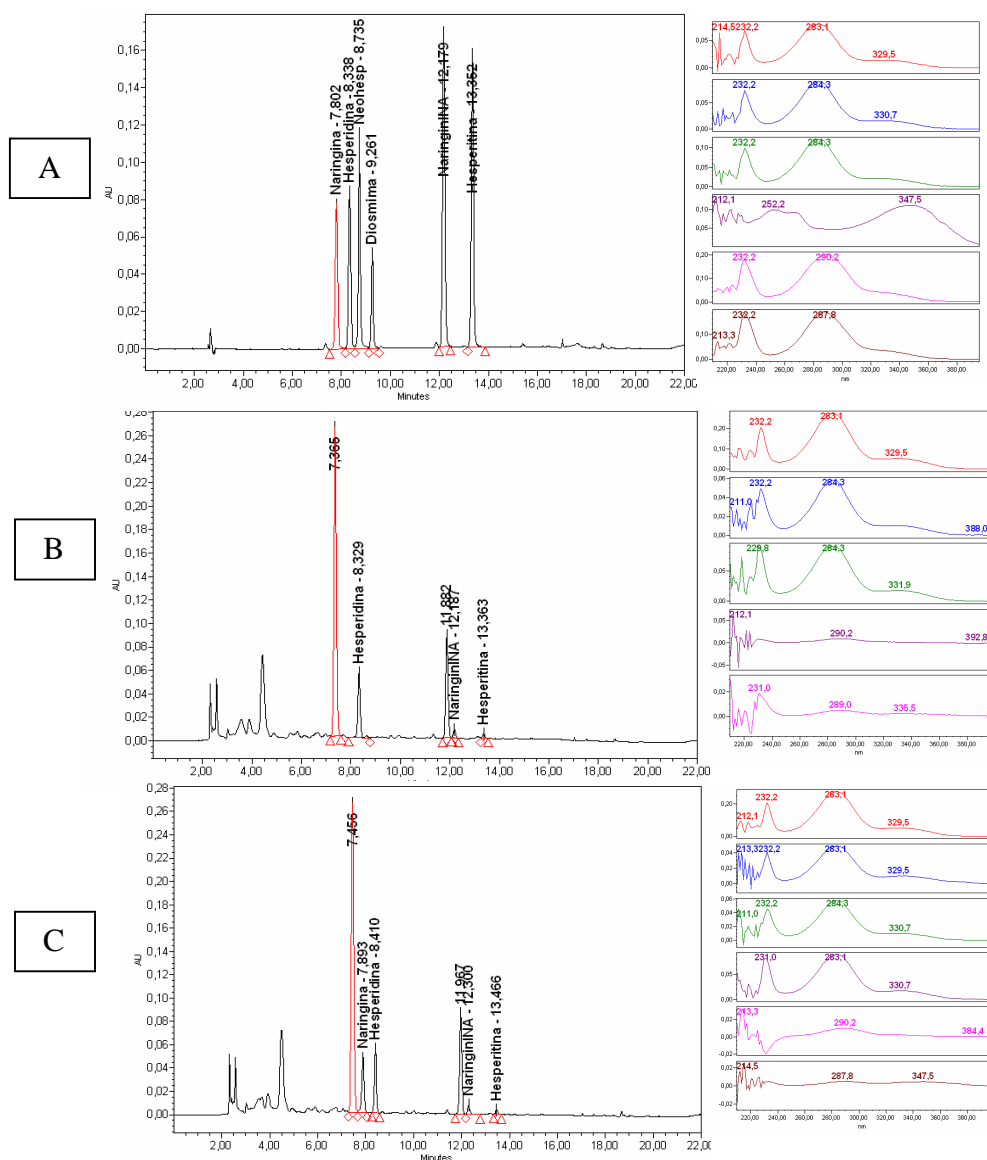


Figura 1: A – Cromatograma e espectros de solução padrão. B – Cromatograma e espectros de uma amostra de suco de tangerina murcote. C – Cromatograma e espectros de uma amostra de suco de tangerina murcote com adição padrão de naringina.

Os cromatogramas obtidos tanto no padrão de calibração como nas amostras apresentam boa separação cromatográfica. A ferramenta de espectro do detetor PDA oferece informação do perfil característico para as flavanonas que diferem do espectro da única flavona presente no padrão, a diosmina.

Nas amostras é possível observar a presença de dois picos não qualificados com espectro característico de flavonóide. O primeiro pico possui boa magnitude e elui muito próximo da naringina. A adição de padrão de naringina à amostra comprovou que se trata de outra substância, pois o pico da naringina aparece imediatamente após este. O provável flavonóide seria um isômero da naringina já reportado para a tangerina: a narinrutina (KAWAII *et al.*, 1999).

Conclusão

Estas amostras também serão avaliadas quanto ao teor dos principais limonóides para avaliar o amargor já reportado por análise sensorial. A similaridade estrutural da narinrutina com a naringina, também pode justificar a presença deste sabor desagradável nas amostras.

O método mostrou-se sensível, reprodutivo e eficiente, para a proposta de avaliar os teores destes flavonóides do gênero citrus em suco de tangerina.

Posteriormente estas amostras serão analisadas em um sistema de Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada a espectrômetro de massas tipo Quadrupolo-*Time of Flight* - UPLC MS/MS (Q-TOF) com o intuito de verificarmos a identidade dos flavonóides de maior magnitude.

Referências Bibliográficas

IBGE, 2007. Disponível em:

http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1290&id_pagina=1 Acesso em: Agosto de 2011.

MANNERS, G. D. *Citrus* limonoids: analysis, bioactivity, and biomedical prospects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 8285-8294, 2007.

BREKSA III, A. P.; ZUKAS, A. A.; MANNERS, G. D. Determination of limonoate and nomilinoate A-ring lactones in citrus juices by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1064, p.187-191, 2005.

RIBEIRO, I. & RIBEIRO, M. H. L. Naringin and naringenin determination and control in grapefruit juice by a validated HPLC method. **Food Control**. v.19, n.4, p.432-438, 2008.

SATORU KAWAII, YASUHIKO TOMONO, ERIKO KATASE, KAZUNORI OGAWA, MASAMICHI YANO. Quantitation of Flavonoid Constituents in Citrus Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.47, n.9, p.3565-3571, 1999.