

OBTENÇÃO DE LUTEÍNA, VIOLAXANTINA E β -CAROTENO A PARTIR DE ESPINAFRE (*Spinacea oleracea* LINNEU)

¹PACHECO, S.*; ¹GODOY, R.L.O.; ²PORTE, A. ¹NASCIMENTO, L. S. M.; ¹ROSA, J. S.

¹Embrapa Agroindústria de Alimentos. Avenida das Américas, 29.501, Cep. 23020-470, Rio de Janeiro - RJ, Brasil. Tel.:(21)3622-9792 e-mail: sidney@ctaa.embrapa.br; ronoel@ctaa.embrapa.br

²Departamento de Tecnologia de Alimentos, Escola de Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rua Dr. Xavier Sigaud, 290, Urca, Cep 22290-180, Rio de Janeiro – RJ, Brasil. alexandre_porte@yahoo.com.br

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo a obtenção de luteína, violaxantina e β -caroteno usando espinafre como fonte. Após preparação das amostras, os pigmentos foram isolados em coluna cromatográfica aberta de sílica ativada e recolhidos manualmente. A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) apresentou luteína, violaxantina e β -caroteno com purezas de 95,8%, 98,5% e 80,5%, respectivamente. A pureza do *trans*- β -caroteno é insuficiente para usá-lo como padrão analítico. Embora o teor de violaxantina seja adequado para usá-la como padrão analítico, a massa recuperada foi pequena. Estes achados revelaram que o espinafre é uma alternativa viável para a obtenção de padrão analítico de luteína com elevado grau de pureza, mas o mesmo não ocorreu para a obtenção de violaxantina e *trans*- β -caroteno com o uso da metodologia deste estudo.

Palavras-chave: carotenóides, espinafre, isolamento de padrão, CLAE

1. INTRODUÇÃO

Tal como o β -caroteno (β,β -caroteno), a luteína (3,3'- β,ϵ -carotenodiol) é considerada como pró-vitamina A, uma vez que apresenta em sua estrutura o anel de β -ionona e no intestino humano é convertida a retinol por ação da enzima β -caroteno-15,15'-dioxigenase (SCOTT; RODRIGUEZ-AMAYA, 2000). A ingestão da luteína através de alimentos, como espinafre e gema de ovo reduziu o risco de catarata em 22% e 19% em mulheres e homens adultos, respectivamente (KRINSKY; JOHNSON, 2005).

A violaxantina (diepóxido de zeaxantina) por outro lado, não é precursora de vitamina A. Está presente em vegetais como quiabo, berinjela, abóbora, mas ausente no tomate e na cenoura (EL-QUDAH, 2009).

O presente trabalho objetivou utilizar espinafre como matéria-prima para a extração dos pigmentos luteína, violaxantina e *trans*- β -caroteno em grau de pureza suficiente para empregá-los como padrões analíticos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A extração foi realizada a partir de 50 g de folhas de espinafre, segundo Rodriguez-Amaya (2001) e Pacheco (2009).

Gradiente de acetona em éter de petróleo foi utilizado na extração, de 2 % a 8 % de acetona para β -caroteno, de 16 % a 20% de acetona para violaxantina e 20% de acetona para luteína.

* A quem a correspondência deverá ser enviada

Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência equipado com bomba W600, injetor automático 717 Plus e detector de arranjo de fotodiodos 996, todos da Waters®, sob condições de análise de Pacheco (2009).

O padrão obtido foram purgados com fluxo de nitrogênio, adicionado de BHT (2,6-di-*ter*-butil-*p*-hidroxitolueno), selado a vácuo em ampola de borossilicato e armazenado a -18°C em ambiente escuro até o uso.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar dos elevados teores de clorofila detectados no espinafre, este pigmento foi retido na fase estacionária e não afetou a extração dos carotenóides de interesse.

A violaxantina apresentou 98,5% de pureza. Foi o carotenóide com maior grau de pureza obtido, porém a massa obtida, em média, 100 µg por coluna é baixa, se comparada à massa da luteína, de 450 µg por coluna (Figura 1), tornando o espinafre indesejável para obtenção de padrão analítico de violaxantina usando esta metodologia.

Este resultado pode ser devido à presença da violaxantina como um carotenóide minoritário neste vegetal específico, mas Mercadante; Rodrigues-Amaya (2001) afirmaram que a violaxantina é um dos pigmentos majoritários na maioria das hortaliças de folhas verdes.

Possivelmente poderia ser necessário saponificar o extrato para melhorar a extração ou buscar outro alimento como matéria-prima.

A luteína foi o único pigmento com pureza 95,8% e massa obtida suficiente para poder ser empregada como padrão analítico.

Nachtigall *et al.* (2007) testaram vários solventes para a extração de carotenóides em espinafre e conseguiram os melhores resultados usando acetona, o mesmo solvente de extração deste trabalho, entretanto aqui não foi necessária saponificação, o que acelerou a análise em várias horas.

A massa do β-caroteno foi a maior de todas, como pode ser observado na Figura 1, cuja área do pico é visualmente a maior entre os três carotenóides.

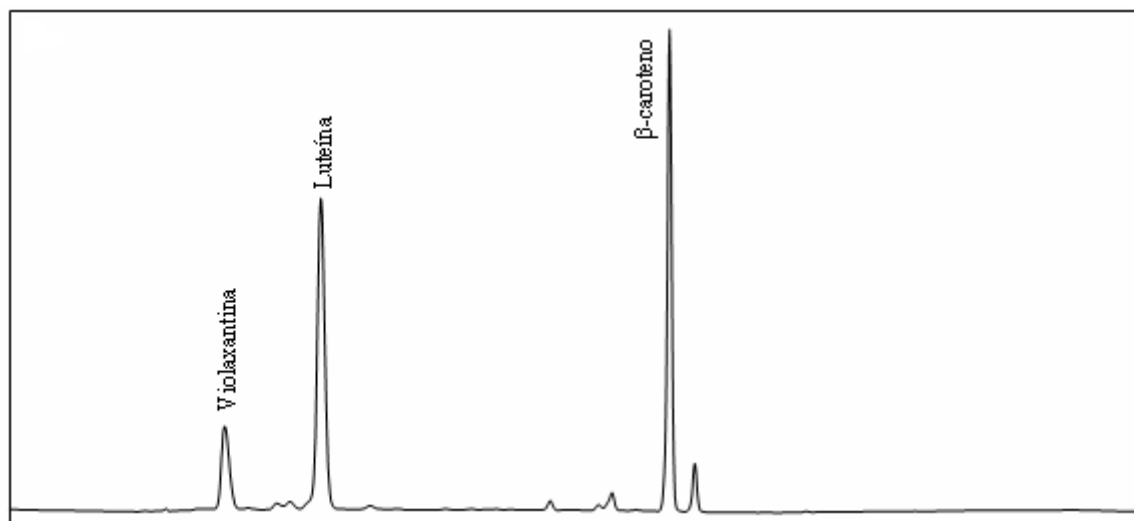


Figura 1. Perfil cromatográfico do extrato etéreo do espinafre

Todavia o padrão do β-caroteno revelou ser uma mistura de isômeros *E/Z* coeluídos, com 5,5% de 13-*cis*-β-caroteno, 14% de 9-*cis*-β-caroteno e 80,5% do alvo *trans*-β-caroteno. Assim, o *trans*-β-caroteno obtido é inadequado para uso como padrão analítico, tanto pela baixa pureza quanto pela mistura isomérica (Figura 2).

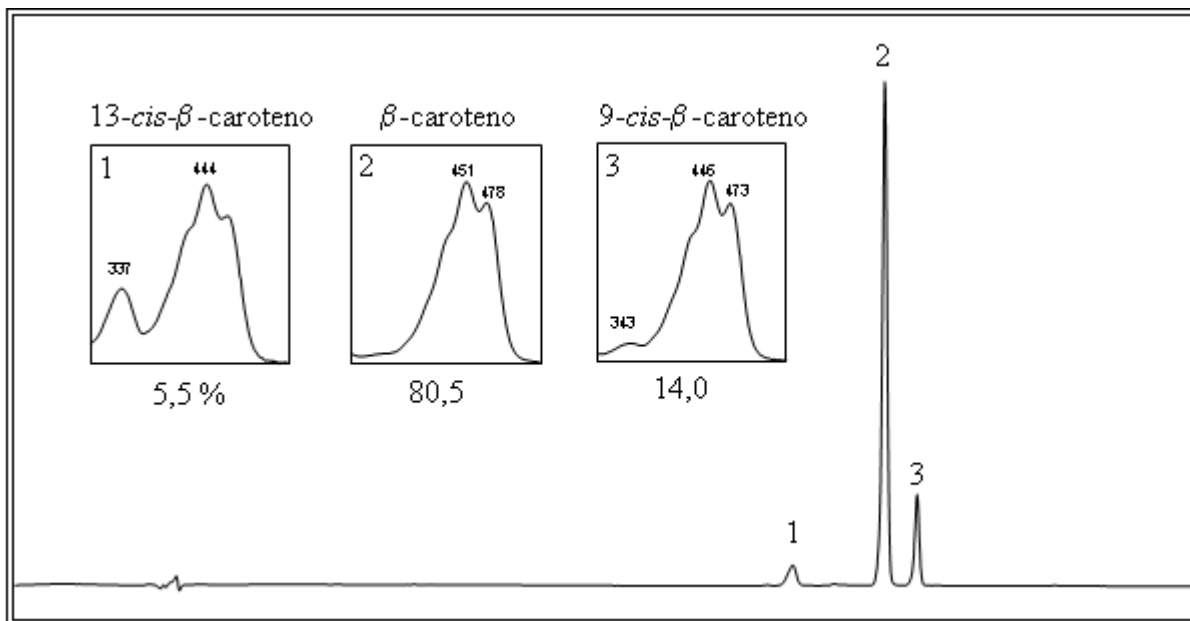


Figura 2. Perfil cromatográfico e espectros UV/VIS do padrão de β -caroteno obtido do espinafre

4. CONCLUSÃO

A utilização de coluna de sílica ativada se mostrou eficiente na extração de luteína a partir de espinafre. A purificação através de CLAE permitiu o isolamento desta xantofila com alto grau de pureza, demonstrando que a metodologia desenvolvida representa uma alternativa viável para suprir a necessidade laboratorial deste padrão analítico, mas para a obtenção de violaxantina e de β -caroteno, ainda são necessários mais estudos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EL-QUDAH, J.M. Identification and quantification of major carotenoids in some vegetables. *American Journal of Applied Sciences*, v. 6, n. 3, p. 492-497, 2009.
- 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.
- MERCADANTE, A.Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. Confirmação da identidade da α -criptoxantina e incidência de carotenóides minoritários provitamínicos A em verduras folhosas verdes. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 21, n. 2, p. 216-222, 2001.
- NACHTIGALL, A.M.; STRINGHETA, P.C.; FIDELIS, P.C.; NACHTIGALL, F.M. Determinação do teor de luteína em hortaliças. *Boletim do CEPPA*, v. 25, n. 2, p. 181-192, 2007.
- PACHECO, S. *Preparo de padrões analíticos, estudo da estabilidade e parâmetros de validação para ensaio de carotenóides por cromatografia líquida*. Seropédica: UFRJ, 2009, 105 p.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. Washington: International Life Sciences Institute (ILSI) Press, 2001, 64 p.
- SCOTT, K. J.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Pro-vitamin A carotenoid conversion factors: retinol equivalents - fact or fiction? *Food Chemistry*, v. 69, p. 125-127, 2000.