

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES COMPRIMENTOS DE ONDA NA DETERMINAÇÃO DE B-CAROTENO EM FOLHAS DE OLIVEIRA

ESTER DA SILVA SOUZA SALDANHA¹; ALEXANDRE LORINI²; DEBORAH MUROWANIECKI OTERO²; JULIANA RODRIGUES PEREIRA²; RUI CARLOS ZAMBIAZI³

¹Universidade Federal de Pelotas – estersouza_amle@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – alexandrelorini@hotmail.com; deborah.m.oteru@gmail.com; juliana_rope@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – zambiazi@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os carotenoides são definidos, quimicamente, como tetraterpenos (C_{40}), sintetizados através da união de oito unidades de isoprenoides (C_5), com um sistema de duplas ligações que proporcionam a cor característica nos alimentos (amarelo, laranja e vermelho). Para que a cor amarela apareça são necessárias, no mínimo, sete ligações conjugadas, conforme os números de ligações conjugadas aumentam, o carotenoide vai adquirindo bandas de absorção em maiores comprimentos de onda e consequentemente apresentando coloração mais vermelha (Ribeiro e Seravalli, 2004).

Nas folhas, os carotenoides estão sempre associados à clorofila e ao contrário do que ocorre nas frutas, sua composição qualitativa praticamente não varia. Neste caso, a coloração característica da presença dos carotenoides está encoberta pela alta concentração de clorofila. Ao ocorrer degradação da clorofila, as folhas em geral tornam-se amarelas, revelando então a presença dos carotenoides (Uenojo, Junior e Pastore, 2007; Morais, 2006).

O sistema conjugado de dupla ligação constitui o cromóforo absorvente de luz que proporciona aos carotenoides a sua cor atraente e fornece o espectro de absorção visível que serve de base para sua identificação e quantificação. O espectro ultravioleta visível é uma excelente ferramenta de identificação de carotenoides (Rodriguez-Amaya, 2001).

A maioria dos carotenoides absorve seu máximo em três comprimentos de onda, resultando em espectros de três picos, quanto maior o número de duplas conjugadas, maiores os valores de λ_{max} (Britton's, 1995) sendo cada carotenoide caracterizado por um espectro de absorção eletrônica (GROSS, 1991). Valores de λ_{max} ligeiramente diferentes são relatados na literatura, isso se deve a fatores como à reproduzibilidade do espectrofotômetro de gravação na região de 400-500 nm, bem como a influência do solvente usado para a extração dos carotenoides (Rodriguez-Amaya, 2001). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi determinar o melhor comprimento de onda para a determinação de carotenoides totais em extratos de folhas de oliveira.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das amostras: Amostras de folhas de oliveiras (*Olea europaea* L.) da cultivar Arbequina foram cedidas por uma propriedade privada de Pinheiro Machado (RS) no final do outono de 2016 (julho/2016). As folhas foram maceradas em nitrogênio líquido e armazenadas até momento das análises em ultra-frezer (-80°C).

Extração de carotenoides: Os extratos foram feitos conforme metodologia de Rodriguez-Amaya (2001), onde foram pesados 0,1 g de folhas e adicionadas 10 mL de acetona gelada, agitada em vortex por 1 min. e mantido em repouso durante 10 min., em seguida o extrato foi transferido para um balão de separação e adicionado 15 mL de éter de petróleo e 15 mL de água destilada, a fase polar foi descartada e mais duas lavagens sucessivas foram feitas com 15 mL de água, após a fase apolar foi recolhida em balão de 25 mL e o volume aferido com éter de petróleo.

Determinação do comprimento de onda: Foi realizado o espectro de varredura dos extratos para determinação do maior ponto de absorção e do padrão de β -caroteno. Em seguida foram realizadas duas curvas, uma no maior comprimento de onda de absorção do padrão (450 nm) e uma no maior comprimento de absorção de carotenoides na amostra (433 nm), ambas utilizando β -caroteno como padrão nas concentrações de 10 a 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Em seguida os extratos foram lidos nos dois comprimentos de onda e quantificados por ambas as curvas. Os resultados foram expressos em $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de amostra seca \pm desvio padrão de 3 repetições.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar que o maior comprimento de onda de absorção do padrão de β -caroteno é 450 nm, enquanto que nos extratos o maior comprimento de onda é de 433 nm (Figuras 1 e 2). Desta forma, as curvas foram realizadas nestes comprimentos de onda, conforme apresentado na Figura 3.

A partir da realização das curvas, as amostras de folhas de oliveiras foram quantificadas por ambas as curvas, os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Teor de carotenóides totais em folhas de oliveira da cultivar Arbequina ($\text{mg E} \beta \cdot \text{g}^{-1}$)

Comprimentos de onda	433 nm	450 nm
Média*	14,20	6,56
Desvio padrão*	0,88	0,46

*Média e desvio padrão de 03 repetições

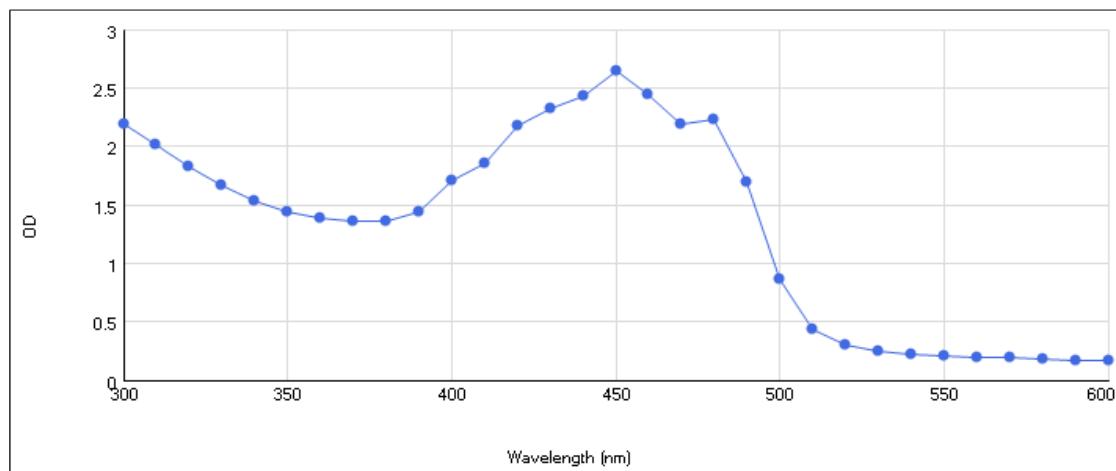


Figura 1. Espectro de varredura do padrão β -caroteno

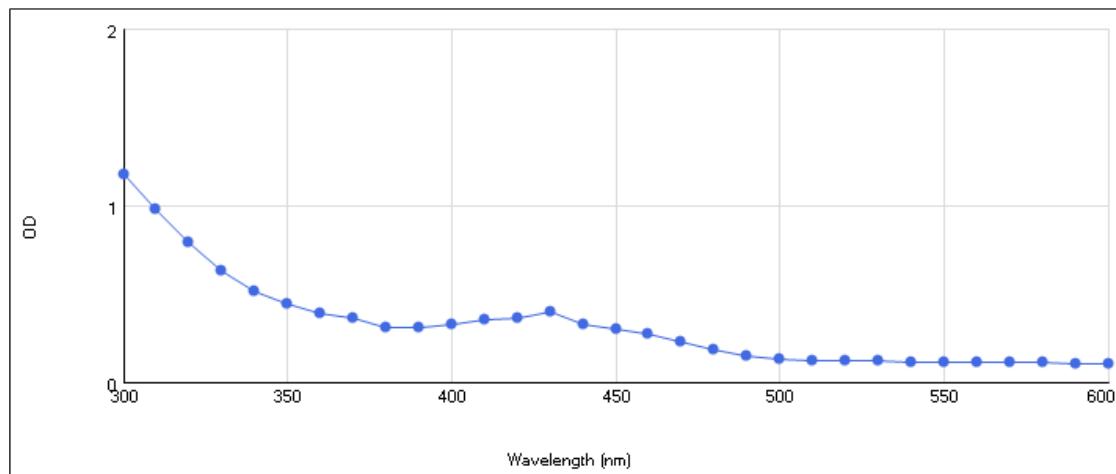


Figura 2. Espectro de varredura do extrato de folha de oliveira

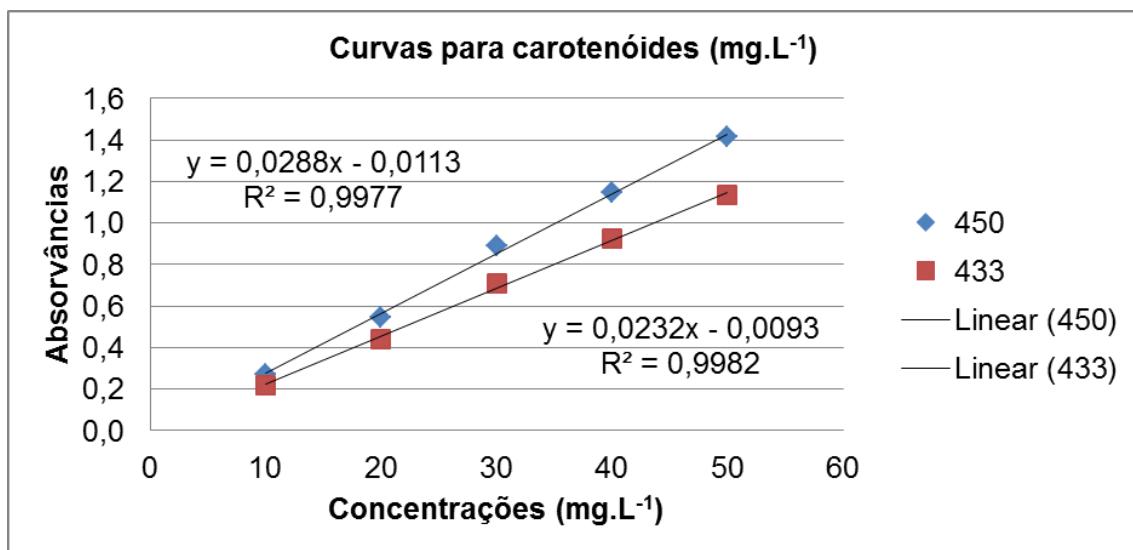


Figura 3. Curvas de β -caroteno com leitura a 433 e 450 nm (10 a 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

Segundo Rodriguez-Amaya et al. (2008) existem vários fatores que interferem na análise de carotenoides, como a existência de um grande número de carotenoides, distribuição não uniforme dos carotenoides entre amostras, a natureza variável das matrizes alimentícias, variabilidade qualitativa e quantitativa da composição dos alimentos, entre outros, revelando a importância de realizar a quantificação no comprimento de onda adequado em cada matriz alimentar.

4. CONCLUSÕES

O melhor comprimento de onda para determinação de carotenóides totais para cada material vegetal seguindo a metodologia de extração com éter de petróleo é diferente, sendo sempre necessária a realização de um espectro de varredura antes da quantificação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRITTON G (1995) **UV/visible spectroscopy**. In Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H (eds), Carotenoids: spectroscopy, vol 1b. Birkhäuser Verlag, Basel, pp 13-63.

GROSS, J. **Pigments in vegetables**: chlorophylls and carotenoids, New York, Published by Van Nostrand Reinhold, 1991.

MORAIS, F.L. **Carotenoides**: características biológicas e químicas. 2006. 70 f. Monografia (Especialização em Qualidade de Alimentos) – Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2006.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. Instituto Mauá de Tecnologia. Editora Edgard Blucher Ltda, 1ª edição, São Paulo, p. 155-157, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington, DC: ILSI press, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides**. Brasília: Ministério de Meio Ambiente, p. 100, 2008.

UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenoides: Propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2007.