

IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES NO EXTRATO DE *CITRUS AURANTIUM* MICROENCAPSULADO

TAICIANE GONÇALVES DA SILVA¹; MARINA GABRIELLA CALVETE
MARTINS²; GREICE SIMÕES DOTTO³
FERNANDA MOURA RIBEIRO TRINDADE⁴; SIMONE PIENIZ⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – ta.ici@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – marymartins_vda@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – greicedotto@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – fezinhhamrt@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – nutrisimone@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O consumo de frutas atualmente está relacionado com a presença de compostos fitoquímicos presentes nestas, os quais têm demonstrado evidências epidemiológicas comprovando que o consumo regular está associado à redução da morbimortalidade para diversas doenças crônico-degenerativas (SUCUPIRA et al., 2012). Laranjas e outras frutas cítricas são excelentes fontes de vitamina C e fibras, além de possuir ação antioxidante advinda de compostos bioativos, como ácido ascórbico, carotenoides, compostos fenólicos, entre outros (COUTO e CANNIATTIBRAZACA, 2010). Como descrito por Zou et al. (2016), o ácido ascórbico (vitamina C) presente na laranja e demais frutas cítricas atua como um potente antioxidante natural, atuando no equilíbrio da estrutura do radical livre, além disso, previne o escorbuto e participa na formação das fibras colágenas. Os compostos fenólicos presentes nas frutas cítricas possuem ação direta na eliminação das espécies reativas de oxigênio, agindo na desidrogenação do grupamento hidroxila (ZOU et al., 2016). E os carotenoides encontrados na *Citrus aurantium* atuam por meio do aumento das duplas ligações conjugadas, como grupamento cetona e anéis de ciclopentano, assegurando benefícios à saúde e na prevenção de doenças degenerativas (UENOJO, JUNIOR & PASTORE, 2007).

A *Citrus aurantium* também denominada como laranja-azeda, laranja amarga ou laranja da terra é uma fruta de origem asiática, pertence à família Rutaceae, dispondo de funções como anti-hemorrágica, antiescorbútica, cosmética, digestiva, hipnótica, sedativa, vermífugo, entre outros (OLIVEIRA et al., 2017). Devido seu sabor ácido característico, seu consumo in natura não é muito aceito pela população. Assim, uma estratégia para aproveitamento dos nutrientes da fruta seria a encapsulação, pois além de aumentar a estabilidade dos compostos presentes, pode mascarar características organolépticas indesejáveis (AZEREDO, 2005). A encapsulação é um processo onde um ou mais compostos são envoltos por uma cápsula comestível, tendo sua liberação controlada evitando perdas excessivas durante seu processamento (AZEREDO, 2005). Dentre os métodos mais utilizados de microencapsulação, o *spray drying* ganha destaque. Esta técnica consiste na secagem por aspersão, sendo muito utilizada na indústria alimentícia pela facilidade de armazenamento, baixo custo, além de obter melhor estabilidade química, físico-química e microbiológica (OLIVEIRA & PETROVICK, 2010). A maltodextrina é um carboidrato formado por hidrolização parcial de amido de milho, caracterizada por ser de baixo custo, sabor suave, vida de prateleira prolongada, apresenta controle da osmolaridade do produto e ponto de congelamento e, alto poder de proteção contra oxidação,

sendo uma das melhores opções para utilização como material de parede na encapsulação (SERVAT et al., 2010; MÜLLER, 2011; SOARES, 2018).

Devido à presença de compostos bioativos e as propriedades nutricionais da *Citrus aurantium* e pela dificuldade de consumo *in natura*, atribuída a suas características organolépticas, comprehende-se a necessidade da microencapsulação do seu extrato. Com isso, o presente estudo teve por objetivo identificar e quantificar os compostos bioativos presentes no extrato hidroetanólico da casca de *Citrus aurantium* microencapsulado por meio do método *spray drying*.

2. METODOLOGIA

2.1 Caracterização da amostra

A amostra madura da fruta *Citrus aurantium* foi obtida na cidade de Bagé, no estado do Rio Grande do Sul. Na seleção das frutas foi levado em consideração os aspectos de aparência, diâmetro e maturação, selecionados visualmente. As amostras foram coletadas em sacos plásticos e conduzidas até o Laboratório de Ensaio de Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), e armazenadas em partes separadas (casca, albedo e polpa) em ultra freezer a -80°C até realização das análises.

2.2 Microencapsulação pelo método spray drying

Para a microencapsulação do extrato da casca, foi utilizada a concentração de 30% em solvente de álcool etílico absoluto P.A. (99,8%). Para obtenção do extrato, o solvente foi rotaevaporado e ressuspendido em água destilada. O volume do extrato utilizado para microencapsulação foi de 870mL acrescidos de 20% de maltodextrina (material de parede utilizado) com densidade equivalente (DE) 20, homogeneizados em agitador mecânico por 30 minutos. A solução foi acoplada em um bêquer com capacidade de 1000mL no equipamento spray drying (MSD, 1.0, LabMag). A vazão da bomba peristáltica foi de 0,40 litros/hora, fluxo de ar 40. A temperatura de entrada e saída foi de 130°C e 100°C, respectivamente. Após aproximadamente 1 hora e 30 minutos o volume total foi microencapsulado, tendo rendimento de 47,25g.

2.3 Determinação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

2.3.1 Quantificação dos compostos fenólicos individuais

A metodologia utilizada foi a descrita por Zambiazi (1997). Cinco gramas (5g) da amostra foram dissolvidos em metanol P.A. e ácido clorídrico P.A., e depois incubadas em banho-maria a 35°C por 24 horas. Transcorrido o tempo, a solução foi filtrada e acoplada em rotaevaporador 40°C. O resíduo foi redissolvido em metanol P.A. e centrifugado. Foi retirado uma alíquota do sobrenadante (30uL) e injetado no cromatógrafo. O cromatógrafo consistiu no sistema HPLC-Shimadzu, com injetor automático, detector UV-visível a 280nm, coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5um, 4,6mm x 150mm). A fase móvel consistiu no gradiente de eluição sendo utilizado solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v) e metanol, com fluxo de 0,8mL.min⁻¹, e um tempo total de corrida de 45 minutos. A identificação e quantificação dos compostos fenólicos ocorreram em triplicata, utilizando curvas preparadas com os padrões cromatográficos correspondentes ao ácido clorogênico, ácido caféico, rutina, ácido ferulico, miricetina, quercetina, kaempferol e apigenina, com resultados expressos em µg do composto g⁻¹ de amostra.

2.3.2 Quantificação dos carotenoides individuais

A metodologia utilizada foi a descrita por Zambiasi (1997), onde foram utilizadas 3g de celite adicionado a 5g de amostra, juntamente com 20mL de acetona P.A. Após filtragem, foi separada as fases com água destilada e éter de petróleo até completa retirada da acetona. Para a saponificação foi utilizado hidróxido de potássio 1,5N acrescido da amostra, permanecendo no escuro por 18 horas. Logo após, nova separação de fases foi procedida com água destilada e éter de petróleo. A amostra foi concentrada em rotaevaporador a 35°C e, posteriormente, o resíduo foi redissolvido em metanol: acetonitrila, e centrifugado. Alíquotas do sobrenadante (25uL) foram injetadas em um sistema HPLCShimadzu com injetor automático, detector UV-visível a 450nm, coluna de fase reversa Ultracarb ODS (30) (5um, 4,6mm x 150mm). A separação foi efetivada utilizando um sistema de eluição por gradiente de metanol p.a., acetonitrila e acetato de etila. Para a identificação e quantificação dos compostos foram utilizadas curvas preparadas com os padrões cromatográficos correspondentes a α -caroteno, β -caroteno, luteína e zeaxantina, com resultados expressos em μg do composto g-1 de amostra.

2.3.3 Quantificação do ácido ascórbico

Para esta análise foi utilizada a metodologia descrita por Zambiasi (1997), onde foram pesados 5g de amostra adicionada de 30mL de solução de ácido metafosfórico (4,5%), e posteriormente, armazenado no escuro durante 1 hora. O volume foi completado em balão volumétrico de 50mL com água ultrapura, e após, a amostra foi filtrada a fim de obter-se somente o resíduo da filtragem. O sobrenadante foi centrifugado e injetado no cromatógrafo. Com resultado expresso em μg do composto g-1 de amostra.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos por meio da análise de quantificação dos compostos fenólicos individuais demonstrou que o extrato da casca da *Citrus aurantium* apresentou maior teor de ácido ferúlico (798,42 μg g-1) comparado aos demais compostos quantificados na amostra. Os dados encontrados no estudo de Sun et al. (2013) e Karoui e Marzouk (2013) corroboram com os resultados encontrados no presente estudo, no qual foram encontrados maiores teores de ácido ferúlico e de rutina. Além disso, foram analisados os carotenoides individuais como α -caroteno, β -caroteno, luteína e zeaxantina, porém os mesmos não foram detectados na amostra. Wang, Chuang e Ku (2007) ressaltam quanto aos carotenoides que, o β -criptoxantina foi o composto encontrado com maior teor, seguido do β -caroteno, diferentemente dos resultados encontrados no presente estudo, no qual os carotenoides não foram identificados. Outros carotenoides estão presentes no extrato hidroetanólico da casca de *Citrus aurantium* microencapsulado, no entanto, não foram quantificados.

A análise de quantificação do ácido ascórbico presente no extrato hidroetanólico da casca de *Citrus aurantium* microencapsulado revelou um valor médio de 411,67 μg g⁻¹. De acordo com o estudo de Silva Júnior et al. (2010), a *Citrus aurantium* demonstrou elevado teor de ácido ascórbico na fruta *in natura*, tendo uma média de 125,76 mg 100 g⁻¹ de fruta, ou seja, um valor três vezes maior do que o encontrado no presente estudo com a amostra microencapsulada.

4. CONCLUSÕES

No presente estudo o extrato da casca de *Citrus aurantium* microencapsulado possui quantidade significativa de compostos bioativos,

principalmente de fenólicos, tendo destaque para o ácido ferúlico, e também quantidade significativa de ácido ascórbico. Sugere-se que a microencapsulação do extrato da casca da *Citrus aurantium* seja uma alternativa para usufruir dos benefícios provenientes dos compostos bioativos presentes na fruta.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 15-19, 2010.

KAROUI, I. J.; MARZOUK, B. **Characterization of bioactive compounds in Tunisian bitter orange (*Citrus aurantium* L.) peel and juice and determination of their antioxidant activities**. BioMed Research International, v. 2013, p. 1-12, 2013.

MÜLLER, Priscila Schultz. **Microencapsulação de óleo essencial de laranja**. 2011. 98 f. Dissertação (Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Tecnologias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

OLIVEIRA, T. W. N.; TEIXEIRA, S. A.; OLIVEIRA, V. A.; CASTRO, A. N.; MARTINS, M. R.; MEDEIROS, S. R. A. Laranja amarga (*citrus aurantium*) como coadjuvante no tratamento da obesidade. **Revista Ciência e Saúde**, v. 6, n. 1, p. 114-126, 2017.

SERVAT, L.; SPINDOLA, H. M.; RODRIGUES, R. A. F.; FOGLIO, M. A. Microencapsulação: uma alternativa promissora para preservação de produtos naturais. **Revista Fitos**, v. 5, n. 2, p. 52-57, 2010.

SILVA JÚNIOR, G. B.; ROCHA, L. F.; AMARAL, F. H. C.; ANDRADE, M. L.; FALCÃO NETO, R.; CAVALCANTE, I. H. L. Laranja-da-terra: fruta cítrica potencial para o Piauí. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 557-562, 2010.

SOARES, Cyntia Trevisan. **Secagem da polpa de pequi por liofilização**. 2018. 96f. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia Agrícola) Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2018.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. UNOPAR, UNOPAR Científica. **Ciências biológicas e da saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

SUN, Y.; QUIAO, L.; SHEN, Y.; JIANG, P.; CHEN, J.; YE, X. Phytochemical profile and antioxidant activity of physiological drop of citrus fruits. **Journal of Food Service**, v. 78, n.1, 2013.

TANAKA, Deise Luciane. **Influência da desidratação por spray drying sobre o teor ácido ascórbico no suco de acerola (*Malpighia* ssp)**. 2007. 56 f. Dissertação (Pós-graduação em alimentos e Nutrição) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

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

WANG, Y. C.; CHUANG, Y.C.; KU, Y.C. Quantitation of bioactive compounds in citrus fruits cultivated in Taiwan. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1163-1171, 2007.

ZAMBIAZI, R.C. The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability. 1997. **Food and Nutritional Sciences Interdepartmental Program. Universiy of Manitoba Winnipeg**, Manitoba, Canada. 304p. April 1997.

ZOU, Z.; Xi, W.; HU, Y.; NIE, C.; ZHOU, Z. Antioxidant activity of Citrus fruits. **Food Chemistry**, v. 196, p. 885-896, 2016.