

## QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENOIDES INDIVIDUAIS POR ESPECTROFOTOMETRIA EM SUCOS DE DIFERENTES CULTIVARES DE CITRUS

TAINAN LOPES DE ALMEIDA<sup>1</sup>; RENATA SILVA MOURA<sup>2</sup>; MAURICIO SEIFERT<sup>3</sup>; ROBERTO PEDROSO OLIVEIRA<sup>4</sup>; CESAR VALMOR ROMBALDI<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – E-mail: tainanalmeida.92@hotmail.com; <sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas - E-mail: renatinha\_mou@hotmail.com; <sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas -; E-mail: mau.seifert@gmail.com; <sup>4</sup> Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; E-mail: roberto.pedroso@embrapa.br; <sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas - E-mail: cesarvrf@ufpel.edu.br

### 1. INTRODUÇÃO

O citros é uma cultura de destaque no contexto da fruticultura mundial, atingindo 21% da produção total de frutos. O Brasil é o segundo maior produtor mundial com 20,4 milhões de toneladas, sendo o estado de São Paulo o maior produtor de laranjas com 78,4% da produção nacional e 71,5% de área colhida (FAO, 2012). O Estado do Rio Grande do Sul (RS) é o sexto maior produtor nacional, com produção anual estimada de 361 mil toneladas de citros, distribuída em 30 mil hectares, o que gera um rendimento médio de 13 toneladas por hectare (IBGE, 2013). Essa produção é pequena, quando comparada à de SP, porém é maior do que a de muitos países e representa a principal atividade econômica de dezenas de municípios desse Estado.

Frutos cítricos, principalmente laranjas e tangerinas, fazem parte da dieta dos brasileiros. Além de serem importante fonte de vitaminas e fibras, as frutas e sucos cítricos recentemente vêm sendo reconhecidos por conterem metabólitos secundários, incluindo antioxidantes como compostos fenólicos, flavonoides, entre outros, que são importantes para a nutrição humana (JAYAPRAKASHA e PATIL, 2007). A estrutura dos polifenóis e carotenoides confere marcante ação antioxidante, contribuindo na prevenção de doenças degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, inflamações, disfunções cerebrais, e no retardo do envelhecimento precoce (PIMENTEL; FRANCKI e GOLLÜCKE, 2005).

A quantificação de carotenoides totais utilizando espectrofotometria é uma prática utilizada por diversos autores (GARDNER et al., 2000; TSAI et al., 2007; LEE, 2001; DUZZIONI et al., 2010). Em geral, as metodologias utilizadas, fazem a extração destes compostos com os solventes adequados, com posterior leitura nos comprimentos de onda 450 nm. Através dessa técnica, é possível estimar a quantidade de alguns carotenoides individuais, como por exemplo, o licopeno, no qual no cálculo são utilizados a absorvância no comprimento de onda de absorção máxima de cada composto, juntamente com o coeficiente de extinção, que é obtido através de curvas padrões de cada carotenoide diluído com o devido solvente. Visto a importância de se ter um método prático e confiável de determinação do teor de carotenoides, esse trabalho tem por objetivo avaliar uma metodologia por espectrofotometria capaz de estimar os principais carotenoides presentes em citros, para que possa ser usada rotineiramente nos laboratórios de análise.

## 2. METODOLOGIA

Foram utilizados frutos das cultivares Satsuma Okitsu (*C. unshiu* Marcovitch), Cara Cara (*C. sinensis* L. Osbeck) provenientes de material genético testado e validado pela EMBRAPA Clima Temperado – Pelotas/RS. Os frutos foram descascados, separando a casca, o albedo e o suco, sendo o último homogeneizado para análises posteriores. As análises físico-químicas de caracterização dos frutos foram as seguintes: pH, acidez total titulável (ATT); sólidos solúveis totais (SST), expressando-se o resultado em °Brix; e o ratio que é a relação entre os sólidos solúveis totais e a acidez total titulável (SST/ATT).

A extração e quantificação de carotenoides totais foi realizada segundo o método adaptado de Rodriguez-Amaya (1999). A partir desse método utilizou-se diferentes comprimentos de onda para quantificação dos carotenoides individuais. Com os valores de absorbância e os coeficientes de extinção de cada composto, se realizou um cálculo para estimar a quantidade de alguns carotenoides e flavonoides individuais. Os comprimentos de onda e os coeficientes de extinção de cada compostos foram buscados na literatura.

Os dados da caracterização físico-química dos frutos foram submetidos à análise estatística descritiva entre as cultivares. Para os dados de carotenoides individuais obtidos pelos dois métodos utilizados, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) e para comparação de médias utilizou-se o teste t ( $p < 0,05$ ). Uma análise de correlação de Pearson ( $p \leq 0,0001^*$ ) foi realizada entre os dados de Carotenoides Individuais Estimados (CIE) e Carotenoides Individuais por Cromatografia Líquida (CICL) para cada cultivar.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação das características físico-químicas das cultivares Tabela 1, verificou-se um menor valor de sólidos solúveis totais para a cultivar Okitsu, essa característica se deve por essa cultivar ter maturação precoce podendo ser colhida a partir da segunda quinzena de março (OLIVEIRA et al, 2005). A cultivar Cara Cara apresentou valores de 12,4 °brix, pH de 3,64 e 0,79% de acidez, que podem se considerados bons, em se tratando de frutos para consumo in natura. Quanto aos resultados para os valores de ratio, pode-se afirmar que, e a cultivar a Cara Cara obteve melhor balanço na relação SST/ATT, devido ao seu valor de ratio ser mais elevado que a Okitsu. A relação entre o teor de sólidos solúveis totais e acidez total titulável expressa o balanço entre esses componentes no suco, conferindo-lhe o sabor. Esse sabor pode ser mais ou menos ácido em função da região produtora ou das características da cultivar (TAVARES, 2003). Agustí e Almela (1991) consideram a relação SST / ATT (ratio) como sendo a principal característica para indicar o ponto de maturação comercial de frutos cítricos.

**Tabela 1** – Características físico-químicas de Satsuma Okitsu e Cara Cara

Cultivar	SST (°Brix)	pH	ATT (% de ácido ascórbico)	Relação SST/ATT
Satsuma Okitsu	9.40 ± 1,293	3.39 ± 0,072	1.95 ± 0,435	4.84 ± 0,147
Cara Cara				

12.40 ± 0,264    3.64 ± 0,065    2.18 ± 0,128    5.71 ± 0,134

Na comparação entre os métodos de quantificação de carotenoides totais e individuais por espectrofotometria e cromatografia líquida Tabela 2, pode-se verificar que para a cultivar Okitsu ocorreu diferença significativa entre os métodos, para Neoxantina,  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -criptoxantina. Já para a cultivar Cara Cara, somente a neoxantina não diferiu significativamente na comparação entre os métodos. A Cara Cara é uma cultivar de umbigo, que possui polpa vermelha atribuída ao alto teor de licopeno (SAUNT, 2000), o que podemos comprovar neste trabalho, visto que, apesar da presença de diferença significativa entre os métodos, este foi o carotenoide encontrado em maior abundância para os dois métodos.

**Tabela 2:** Carotenoides totais e individuais obtidos estimados por espectrofotometria (CIE) e obtidos por cromatografia líquida (CICL)

Carotenoides Individuais	Metodologia (ug/g)			
	Satsuma Okitsu		Cara Cara	
	CIE	CICL	CIE	CICL
Neoxantina	0,42 ± 0,146 a	0,01 ± 0,005 b	1,04 ± 0,168 a	0,90 ± 0,141 a
$\alpha$ -caroteno	0,75 ± 0,442 a	0,2 ± 0,011 b	0,94	Nd
$\beta$ -caroteno	4,42 ± 1,417 a	0,40 ± 0,057 b	13,35 ± 2,790 a	0,35 ± 0,100 b
$\alpha$ -criptoxantina	0,45 ± 0,151 a	0,26 ± 0,06 b	1,26 ± 0,503a	0,25 ± 0,053 b
$\beta$ -criptoxantina	0,74 ± 0,326 a	0,80 ± 0,141 a	1,02 ± 0,024 b	3,25 ± 0,513 a
Licopeno	2,68 ± 0,862	Nd	7,97 ± 0,089 b	12,55 ± 0,472 a
Totais	7,56 ± 2,736 a	8,03 ± 0,611 a	22,26 ± 2,756 b	36,6 ± 0,916 a

\*nd = não detectado

<sup>1/</sup> Médias acompanhadas por letra minúscula diferente na linha, comparando os métodos dentro de cada cultivar, diferem entre si pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ).

A partir da Tabela 3 pode-se verificar que a correlação entre CIE e CICL não foi significativa para as duas cultivares.

**Tabela 3:** Correlação de Pearson ( $p \leq 0,0001^*$ ) entre CIE e CICL para cada cultivar.

	Satsuma Okitsu		Cara Cara	
	CIE	CICL	CIE	CICL
CIE	1.00000	-0.2304 (0.9707*)	1.00000	0.2151 (0.7282*)
CIL		1.00000		1.00000

\*Valores de  $p$ .

#### 4. CONCLUSÕES

Na comparação entre os dados obtidos por espectrofotometria e cromatografia líquida podemos verificar que ocorreu grande variabilidade, podendo ser utilizado o método de espectrofotometria somente para quantificar alguns carotenoides específicos para cultivares de citros.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FAO - FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF UNITED STATES.

**Statistical databases.** Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 30 set. 2013.

IBGE-Levantamento sistemático da produção agrícola. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Dados de fevereiro de 2013.

MAZZUZ, C. F. Calidad de frutos cítricos: manual para su gestion desde la recolección hasta la expedición. Barcelona, Ediciones de Horticultura, 317p., 1996.

AGUSTI, M.; ALMELA, V. **Aplicacion de fitorreguladores en citricultura.** Barcelona: Ed. Aedos, 262p., 1991.

ALBRIGO, G. Influências ambientais no desenvolvimento dos frutos cítricos. In: DONADIO, L. C. (Ed.). **Seminário internacional de citros: Fisiologia**, 2, Bebedouro: Fundação Cargill, 100-106p.1992.

OLIVEIRA, R. P.; CANTILLANO, R. F. F.; MALGARIM, M. B.; TREPTOW, R. O.; GONÇALVES, A. S. Características dos citros apirênicos produzidos no Rio Grande do Sul. **Documentos**, 141. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005b.

JAYAPRAKASHA, G. k.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chemistry*, v. 101, n. 1, p. 410-418, 2007.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLÜCKE, A. P. B. **Substâncias bioativas em alimentos funcionais.** São Paulo: Varela, p.95, 2005.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods.** Washington: ILSI Press, 1999. 64p.

ICH; *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)*; International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Geneve, 2005.