

Extração de β -caroteno por cromatografia em coluna em cenouras (*daucus carota* L.).

Professor Doutor Paulo Cesar Dantas Esteves (Curso de Nutrição – UNIFOA)

pcesteves@hotmail.com

Professora Doutora Anete Correa Esteves (Curso de Nutrição – UNIFOA)

aneteesteves@globo.com

Valéria Calmeto Noronha Barleta (Graduanda do Curso de Nutrição – UNIFOA)

valeriabarleta@bol.com.br

Resumo

O presente estudo teve como objetivo determinar os valores de carotenóides totais e β -caroteno em cenouras (*Daucus carota* L.). As amostras de cenoura foram submetidas à extração éter de petróleo 40-60° a fim de extrairmos os carotenóides. Para a separação de β -caroteno utilizou-se cromatografia em coluna. A quantificação dos carotenóides e do β -caroteno foi feita espectrofotometricamente a 450 nm. O valor encontrado para os carotenóides se situou em torno de 85% dos valores citados na literatura enquanto os valores encontrados para o β -caroteno se situaram em torno de 48% dos valores totais encontrado para os carotenóides.

Palavras chaves: Cenouras, carotenóides, β -caroteno, cromatografia.

1 - Objetivo

Uma das maiores dificuldades enfrentadas pelos docentes que ministram disciplinas básicas nos cursos de graduação é passar para os seus alunos a importância das mesmas na sua formação profissional futura. Assim sendo, a iniciação científica é um instrumento que permite introduzir na pesquisa científica os estudantes de graduação potencialmente mais promissores como também mostrar a importância das disciplinas do curso básico na formação profissional. A iniciação científica caracteriza-se como instrumento de apoio teórico e metodológico à realização de um projeto de pesquisa e constitui um canal adequado de auxílio para a formação de uma nova mentalidade no aluno.

O objetivo deste trabalho foi, utilizando o material e a aparelhagem existente no laboratório de Ciência e Tecnologia dos Alimentos do Curso de Nutrição da UNIFOA, mostrar aos discentes participantes um método simples de avaliação do conteúdo de

vitamina A em alimentos, no caso a cenoura e com isso ressaltar a importância da química no dia a dia do nutricionista, quer analisando, quer pesquisando novos alimentos.

2 – Introdução

Os carotenóides têm sido intensamente estudados devido às suas importantes funções biológicas nos organismos humanos e também por ser um importante pigmento natural. A relação existente entre carotenóides e vitamina A foi determinada em 1919 e, em 1930 foi estabelecida que alguns deles (α -caroteno, β -caroteno, γ -caroteno, β -zeacaroteno e outros) formam a provitamina A. Devido a essas múltiplas funções atribuídas aos carotenóides eles têm sido intensamente estudados em diferentes áreas como a química, a agricultura, nutrição e medicina.

As cenouras são conhecidas como uma das melhores fontes de α - e β -caroteno (80-90% dos carotenóides totais) com um alto conteúdo de provitamina A. Segundo Ramos (1991) os principais carotenóides presentes na variedade Nantes das cenouras são β -caroteno (51,3%), α -caroteno (29,5%) e δ -caroteno (5,1%). Os carotenóides naturais estão presentes na configuração *trans*, que é a mais estável. Nutricionalmente, a diferença entre os isômeros *trans* e *cis* é muito importante, pois a configuração *cis* é menos potente, resultando em uma drástica redução na atividade da vitamina A (CLYDESDALE, F. M et al, 1991; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B., 1989) As cenouras cruas mostram uma variação nas quantidades dos isômeros *cis* de α - e β -caroteno, i. e, eles podem não ser detectados ou estar presentes em muito pequena quantidade. Almeida e Penteadó (1987) encontraram um aumento de aproximadamente 6% em isômeros *cis*, e uma redução correspondente em isômeros *trans* nas cenouras cruas.

Dentre os isômeros presentes, sem dúvida, o mais importante é o β -caroteno (fig. 01), que é um produto químico natural pertencente à classe dos terpenos, que possuem, geralmente, 10,15,20 ou 30 átomos de carbono e são derivados de uma unidade de 5 átomos de carbono, o isopreno(2-metil-1,3-butadieno).

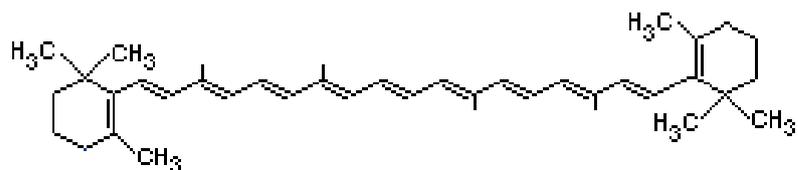


Fig. 01: β -caroteno

Os carotenos são formados por oito unidades isoprênicas e estão presentes em quase todas as plantas verdes. Os principais são o α , β e γ -caroteno e a criptoxantina. A importância dos carotenos deve-se ao fato de que nos organismos vivos superiores eles são, nas células da mucosa intestinal, transformados em vitamina A (retinol, fig. 02). Destes, conforme podemos ver na tabela 01, o mais importante é o β -caroteno, que produz duas moléculas de vitamina A, sendo sua eficiência de 100% (ESTEVEZ, 1998).

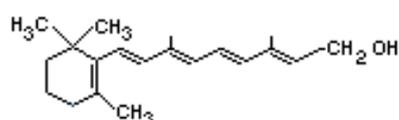


Fig. 02: Retinol

O β -caroteno natural tem uma grande importância no metabolismo dos seres vivos porque é a fonte de vitamina A do corpo humano. A vitamina A desempenha diversas atividades biológicas, como por exemplo:

- Atividade antioxidante, atuando na eliminação de diversos radicais livres do oxigênio;
- Proteção das células do ectoderma;
- Atuação nos grupos celulares específicos que irão originar os diferentes órgãos e tecidos;
- É parte constituinte das estruturas orgânicas ligadas à visão.

Estudos epidemiológicos e oncológicos recentes sugerem que altos níveis de β -caroteno no organismo podem protegê-lo contra o câncer. Seres humanos e animais mantidos em uma dieta rica em β -caroteno, têm uma menor incidência de diversos tipos de câncer. Além disso, o produto natural tem uma absorção melhor que o sintético (BEN-AMOTZ, A., AVRON, M., 1983) pois o produto natural tem uma composição isomérica diferente do artificial, que é formado por 99% do isômero all-trans.

Industrialmente o β -caroteno sintético é usado principalmente como corante em margarinas, queijos, refrigerantes, bronzeadores solares, etc...(ESTEVES, 1998).

TIPO DE CAROTENO	% DE CONVERSÃO
α -caroteno	53
β -caroteno	100
γ -caroteno	53
criptoxantina	57

Tab. 01: Eficiência de transformação dos diversos carotenos em vitamina A

3- Materiais e métodos

3.1 – Preparação das amostras

As cenouras (*Daucus carota* L.) da variedade Nantes usadas neste estudo foram adquiridas no comércio local. Foram utilizadas várias cenouras, as quais foram picadas, trituradas, misturadas e após a técnica de quarteamento, foram obtidas amostras de 5g.

3.2 – Tempo de extração dos Carotenóides

A determinação do tempo ótimo para a extração dos carotenóides foi feita empiricamente preparando-se, conforme descrito acima, seis amostras. Cada amostra foi colocada em 30 mL de éter de petróleo 40-60° e submetida à extração na ausência de luz durante diferentes períodos de tempo, a fim de encontrarmos o tempo ótimo de extração. Após, cada amostra foi filtrada com filtro Whatman 41, completando-se o volume a 30 mL e fazendo-se a leitura espectrofotométrica a 450 nm.

3.3– Extração e análise dos Carotenóides

A extração dos carotenóides foi realizada utilizando-se como solvente o éter de petróleo 40-60°. Após a extração, o conteúdo total de carotenóides existentes nos pigmentos

extraídos, foi determinado espectrofotometricamente a 450 nm. Foi usado para o β -caroteno um coeficiente de absorvidade de 2592 (RODRIGUEZ-AMAYA, D.B., 1989).

3.4 – Separação e análise do β -caroteno

A separação do β -caroteno foi realizada por cromatografia em coluna utilizando-se na preparação da coluna uma mistura de MgO/Celite na proporção de 1:1 e como eluente éter de petróleo 40-60° e acetona (10:1). Após a extração, o conteúdo total do β -caroteno existente nos pigmentos extraídos, foi determinado espectrofotometricamente a 450 nm. Foi usado para o β -caroteno um coeficiente de absorvidade de 2592.

4 - Resultados e discussão

4.1 – Determinação do tempo de extração dos carotenóides

Na determinação do tempo ideal de extração do β -caroteno em éter de petróleo 40-60°, se procedeu conforme descrito em 3.2 e os resultados obtidos podem ser vistos na tabela 02, abaixo.

Podemos inferir dos valores obtidos que o tempo ideal de extração do β -caroteno, utilizando o éter de petróleo 40-60° como extrator, se situa entre 240 e 300 minutos.

tempo (minutos)	volume solução (mL)	Absorbância
120	30	1,177
180	30	1,279
240	30	1,361
300	30	1,388
360	30	1,316
420	30	0,923

TAB.02: Cinética de extração do β -caroteno usando o éter de petróleo 40-60° como solvente

4.2 – Cálculo dos valores de carotenóides

O cálculo foi baseado na atividade de vitamina A dos precursores, α - e β -carotenos, e os fatores de correção utilizados são os sugeridos pelo Instituto Adolfo Lutz para a extração de carotenóides em produtos naturais. Os valores de vitamina A foram expressos em ER (equivalentes de retinol) em 1,00 gramas de amostra. Sabe-se que 0.6 μ g de β -caroteno são equivalentes a 1 UI (Unidade Internacional), com 1 ER sendo equivalentes a 10 UI (PINHEIRO-SANT'ANA, H.M; et al., 1998).

Foram preparadas seis amostras conforme descrito em 3.3 e de cada amostra foram retiradas três alíquotas para leitura da absorvância, e os valores encontrados podem ser vistos na tabela 03.

amostra	[carotenóides]	UI	μ g eq de retinol
1	183,6	102	30,6

2	198,0	110	33,0
3	178,2	99	29,7
4	189,0	105	31,5
5	165,6	92	27,6
6	194,6	108	32,4
média	184,8±11,8	103±7	30,5±2,0

Tab. 03: valores de carotenóides por grama de cenoura

4.3 – Cálculo dos valores de β -caroteno

Foram também preparadas seis amostras conforme descrito em 3.4 e de cada amostra foram retiradas três alíquotas para leitura da absorbância, e os valores encontrados podem ser vistos na tabela 04.

amostra	[carotenóides]	UI	μg eq de retinol
1	95,6	53	15,9
2	98,0	54	16,2
3	81,3	45	13,5
4	89,2	50	15,0
5	95,2	53	15,9
6	84,2	47	14,1
média	90,6±6,8	50±4	15,3±1,1

Tab. 04: valores de β -caroteno por grama de cenoura

5 – Conclusões

- O resultado obtido mostra que o método utilizado, apesar da sua simplicidade, logrou alcançar um resultado em torno de 85% dos valores citados na literatura para a provitamina A encontrada por 100 g de cenoura.
- A extração do β -caroteno por cromatografia em coluna mostrou-se eficiente, alcançando um valor em torno de 48% dos carotenóides presentes na cenoura.

6 - Referências

ALMEIDA, L. B. & PENTEADO, M. V. C. Carotenóides com atividade pró-vitamínica A de cenouras (*Daucus carota* L.) comercializadas em São Paulo, Brasil. **R. Farm. Bioquím. Univ. São. Paulo** v. 23 n. 2, p. 133-141, 1987.

BEN-AMOTZ, A., AVRON, M. On the Factors Which Determine Massive β -Carotene Accumulation in the Halotolerant Alga *Dunaliella bardawil*. **Plant Physiol.** v. 72, p. 593-597, 1983.

CLYDESDALE, F. M.; HO, C.; LEE, C. Y.; MONDY, N. I.; SHEWFELT, R. L. The Effects of postharvest treatment and chemical interactions on the bioavailability of ascorbic acid, thiamin, vitamin A, carotenoids and minerals. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 30 n. 6, p. 599-638, 1991.

ESTEVEES, P.C.D. **Otimização dos parâmetros do processo para a produção do β -Caroteno a partir da alga *Dunaliella bardawil***. Tese Doutorado, PUC-RJ, Rio de Janeiro, 1998, 86 p.

PINHEIRO-SANT'ANA, H.M; et al. Evaluation of total carotenoids, α - and β -carotene in carrots (*Daucus carota L.*) During home processing. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 18 n.1, p. 39-44, 1998.

RAMOS, D.M.R. **Avaliação das perdas de carotenóides e valor de vitamina A durante a desidratação e a liofilização industrial de cenoura e espinafre**. (Tese M.S.), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991, 106 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Critical review of provitamin A determination in plant foods. **J. Micronutr. Anal.**, v. 5, p. 191-225, 1989.

Informações bibliográficas:

Conforme a NBR 6023:2002 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), este texto científico publicado em periódico eletrônico deve ser citado da seguinte forma:

ESTEVEES, P. C. D.; ESTEVES, Anete Corrêa; BARLETA, V. C. N.. Extração de β -caroteno por cromatografia em coluna em cenouras (*daucus carota l.*). Cadernos UniFOA, Volta Redonda, ano 1, nº. 1, jul. 2006. Disponível em:

<<http://www.unifoa.edu.br/pesquisa/caderno/edicao/01/107.pdf>>