

DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE PIMENTAS PROVENIENTES DA REGIÃO AMAZÔNICA

CARVALHO, A. V.¹; RIOS, A. O.²; MACIEL, R. A.³; MORESCO, K. S.²; BECKMAN, J. C.³

¹ Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Agroindústria, Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/n, CEP: 66095-100, Belém, PA. E-mail: ana-vania.carvalho@embrapa.br.

² Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, nº 9500, CP 15090, CEP 91501-970, Porto Alegre, RS. E-mail: alessandro.rios@ufrgs.br, karlamoresco@gmail.com.

³ Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa, 01 - Guamá. CEP 66075-110, Belém, PA. E-mail: renan.maciell@hotmail.com, jacque_beckman@hotmail.com.

Resumo: Três genótipos de pimentas (*Capsicum annun* L. e *Capsicum chinense* Jacq) foram analisados quanto ao perfil de carotenoides e atividade antioxidante. Os carotenoides all-*trans*-luteína e zeaxantina foram encontrados em todas as amostras analisadas. O genótipo IAN 186301 se destacou em relação aos carotenoides β-criptoxantina, β-caroteno e α-caroteno, bem como em relação ao teor de carotenoides totais. Para a capacidade antioxidante a pimenta IAN 186301 também apresentou a maior atividade antioxidante (2061,57 g/g DPPH•), enquanto a pimenta IAN 186313 apresentou a menor atividade antioxidante, (4905,06 g/g DPPH•). Conclui-se que o genótipo IAN 186301 (*Capsicum annun* L.) apresenta potencial para ser selecionado em trabalhos de melhoramento genético para obtenção de variedades com alto teor de carotenoides e capacidade antioxidante.

Palavras chave: *Capsicum* spp., compostos bioativos, atividade antioxidante.

1. INTRODUÇÃO

As pimentas do gênero *Capsicum* pertencem à família Solanaceae e possuem frutos com grande diversidade genética em termos de cor, tamanho, forma, composição química e grau de pungência (CHUAH et al., 2008; CISNEROS-PINEDA et al., 2007).

As pimentas, além de micro e macronutrientes, contêm uma série de substâncias com propriedades antioxidantes que podem ter um impacto significativo sobre o curso de doenças e ser indispensável para a saúde. Dentre tais compostos destacam-se os compostos fenólicos, as antocianinas, o ácido ascórbico, os capsaicinoides e os carotenoides, substâncias que possuem efeitos importantes na proteção contra o dano oxidativo causado por radicais livres (OGISO et al., 2008).

Os carotenoides são compostos bioativos presentes nas frutas e hortaliças que, além de serem responsáveis pela cor, apresentam excelentes propriedades antioxidantes. Estes pigmentos podem atuar tanto na proteção de células contra radicais livres, como sequestrar espécies reativas de oxigênio (EDGE et al., 1997). Segundo Young e Lowe (2001) a propriedade antioxidante dos carotenoides se deve a presença de um sistema de duplas ligações conjugadas, que confere a estes a capacidade de desativar os radicais livres.

Os carotenoides presentes nas pimentas são predominantemente precursores de vitamina A (α- e β-caroteno e β-criptoxantina) e os níveis de tais compostos podem variar entre genótipos e grau de maturidade, sendo também influenciados pelas condições de cultivo e pelo processamento (CHUAH et al., 2008; ROSA et al., 2002).

Este trabalho teve como objetivo determinar os teores de carotenoides e a atividade antioxidante de três genótipos de *Capsicum* sp., pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Amazônia Oriental.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As pimentas de três genótipos de *Capsicum* spp., provenientes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Amazônia Oriental, foram colhidas no estágio maduro, no período de janeiro a dezembro de 2011. A identificação dos genótipos, bem como a coloração dos frutos quando completamente maduros, são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Identificação dos genótipos de *Capsicum* spp., provenientes do BAG da Embrapa Amazônia Oriental.

Código	Espécie	Nome Popular	Coloração
IAN 186313	<i>C. chinense</i> Jacq.	Pimenta Biquinho	Alaranjada
IAN 186309	<i>C. chinense</i> Jacq.	Pimenta Curuçazinho	Amarela
IAN 186301	<i>C. annuum</i> L.	Pimenta PMO	Vermelha

Os frutos foram embalados em sacos de polietileno e armazenados em freezer (-18°C). Para a realização das análises químicas, os frutos inteiros (casca, polpa e sementes) foram desintegrados em triturador de tecidos Turratrec (TE-102, Tecnal, Piracicaba, Brasil), sendo os ensaios realizados em triplicata.

O teor de carotenoides nos frutos foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência. A extração de carotenoides foi realizada de acordo com o método de Mercadante e Rodrigues-Amaya (1998). A extração dos pigmentos foi executada com acetona, seguido por saponificação com metanol 10 % KOH durante uma noite à temperatura ambiente. Após a remoção do álcali, o extrato foi concentrado num rotaevaporador ($T < 25^{\circ}\text{C}$), posteriormente seco em nitrogênio e armazenado no freezer (-18°C) para posterior quantificação.

Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Agilent) equipado com um desgaseificador, uma bomba quaternária de solvente e detector UV/Visível. O extrato seco foi rediluído em éter terc-butil metil (MTBE) e transferido para o ultra-som durante 5 minutos e posteriormente filtrado (Millex LCR 0,45, 13 mm) para a injeção subsequente no cromatógrafo. A coluna utilizada para carotenoides foi uma coluna de fase reversa polimérica C30 YMC ($3\ \mu\text{m}$, 250 mm x 4,6 mm). A fase móvel foi água/metanol/éter metil-terc-butílico (MTBE) a partir de 5:90:5, atingindo em 12 minutos 0:95:5, em 25 minutos, 0:89:11, 0:75:25, em 40 minutos e, finalmente, 00:50:50 depois de um total de 60 minutos, com uma taxa de fluxo de 1 mL/min a 33°C (ZANATTA e MERCADANTE, 2007). Os cromatogramas foram processados em um comprimento de onda fixo de 450 nm e a identificação dos pigmentos efetuada comparando os tempos de retenção dos picos da amostra e do controle (padrões) nas mesmas condições.

Os padrões foram adquiridos da Sigma-Aldrich e foram construídas curvas de calibração de 6 a 9 níveis de concentração com β -caroteno (5–50 $\mu\text{g/mL}$), α -caroteno (2–25 $\mu\text{g/mL}$), luteína (1–65 $\mu\text{g/mL}$), criptoxantina (4–100 $\mu\text{g/mL}$) e zeaxantina (1–40 $\mu\text{g/mL}$).

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH (BRAND-WILLIAMS et al., 1995) e os extratos de pimenta preparados de acordo com Rufino et al (2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Palevich e Crack (1995) as pimentas *Capsicum* estão entre as mais ricas fontes de carotenoides entre as hortaliças. Além disso, a variação de cor entre os diferentes genótipos de pimenta se deve aos diferentes perfis de carotenoides (GUZMAN et al., 2010). Em pimentas, existem pelo menos 34 carotenoides não esterificados que podem ser extraídos e separados através de cromatografia líquida de alta eficiência (DELI et al., 2001). Através da separação cromatográfica (Tabela 2), foi possível a identificação de cinco carotenoides (all-*trans*-luteína, zeaxantina, β -

criptoxantina, β -caroteno, α -caroteno) nas amostras analisadas. Hart e Scott (1995) também identificaram por meio de análises cromatográficas estes cinco carotenoides ao analisar quatro cultivares de *Capsicum annuum* L.

Observou-se diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os resultados dos três genótipos de pimentas *Capsicum* na análise cromatográfica de carotenoides, confirmando que a variabilidade desses compostos nas pimentas pode ser explicada por fatores genéticos.

Os carotenoides all-*trans*-luteína e zeaxantina foram encontrados em todas as amostras analisadas. Segundo Mares-Perlman et al. (2002) ambos os carotenoides auxiliam na prevenção da degeneração macular e catarata relacionada à idade.

O genótipo IAN 186301 se destacou em relação aos carotenoides β -criptoxantina, β -caroteno e α -caroteno, bem como com relação ao teor de carotenoides totais, o que indica este genótipo com potencial para ser selecionado em trabalhos de melhoramento genético para obtenção de variedades com alto teor de carotenoides. Por sua vez, o genótipo IAN 186313 se destacou com a maior concentração de all-*trans*-luteína.

Tabela 2. Carotenoides em ordem de eluição dos genótipos de pimenta com suas respectivas concentrações ($\mu\text{g}/100$ g fruto), em base seca.

Pico	Tempo retenção (min)	Concentração ($\mu\text{g}/100$ g fruto)		
		IAN 186313	IAN 186309	IAN 186301
1	18,03-18,10	687,71 + 0,66 a	89,91 + 0,65 c	195,75 + 0,25 b
2	21,07-21,18	25,56 + 0,02 c	355,68 + 0,35 b	460,03 + 3,13 a
3	31,89-32,04	ND	ND	111,12 + 0,19 c
4	38,4-38,53	ND	ND	516,64 + 0,30 a
5	42,95-43,43	ND	33,48 + 1,06 d	4442,72 + 1,0 c
Total		713,27 b	389,16 c	5726,26 a

1 - All-*trans*-luteína 2 - Zeaxantina 3 - β -Criptoxantina 4 - α -caroteno, 5 - β -caroteno.

ND: Não detectado. Os valores são expressos através das médias + desvio padrão.

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Para a avaliação da atividade antioxidante por meio da captura do radical livre DPPH os resultados foram expressos através da concentração inibitória (IC_{50}) e são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Atividade antioxidante de genótipos de pimentas *Capsicum* spp. pelo método DPPH.

Genótipo	DPPH• (g/g DPPH)
IAN 186313	4905,06 $\pm$ 106,53 a
IAN 186309	2907,02 $\pm$ 251,24 b
IAN 186301	2061,57 $\pm$ 72,86 c

Média $\pm$ desvio padrão; n=3.

Os resultados expressos em EC_{50} indicam a concentração de extrato capaz de reagir com 50% do radical presente na solução de DPPH•. Portanto, quanto menor o valor do EC_{50} , maior será a atividade antioxidante do extrato analisado. Assim, observa-se que a pimenta IAN 186301 apresentou a maior atividade antioxidante, 2061,57 g/g DPPH•, enquanto a pimenta IAN 186313 apresentou a menor atividade antioxidante, 4905,06 g/g DPPH•.

Agrupando os genótipos de pimenta avaliados em ordem decrescente de atividade antioxidante tem-se: IAN 186301 > IAN 186309 > IAN 186313.

4. CONCLUSÕES

O genótipo IAN 186301 apresentou a maior atividade antioxidante e conteúdo de carotenoides, o que indica este genótipo com potencial para ser selecionado em trabalhos de melhoramento genético para obtenção de variedades com alto teor de carotenoides e capacidade antioxidante.

REFERÊNCIAS

- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- CHUAH, A. M.; LEE, Y. C.; YAMAGUCHI, T.; TAKAMURA, H.; YIN, L. J.; MATOBA, T. Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. **Food Chemistry**, v. 111, p. 20-28, 2008.
- CISNEROS-PINEDA, O.; TORRES-TAPIA, L. W.; GUTIÉRREZ-PACHECO, L. C.; CONTRERAS-MARTÍN, F.; DELI, J.; MOLNAR, P.; MATUS, Z.; TOTH, G. Carotenoid composition in the fruits of red paprika (*Capsicum annuum* var. *lycopersiciforme rubrum*) during ripening; biosynthesis of carotenoids in red paprika. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1517-1523, 2001.
- EDGE, R.; MCGARVEY, D.J.; TRUSCOTT, T.G. The carotenoids as anti-oxidants – a review. **Journal of Photochemistry and Photobiology B**, v. 41, p. 189-200, 1997.
- GUZMAN, I.; HAMBY, S.; ROMERO, J.; BOSLAND, P. W.; O' CONNELL, M. A. Variability of Carotenoid Biosynthesis in Orange Colored *Capsicum* spp. **Plant Science**, v. 179, p. 49-59, 2010.
- HART, D. J.; SCOTT, K. J. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. **Food Chemistry**, v. 54, p. 101-111, 1995.
- MARES-PERLMAN, T. L.; FICEK, A.; KLEIN, R. G.; MILLEN, A. E.; HANKINSON, S. E. The body of evidence to support a protective role for lutein and zeaxanthin in delaying chronic disease. Overview. **The Journal of Nutrition**, v. 132, p. 518S-524S, 2002.
- MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 128-130, 1998.
- OGISO, Y.; HOSODA-YABE, R.; KAWAMOTO, Y.; KAWAMOTO, T.; KATO, K.; YABE, T. An antioxidant of dried chilli pepper maintained its activity through postharvest ripening for 18 months. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry** v. 2, p. 3297-3300, 2008.
- PALEVITCH, D.; CRAKER, L. E. J. Herbs, Spices. **Medical Plants**, v. 3, p. 55-83, 1995.
- ROSA, A.; DEIANA, M.; CASU, V.; PACCAGNINI, S.; APPENDINO, G.; MALLERO, M.; DESSI, M. A. Antioxidant activity of capsinoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, p. 7396-7401, 2002.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMAPIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; YOUNG, A.; LOWE, G. M. Antioxidant and prooxidant proprieties of carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 385, p. 20-27, 2001.
- ZANATTA, C. F.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v. 101, p. 1526-1532, 2007.