

CONSTRUÇÃO DE CURVAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DOS PRINCIPAIS CAROTENOIDES DE ALIMENTOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

ANALYTICAL CURVES CONSTRUCTION FOR DETERMINATION OF MAJOR CAROTENOIDS IN FOODS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Sidney Pacheco¹, Luzimar da Silva de Mattos do Nascimento², Ronoel Luiz de Oliveira Godoy³, Renata Galhardo Borguini⁴, Manuela Cristina Pessanha de Araujo Santiago⁵.

¹Embrapa Agroindústria de Alimentos, Brazil – sidney.pacheco@embrapa.br

²Embrapa Agroindústria de Alimentos, Brazil – luzimar.mattos@embrapa.br

³Embrapa Agroindústria de Alimentos, Brazil – ronoel.godoy@embrapa.br

⁴Embrapa Agroindústria de Alimentos, Brazil – renata.borguini@embrapa.br

⁵Embrapa Agroindústria de Alimentos, Brazil – manuela.santiago@embrapa.br

RESUMO - A procura crescente por análises de carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência tem criado a necessidade de métodos analíticos mais rápidas, tanto na parte instrumental como no tratamento das amostras. Este artigo apresenta uma forma simples e rápida de se obter padrões analíticos de carotenóides por cromatografia líquida usando matrizes vegetais facilmente encontrados. Padrões analíticos de carotenóides foram extraídos a partir de matrizes vegetais e preparados para análise: zeaxantina, β -criptoxantina, α -caroteno, β -caroteno, 13-cis- β -caroteno e 9-cis- β -caroteno. Todos os padrões obtidos foram satisfatórios quanto ao grau de pureza e em quantidades suficientes para a construção de curvas analíticas.

Palavras-chave: Padrões, carotenoides, curvas analíticas.

ABSTRACT - The growing demand for carotenoid analysis by high performance liquid chromatography generated the need for more rapid analytical methods, both in the instrumental part as in sample processing. This paper presents a simple and quick way to obtain analytical standards of carotenoids by liquid chromatography by using vegetable matrices easily found. Analytical standards of the following carotenoids were extracted from plant matrices and prepared for analyses: zeaxanthin, β -cryptoxanthin, α -carotene, β -carotene, 13-cis- β -carotene and 9-cis- β -carotene. All standards obtained were satisfactory in purity grade and in quantities for the construction of analytical curves.

Keywords: Standards, carotenoids, analytical curves.

INTRODUÇÃO

O crescente incremento na demanda analítica para a determinação de carotenoides por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) vem incentivando o desenvolvimento de metodologias analíticas cada vez mais rápidas e eficientes, o que vem ocorrendo tanto na etapa de extração dos carotenoides das diversas matrizes alimentícias quanto na etapa cromatográfica. Prova disso são as metodologias de microextração, que reduzem consideravelmente os tempos de análise, bem como o consumo de insumos, como solventes e materiais.

Os métodos cromatográficos também evoluíram consideravelmente nos últimos anos, sendo muito mais rápidos, seletivos e sensíveis. No entanto, a etapa de quantificação dos carotenoides ainda depende da disponibilidade de padrões analíticos confiáveis e de alta pureza. Apesar de disponíveis no mercado, esses padrões ainda dependem de importações e a sua labilidade química praticamente inviabiliza a sua aquisição.

O objetivo deste trabalho foi demonstrar a viabilidade do rápido preparo de padrões analíticos, utilizando a própria CLAE e fontes vegetais, facilmente encontradas no comércio ao longo de todo o ano, bem como a sua utilização para a construção das curvas analíticas.

MÉTODO

Extração dos carotenoides: A extração e saponificação dos carotenoides das matrizes escolhidas foi realizada segundo Rodrigues-Amaya (2001).

Método cromatográfico: A análise cromatográfica, bem como o isolamento dos padrões e verificação de suas purezas cromatográficas foi segundo Pacheco (2014).

Matrizes vegetais: Como fonte dos carotenoides específicos foram avaliadas as seguintes matrizes vegetais: **Zeaxantina:** Milho verde, *Solanum pseudocapsicum*, Goji Berry; **β -criptoxantina:** Caqui e Mamão formosa; **α -caroteno:** Cenoura, abóbora e óleo de Palma; **β -caroteno:** Cenoura, abóbora e óleo de Palma; **13-*cis*- β -caroteno:** Espinafre, Alface e Couve; **9-*cis*- β -caroteno:** Espinafre, Alface e Couve e, **Licopeno:** Tomate, Caqui, Melancia e Melão-de-São-Caetano.

Todas as matrizes escolhidas como fonte de carotenoides foram adquiridas no comércio varejista do Rio de Janeiro, com exceção dos frutos de Melão-de-São-Caetano, sendo estes coletados na Embrapa Agroindústria de Alimentos.

Todos os extratos dos carotenoides extraídos das matrizes escolhidas foram concentrados por evaporação de modo a se obter a máxima intensidade do sinal do pico cromatográfico, que foi estabelecida em 2 unidades de absorvância em 450nm.

A purificação dos carotenoides se deu por coleta manual, na saída do detector cromatográfico. Os picos de interesse foram coletados em frascos individuais para posterior verificação de pureza cromatográfica e quantificação espectrofotométrica. Nas condições estabelecidas foram necessárias, aproximadamente, cinco injeções de cada extrato vegetal para coleta de material suficiente para as verificações de pureza, quantificação e preparo das soluções de calibração.

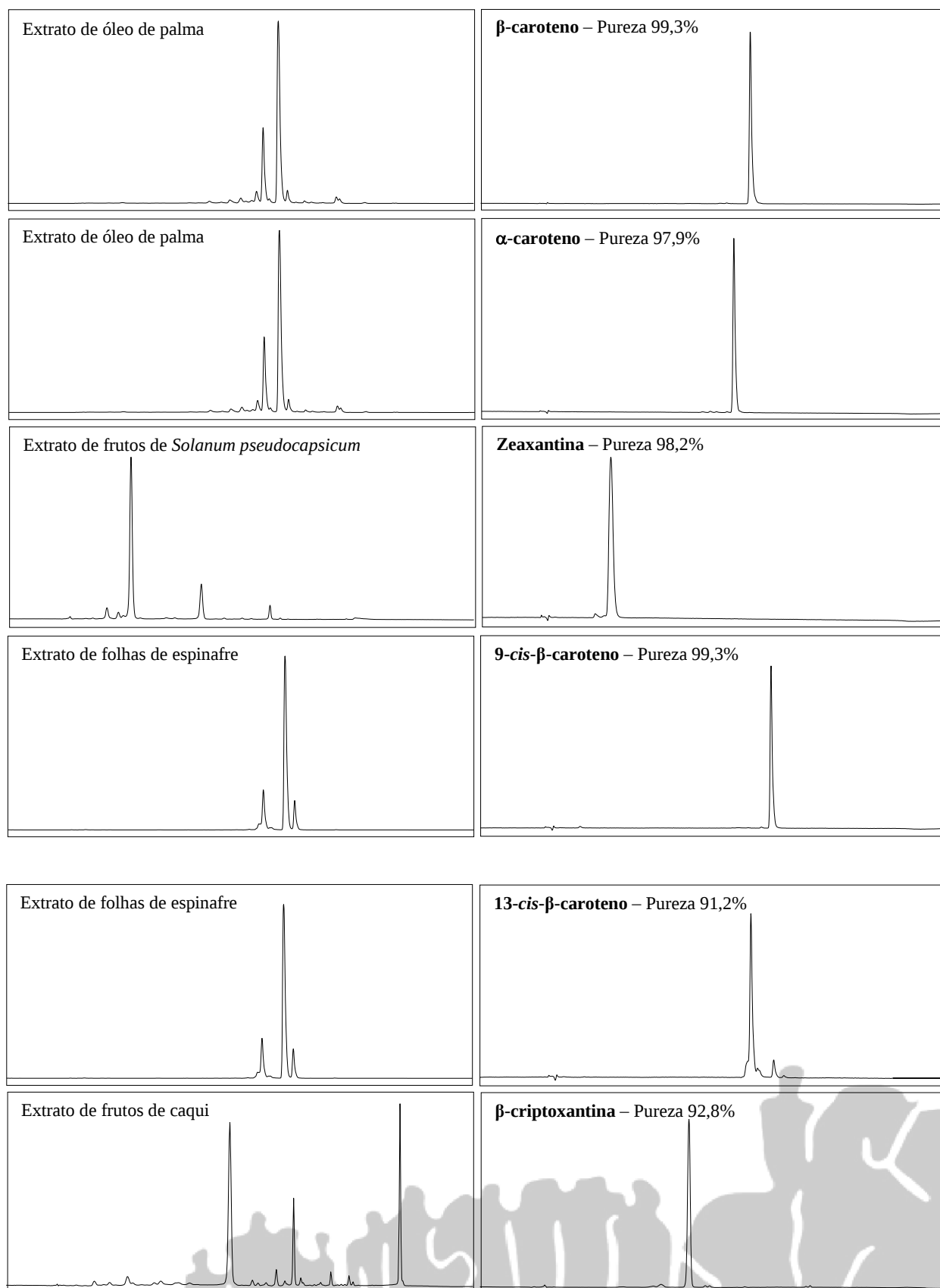
RESULTADOS E DISCUSSÃO

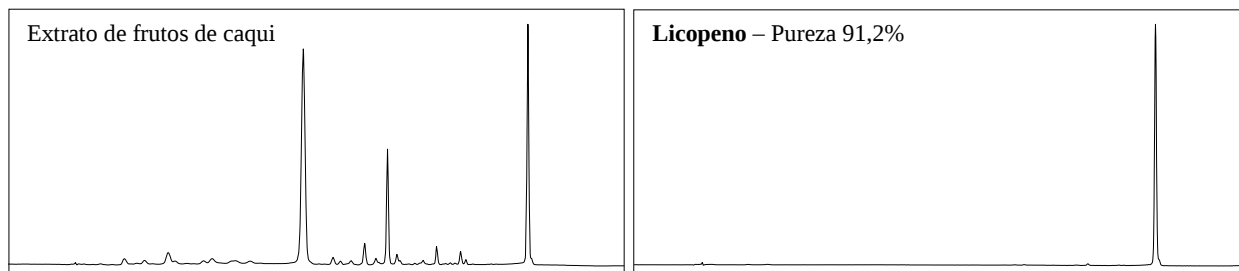
Purezas cromatográficas dos carotenoides isolados

Os pares de cromatogramas da **Figura 1** apresentam o perfil cromatográfico da matriz utilizada para isolamento via CLAE do carotenoide de interesse (esquerda) e o cromatograma do carotenoide após isolamento com a respectiva pureza obti



Figura 1 – Perfil cromatográfico dos carotenoides das matrizes vegetais escolhidas como fonte (Esquerda) e cromatograma do padrão isolado com a pureza obtida (Direita).





Construção das curvas analíticas

Após o isolamento dos carotenoides e a verificação da pureza cromatográfica, foram preparadas soluções de cada carotenoide em éter de petróleo. A quantificação das soluções foi realizada por espectrofotometria, segundo Rodrigues-Amaya (2001). Com as respectivas concentrações calculadas, foram preparadas sucessivas diluições das soluções para a construção das curvas analíticas.

CONCLUSÃO

O isolamento de carotenoides através de coleta manual do efluente do detector cromatográfico se mostrou um método rápido, eficiente e o material coletado apresentou purezas adequadas, acima de 90%, e em quantidade suficiente para a sua quantificação e uso como padrão analítico para a determinação dos principais carotenoides em alimentos.

REFERÊNCIAS

PACHECO, S.; PEIXOTO, F.; BORGUINI, R. G.; NASCIMENTO, L. S. M.; BOBEDA, C. R. R.; SANTIAGO, M. C. P. A.; GODOY, R. L. O. Microscale extraction method for HPLC carotenoid analysis in vegetable matrices. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 416-419, 2014.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. Washington, DC: International Life Sciences Institute; OMNI Press, 2001.

