



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section IV International Technical Symposium

Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 • FAURGS • GRAMADO/RS

AValiação DA BIOACCESSIBILIDADE DE CAROTENOIDES EM SUCO DE MELANCIA E PRODUTOS PROCESSADOS

L. S. Constant¹, F. S. Gomes²; A. P. O. Ribeiro³, R. L. O. Godoy⁴; L. M. C. Cabral⁵

¹ Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. BR 465 - Km 7 - Campus Universitário. CEP: 23851-970, Seropédica –RJ, Brasil – Telefone: 55 (21) 2682-1023 – Fax: 55 (21) 2682-1120 email: (liv.constant@gmail.com)

2- Embrapa Agroindústria de Alimentos – Embrapa - CEP: 23020-470 - Rio de Janeiro – RJ – Brasil - Telefone: 55 (21) 3622-9689– Fax: 55 (21) 3622-9713 – e-mail: (flavia.gomes@embrapa.br)

3- Embrapa Agroindústria de Alimentos – Embrapa - CEP: 23020-470 - Rio de Janeiro – RJ – Brasil - Telefone: 55 (21) 3622-9688– Fax: 55 (21) 3622-9713 – e-mail: (anapaula.ribeiro@embrapa.br)

4- Embrapa Agroindústria de Alimentos – Embrapa - CEP: 23020-470 - Rio de Janeiro – RJ – Brasil - Telefone: 55 (21) 3622-9774– Fax: 55 (21) 3622-9713 – e-mail: (ronoel.godoy@embrapa.br)

5- Embrapa Agroindústria de Alimentos – Embrapa - CEP: 23020-470 - Rio de Janeiro – RJ – Brasil - Telefone: 55 (21) 3622-9705– Fax: 55 (21) 3622-9713 – e-mail: (lourdes.cabral@embrapa.br)

RESUMO: Conhecida por suas agradáveis características sensoriais, a melancia é um fruto muito apreciado para consumo *in natura*. Ultimamente, tem sido relatada como uma importante fonte de licopeno, um pigmento associado à redução do risco de algumas doenças degenerativas. Diversos processos tem apresentado eficácia em concentrar e aumentar a estabilidade do licopeno a partir de frutas. Entretanto, tal incremento no teor desse composto não, necessariamente, implica em um aumento na quantidade absorvida pelo organismo humano e, conseqüentemente, na promoção da saúde do indivíduo de forma que a avaliação da liberação do composto durante a digestão, ou seja, a sua bioacessibilidade se faz necessária. Este trabalho objetivou adaptar um modelo de digestão *in vitro* para avaliação da bioacessibilidade dos carotenoides em suco de melancia e produtos processados. Os resultados de bioacessibilidade indicaram uma maior eficiência de micelarização para a amostra de suco integral, quando comparada às outras amostras.

ABSTRACT: Known for its pleasant sensory characteristics, watermelon is a fruit appreciated for fresh consumption. It has been reported as an important source of lycopene, a pigment associated with reduced risk of certain degenerative diseases. Several processes have shown efficacy in concentrating and increasing the stability of lycopene from fruits. However, such increase in the content of this compound does not necessarily imply an increase in the amount absorbed by the human body and, consequently, in promoting individual's health. So, evaluate the the release of the compound in the digestion process, that is, their bioacessibility is required. This study aimed to adapt an *in vitro* digestion model to evaluate bioacessibility of carotenoid in watermelon juice and processed products. The results indicated greater micellariation efficiency for the sample of fresh juice when compared to the other samples.

Palavras-chave: licopeno, digestão, β -caroteno, degradação



Keywords: lycopene, digestion, β -carotene, degradation

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a produção de melancia no Brasil ocupa posição de destaque no cenário mundial, apresentando uma produtividade média de 2,1 milhões toneladas/ano (IBGE, 2014).

Devido suas agradáveis características sensoriais, é um fruto muito apreciado para o consumo *in natura*. Entretanto, o desenvolvimento de produtos industrializados para o aproveitamento de frutos fora do padrão de qualidade se apresenta como uma boa alternativa para aumentar a competitividade da cadeia.

A melancia tem sido apontada como uma importante fonte de licopeno, pigmento responsável pela coloração vermelha e considerado um potente antioxidante dentre os carotenoides, sendo este capaz de neutralizar moléculas oxidantes que prejudicam as células. Seu poder antioxidante está relacionada à sua estrutura química, mais especificamente, à presença de onze duplas ligações conjugadas ao longo da sua cadeia.

Desta forma, o consumo do licopeno tem sido correlacionado à redução do risco de diversas doenças degenerativas, em especial, o câncer de próstata (Rodríguez-Amaya, 2001).

A concentração do suco de melancia é um processo que pode gerar produtos ricos em licopeno. Comparado com os processos convencionais de concentração, a tecnologia de membranas se apresenta como uma alternativa para minimizar os efeitos adversos do calor.

A liofilização é um processo de concentração por desidratação realizado em baixas temperaturas e na ausência de ar atmosférico, sendo capaz assim de minimizar as perdas nutricionais e sensoriais do produto.

A bioacessibilidade é definida como a quantidade de um nutriente que é liberado a partir da matriz de alimentos durante a digestão e disponibilizados para absorção mucosa e, geralmente, é avaliada por meio da simulação, *in vitro*, do processo de digestão.

A partir do conhecimento da fisiologia digestiva humana, os modelos de digestão *in vitro* foram desenvolvidos com o objetivo de estudar, através da simulação das condições gastrointestinais, as alterações estruturais, a digestibilidade e a liberação de compostos presentes nos alimentos (Failla e Chitchumroonchokchai, 2005).

Neste contexto, a proposta desse trabalho foi avaliar a adaptação de um método de digestão *in vitro* para avaliação da bioacessibilidade dos carotenoides em suco de melancia integral e em um extrato concentrado e um produto em pó obtidos a partir do suco.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

2.1.1 Matéria-prima

Como matéria-prima, utilizaram-se frutos de melancia adquiridos em comércio local.

2.1.2 Reagentes

Acetona e éter de petróleo grau HPLC, os sais (KCl, KSCN, NaH_2PO_4 , Na_3PO_4 , NaCl, CaCl_2) e as enzimas (α -amilase, uréia, pancreatina, pepsina, mucina, lipase e o extrato de bile) foram adquiridos da marca Sigma-Aldrich®. Utilizou-se ainda cloreto de sódio grau P.A, sulfato de sódio anidro da marca Tedia, HCl da Merck® e água Milli-Q para o preparo das soluções.



2.2 Métodos

2.2.1 Obtenção do suco de melancia

Os frutos foram previamente higienizados e sanitizados. Posteriormente, foram cortados manualmente, descascados e despulpados em despulpadeira horizontal da marca Bonina 0,25 df, obtendo-se assim o suco integral. O mesmo foi acondicionado em embalagens de polietileno e armazenado em câmara de congelamento a - 18 °C.

2.2.2 Microfiltração e diafiltração

O suco integral foi concentrado por microfiltração (MF) conforme descrito por Gomes et al (2011). O processo foi realizado com membrana tubular de α -alumina (α -Al₂O₃), com diâmetro médio de poros de 0,2 μ m. A microfiltração foi conduzida em regime de concentração até atingir um fator de concentração volumétrico (FCV) igual a 6.

Em seguida, o processo de microfiltração passou a ser conduzido em regime de diafiltração descontínua para que houvesse a purificação da fração retida. Para tal, água destilada foi utilizada como fluido de lavagem. A mesma foi adicionada ao tanque de alimentação contendo o suco retido no processo de MF. O suco foi, então, microfiltrado até a remoção da mesma quantidade de água adicionada ao sistema. O processo foi repetido até o teor de sólidos solúveis atingir o valor de 1°Brix ou menos.

2.2.3 Liofilização

O extrato, rico em licopeno, foi colocado em bandejas de aço inoxidável e levado à câmara fria a - 18°C por 12 h para congelamento. A liofilização foi realizada na amostra previamente congelada em liofilizador modelo Edwards Pirani 50I. Os parâmetros do processo foram: pressão total de -1 atm e temperatura igual -40° C em um ciclo de 30 horas. Para favorecer um melhor manuseio do produto em pó após a liofilização, o mesmo foi moído, com congelamento prévio da amostra por adição de nitrogênio líquido à mesma, em moinho de facas IKA A11. O pó obtido foi acondicionado em embalagens de alumínio que foram seladas a vácuo, e mantidas em dessecador sob congelamento a -18°C .

2.3 Métodos analíticos

2.3.1 Teor de carotenoides totais

Inicialmente os carotenoides das amostras foram extraídos utilizando a metodologia proposta por Rodriguez-Amaya (2001). Foi utilizada a extração em macroescala para as amostras de suco integral e concentrado, onde pesou-se, respectivamente, 1,5 g e 0,3 g de amostra em bécher. Para a amostra em pó, realizou-se a extração em microescala, pesando aproximadamente 0,01g em tubos de microcentrífuga de 2mL, conforme procedimento descrito por Pacheco et al. (2014).

A determinação do conteúdo de carotenoides totais foi realizada através da leitura da absorvância do extrato, em espectrofotômetro a 470 nm.

2.3.2 Determinação da bioacessibilidade

A bioacessibilidade dos carotenoides foi determinada através da simulação, *in vitro*, das fases oral, gástrica e intestinal do processo de digestão, de acordo com a metodologia reportada por Oomen et al. (2003), incorporando adaptações propostas por Failla & Chitchumroonchokchai (2005).



Foram pesados 10 g para a amostra de suco integral, 5 g para o extrato concentrado e 0,1 g da amostra em pó, seguido da adição de 5% de óleo de canola em relação às massas das amostras de suco integral e concentrado. Ensaio preliminares indicaram que a biocassibilidade dos carotenoides na amostra em pó se deu utilizando-se 250% de óleo em relação à massa de amostra.

Todas as amostras foram pesadas em quadruplicata, em tubos Falcon de 50 mL, seguida da adição dos valores de óleo previamente estipulados. Todas as soluções de enzimas foram utilizadas até no máximo 24 horas após o seu preparo

2.3.2.1 Fase oral

Adicionou-se 7 mL de solução saliva, em cada tubo. A mesma é composta por α -amilase, mucina e uma mistura de sais (KCl, KSCN, NaH_2PO_4 , Na_3PO_4 , Uréia, NaCl, CaCl_2), como descrito por Oomen et al. (2003). Os tubos foram transferidos para o banho orbital, a 37°C a 60 rpm por 10 minutos. Após este tempo, os tubos foram transferidos para banho de gelo, a fim de se inibir a ação enzimática.

2.3.2.2 Fase gástrica

Para a fase gástrica, inicialmente adicionou-se solução A (120 mM NaCl, 6 mM CaCl_2 e 5 mM KCl) até a marca de 30 mL de cada tubo proveniente da etapa oral. Agitou-se em vórtex. O pH da solução foi ajustado para $2,5 \pm 0,1$, utilizando HCl 1M. Adicionou-se 2mL da solução de pepsina estoque (40 mg/mL HCl 100 mM). O volume foi ajustado para 40 mL com solução A. Em seguida os tubos foram incubados novamente em banho com agitação orbital por 1 h, nas mesmas condições descritas anteriormente. Após este tempo, os tubos foram colocados em banho de gelo, para inibir a ação enzimática.

2.3.2.3 Fase intestinal

Na fase intestinal, ajustou-se o pH dos tubos para $6,0 \pm 0,1$ através da adição de NaHCO_3 1M. Posteriormente, foram adicionados 3 mL de solução estoque de extrato de bile (40 mg extrato de bile/ mL NaHCO_3 100 mM) e 2 mL de solução estoque de pancreatina-lipase (10 mg de pancreatina + 5 mg lipase/ mL NaHCO_3 100 mM), e o pH foi ajustado para $6,5 \pm 0,2$ com a adição de NaOH 1M. O volume foi aferido para 50 mL com a solução A e os tubos foram colocados no banho com agitação orbital por 2 h, nas mesmas condições descritas anteriormente. Após este tempo, os tubos foram transferidos para banho de gelo, para inibir a ação enzimática.

2.3.2.4 Preparo da fração micelar

Para a separação da fração micelar, os tubos retirados do banho de gelo provenientes da etapa intestinal foram homogeneizados em vórtex, sendo transferidos 15 mL para novos tubos de centrífuga e centrifugados a 4000 g por 30 minutos. A fração aquosa foi nomeada como fração micelar (Failla e Chitchumroonchokchai, 2005).

2.3.2.5 Extração da fração micelar

A extração dos carotenoides da fração micelar foi realizada através da transferência do conteúdo dos tubos para funil de separação já contendo 10 mL de éter de petróleo. Em



seguida, realizou-se a lavagem da fase orgânica com 200 mL de solução de Na₂SO₄ 2%. A fase orgânica foi filtrada em funil com lã de vidro contendo Na₂SO₄ anidro, e recolhida em balão volumétrico âmbar (Fernandez-Garcia et al., 2009). Posteriormente, realizou-se a leitura da absorvância do extrato etéreo a 470 nm em espectrofotômetro.

A bioacessibilidade foi calculada pela eficiência da micelarização, ou seja, a razão entre a quantidade de carotenoides nas micelas e a quantidade presente na amostra inicial no momento do ensaio da bioacessibilidade, como indica a Equação 1.

$$\text{Eficiência de micelarização} = \frac{[\text{Licopeno na fração micelar}]}{\text{Licopeno na Matriz}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

2.3.3 Análise estatística dos dados

Os resultados foram submetidos ao tratamento estatístico para análise de variância (ANOVA), pelo teste de Tukey com significância de 0,05, por meio do software XLSTAT 7,0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de carotenoides totais das amostras no momento da realização dos ensaios de bioacessibilidade estão apresentados na Tabela 1. A caracterização inicial das amostras é importante uma vez que o cálculo da bioacessibilidade leva em consideração a fração do composto alvo liberada após o processo de digestão.

Tabela 1: Teor de carotenoides totais nas amostras de suco de melancia

Amostra	Concentração na amostra (µg/g)
Integral	67,09 ± 7,65
Extrato concentrado	258,30 ± 16,3
Pó	3964,27 ± 389,21

A Tabela 2 apresenta os resultados de bioacessibilidade dos carotenoides das amostras.

Tabela 2: Resultados de bioacessibilidade das amostras de suco de melancia

Amostra	Óleo adicionado (%p/p)	Concentração na micela (µg/g)	Bioacessibilidade (%)
Integral	5%	1,33 ± 0,15	2,22±0,16
Extrato concentrado	5%	0,84 ± 0,15	0,36±0,03
Pó	250%	56,90 ± 1,58	1,44±0,04

O suco integral apresentou a maior bioacessibilidade dentre as amostras, tendo uma eficiência de micelarização de 2,22%.

Embora o extrato concentrado tenha apresentado um teor de carotenoides aproximadamente 4 vezes maior que o suco integral, não foi verificado efeito da concentração sobre a bioacessibilidade, sendo esta, aproximadamente, 6 vezes menor. Tal fato pode ser justificado pelo provável aumento do teor de fibras durante o processo de concentração, as



quais influem negativamente na bioacessibilidade dos carotenoides, provavelmente, pela interação destas com os ácidos biliares, o que dificulta a formação das micelas. Além disso, a água remanescente no extrato concentrado pode ter prejudicado a extração dos carotenoides da matriz devido ao caráter hidrofóbico que estes compostos possuem, favorecendo sua permanência no interior dos cromoplastos.

A amostra em pó apresentou um valor de bioacessibilidade 4 vezes maior que a amostra de extrato concentrado, o que pode ser justificado pelo efeito do menor teor de água sobre a extração dos carotenoides da matriz, mencionado anteriormente, associado ao fato da amostra ter sido finamente moída, o que aumentou a superfície de contato desta com o óleo de canola, as soluções enzimáticas e os sais biliares durante as etapas da digestão *in vitro*.

Ainda que a amostra liofilizada, o extrato concentrado e o suco de melancia *in natura* possuam o licopeno como carotenoide majoritário, não se pode afirmar que somente este composto foi liberado da matriz alimentar. De acordo com Failla e Chitchumroonchokchai (2005), quanto mais apolar for o carotenoide, mais difícil será a sua micelarização. Sendo o β -caroteno menos apolar que o licopeno, em função da presença do anel β -ionona nas extremidades da sua cadeia, é possível que neste caso, tenha ocorrido apenas a micelarização deste.

4 CONCLUSÃO

O modelo de digestão *in vitro* foi apropriado para investigar a bioacessibilidade dos carotenoides do suco de melancia e dos produtos processados, uma vez que viabilizou a quantificação destes compostos na fração micelar após a digestão *in vitro*.

5 AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro

6 REFERÊNCIAS

FAILLA, M L & CHITCHUMROONCHOKCHAI, C. In vitro models as tools for screening the relative bioavailabilities of provitamin A carotenoids in foods. *HarvestPlus Technical Monograph*, 2005.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; CARVAJAL-LÉRIDA, I.; PÉREZ-GÁLVEZ, A. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition research (New York, N.Y.)*, v. 29, n. 11, p. 751–60, 2009.

GOMES, F.S.; Costa, P. A.; CAMPOS, M.B.D.; COURI, S.; CABRAL, L.M.C. (2011). Concentration of watermelon juice by reverse osmosis process. *Desalination and Water Treatment*, 27, 120-122.

IBGE. Produção agrícola municipal – Culturas temporárias e permanentes. Volume 41. Disponível em < http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2014_v41_br.pdf > . Acesso em: 06/10/2014.

OOMEN, A. G. *et al.* Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 44, n. 3, p. 281–7, 2003.

PACHECO, S.; PEIXOTO, F. M.; BORGUINI, R. G.; NASCIMENTO, L. S. M.; BOBEDA, C. R. R.; SANTIAGO, M. C. P. A.; GODOY, R. L. O. (2014). Microscale extraction method for HPLC carotenoid analysis in vegetable matrices. *Scientia Agricola*, 71:5, 416-419.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. *A guide to carotenoid analysis in foods*. EUA: OMNI Reseach. 64 p. , 2001.