

Determinação via cromatografia líquida de alta eficiência dos teores e tipos de carotenóides em distintos grupos varietais de melão cultivados no Brasil.

Maria Esther de Noronha Fonseca^{1,2}; José Getulio Filho^{1,3}; Elaine Dias da Silva^{1,3}; Valter Rodrigues Oliveira¹; Leonardo S. Boiteux^{1,2}

¹Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNPq), Embrapa Hortaliças, CP 218, 70359-970, Brasília-DF, Brasil; ²Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq/MCT, ³Universidade de Brasília (UnB) – Departamento de Química, Universidade de Brasília, CEP 70910-900, Brasília-DF, Brasil.

RESUMO

Análises sobre composição de carotenóides em frutos de cultivares melão têm sido conduzidas em diversas partes do mundo. No entanto, pouco se sabe sobre os teores e tipos de pigmentos carotenóides em cultivares dos principais grupos varietais atualmente em cultivo no Brasil. O objetivo deste trabalho foi caracterizar, via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), os teores e tipos destes carotenóides de ação pró-vitáminica e/ou antioxidante em acessos de cinco grupos varietais cultivados no Brasil. Carotenóides foram extraídos de polpas de acessos dos seguintes grupos varietais de melão: 'Charentais' (polpa laranja); 'Gália Amarelo' (polpa branca); 'Pele-de-sapo' (polpa amarela); 'Amarelo Valenciano' (polpa branca) e 'Gália Verde' (polpa amarela). O teor de carotenóides totais foi obtido em um espectrofotômetro e posteriormente foi feita a análise por CLAE em coluna C18 polimérica, utilizando-se uma mistura de solventes orgânicos como fase móvel. O perfil de carotenóides obtido via CLAE indicaram a predominância dos pigmentos luteína, beta-caroteno, neoxantina e zeaxantina no acesso do grupo 'Amarelo Valenciano'. No entanto, foi observada uma grande variação no teor destes carotenóides entre os diferentes grupos varietais de melão. Em polpas de cor laranja houve o acúmulo de até 153 mg/g de beta-caroteno na cultivar

do grupo 'Charentais'. O acesso do grupo 'Pele-de-sapo' também acumulou altos teores de beta-caroteno (103 mg/g), bem como o acesso do grupo 'Gália Verde' (50 mg/g). Os outros acessos de polpa creme/branca acumularam teores de beta-caroteno que variaram de 8mg/g ('Gália Amarelo') a 20 mg/g ('Amarelo Valenciano'). Os resultados indicaram uma grande variedade de pigmentos carotenóides. No entanto, a suplementação mais ampla de elementos funcionais pode ser obtida somente através do consumo de diferentes tipos varietais. Existe também a possibilidade de aumentar os teores de beta-caroteno na maioria dos acessos analisados usando o grupo 'Charentais' como fontes de genes.

Palavras-chave: *Cucurbita melo* L., pigmentos nutracêuticos, melhoramento.

ABSTRACT

High performance liquid chromatography analysis of carotenoid content and types in melon variety groups cultivated in Brazil.

The carotenoid content and composition of melon (*Cucumis melo* L.) fruits is dependent upon their pulp color. Several analyses have been conducted to estimate carotenoid profile of melon cultivars in many countries. However, little is known about the carotenoid content and composition in the

variety groups cultivated nowadays in Brazil. The main objective of the present work was to characterize via high performance liquid chromatography (HPLC) the content and types of carotenoids with pro-vitamin A and antioxidant activities in accessions of five variety groups cultivated in Brazil. Carotenoids were extracted from accessions of the following groups: 'Charentais' (orange flesh); 'Gália Amarelo' (white flesh); 'Pele-de-sapo' (orange flesh); 'Amarelo Valenciano' (white flesh) and 'Gália Verde' (orange flesh). The total amount of carotenoid was obtained with spectrometry and with HPLC using a C18 polymeric column and organic solvents in the mobile phase. The HPLC carotenoid profile indicated the presence lutein, beta-carotene, neoxantin e zeaxantin in the leader variety group 'Amarelo Valenciano'. A large variability for composition and content was observed in

the other varietal groups. It was observed beta-carotene levels of 153 mg/g in the orange-fleshed accession of the 'Charentais' group; 103 mg/g in the 'Pele-de-sapo' accession and 50 mg/g in the 'Gália Verde' group. Accessions with white flesh were able to accumulate lower levels of beta-carotene (e.g. 'Amarelo Valenciano' with 20 mg/g and 'Gália Amarelo' with 8mg/g). Therefore, a more balanced supplement of carotenoid pigments with nutraceutical properties can only be obtained with the consumption of distinct melon varietal types. In addition, beta-carotene content can be improved via breeding in the majority of the accessions analyzed using 'Charentais' accession as gene sources.

Keywords: *Cucurbita melo* L., breeding, nutraceutical pigments.

As hortaliças apresentam um papel de relevo quanto aos aspectos de nutrição vitamínica e também como fontes de moléculas antioxidantes. Entre as hortaliças de maior destaque nutricional encontram-se espécies da família das cucurbitáceas. Os melões (*Cucumis melo* L.) de polpa alaranjada acumulam principalmente b-caroteno (precursor da vitamina A) e apresentam ainda luteína e zeaxantina, pigmentos relacionados com a proteção de doenças da retina. Além de acumularem estes nutrientes, o melão apresenta diversas variedades adaptadas para cultivo nas regiões mais carentes em vitamina A no Brasil tais como a região do Vale do Rio Açu e o pólo Petrolina-Juazeiro. Um fato importante a ser destacado é que o melão apresenta tradição de consumo no país inteiro (Queiroz *et al.*, 1999). A composição e o conteúdo de carotenóides em melão são variáveis de acordo com a cor do fruto. Análises de variedades norte-americanas de melão indicam que os teores de carotenóides totais podem variar de 1mg/g (frutos de polpa verde) até 31mg/g (frutos de polpa laranja) (Navazio, 1994). No entanto, valores acima de 33µg/g de b-caroteno têm sido comumente observados em frutos de variedades comerciais de melão (Lester & Eischen, 1996). Acessos de polpa alaranjada apresentam, predominantemente, o pigmento b-caroteno (com ação de pró-vitamina A) com pequenas percentagens de z-caroteno e a-caroteno (Vavich & Kemmerer, 1950; Watanabe *et al.*, 1987). Pequenas quantidades de a-caroteno, fitofluene, z-carotene e xantofilas são usualmente presentes em todos os tipos de melões (Watanabe *et al.*, 1987). O pigmento b-caroteno é ainda o pigmento predominante em cultivares de polpa laranja clara (ex: 'Hales's Best'), mas com valores bem menores (em torno de 4mg/g) (Watanabe *et al.*, 1987). Em melões com polpa verde (ex: 'Earl's Favorite') o b-caroteno apresenta traços e as xantofilas se apresentam como os pigmentos predominantes. Estas análises do perfil de carotenóides em cultivares de melão relatam a composição destes pigmentos em variedades comercializadas em diversas partes do mundo. No entanto, pouco se sabe sobre os teores e tipos de pigmentos carotenóides em cultivares dos principais

grupos varietais atualmente em cultivo no Brasil. O objetivo deste trabalho foi caracterizar via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) os teores e tipos destes carotenóides de ação pró-vitâmica e/ou antioxidante em acessos de cinco grupos varietais de melão cultivados no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Extração de carotenóides: Foram avaliadas casca e polpa de cinco grupos varietais de melão 'Charentais' (polpa laranja, casca cinza-prateada); 'Gália Amarelo' (polpa branca, casca amarela brilhante); 'Pele-de-sapo' (polpa amarela, casca verde); 'Amarelo Valenciano' (polpa branca, casca amarela) e 'Gália Verde' (polpa amarela, casca verde) (Figura 1). A casca dos frutos foi cortada em segmentos pequenos, pesada, congelada com nitrogênio líquido e triturada em almofariz até atingir a aparência de um pó fino. As amostras trituradas das cascas (2g cada repetição) foram guardadas a -30°C até a extração com acetona. A polpa foi cortada em segmentos pequenos, pesada (2g cada repetição) e guardada congelada a -30°C em frascos escuros até a extração com acetona. A extração dos carotenóides foi efetuada utilizando-se acetona e as amostras foram homogeneizadas em um agitador do tipo polytron. **Análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE):** Na análise por CLAE, a separação foi feita de forma isocrática em uma coluna monomérica C18 (Spherisorb S3 ODS2) de fase reversa 3 mm, 4.6 x 150 mm. A fase móvel foi composta por acetonitrila:metanol:etil acetato (8:1:1) e o fluxo foi de $0,8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (Rodrigues-Amaya, 2001). O teor de carotenóides totais foi obtido a partir dos dados de massa e absorvância a 450 nm em éter de petróleo, utilizando-se a fórmula: $[(\text{Abs}_{450\text{nm}}) \cdot 1000000 \cdot 100] / (2592 \cdot 100) / \text{massa(g)}$. A caracterização dos carotenóides foi feita através do espectro de absorção característico e tempo de retenção para cada pigmento (Britton, 1976; Britton *et al.*, 1982). Os teores de luteína, alfa-caroteno e beta-caroteno foram estimados através das porcentagens dos picos nos cromatogramas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tipos de carotenóides encontrados na polpa dos frutos de melão foram bastante similares nas várias amostras avaliadas. No entanto, foi observada uma grande variação nos teores destes carotenóides entre os diferentes grupos varietais de melão. A Figura 2 mostra o perfil de carotenóides obtido via CLAE onde são indicados os picos de luteína, beta-caroteno, neoxantina e zeaxantina no acesso analisado do grupo 'Amarelo Valenciano'. Em polpas de cor laranja houve o acúmulo de até 153 mg/g de beta-caroteno no acesso do grupo 'Charentais'. O acesso do grupo 'Pele-de-sapo' também acumulou altos teores de beta-caroteno (103 mg/g), bem como o acesso do grupo 'Gália Verde' (50?mg/g). Os acessos de polpa creme/branca acumularam valores entre 8mg/g ('Gália Amarelo') e 20?mg/g ('Amarelo Valenciano') de beta-caroteno. Não houve sucesso na extração de carotenóides do tecido da casca de melão, sendo que apenas traços de luteína foram observados em análise via CLAE. Este resultado não explica a coloração amarelo brilhante observada nos frutos da cultivar de grupo 'Amarelo Valenciano', atualmente o grupo varietal com liderança e mais conhecido pelo público consumidor no Brasil. Os resultados indicam uma grande variedade de pigmentos carotenóides. No entanto, a complementação de elementos funcionais

somente pode ser obtida através do consumo de diferentes tipos varietais de melão comercializados no Brasil. Os resultados também indicaram a possibilidade de aumentar os teores de beta-caroteno na maioria dos acessos analisados usando o grupo 'Charentais' como fontes de genes.

REFERÊNCIAS

- BRITTON G. 1976. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. 2nd Edition, Volume 1 (ed. Goodwin, T. W.) p. 262–327, Academic, Press, New York,
- BRITTON G; ARMITT, GM; LAU SYM; PATEL, AK; SHONE CC. 1982. *Carotenoid Chemistry and Biochemistry* In: Britton G. & Goodwin TW (eds.), pp. 237-251. IUPAC-Pergamon, Oxford,
- LESTER GE; EISCHEN F. 1996. Beta-carotene content of postharvest orange-fleshed muskmelon fruit: effect of cultivar, growing location and fruit size. *Plant Foods and Human Nutrition* 49: 191-197,
- NAVAZIO JP. 1994. Utilization of high-carotene cucumber germplasm for genetic improvement of nutritional quality. Ph.D. Dissertation, University of Wisconsin-Madison, Madison-WI, EUA. 116pp.
- RAMALHO RA; FLORES, H; SAUNDERS C. 2002. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. *Pan American Journal of Public Health J Public Health*, 12(2),
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. *A Guide to Carotenoids Analysis in Food*. Washington: International Life Sciences Institute Press, 2001. 64p.
- SANTOS LMP; FILHO MB; SILVA-DINIZ A. Epidemiologia da carência de vitamina A no nordeste do Brasil. *Boletim de la Oficina Sanitária Panamericana* 120: 523-537, 1996.
- QUEIROZ MA; RAMOS SRR; MOURA MCCL; COSTA MSV; SILVA MAS. 1999. Situação atual e prioridades do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de cucurbitáceas do Nordeste Brasileiro. *Horticultura Brasileira*, 17: 25-29,
- SMIDT CR; BURKE, DS. 2004. Nutritional significance and measurement of carotenoids. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 2: 79-91,
- VAVICH MG; KEMMERER AR. 1950. The carotenes of cantaloupes. *Food Research* 15: 494-496.
- WATANABE K; SAITO T; HIROTA S; TAKAHASHI B. 1987. Carotenoid pigments in red, orange and yellow-fleshed fruits of watermelon (*Citrullus vulgaris*). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 56: 45-50,

Determinação via cromatografia líquida de alta eficiência dos teores e tipos de carotenóides em distintos grupos varietais de melão cultivados no Brasil.

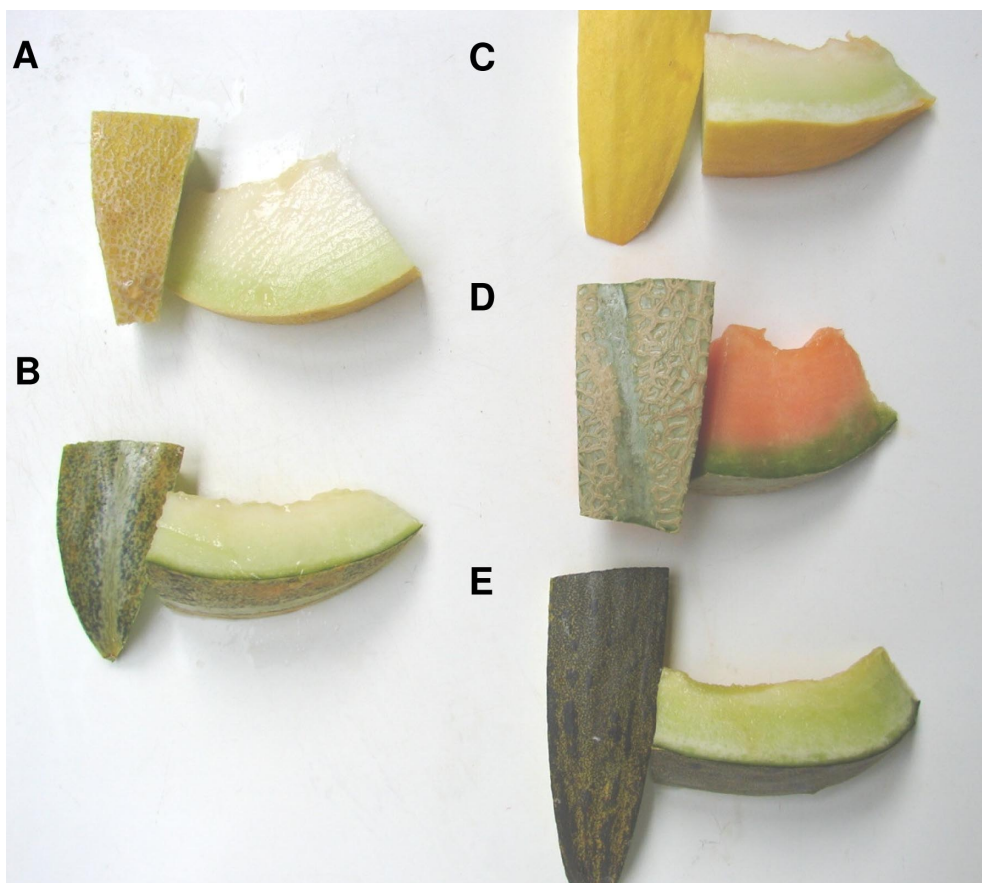


Figura 1. Amostras de frutos de cinco grupos varietais de melão. Os frutos apresentam distintas colorações de polpa e casca que foram analisadas para teores e tipos de carotenóides via CLAE. (A) = 'Gália Amarelo'; (B) = 'Gália Verde'; (C) = 'Amarelo Valenciano'; (D) = 'Charentais'; (E) = 'Pele-de-sapo'. [Fruit samples of five varietal group of melon. Fruits displaying distinct flesh colors were analyzed for the amount and types of carotenoid pigments via HPLC. (A) = 'Yellow Net Galia'; (B) = 'Green Galia; (C) = 'Amarelo Valenciano'; (D) = 'Charentais'; (E) = 'Piel-del-sapo' Embrapa-Hortaliças, Brasília, 2010].

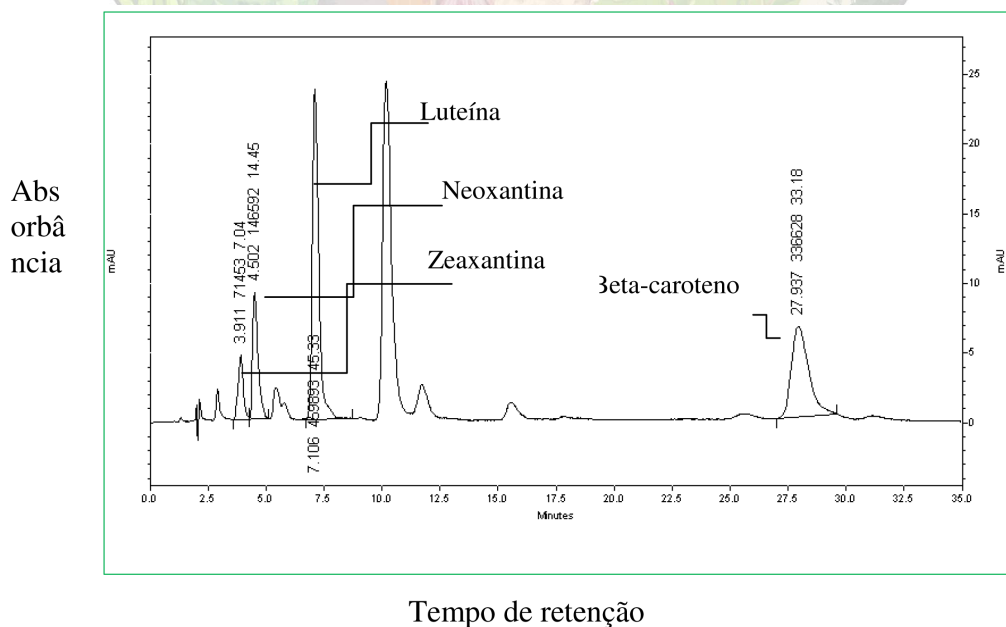


Figura 2. Perfil e teores de carotenóides de uma cultivar de melão do grupo varietal 'Amarelo Valenciano'. [Carotenoid profile and content of a 'Amarelo Valenciano' cultivar. Embrapa-Hortaliças, Brasília, 2010]