

Desenvolvimento de um material de referência interno para a determinação de carotenóides em matrizes alimentares

Mafalda Silva^{a,b}, Celeste Serra^b, M. Graça Dias^a

^a Departamento de Alimentação e Nutrição (DAN), Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P.
Av. Padre Cruz, 1649-016 LISBOA – PORTUGAL

^b Centro de Investigação em Engenharia Química e Biotecnologia, Área Departamental de Engenharia Química
Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Rua Conselheiro Emídio Navarro nº 1, 1959-007 LISBOA - PORTUGAL
e-mail: m.graca.dias@insa.min-saude.pt



Introdução

A determinação de carotenóides em alimentos é frequentemente realizada através de HPLC. No entanto, esta técnica aplicada à determinação de carotenóides é morosa, tem custos relativamente elevados e é propensa a erros, visto que estes compostos existem em grande número, são quimicamente semelhantes e instáveis, e de difícil extração. Por outro lado, os materiais de referência certificados apresentam custos muito elevados.

Objetivos

Desenvolvimento de um material de referência interno, à base de frutos e produtos hortícolas, contendo os carotenóides determinados no laboratório, para a otimização do controlo de qualidade interno.

Material e Métodos

Após estudo de diferentes produtos/composições, produziu-se e homogeneizou-se uma mistura composta por polpa de tomate, pêssego em calda e papa de bebé à base de cenoura e brócolos. Com vista a estudar a homogeneidade da mistura foram analisadas aleatoriamente, em duplicado, 12 sub-amostras, conforme se ilustra na figura 1.

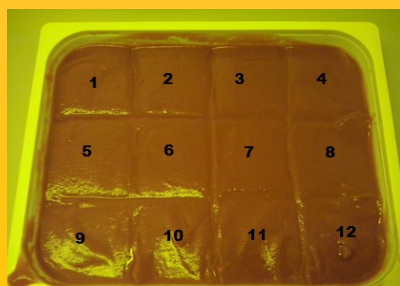


Figura 1 – Material de referência interno

Procedimento Analítico

A amostra foi homogeneizada recorrendo ao moinho Retsch Grindomix GM-300. A composição em carotenóides (α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, luteína, zeaxantina) das 12 sub-amostras foi avaliada recorrendo ao método de HPLC acreditado no laboratório para a determinação de carotenóides[1].

2,5 g de cada sub-amostra (1 a 12), em duplicado.

Extração
3 X 50 mL metanol (MeOH):tetra-hidrofurano (50:50)

Evaporação do solvente
40°C, vácuo, N₂

Reconstituição em 5 mL de fase móvel

Saponificação
0,75 mL KOH (10%)

Reconstituição em 2 mL de fase móvel

Coluna: Vydac201TP54, 5 μ m, 250 x 4,6 (mm)
Fase móvel: Acetonitrilo:MeOH (0,05 M Acetato de amónio): Diclorometano, 75:20:5, v/v/v

Caudal: 1,5 mL/min
Volume injeção: 50 μ L
Deteção: 473 nm para licopeno; 450 nm para restantes analitos
Quantificação: Externa; baseada na área dos picos; reta de calibração com 6 níveis.

Resultados e Discussão

Na tabela 1 encontram-se os teores médios obtidos para cada analito no material em estudo.

Tabela 1 – Composição em carotenóides da amostra em estudo

Analito	Teor (mg/100g)
α -caroteno	0,220
β -caroteno	0,690
β -criptoxantina	0,120
licopeno	1,70
luteína	0,051
zeaxantina	0,041

Os resultados obtidos para os 24 replicados foram analisados estatisticamente recorrendo ao teste de Cochran e à análise de variâncias, de acordo com o procedimento descrito em [2].

Tabela 2 – Teste de Cochran

Analito	Valor Observado	Valor Crítico
α -caroteno	0,388	0,540
β -caroteno	0,430	0,540
β -criptoxantina	0,378	0,540
licopeno	0,404	0,788
luteína	0,725	0,788
zeaxantina	0,473	0,540

Como se pode observar (tabela 2) os valores do teste de Cochran para cada analito são inferiores aos respetivos valores críticos, o que significa que não existem evidências de outliers.

Tabela 3 – Teste para aceitação da variância entre sub-amostras

Analito	Variância entre sub-amostras	Valor Crítico
α -caroteno	0,0144	0,0282
β -caroteno	0,210	0,490
β -criptoxantina	0,00340	0,00886
licopeno	1,72	1,87
luteína	0,000854	0,00122
zeaxantina	0,000631	0,000934

Para cada analito, a estimativa da variância entre sub-amostras foi comparada com o respetivo valor crítico, calculado a partir da variância analítica e da variância entre sub-amostras admissível (tabela 3). Com base nos resultados obtidos, podemos afirmar que o material desenvolvido é suficientemente homogêneo.

Conclusões

- De acordo com os resultados, o material obtido tem uma composição em carotenóides adequada para material de referência interno no método analítico em estudo.
- Os testes estatísticos aplicados aos resultados analíticos permitiram concluir que a matriz composta estudada é homogênea para os diferentes analitos.
- Estes resultados complementados com os estudos de estabilidade a médio/longo prazo, realizados no laboratório para matrizes semelhantes, permitiram concluir que este material é adequado para utilização em rotina como material de referência interno, conduzindo a um melhor controlo do método analítico e à redução de custos.

Referências

- [1] Dias M. G., Camões M. F. G.F.C., Oliveira L. (2008), Uncertainty estimation and in-house method validation of HPLC analysis of carotenoids for food composition data production, Food Chemistry 109, p. 815-824;
[2] Fearn T., Thompson M. (2001), A new test for sufficient homogeneity, Analyst 126, p. 1414-1417.