

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE LUTEÍNA EM HORTALIÇAS

ALINE MANKE NACHTIGALL*
PAULO CESAR STRINGHETA**
PRISCILA CARDOSO FIDELIS***
FABIANE MANKE NACHTIGALL****

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o teor de luteína em algumas hortaliças comumente consumidas no estado de Minas Gerais (BRASIL), visando fornecer dados para que a população possa conhecer as melhores fontes desse carotenóide. A extração do pigmento foi realizada com acetona, etanol, hexano e tetraidrofurano, por 24h. Após a extração realizou-se a saponificação com KOH etanólico 10% para eliminar impurezas, como clorofila e ácidos graxos. O teor de luteína nas hortaliças foi determinado por medidas espectrofotométricas e confirmado por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE). Pelos resultados obtidos, a acetona foi o solvente mais efetivo para a extração do pigmento. O hexano não se mostrou eficiente para extração de vegetais frescos nessas condições. Couve, rúcula, agrião, mostarda, acelga, espinafre, azedinho e brócolis constituem fontes ricas em luteína. Deve-se ressaltar o elevado teor desse carotenóide no lobrobô (também conhecido como ora-pro-nobis) na serralha, no almeirão e na taioba, vegetais não-convencionais e de consumo regionalizado.

PALAVRAS-CHAVE: LUTEÍNA; CAROTENÓIDES; HORTALIÇAS.

- * Química de Alimentos, Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG (e-mail: anachtigall@gmail.com).
** Professor, Doutor em Ciência de Alimentos, DTA, UFV, Viçosa, MG (e-mail: pstringheta@yahoo.com.br).
*** Aluna do Curso de Engenharia de Alimentos, UFV, Viçosa, MG (e-mail: priscila_cf@yahoo.com).
**** Química, Doutoranda em Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP (e-mail: fabimanke@yahoo.com.br).

1 INTRODUÇÃO

Dados do Conselho Brasileiro de Oftalmologia estimam que, aproximadamente, 2,9 milhões de brasileiros com mais de 65 anos de idade apresentam casos de degeneração macular relacionada à idade (DMRI). Essa doença ocular, grave e irreversível, causa cegueira em pessoas na faixa etária acima de 65 anos e com o aumento da expectativa de vida é natural que o número de casos se eleve (LAJOLO, 2004).

A luteína constitui potente antioxidante que previne danos causados pelos radicais livres nos tecidos (ALVES-RODRIGUES e SHAO, 2004; SILVA, 2004). Esse carotenóide absorve a luz azul prejudicial aos olhos e com isso reduz em 40% a incidência de luz danosa à mácula, região localizada no centro da retina, responsável pela visão nítida das imagens (DAGNELIE, ZORGE e McDOANLD, 2000). Pessoas com mais de 60 anos e reduzida acuidade visual apresentam baixos níveis de luteína e zeaxantina na região macular, os dois carotenóides majoritários presentes no olho (YEUM et al., 1995). Em contraste, pessoas com a mesma idade e elevada densidade de pigmentos maculares apresentam sensibilidade visual similar à de jovens. A perda da sensibilidade visual pode ser o precursor de algumas doenças dos olhos, incluindo a DMRI.

Dentre os principais benefícios associados à luteína, além de prevenir a DMRI, destacam-se a prevenção da aterosclerose, da catarata, do câncer de cólon e de outras patologias (ALVES-RODRIGUES e SHAO, 2004; BROW et al., 1999; CHASAN-TABER et al., 1999; DAGNELIE, ZORGE e McDOANLD, 2000; DELI et al., 2004; SUMANTRAN et al., 2000).

Os seres humanos não apresentam a capacidade de sintetizar carotenóides, sendo necessária dieta balanceada incluindo o consumo de alimentos ricos nesses compostos. Estudos realizados com animais e humanos demonstram que a concentração de luteína no sangue e nos tecidos está estreitamente relacionada ao consumo de alimentos ricos desse carotenóide, tais como frutas e hortaliças de folhas verdes (MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 2001; SILVA, 2004; STRUNCH, 2004). Todavia, deve-se levar em consideração que tais fontes vegetais contêm carotenóides específicos de acordo com sua espécie.

A quantidade total e a concentração relativa de cada carotenóide podem ser influenciadas pela seleção de cultivares e variedades. Por essa razão, é necessário cautela no uso de dados de trabalhos e de tabelas de composição de alimentos. Essas informações dependem de outros fatores como parte da planta consumida, estágio de maturação, condições climáticas e geográficas e manejo pós-colheita (KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA, 1993; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001; SÁ e RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

O objetivo deste trabalho foi explorar novas fontes de luteína, bem como avaliar e comparar o conteúdo de fontes conhecidas com dados existentes na literatura. Com o levantamento dessas informações será possível auxiliar a decisão de compra dos consumidores de forma a incrementar a dieta com alimentos ricos em luteína.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

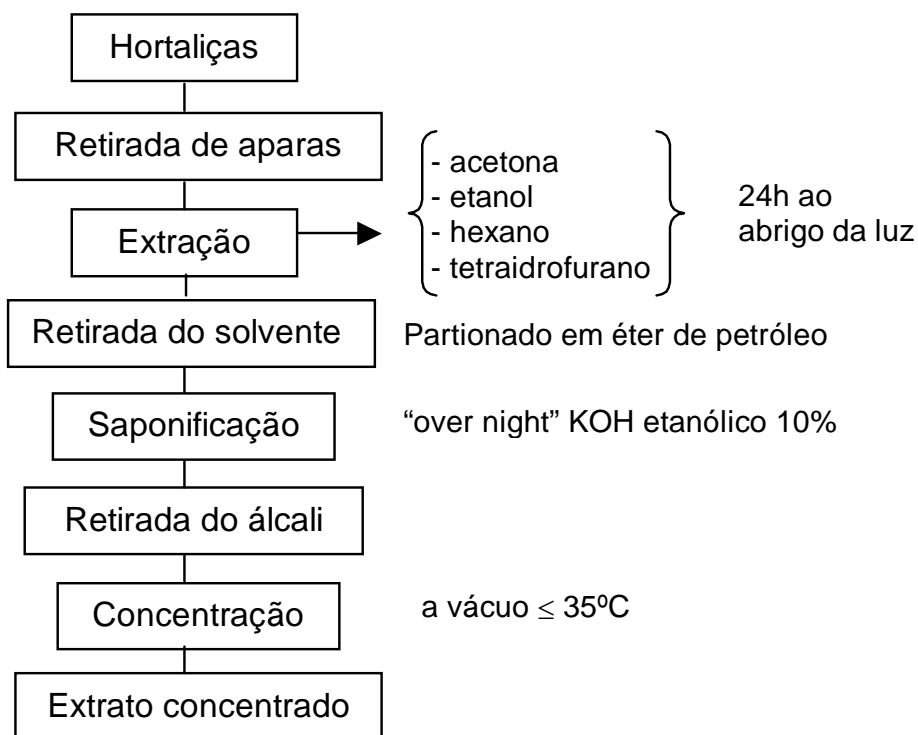
As seguintes hortaliças foram compradas no comércio de Viçosa/MG: acelga (*Beta vulgaris*), agrião (*Nasturtium officinale*), almeirão (*Cichorium intybus*), azedinho (*Taraxacum officinale Webber ex F.H. Wigg*), brócolis (*Brassica oleracea var itálica*), couve (*Brassica oleracea var acephala*), couve-roxa (*Brassica oleracea var acephala*), espinafre (*Tetragonia expansa*), jiló (*Solanum gilo*), lobrobô ou ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*), mostarda (*Brassica juncae*), pimentão verde, vermelho e amarelo (*Capsicum Annuum*), quiabo (*Hibiscus esculentis*), repolho (*Brassica oleracea var capitata*), rúcula (*Eruca sativa*), serralha (*Sonchus oleraceus*), taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) e vagem (*Phaseolus vulgaris*).

2.2 EXTRAÇÃO DOS PIGMENTOS

O método para extração dos carotenóides totais envolveu a combinação dos procedimentos descritos por KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA (2002) e PEREIRA (2002).

No processo de extração empregaram-se os seguintes solventes: acetona, etanol, hexano e tetraidrofurano. Todos os procedimentos foram realizados em ambiente escuro de acordo com a Figura 1.

FIGURA 1 – FLUXOGRAMA DE EXTRAÇÃO DE CAROTENÓIDES



Imediatamente após a aquisição, as hortaliças foram levadas ao laboratório. Procedeu-se a separação das partes comestíveis, que foram cortadas finamente com faca inoxidável. Retirou-se uma amostra de aproximadamente 5,0 gramas, peso exato de cada material, aos quais foram acrescentados 50 mL de cada solvente. Após 24 h de extração ao abrigo da luz, as amostras foram filtradas em funil de Büchner a vácuo, repetindo-se o procedimento até todo o resíduo tornar-se incolor. Em seguida, os pigmentos foram transferidos em pequenas porções para éter de petróleo em funil de separação para a retirada do solvente. Efetuou-se a saponificação com KOH etanólico 10% "over night". Após a retirada do álcali concentrou-se o extrato de carotenóides a vácuo em temperatura de $\leq 35^{\circ}\text{C}$, finalizando a evaporação com fluxo de N_2 . Todos os procedimentos foram realizados em ambiente escuro.

2.3 QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENÓIDES TOTAIS

Efetuuou-se a quantificação do teor de carotenóides totais nas diferentes amostras por medidas espectrofotométricas, utilizando o coeficiente de extinção $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2500$ em etanol com leitura no $\lambda_{\text{máx}}$. As análises foram realizadas em espectrofotômetro ultra-violeta/visível (UV/VIS) digital, marca HITACHI, modelo U-2001, seguindo metodologia descrita por CISNEROS et al. (2004).

2.4 CONFIRMAÇÃO DA IDENTIDADE DOS CAROTENÓIDES

A confirmação qualitativa da presença de luteína nas amostras foi efetuada por cromatografia a líquido de alta eficiência (NUNES e MERCADANTE, 2004), empregando cromatógrafo a líquido Shimadzu CLASS-VP. Os carotenóides foram separados em coluna de fase reversa C₃₀ YMC (5 µm, 250 mm x 4,6 mm), utilizando metanol (0,1% de trietilamina)/ metil-t-butil éter 95:5 como fase móvel e fluxo de 1 mL.min⁻¹ em modo isocrático, injeção de 30 µL e temperatura da coluna variando entre 29 e 33°C. Os cromatogramas foram obtidos a 450 nm.

Baseou-se a caracterização dos carotenóides na ordem de eluição na coluna C₃₀ pela comparação das características espectrofotométricas no UV-VIS com dados da literatura e com padrão de luteína.

Os solventes utilizados, todos grau cromatográfico, foram previamente filtrados em sistema Millipore de filtração a vácuo com membrana de 0,45 µm (apropriada para solvente orgânico) e degaseificados em ultra-som. As amostras foram filtradas em membrana de polietileno de 0,22 µm de poro.

Calculou-se a concentração de luteína nas amostras vegetais a partir dos dados cromatográficos, sendo o teor de luteína estimado pela percentagem de luteína em relação ao total de carotenóides.

2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Adotou-se delineamento inteiramente casualizado num total de 80 tratamentos, provenientes de fatorial de 20 vegetais e 4 solventes extratores (20 x 4), com três repetições.

Para verificar a existência de diferenças significativas entre os tratamentos realizou-se a análise de variância, seguida pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) para avaliar as diferenças entre as médias. As análises foram efetuadas com o auxílio do Software SANEST (ZONTA e MACHADO, 1991).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar a capacidade extratora dos solventes e a potencialidade de cada material vegetal realizou-se a análise estatística para os solventes com relação à espécie e para a espécie em relação ao solvente. Os teores de carotenóides totais encontram-se na Tabela 1.

Ao analisar a Tabela 1 percebe-se que a acetona apresentou maior poder extrator para a maioria das amostras estudadas. Esperava-se que o tetraidrofurano extraísse teor superior de luteína por apresentar poder de solubilização 10 vezes maior que o da acetona, 27 vezes o do etanol e 400 vezes o do hexano (CRAFT, 1992). No entanto, em consequência da maior polaridade do tetraidrofurano podem ter ocorrido muitas perdas do carotenóide durante as sucessivas lavagens na etapa de saponificação (SÁ e RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

A acetona apresentou poder extrator semelhante ao etanol para o almeirão e a serralha, similar ao do tetraidrofurano para azedinho e, análogo ao etanol e ao tetraidrofurano para agrião, acelga, lobrobô e taioba. Para as demais fontes avaliadas (couve comum, espinafre, mostarda e rúcula), a acetona mostrou-se o solvente mais efetivo. No entanto, os quatro solventes estudados apresentaram capacidade extratora similar para jiló, pimentão vermelho, pimentão verde, pimentão amarelo, quiabo, repolho e vagem.

Notou-se que o solvente com pior capacidade extratora foi o hexano. Tal fato pode ser justificado pela baixa solubilidade da luteína em hexano (CRAFT, 1992) e elevada quantidade de água nas hortaliças frescas, o que pode ter dificultado o contato do solvente com o pigmento a ser extraído. Desta forma, o hexano não se mostrou um solvente adequado para extração de carotenóides em hortaliças.

TABELA 1 – TEOR DE CAROTENÓIDES TOTAIS (mg.100 g⁻¹ DE PRODUTO FRESCO) NAS HORTALIÇAS DETERMINADO POR ESPECTROFOTOMETRIA (E = 2500)

Produto	Acetona	Etanol	Hexano	Tetraidrofurano
Acelga	4,15 Abcd	3,45 Acde	0,51Ba	2,72 Ade
Agrião	5,27 Ab	5,56 Aab	1,15 Ba	4,64 Aab
Almeirão	3,56 Acde	3,36 Acde	0,77 Ba	1,06 Bf
Azedinho	2,14 ABef	0,92 BCghi	0,09 Ca	3,06 Acde
Brócolis	1,31Bfg	2,83 Aef	0,26 Ba	1,57 ABef
Couve	7,89 Aa	3,48 Bcde	1,28 Ca	3,99 Bbcd
Couve roxa	2,16 Bef	4,39 Abcd	0,04 Ca	0,65 Cf
Espinafre	3,53 Acde	1,41 Abcd	0,27 Ba	0,65 Bf
Jiló	0,10 Ag	0,06 Ai	0,01 Aa	0,08 Af
Lobrobô	4,83 Abc	6,07 Aa	0,46 Ba	5,77 Aa
Mostarda	4,30 Abcd	1,84 Bfgh	0,06 Ca	2,91 Bcde
Pimentão amarelo	0,46 Ag	0,77 Aghi	0,34 Aa	0,38 Af
Pimentão verde	0,51 Ag	1,25 Aghi	0,45 Aa	0,61 Af
Pimentão vermelho	0,77 Afg	1,24 Aghi	0,15 Aa	0,81 A f
Quiabo	0,89 Afg	1,06 Aghi	0,83 Aa	0,67 Af
Repolho	0,09 Ag	0,11 Ai	0,01 Aa	0,07 Af
Rúcula	7,18 Aa	2,21Cefg	0,24Da	4,31 Bbc
Serralha	5,44 Ab	4,92 ABabc	0,12Ca	3,95 Bbcd
Taioba	3,17 Ade	3,45 Acde	0,63 Ba	2,59 Ade
Vagem	0,41 Ag	0,34 Ahi	0,15 Aa	0,20 Af

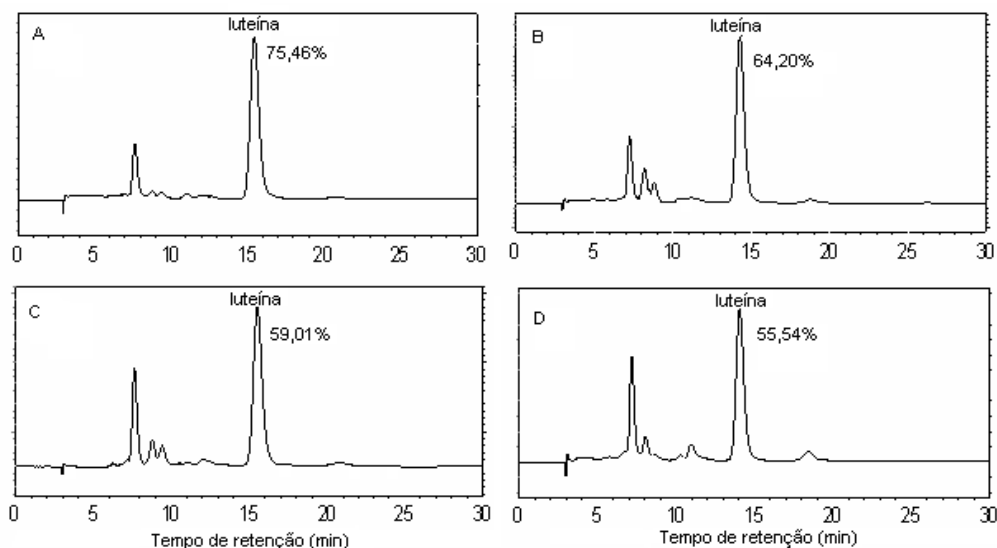
Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo Teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade, em relação aos diferentes solventes em função da espécie. Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si pelo Teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade, em relação às diferentes espécies para determinado solvente.

Com relação à espécie em função do solvente extrator, o material vegetal que apresentou maior potencial em termos de carotenóides totais foi a couve comum. Essa hortaliça demonstrou elevada concentração de carotenóides ao ser extraída com acetona (7,89 mg.100 g⁻¹) e menor teor ao ser extraída com os demais solventes (tetraidrofurano: 3,99 mg.100 g⁻¹; etanol: 3,48 mg.100 g⁻¹; hexano: 1,28 mg.100 g⁻¹).

Ao utilizar a acetona (Tabela 1), a couve comum (7,89 mg.100 g⁻¹) e a rúcula (7,18 mg.100 g⁻¹) apresentaram os valores mais elevados de carotenóides. No entanto, para os solventes etanol e tetraidrofurano as fontes vegetais com as maiores concentrações de carotenóides foram o lobrobô (6,07 e 5,77 mg.100 g⁻¹) e o agrião (5,56 e 4,64 mg.100 g⁻¹). Constata-se assim que os solventes apresentaram poder extrator diferenciado, influenciando a quantificação do teor de luteína nos vegetais.

Analisando o perfil cromatográfico dos extratos vegetais, conforme ilustrado pela Figura 2, verificou-se que a composição qualitativa permaneceu constante com variações quantitativas no perfil de carotenóides dos mesmos.

FIGURA 2 – CROMATOGRAMAS DOS EXTRATOS DE (A) ALMEIRÃO, (B) LOBROBÔ, (C) SERRALHA E (D) TAIOBA, EXTRAÍDOS EM ACETONA



Coluna polimérica c_{30} ;
Fase móvel: metanol (0,1% TEA)/ metil-t-butil éter;
Fluxo de 1 mL.min⁻¹.

Ao quantificar extratos por espectrofotometria deve-se conhecer a identidade e proporção de cada componente dos mesmos para utilizar os valores específicos de E . Tendo em vista que as frações do extrato não foram identificadas em sua totalidade, até por questão de custo e tempo, o teor de luteína nas amostras foi estimado pela proporção de luteína em relação ao total de carotenóides obtida por CLAE (Tabela 2).

TABELA 2 – PORCENTAGEM (%) DETERMINADA POR CLAE E CONCENTRAÇÃO DE LUTEÍNA (mg.100 g⁻¹ DE PRODUTO FRESCO) NOS VEGETAIS

Produto	Acetona		Etanol		Hexano		Tetraidrofurano	
	% Lut.	Luteína	% Lut.	luteína	% Lut.	Luteína	% Lut.	luteína
Acelga	63,42	2,63	42,80	1,48	38,28	0,20	57,99	1,58
Agrião	60,02	3,17	43,41	2,41	26,70	0,31	63,66	2,95
Almeirão	75,46	2,69	88,77	2,98	30,76	0,24	71,43	0,76
Azedinho	77,30	1,66	65,63	0,60	14,84	0,01	65,55	2,01
Brócolis	57,97	0,76	64,95	1,84	7,34	0,02	55,86	0,88
Couve	44,40	3,51	56,15	1,95	46,82	0,60	61,66	2,46
Couve roxa	68,60	1,48	83,02	3,64	46,65	0,02	62,90	0,41
Espinafre	62,55	2,21	48,21	0,68	6,39	0,02	65,21	0,43
Jiló	86,72	0,09	89,71	0,05	80,99	0,01	14,84	0,01
Lobrobô	64,20	3,10	78,45	4,76	38,85	0,18	60,61	3,50
Mostarda	57,44	2,47	52,65	0,97	71,26	0,04	57,00	1,66
Pimentão amarelo	24,07	0,11	37,35	0,29	32,16	0,11	14,83	0,06
Pimentão verde	76,23	0,39	68,40	0,86	31,05	0,14	70,10	0,43
Pimentão vermelho	54,66	0,42	61,09	0,76	47,43	0,07	48,98	0,39
Quiabo	28,96	0,26	68,99	0,73	19,90	0,16	58,25	0,39
Repolho	34,39	0,03	61,18	0,01	55,04	0,01	14,50	0,01
Rúcula	71,32	5,12	88,60	1,96	9,29	0,02	67,25	2,90
Serralha	59,01	3,21	58,30	2,87	30,04	0,04	56,12	2,22
Taioba	55,54	1,76	61,05	2,10	20,06	0,13	57,68	1,49
Vagem	65,79	0,27	59,21	0,20	25,56	0,04	56,33	0,11

Em termos de luteína, a rúcula destacou-se como a fonte mais promissora quando extraída em acetona ($5,12 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) e o lobrobô quando extraído com etanol e tetraidrofurano ($4,76 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e $3,50 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente).

A proporção de luteína em relação ao total de carotenóides é elevada nas hortaliças amargas, como, almeirão, azedinho e rúcula (Tabela 2).

É interessante notar que os vegetais lobrobô, serralha e taioba (hortaliças não-convencionais e de consumo regional) destacaram-se como fontes promissoras de luteína, superando até mesmo o espinafre. Outros vegetais regionais como o quiabo e o jiló não podem ser considerados como fontes desse pigmento, pois apresentaram os piores resultados com todos os solventes empregados. O mesmo pode-se afirmar para a vagem, o repolho e para os três pimentões estudados.

O agrião, a acelga, o almeirão, o azedinho, o brócolis, as couves comum e roxa, o espinafre e a mostarda, todos com teor de luteína superior a $1 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de produto, constituem boa fonte de luteína, porém são dependentes do solvente extrator.

Na maioria das hortaliças avaliadas a luteína foi o carotenóide majoritário, exceto para acelga e espinafre quando extraídas em etanol e para o pimentão amarelo nos quatro solventes extratores.

O fato da luteína não representar o carotenóide majoritário em pimentões amarelos contraria os resultados de BIANCHINI e PENTEADO (1998), que verificaram para cultivares de pimentão amarelo Zarco Híbrido F₁ e Sunboy Híbrido F₁ teores de $0,55$ e $0,41 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. No entanto, condiz com as afirmações de DAVIES, MATTHEWS e KIRK (1970) e MATUS, DELI e SZABOLCS (1991). Esses autores destacaram a violaxantina como o carotenóide mais abundante na referida fonte vegetal, representando $31,30$ e $34,07\%$ do total, respectivamente.

A área do pico do carotenóide majoritário presente no pimentão amarelo neste trabalho correspondeu a $48,56\%$ do total de carotenóides extraídos em acetona, $34,27\%$ em etanol, $33,44\%$ em hexano e $78,95\%$ em tetraidrofurano. Como não era objetivo do trabalho e por questões de custos esse carotenóide não foi identificado, sendo possivelmente violaxantina de acordo com DAVIES, MATTHEWS e KIRK (1970) e MATUS, DELI e SZABOLCS (1991).

Na Tabela 3 são apresentadas as faixas de variação entre os valores verificados na literatura e os teores de luteína determinados nas hortaliças estudadas. Não foram encontradas citações na literatura a respeito da concentração de luteína nas hortaliças jiló, lobrobô e quiabo.

COSTA et al. (2003) obtiveram teor de luteína em folhas de acelga de $2,70 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, concordando com a concentração determinada no presente trabalho quando se empregou acetona como solvente extrator ($2,68 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

NIIZU e RODRIGUEZ-AMAYA (2005), KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA (2003) e HART e SCOTT (1995) encontraram teores de luteína em agrião de $5,60$; $7,50$ e $10,70 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente. Os valores inferiores obtidos neste trabalho ($3,17$; $2,41$; $0,31$ e $2,95 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) podem ser justificados pela maior quantidade de caule presente nas amostras analisadas ou variações decorrente das espécies avaliadas.

O teor de luteína no almeirão extraído com etanol ($2,98 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) e acetona ($2,69 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) mostrou-se superior ao encontrado por RODRIGUEZ-AMAYA (1993). No entanto, ao ser extraído com tetraidrofurano ($0,76 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) a concentração do pigmento enquadrou-se na faixa de $0,70$ a $1,00 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ citada pela referida autora. Já a extração com hexano ficou muito aquém desses valores ($0,24 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

Ao avaliar o conteúdo de luteína presente em azedinho VARDAVAS et al. (2006) verificaram teor de $2,45 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, muito acima das concentrações obtidas no presente trabalho ($1,66$; $0,60$; $0,01$ e $2,01 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

Os teores de luteína nas amostras de brócolis, extraídas com etanol estão de acordo com a concentração de $1,61 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ citada por HART e SCOTT (1995) e FRASER e BRAMLEY (2004). Também coincide com o valor de $1,80 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ reportado por PRATT (1999). Porém, são inferiores aos valores de $2,40$ e $2,83 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ encontrados por KHACHIK, BEECHER e SMITH (1995), SOUTHON e FAULKS (2003), ALVES-RODRIGUES e SHAO (2004) e KRINSKY e JONHSON (2005).

TABELA 3 – COMPARATIVO ENTRE OS VALORES DE LUTEÍNA (mg.100 g⁻¹) ENCONTRADOS E DADOS FORNECIDOS PELA LITERATURA

Hortaliça	Experimento *	Teores da literatura	Referências
Acelga	1,48 - 2,63	2,70	(COSTA et al., 2003)
Agrião	2,41 - 3,17	5,60 - 10,70	(HART e SCOTT, 1995; KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2002; NIIZU e RODRIGUEZ-AMAYA, 2001)
Almeirão	0,76 - 2,98	0,70 - 1,00	(RODRIGUEZ-AMAYA, 1993)
Azedinho	0,60 - 2,01	2,45	(VARDAVAS et al., 2006)
Brócolis	0,76 - 1,84	1,61 - 2,83	(HART e SCOTT, 1995; KHACHIK, BEECHER e SMITH, 1995; PRATT, 1999; SOUTHON e FAULKS, 2003; ALVES-RODRIGUES e SHAO, 2004; FRASER e BRAMLEY, 2004; KRINSKY e JONHSON, 2005)
Couve comum	1,95 - 3,51	1,30 - 39,50	(MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1991; RODRIGUEZ-AMAYA, 1993; ALVES-RODRIGUES e SHAO, 2004)
Couve roxa	0,41 - 3,64	1,30 - 39,50	(MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1991; RODRIGUEZ-AMAYA, 1993; ALVES-RODRIGUES e SHAO, 2004)
Espinafre	0,43 - 2,21	3,05 - 11,94	(KHACHIK, BEECHER e SMITH, 1995; KONINGS e ROOMANS, 1997; SOUTHON e FAULKS, 2003; ALVES-RODRIGUES e SHAO, 2004; FRASER e BRAMLEY, 2004; KRINSKY e JHONSON, 2005; VARDAVAS et al., 2005)
Jiló	0,01 - 0,09	ne	
Lobrobô	3,10 - 4,76	ne	
Mostarda	0,97 - 2,47	7,41	(KAHCHIK, BEECHER e SMITH, 1995)
Pimentão amarelo	0,06 - 0,29	0,41 - 0,55	(BIANCHINI e PENTEADO, 1998)
Pimentão verde	0,39 - 0,86	0,66 - 0,77	(HART e SCOTT, 1995; NIIZU e RODRIGUEZ-AMAYA, 2005)
Pimentão vermelho	0,39 - 0,76	0,075	(SOUTHON e FAULKS, 2003)
Quiabo	0,26 - 0,73	ne	
Repolho	0,01 - 0,03	0,15 - 0,31	(KHACHIK, BEECHER e SMITH, 1995; PRATT, 1999; KRINSKY e JHONSON, 2005)
Rúcula	1,96 - 5,12	0,80 - 5,22	(TASSI, 2001; KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2003; NIIZU e RODRIGUEZ-AMAYA, 2005; VARDAVAS et al., 2006)
Serralha	2,22 - 3,21	14,50**	(MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1991)
Taioba	1,49 - 2,10	17,20**	(MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1991)
Vagem	0,11 - 0,27	0,47 - 0,64	(HART e SCOTT, 1995; KHACHIK, BEECHER e SMITH, 1995; ALVES-RODRIGUES e SHAO, 2004; FRASER e BRAMLEY, 2004)

* Os valores para as extrações com hexano não foram levados em consideração ao construir a tabela, pois o teor de luteína das hortaliças poderia ser subestimado.

** Teores expressos em termos de luteína + violaxantina.
ne = não-encontrado.

Verificou-se grande discrepância nos dados da literatura com relação aos teores de luteína presentes em couves, incluindo variação entre 1,30 a 2,00 mg.100 g⁻¹ (RODRIGUEZ-AMAYA, 1993) até 39,50 mg.100 g⁻¹ (ALVES-RODRIGUES e SHAO, 2004).

MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA (1991) verificaram que até a estação do ano influencia significativamente os teores de carotenóides em couve. No verão, os valores são menores que no inverno em função de temperaturas elevadas e maior intensidade luminosa. Constatou-se que a de luteína na couve roxa (68,60; 83,02 e 62,90%) é superior à proporção apresentada pela couve comum (44,40; 56,15 e 61,66%) quando extraída com acetona, etanol e tetraidrofurano.

O valor encontrado para o espinafre variou de 0,43 a 2,21 mg.100 g⁻¹, dependendo do solvente, e diferiu dos teores citados na literatura (também discrepantes entre si). Segundo VARDAVAS et al. (2006), o espinafre contém 3,05 mg de luteína.100 g⁻¹. Já KONINGS e ROOMANS (1997), KHACHIK, BEECHER e SMITH, (1995), FRASER e BRAMLEY (2004) e SOUTHON e FAULKS (2003) concordam com valores superiores variando entre 5,0 e 6,2 mg.100 g⁻¹. KRINSKY e JHONSON (2005) e ALVES-RODRIGUES e SHAO (2004) encontraram 11,94 mg de luteína.100 g⁻¹ para o espinafre.

KHACHIK, BEECHER e SMITH (1995) constataram teor de luteína de 7,41 mg.100 g⁻¹ na mostarda, muito superior ao verificado nesse trabalho (0,04 a 2,47 mg.100 g⁻¹).

HART e SCOTT (1995) e NIIZU e RODRIGUEZ-AMAYA (2005) consideraram o pimentão verde como fonte pobre em carotenóides. A concentração de luteína encontrada no pimentão verde extraído com etanol (0,86 mg.100 g⁻¹) superou a citada pelos autores (0,66 e 0,77 mg.100 g⁻¹). No entanto, o teor foi inferior ao obtido em estudos anteriores em extrações com acetona, hexano e tetraidrofurano (0,39; 0,14 e 0,43 mg.100 g⁻¹).

SOUTHON e FAULKS (2003) obtiveram concentração de luteína de 0,075 mg.100 g⁻¹ em pimentões vermelhos, valor aquém dos encontrados para as extrações com acetona, etanol e tetraidrofurano (0,41; 0,75 e 0,39 mg.100 g⁻¹), mas próximo ao verificado na extração em hexano (0,07 mg.100 g⁻¹).

Para HART e SCOTT (1995), o conteúdo de carotenóides em fontes vegetais depende da quantidade e do tipo de material utilizado no preparo da amostra. Afirmaram que dependendo da folha de repolho analisada pode ocorrer variação de até 150 vezes no teor obtido. Comparando os dados da Tabela 1 com a literatura observou-se que o teor de luteína do repolho extraído com acetona foi 10 vezes menor que a concentração de 0,31 mg.100 g⁻¹ citada por KHACHIK, BEECHER e SMITH (1995) e KRINSKY e JHONSON (2005). Já PRATT (1999) encontrou valor 15 vezes superior para repolho com os solventes etanol, hexano e tetraidrofurano (0,010 mg.100 g⁻¹). As variações entre o presente estudo e o desenvolvido por PRATT (1999) podem ser justificadas pelo uso de folhas internas, nas quais a concentração de luteína é menor que nas externas.

Nenhuma das extrações realizadas na vagem excedeu o valor de 0,49 mg.100 g⁻¹ encontrado por FRASER e BRAMLEY (2004), a concentração de 0,59 mg.100 g⁻¹ determinada por KHACHIK, BEECHER e SMITH (1995), a faixa de 0,47-0,55 mg.100 g⁻¹ citada por HART e SCOTT (1995) e o teor de 0,64 mg.100 g⁻¹ obtido por ALVES-RODRIGUES e SHAO (2004).

O teor de luteína na rúcula extraída com acetona (5,12 mg.100 g⁻¹) está de acordo com os valores de 5,00; 5,30 e 5,22 mg.100 g⁻¹ encontrados por NIIZU e RODRIGUEZ-AMAYA (2005), TASSI (2001) e KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA (2003). Já as extrações com etanol e tetraidrofurano (1,96 mg.100 g⁻¹ e 2,90 mg.100 g⁻¹) coincidiram com a de VARDAVAS et al. (2006) (2,48 mg.100 g⁻¹).

MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA (1991) determinaram a concentração de carotenóides presentes em serralha (14,50 mg.100 g⁻¹) e taioba (17,20 mg.100 g⁻¹). Porém com valores expressos em termos de luteína + violaxantina impossibilitando a comparação.

A variação entre os valores obtidos neste trabalho e os citados na literatura pode ser justificada pela parte da planta analisada, estágio de maturação, condições edafoclimáticas, manejo pós-colheita, variedade e espécie analisada. De qualquer forma, saladas cruas dessas hortaliças fornecem quantidades elevadas de luteína com exceção do quiabo, pimentão, vagem, jiló e repolho.

A dificuldade para comparar os resultados obtidos com a literatura decorre de ampla faixa de valores citados e diferentes unidades utilizadas para expressar o teor de luteína ($\mu\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$, incluindo dados da literatura (FRASER e BRAMLEY, 2004) transformados de forma errônea.

4 CONCLUSÃO

A escolha do solvente extrator exerce papel fundamental na análise de carotenóides em alimentos.

Os dados obtidos permitem concluir que acelga, agrião, azedinho, brócolis, couve, espinafre, mostarda e rúcula são vegetais ricos em luteína. Portanto, seu consumo pode contribuir significativamente para a defesa do organismo contra doenças degenerativas.

Encontrou-se elevado teor de luteína no almeirão, lobrobô, serralha e na taioba, vegetais não-convencionais consumidos pela população interiorana (notadamente em Minas Gerais). Esse fato merece divulgação para ampliar o consumo das referidas fontes vegetais, visando propagação da saúde.

ABSTRACT

DETERMINATION OF LUTEIN CONTENT IN VEGETABLES

The objective of the current research was to evaluate the concentration of lutein in vegetables commonly consumed in the State of Minas Gerais (BRAZIL), aiming to provide data so the population can know which food presents the highest sources of this carotenoid. The extraction of the pigment was carried out in acetone, ethanol, hexane and tetrahydrofurane solutions for 24 hours. After the extraction, a saponification in 10% ethanolic KOH occurred to remove impurities such as chlorophyll and lipidic acids. The quantity of lutein in the vegetables was determined by spectrophotometric measures, later confirmed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). From the results obtained, it was observed that acetone was the most effective solvent to extract the analysed pigment while the hexane solution was not effective to extract it from fresh vegetables at this conditions. Vegetables such as cabbage, rucola, mustard, chard, spinach, *azedinho* and broccoli constitute a rich source of Lutein. It is important to emphasize the high concentration of this carotenoid found in *lobrobô*, also known as *ora-pro-nobis*, as well as in *serralha*, chicory and taioba. However, those former mentioned vegetables are consumed only at some specific Brazilian regions.

KEY-WORDS: LUTEIN; CAROTENOIDS; VEGETABLES.

REFERÊNCIAS

- 1 ALVES-RODRIGUES, A.; SHAO, A. The science behind lutein. **Toxicology Letters**, n. 150, p. 57-83, 2004.
- 2 BIANCHINI, R.; PENTEADO, M. de V. C. Carotenóides de pimentões amarelos (*Capsicum annum*) caracterização e verificação de mudanças com o cozimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 283-288, ago/out. 1998.
- 3 BROW, L.; RIMM, E. B.; SEDDON, J. M.; GIOVANUCCI, E. L.; CHASAN-TABER, L.; SPIEGELMAN, D.; WILLET, W. C.; HANKINSON, S. E. A prospective study of carotenoid intake and risk of cataract extraction in US men. **American Journal Clinical of Nutritional**, n. 70, p. 517-524, 1999.
- 4 CHASAN-TABER, L.; WILLET, W. C.; SEDDON, J. M.; STAMPFER, M. J.; ROSNER, B.; COLDITZ, G. A.; SPEIZER, F. E.; HANKINSON, S. E. A prospective study of carotenoid and vitamin A intakes and risk of cataract extraction in US women. **American Journal Clinical of Nutritional**, n. 70, p. 509-516, 1999.
- 5 CISNEROS, M.; BENAVIDES, J.; BRENES, C. H.; RITO-PALOMARES, M. Recovery in aqueous two-phase systems of lutein produced by the green microalga *Chlorella protothecoide*. **Journal of Chromatography B**, v. 807, n.1, p. 105-110, 2004.
- 6 COSTA, S. M. de; MONTENEGRO, M. A.; ARREGUI, T.; PINTO, M. I. S. de; NAZARENO, M. A.; MISHIMA, B. L. de. Characterization of fresh *Beta vulgaris* from Santiago del Estero (Argentina). Nutrient and carotenoid content of stem and leaves. **Ciência & Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n.1, p. 33-37, jan./abr.2003.

- 7 CRAFT, N. E. Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and β -carotene in organic solvents. **Journal Agriculture of Food Chemistry**, v. 40, p. 431-434, 1992.
- 8 DAGNELIE, G.; ZORGE, I.; McDONALD, T. M. Lutein improves visual function in some patients with retinal degeneration: a pilot study via the internet. **Optometry**, n. 71, p. 147-164, 2000.
- 9 DAVIES, B. H.; MATTHEWS, S.; KIRK, J. T. O. The nature and biosynthesis of the carotenoids of different colour cultivars of *Capsicum annuum*. **Phytochemistry**, v.9, p.797-805, 1970.
- 10 DELI, J.; MOLNÁR, P.; OSZ, E.; TÓTH, G.; ZSILA, F. Epimerisation of lutein to 3'-epilutein in processed foods. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, n.14, p. 925-928, 2004.
- 11 FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipid Research**, n. 43, p. 228-265, 2004.
- 12 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.
- 13 KHACHIK, F.; BEECHER, G. R.; SMITH, C. Jr. Lutein, lycopene, and their oxidative metabolites in chemoprevention of cancer. **Journal of Cellular Biochemistry**, n. 22, p. 236-246, 1995.
- 14 KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, n. 78, p. 389-398, 2002.
- 15 KONINGS, E. J. M.; ROOMANS, H. H. S. Evaluation and validation of an LC method for the analysis of carotenoids in vegetables and fruit. **Food Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 599-603, 1997.
- 16 KRINSKY, N. I.; JONHSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 459-516, 2005.
- 17 LAJOLO, F. **Zeaxantina e luteína reduzem riscos de degeneração macular**. Disponível em: <http://nutricaoempauta.locaweb.com.br/lista_artigo.php?cod=325>. Acesso em: 01 jun. 2004.
- 18 MATUS, Z.; DELI, J.; SZABOLCS, J. Carotenoid composition of yellow pepper during ripening: isolation of beta-criptoxantina 5,6-epoxide. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.39, p.1907-14, 1991.
- 19 MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition and vitamin A value of some native Brazilian green leafy vegetables. **Journal Food Science Technology**, v. 25, p.213-219, 1991.
- 20 MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmação da identidade da α -criptoxantina e incidência de carotenóides minoritários provitamínicos A em verduras folhosas verdes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.2, p. 216-222, mai./ago. 2001.
- 21 NIIZU, P. Y.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p. 739-749, 2005.
- 22 NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. Utilização de colunas de fase reversa C_{18} e C_{30} para separação de carotenóides por CLAE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife/PE. **Anais...** Recife: SBCTA/UFPE, 2004. CD-Rom.
- 23 PEREIRA, A. S. **Teores de carotenóides em cenoura (*Daucus carota* L.) e sua relação com a coloração das raízes**. Viçosa, 2002. 128 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal de Viçosa.
- 24 PRATT, S. M. D. Dietary prevention of age-related macular degeneration. **Journal of the American Optometric Association**, v. 70, p.39-47, 1999.
- 25 RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: CHARALAMBOUS, F. **Shelf life studies of foods and beverages- chemical, biological, physical and nutritional aspects**. Amsterdam: Elsevier Science, 1993. p. 547-589.
- 26 RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI, 2001. 64 p.
- 27 SÁ, M. C. de; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition of cooked green vegetables from restaurants. **Food Chemistry**, v. 83, p. 595-600, 2003.
- 28 SILVA, A. S. Luteína, alimento para tu vista. **Food Ingredients**, v. 6, p. 80-81, 2004.
- 29 STRUNCH, S. S. **La luteína: el antioxidante para los ojos que envejecen**. Disponível em: <<http://retinosis.org/articulo.php?sec=medicina&doc=luteina.htm>>. Acesso: 19 maio 2004.
- 30 SOUTHON, S.; FAULKS, R. Carotenoids in food: bioavailability and functional benefits. In: _____. **Phytochemical functional foods**. Chicago: Woodhead Publishing & CRC Press LLC, 2003. chap. 7.

- 31 SUMANTRAN, V. N.; ZHANG, R.; LEE, D. S.; WICHA, M. S. Differential regulation of apoptosis in normal versus transformed mammary epithelium by lutein and retinoic acid. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 9, p. 257-263, 2000.
- 32 TASSI, E. M. M. **Caracterização química, atividade da lipoxigenase e biodisponibilidade de carotenóides da rúcula (*Eruca sativa*)**. Campinas 2001. 107 f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) - Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- 33 VARDAVAS, C. I.; MAJCHRZAK, D.; WAGNER, K. H.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A. The antioxidant and phyloquinone content of wildy grown greens in Crete. **Food Chemistry**, v. 99, n. 4, p. 813-821, 2006.
- 34 YEUM, K.; TAYLOR, A.; TANG, G.; RUSSELL, R. M. Measurement of carotenoids, retinoids, and tocopherol in human lenses. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 36, n. 13, p. 2756-2761, 1995.
- 35 ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. **Manual do SANEST**: sistema de análise estatística para microcomputadores. Pelotas: UFPel, 1991. 102 p.