

Espaço reservado para o logo do apresentador.

# VALIDAÇÃO DE UMA METODOLOGIA PARA ANÁLISE DE CAROTENÓIDES TOTAIS EXPRESSOS COMO BIXINA E/OU SAL DE NORBIXINA EM SEMENTES DE URUCUM (*BIXA ORELLANA*, L.)

Espaço reservado para o logo do apresentador.

MARTA G. DA SILVA<sup>1</sup>; PAULO R. N. CARVALHO<sup>1</sup>; PAULO E. R. TAVARES<sup>1</sup>; THIAGO C. CARVALHO<sup>1</sup>

## RESUMO

Uma das maiores controvérsias nos estudos e comercialização do urucum é a metodologia usada na análise dos pigmentos das sementes. Esse trabalho buscou definir e validar uma metodologia para a determinação dos pigmentos das sementes. O método validado demonstrou ser específico, apresentou boa linearidade, com um coeficiente de correlação de 0,9996 para a faixa avaliada, limite de detecção de 0,31mg/100g, limite de quantificação de 0,63mg/100g e boa precisão para o nível de pigmento naturalmente encontrado nas sementes. O método estudado apresentou, nas condições da validação, uma incerteza expandida de 5,50% (k=2; 95%).

## OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo validar um método para quantificar o teor de carotenóides totais expressos como bixina ou sal de norbixina em sementes de urucum com saponificação a quente.

## MATERIAL E MÉTODOS

Preparo amostra: 10g de sementes de urucum foram pesadas e adicionadas a 60mL de uma solução de saponificação preparada com óleo de mamona e KOH 45%. A mistura foi aquecida até a ebulição que foi mantida por 1 minuto. A seguir o extrato foi resfriado e a massa corrigida para 250g. O volume foi diluído em 1000 vezes. A leitura espectrofotométrica foi realizada a 453nm e utilizou-se o coeficiente de absorção de  $2850 \pm 40$  para quantificar a concentração de carotenóides. Para a validação do método foram contemplados os seguintes critérios: seletividade/especificidade; linearidade; sensibilidade; precisão do sistema e precisão do método e robustez. A Tabela 1 apresenta os parâmetros avaliados no estudo de robustez do método. Os resultados obtidos foram comparados, em módulo, ao produto da estimativa de desvio padrão da precisão do método com a raiz quadrada de dois.

TABELA 1. Parâmetros avaliados no teste de robustez.

Parâmetro	Nominal (-)	Varição (+)
$\lambda$ e coeficiente de absorção	453nm, coeficiente de absorção 2850	482nm, coeficiente de absorção 2870
Massa de amostra	10g	25g
Massa de amostra	10g	5g
Volume/massa	Volume (mL)	Massa (g)
Tempo de agitação	5 minutos	10 minutos
Tempo ebulição	1 minuto	2 minutos
Peso amostra	10g	2,5g

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Especificidade ou seletividade:** As Figuras 1 e 2 mostram que o método é seletivo para os pigmentos presentes nas sementes.

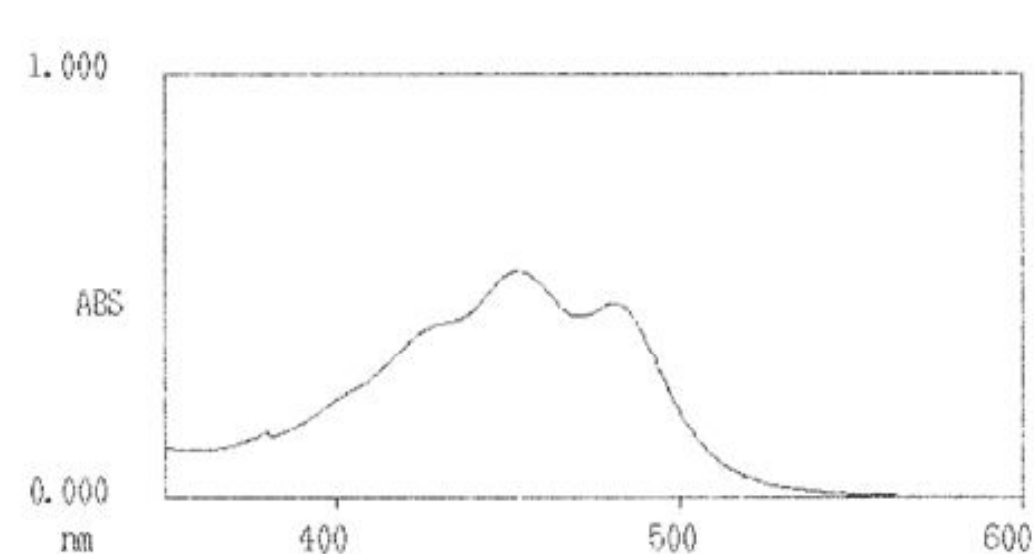


FIGURA 1. Varredura da solução de hidróxido de potássio 0,5%.

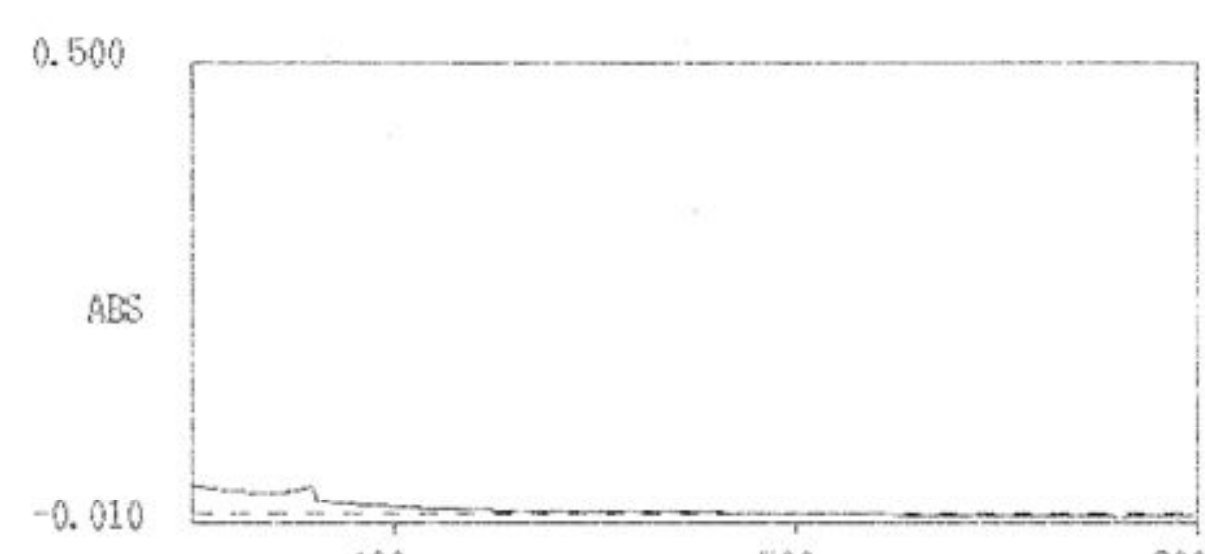


FIGURA 2. Varredura de uma amostra extraída de sementes de urucum (em KOH 0,5%)

**Linearidade:** A análise de regressão da curva de determinação do sal de norbixina apresentou coeficiente de correlação de 0,9996, demonstrando uma correlação significativa para a faixa avaliada. A Figura 3 apresenta a correlação obtida.

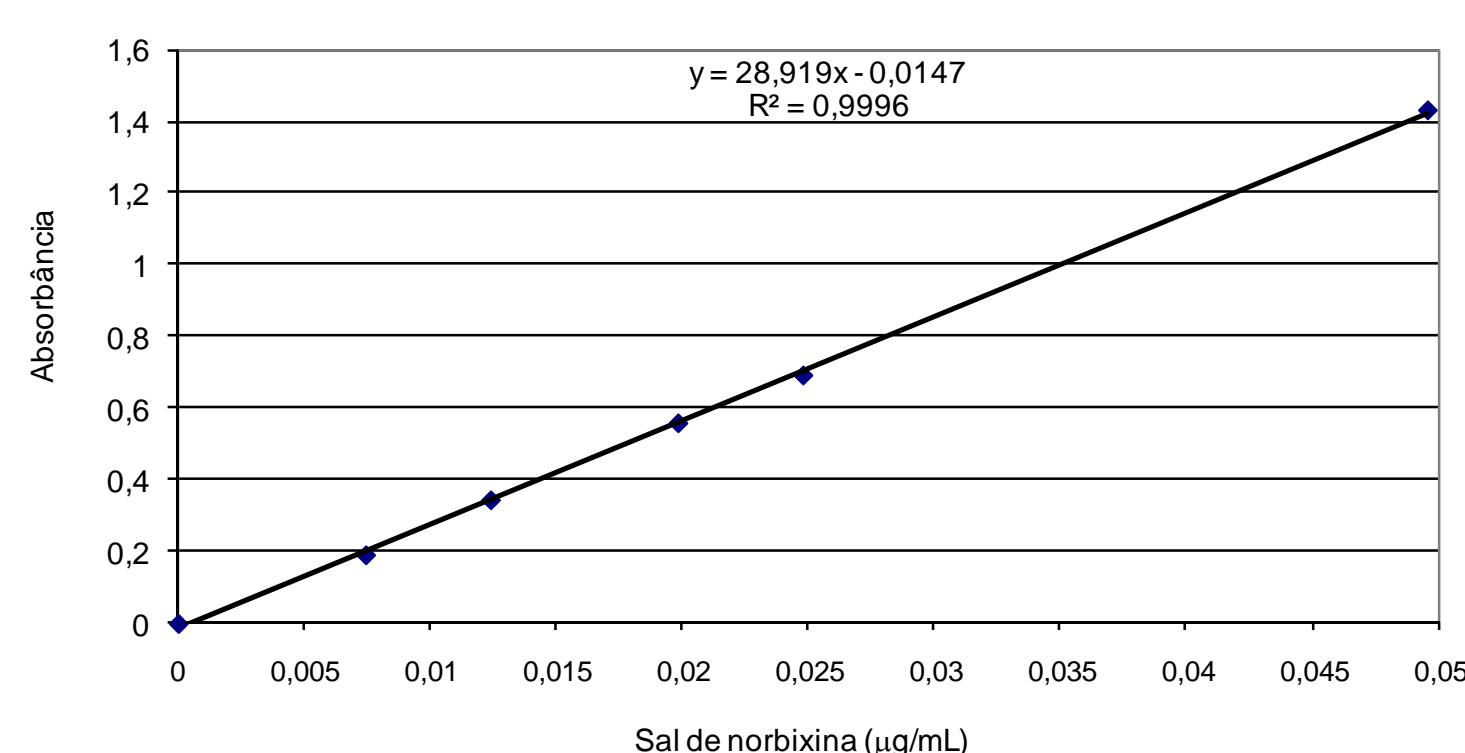


FIGURA 3. Curva analítica para sal de norbixina.

**Precisão do sistema:** A Tabela 2 apresenta as 10 leituras consecutivas da amostra, a estimativa de desvio padrão, o coeficiente de variação e o coeficiente de variação obtido pelo uso da equação de Horvitz (HORVITZ, 1982). A comparação com o valor obtido pela equação de Horvitz indicou que o sistema espectrofotométrico foi preciso para a determinação proposta.

**Precisão do método:** A Tabela 3 apresenta as 7 repetições analíticas da metodologia utilizada, a estimativa de desvio padrão, o coeficiente de variação e o coeficiente de variação obtido pelo uso da equação de Horvitz. A comparação com o valor obtido pela equação de Horvitz indicou que o método foi preciso para a determinação proposta.

**Limite de detecção:** O limite de detecção do método foi de 0,31 mg de carotenóides totais expressos como bixina por 100 g de sementes de urucum.

**Limite de quantificação:** O limite de quantificação do método foi de 0,63 mg de carotenóides totais expressos como bixina por 100 g de sementes de urucum.

TABELA 2. Absorbâncias obtidas nas dez leituras subsequentes de uma amostra.

Precisão do sistema	
Ensaio	Absorbância
1	0,482
2	0,482
3	0,482
4	0,481
5	0,482
6	0,481
7	0,481
8	0,481
9	0,481
10	0,481
Média	0,481
s	0,00049
CV (%)	0,10
CV Max (%)	4

TABELA 3. Concentração de sal de norbixina e bixina em semente de urucum, média, estimativa de desvio padrão (s) e coeficiente de variação (CV).

Ensaio	Sal de norbixina (g/100g)	Bixina (g/100g)
1	4,68	5,43
2	4,69	5,44
3	4,89	5,67
4	4,74	5,50
5	4,64	5,39
6	4,60	5,34
7	4,70	5,45
Média	4,71	5,46
s	0,09	0,11
%CV	2	2

**Robustez:** No teste de robustez foi observado diferença significativa para: tamanho da amostragem (massa de amostra); tempo de agitação, volume inicial;  $\lambda$  e coeficiente de absorção. Portanto o método é sensível para pequenas variações nos procedimentos analíticos.

**Incerteza expandida na amostra avaliada:** A incerteza expandida para o processo analítico utilizado na validação apresentou um valor de 5,5%. A Figura 4 apresenta a contribuição relativa das incertezas do método. Desse modo a semente utilizada para a validação do método analítico apresentou os seguintes valores:  $5,46 \pm 0,30g$  (K=2, 95%) de carotenóides totais expressos como bixina e  $4,71 \pm 0,26g$  (K=2, 95%) de carotenóides totais expressos como sal de norbixina.

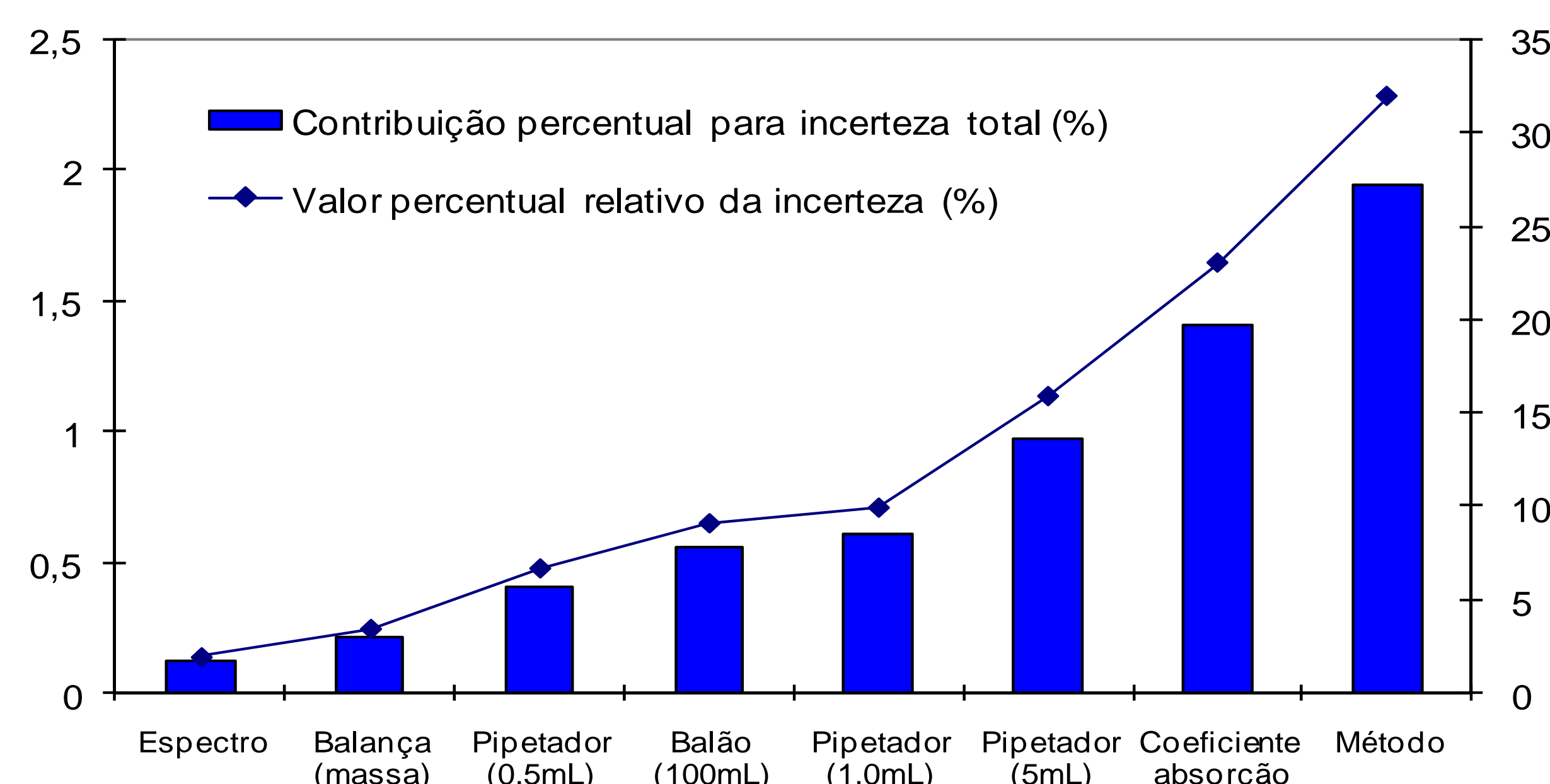


FIGURA 4: Contribuição percentual das incertezas.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pelo apoio financeiro ao projeto.

<sup>1</sup>Instituto de Tecnologia de Alimentos – Av. Brasil – 2880 – CEP 13070-178 – Campinas – SP  
martags@ital.sp.gov.br