

## AVALIAÇÃO DO SUCO DE LARANJA EM REFRESCOS, CONCENTRADOS E OUTROS PRODUTOS DERIVADOS <sup>(1)</sup>

### CHEMICAL DETERMINATION OF ORANGE JUICE IN REFRESHMENTS, CONCENTRATED AND OTHER DERIVATIVE PRODUCTS

WALDOMIRO PREGNOLATTO <sup>(2)</sup>

MYRNA SABINO <sup>(2)</sup>

A chemical determination of orange juice in refreshments, concentrated and liophilized juices and jams is described.

The method involves the precipitation of the quaternary ammonium bases by Reineck salt, separation of the diferents bases by paper chromatography and colorimetric determination of betaine, natural compound present in the orange juice, as betaine reineckate.

Results obtained with a great variety of orange species, shoued that the determination is pratical, reproducibile, simple and that it can be done in any modest laboratory.

The method seems to be specific for citric fruits; in mixtures orange and apple, pineapple, or tomato juices, for instance, the orange juice was easily determined.

The betaine content of different Brazillian orange was determined; the mean value found was 85 mg of betaine per 100 ml of juice.

The betaine content of 37 elaborated products was determined. From these, 23 were prepared in our laboratory.

It was found that the storage time does not alter the betaine content of the elaborated product.

The sensitivity of the method permits the determination of orange juice content of refreshments to the dilution of 1%.

Constitue um sério problema para os laboratórios incumbidos de controlar a qualidade e autenticidade de produtos alimentícios a determinação da porcentagem de suco de laranja que entra na composição de refrescos, aperitivos, concentrados, geleias, laranjadas.

Essa afirmação é tão verdadeira, que não encontramos até hoje um método que tenha sido estabelecido para êsse fim, por qualquer laboratório oficial de contrôle de alimentos.

A determinação convencional do nitrogênio, fósforo e potássio e subsequente re-

lacionamento, além de muito trabalhoso, não conduz a nenhum resultado aceitável; além disso, a introdução de aditivos químicos nêsse tipo de produtos leva a erros que não podem ser evitados.

Para uma correta avaliação dêsses produtos era necessário encontrar-se na laranja um componente específico, quimicamente dosável e em porcentagem razoavelmente constante.

UNDERWOOD & ROCKLAND separaram e dosaram os aminoácidos livres em uma série de sucos de frutas cítricas, e concluíram ser razoavelmente constante e

(1) Trabalho realizado na Seção de Química Biológica e Espectrografia do Instituto Adolfo Lutz. Patrocinado pelo Fundo de Pesquisas do Instituto Adolfo Lutz. Apresentado no 10.º Congresso Latino-Americano de Química em São José da Costa Rica, em fevereiro de 1969.

(2) Da Seção de Química Biológica e Espectrografia do Instituto Adolfo Lutz.

específica da variedade a presença dêsses compostos, independentemente da origem geográfica dos frutos.

LEWIS, em 1966, verificou conter a laranja, betaína em porcentagem relativamente constante e quimicamente dosável. O autor encontrou a porcentagem de 72,4 mg% de betaína como valor médio na dosagem de 6 sucos de laranja (2 da Flórida, 1 de Valência da Austrália, 2 de Israel e 1 da Espanha). Analisou também 49 amostras de sucos concentrados de laranja.

O método usado por Lewis consistiu em separar a betaína de outros componentes do suco, cromatograficamente em duas colunas sucessivas, dosando finalmente a betaína pelo método de WALKER E ERLANDSEN<sup>(3)</sup>.

A literatura registra alguns trabalhos sobre métodos químicos para separação e dosagem de betaína em produtos naturais, através da cromatografia em coluna<sup>(4, 5, 6, 7)</sup>, cromatografia em camada delgada<sup>(8, 9)</sup> e cromatografia em papel<sup>(1)</sup>

O método que passamos a descrever baseia-se na precipitação da betaína contida na laranja, usando o reineckato de amônio em meio ácido como agente precipitante, purificando o reineckato de betaína por cromatografia em papel ascendente e dosagem espectrofotométrica do eluato etanólico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Reagentes

- Cloridrato de betaína
- Sal de Reineck
- Ácido clorídrico
- Éter di-etílico-água (140:1)
- Acetona aquosa 70% v/v
- Etanol
- Solvente
  - Butanol-ácido acético-água (10:5:2)
- Solução de Reineckato de amônio (preparar no momento de usar)

Dissolver 1,5 g de sal de Reineck em 100 ml de água destilada;

Agitar bem e acertar o pH ao redor de 1, com HCL N. Deixar em repouso à temperatura ambiente, por 30 minutos. Filtrar.

### Método

#### a) Determinação da betaína em sucos de laranja

Pesar 30 g ou pipetar 30 ml de suco de laranja, transferir para copo de 150 ml e resfriar, deixando em gelo por 10 minutos.

Adicionar de 10 a 15 ml do Reineckato (usar sempre excesso) e deixar em gelo por 2 horas.

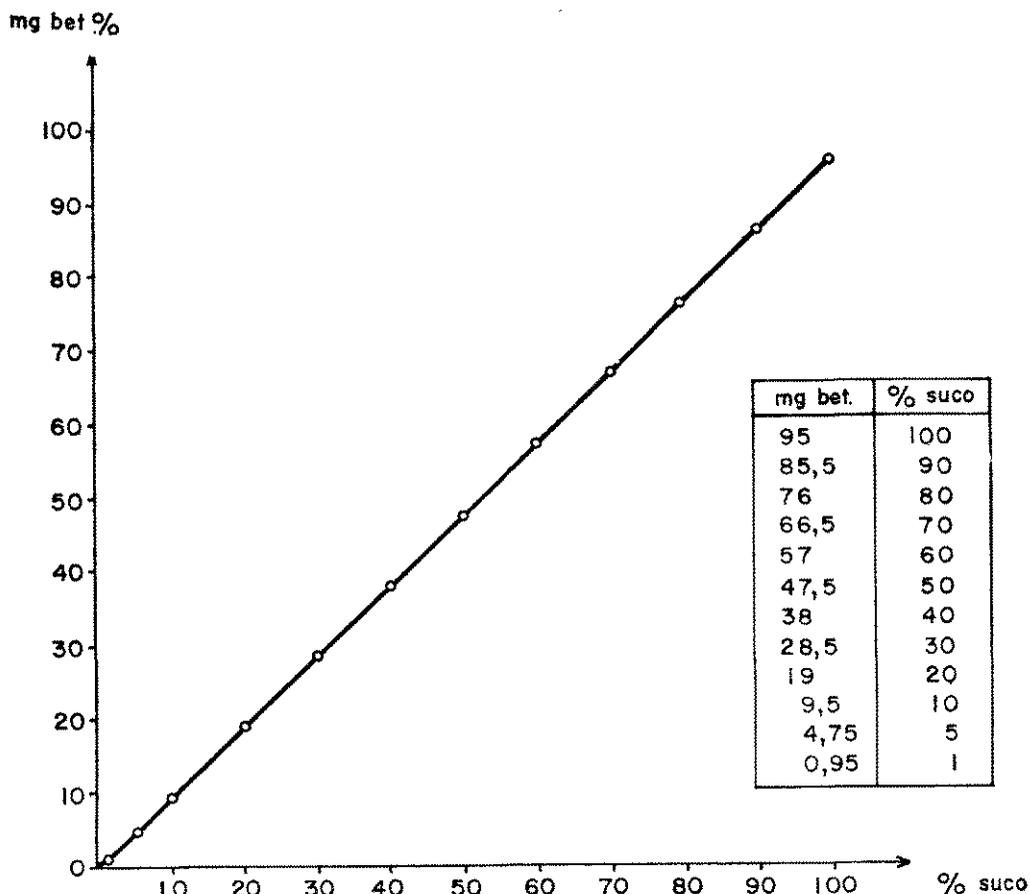
Recolher o precipitado filtrando através papel; lavar o precipitado e o copo com 3 porções de 2 ml de éter-água (140:1). Transferir o precipitado para balão volumétrico de 25 ml, com auxílio da acetona-aquosa a 70%. Completar o volume com o mesmo dissolvente e homogeneizar.

#### b) Cromatografia

Cromatografe em papel ascendente usando tiras de papel Whatmann nº 1, de 4 por 13 cm, transferindo para o papel quantidade tal da amostra que contenha de 5 a 100 µg de betaína (ótimo 50 µg).

Desenvolver o cromatograma com o butanol-ácido-acético-água (10:5:2), secar ao ar. Eluir a mancha formada a um Rf entre 0,72 e 0,77 com 10 ml de etanol, por contato durante 15 minutos. Lêr a absorção dessa solução em espectrofotômetro apropriado a 320 µg, usando o eluente como branco. (Foi usado o Beckmann D U). Compare na curva padrão e calcule a quantidade porcentual de betaína no suco.

Para produtos industrializados, prepare diluições aquosas apropriadas do produto e proceda como para suco de laranja; das quantidades de betaína obtida calcule o teor de suco de laranja no produto, usando como base o valor médio de betaína no suco que é o de 94,5 mg/100 ml, ou use os valores do gráfico.



Relação entre mg% de betaina e porcentagem de suco de laranja no produto.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método aqui apresentado é simples, reproduzível, realizável em qualquer laboratório mesmo modesto, não apresentando os inconvenientes e as dificuldades da cromatografia em coluna.

A lei de Beer é obedecida entre concentrações de 5 a 100 mg de betaina nas condições estabelecidas no método (curva padrão).

A precipitação da betaina e o cromatograma devem ser feitos no mesmo dia;

o decurso de 24 horas entre a precipitação e a cromatografia pode causar erro até de 30%, para menos, pois o Reineckato de betaina se decompõe muito facilmente.

Determinou-se inicialmente a quantidade de betaina existente nos sucos de diferentes espécies de laranjas encontradas em mercados brasileiros, cujos valores médios se encontram no quadro I. Vê-se que a laranja Pera (*Citrus aurantium* L.) apresenta o mais elevado teor de betaina (113 mg % p/v) e a Ponkan o menor teor (47,2 mg % p/v).

QUADRO I

Quantidade de betaina em sucos de laranjas brasileiras

Variedades de laranja	Betaina por 100 ml de suco mg
Pera ( <i>Citrus aurantium</i> L.)	113,0
Bahia ( <i>Citrus sinensis</i> L.)	100,6
Lima ( <i>Citrus sinensis</i> L.)	99,0
Seleta ( <i>Citrus aurantium</i> , v. <i>depressum</i> )	88,0
Tangerina ( <i>Citrus nobilis</i> , v. <i>deliciosa</i> )	88,0
Lisa	80,0
Lima lisa	83,3
Mixirica ( <i>Citrus nobilis</i> )	83,0
Ponkan	47,2

As variedades industrialmente mais usadas são: Bahia, Pera, Seleta, e Lisa. O valor 95,4 mg betaina/100 ml suco representa a média nessas 4 variedades.

Verificou-se a influência do estado de maturação sobre o conteúdo de betaina das laranjas; o máximo de concentração é atingido nas laranjas maduras. Laranjas verdes e laranjas em início de putrefação a apresentam baixo teor de betaina, como mostra o quadro II:

QUADRO II

Quantidade de betaina na laranja nas diversas fases de maturação

Variedades de laranja	Estado de maturação	Betaina por 100 ml de suco mg
Pera	verde	28
Lisa	verde	28
Bahia	verde	28
Pera	em putrefação	58

Carvão ativo não adsorve betaina; amostas de refrigerantes artificiais fortemente coloridos aos quais se adicionou suco de

laranja foram previamente descoloridos com carvão e o teor de betaina encontrado foi o esperado.

O tempo de armazenamento pouca influência exerce sobre a estabilidade da betaina; refrescos contendo 70% de suco de laranja, 8% de açúcar e 0,15% de benzoato de sódio foram controlados durante 70 dias; não houve praticamente queda no teor da betaina.

A sensibilidade do método para refrescos e produtos similares permite a dosagem do suco de laranja até diluição de 1%.

Pesquisou-se a presença de betaina em outras frutas cujos sucos comumente podem ser misturados ao de laranja; abacaxi (*Bromelia ananas* L.), maçã (*Pyrus malus* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) não contém betaina.

Diversas variedades de limão e "grape fruit" contêm betaina e os teores médios estão no quadro III.

QUADRO III

Quantidade de betaina em limões e "grape Fruit"

VARIEDADE	Betaina por 100 ml de suco mg
Limão siciliano ( <i>Citrus limonia</i> O.)	36,0
Limão cravo	29,0
Limão Haiti	63,6
Grape fruit	39,3

Em refrescos contendo além de suco de laranja, suco de abacaxi, de maçã, ou de tomate ou ainda mistura dos quatro, a quantidade de suco de laranja foi dosado sem dificuldade, e os teores de betaina obtidos corresponderam sempre ao esperado.

Dosou-se o teor de betaina também em aperitivos, geléias, concentrados, liofilizados e laranjadas comumente encontradas no nosso comércio.

Testes de recuperação de betaina foram feitos usando-se como suporte um refrigerante artificial de laranja isento de betaina,

ao qual se adicionou 10 mg de betaína por 100 ml do produto. A média de 5 determinações foi de 98,5%, sendo o resultado maior 101% e o menor 97,8%.

### RESUMO

Descreve-se um método químico para a determinação da porcentagem de suco de laranja em refrescos, concentrados, suco liofilizado, geléias e aperitivos.

O método baseia-se na precipitação das bases quaternárias de amônio, pelo sal de Reineck, separação das diferentes bases por cromatografia em papel e determinação colorimétrica da betaína, componente natural e constante da laranja, na forma de reineckato de betaína.

Os resultados obtidos com uma série grande de sucos de laranja de diferentes espécies levam à conclusão de que o método é praticável, reproduzível, simples e de baixo custo, realizável em qualquer laboratório modesto.

O método mostrou-se específico para frutas cítricas; em misturas de suco de laranja com os de maçã, abacaxi, tomate, por exemplo, o suco de laranja foi determinado facilmente.

Foi determinado o conteúdo de betaína em diferentes espécies de laranjas brasileiras, sendo encontrado o teor médio de 95 mg de betaína por 100 ml de suco.

Determinou-se o teor de betaína em 37 produtos elaborados; desses, 23 foram preparados em nosso laboratório.

Verificou-se que o tempo de armazenamento não altera o conteúdo de betaína dos produtos elaborados.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CARRUTHERS, A.; OLDFIELD, J. F. T. & TEACGE, H. J. — The removal of interfering ions in the determination of betaine in sugar beet juices and plant material. *Analyst* 85:272-5, 1960.
2. DONALD, D. C.; WALL, J. S.
3. ENEROTH, P. & LINDSTEDT, G. — Thin-layer chromatography of betaines and other compounds related to carnitine. *Anal. Biochem.* 10:479, 1965.
4. GRYLLUS, E. & MAGYAR, K. — Application of ion exchanges in the Hungarian food industries. *Elelm. Spas* 20:102, 1966. Resumo *in Chem. Absts.*
5. LEWIS, W. M. — Chemical evaluation of orange juice in compounded soft drinks. *J. Sci. Fd. Agric.* 17:316, 1966.
6. SCHULZE, A. — Recovery of betaine or its salts from molasses residue with ion exchange resins.
7. SULLIVAN, G. & BRADY, L. R. — Thin-layer chromatographic separation of betaine, choline and muscarine. *Lloydia* 28(1):68-70, 1965. Resumo *in Chem. Absts.* 63:8180g, 1965.
8. UNDERWOOD, J. C. & ROCKLAND, L. B. — Nitrogenous constituents in citrus fruits. 1: Some free amino acids citrus juices determined by small-scale filter paper chromatography — *Fd. Res.* 18(1):17-29, 1953.
9. WALKER, H. G. & ERLANDSEN, R. — Rapid method for determination of betaine. *Anal. Chem.* 23(2):1309, 1951.

Recebido para publicação em 5 de agosto de 1969.

