



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

IVANIELY SAMPAIO DO NASCIMENTO

**ESTUDO QUANTITATIVO COMPARATIVO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM
TOMATES CONVENCIONAIS E ORGÂNICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA
DE ALTA EFICIÊNCIA**

FORTALEZA
2022

IVANIELY SAMPAIO DO NASCIMENTO

ESTUDO QUANTITATIVO COMPARATIVO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM TOMATES
CONVENCIONAIS E ORGÂNICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA
EFICIÊNCIA

Monografia apresentada ao Curso de Química Bacharelado da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química com habilitação em Química Industrial.

Orientadora Pedagógico: Ronaldo Ferreira do Nascimento

Orientador Profissional: Renata de Oliveira Silva

FORTALEZA
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- N195e Nascimento, Ivaniely Sampaio do.
Estudo quantitativo comparativo de ácido ascórbico em tomates convencionais e orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência / Ivaniely Sampaio do Nascimento. – 2022.
35 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Química, Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento.
Coorientação: Profa. Dra. Renata de Oliveira Silva.
1. Agrotóxico. 2. Vitamina C. 3. Hortaliça. I. Título.

CDD 540

IVANIELY SAMPAIO DO NASCIMENTO

ESTUDO QUANTITATIVO COMPARATIVO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM TOMATES
CONVENCIONAIS E ORGÂNICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA
EFICIÊNCIA

Monografia apresentada ao Curso
de Química Bacharelado da
Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em
Química com habilitação em
Química Industrial.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento (Orientador Pedagógico)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Renata de Oliveira Silva (Orientador Profissional)
Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará (Nutec)

Me. Matheus de Oliveira Barros (Examinador)
Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (Embrapa)

À minha mãe, Raquel.

Às minhas irmãs Eligenes e Ivana.

Ao meu sobrinho Israel

À toda a minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar durante essa trajetória e por me dar capacidade de concluir um dos maiores objetivos da minha vida, a graduação.

À minha mãe Raquel que dedicou toda a vida para que eu tivesse condições de terminar meus estudos e sempre esteve presente me dando conselhos e me incentivando a ser uma pessoa cada vez melhor.

À minha irmã Eligenes que é a minha maior referência na vida acadêmica, que me incentiva na busca de conhecimentos e que não me desampara nunca.

À minha irmã Ivana por estar sempre presente e ajudando não importando qual seja a situação.

Ao meu namorado Pedro que me acompanhou durante todo o processo de conclusão de curso, me incentivando e não me deixando desistir nunca.

À toda a minha família e amigos que convivem comigo e que sempre me deram o suporte necessário.

Ao meu orientador pedagógico, Prof. Dr. Ronaldo Ferreira que aceitou me orientar durante todo esse processo e disponibilizou o seu laboratório para que eu pudesse concluir o meu trabalho.

Ao Hélio Oliveira, do Laboratório de Análise de Traços da UFC, por ter se disponibilizado a me acompanhar durante as análises e por todo o ensinamento.

Aos meus amigos de curso, Vinicius, Ana Clara, Mafalda, Ludmila e Túlio que me acompanharam durante todo o curso e por toda a ajuda que me deram tornando o aprendizado e a convivência melhores.

Às minhas colegas de laboratório do Nutec, Mikaelly e Mairlane que prestaram todo o suporte necessário durante a vivência no laboratório e por todas as conversas descontraídas que tivemos.

À minha Orientadora profissional Renata um agradecimento especial por ter me aceitado no laboratório, por todo o acolhimento e todo o conhecimento adquirido não só na carreira acadêmica, mas na vida.

Ao Laboratório de Química Instrumental (LQI) e ao Nutec pela infraestrutura oferecida que permitiu o desenvolvimento e conclusão do meu trabalho.

E por fim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a minha formação e para a realização desse trabalho.

Mas, sejam fortes e não desanimem, pois o trabalho de vocês será recompensado (Bíblia - 2 Crônicas 15:7)

RESUMO

O tomate é um fruto originário da América Central e do Sul, sendo cultivado desde o século XVI, atualmente é uma das hortaliças mais produzidas e consumidas mundialmente. O plantio do tomate se difere em tutorado e rasteiro e é direcionado, respectivamente, para consumo *in natura* e para a indústria. Os tomates consumidos *in natura*, diretamente na mesa dos brasileiros, possuem cultivo de origem orgânica ou convencional. O tipo de cultivo convencional tem como principal característica o uso de agrotóxicos e o orgânico é realizado sem esse tipo de insumo. É um fruto que possui um alto valor nutricional, pois é rico em minerais, vitaminas, aminoácidos e fibras. A vitamina C (ácido ascórbico) é um importante composto contido no tomate, entretanto é facilmente oxidada por causa dos seus grupamentos hidroxilas. O objetivo desse trabalho foi realizar um estudo comparativo da quantidade de ácido ascórbico em tomates de cultivo orgânico e tradicional. Para quantificar o ácido ascórbico (AA) nas amostras de tomates foi utilizada a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com um preparo de amostra de Extração em Fase Sólida (EFS). A quantificação foi conduzida em HPLC- DAD utilizando uma coluna cromatográfica de fase reversa ACE 3 C₁₈ (15 cm x 2,1 mm). A fase móvel utilizada foi uma solução de fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) 0,2 mol.L⁻¹ acidificada com ácido fosfórico até pH 2,4. As condições do método foi uma eluição isocrática, com fluxo de 0,5 mL/min, a temperatura ambiente, e um volume de injeção de 20 µL. A análise foi realizada em um comprimento de onda de 254 nm e a integração dos picos obtidas no *software* LCsolution[®] da Shimadizu. As concentrações obtidas após a análise mostraram uma diferença significativa na quantidade de ácido ascórbico entre as amostras de tomates, que pode estar relacionada ao tempo de armazenamento para cada tipo de tomate. Conclui-se que a técnica aplicada para quantificar o AA é válida e pode ser aplicada em trabalhos futuros.

Palavras-chave: agrotóxico; vitamina C; hortaliça

ABSTRACT

The tomato is a fruit originally from Central and South America, and has been cultivated since the 16th century, it is currently one of the most produced and consumed fruit worldwide. Tomato plantation differs in tutored low and is directed, respectively, for fresh consumption and the industry. Tomatoes consumed *in natura*, directly on the table of Brazilians, can have organic or conventional cultivation. The main characteristic of conventional cultivation is the use of pesticides and the organic one is carried out without this type of input. It is a fruit that has a high nutritional value, as it is rich in minerals, vitamins, amino acids, and fibers. Vitamin C (ascorbic acid) is an important compound contained in tomatoes; however, it is easily oxidized because of its hydroxyl groups. The objective of this work was to carry out a comparative study of the amount of ascorbic acid in organic and traditional tomatoes. To quantify ascorbic acid (AA) in tomato samples, High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used with a Solid Phase Extraction (SFE) sample preparation. Quantification was conducted on HPLC-DAD using an ACE 3 C18 reversed-phase chromatography column (15 cm x 2.1 mm). The mobile phase used was a 0.2 mol.L⁻¹ solution of monobasic potassium phosphate (KH₂PO₄) acidified with phosphoric acid to pH 2.4. The method conditions were an isocratic elution, with a flow rate of 0.5 mL/min, at room temperature, and an injection volume of 20 µL. The analysis was performed at a wavelength of 254 nm and the peak integration was obtained using Shimadizu's LCsolution® software. The concentrations obtained after the analysis showed a significant difference in the amount of ascorbic acid between the tomato samples, which may be related to the storage time for each type of tomato. It is concluded that the technique applied to quantify AA is valid and can be applied in future works.

Keywords: pesticide; vitamin C; fruit

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tomate	16
Figura 2 - Selos de identificação de produto orgânico aferido pelo ministério da agricultura e pelo IBD	20
Figura 3 - (a) Esquema do processo cromatográfico mostrando a migração de duas bandas de componentes para baixo de uma coluna. (b) Representação microscópica do processo de partição das moléculas de analito A e B na fase estacionária ligada a um suporte.	23
Figura 4 - Esquema de extração da técnica EFS	25
Figura 5 - Tomates Orgânico: O1- Orgânico 1; O2 - Orgânico 2; O3 - Orgânico 3	26
Figura 6 - Tomates Convencionais: C1 - amostra 1; C2 - amostra 2; C3 - amostra 3.....	26
Figura 7 - Preparo do suco do tomate.....	27
Figura 8 - Sistema de preparo – extração em fase sólida	27
Figura 9 - Cromatógrafo Prominence UFLC Shimadzu.....	28
Figura 10 - Reagente padrão de ácido ascórbico – Sigma Aldrich	29
Figura 11- Curva analítica do padrão de ácido ascórbico.	30
Figura 12 - Perfil cromatográfico das amostras de tomates orgânicos.....	32
Figura 13 - Perfil cromatográfico das amostras de tomates convencionais	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – LMR de agrotóxicos para o plantio de tomate.....	18
Tabela 2 – Diferenças entre os tipos de cultivos de tomate.....	21
Tabela 3 – Recomendação diária de vitamina C de acordo com a faixa etária	22
Tabela 4 – Características Físico-química do ácido ascórbico.....	23
Tabela 5 – Parâmetros da obtenção da curva analítica de ácido ascórbico. A1, A2 e A3: áreas integradas; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variância; TR: tempo de retenção nas concentrações de 10 a 100 mg L ⁻¹	31
Tabela 6 – Concentração de ácido ascórbico nos tomates orgânicos (O1, O2 e O3) e convencionais (C1, C2 e C3) obtidas nos respectivos cromatogramas.	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO	15
2.1	Objetivo Geral.....	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1	Tomate	16
3.2	Tomates industriais e tomates de mesa.....	17
3.3	Tipos de plantio	17
3.3.1	Plantio Convencional	17
3.3.2	Plantio Orgânico.....	20
3.4	Ácido Ascórbico (Vitamina C)	21
3.5	Técnicas de Quantificação e de Preparo da amostra.....	23
3.5.1	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	23
3.5.2	Extração em Fase Sólida	24
4	METODOLOGIA.....	26
4.1	Pré-tratamento da Amostra	26
4.2	Preparo da Amostra – Extração em fase sólida	27
4.3	Desenvolvimento do método cromatográfico.....	28
4.3.1	Curva de calibração	28
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6.1	Curva de Calibração.....	30
6.2	Limites de detecção e quantificação, e precisão	30
6.3	Perfil Cromatográfico das Amostras.....	31
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	35
	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

O tomate é umas das hortaliças mais consumidas e produzidas em todo o mundo. O maior produtor mundial de tomate é a China, com aproximadamente 64 milhões de quilos, já o Brasil produziu cerca de 3 milhões de kg no ano de 2021, sendo o décimo maior produtor (SILVA, 2022). A cultura do tomateiro no Brasil se concentra nos estados de Goiás, São Paulo e Minas Gerais, entretanto é produzido em todas as regiões (CONAB, 2019). Segundo o IBGE, a área de plantio no Brasil alcançou aproximadamente 64 mil ha em 2016, desse total 35% foram destinados a indústria e o restante para o consumo in natura.

O tomate é originário da América Central e do Sul, domesticado no México e sendo cultivado na Europa a partir do século XVI. Apesar de já disseminado na Europa, para a Ásia, África e oriente Médio, seu consumo mundial ocorreu somente a partir do século XIX. Além do nome tomate (português, espanhol e francês), esse fruto recebe outros nomes bem comuns como, tomati (africano ocidental) e pomodoro (italiano) (NAIKA et al., 2006).

O sistema de cultivo do tomate, dividido em tutorado ou em rasteiro, apresenta vantagens no ciclo relativamente curto, no alto valor agregado no elevado teor de nutrientes e na possibilidade de uma cultura aberta ou fechada (NAIKA et al., 2006). Apesar da sua colheita ocorrer durante o ano todo, o tomate é bastante suscetível a pragas e doenças. As pragas mais comuns são causadas por insetos, como a mosca branca e as traças, mas o plantio pode ser afetado ainda por nemátodos (vermes) e por doenças causadas por fungos, bactérias e vírus.

O cultivo do tomate pode ainda ser dividido em orgânico e convencional. Para combater as pragas, doenças e manter alta a produção de tomate são utilizadas substâncias químicas, como agrotóxicos e fertilizantes, no plantio convencional. Já no plantio orgânico, esse controle é feito sem o uso de substâncias tóxicas. O uso de agrotóxicos é a principal diferença entre esses dois tipos de tomate, entretanto seus plantios diferem em outros aspectos também.

O consumo desse fruto mantém uma dieta saudável e equilibrada ajudando no funcionamento do organismo e na redução dos riscos de doenças, uma vez que é rico em micronutrientes (minerais e vitaminas), aminoácidos essenciais, fibras e compostos fenólicos como: licopeno, cálcio e carotenoides (CARVALHO et al., 2017). Dentre as vitaminas presentes no tomate, o ácido ascórbico (vitamina C) é de extrema importância pois a sua função antioxidante exerce proteção contra os radicais livres. Além disso, o ácido ascórbico atua na

produção de colágeno, na atividade da dopamina beta-hidroxilase (DBH) e na prevenção de doenças relacionadas ao coração e no câncer (NOVÁKOVÁ; SOLICH; SOLICHOVÁ, 2008). Para conhecer a disponibilidade dessa vitamina em tomates orgânicos e convencionais foi realizado um estudo comparativo entre eles envolvendo a cromatografia líquida de alto desempenho. Além disso foi utilizado um parâmetro estatístico para determinar se a diferença de vitamina C existente nas amostras tem significância.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Determinar e comparar a quantidade de ácido ascórbico em tomates de cultivo tradicional, e em tomates de cultivo orgânico.

2.2 Objetivos Específicos

Estimar a quantidade de ácido ascórbico nas amostras de tomate convencional e orgânico por meio de cromatografia líquida de alta eficiência;

Determinar se existe uma diferença estatística significativa na quantidade de ácido ascórbico presente nas amostras.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Tomate

O tomate (Figura 1), fruto proveniente do tomateiro (*Solanum lycopersicum*; Solanaceae), é uma planta herbácea com espécies do tipo rasteira ou trepadeira, caule flexível com ramificações, flores amarelas em cachos, podendo ter frutos longos ou achatados nas cores vermelha, verde e roxa (CARVALHO et al., 2017).

Figura 1 - Tomate



Fonte: Conquiste sua vida (2022)

O tomateiro é uma planta anual, sua altura pode chegar a 2 metros e pode diferenciar-se em dois tipos, determinado e indeterminado. Os indeterminados, considerados variedades altas, tem um período de cultivo prolongado e desenvolvem-se mesmo após a florescência. Seus frutos desenvolvem-se à sombra das folhas, o que dá a vantagem de não ser prejudicado pela luz solar e de ter um amadurecimento mais lento. Esse tipo tomateiro necessita de tutoramento, técnica que consiste em amarrar a planta em estacas para que não entre em contato com o solo, evitando uma possível contaminação. Esse tipo de tomateiro dá origem aos tomates consumidos *in natura*, considerados tomates de mesa (NAIKA et al., 2006).

Já o tipo determinado para de se desenvolver após a florescência e seus frutos amadurecem muito mais rápidos. Esse tomateiro não necessita de tutoramento, seu crescimento é rasteiro no solo, suportando seu próprio peso. Seu cultivo é considerado de baixo custo, pois não necessita de muita mão-de-obra, por isso seus tomates são direcionados para a indústria. (NAIKA et al., 2006).

Apesar de ser classificado como fruto, o tomate é estudado no grupo das hortaliças e está entre os mais consumidos na dieta dos brasileiros, depois da alface. Por ser rico em licopeno, um poderoso antioxidante que combate o envelhecimento precoce e alguns tipos de câncer, o tomate é um alimento essencial no cotidiano dos seres humanos. Além disso o fruto é rico em vitaminas A, B e C, em sais minerais e nutrientes que ajudam no desenvolvimento dos músculos e ossos, e na proteção do sistema imunológico (CONAB, 2019).

3.2 Tomates industriais e tomates de mesa

Por possuir essa grande variedade de espécies conhecidas mundialmente, o tomate possui sua produção dividida em frutos destinados à indústria e à mesa. Os tomates destinados à indústria são parte de um mercado dinâmico, eficiente e competitivo no Brasil. Estima-se que a safra brasileira industrial de tomate atingiu 1,8 milhões de toneladas em 2010 e as principais marcas produtoras são Elefante, Pomarolla, Salsaretti, Etti, Arisco, Tarantella, Predlecta. O Brasil conta com 23 agroindústrias de atomatados, localizados na maior parte no estado de Goiás, e geram como principais produtos os concentrados e molhos (CLEMENTE; BOITEUX, 2012)

Os tomates de mesa, consumidos *in natura*, são divididos em 4 grupos: Cereja, Santa Cruz, Italiano e Salada. Os tomates cerejas são frutos pequenos de coloração vermelha a amarela e além do consumo em saladas são usados principalmente como ornamentos de pratos. Os tomates Santa Cruz são os que apresentam o menor custo no mercado e são tradicionalmente utilizados em molhos e saladas. O Italiano, por possuir uma polpa mais espessa é utilizado principalmente em molhos, mas ainda assim são consumidos em saladas. Os tomates do tipo Salada são os que apresentam menor acidez e seus frutos podem atingir até 500g e esses são os mais consumidos no Brasil (CONAB, 2019).

3.3 Tipos de plantio

3.3.1 Plantio Convencional

No sistema convencional o preparo do solo para cultivar o tomate segue as etapas de calagem, aração, abertura de sulcos para semeadura e adubação feita através de minerais. Como consequência de uma alta demanda pelo fruto do tomateiro, nesse tipo de plantio são usadas substâncias químicas como fertilizantes e agrotóxicos, além de reguladores de crescimento desfolhantes e dissecentes, que são necessárias para combater as pragas e as doenças e evitar possíveis perdas na colheita. Para manter o ritmo de produção, o uso de agrotóxicos é

amplamente impulsionado não só na cultura do tomateiro, mas no segmento agrônomo em geral (MAZZEI et al., 2021).

Em 2015, estima-se que foi pulverizado 899 milhões de litros de agrotóxicos em produtos advindos dos 21 tipos de lavouras brasileiras. Já é cientificamente comprovado que o uso excessivo de agrotóxicos é nocivo ao ser humano, podendo causar intoxicação aguda, malformação do feto e mortalidade infanto-juvenil. Durante os anos de 2012 a 2016 os principais tipos de agrotóxicos utilizados no Brasil foram Glifosato (herbicida), Clorpirifós (inseticida), 2,4-D (herbicida), Atrazina (herbicida), Óleo mineral (adjuvante), Mancozebe (fungicida), Metoxifenoazida (inseticida), Acefato (inseticida), Haloxifop-P-Metilico (herbicida), Lactofem (herbicida), Metomil (inseticida), Diquate (herbicida), Picoxistrobina (fungicida), Flumetsulam (herbicida), Teflubenzurom (inseticida), Imidacloprido (inseticida), Lambda cialotina (inseticida), Imazetapir (herbicida), Azoxistrobina (fungicida) e Flutriafol (fungicida). Destes, 15% são considerados extremamente tóxicos, 25% altamente tóxicos, 35% medianamente tóxicos e 25% pouco tóxicos para o ser humano (PIGNATI et al., 2017).

Considerando o plantio do tomate, os principais agrotóxicos utilizados são os da classe de inseticida e fungicida. A tabela 2 mostra os valores de limite máximo de resíduos (LMR) dos agrotóxicos que tem uso permitido na cultura do tomate, de acordo com o relatório do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA. Segundo esse estudo, foram analisadas 316 amostras de tomates de mesa e os princípios ativos mais detectados foram o imidacloprido (108 amostras), fenpropratrina (86 amostras) e carbendazim (82 amostras).

Tabela 1- LMR de agrotóxicos para o plantio de tomate

Agrotóxicos	Classe Agrônômica	LMR (mg/Kg)
Acetamiprido	Inseticida	0,5
Azoxistrobina	Fungicida	0,5
Bifentrina	Acaricida – Fungicida - Inseticida	0,02
Boscalida	Fungicida	0,05
Buprofenzina	Acaricida - Inseticida	0,5
Carbendazim	Fungicida	0,1 0,2
Carbosulfano	Acaricida -Cupinicida - Inseticida - Neonicotinóides	0,05

Ciazofamida	Acaricida - Inseticida - Neonicotinóides	0,05
Ciflutrina	Fungicida	0,02
Cipermetrina	Fungicida - Inseticida	0,5
Clorotalonil	Fungicida	3
Clotianidina	Inseticida	0,1
Deltametrina	Fungicida - Inseticida	0,03
Diafentiurum	Acaricida - Inseticida	0,5
Difenoconazol	Fungicida	0,1
Dimetomorfe	Fungicida	0,5
Etofenproxí	Inseticida	0,5
Fenpropatrina	Acaricida - Inseticida	0,2
Flutriafol	Fungicida	0,1
Imidacloprido	Inseticida	0,5
Indoxacarbe	Cupinicida - Inseticida	0,1
Iprodiona	Fungicida	4
Lamda-cialotrina	Inseticida	0,05
Metconazol	Fungicida	0,05
Metomil	Acaricida - Inseticida	1
Permetrina	Fungicida - Inseticida	0,3
Piraclostrobina	Fungicida	0,2
Piridabem	Acaricida - Inseticida	0,1
Pirimetanil	Fungicida	1
Procimidona	Fungicida	2
Profenofós	Acaricida - Inseticida	1
Propargito	Acaricida	2
Propiconazol	Fungicida	0,1
Terbuconazol	Fungicida	0,3
Tetraconazol	Fungicida	0,2
Tiacloprido	Inseticida	0,1
Tiametoxam	Inseticida	1
Trifloxistrobina	Fungicida	0,5

Fonte: Anvisa (Adaptado de PARA)

3.3.2 *Plantio Orgânico*

O sistema de plantio orgânico de tomate não utiliza nenhum tipo de agrotóxico. O controle biológico de pragas é feito com o uso de microrganismos. Nesse cultivo é necessário haver janelas de produção pois não é possível produzir tomate orgânico numa mesma propriedade durante os 12 meses do ano. Assim como no plantio convencional, no plantio de tomateiro orgânico é necessário realizar o tutoramento (TIVELLI, 2015).

Dos países na América Latina, o Brasil ocupa o segundo lugar na produção de tomate orgânico (MAZZEI et al., 2021). Em 2003, no Brasil foi implementada a Lei de Orgânicos (Lei Federal 10.831) estabelecendo o que é considerado um plantio orgânico. Portanto, para comercializar um produto orgânico é necessário ter a certificação (Figura 2) estabelecida por lei (TIVELLI, 2015).

A produção desse tipo de alimento promove uma opção de consumo mais saudável para as pessoas, além de reduzir a poluição ambiental e a aumentar melhoria da vida no campo.

Figura 2 - Selos de identificação de produto orgânico aferido pelo ministério da agricultura e pelo IBD



Selo Orgânico aferido pelo
Ministério da Agricultura



Selo Orgânico aferido
pelo IBD

Fonte: Ciorgânicos (2021)

Apesar do surgimento de problemas de saúde causado por resíduos de agrotóxicos em alimentos, as produções de tomate orgânico não conseguem suprir a alta demanda dessa hortaliça e ainda é necessário a produção dos tomates convencionais (MAZZEI et al., 2021).

A tabela 2 apresenta as principais diferenças entre os tipos de cultivo de tomate.

Tabela 2 - Diferenças entre os tipos de cultivos de tomate

Aspectos agronômicos	Sistema de Cultivo	
	Orgânico	Convencional
Preparo do solo	Restrição de raízes a cada dois ciclos, incorporação superficial e cobertura morta	Aração, gradagem e sulcagem
Tratamento da muda	Calda Bordalesa	Inseticidas e fungicidas
Controle de doenças	Equilíbrio do solo e calda bordalesa	Fungicidas, bactericidas e terramicina
Controle de pragas	Equilíbrio do solo, inimigos naturais, inseticida biológico, feromônios, extrato de Nim e enxofre	Inseticidas, permetrina, piretroide Fenpropatrin, fosforado Acefato, fosforado Paration metílico e biológico
Adubação	Torta de mamona, farelo de trigo ou arroz, MB 4 (sílica), calcário de Concha, farinha de peixe e micronutrientes	N-P-K 4-14-8, superfosfato simples e composto orgânico comercial
Tempo de armazenamento para comercialização	14 dias	13 dias

Fonte: Adaptado de Mazzei et al 2021

3.4 Ácido Ascórbico (Vitamina C)

O tomate é um alimento rico em vitamina C, cada 100g de tomate cru com semente, possui 21,2 mg de vitamina C. A vitamina C é encontrada nos vegetais na sua forma reduzida, como ácido ascórbico (AA), ou na forma oxidada, como ácido desidrosacorbico (DHA). Por causa da perda da habilidade de sintetizar essa vitamina, devido a um defeito na enzima que catalisa o ácido ascórbico, o ser humano depende de fontes externas da vitamina C para prevenir alguns tipos de doenças (BRASIL, 2011).

A tabela 4 contém as principais características físico-químicas do ácido ascórbico.

Tabela 4- Características Físico-química do ácido ascórbico

Fórmula Química	C ₆ H ₈ O ₆
Massa Molar	176,12 g/mol
Densidade	1,65 g/cm ³
Solubilidade	H ₂ O: 10 mg/ml
Ponto de fusão	190-194 °C
Acidez (pK_a)	4,17 (primeira); 11,6 (segunda)
Aparência	Sólido branco ou amarelo claro

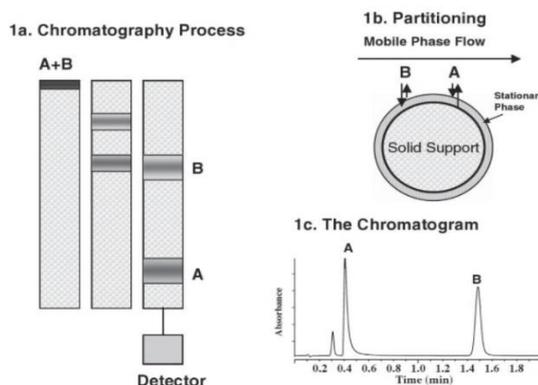
Fonte: Adaptado DEMODARAN, SRINIVASAN; PARKIN, 2018

3.5 Técnicas de Quantificação e de Preparo da amostra

3.5.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A Cromatografia é um método físico-químico de separação no qual os componentes a serem separados são distribuídos em duas fases, uma estacionária e a outra movendo-se numa direção definida (definição IUPAC). A cromatografia líquida é conduzida na fase líquida. O processo (figura 3) consiste em uma fase estacionária, que pode ser partículas de sílica porosa embaladas em uma coluna e uma fase móvel, que pode ser um solvente orgânico, como hexano por exemplo. Durante o procedimento é injetada uma amostra que é arrastada através da coluna pela fase móvel, onde ocorrem as interações físico-químicas e a separação dos compostos. Ao final da coluna tem-se um detector que transforma os sinais obtidos durante a análise em cromatogramas. A partir da interpretação dos cromatogramas é possível obter os resultados esperados para a análise, que pode ser qualitativa ou quantitativa (DONG, 2006)

Figura 3 - (a) Esquema do processo cromatográfico mostrando a migração de duas bandas de componentes para baixo de uma coluna. (b) Representação microscópica do processo de partição das moléculas de analito A e B na fase estacionária ligada a um suporte. (c) Um cromatograma referente ao sinal de um detector UV, que exibe a eluição dos componentes A e B.



Fonte: DONG, 2006

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma tecnologia analítica versátil amplamente utilizada para a análise de produtos farmacêuticos, biomoléculas, polímeros e muitos compostos orgânicos e iônicos. É uma forma moderna de cromatografia líquida que usa colunas de partículas pequenas, na qual a fase móvel é bombeada a alta pressão (DONG, 2006)

A CLAE foi a técnica escolhida no presente trabalho por apresentar algumas vantagens quando comparada a técnica clássica de titulação para a quantificação do ácido ascórbico:

- Análises quantitativas rápidas e precisas
- Operação automatizada
- Alta sensibilidade de detecção
- Recuperação quantitativa da amostra
- Suscetível a diversas amostras

3.5.2 Extração em Fase Sólida

A técnica de extração em fase sólida (EFS) tem o objetivo de preparar a amostra, removendo os interferentes e obter o máximo de concentração dos analitos de interesse para que sejam analisados. A EFS é um procedimento de separação de fase sólido-líquido, na qual empregam-se solventes similares àqueles usados na cromatografia líquida. Essa técnica quando comparada a extração líquido-líquido tradicional apresenta vantagens, como menor consumo de solventes orgânicos, ausência da formação de emulsão, baixos volumes de resíduos tóxicos, possibilidade de aumentar a seletividade e a concentração do analito, porcentagem de recuperação do analito elevada e alta disponibilidade no mercado de equipamentos e solventes para essa técnica (JARDIM, 2010).

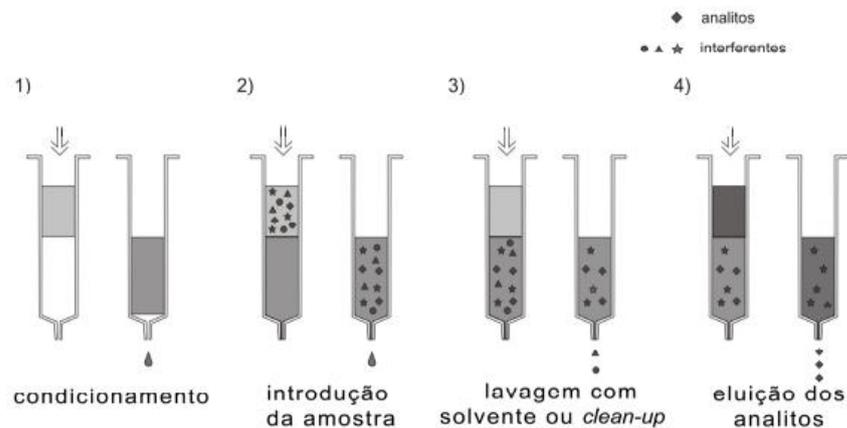
Na escolha da técnica de extração e de preparo da amostra devem ser levando em consideração alguns aspectos, como a natureza da amostra, a matriz, a técnica usada para

análise e as propriedades do analito. A seleção da fase sólida empregada na técnica deve seguir os mesmos critérios de escolha da fase estacionária utilizada na cromatografia líquida. Os principais critérios levados em consideração são os componentes da matriz da amostra, as características do solvente e a estrutura química do analito (JARDIM, 2010)

Apesar de ser uma técnica relativamente fácil de separação, a EFS é bastante demorada e pode consumir 80% do tempo total de análise envolvida no procedimento analítico (JARDIM, 2010).

O procedimento de extração (figura 4) segue as etapas de condicionamento, na qual é usado um solvente semelhante ao qual a amostra está dissolvida, introdução da amostra, limpeza do cartucho para remover os interferentes e eluição do analito. Na eluição do analito é usado um *manifold* a vácuo, gerado por uma bomba (JARDIM, 2010).

Figura 4 - Esquema de extração da técnica EFS



Fonte: JARDIM, 2010

4 METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Química Instrumental (LQI) do Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará (NUTEC). As amostras foram coletadas nos supermercados da região metropolitana de Fortaleza – CE, entre os dias 07/02 e 09/02/2022. Foram obtidas 3 amostras orgânicas (Figura 5), com selo de reconhecimento orgânico, de três fornecedores diferentes, e 3 amostras de tomates convencionais (Figura 6) de 3 mercantis diferentes. As amostras foram transportadas para o laboratório em suas embalagens originais e lá foram armazenadas em papel alumínio para evitar o contato com a luz.

Figura 5 - Tomates Orgânico: O1- Orgânico 1; O2 - Orgânico 2; O3 - Orgânico 3



Fonte: próprio autor

Figura 6 - Tomates Convencionais: C1 - amostra 1; C2 - amostra 2; C3 - amostra 3



Fonte: próprio autor

4.1 Pré-tratamento da Amostra

O suco do tomate foi obtido através da trituração de cada amostra separadamente utilizando um liquidificador e filtração convencional com o auxílio de uma peneira (figura 11), com poros de 0,84 mm. Foi pesado 25 g do suco e transferido para um balão de 100 mL, que teve seu volume completado com água deionizada. Em seguida foi realizada a filtração do suco por gravidade utilizando um papel de filtro Quanty (JP41 - 28 μ m).

Figura 7 - Preparo do suco do tomate

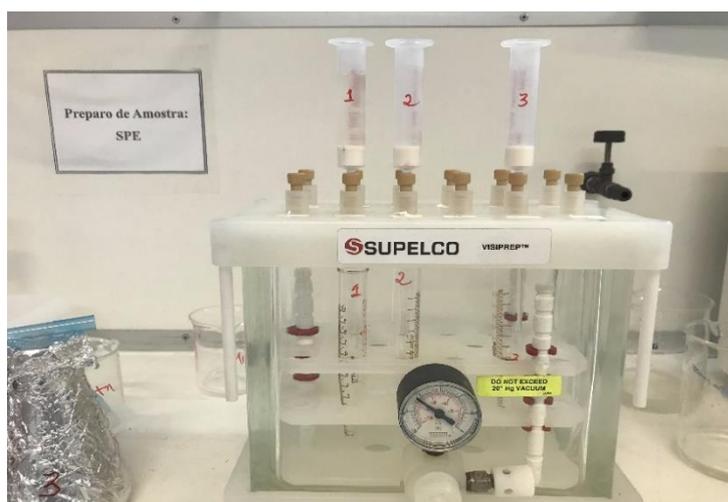


Fonte: próprio autor

4.2 Preparo da Amostra – Extração em fase sólida

O procedimento foi realizado utilizando um cartucho Sep-Pak C₁₈ e um Manifold (figura 11) para a remoção do líquido. Inicialmente o cartucho foi tratado com uma alíquota de 10 mL de Acetonitrila grau HPLC: água grau Milli – Q (CH₃CN : H₂O) (1:1) e removida com Manifold até completa secura do cartucho. Em seguida foi adicionado ao cartucho 10 ml da amostra pré tratada, no qual os primeiros 5 ml foram descartados e os 5 ml restantes coletados. O procedimento foi realizado para as 6 amostras e após isso foram analisadas no cromatógrafo.

Figura 8 - Sistema de preparo – extração em fase sólida



Fonte: próprio autor

4.3 Desenvolvimento do método cromatográfico

A identificação e quantificação do ácido ascórbico foi realizada em um cromatógrafo líquido Shimadzu (modelo 20A Prominence), Figura 9, um detector com arranjo de diodos (DAD) (modelo SPD-M20A), duas bombas (modelo LC-20AT), forno (modelo CTO-20A), desgaseificador (modelo DGU-20A3) e alça de amostragem (loop) de 20 μL . Foi utilizada uma coluna de fase reversa octadecilsilano (C_{18}) da marca ACE (15 cm x 2,1 mm; 3,0 μm).

A fase móvel utilizada foi uma solução (polar) de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) 0,2 mol.L⁻¹ acidificada com ácido fosfórico até pH 2,4, em uma eluição isocrática, num de tempo de 10 minutos. Cada amostra foi analisada em triplicata com um tempo total de análise de 90 minutos tanto para amostras orgânicas como para as convencionais. O fluxo da fase móvel foi de 0,5 mL/min, a temperatura ambiente (25 ± 2 °C), e um volume de injeção de 20 μL . O analito foi detectado em um comprimento de onda de 254 nm e as áreas dos picos correspondentes obtidas utilizando o *software* LCsolution[®] da Shimadzu.

Figura 9 - Cromatógrafo Prominence UFLC Shimadzu



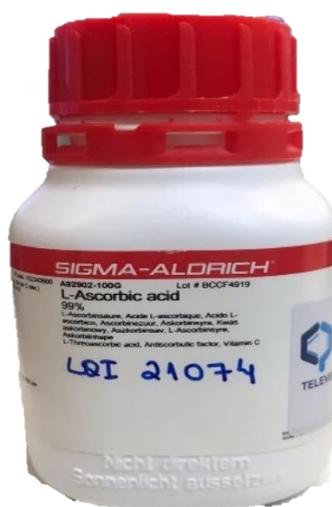
Fonte: próprio autor

4.3.1 Curva de calibração

O método utilizado para obtenção da curva de calibração foi o do padrão externo, que faz uma comparação da área da substância a ser quantificada na amostra com as áreas obtidas das soluções de concentração conhecidas que são preparadas a partir de um padrão.

O padrão de ácido ascórbico utilizado foi o da Sigma Aldrich (figura 13). Foi preparada uma solução aquosa de 1000 mg.L^{-1} de ácido ascórbico e a partir dessa foram preparadas, em água, outras 5 soluções de concentração 10, 25, 50, 75 e 100 mg L^{-1} para compor os pontos da curva de calibração.

Figura 10- Reagente padrão de ácido ascórbico – Sigma Aldrich



Fonte: próprio autor

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando a análise de variância (ANOVA) produzida com o software Statistic10. O teste de Tukey foi aplicado para detectar diferenças significativas, e $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

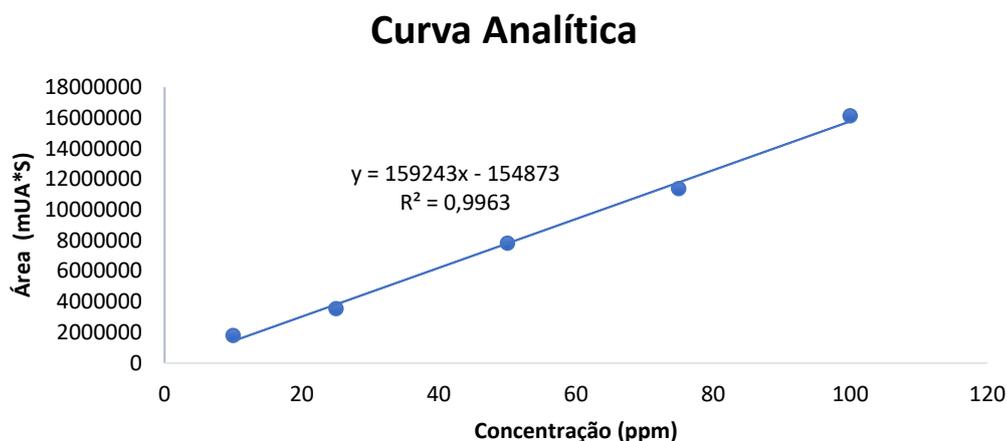
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras, em triplicata, de tomates orgânicos e convencionais foram injetadas em HPLC-DAD para obtenção do perfil cromatográfico. O ácido ascórbico é uma molécula polar, ou seja, sua afinidade maior é pela fase móvel do sistema, o que implica uma retenção menor na fase estacionária. Primeiramente foi feita a curva analítica utilizando o padrão de ácido ascórbico.

6.1 Curva de Calibração

A curva analítica foi realizada injetando-se as soluções do padrão de ácido ascórbico no cromatógrafo. A figura 11 é a representação gráfica da média das 3 curvas obtidas. Observa-se um valor de coeficiente de determinação satisfatório ($R^2 > 0,99$) indicando uma curva analítica com boa linearidade.

Figura 11- Curva analítica do padrão de ácido ascórbico.



Fonte: próprio autor

6.2 Limites de detecção e quantificação, e precisão

Os valores dos limites de detecção e quantificação foram obtidos com base no coeficiente angular da equação da reta, usando método da IUPAC, conforme as equações 1 e 2. A precisão intralaboratorial foi avaliada pela repetibilidade, calculando o coeficiente de variação (CV, %). Os valores de área correspondentes, as concentrações dos padrões, a média, o desvio padrão, o coeficiente de variação e o tempo de retenção do analito encontram-se na tabela 4. O tempo de retenção do AA variou entre 3 e 4 min.

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram calculados de acordo com os parâmetros da curva analítica obtida. O LD e o LQ para o método são expressos pelas equações 1 e 2 respectivamente:

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S} \quad \text{Equação 1}$$

$$LQ = 10 \times \frac{s}{S} \quad \text{Equação 2}$$

Onde s é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear da equação da curva e S é o coeficiente angular da curva analítica. De acordo com as equações os valores para LD e LQ foram, respectivamente, 2,0 e 5,0 mg L⁻¹. A tabela 4 apresenta um C.V variando de 7,9 a 19,04%, essa variação está relacionada com o aumento da concentração das soluções de AA usada na curva (10 a 100 mg L⁻¹). Valores de C.V abaixo de 20% indica uma boa repetibilidade dos dados.

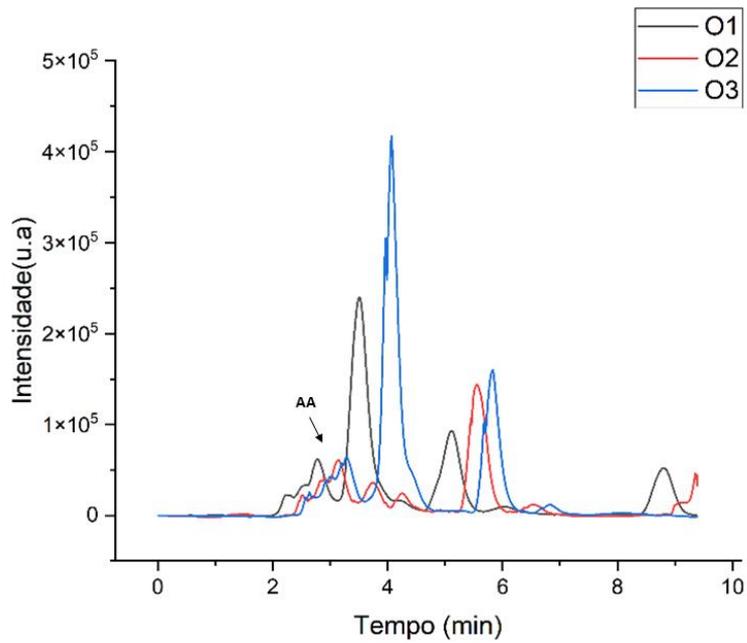
Tabela 5- Parâmetros da obtenção da curva analítica de ácido ascórbico. A1, A2 e A3: áreas integradas; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variância; TR: tempo de retenção nas concentrações de 10 a 100 mg L⁻¹.

Concentração (mg L ⁻¹)	A1	A2	A3	MÉDIA	DP	CV (%)	TR (min)
10	1695060	1946733	1710994	1784262,33	140929,1	7,90	3,69
25	3197462	3667601	3766885	3543982,66	304173,89	8,59	3,65
50	8334854	8157273	6961801	7817976	746766,68	9,55	3,64
75	10007261	11912975	12176470	11365568,67	1183683,74	10,41	3,62
100	12577330	17741866	18032144	16117113,33	3068976,19	19,04	3,78

6.3 Perfil Cromatográfico das Amostras

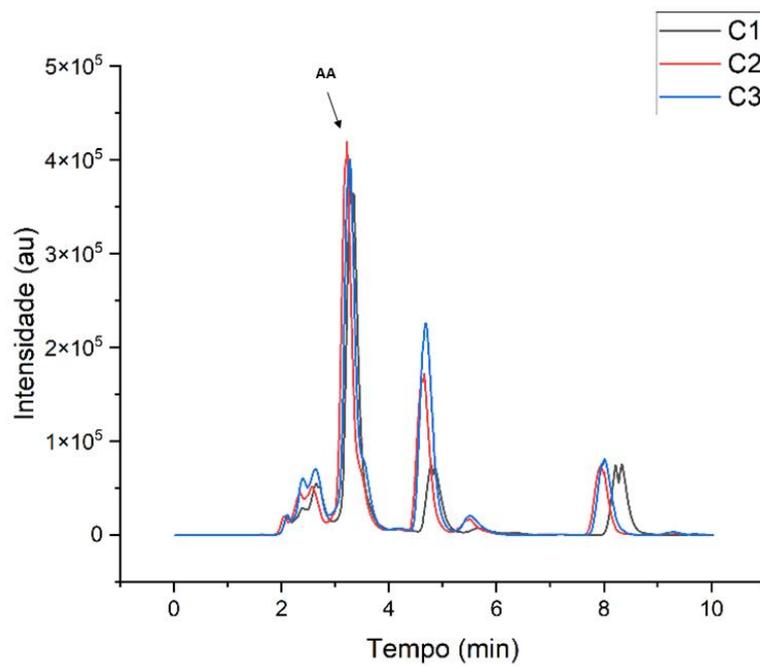
As Figuras 12 e 13 mostram, respectivamente, os cromatogramas obtidos para os tomates orgânicos e convencionais. A concentração de ácido ascórbico foi obtida integrando as áreas dos picos apresentados pelos cromatogramas e pela equação da curva analítica.

Figura 12- Perfil cromatográfico das amostras de tomates orgânicos



Fonte: próprio autor

Figura 13- Perfil cromatográfico das amostras de tomates convencionais



Fonte: próprio autor

A tabela 5 mostra os valores de AA, a área integrada e o tempo de retenção para as amostras de tomates orgânicos e convencionais.

Tabela 6 - Concentração de ácido ascórbico nos tomates orgânicos (O1, O2 e O3) e convencionais (C1, C2 e C3) obtidas nos respectivos cromatogramas.

Amostra	Área	TR (min)	Concentração (ppm)
O 1	4555962	3,36	30 ± 0,12 ^c
O 2	386596	3,50	3,4 ± 0,01 ^d
O 3	6193286	3,71	40 ± 0,24 ^c
C 1	11412444	3,29	72 ± 0,23 ^b
C 2	14300635	3,21	90 ± 0,72 ^a
C 3	15199329	3,26	95 ± 0,28 ^a

Letras diferentes na mesma coluna correspondem a amostra estatisticamente diferentes ao nível de confiança de 95%. $p < 0,05$.

A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO indica que a quantidade mínima de AA é de 21,2 mg /100 g de tomate, o que equivale a 5,3 g de AA / 25 g de tomate. Os valores de AA ascórbico para O1, O2 e O3, considerando as 25 g de amostra pesadas, são, respectivamente, 3,0, 0,34 e 4,0 mg. De acordo com esses valores, as amostras de tomate orgânico apresentaram um valor abaixo do mínimo esperado. A amostra O2 apresentou um valor (3,4 ppm) abaixo do limite de quantificação (5 ppm), caracterizando um valor não confiável de AA naquela amostra.

Para as amostras de tomates convencionais (C1, C2 e C3) foram obtidos valores de AA entre 7,0 e 9,5 mg para cada 25g de amostra. Esses valores estão acima do valor mínimo estabelecido pela TACO (5,3g de AA / 25g de tomate), indicando uma baixa degradação do AA nas amostras de tomates convencionais.

A análise de variância e o teste de Tukey mostraram que O1 e O3 não apresentam diferença significativa na quantidade de AA entre elas (letras iguais). Para os tomates convencionais, a análise indicou que C2 e C3 são estatisticamente diferentes de C1. Em contrapartida, como esperado, quando as amostras de tomates orgânicos são comparadas às amostras de tomates convencionais há uma diferença na quantidade de AA com $p > 0,05$, indicado pelos índices com letras diferentes.

Todas as amostras de tomates convencionais estudadas apresentaram uma maior quantidade de AA em relação às amostras de tomates orgânicos. Essa diferença pode ser ocasionada devido ao tempo de armazenamento para cada tipo de tomate, uma vez que os tomates convencionais permanecem em armazenamento por 13 dias, e os orgânicos ficam 14

dias armazenados. Apesar de ser apenas um dia essa diferença pode ocasionar perdas significativas de ácido ascórbico, uma vez que esse composto é muito suscetível a oxidação principalmente pela luz e calor. Além disso a umidade relativa, o tipo de cultivo e o estágio de maturação podem influenciar o tempo de armazenamento dos tomates. Outro fator que pode ocasionar a degradação do ácido ascórbico são os diferentes tipos de substâncias utilizadas nos plantios convencionais e orgânicos, entretanto seria necessário um estudo mais aprofundado para conhecer a interferência desses compostos na quantidade de AA (FERREIRA et al., 2010).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A metodologia aplicada, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência, se mostrou satisfatória para quantificar o ácido ascórbico nas amostras de tomate.

Através da análise estatística utilizando o teste de Tukey foi possível comparar as quantidades de ácido ascórbico encontrada nos diferentes tipos de amostra. Com o resultado foi possível concluir existe uma diferença significativa entre esses valores.

O estudo realizado no presente trabalho apresentou resultados satisfatórios. Mas, sugere-se que sejam realizadas novas pesquisas para saber se o possível uso de substâncias químicas, como os agrotóxicos e os fertilizantes, interferem beneficiando a quantidade de ácido ascórbico dos tomates convencionais.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. **TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**, 2011. Acesso em: 20 fev. 2022
- CARVALHO, L. A. F. DE et al. Análise comparativa de ácido ascórbico e microbiológica em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) orgânico e convencional. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 11, n. 2, p. 2484–2501, 2017.
- CLEMENTE, M. V. T. F.; BOITEUX, S. L. **Produção de tomate para processamento industrial**. 1ª edição ed. Brasília: Embrapa, 2012.
- CONAB. Comercialização no Mercado Mundial, Tomate: **Compêndio de estudos Conab**, v. 21, p. 23–38, 2019.
- DE OLIVEIRA, A. B. **Metabolismo antioxidante e qualidade durante a maturação de frutos tropicais produzidos pelos sistemas de produção orgânico e convencional**. Fortaleza. Universidade Federal do Ceará, 2012. Acesso em: 20 fev. 2022
- DEMODARAN, SRINIVASAN; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 5ª ed. Porto Alegre - RS: Artmed, 2018.
- DONG, M. W. **Modern HPLC for practicing scientists**. 1ª ed. New Jersey: Wiley-Interscience, 2006.
- FERREIRA, S. M. R. et al. Qualidade pós-colheita do tomate de mesa convencional e orgânico. **Food Science and Technology**, v. 30, n. 4, p. 858–869, 2010.
- JARDIM, I. C. S. F. Extração em Fase Sólida : Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 13–25, 2010.
- MAZZEI, J. R. F. et al. Estudo comparativo das concentrações de agrotóxicos no solo provenientes dos métodos de plantio do tomate convencional, orgânico e sustentável. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 22981–23000, 2021.
- NAIKA, S. et al. **A cultura do tomate**. 1ª ed. Wageningen: Fundação Agromisa e CTA, 2006.
- NOVÁKOVÁ, L.; SOLICH, P.; SOLICHOVÁ, D. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 10, p. 942–958, 1 nov. 2008.

PIGNATI, W. A. et al. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: Uma ferramenta para a vigilância em saúde. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 22, n. 10, p. 3281–3293, 1 out. 2017.

SILVA, E. **Adivinhe quem é o maior produtor mundial de tomate - Revista Globo Rural | Hortifruti.** Disponível em:
<<https://revistagloborural.globo.com/Noticias/Agricultura/Hortifruti/noticia/2022/01/adivinhe-quem-e-o-maior-produtor-mundial-de-tomate.html>>. Acesso em: 20 fev. 2021.

TIVELLI, S. WILSON. **Tomate Orgânico - Técnicas de Cultivo.** 1ª ed. Rio de Janeiro: Sociedade Nacional de Agricultura, 2015.