

Parecer

Este exemplar corresponde
a redação final da tese
defendida por Cassia

Aparecida Tavares e

aprovada pela Comissão

Julgadora em 01.07.91. Tese apresentada à Faculdade de Engenharia

Campinas, 01 de
julho de 1991.

de Alimentos, UNICAMP, para obtenção do título
de Mestre em Ciências de Alimentos.

Delia R. A.

Composição de Carotenóides e Valor de Vitamina A em
Tomate, Milho, Pêssego e seus Produtos Processados

TAVARES

Cassia A. Tavares

Engenheira de Alimentos

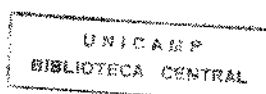
17/9/

Dra. Delia Rodriguez-Amaya

Orientadora

Campinas - 1991

PC 9107098



BANCA EXAMINADORA

Délia R. Amaya

Profa. Dra. Délia Rodriguez Amaya
(Orientadora)

Marilene C. Penteado

Profa. Dra. Marilene de Vuono C. Penteado
(Membro)

Lireny A. Guaraldo Gonçalves

Profa. Dra. Lireny A. Guaraldo Gonçalves
(Membro)

Suplente

Profa. Dra. Heloisa Máscia Cecchi
(Membro)

Campinas, 01 de julho de 1.991.

À

*Dra. Délia Rodriguez-Amaya, orientadora
e sobretudo, amiga.*

*Em memória de meus avós,
Maria Helena e Hermenegildo,
meus primeiros professores.*

*À Clélia, Jair e Jair Antônio,
minha família.*

*Ao Francisco,
companheiro de sempre.*

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq-Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, a CAPES-Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior e a FAEP-Fundação de Apoio à Pesquisa-UNICAMP, pelos auxílios concedidos.

Às Profs. Marilene D. V. Penteado, Lireny A. G. Gonçalves e Heloísa Máscia Cecchi, pelas sugestões apresentadas na redação final da tese.

Aos Profs. Valdemiro Sgarbieri e Paulo A. Bobbio e ao ITAL-Instituto de Tecnologia de Alimentos, por permitirem a utilização do espectrofotômetro.

À Telma Sílvia T. A. Sallum, diretora técnica da Secretaria de Pós-Graduação, pela constante atenção.

À ABIA-Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos, pelas cópias do trabalho.

Ao amigo Cláudio Roberto Luchini pelas sugestões na digitação e editoração deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Análise de Alimentos, que de alguma maneira contribuíram para a realização desse trabalho.

Índice

ÍNDICE DE TABELAS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMO	viii
SUMMARY.....	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. Carotenóides de Tomate	5
2.2. Carotenóides de Pêssego.....	12
2.3. Carotenóides de Milho	15
2.4. Separação dos Estereoisômeros na Determinação do Valor de Vitamina A.....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1. Amostragem e Preparo da Amostra	25
3.2. Determinação dos Carotenóides	28
3.2.1. Extração.....	28
3.2.2. Saponificação	29

3.2.3. Cromatografia de coluna.....	30
3.2.4. Identificação	32
3.2.5. Quantificação.....	34
3.3. Cálculo do Valor de Vitamina A.....	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1. Composição em Carotenóides de Tomate e seus Produtos.....	36
4.1.1. Tomate “in natura”	36
4.1.2. Suco de tomate	42
4.1.3. Purê de tomate	44
4.1.4. Extrato de tomate	50
4.1.5. Catchup.....	54
4.2. Composição em Carotenóides de Pêssego e Produtos.	57
4.2.1. Pêssego “in natura”	57
4.2.2. Suco de pêssego.....	65
4.2.3. Pêssego em calda	69
4.3. Composição em Carotenóides de Milho “in natura” e em Conserva	71
4.3.1. Milho “in natura”	71
4.3.2. Milho em conserva.....	76
4.4. Importância da Separação de Estereoisômeros na Determinação do Valor de Vitamina A.....	81

4.4.1. Tomate e produtos de tomate	81
4.4.2. Pêssego, milho e seus produtos.....	89
5. CONCLUSÕES.....	96
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99

ÍNDICE DE TABELAS

1. Distribuição de Carotenóides em Três Cultivares de Tomate.....	6
2. Efeito do Estádio de Maturação na Composição dos Principais Carotenóides de Tomate “Homestead”	9
3. Carotenóides em Polpa com 26,5% de Sólidos Processadas a Partir de Tomate VF 145-7879.	11
4. Principais Carotenóides em 4 Cultivares de Milho.....	18
5. Carotenóides Provitamínicos A e Valores de Vitamina A em Variedades Comerciais de Milho	19
6. Carotenóides em Milho Amarelo.	20
7. Recuperação de Carotenóides em 4 Variedades de Milho Depois de Seis Meses de Estocagem.	21
8. Sólidos Solúveis e pH de Tomate “in natura” e Produtos Processados Analisados.....	27
9. Características dos Carotenóides Presentes em Tomate “in natura” e Produtos Processados. .	37
10. Composição de Carotenóides em Tomate “in natura” Estádio Maduro (Cultivar Santa Cruz)	41
11. Composição de Carotenóides em Suco de Tomate Engarrafado (Marca A).....	43
12. Composição de Carotenóides em Purê de Tomate (Marca A).....	48
13. Composição de Carotenóides em Purê de Tomate (Marca B).....	49
14. Composição de Carotenóides em Extrato de Tomate (Marca A).	52
15. Composição de Carotenóides em Extrato de Tomate (Marca B).	53

16. Composição de Carotenóides em Catchup (Em vidro - Marca A).....	55
17. Composição de Carotenóides em Catchup (Em vidro - Marca B).....	56
18. Características de Carotenóides Presentes no Pêssego “in natura” Suco de Pêssego e Pêssego em Calda.	58
19. Composição de Carotenóides em Pêssego “in natura” (Cultivar “Rei da Conserva”).....	63
20. Composição de Carotenóides em Suco de Pêssego (em Vidro - Marca C).	66
21. Composição de Carotenóides em Pêssego em Calda (Em Lata - Marca A).....	70
22. Características dos Carotenóides Presentes no Milho Estádio Verde e no Milho em Conserva	72
23. Composição de Carotenóides em Milho “in natura”	73
24. Composição de Carotenóides em Milho em Conserva (Em lata - Marca A).....	78
25. Concentração de Provitamina A ($\mu\text{g/g}$) em Produtos Processados de Tomate (Marca A). ...	83
26. Concentração de Provitamina A ($\mu\text{g/g}$) em Produtos Processados de Tomate (Marca B).....	84
27. Valor de Vitamina A (RE/100g) em Produtos Processados de Tomate (Marca A).....	87
28. Valor de Vitamina A (RE/100g) em Produtos Processados de Tomate (Marca A).....	88
29. Concentração de Provitamina A ($\mu\text{g/g}$) em Milho “in natura” e Milho em Conserva.....	92
30. Valor de Vitamina A (RE/100g) de Milho “in natura” e Milho em Conserva.	93
31. Concentração de Provitamina A ($\mu\text{g/g}$) em Pêssego “in natura” e Produtos Processados.	94
32. Valor de Vitamina A (RE/100g) de Pêssego “in natura” e Produtos Processados.	95

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Separação dos Carotenóides de Tomate e Produtos Processados.	38
2. Estrutura dos Carotenóides de Tomate “in natura” e Produtos Processados.	39
3. Valor Médio de Vitamina A (RE/100g) em Tomate “in natura” e Produtos Processados.	45
4. Concentração Média de <u>trans</u> -Licopeno ($\mu\text{g/g}$) em Tomate “in natura” e Produtos Processados.....	46
5. Separação dos Carotenóides de Pêssego “in natura”, Suco de Pêssego e Pêssego em Calda.	59
6. Estrutura dos Carotenóides de Pêssego “in natura”, Suco de Pêssego e Pêssego em Calda.	60
7. Valor Médio de Vitamina A (RE/100g) em Pêssego “in natura”, Suco de Pêssego e Pêssego em Calda.	64
8. Concentração Média ($\mu\text{g/g}$) de <u>trans</u> - β -criptoxantina em Pêssego “in natura”, Suco de Pêssego e Pêssego em Calda.	68
9. Separação dos Carotenóides de Milho “in natura” e Milho em Conserva.....	74
10. Estrutura dos Carotenóides de Milho “in natura” e Milho em Conserva.	75
11. Valor Médio de Vitamina A (RE/100g) em Milho “in natura” e em Conserva.....	79
12. Concentração Média ($\mu\text{g/g}$) de <u>trans</u> -zeaxantina em Milho “in natura” e em Conserva.....	80

ÍNDICE DE ANEXOS

1. Consumo Anual de Matéria Prima versus Respective Produtos Processados.....	115
2. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do Fitoflueno.....	116
3. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do 13- <u>cis</u> - β -caroteno (-.-); <u>trans</u> - β -caroteno (—) e 9- <u>cis</u> - β -caroteno (—).	117
4. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do <u>trans</u> - ζ -caroteno.....	118
5. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do <u>cis</u> -licopeno (—) e <u>trans</u> -licopeno (—).	119
6. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do <u>trans</u> - γ -caroteno.	120
7. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da neocriptoxantina A (- - -); <u>trans</u> - β -criptoxantina e <u>trans</u> -zeaxantina (—).....	121
8. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da <u>trans</u> -luteína.....	122
9. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do <u>trans</u> - β -zeacaroteno.	123
10. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da Mutatoxantina.....	124
11. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da Auroxantina.	125
12. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da Violaxantina.....	126
13. Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da Luteoxantina.	127

RESUMO

Devido a suas funções fisiológicas e tecnológicas, os carotenóides continuam a ser alvo de intensa investigação. No presente trabalho, três alimentos brasileiros foram analisados para determinar as suas composições completas de carotenóides.

Baseado nos resultados de 10 lotes analisados individualmente a composição média de carotenóides, em $\mu\text{g/g}$, no tomate "in natura", cultivar "Santa Cruz", estágio maduro, foi definida como: trans-licopeno, $31,1 \pm 20,2$; trans- β -caroteno, $5,1 \pm 1,1$; cis-fitoflueno, $3,7 \pm 1,1$; cis-licopeno, $3,0 \pm 2,4$; trans- γ -caroteno, $0,7 \pm 0,2$; trans- ζ -caroteno, $0,4 \pm 0,2$. Os isômeros cis de β -caroteno, não detectados nas amostras "in natura" apareceram nos produtos processados (suco, purê, extrato e catchup de duas marcas comerciais num total de 39 amostras) indicando que o processamento provocou isomerização. O produto que recebeu tratamento térmico mais ameno, o suco, apresentou apenas 0,01-0,02 $\mu\text{g/g}$ de 13-cis- β -caroteno. Nos purês e extratos, os teores variaram de 0,1 a 3,8 $\mu\text{g/g}$ de 13-cis- β -caroteno e de não detectado a 1,1 $\mu\text{g/g}$ de 9-cis- β -caroteno. No catchup detectou-se 0,2-0,6 de 13-cis- β -caroteno e 0,4-0,8 $\mu\text{g/g}$ de 9-cis- β -caroteno. Os valores de vitamina A foram provenientes apenas de β -caroteno, já que a única outra provitamina A, γ -caroteno, encontrava-se praticamente em traços nas amostras "in natura" e desapareceu nos produtos processados. Os valores médios em RE/100g foram: 85, 35, 93, 131 e 69 para tomate "in natura", suco, purê, extrato e

catchup, respectivamente. O licopeno, pigmento responsável pela coloração do tomate e apontado como sequestrador muito eficiente de oxigênio “singlet” (a propriedade que determina a eficácia nas funções fisiológicas como inibição de câncer), apresentou-se em níveis ($\mu\text{g/g}$) de 11,9-73,0 em tomate “in natura”, 53,2-68,1 em suco, 55,8-273,1 em purê, 110,1-239,5 em extrato e 59,4-142,7 em catchup.

O produto mais concentrado, o extrato, apresentou em média o maior valor de vitamina A e teor de licopeno, porém, abaixo do esperado. Pelos níveis de sólidos solúveis, este produto foi aproximadamente 4 vezes mais concentrado que o tomate “in natura” e 2 vezes mais que o purê. Isso indica perda de carotenóides durante o processo de concentração que certamente foi mais drástico com maior tempo para o extrato.

A composição média ($\mu\text{g/g}$) de carotenóide em pêssego “in natura” (3 amostras) cultivar “Rei da Conserva” foi estabelecida como: trans- β -criptoxantina, $6,4 \pm 2,1$; trans-luteína, $3,8 \pm 1,1$; trans-zeaxantina, $1,5 \pm 0,9$; trans- β -caroteno, $1,1 \pm 0,4$; neocriptoxantina A, $1,0 \pm 0,5$; trans-violaxantina, $0,8 \pm 0,6$; trans- ζ -caroteno, $0,4 \pm 0,2$; 13-cis- β -caroteno $0,2 \pm 0,0$; 9-cis- β -caroteno, $0,09 \pm 0,04$. Neste caso, portanto, os isômeros cis do β -caroteno e de β -criptoxantina foram encontradas em amostras não processadas. No suco, a auroxantina apareceu enquanto que a violaxantina desapareceu, comportamento explicado pela transformação dos epóxidos 5,6 e 5',6' da violaxantina em 5,8 e 5',8' de auroxantina. As xantofilas trans- β -criptoxantina, trans-luteína e trans-zeaxantina foram apreciavelmente menores, o 9-cis- β -caroteno maior e a neocriptoxantina A ligeiramente menor no suco em comparação com as amostras “in natura”. A violaxantina não foi encontrada também na conserva em calda e no seu lugar apareceu a luteoxantina, indicando que apenas um epóxido da violaxantina transformou-se em 5,8. Em comparação com pêssego “in natura”,

os teores de trans- ζ -caroteno, trans- β -criptoxantina e trans-zeaxantina foram menores. Os valores de vitamina A, para os quais tanto β -caroteno como β -criptoxantina contribuíram, em RE/100g foram: 88 para pêssego "in natura"; 34 e 45 para suco e pêssego em calda, respectivamente. As concentrações do principal carotenóide, β -criptoxantina foram: 6,4 $\mu\text{g/g}$ para pêssego "in natura", 1,6 $\mu\text{g/g}$ para o suco e 2,5 $\mu\text{g/g}$ para pêssego em calda.

No milho verde "in natura", a composição média de carotenóides (em $\mu\text{g/g}$, 3 amostras) obtida foi: trans-zeaxantina, $8,8 \pm 5,3$; trans-luteína, $3,6 \pm 1,4$; trans- β -caroteno, $1,1 \pm 0,4$; trans- β -criptoxantina, $1,0 \pm 0,4$; necriptoxantina A, $0,4 \pm 0,1$; 13-cis- β -caroteno, $0,2 \pm 0,0$; trans- β -zeacaroteno, $0,2 \pm 0,1$. Mutatoxantina foi encontrada no milho em conserva, formada provavelmente pela epoxidação da zeaxantina durante o processamento. Ao invés de β -zeacaroteno, ζ -caroteno foi detectado. Os isômeros cis do β -caroteno e β -criptoxantina apresentaram-se em níveis semelhantes nas amostras "in natura" e processadas. A trans- β -criptoxantina e trans- β -zeaxantina foram ligeiramente maiores e a trans-luteína menor na conserva. Os valores médios de vitamina A (RE/100g) foram: 34 para o milho "in natura" e 41 para a conserva; de trans-zeaxantina ($\mu\text{g/g}$), 8,8 e 9,8 para o milho "in natura" e em conserva, respectivamente.

Foi realizada também uma tentativa de quantificar a magnitude dos erros na determinação dos valores de vitamina quando os isômeros cis e trans não são separados. Utilizando o procedimento de cálculo atualmente seguido mundialmente, em tomate, foram constatados superestimções de 8-13% no suco; 10-68% no purê e extrato, marca A; 12-54 no purê e extrato, marca B; 14-28% em catchup de ambas as marcas. Quando a perda (4%) na coluna usada para separar os isômeros foi considerada, estes erros diminuíram para 4-7%, 6-62%, 8-51% e 11-24%, respectivamente.

Considerando as biopotências obtidas por Sweeney e Marsh (1970), além de perda na coluna, as superestimações decresceram para 2-5%, 3-52%, 6-31%, 13-21%, respectivamente. Em pêssego e milho, as superestimações obtidas, seguindo os procedimentos atuais de cálculo foram de aproximadamente 51-74% em pêssego "in natura", 10-35% no suco e pêssego em calda, 4-41% no milho "in natura" e 39-45% no milho em conserva. Portanto, o erro pode ser considerável mas depende de como os valores de vitamina A são calculados, demonstrando a necessidade de estabelecer melhor as biopotências e coeficientes de absorção das provitaminas, além de colunas cromatográficas mais eficientes para efetuar a separação.

SUMMARY

Considering their physiological and technological functions, carotenoids continue to be the object of intense investigation. In the present study, three Brazilian foodstuffs were analyzed to determine their complete carotenoid composition.

Based on the results of 10 sample lots analyzed individually, the mean composition in $\mu\text{g/g}$ of ripe fresh tomato, cultivar "Santa Cruz" was defined as: trans-lycopene, $31,1 \pm 20,2$; trans- β -carotene, $5,1 \pm 1,1$; cis-fitofluene, $3,7 \pm 1,1$; cis-lycopene, $3,0 \pm 2,4$; trans- γ -carotene, $0,7 \pm 0,2$; trans- ζ -carotene, $0,4 \pm 0,2$. The cis-isomers of β -carotene, not detected in the fresh sample, appeared in the processed products (juice, puree, paste, catchup of two brands, a total of 39 samples), indicating that processing provoked isomerization. The juice, the product which received the mildest heat treatment presented only $0,01\text{-}0,02 \mu\text{g/g}$ of 13-cis- β -carotene. In the puree and paste, the levels varied from $0,1$ to $3,8 \mu\text{g/g}$ of 13-cis- β -carotene and not detected to $1,1 \mu\text{g/g}$ of 9-cis- β -carotene. In catchup, $0,2\text{-}0,6$ 13-cis- β -carotene and $0,4\text{-}0,8 \mu\text{g/g}$ of 9-cis- β -carotene were encountered. The vitamin A value came only from β -carotene since the only other provitamin, γ -carotene, was present practically in traces in the fresh samples and disappeared in the processed products. The mean value in RE/100g were: 85, 35, 93, 131 and 69 for fresh tomato, juice, puree, paste and catchup, respectively. Lycopene,

the pigment responsible for the colour and shown to be very efficient in sequestering singlet oxygen (a property that determines the effectiveness in physiological functions such as cancer inhibition), presented concentrations ($\mu\text{g/g}$) of: 11,9-73,0 in fresh tomato, 53,2-68,1 in juice, 55,8-273,1 in puree, 110,1-239,5 in paste, 59,4-142,7 in catchup. The paste, which was the most concentrated product, had higher vitamin A value and lycopene content, but at levels lower than expected. According to the soluble solid content, this product should be approximately 4 times more concentrated than the fresh tomato and twice as concentrated as the puree. The proportionately lower values indicated carotenoid losses during the concentration process which certainly was more drastic and longer for the paste.

The mean composition ($\mu\text{g/g}$) of fresh peach, cultivar "Rei da Conserva" was established to be: trans- β -cryptoxanthin, $6,4 \pm 2,1$; trans-lutein, $3,8 \pm 1,1$; trans-zeaxanthin, $1,5 \pm 0,9$; trans- β -carotene, $1,1 \pm 0,4$; neocryptoxanthin A, $1,0 \pm 0,5$; trans-violaxanthin, $0,8 \pm 0,6$; trans- ζ -carotene, $0,4 \pm 0,2$; 13-cis- β -carotene $0,2 \pm 0,0$; 9-cis- β -carotene, $0,09 \pm 0,04$. In this case, therefore, the cis-isomers of β -carotene and also of β -cryptoxanthin were found in the unprocessed samples. In the juice, auroxanthin appeared while violaxanthin disappeared, comensurate with the transformation of the 5,6- and 5',6'-epoxides of violaxanthin into the 5,8- and 5',8'-epoxides of auroxanthin. The xanthophylls trans- β -cryptoxanthin, trans-lutein and trans-zeaxanthin were appreciably lower, 9-cis- β -carotene higher and neocryptoxanthin slightly lower in the juice as compared to the fresh sample. Violaxanthin was also not encountered in the canned peach and in its place, luteoxanthin was found, indicating that only one epoxide group of violaxanthin was transformed in the 5,8-form. In comparison to fresh peach, trans- ζ -carotene, trans- β -cryptoxanthin and trans-zeaxanthin were lower. The vitamin A values, for which both β -carotene and β -cryptoxanthin

contributed, in RE/100g were: 88 for fresh peach, 34 and 45 for juice and canned peach, respectively. The mean cryptoxanthin contents were 6,4 $\mu\text{g/g}$ for fresh peach, 1,6 $\mu\text{g/g}$ for the juice and 2,5 $\mu\text{g/g}$ for the canned peach.

In fresh green corn, the mean composition (in $\mu\text{g/g}$, 3 samples lots) consisted of: trans-zeaxanthin, $8,8 \pm 5,3$; trans-lutein, $3,6 \pm 1,4$; trans- β -carotene, $1,1 \pm 0,4$; trans- β -cryptoxanthin, $1,0 \pm 0,4$; neocryptoxanthin A, $0,4 \pm 0,1$; 13-cis- β -carotene, $0,2 \pm 0,0$; trans- β -zeacarotene, $0,2 \pm 0,1$. Mutatoxanthin was encountered in canned corn, probably formed by the epoxidation of zeaxanthin during processing. Instead of β -zeacarotene, ζ -carotene was detected. The cis-isomers of β -carotene and β -cryptoxanthin were found in similar levels in the processed and unprocessed samples. Trans- β -cryptoxanthin and trans-zeaxanthin were slightly higher and trans-lutein lower in the canned corn. The mean vitamin A values (RE/100g) were 34 for fresh green corn and 41 for canned corn; the zeaxanthin contents ($\mu\text{g/g}$) were 8,8 and 9,8 for fresh and canned corn, respectively.

An attempt was also made to quantify the error in the determination of the vitamin A value when the cis e trans isomers are not separated. Utilizing the calculation procedure presently employed internationally in tomato, superestimations of 8-13% in juice; 10-68% in puree and paste, brand A; 12-54% in puree and paste, brand B; 14-28% in catchup of both brands were observed. When loss (4%) in the column used to separate the isomers was taken into consideration, these errors decreased to 4-7%, 6-62%, 8-51% and 11-24%, respectively. Using the biopotencies obtained by Sweeney and Marsh (1970), aside from column loss, the superestimations were lowered to 2-5%, 3-52%, 6-31% and 13-21%, respectively. In peach and corn, the superestimations obtained, following the

present procedure of calculation, were approximately 51 to 74% in fresh peach, 10 to 35 in juice and canned peaches, 4 to 41% in fresh corn and 39 to 43% in canned corn. Thus, the error can be considerable, but depends on how the vitamin A value is calculated, demonstrating the necessity of establishing the biopotencies and coefficients of absorptions better, aside from more efficient chromatographic columns to accomplish the separation.

1. INTRODUÇÃO

Os carotenóides em alimentos são, na sua maioria tetraterpenos (com 40 carbonos) formados por oito unidades de isopreno (C_5H_8) ligados “cabeça-cauda”, com exceção da posição central onde a ligação é do tipo “cauda-cauda”. A estrutura resultante é simétrica com reversão do plano de simetria no centro da molécula. Os carotenóides que contêm somente carbono e hidrogênio na molécula são chamados de carotenos e os que além destes elementos possuem também o oxigênio são chamados de xantofilas.

Objeto de investigação desde o século passado, estes compostos ainda hoje atraem a atenção dos pesquisadores das mais diversas áreas devido às funções que lhe são atribuídas. Em alimentos foram inicialmente estudados por causa da sua coloração atraente variando desde o amarelo pálido no maracujá e abacaxi até o vermelho forte no tomate, pimentão vermelho e camarão ou lagosta cozida. Um sistema de ligações duplas conjugadas constitui o cromóforo responsável pela cor e a coloração do alimento depende do tipo e quantidade dos carotenóides presentes.

A descoberta de que alguns carotenóides são biologicamente transformados em vitamina A dirigiu muitos estudos apenas para carotenóides provitamínicos A. Para ser um precursor da vitamina A, um carotenóide deve possuir um anel de β -ionona não substituído

com cadeia lateral poliênica de pelo menos 11 carbonos. Assim β -caroteno tendo dois anéis β -ionona ligados por uma cadeia poliênica de 22 carbonos, possui a maior atividade (100%). O γ -caroteno (com apenas um anel β -ionona) e o α -caroteno (no qual a ligação dupla de um dos anéis está fora de conjugação, formando um anel de α -ionona) possuem, aproximadamente metade da atividade do β -caroteno. A β -criptoxantina, no qual um dos anéis β -ionona contém um grupo hidroxila, também apresenta 50% da atividade do β -caroteno. Outros carotenóides como licopeno, ζ -caroteno e luteína, largamente encontrados em alimentos, não têm nenhum valor vitamínico.

Estudos mais recentes demonstraram que a capacidade de sequestrar oxigênio "singlet" (ação antioxidante) (Krinsky, 1989) e ação inibidora contra alguns tipos de câncer (Mathews-Roth, 1985; Olson, 1988), não são limitada aos carotenóides provitamínicos. Portanto a quantificação de todos os carotenóides nos alimentos assumiu maior importância.

O sistema de ligações duplas conjugadas tão importante para suas funções ou ações é, ao mesmo tempo, o responsável pelos problemas associados aos carotenóides: a grande susceptibilidade à isomerização e oxidação que leva a perda de sua cor, de atividade provitamínica A e demais funções. Por essa razão, a retenção dos carotenóides é uma preocupação durante o processamento e a estocagem dos alimentos. Assim, tornam-se importantes não só informações sobre a composição de alimentos "in natura", mas também sobre alimentos processados que hoje em dia constituem grande parte da dieta da população.

O Brasil, com sua grande extensão territorial, sujeita a condições climáticas diferentes, é um país privilegiado em termos de vegetais ricos em carotenóides. Uma boa parte desta riqueza natural já foi estudada em nosso laboratório: maracujá e caju (Cecchi & Rodriguez-

Amaya, 1981 a,b), goiaba (Padula et al., 1983; Padula & Rodriguez-Amaya, 1986,1987) tomate mineiro (Rodriguez-Amaya et al., 1983), verduras folhosas (Ramos & Rodriguez-Amaya, 1987), manga (Godoy & Rodriguez-Amaya, 1987,1989), abóbora e moranga (Arima e Rodriguez-Amaya, 1988), mamão (Kimura et al., 1991) e cajá (Rodriguez-Amaya & Kimura, 1989), verduras folhosas nativas (Mercadante & Rodriguez Amaya, 1990) e azeite de dendê (Trujillo et al., 1990).

No exterior, particularmente Estados Unidos e Europa, a preocupação com a qualidade dos alimentos processados não se restringe somente à manutenção de suas características físico-químicas e organolépticas ao longo de sua vida de prateleira. As recentes descobertas de propriedades médico-preventivas de constituintes naturais dos alimentos tornou prioritário o conhecimento de sua composição química assim como sua preservação durante o processamento.

Tomate e milho são, sem dúvida, culturas agrícolas de extrema importância, não só em termos de produção (Anexo 1) como também em valor econômico. São com segurança, produtos consumidos, "in natura" e processados, pela população brasileira de todas camadas sociais. Além do importante papel na alimentação humana, o milho também é largamente consumido como ração animal atuando como veículo de pigmentação para carne e ovos das aves.

Pêssego, fruta apreciada tanto na forma "in natura" como processada é uma das únicas fontes de carotenóides no sul do país onde predomina o clima temperado.

Por essas razões foram o objeto de estudo deste trabalho, onde além de suas composições em carotenóides ("in natura" e produtos processados) e respectivo valor de vitamina A, avaliou-se também o erro na determinação do valor de vitamina A quando os isômeros cis e trans

não são separados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Carotenóides de Tomate

Os carotenóides de tomate vem sendo investigados desde 1932, quando Kuhn e Grundmann reportaram ser sua composição basicamente de carotenos, sendo o licopeno o mais abundante.

Os carotenos constituem 90 a 95% da composição total de tomates (Trombl y & Porter, 1953; Kargl et al, 1960; Curl, 1961; Lee & Robinson, 1980). O conteúdo de carotenóides totais varia entre 90 e 190 $\mu\text{g/g}$ em tomate (Gross, 1987). Além de licopeno, o tomate vermelho comum contém os carotenos incolores fitoeno e fitoflueno, β -caroteno, ζ -caroteno, γ -caroteno e neurosporeno (Koskitalo & Ormond, 1972; Raymundo et al, 1976; Lee & Robinson, 1980; Johjima & Ogura, 1983) (Tabela 1).

TABELA 1 - Distribuição de Carotenóides em Três Cultivares de Tomate.

Carotenóides	% de carotenóides		
	1	2	3
fitoeno	19,7	9,2	25,0
fitoflueno	8,4	7,8	5,0
β -caroteno	2,3	6,9	5,7
ζ -caroteno	2,0	1,7	1,1
γ -caroteno	0,5	0,5	0,8
neurosporeno	0,4	0,1	0,2
licopeno	66,7	73,7	62,2
Carotenóides totais ($\mu\text{g/g}$ peso seco)	950,0	1700,0	922,0

1 : "Early Red Chief".

2 : "Summer Sunrise"

3 : "New yorker"

Fonte: Koskitalo & Ormrod, 1972; Raimundo *et al*, 1976; Lee & Robinson, 1980.

Xantofilas foram também encontradas em tomate, porém em concentrações menores. Curl (1961) estudou a composição de xantofilas e relatou a seguinte proporção: 15% de monoenóis, 49% de dienóis; 4% de monoepóxido dienóis, 22% diepóxido dienóis e 11% de polienóis.

Ben-Aziz et al, (1973) reportaram a presença de epóxidos do fitoeno, fitoflueno e licopeno em níveis baixíssimos. Dois apocarotenais, apo-6'-licopenal e apo-8'-licopenal, assim como licoxantina foram também identificados.

Além do tomate vermelho, existem vários mutantes de tomate com cor variando de branco ao laranja forte. Tomates amarelos acumulam principalmente neurosporeno, β -caroteno e luteína durante o amadurecimento (Jen, 1974a,b). No mutante chamado "Tangerine tomato", o carotenóide predominante é o prolicopeno (um licopeno poli-cis) cuja estrutura foi elucidada por Clough & Pattenden (1979) e Englert et al (1979).

O conteúdo de carotenóides é influenciado pelo estágio de maturação (Goodwin & Jamikorn, 1952); Mackinney & Jenkins, 1952; Meredith & Purcell, 1966; Edwards & Reuter, 1967; Raymundo et al, 1976), pela luz (Mc Collum, 1954; Jen, 1974 a,b; Thomas & Jen, 1975) e pela temperatura (Koskitalo & Ormrod, 1972). A Tabela 2 apresenta o efeito do estágio de maturação no conteúdo dos principais carotenóides de tomate "Homestead".

Recentemente, Daood et al (1987) utilizando cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para separar os carotenóides de tomate, relataram suas percentagens relativas. Tomate amarelo maduro apresentou 7,23% de luteína, 0,07% de neoxantina, 0,33% de prolicopeno, 24,9% de licopeno, 25,1% de neurosporeno, 15,4%

de β -caroteno e 18,88% de ζ -caroteno. Tomate vermelho, no estágio maduro apresentou 1,9% de luteína, 0,66% de neoxantina, 1,04% de prolicopeno, 50% de licopeno, 29% de neurosporeno, 7,9% de β -caroteno e 3,6% de ζ -caroteno. Num estágio de maturação avançada, o tomate vermelho apresentou 4,02% de luteína, 1,43% de prolicopeno, 75,8% de licopeno e 12,86% de β -caroteno. Neste estágio de maturação neoxantina e neurosporeno não foram encontrados.

Embora grande parte da produção de tomate seja destinada a produção de seus derivados, são poucos os trabalhos sobre a composição em carotenóides de produtos processados. Zubeckis (1968) determinou os conteúdos de carotenos em suco de tomate produzido no Canadá. Em 13 amostras de tomate "in natura", o teor de carotenos variou de 0,23 a 0,74 mg/100g. Marcas comerciais de suco de tomate apresentaram teores de 0,38 a 0,55 mg/100g com um valor médio de 0,44 mg/100g. Grandes variações no teor de carotenos foram observadas entre marcas e também entre amostras da mesma marca.

Noble (1975) investigou as mudanças de cor como consequência do aquecimento a que são submetidas as polpas de tomate, reportando perdas de 11, 22 e 57% nos teores de licopeno de produtos com 10, 15 e 20% de sólidos solúveis, respectivamente.

TABELA 2 - Efeito do Estádio de Maturação na Composição dos Principais Carotenóides de Tomate "Homestead".

Carotenóides	% de carotenóides					
	Estádios de Maturação					
	1	2	3	4	5	6
fitoeno	—	—	20,0	10,7	10,8	9,0
fitoflueno	—	—	2,5	2,1	2,6	2,4
β -caroteno	100	75,0	55,0	17,0	9,8	2,6
ζ -caroteno	—	—	2,5	1,4	1,6	0,6
γ -caroteno	—	8,3	10,0	4,3	2,3	0,7
licopeno	—	16,7	10,0	64,3	72,9	84,7
Carotenóides Totais ($\mu\text{g/g}$ peso fresco)	1,2	2,4	4,0	14,0	30,6	97,7

Estádios de Maturação

1 : "mature green"

2 : "breaker"

3 : "turning"

4 : "pink"

5 : "light red"

6 : "red"

Fonte: Meredith & Purcell (1966).

Liu & Luh (1977) investigaram o efeito do estágio de maturação da matéria prima nos carotenóides de polpa de tomate. Fitoeno, fitoflueno, ζ -caroteno e licopeno foram encontrados em quantidades maiores que os demais carotenóides, com as concentrações aumentando com o estágio de maturação (Tabela 3). Outros carotenóides como β -caroteno, 13-cis- β -caroteno, δ -caroteno, neurosporeno, toruleno e mutatoxantina foram também detectados, porém em níveis relativamente menores.

Baseado nos trabalhos de Wong & Bohart (1957), Miers et al (1958), Lovric et al (1970), Boskovic (1979) propôs um mecanismo para a degradação do licopeno nos produtos desidratados de tomate. Boskovic relatou que a isomerização ocorre como consequência do cozimento, aquecimento ou desidratação dos alimentos. Durante o período de armazenamento, o cis-licopeno poderia ser autoxidado irreversivelmente ou re-isomerizado para a forma trans, o que provocaria um aumento na intensidade de cor do produto processado.

Dietz & Gould (1986) avaliaram a retenção de β -caroteno nas várias etapas de processamento e estocagem de suco de tomate. Os teores de β -caroteno nos 12 cultivares avaliados variaram de 5,6 a 12,5 $\mu\text{g/g}$ de tomate "in natura". Houve perda de 20% de β -caroteno na etapa de extração (passagem através de uma peneira de 0,023 polegada) e mais 20% na estocagem durante 7 meses. Pasteurização e enlatamento não provocaram perdas significativas nos teores de β -caroteno.

TABELA 3 - Carotenóides em Polpa com 26,5% de Sólidos Processados a Partir de Tomate VF 145-7879.

Fração	Carotenóide	Concentração (mg/100g polpa)		
		M ₁	M ₂	M ₃
1	fitoeno	3,77	4,77	5,80
2	fitoflueno	0,27	0,34	2,48
3	13- <u>cis</u> - β -caroteno	—	0,60	0,74
4	<u>trans</u> - β -caroteno	0,85	0,94	1,48
5	ζ -caroteno	0,21	0,61	1,15
6	δ -caroteno	0,14	—	—
7	neurosporeno	0,11	—	—
8	<u>trans</u> -licopeno	12,18	20,71	30,16
9	toruleno	0,79	1,77	1,30
10	mutatoxantina	0,91	1,12	0,98

Fonte: Liu & Luh, (1977).

M₁, M₂, M₃ : sentido crescente do estágio de maturação.

Usando cromatografia em coluna clássica, cartuchos descartáveis e cromatografia líquida de alta eficiência com detector "diode array", Tan (1988) apresentou apenas a composição qualitativa dos carotenóides de extrato de tomate. Com a identificação baseada nos espectros de absorção, a composição estabelecida foi: fitoeno, fitoflueno, β -caroteno, ζ -caroteno, γ -caroteno e licopeno. Relatou também a presença de α -caroteno, licoxantina e cis-mutatoxantina, porém não apresentou dados convincentes para essa identificação.

Finalmente, com a crescente utilização de congelamento como forma de conservação de alimentos, Urbányi & Horti (1989), avaliaram cor e conteúdo de carotenóides em tomate em cubos pertencentes a 3 estádios de maturação, durante estocagem frigorificada. Os resultados reportados mostraram que a cor do tomate sofreu mudanças durante a estocagem (-30°C e -20°C) sendo a extensão da mudança dependente do estágio de maturação. O teor de carotenóides diminuiu durante o armazenamento tendo correlação linear com o tempo de estocagem.

2.2. Carotenóides de Pêssego

Os carotenóides de pêssego foram primeiro investigados por Mackinney em 1937. Nesse trabalho, cinco carotenóides foram identificados: α - e β -caroteno, criptoxantina, luteína e zeaxantina. Thale & Schulte (1940) identificaram a mistura de carotenóides presentes no pêssego amarelo, proveniente da Europa, como sendo oito partes de luteína, duas partes de carotenos e uma

parte de licopeno. Segundo McCarty & Lesley (1954), de um total de oito pigmentos presentes no pêssego, cinco deles foram também identificados como: α - e β -caroteno, criptoxantina, luteína e zeaxantina. O primeiro trabalho detalhado a respeito da composição de carotenóides de pêssego foi realizado por Curl (1959) com a variedade "Halford". Os carotenóides foram investigados através de distribuição contra-corrente em "glass Craig" para separar os carotenóides em frações seguido de cromatografia para se obter os constituintes individualmente. Quarenta e cinco carotenóides foram detectados sendo a violaxantina (26%), criptoxantina (12%), β -caroteno (10%), fitoeno (10%) e persicaxantina (12%) os principais carotenóides. Em menor quantidade também foram encontrados fitoflueno, ζ -caroteno, luteína, zeaxantina, anteraxantina, mutatoxantina e luteoxantina.

Dei-Tutu *et al* (1970) relataram uma faixa de 1,2-5,4 mg de carotenóides totais por 100g em 13 variedades de pêssego "Clingstone" cultivadas na Austrália. Em nove variedades de pêssego provenientes da Columbia Britânica, Strachan *et al* (1951) determinaram variações nos teores médios de carotenóides de 0,42 a 1,20 mg/100g.

Em trabalho mais recente, Katayama *et al* (1971) determinaram as transformações dos carotenóides ocorridas durante o amadurecimento do pêssego variedade "Halford". O β -caroteno, juntamente com violaxantina e luteína aumentaram substancialmente enquanto que neoxantina e criptoxantina tiveram pequenas variações em suas concentrações.

O processo de amadurecimento das variedades "Earglio" e "Readhaven" também foi avaliado por Lessestois & Monéger (1978) e Gross (1979), respectivamente. A composição do pêssego maduro, variedade "Earglio", determinada foi: β -caroteno, criptoxantina e seus epóxidos, zeaxantina, anteraxantina, auroxantina e trolicromo. No cultivar "Redhaven" maduro o

conteúdo total de carotenóides determinado foi 4,7 $\mu\text{g/g}$ distribuídos da seguinte forma: violaxantina (34,6%), criptoxantina (15%), fitoflueno (10%), isoluteína (8%) e zeaxantina (7%). β -caroteno e neoxantina foram detectados em níveis menores que 5%.

As alterações na composição de carotenóides de pêssego como consequência de processamento foram avaliados por Aczél (1977) em termos da concentração de β -caroteno e de carotenóides totais. Durante o decorrer do processamento a concentração de β -caroteno variou de 0,48 mg/100g na matéria-prima (cortada e despelada) a 0,40 mg/100g após a esterilização e os carotenóides totais de 2,12 mg/100g a 2,00 mg/100g. Após um mês de estocagem os carotenóides totais e o β -caroteno tiveram suas concentrações originais diminuídas de 89% e 63%, respectivamente, de seus valores originais.

Panalaks & Murray (1970) avaliando o efeito do processamento no conteúdo de carotenóides em pêssego, não verificaram alteração significativa na composição de isômeros do β -caroteno ao contrário do que ocorreu com outros produtos (tomate, ervilha, batata-doce, cenoura) onde houve diminuição do teor de trans- β -caroteno concomitantemente ao aumento dos isômeros cis.

Desrosier et al (1985) avaliaram a retenção de carotenos durante o processo doméstico de desidratação pelo método da A.O.A.C. A retenção foi de 72,7% depois de secagem e 37,3% depois de desidratação. Durante a estocagem, o nível de caroteno diminuiu significativamente durante os primeiros dois meses, estabilizando-se a 20,2% depois deste período. A exposição à luz durante 6 meses de estocagem e a remoção de ar da embalagem não tiveram efeito significativo na retenção dos carotenos.

Bureau & Bushway (1986) determinaram por cromatografia líquida de

alta eficiência (CLAE), os teores de α - e β -caroteno e β -criptoxantina de pêssego e os expressaram em termos do valor de vitamina A. Os resultados variaram de 4,35 a 29,72 RE/100g para os meses de março e julho. Quanto aos teores de α - e β -caroteno e β -criptoxantina os resultados foram 2,88 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 76,68 $\mu\text{g}/100\text{g}$ e 3,39 $\mu\text{g}/100\text{g}$, respectivamente.

2.3. Carotenóides de Milho

Kuhn & Grundmann (1933, 1934) foram os primeiros a caracterizar a composição individual de carotenóides em milho. Os pigmentos isolados foram zeaxantina, criptoxantina e β -caroteno. Os pigmentos α -caroteno e necriptoxantina foram identificados em extratos de milho por Fraps & Kemmerer (1941). Luteína e neozeaxantina foram reportadas no trabalho de White *et al* (1942) enquanto que os neo- β -carotenos foram identificados em 1953 por Callison *et al* (1953).

Fitoeno (18,4 $\mu\text{g}/\text{g}$), fitoflueno (4,6 $\mu\text{g}/\text{g}$), β -caroteno (2,7 $\mu\text{g}/\text{g}$), β -zeacaroteno (1,2 $\mu\text{g}/\text{g}$), ζ -caroteno (1,3 $\mu\text{g}/\text{g}$), zeinoxantina (1,7 $\mu\text{g}/\text{g}$), criptoxantina (2,2 $\mu\text{g}/\text{g}$), luteína (15,5 $\mu\text{g}/\text{g}$), zeaxantina (6,7 $\mu\text{g}/\text{g}$) foi a composição determinada por Quackenbush *et al* (1961). Neste trabalho houve também a identificação de isômeros de alguns carotenóides (neozeinoxantina, neoluteína e neozeaxantina), porém em pequenas quantidades.

Pela sua função como fonte de pigmentação em gema de ovos e pele de

aves, Blessin *et al* (1963) preocuparam-se em quantificar as xantofilas em linhagens exóticas e híbridas de milho detectando uma faixa de variações de 5 a 50 ppm nas xantofilas e de 0 a 7 ppm para os carotenos.

Os efeitos da temperatura e umidade nas perdas de carotenóides durante um período de estocagem de 3 anos foram estudados por Quackenbush (1963). A 25°C, grãos com diferentes teores de umidade (11 e 3%) sofreram mesma redução de 75% no teor inicial de carotenos. A 7°C, essas perdas foram apenas a metade. Luteína e zeaxantina desapareceram mais vagarosamente que os carotenos e a taxas similares a zeinoxantina e criptoxantina.

Irradiação, refrigeração, congelamento em 2 variedades de milho foram avaliados por Tichenor *et al* (1965). No milho congelado e refrigerado de ambas variedades, as quantidades iniciais de β -caroteno (0,9-1,3 $\mu\text{g/g}$) permaneceram relativamente estáveis durante a estocagem de 280 dias. Milho congelado apresentou $1\frac{1}{2}$ a $3\frac{1}{2}$ mais criptoxantina que β -caroteno. A ausência de oxigênio nas embalagens não aumentou a retenção de β -caroteno nas amostras congeladas. Exposição à radiação afetou todas frações de carotenóides com a porcentagem de destruição aumentando proporcionalmente a dose.

Mais recentemente, Lee *et al* (1981), estabeleceram a composição de carotenóides em 4 cultivares de milho e o valor de vitamina A em 6 variedades comerciais de milho (Tabelas 4 e 5). Lee *et al* (1981) tiveram o cuidado de separar todas frações, identificá-las para, então, determinar o valor de vitamina A nas amostras de milho. Assim, eliminaram o erro da determinação de Farrow *et al* (1973), que calcularam o valor de vitamina A em milho pelo método da A.O.A.C. que inclui os carotenóides não provitamínicos A.

Finalmente Weber (1987), utilizando HPLC, determinou a composição percentual dos carotenóides de milho assim como sua estabilidade durante 6 meses de estocagem a temperatura ambiente. Esses resultados estão apresentados na Tabela 6 e 7, respectivamente.

TABELA 4 - Principais Carotenóides em 4 Cultivares de Milho.

Carotenóides	Concentração ($\mu\text{g}/100\text{g}$)			
	Jubilee	Tosweet	70-2499	Stylpak
hidrocarbonetos	89,0	41,4	45,0	45,6
monohidroxi	98,5	92,7	101,6	89,5
polihidroxi	58,5	19,6	35,0	51,5
α -caroteno	24,6	5,0	8,4	8,1
β -caroteno	9,8	5,3	14,0	8,4
β -zeacaroteno	15,7	16,8	14,5	17,0
γ -caroteno	15,1	8,9	7,5	10,6
zeinoxantina	79,2	66,0	7,2	68,9
β -criptoxantina	18,9	18,3	15,1	18,4

Fonte: Lee *et al.* (1981).

TABELA 5 - Carotenóides Provitamínicos A e Valores de Vitamina A em Variedades Comerciais de Milho.

Carotenóides	Concentração ($\mu\text{g}/100\text{g}$)					
	congelado		enlatado			
	A	B	A	B	C	D
α -caroteno	34,2	23,2	3,3	19,7	5,6	4,1
β -caroteno	14,7	13,0	8,1	12,1	6,9	4,7
β -zeacaroteno	57,7	19,1	40,6	12,6	19,9	24,4
γ -caroteno	8,6	10,7	0,4	5,9	1,9	4,2
β -criptoxantina	8,9	11,7	3,2	8,7	17,1	11,2
RE ¹ /100g	11,5	7,5	5,3	5,9	4,8	4,4

¹RE : equivalente de retinol.

Fonte: Lee *et al* (1981).

TABELA 6 - Carotenóides em Milho Amarelo.

Variedade	Concentração (%)				Total ($\mu\text{g/g}$)
	Carotenos	β -criptoxantina	Luteína	Zeaxantina	
A619	50,5	8,3	24,7	16,4	69,3
A632	10,7	9,4	8,0	71,9	15,8
B37	25,5	7,0	52,7	14,7	59,0
B73	11,6	14,7	60,3	13,4	28,5
B84	10,6	6,6	64,6	18,2	27,4
C103D	6,5	7,0	54,5	31,9	32,3
H51	18,4	12,5	51,9	17,2	48,2
Mo17	9,0	7,0	44,4	39,5	34,4
NY16	17,5	8,3	60,1	14,1	31,2
Oh43	28,8	7,8	55,2	8,1	9,2
Oh45	32,8	5,0	54,9	7,3	76,9
R802A	50,0	10,5	34,7	4,8	73,6
R806	28,1	12,0	43,4	16,5	49,9
T220	39,4	8,0	38,7	13,9	51,2
W64A	12,2	13,2	46,0	28,6	36,1

Fonte: Weber (1987).

TABELA 7 - Recuperação de Carotenóides em 4 Variedades de Milho Depois de Seis Meses de Estocagem.

Variedade	Conc. Inicial de Carotenóides Totais ($\mu\text{g/g}$)	Recuperação de carot. totais (%)	Recuperação Individual (%)			
			Carotenos	β -cripto- xantina	Luteína	Zeaxan- tina
B84	27,4	66,7	64,6	76,1	64,7	68,7
H51	48,2	53,7	56,5	63,5	51,0	52,0
Oh45	76,9	62,7	74,2	82,0	54,0	53,8
R802A	73,6	49,8	48,2	61,1	49,7	58,6
Média		58,2	60,9	70,7	54,8	58,3

Fonte: Weber (1987).

2.4 Separação dos Estereoisômeros na Determinação do Valor de Vitamina A.

Apenas alguns carotenóides são precursores de vitamina A e estes variam em atividade. Portanto, para determinar o valor de vitamina A com exatidão, algumas precauções devem ser tomadas, a saber: (1) separação dos carotenóides não provitamínicos das provitaminas A; (2) identificação e quantificação individual das provitaminas A; (3) separação e quantificação dos cis e trans isômeros de cada provitamina A (Rodriguez-Amaya, 1989). No entanto, à medida que estes requisitos são preenchidos, aumentam as dificuldades, e a complexidade na execução da análise. Consequentemente, a maioria dos trabalhos publicados sobre o assunto não os levam em conta ou os cumprem apenas parcialmente.

Os carotenóides provitamínicos existem na natureza principalmente na forma trans que é a configuração mais estável. No entanto, isômeros cis podem ocorrer naturalmente. Uma vez que os isômeros cis possuem atividades menores que as formas trans, sua separação tem sido recomendada para um cálculo do valor de vitamina A mais exato (Bickoff *et al.*, 1949; Sweeney & Marsh, 1970, 1971; Gebhardt *et al.*, 1977; Chandler & Schwartz, 1987; Quackenbush, 1987). Essa etapa de separação é considerada especialmente importante em produtos processados uma vez que o processamento pode provocar a isomerização (Sweeney & Marsh, 1971; Lee & Ammerman, 1974; Ogunlesi & Lee, 1979; Chandler & Schwartz, 1987, 1988).

A separação dos isômeros cis, no entanto, não é uma tarefa fácil. Métodos utilizando cromatografia em coluna clássica (também chamada de cromatografia em coluna

aberta) requerem a recromatografia de cada uma das frações de provitamina A, obtida da separação prévia na coluna de MgO: Hiflosupercel, em uma coluna de Ca(OH)_2 (Bickoff *et al.*, 1949) ou de Mg(OH)_2 - Ca(OH)_2 (Sweeney & Marsh, 1970).

Os principais isômeros cis do β -caroteno eluem antes e depois do trans β -caroteno na coluna de Ca(OH)_2 (Zechmeister, 1949; Bickoff, 1949) e suas estruturas foram definidas por Tsukida *et al.* (1981) por espectrometria de ressonância magnética nuclear e de massa, como sendo 13-cis- β -caroteno e 9-cis- β -caroteno.

Com o advento da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), pensou-se que o método ideal para determinação do valor de vitamina A havia chegado. Infelizmente, mesmo com essa técnica potencialmente poderosa, os problemas desta determinação não foram resolvidos (Rodriguez-Amaya, 1989).

Tentando quatro colunas comerciais C_{18} com cinco sistemas de solvente e colunas de fase normal (amino e alumina), Bushway (1985) obteve cromatogramas que demonstraram a dificuldade em separar os carotenóides diferentes e seus isômeros cis e trans. O autor concluiu que devido a complexidade da composição em carotenóides, seria pouco provável que um único método CLAE conseguisse quantificar todas as principais provitaminas A em verduras e frutas.

Quackenbush & Smallidge (1986) avaliaram mais de 20 colunas comerciais de C_{18} e C_8 com apenas três demonstrando uma certa separação dos cis isômeros, sendo a Vydac TP.201 a mais efetiva. Algumas amostras alimentícias foram analisadas e os níveis de 13-cis- β -caroteno e 9-cis- β -caroteno foram calculados em percentagens relativas ao conteúdo total de β -caroteno e não em concentrações absolutas.

Mesmo com eluição gradiente, o cis-isômero, tentativamente designado como 15-cis- β -caroteno, apareceu como um ombro no pico de trans- β -caroteno e, portanto, foi quantificado junto com trans- β -caroteno (Khacik *et al* 1986, 1988, 1989; Heinonen *et al*, 1989).

Uma separação boa dos estereoisômeros de β -caroteno foi conseguida em coluna de Ca(OH)_2 preparada em laboratório e desenvolvida por 0,1 ou 0,5% de acetona em hexana (Tsukida *et al*, 1982) ou com acetona-hexana (3:997) (Chandler & Schwartz, 1987). Este último sistema foi aplicado em alimentos, mas os resultados foram expressos apenas em percentagens, baseadas na absorbância a 463 nm. Uma vez que este comprimento de onda aproximava-se do ponto isobéstico, absortividades semelhantes foram assumidas e o cálculo foi feito com base numa única curva de calibração, a de trans- β -caroteno. Embora esses resultados demonstrem que os níveis de isômeros cis podem ser significativos, os alimentos diferentes não podiam ser comparados quantitativamente e os valores de vitamina A não puderam ser calculados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostragem e Preparo da Amostra

As amostras "in natura" e processadas de tomate, milho e pêssego foram obtidas em feiras livres e supermercados durante o período de 1986 a 1988. Foram analisados produtos processados de tomate pertencentes a 2 marcas comerciais (marcas A e B): catchup, suco, purê e extrato de tomate nas diferentes embalagens disponíveis ao consumidor (caixa, vidro e lata). Tais marcas foram escolhidas em função de seu maior volume de produção e preferência pelo consumidor. Foram examinados também pêssego em calda e suco de pêssego engarrafado pertencendo cada um a uma marca diferente (marcas A e C) e milho "in natura" e em conserva (enlatado) da marca comercial A. Os sólidos solúveis das amostras de tomate foram determinados em refratômetro Abbe Zeiss, modelo A, segundo o método da A.O.A.C. número 22.024, e o pH em potenciômetro marca Beckman, modelo Expandomatic SS-2. Esses resultados estão apresentados na Tabela 8.

Tanto para amostras "in natura" como para as processadas, a amostragem foi feita de maneira aleatória nos postos de vendas, em quantidades variáveis. Assim, 8 a 10 unidades de tomate e pêssego e 5 espigas de milho foram retiradas para cada amostra "in natura".

Considerando que os processamento caracteriza igualmente uma grande quantidade de produtos, a quantidade amostrada para cada determinação foi de uma embalagem.

As amostras de tomate e pêssego "in natura" foram cortadas em pedaços manualmente, e as de milho debulhadas. Em seguida todas amostras foram homogeneizadas em liquidificador. Desse homogeneizado retirou-se as alíquotas necessárias à análise. As amostras dos produtos processados líquidos foram apenas homogeneizadas antes da amostragem. As quantidades necessárias às análises variaram para cada tipo da amostra de acordo com seu conteúdo de carotenóides: tomate "in natura" e processado, 60g; milho e milho em conserva, 50g; e pêssego "in natura" e processado, 80g.

TABELA 8 - Sólidos Solúveis e pH de Tomate "in Natura" e Produtos Processados Analisados.

	Tomate "in natura"	Suco	Purê	Extrato	Catchup
Sólidos Solúveis ¹ (Brix) 20°C	3,8-4,6	5,0-6,0	8,0-11,0	19,0-21,0	33,0-36,0
pH ²	4,4-4,6	4,0-4,4	4,0-4,4	4,0-4,4	3,8-4,0

1 : medido em refratômetro Abbe-Karl Zeiss, segundo método nº 22.024 da A.O.A.C.

2 : medido em potenciômetro marca Beckman, modelo Expandomatic SS-2.

3.2. Determinação dos Carotenóides

Várias precauções foram tomadas para evitar isomerização e oxidação dos carotenóides durante o decorrer da análise, a saber: (a) realização das análises em local afastado da luz solar, sem luz artificial e protegendo-se as colunas e recipientes contendo os carotenóides com papel alumínio; (b) rapidez na conclusão das análises (máximo de uma semana); e (c) controle rigoroso da temperatura nas etapas de concentração dos pigmentos e realização da saponificação, quando necessária, à temperatura ambiente.

A metodologia utilizada baseou-se em Rodriguez *et al* (1976) onde se incorporou algumas modificações visando sua adaptação ao tipo de amostra: (a) retirada da etapa de saponificação para as amostras de tomate; (b) utilização de adsorvente ativado para melhorar a separação dos carotenóides de tomate; e (c) introdução de uma coluna de Ca(OH)_2 ou Hiflo: Ca(OH)_2 (1:1) para separação dos isômeros cis dos carotenóides com atividade de vitamina A.

3.2.1. Extração

Cada amostra foi submetida à extração de seus pigmentos, em

liquidificador tendo como solvente acetona resfriada e utilizando Hiflosupercel para facilitar a extração e a posterior filtração em funil de Buchner. A extração e filtração foram repetidas até que o resíduo se tornasse incolor.

Os pigmentos dissolvidos em acetona foram transferidos para éter de petróleo (P.E. 30-60°C) em funil de separação. Para evitar a formação de emulsão, essa etapa foi cuidadosamente realizada, adicionando-se pequenas porções da solução do pigmento em acetona ao éter seguida pela lavagem com água adicionada vagarosamente, pelas paredes do funil de separação.

Após a transferência total do pigmento para o éter de petróleo, algumas lavagens com água foram feitas para garantir remoção completa da acetona. A solução etérea foi recolhida em erlenmeyer e uma pequena porção de sulfato de sódio anidro foi adicionada para retirar resíduos de água ainda presentes na amostra.

3.2.2. Saponificação

Essa etapa foi realizada somente para as amostras de pêssego e milho por possuírem em sua composição carotenóides hidroxilados.

Ao extrato etéreo de pigmentos foi adicionada igual volume de uma solução metanólica de KOH 10%, permanecendo em contato pelo período de uma noite. Findado esse

tempo, a solução básica foi retirada através de sucessivas lavagens com água destilada. Novamente, sulfato de sódio anidro foi adicionado à amostra para eliminar a água residual.

3.2.3. Cromatografia em coluna

A solução de pigmentos foi concentrada até o menor volume possível em rotoevaporador, não ultrapassando a temperatura de 35°C para evitar a degradação dos pigmentos.

A separação dos carotenóides foi efetuada em coluna de vidro de 2,0cm de diâmetro interno e 20,0cm de altura, empacotada à vácuo até a altura de 10cm, com a mistura de Hiflosupercel: MgO (Merck ou Hiedel) ativado (2 horas a 110°C) na proporção de 1:1 para as amostras de tomate e Hiflosupercel: MgO (Hiedel) (2:1) para as amostras de milho e pêssgo.

Uma pequena quantidade de sulfato de sódio anidro foi adicionada no topo da coluna para reter possíveis gotas de água ainda presentes na amostra. Em seguida a coluna foi umedecida com pequena quantidade de éter de petróleo. Após a aplicação da solução concentrada dos pigmentos no topo da coluna, o desenvolvimento foi realizado com concentrações crescentes de éter etílico ou acetona em éter de petróleo. Para a retirada do licopeno foi necessária a utilização de 12% de água em acetona.

Os carotenóides de tomate e seus produtos foram eluídos com os

seguintes solventes: fitoflueno, β -caroteno e ζ -caroteno com 2% de acetona em éter de petróleo, γ -caroteno (somente no tomate "in natura") com 8% de acetona em éter de petróleo, e licopeno com 12% de água em acetona.

Para pêssego a eluição seguiu a seguinte ordem: β -caroteno com 5% de éter etílico em éter de petróleo, ζ -caroteno com 10% de acetona em éter de petróleo, β -criptoxantina com 12% de acetona em éter de petróleo, luteína com 15% de acetona em éter de petróleo, zeaxantina com acetona pura, auroxantina, luteoxantina e violaxantina com uma mistura de 12% de água em acetona.

Já para amostras de milho, a separação teve o seguinte perfil: β -caroteno foi eluído com 5% de éter etílico em éter de petróleo, ζ -caroteno (encontrado somente no milho em conserva) com 8% de éter etílico em éter de petróleo, β -zeacaroteno com 4% de acetona em éter de petróleo, β -criptoxantina com 12% de acetona em éter de petróleo, luteína com 20% de acetona em éter de petróleo, zeaxantina com acetona pura e mutatoxantina com mistura de 12% de água em acetona.

As frações eluídas da coluna foram concentradas ou diluídas à volumes adequados para leitura espectrofotométrica. As frações contendo acetona e água foram transferidas para o éter de petróleo em um funil de separação antes de serem recolhidas em balão volumétrico.

Na separação posterior dos isômeros utilizou-se como adsorvente Ca(OH)_2 (Mallinkrodt) para a fração de β -caroteno e a mistura de Hiflosupercel: Ca(OH)_2 na proporção de 1:1 para β -criptoxantina e licopeno. Esses absorventes foram empacotados até altura de 6,0cm, 8,0cm e 10,0cm, para β -caroteno, β -criptoxantina e licopeno, respectivamente, em colunas de

vidro de 1,5cm e 3,0 cm de diâmetro interno (β -criptoxantina e licopeno).

Os eluentes usados na separação dos isômeros cis dos carotenóides provitamínicos foram iguais para todas as amostras, a saber: 13 cis- β -caroteno, éter petróleo; trans- β -caroteno; 2% éter etílico em éter petróleo; 9-cis - β -caroteno, 4% éter etílico em éter petróleo; neocriptoxantina A, 10% de éter etílico em éter petróleo; trans- β -criptoxantina, éter etílico puro. O isômero cis do licopeno eluiu com 4% de éter etílico em éter de petróleo e o trans licopeno com acetona pura.

3.2.4. Identificação

Na identificação dos carotenóides foram considerados os seguintes parâmetros: a. ordem de eluição das frações na coluna; b. espectros de absorção na região do visível; c. valores de R_F na camada de sílica gel; d. reações químicas específicas.

A faixa de comprimento de onda em que se avaliou os carotenóides foi de 350 a 550nm. Um espectrofotômetro de duplo feixe da Pye Unicam, modelo SP8000, acoplado com registrador foi utilizado. É característica dos carotenóides apresentarem 3 máximos de absorção em comprimento de onda que são próprios de cada cromóforo. Os máximos de absorção das frações obtidas foram comparados com valores já tabelados para vários carotenóides. (Davies, 1976; Sweeney &

Marsh, 1970).

Após concentração a um volume mínimo, as frações foram aplicadas em camada delgada de sílica gel de 0,25 mm de espessura, previamente ativada a 110°C por 2 horas. A fase móvel utilizada foi 3% de metanol em benzeno. Nessas condições, os carotenos eluíram junto com a frente de solvente enquanto que as xantofilas, dependendo de seus grupos funcionais, eram retidas em maior ou menor grau pela fase estacionária.

Para confirmar a identidade e posição de substituintes no anel de α - ou β -ionona, foram realizadas algumas reações químicas cujos procedimentos estão abaixo relacionados:

(a) acetilação, para constatar a presença de hidroxilas. Ao pigmento dissolvido em piridina adiciona-se 0,2ml de anidrido acético deixando a reação ocorrer por 21 horas no escuro à temperatura ambiente. A seguir o pigmento é transferido para éter de petróleo e recromatografado em camada delgada. A reação é positiva quando ocorre um aumento no valor de R_F em relação ao obtido antes da reação.

(b) metilação, para confirmar a presença de hidroxilas alílicas conjugadas ou isoladas. Adiciona-se gotas de HCl 0,1N ao pigmento dissolvido em metanol, deixando-o por 3 horas no escuro à temperatura ambiente. A seguir o pigmento é transferido para éter de petróleo e recromatografado em camada delgada. A reação positiva caracteriza-se por um aumento no valor do R_F do carotenóide metilado em relação ao valor obtido originalmente.

(c) isomerização cis-trans. Logo após o registro do espectro do

pigmento em éter de petróleo na região visível, acrescenta-se algumas gotas de uma solução etérea de iodo ao pigmento como catalizador da fotoisomerização. Após três minutos de exposição a luz, o espectro é novamente registrado, mostrando para carotenóides originalmente trans um deslocamento para comprimentos de onda mais baixos (deslocamento hipsocrômico) e aparecimento do pico "cis", devido a isomerização para a forma cis. Para os cis carotenóides ocorre um deslocamento para comprimentos de onda maiores (deslocamento batocrômico) ou não se observa nenhuma mudança (Davies, 1976).

(d) teste para epóxidos. Investigado, preliminarmente através da exposição da camada delgada a vapores de HCl (Gross et al., 1971). Em caso positivo, a mancha do pigmento, originalmente amarela ou laranja mudam sua cor para azul ou verde. A localização do grupo epóxido é verificada através da adição de HCl 0,1N à solução etanólica do pigmento e posterior registro de seu espectro. O 5,6-monoepóxido ou 5,6, 5',6'-diepóxido transformam-se em 5,8-furanoide ou 5,8,5',8'-difuranóide, resultando num deslocamento dos máximos de absorção para comprimentos de onda aproximadamente 20 nm ou 40nm menores.

3.2.5. Quantificação

A quantificação de cada fração foi realizada a partir das respectivas

absorbâncias máximas, aplicando-se a lei de Beer. Os valores das absorptividades foram obtidos da tabela apresentada por Davies (1976).

Para o cálculo dos isômeros cis dos carotenóides com atividade próvitamínica A, foram utilizadas as absorptividades apresentadas por Sweeney & Marsh (1970). Na quantificação da neoptoxantina A e do cis-licopeno, as absorptividades das respectivas formas trans foram utilizadas pela não disponibilidade de seus próprios coeficientes.

3.3. Cálculo do Valor de Vitamina A

O valor de vitamina A foi calculado a partir da atividade provitamínica de cada carotenóide precursor, tabelada por Bauernfeind (1972). Para os cis isômeros, foram utilizados os valores de biopotência obtidos por Deuel (1945) e Sweeney & Marsh (1973). Os valores estão expressos em equivalentes de retinol por 100 gramas de produto (RE/100g).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Composição de Carotenóides em Tomate e seus Produtos

4.1.1. Tomate "in natura"

Nas amostras de tomate maduro firme, cultivar Santa Cruz, os carotenóides identificados foram: cis - fitoflueno, trans - β - caroteno, trans - ζ - caroteno, trans - γ - caroteno, cis - licopeno e trans licopeno. O esquema de separação destes pigmentos está demonstrado na Figura 1. As características espectrofotométricas e cromatográficas e os espectros de absorção na região visível (550 nm - 300 nm) estão apresentados na Tabela 9 e Anexos 2 a 6, respectivamente. As estruturas dos carotenóides detectados no tomate se encontram na Figura 2.

Em tomate, foram detectados somente carotenos, os quais foram identificados através da forma e máximos de absorção dos espectros na região visível. Todos eluíram junto com a frente do solvente na camada delgada de sílica gel desenvolvida por 3% de metanol em benzeno confirmando a ausência de grupos substituintes.

TABELA 9 - Características dos Carotenóides Presentes em Tomate "in natura" e Produtos Processados.

Identificação	Absorção em Éter de Petróleo (nm) ¹	Valor de R _F ²	Reações Químicas ³
<u>cis</u> -fitoflueno	330,346,365	—	cis +
13- <u>cis</u> - β -caroteno ⁵	335,(418),442,468	0,99	cis +
<u>trans</u> - β -caroteno	(425), 448,475	0,99	trans +
9- <u>cis</u> - β -caroteno ⁵	337,(419),444,472	0,99	cis +
<u>trans</u> - ζ -caroteno	378,398,423	0,98	trans +
<u>trans</u> - γ -caroteno ⁴	437,462,494	0,98	trans +
<u>cis</u> - licopeno	439,464,496	0,99	cis +
<u>trans</u> -licopeno	446,472,505	0,99	trans +

1:Os valores entre parênteses significam inflexão no lugar de um pico.

2:Valores obtidos em camadas delgada de sílica gel ativada por 2 horas a 110⁰C e desenvolvidas com 3% de metanol em benzeno.

3:reação de isomerização cis - trans.

4:presente somente no tomate "in natura".

5:presente somente nos produtos processados.

Fase Estacionaria: (A) Niflosupercel : MgD (1:1) (ativ. 2hr/118 C)
 (B) Ca(OH)_2
 (C) Niflosupercel : Ca(OH)_2 (1:1)
 Fase Móvel: Gradiente de Eter Etilico ou Acetona em Eter de Petróleo
 ou Água em Acetona

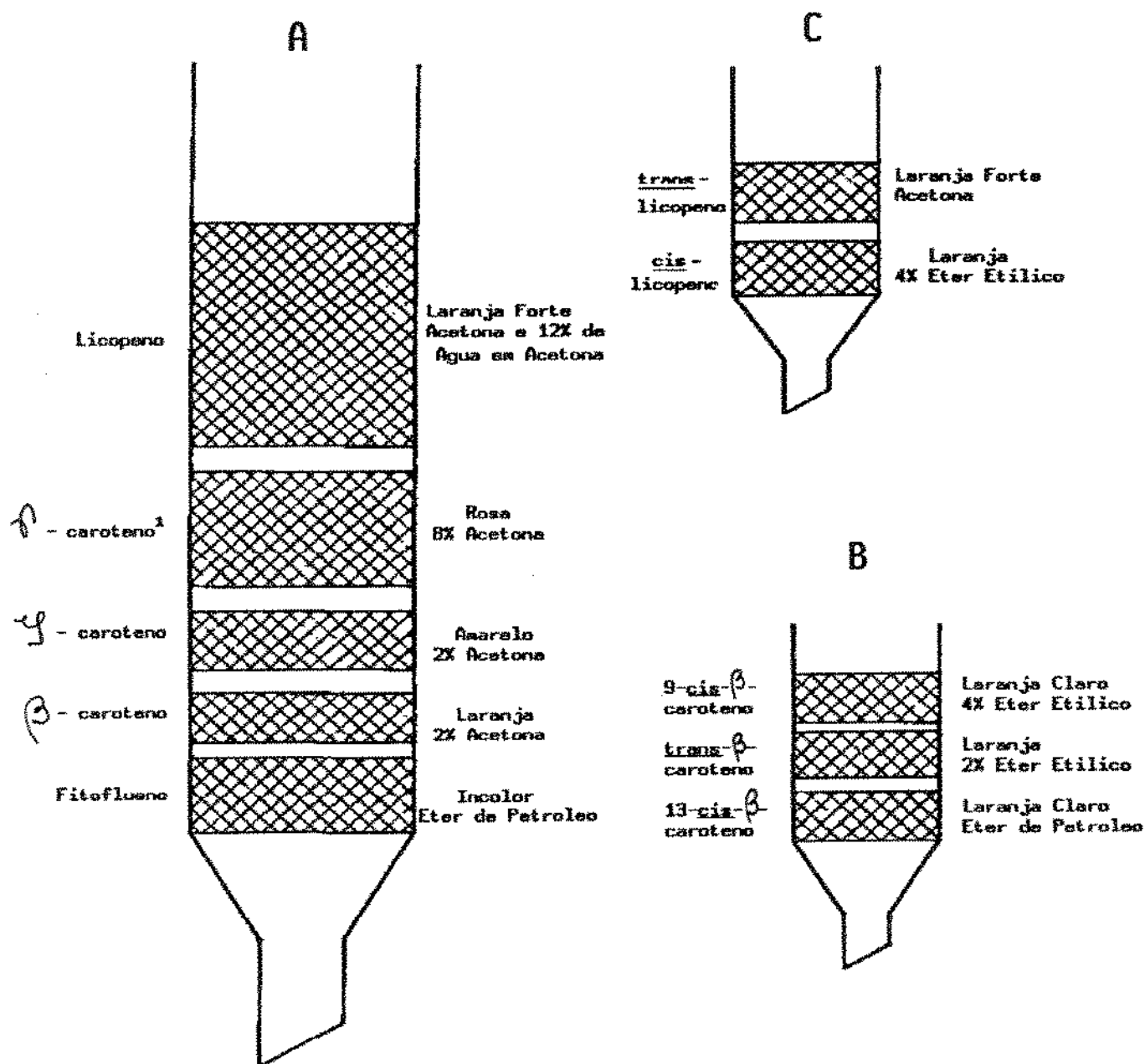
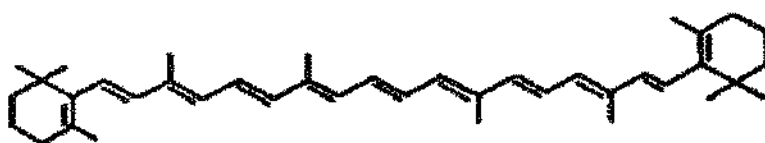


FIGURA 1- Separação dos Pigmentos de Tomate "in natura"¹ e Produtos Processados.



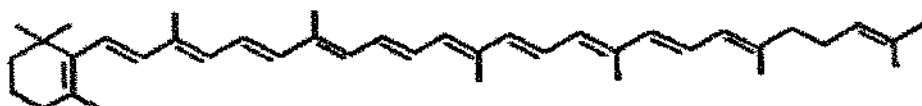
Fitoflueno



β - caroteno



γ - caroteno



δ - caroteno



Licopeno

FIGURA 2 - Estrutura dos Carotenóides de Tomate "in natura" e Produtos Processados.

O principal pigmento encontrado foi o trans-licopeno na concentração de $31,1 \pm 20,2 \mu\text{g/g}$, apresentando, portanto, considerável variação. A seguir pela ordem decrescente de concentração foi quantificado o trans - β - caroteno ($5,1 \pm 1,1 \mu\text{g/g}$) cis - fitoflueno ($3,7 \pm 1,1 \mu\text{g/g}$), cis licopeno ($3,0 \pm 2,4 \mu\text{g/g}$), trans - γ - caroteno ($0,7 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$) e trans - ζ - caroteno ($0,4 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$) (Tabela 10).

As xantofilas que a literatura reporta, não foram detectadas nas amostras analisadas, talvez por estarem presentes em concentrações muito pequenas, e portanto, facilmente mascaradas pelo licopeno sempre presente em grandes concentrações. A composição encontrada no tomate cultivar "Santa Cruz" assemelha-se à apresentada pela variedade "Homestead" (Tabela 2).

TABELA 10 - Composição de Carotenóides em Tomate "in natura" Estádio Maduro
(Cultivar "Santa Cruz").

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão
<u>cis</u> -fitoflueno	1,9-4,9	3,7	1,1
<u>trans</u> - β -caroteno	3,5-6,4	5,1	1,1
<u>trans</u> - ζ -caroteno	0,2-0,7	0,4	0,2
<u>trans</u> - γ -caroteno	0,3-1,0	0,7	0,2
<u>cis</u> -licopeno	0,6-5,3	3,0	2,4
<u>trans</u> -licopeno	11,9-73,0	31,1	20,2
total	18,4-82,5	41,4	20,1

¹:Cada resultado é a média de 10 determinações.

4.1.2 Suco de tomate (marca A)

Em relação ao tomate "in natura", somente duas alterações ocorreram nos produtos processados: desaparecimento do carotenóide provitaminico γ - caroteno e aparecimento dos isômeros cis do β - caroteno. A composição qualitativa dos derivados de tomate ficou assim definida: cis fitoflueno, 13 - cis - β - caroteno, trans - β - caroteno, 9 - cis - β - caroteno, trans - ζ - caroteno, cis - licopeno e trans - licopeno. (O esquema da separação dos carotenóides está apresentado na Figura 1 e suas estruturas na Figura 2.)

Apesar do suco de tomate ter aproximadamente o mesmo grau de concentração do tomate "in natura" (indicado pelo teor de sólidos solúveis-Tabela 8) e possuir a metade da concentração de trans - β - caroteno (2,0 vs. 5,1 $\mu\text{g/g}$), as concentrações de trans - licopeno (61,6 vs. 31,1 $\mu\text{g/g}$), trans - ζ - caroteno (1,3 $\mu\text{g/g}$ vs. 0,4 $\mu\text{g/g}$) e cis - fitoflueno (5,1 $\mu\text{g/g}$ vs. 3,7 $\mu\text{g/g}$) foram mais elevadas (Tabela 10 e 11). Tal observação só pode ser explicada pelo uso de cultivares de tomate, especialmente desenvolvidas para processamento. A utilização de cultivares com elevados teores de licopeno é recomendada para compensar qualquer perda de cor durante o processamento.

O isômero 13 - cis - do β - caroteno apareceu na concentração de 0,02 $\pm$ 0,01 $\mu\text{g/g}$, aparentemente como consequência do processamento térmico.

TABELA 11 - Composição de Carotenóides em Suco de Tomate Engarrafado (Marca A)

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão
<u>cis</u> -fitoflueno	3,6-6,3	5,1	1,3
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,01-0,02	0,02	0,01
<u>trans</u> - β -caroteno	1,5-2,3	2,0	0,5
<u>trans</u> - ζ -caroteno	1,1-1,7	1,3	0,3
<u>cis</u> -licopeno	1,7-12,7	7,1	5,5
<u>trans</u> -licopeno	53,2-68,1	61,6	7,6
total	61,1-91,1	77,2	15,1

¹ : Cada resultado é a média de 3 determinações.

Em termos do valor de vitamina A, o suco de tomate apresenta ao consumidor um valor médio de aproximadamente 35 RE/100g enquanto que o tomate “in natura” fornece 85 RE/100g (Figura 3). Por outro lado, o suco é uma fonte muito rica em licopeno (61,6 $\mu\text{g/g}$) (Figura 4), pigmento recentemente demonstrado como sendo o sequestrador mais eficiente de oxigênio “singlet” entre vários carotenóides inclusive, β -caroteno.

4.1.3. Purê de tomate

Para cada marca, a matéria-prima geralmente sofre as mesmas variações de qualidade ao longo da safra e entre-safra e as mesmas condições de processo. Assim considerações podem ser feitas a respeito das modificações no perfil de carotenóides de cada produto e entre as marcas como efeito do processamento, muito embora não tenha havido acompanhamento das mudanças durante o processamento e estocagem do mesmo lote de tomate.

O purê de tomate é aproximadamente duas vezes mais concentrado que o suco (Tabela 8). Assim, os teores de carotenóides deveriam ser mais ou menos o dobro, não levando em consideração as perdas durante o processamento.

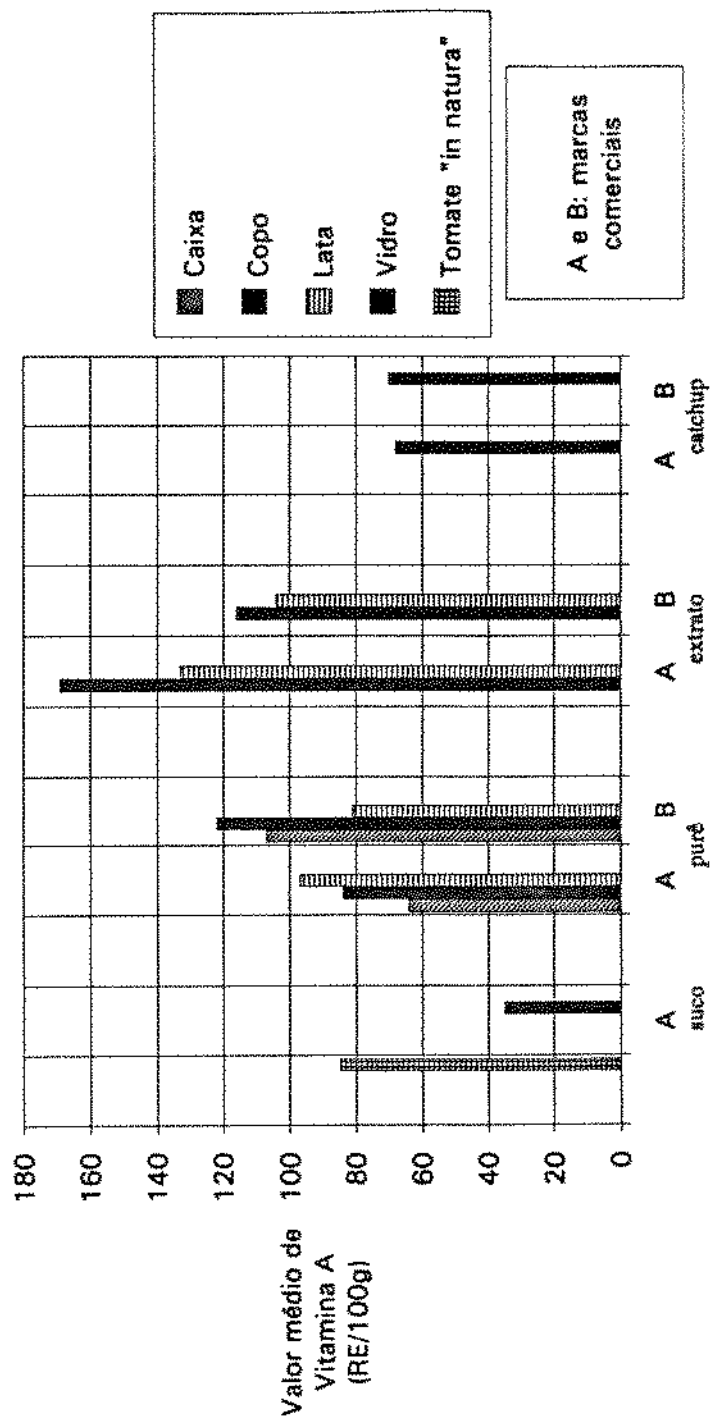


FIGURA 3 - Valor Médio de Vitamina A (RE/100g) em Tomate "in natura" e Produtos Processados.

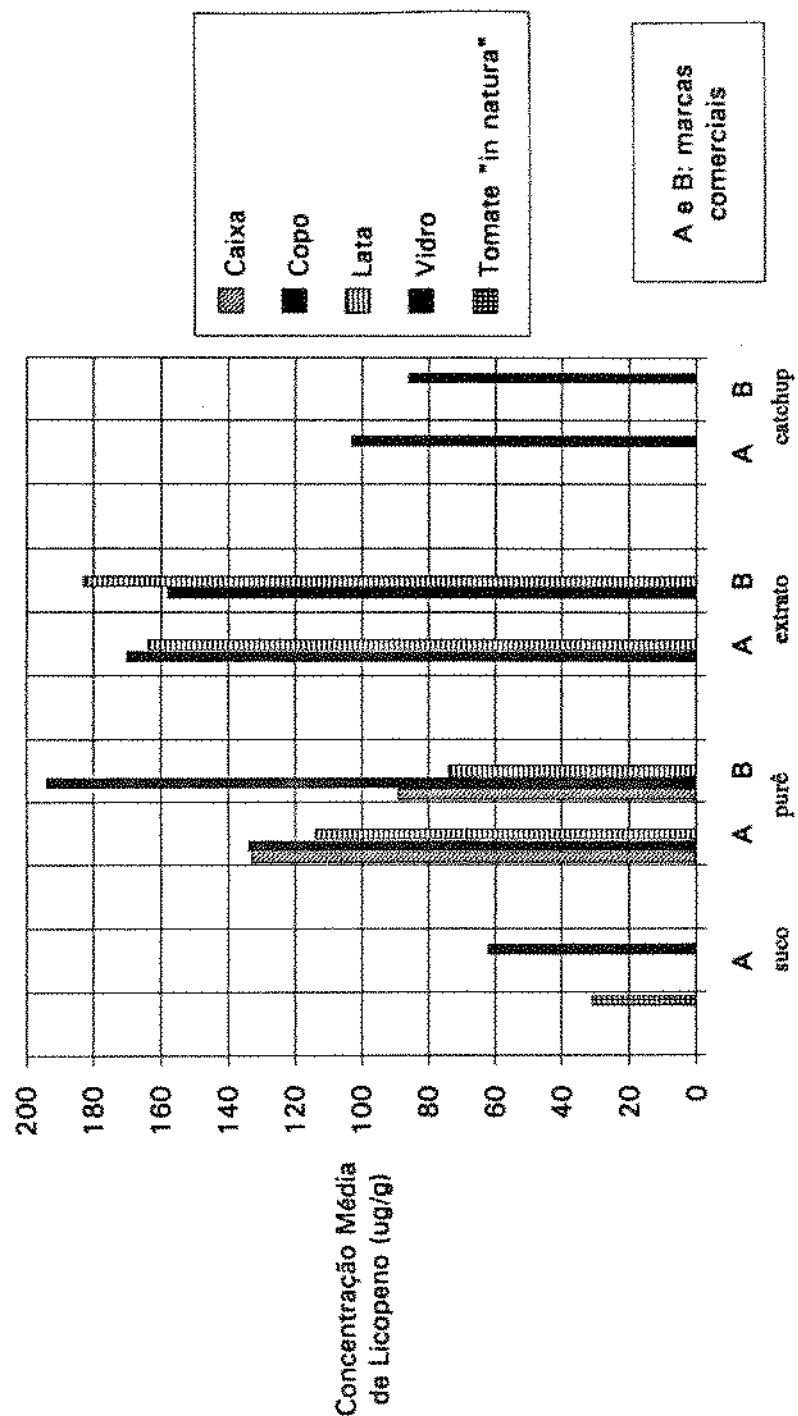


FIGURA 4 - Concentração Média de trans-licopeno (µg/g) em Tomate "in natura" e Produtos Processados.

Utilizando este raciocínio com os produtos da Marca A, os níveis de cis-fitoflueno, trans- ζ -caroteno e trans- β -caroteno de fato dobraram no purê nas três embalagens (caixa, copo e lata) em relação ao suco. O teor de trans- β -caroteno no purê em caixa foi menor, porém dentro do erro analítico (Tabela 12). Os teores de cis e trans licopeno também seguiram esse mesmo comportamento no purê embalado em caixa e copo, porém foram menores no purê enlatado, talvez como reflexo de perdas maiores durante no processamento e/ou estocagem.

O 13-cis- β -caroteno aumentou apreciavelmente e o 9-cis- β -caroteno apareceu (com exceção do purê em copo), obviamente como consequência do processamento do purê e/ou exposição a luz durante a estocagem.

As mesmas observações podem ser feitas quanto ao purê, da marca B (Tabela 13) em relação ao cis-fitoflueno, trans- ζ -caroteno (com exceção do purê enlatado), trans e cis- β -caroteno. No que se refere ao cis e trans-licopeno, no entanto, não houve coerência nos resultados. Enquanto que o cis e trans licopeno do purê (Marca A) apresentaram concentrações dobradas em relação ao suco (com exceção para o teor de cis-licopeno do purê em lata), na Marca B, o teor de cis-licopeno das embalagens caixa e copo foram aproximadamente a metade da respectiva concentração no suco. Em contrapartida, a embalagem metálica apresentou teores dobrados de cis-licopeno. A concentração de trans-licopeno foi ligeiramente maior que no suco nas embalagens metálica e em caixa, e três vezes maior na embalagem de vidro.

TABELA 12 - Composição de Carotenóides em Purê de Tomate (Marca A).

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹							
	EM CAIXA			EM COPO			EM LATA	
	Intervalo	Média	Desvio Padrão	Intervalo	Média	Desvio Padrão	Intervalo	Média Desvio Padrão
<u>cis</u> -fitoflueno	8,4-10,1	9,4	0,9	12,7-15,3	14,2	1,4	7,2-20,4	13,8 9,4
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,1-2,1	1,1	1,0	0,5-1,3	1,0	0,5	1,1-3,8	2,1 1,5
<u>trans</u> - β -caroteno	2,1-3,9	3,0	0,9	3,0-5,7	4,3	1,4	2,4-7,2	4,4 2,5
9- <u>cis</u> - β -caroteno	nd-0,5	0,3	0,2	nd	nd	nd	0,2-0,9	0,5 0,4
<u>trans</u> - ζ -caroteno	2,1-4,9	3,3	1,5	2,0-2,3	2,2	0,2	0,9-6,2	3,2 2,7
<u>cis</u> -licopeno	10,3-25,4	15,5	8,6	5,1-22,6	13,9	12,4	4,0-8,4	5,6 2,4
<u>trans</u> -licopeno	124,5-140,0	132,8	7,8	82,2-196,2	133,5	57,9	58,7-216,8	113,8 89,3
total	162,9-168,8	165,5	3,0	114,4-220,0	166,7	52,8	70,2-259,8	138,7 105,2

¹ : Cada resultado é a média de 3 determinações.

nd: não detectado.

TABELA 13 - Composição de Carotenóides em Purê de Tomate (Marca B).

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹								
	EM CAIXA			EM COPO			EM LATA		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão	Intervalo	Média	Desvio Padrão	Intervalo	Média	Desvio Padrão
<u>cis</u> -fitoflueno	9,7-11,6	10,8	1,0	11,2-14,7	12,5	1,9	8,4-13,5	10,9	3,6
13- <u>cis</u> - β -caroteno	1,1-2,5	1,8	0,7	0,4-2,5	1,3	1,1	1,2-1,3	1,2	0,1
<u>trans</u> - β -caroteno	4,0-6,1	5,0	1,1	4,6-7,3	6,2	1,4	3,1-5,1	3,9	1,0
9- <u>cis</u> - β -caroteno	0,5-0,6	0,6	0,1	0,2-0,6	0,4	0,2	0,3-0,6	0,5	0,1
<u>trans</u> - ζ -caroteno	1,9-3,8	2,6	1,1	2,7-4,1	3,3	0,7	1,2-1,6	1,4	0,2
<u>cis</u> -licopeno	2,2-5,0	3,6	2,0	4,7-6,4	5,6	1,3	14,9-23,0	18,0	4,4
<u>trans</u> -licopeno	39,4-114,2	88,5	42,6	110,4-273,1	193,7	81,4	55,8-91,6	73,8	117,9
total	62,6-137,1	111,7	42,5	133,1-305,0	221,2	86,1	85,0-120,9	106,0	18,7

¹ : Cada resultado é a média de 3 determinações.

Como o comportamento dos demais carotenóides foram coerentes nas duas marcas de purê em relação ao suco, a discrepância em relação ao licopeno ficou difícil de ser explicada. Lembrando que cada uma destas embalagens possui um fator que favorece a isomerização e/ou oxidação (p.e. permeabilidade ao oxigênio da caixa, exposição à luz do vidro e presença de metais na lata), nenhuma afirmação segura pode ser feita em relação à embalagem. Os teores, comparativamente menores de trans - licopeno no purê enlatado das duas marcas indica que a presença de metais é mais prejudicial. A concentração bem maior de trans - licopeno no purê, marca B, no entanto, escapa de qualquer justificativa.

Comparativamente, os purês da marca B fornecem ao consumidor valores maiores de vitamina A (81 a 122 RE/100g) que a marca A (64 a 97 RE/100g) (Figura 3). Apesar do purê em copo, marca B, apresentar o maior teor de licopeno (194 µg/g), a marca A mostrou uma faixa de concentração, além de elevada mais regular (114 a 134 µg/g) (Figura 4) o que pode significar maior uniformidade na cor dos produtos da marca A.

4.1.4. Extrato de tomate

Pelo maior teor de sólidos solúveis, o extrato de tomate deveria apresentar concentrações de carotenóides proporcionalmente maiores que o purê. Isso não se verificou nos teores de cis-fitoflueno, cis e trans β - caroteno, trans-ζ-caroteno e trans licopeno que

permaneceram praticamente na mesma faixa que os resultados verificados para o purê. Os níveis de cis-licopeno foram variáveis e tenderam a ser somente ligeiramente mais altos que os constatados no purê. As Tabelas 14 e 15 apresentam esses resultados.

Isso leva a crer que houveram perdas consideráveis dos carotenóides durante o processamento do extrato talvez como consequência de condições mais drásticas de processo (etapa de concentração).

Tanto em relação ao extrato como ao purê, chama a atenção o grau de variação nos teores de licopeno, indicados pelos desvios padrão. Como a concentração de licopeno é dependente do estágio de maturação do tomate (Meredith & Purcell, 1966; Liu & Luh, 1977), essa variação pode ser fruto do uso de matéria-prima em diferentes estádios de maturação e/ou pertencentes a diferentes cultivares. Pode também ser resultado de diferenças nos processos térmicos ou ainda estágios diferentes da vida de prateleira do produto. Como a disponibilidade de tomate pela agricultura brasileira fica aquém das necessidades reais da indústria, parece que a primeira alternativa é a causa provável.

O valor de vitamina A calculado para o extrato ficou na faixa de 133 a 169 RE/100g para marca A e 104 a 116 RE/100g de produto para a marca B (Figura 3). Quanto ao licopeno, a variação em ambas as marcas não foi grande: 164 a 170 $\mu\text{g/g}$ (marca A) vs. 158 a 183 $\mu\text{g/g}$ (marca B) (Figura 4). Apesar de ser um produto concentrado o extrato de tomate oferece teores de vitamina A e licopeno apenas ligeiramente maiores que os de purê de tomate.

TABELA 14 - Composição de Carotenóides em Extrato de Tomate (Marca A).

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹					
	EM COPO			EM LATA		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão	Intervalo	Média	Desvio Padrão
<u>cis</u> -fitoflueno	7,2-12,6	10,3	2,8	15,3-18,3	16,8	2,1
13- <u>cis</u> - β -caroteno	1,2-2,9	1,9	0,9	0,3-3,8	2,0	1,8
<u>trans</u> - β -caroteno	5,1-11,3	8,7	3,2	5,2-7,5	6,6	1,3
9- <u>cis</u> - β -caroteno	nd - 0,5	0,2	0,3	nd	nd	nd
<u>trans</u> - ζ -caroteno	2,9-5,8	4,3	1,4	3,9-6,1	5,0	1,1
<u>cis</u> -licopeno	14,3-55,6	31,1	21,7	15,0-29,8	20,9	7,8
<u>trans</u> -licopeno	125,9-239,5	170,4	60,7	110,1-216,8	164,4	53,4
total	162,5-323,7	227,0	85,3	170,2-252,0	210,1	40,9

¹ : Cada resultado é a média de 3 determinações.

nd: não detectado

TABELA 15 - Composição de Carotenóides em Extrato de Tomate (Marca B).

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹					
	EM COPO			EM LATA		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão	Intervalo	Média	Desvio Padrão
<u>cis</u> -fitoflueno	7,2-11,9	9,2	2,8	8,4-16,4	12,9	4,2
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,9-1,4	1,2	0,3	2,3-2,9	2,6	0,3
<u>trans</u> - β -caroteno	5,3-7,1	5,9	1,0	3,4-5,1	4,3	0,8
9- <u>cis</u> - β -caroteno	0,4-0,8	0,5	0,2	0,9-1,1	1,0	0,9
<u>trans</u> - ζ -caroteno	1,7-2,9	2,5	0,7	2,6-2,8	2,7	0,1
<u>cis</u> -licopeno	5,9-10,7	8,3	3,4	9,1-21,8	15,0	6,4
<u>trans</u> -licopeno	138,7-182,1	158,3	22,0	156,3-198,6	182,7	23,1
total	147,9-211,8	180,1	31,9	189,7-241,3	221,2	27,7

¹ : Cada resultado é a média de 3 determinações.

4.1.5. Catchup

Em relação ao catchup, ambas as marcas avaliadas apresentam teores semelhantes de carotenóides (Tabelas 16 e 17), com a marca A mostrando teores ligeiramente mais altos de cis-fitoflueno, trans- ζ -caroteno e trans licopeno. Considerando os diversos fatores que incidem na composição de carotenóides, esse resultado é surpreendente. Por se tratar de um produto formulado, logicamente cada marca tendo sua formulação, essa homogeneidade de resultados pode significar um maior controle tanto na seleção de matéria-prima como de processo.

O catchup, um produto consumido normalmente sem cozimento, apresentou valores de vitamina A variando de 68 a 70 RE/100g (Figura 3) e de licopeno variando de 86 $\mu\text{g/g}$ a 103 $\mu\text{g/g}$ (Figura 4). Assim é um produto importante tanto do ponto de vista nutricional como também em relação a fornecimento de um composto com ações fisiológicas desejáveis (licopeno).

TABELA 16 - Composição de Carotenóides em Catchup (Em vidro - marca A)

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão
<u>cis</u> -fitoflueno	14,8-16,5	15,6	1,2
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,2-0,5	0,3	0,2
<u>trans</u> - β -caroteno	2,8-4,3	3,5	0,8
9- <u>cis</u> - β -caroteno	0,6-0,8	0,7	0,1
<u>trans</u> - ζ -caroteno	3,5-3,9	3,6	0,2
<u>cis</u> -licopeno	8,1-10,9	10,0	1,6
<u>trans</u> -licopeno	60,0-142,7	102,9	41,4
total	92,7-178,1	131,4	43,3

¹ : Cada resultado é a média de 3 determinações.

TABELA 17 - Composição de Carotenóides em Catchup (Em vidro - marca B)

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão
<u>cis</u> -fitoflueno	8,1-8,9	8,5	0,6
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,5-0,6	0,5	0,1
<u>trans</u> - β -caroteno	3,4-4,2	3,5	0,6
9- <u>cis</u> - β -caroteno	0,4-0,6	0,5	0,1
<u>trans</u> - ζ -caroteno	0,8-1,9	1,5	0,6
<u>cis</u> -licopeno	2,4-12,7	6,3	5,6
<u>trans</u> -licopeno	59,4-117,7	85,6	29,6
total	87,1-127,7	103,7	21,3

¹ : Cada resultado é a média de 3 determinações.

4.2. Composição em Carotenóides de Pêssego

4.2.1. Pêssego "in natura"

O perfil em carotenóides de pêssego ficou assim definido: 13-cis- β -caroteno, trans- β -caroteno, 9-cis- β -caroteno, trans- ζ -caroteno, neocriptoxantina A, trans- β -criptoxantina, trans-luteína, trans-zeaxantina e trans-violaxantina. As propriedades destes pigmentos estão apresentadas na Tabela 18 e os espectros de absorção nos anexos 3, 4, 7, 8 e 12. Os esquema da separação cromatográfica assim como as estruturas dos carotenóides de pêssego estão nas Figuras 5 e 6, respectivamente.

A β -criptoxantina foi confirmada pelos seguintes parâmetros:

1) espectro de absorção indicativo de um cromóforo idêntico ao do β -caroteno; 2) ordem de eluição na coluna e R_f na camada delgada compatível com um monohidroxicarotenóide; 3) reação positiva a acetilação com anidrido acético confirmando a presença de um grupo hidroxílico; 4) reação negativa com metanol acidificado, demonstrando a posição não alílica da hidroxila.

TABELA 18 - Características dos Carotenóides Presentes no Pêssego "in natura",
Suco de Pêssego e Pêssego em Calda.

Identificação	Absorção em Éter de Petróleo (nm) ¹	Valor de R _F ²	Reações Químicas ³
13- <u>cis</u> -β-caroteno	335,(418),442,468	0,99	cis +
<u>trans</u> -β-caroteno	(425), 448,475	0,99	trans +
9- <u>cis</u> -β-caroteno	337,(429),445,472	0,99	cis +
<u>trans</u> -ζ-caroteno	378,398,424	0,98	trans +
neocriptoxantina A	(425),444,472	0,45	cis +, met -
<u>trans</u> -β-criptoxantina	(425),449,476	0,48	met -
<u>trans</u> -luteína	421,445,474	0,13	met +
<u>trans</u> -zeaxantina	(424),449,476	0,09	met -, acet+
<u>trans</u> -auroxantina ⁵	380,400,426,	0,08	epox+,acet+
trans-violaxantina ⁴	418,442,466	0,08	epox+, met+
trans-luteoxantina ⁶	396,420,446	0,08	epox+,acet+

1:Os valores entre parênteses significam inflexão no lugar de um pico.

2:Valores obtidos em placas de sílica gel ativada por 2 horas a 110⁰C e desenvolvida com 3% de metanol em benzeno.

3:met. - metilação; acet.- acetilação; epox.- teste de epóxidos.

4:carotenóide presente somente no pêssego "in natura".

5:carotenóide presente somente no suco de pêssego.

6:carotenóide presente somente no pêssego em calda.

Fase Estacionária: (A) Hiflosupercel : MgO (2:1)

(B) Ca(OH)₂

(C) Hiflosupercel : Co(OH)₂ (1:1)

Fase Móvel: Gradiente de Eter Etílico ou Acetona em Eter de Petróleo ou Água em Acetona

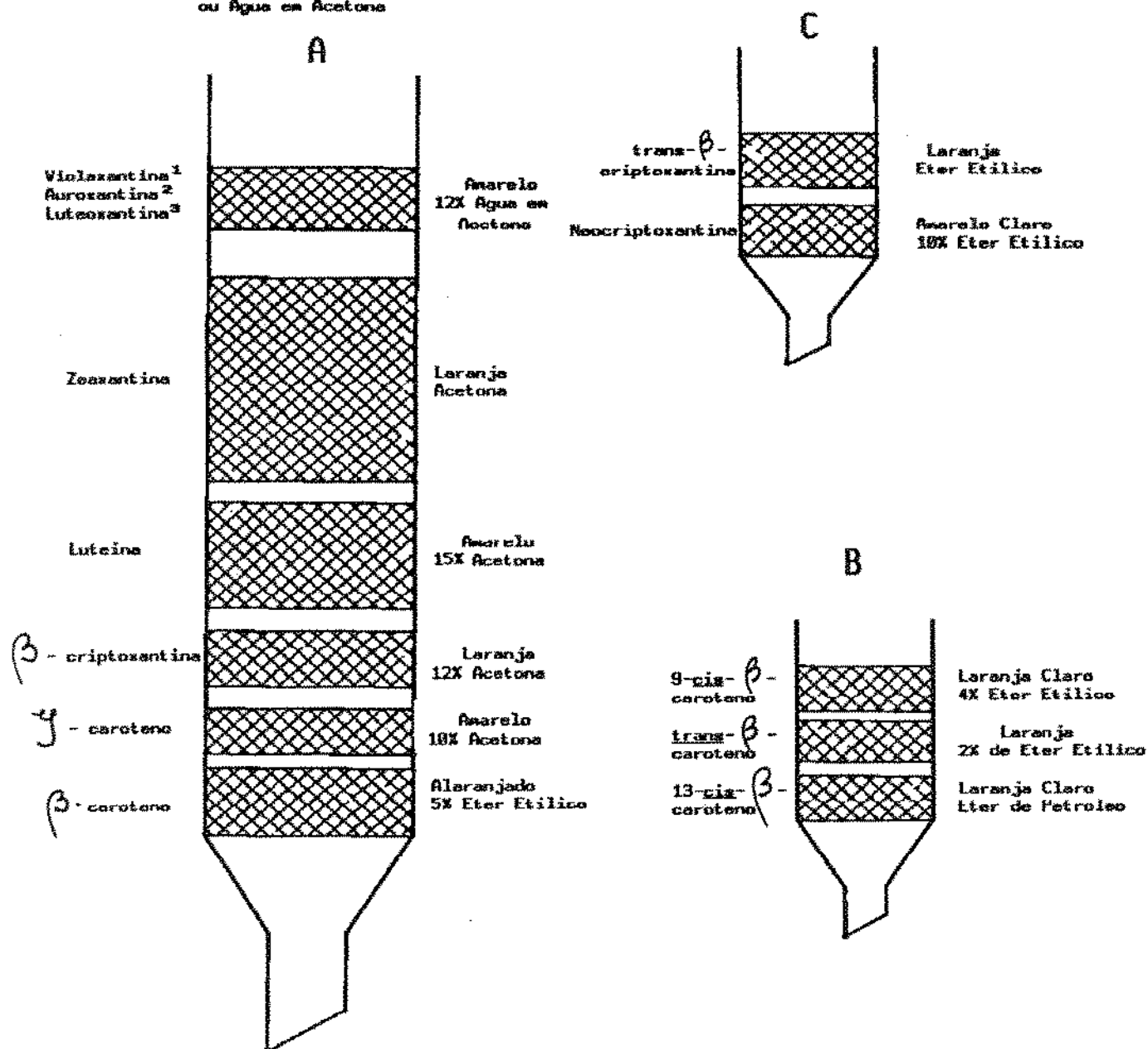


FIGURA 5 - Separação dos Carotenóides de Pêssego "in natura"¹, Suco de Pêssego² e Pêssego em Calda³.

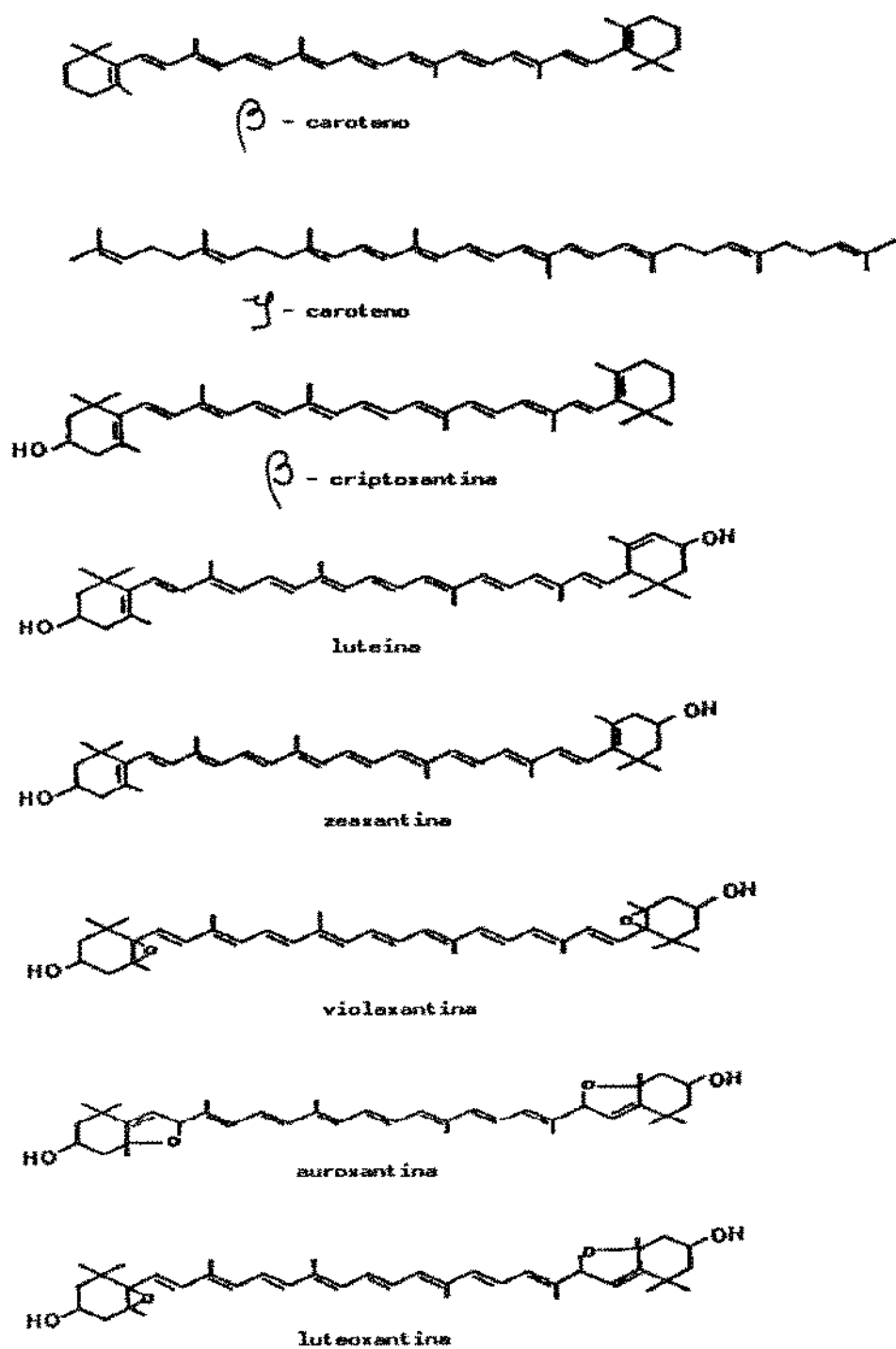


FIGURA 6 - Estrutura dos Carotenóides de Pêssego "in natura", Suco de Pêssego e Pêssego em Calda.

Na sequência de eluição na coluna veio a luteína que foi identificada através das seguintes características: 1) espectro de absorção indicando que o pigmento possuía cromóforo idêntico ao do α -caroteno; 2) ordem de eluição na coluna e valor de R_F característico de um carotenóide dihidroxilado; 3) reação positiva à acetilação, confirmando a existência da hidroxila; 4) reação positiva à metilação, produzindo um composto monohidroxilado, demonstrando portanto, a posição alílica de uma das hidroxilas.

A zeaxantina foi identificada pela avaliação conjunta das seguintes propriedades: 1) espectro de absorção idêntico ao do β -caroteno; 2) ordem de eluição na coluna e R_F na camada delgada de um carotenóide dihidroxilado; 4) reação positiva à acetilação; 5) reação negativa à metilação, indicando a posição não alílica da hidroxila.

A violaxantina foi confirmada pelas seguintes características: 1) espectro de absorção compatível com a presença de nove ligações conjugadas; 2) ordem de eluição na coluna e R_F característicos de um carotenóide dihidroxilado; 3) mudança de sua cor amarela para azul na camada delgada após exposição aos vapores de HCl; 4) deslocamento hipsocrômico de aproximadamente 40nm após adição de HCl diluído, refletindo a transformação de epóxidos nas posições 5,6 e 5',6' aos epóxidos 5,8 e 5',8'.

Em relação aos teores de carotenóides, no pêssego "in natura" trans- β -criptoxantina foi o principal pigmento ($6,4 \pm 2,1 \mu\text{g/g}$) tendo a seguir a trans-luteína ($3,8 \pm 1,1 \mu\text{g/g}$), trans-zeaxantina ($1,5 \pm 0,9 \mu\text{g/g}$), trans- β -caroteno ($1,1 \pm 0,4 \mu\text{g/g}$), necriptoxantina A ($1,0 \pm 0,5 \mu\text{g/g}$), trans-violaxantina ($0,8 \pm 0,6 \mu\text{g/g}$), trans- ζ -caroteno ($0,4 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$), 13-cis- β -caroteno ($0,2 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$) e 9-cis- β -caroteno ($0,09 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$) (Tabela 19). Esse perfil de carotenóides diferiu

do apresentado pelos cultivares "Halford" e "Redhaven" maduro (Curl, 1959 e Gross, 1979, respectivamente). Nestes dois cultivares o principal pigmento foi a violaxantina além de terem sido detectados também fitoeno, persicaxantina, fitoflueno, anteraxantina no cultivar "Halford" e, isoluteína e neoxantina no cultivar "Redhaven". O α -caroteno, identificado em pêssego por Mackinney (1937), McCarty & Lesley (1954) e Bureau & Bushway (1986), não foi encontrado nas amostras de pêssego analisadas (cultivar Rei da Conserva).

Quanto a vitamina A, o valor médio calculado para o pêssego "in natura" foi de 88 RE/100g (Figura 7) enquanto que o valor encontrado por Bureau & Bushway (1986) variou entre 4,35 e 29,72 RE/100g. Essa discrepância pode ser devida, pelo menos em parte ao fato que Bureau & Bushway não realizaram saponificação e, portanto a maior parte dos ésteres de criptoxantina não puderam ser quantificados.

TABELA 19 - Composição de Carotenóides em Pêssego "in Natura" (cultivar Rei da Conserva).

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,1-0,2	0,2	0,02
<u>trans</u> - β -caroteno	0,6-1,4	1,1	0,4
9- <u>cis</u> - β -caroteno	0,06-0,1	0,09	0,04
<u>trans</u> - ζ -caroteno	0,2-0,5	0,4	0,2
necriptoxantina A	0,4-1,4	1,0	0,5
<u>trans</u> - β -criptoxantina	4,9-10,3	6,4	2,1
<u>trans</u> -luteína	3,0-4,6	3,8	1,1
<u>trans</u> -zeaxantina	0,9-2,1	1,5	0,9
<u>trans</u> -violaxantina	0,2-1,4	0,8	0,6
total	7,7-18,8	13,2	5,6

¹ : cada resultado é a média de 3 determinações.

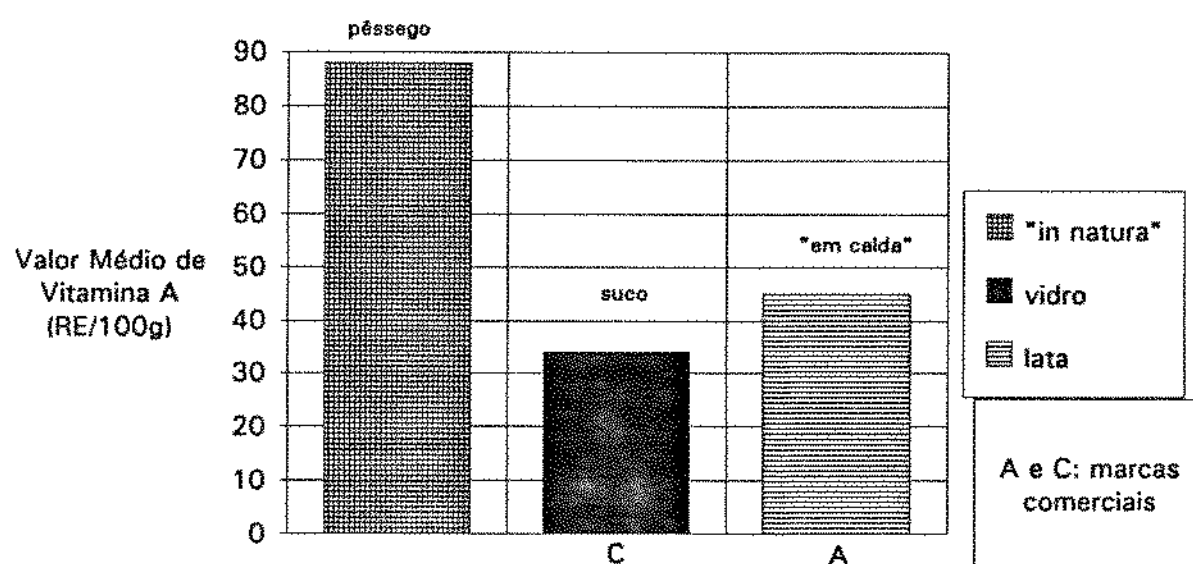


FIGURA 7 - Valor Médio de Vitamina A (RE/100g) em Pêssego "in natura", Suco de Pêssego e Pêssego em Calda.

4.2.2. Suco de pêssego

Comparado com pêssego "in natura", as diferenças detectadas na composição qualitativa de carotenóides do suco de pêssego foram o aparecimento da auroxantina e o desaparecimento da violaxantina. Tal comportamento pode ser explicado pela transformação de epóxidos 5,6 e 5',6' da violaxantina a epóxidos 5,8 e 5',8' da auroxantina durante o processamento ou estocagem.

A identificação da auroxantina foi baseada nos seguintes parâmetros:

1) espectro de absorção compatível com a presença de sete ligações duplas conjugadas, com máximos de absorção em comprimentos de onda 40nm mais baixos que os da violaxantina; 2) ordem de eluição e R_F na camada compatível com um carotenóide dihidroxilado; 3) reação positiva a acetilação; 4) mudança da cor original do pigmento para azul na camada delgada após exposição a vapores de HCl.

O principal carotenóide foi a trans- β -criptoxantina ($1,6 \pm 0,4 \mu\text{g/g}$) vindo a seguir a trans-luteína ($1,3 \pm 0,3 \mu\text{g/g}$), trans- β -caroteno ($0,9 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$), trans-auroxantina ($0,8 \pm 0,5 \mu\text{g/g}$), trans-zeaxantina ($0,4 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$), necriptoxantina A ($0,3 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$), trans- ζ -caroteno ($0,2 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$), 9-cis- β -caroteno ($0,2 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$) e 13-cis- β -caroteno ($0,2 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$) (Tabela 20).

TABELA 20 - Composição de Carotenóides em Suco de Pêssego (Em vidro -Marca C).

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,1-0,2	0,2	0,04
<u>trans</u> - β -caroteno	0,8-1,0	0,9	0,2
9- <u>cis</u> - β -caroteno	0,2-0,3	0,2	0,1
<u>trans</u> - ζ -caroteno	0,1-0,3	0,2	0,1
neocriptoxantina A	0,1-0,3	0,3	0,1
<u>trans</u> - β -criptoxantina	1,3-2,1	1,6	0,4
<u>trans</u> -luteína	1,1-1,6	1,3	0,3
<u>trans</u> -zeaxantina	0,3-0,5	0,4	0,1
<u>trans</u> -auroxantina	nd - 1,2	0,8	0,5
total	5,1-6,1	5,7	0,5

¹ : cada resultado é a média de 3 determinações.

nd: não detectado.

Mesmo não se tratando de matéria-prima, avaliada antes e depois do processamento, houve diferenças quantitativas evidentes nos carotenóides de pêssego "in natura" e suco de pêssego.

As xantofilas, trans- β -criptoxantina, trans-luteína e trans-zeaxantina, foram apreciavelmente menores no suco. Sobre a presença de isômeros, o 9-cis- β -caroteno foi maior e a necriptoxantina foi ligeiramente menor no suco.

Sobre a trans- β -criptoxantina, principal carotenóide do pêssego, sua concentração também foi menor no suco (Figura 8) fato que contribuiu para que o teor de vitamina A no suco também fosse sensivelmente menor em relação ao pêssego "in natura" (Figura 7).

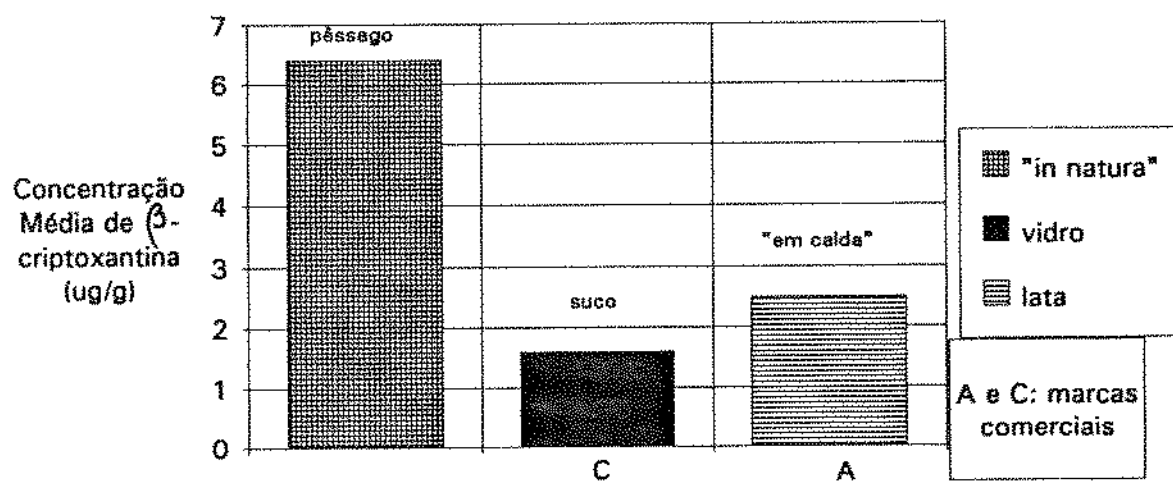


FIGURA 8 - Concentração Média de trans- β -criptoxantina em Pêssego "in natura", Suco de Pêssego e Pêssego em Calda.

4.2.3. Pêssego em Calda

No caso do pêssego em calda, a violaxantina também não foi detectada, porém a luteoxantina apareceu no lugar da auroxantina. Isso significa que apenas um dos grupos epóxidos 5,6 da violaxantina transformou-se em 5,8.

A luteoxantina foi identificada através das seguintes propriedades: 1) espectros de absorção compatível com oito ligações duplas conjugadas (máximos de absorção 20nm mais baixo que da violaxantina; 2) ordem de eluição e R_F na camada compatível com um carotenóide diidroxilado; 3) reação de acetilação positiva; 4) mudança da coloração das manchas na camada delgada de amarelo para azul. 5) deslocamento hipsocrômico de 20 nm após adição de HCl diluído.

As concentrações dos carotenóides de pêssego em calda estão apresentadas na Tabela 21. Comparando esse produto com o pêssego “in natura”, os teores de trans- ζ -caroteno, trans-luteína e trans-zeaxantina foram menores na fruta em calda. A concentração de trans- β -criptoxantina foi maior que no suco, porém, menor que no pêssego “in natura” (Figura 8). Assim o valor de vitamina A calculado para esse produto foi 45 RE/100g (Figura 7). Em relação ao suco, os teores de trans- ζ -caroteno e trans-luteína foram mais baixos.

Embora o suco tenha sofrido um processamento mais brando, a desintegração da fruta destrói a ultraestrutura que protege os carotenóides. Por outro lado, a ultraestrutura é praticamente intacta no pêssego em calda, e em seu processamento existem pontos que podem favorecer a destruição dos carotenóides como por exemplo a ausência de vácuo nas embalagens.

TABELA 21 - Composição de Carotenóides em Pêssego em Calda (Em lata - Marca A).

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,2-0,2	0,2	0,04
<u>trans</u> - β -caroteno	0,7-1,3	1,0	0,3
9- <u>cis</u> - β -caroteno	0,1-0,2	0,2	0,05
<u>trans</u> - ζ -caroteno	nd - 0,1	0,06	0,05
neocriptoxantina A	0,4-0,6	0,5	0,1
<u>trans</u> - β -criptoxantina	2,2-2,8	2,5	0,3
<u>trans</u> -luteína	nd - 1,2	0,6	0,6
<u>trans</u> -zeaxantina	0,6-1,2	0,8	0,3
<u>trans</u> -luteoxantina	0,2-0,4	0,3	0,1
total	5,5-7,0	6,2	0,7

¹ : cada resultado é a média de 3 determinações.

nd: não detectado.

4.3. Composição de Carotenóides no Milho “in Natura” e em Conserva.

4.3.1. Milho “in natura”

Os carotenóides detectados nas amostras de milho verde analisadas foram: 13-cis- β -caroteno, trans- β -caroteno, 9-cis- β -caroteno, trans- β -zeacaroteno, neocriptoxantina A, trans- β -criptoxantina, trans-luteína e trans-zeaxantina cujo esquema de separação e estruturas estão mostradas nas Figuras 9 e 10, respectivamente. Os Anexos 3, 7, 8 e 9 contêm os espectros de absorção na região do visível desses carotenóides.

A identificação dos carotenóides baseou-se nos parâmetros físico-químicos que estão apresentados na Tabela 22, seguindo o mesmo raciocínio que foi descrito nas identificações dos carotenóides de pêssego.

O principal pigmento do milho verde foi a trans-zeaxantina ($8,8 \pm 5,3 \mu\text{g/g}$) vindo a seguir a trans-luteína ($3,6 \pm 1,4 \mu\text{g/g}$), trans- β -caroteno ($1,1 \pm 0,4 \mu\text{g/g}$), trans- β -criptoxantina ($1,0 \pm 0,4 \mu\text{g/g}$), neocriptoxantina A ($0,4 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$), 13-cis- β -caroteno ($0,3 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$), 9-cis- β -caroteno ($0,2 \pm 0,003 \mu\text{g/g}$) e trans- β -zeacaroteno ($0,2 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$) (Tabela 23).

TABELA 22 - Características dos Carotenóides Presentes no Milho Estádio Verde e no Milho em Conserva.

Identificação	Absorção em Éter de Petróleo (nm) ¹	Valor de R _F ²	Reações Químicas ³
13- <u>cis</u> -β-caroteno	335,(418),442,468	0,99	cis +
<u>trans</u> -β-caroteno	(425),448,475	0,99	trans +
9- <u>cis</u> -β-caroteno	337,(419),444,472	0,99	cis +
<u>trans</u> -ζ-caroteno ⁵	378,400,425	0,98	trans +
<u>trans</u> -β-zeacaroteno ⁴	406,428,454	0,98	trans +
neocriptoxantina A	412,438,464	0,48	cis+, met -, acet+
<u>trans</u> -β-criptoxantina	(425),449,476	0,45	trans+, met -, acet+
<u>trans</u> -luteína	421,445,474	0,14	trans+, met +, acet+
<u>trans</u> -zeaxantina	(424),449,476	0,11	trans+, met -, acet+
<u>trans</u> -mutatoxantina ⁵	400,425,450	0,11	trans+, epox+, acet+

1:Os valores entre parênteses significam inflexão no lugar de um pico.

2:Valores obtidos em placas de sílica gel ativada por 2 horas a 110⁰C e desenvolvida com 3% de metanol em benzeno.

3:met. - metilação; acet.- acetilação; epox.- teste de epóxidos.

4:presente somente no milho estágio verde.

5:presente somente no milho em conserva.

TABELA 23 - Composição de Carotenóides em Milho " in Natura "

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,2-0,5	0,3	0,2
<u>trans</u> - β -caroteno	0,8-1,6	1,1	0,4
9- <u>cis</u> - β -caroteno	nd - 0,3	0,2	0,0
<u>trans</u> - β -zeacaroteno	0,1-0,3	0,2	0,1
neocriptoxantina A	0,3-0,5	0,4	0,1
<u>trans</u> - β -criptoxantina	0,7-1,5	1,0	0,4
<u>trans</u> -luteína	2,6-5,6	3,6	1,4
<u>trans</u> -zeaxantina	1,8-14,0	8,8	5,3
total	7,9-20,2	14,8	6,3

¹ : cada resultado é a média de 3 determinações.

nd: não detectado.

Fase Estacionaria: (A) Hiflosupercel : MgO (2:1)

(B) $\text{Ca}(\text{OH})_2$

(C) Hiflosupercel : $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (1:1)

Fase Móvel: Gradiente de Eter Etílico ou Acetona em Eter de Petróleo ou Água em Acetona

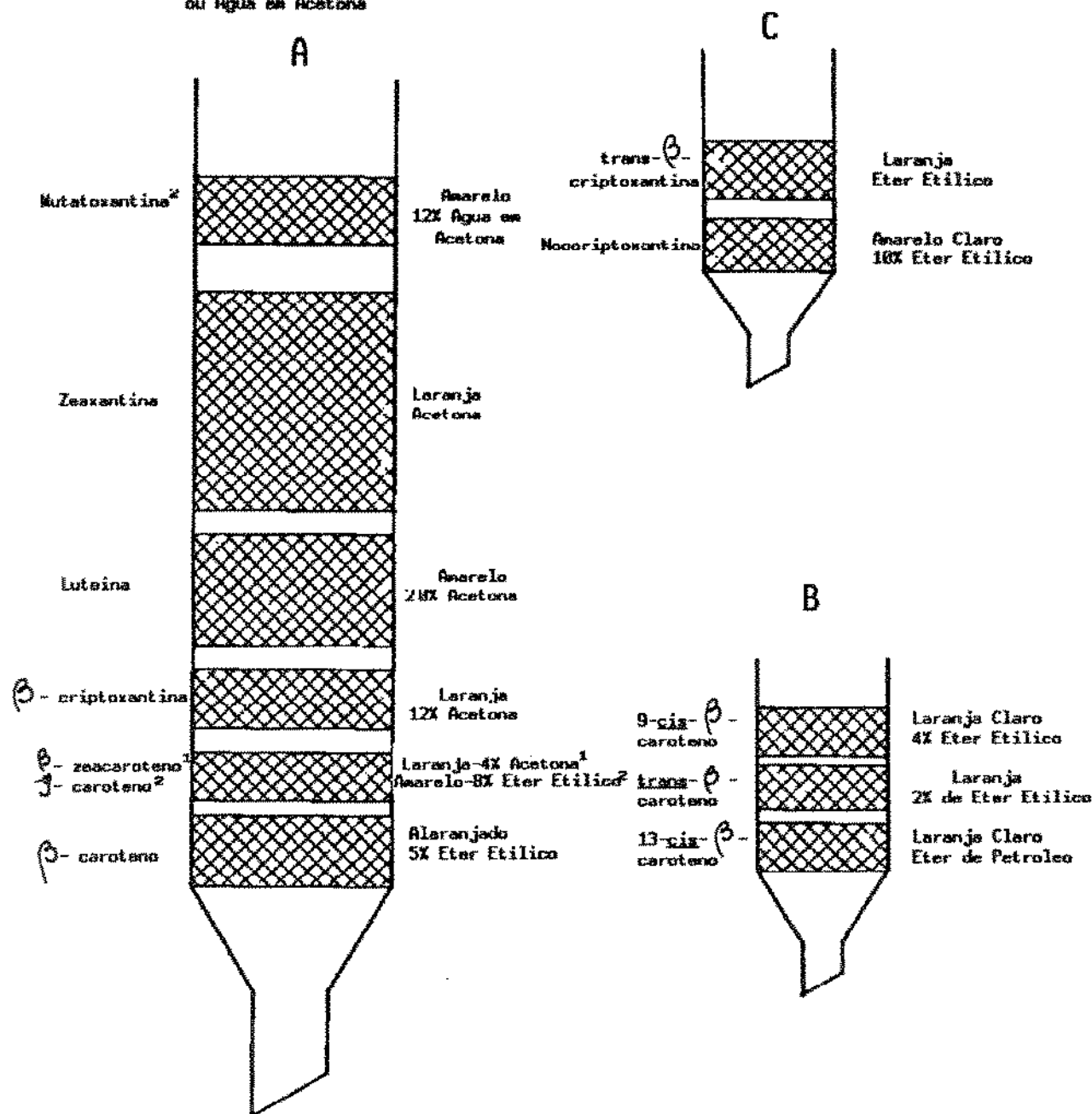


FIGURA 9 - Separação dos Carotenóides de Milho "in natura"¹ e Milho em Conserva².

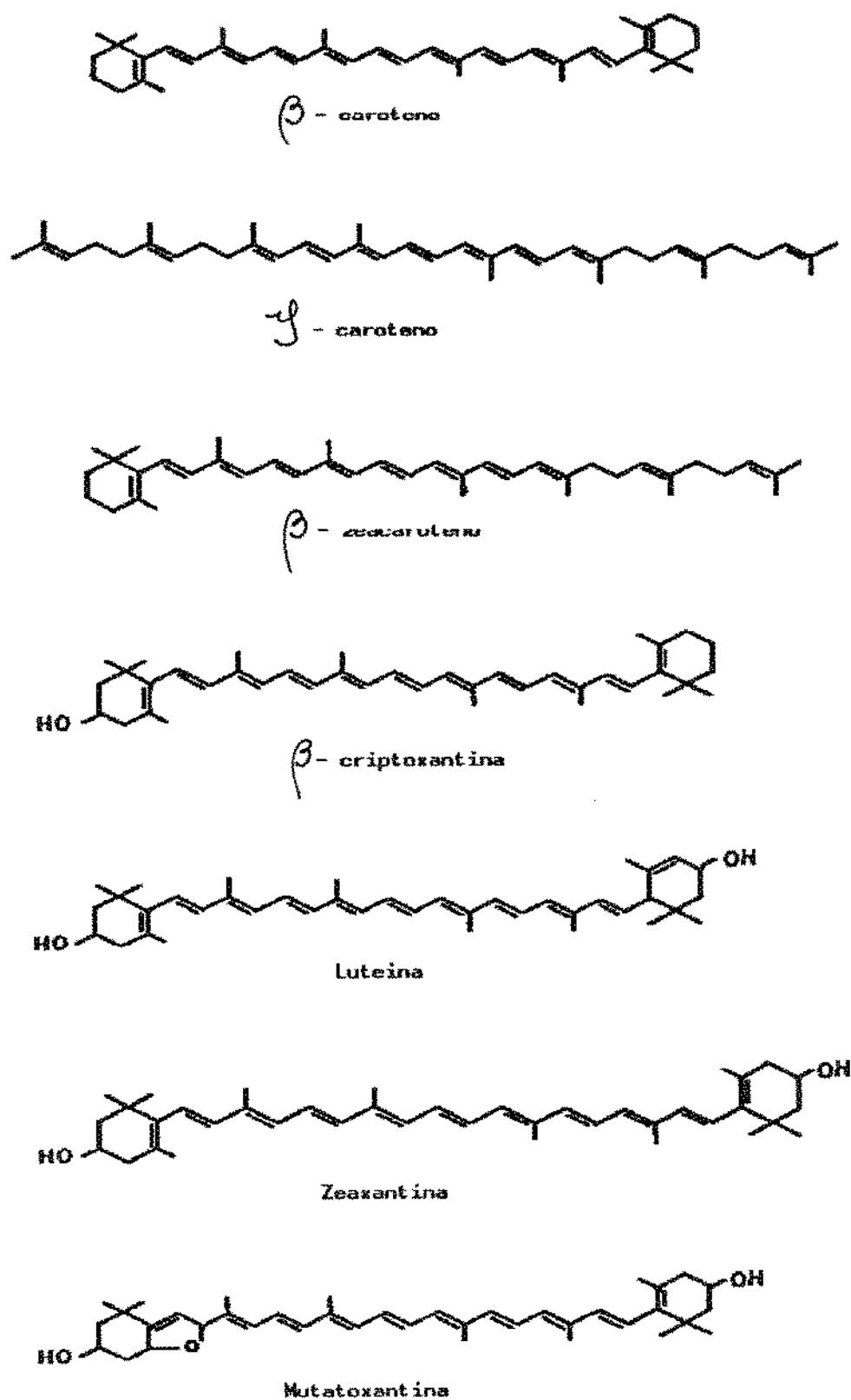


FIGURA 10 - Estrutura dos Carotenóides de Milho "in natura" e Milho em Conserva.

Zeinoxantina, principal pigmento detectado por Lee et al (1981) em 3 cultivares de milho, não foi encontrada em nenhuma das amostras analisadas neste trabalho (milho “in natura” e em conserva). Surpreendentemente Lee et al não detectaram zeaxantina, o principal carotenóide de milho neste trabalho e nos de Kuhn & Grundmann (1933,1934) e Quackenbush et al (1961).

4.3.2. Milho em conserva

A composição dos carotenóides no milho em conserva ficou assim definida: 13-cis- β -caroteno, trans- β -caroteno, trans- ζ -caroteno, necriptoxantina A, trans- β -criptoxantina, trans-luteína, trans-zeaxantina e mutatoxantina. O espectro de absorção da mutatoxantina está apresentado no Anexo 10.

A presença da mutatoxantina pode ser explicada pela epoxidação da zeaxantina durante o processamento.

Com relação a presença do trans- β -zeacaroteno no milho “in natura” e trans- ζ -caroteno no milho em conserva duas hipóteses podem ser levantadas para justificar este fato: 1) diferença no estágio de maturação do milho “in natura” e do milho usado como matéria-prima para o processamento, uma vez que ζ -caroteno é precursor do β -zeacaroteno na síntese de carotenóides que

ocorre na maturação dos vegetais; 2) diferença entre as variedades do milho "in natura" e do milho usado para processamento. A Tabela 24 mostra a composição quantitativa do milho em conserva. Em termos de vitamina A o milho em conserva e "in natura" oferecem ao consumidor, respectivamente, 41 e 34 RE/100g de produto (Figura 11). Esses resultados são muito maiores que os apresentados por Lee et al (1981) onde o valor de vitamina A variou de 4,4 - 5,9 RE/100g para milho enlatado e 7,5 - 11,5 RE/100g para milho congelado.

Mesmo não tendo atividade provitamínica A, a zeaxantina possui cromóforo que também preenche os requisitos para capturar oxigênio "singlet" (Krinsky, 1989), tornando-se também um carotenóide importante ao ponto de vista médico. O teor de zeaxantina foi de 9,8 µg/g no milho em conserva e 8,8 µg/g no milho "in natura" (Figura 12).

Esses resultados também são muito maiores que os encontrados por Lee et al (1981) para os polihidroxi carotenóides (Tabela 4).

TABELA 24 - Composição de Carotenóides em Milho em Conserva (em lata - Marca A)

Carotenóide	Concentração ($\mu\text{g/g}$) ¹		
	Intervalo	Média	Desvio Padrão
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,2-0,5	0,3	0,2
<u>trans</u> - β -caroteno	0,7-1,2	0,9	0,2
9- <u>cis</u> - β -caroteno	0,2-0,6	0,4	0,2
<u>trans</u> - ζ -caroteno	0,2-0,3	0,2	0,1
necriptoxantina A	0,2-0,4	0,3	0,1
<u>trans</u> - β -criptoxantina	1,4-2,4	1,9	0,5
<u>trans</u> -luteína	0,6-3,3	1,6	1,4
<u>trans</u> -zeaxantina	7,5-11,5	9,8	2,1
<u>trans</u> -mutatoxantina	0,6-1,4	1,1	0,4
total	13,0-18,9	16,6	3,2

¹ : cada resultado é a média de 3 determinações.

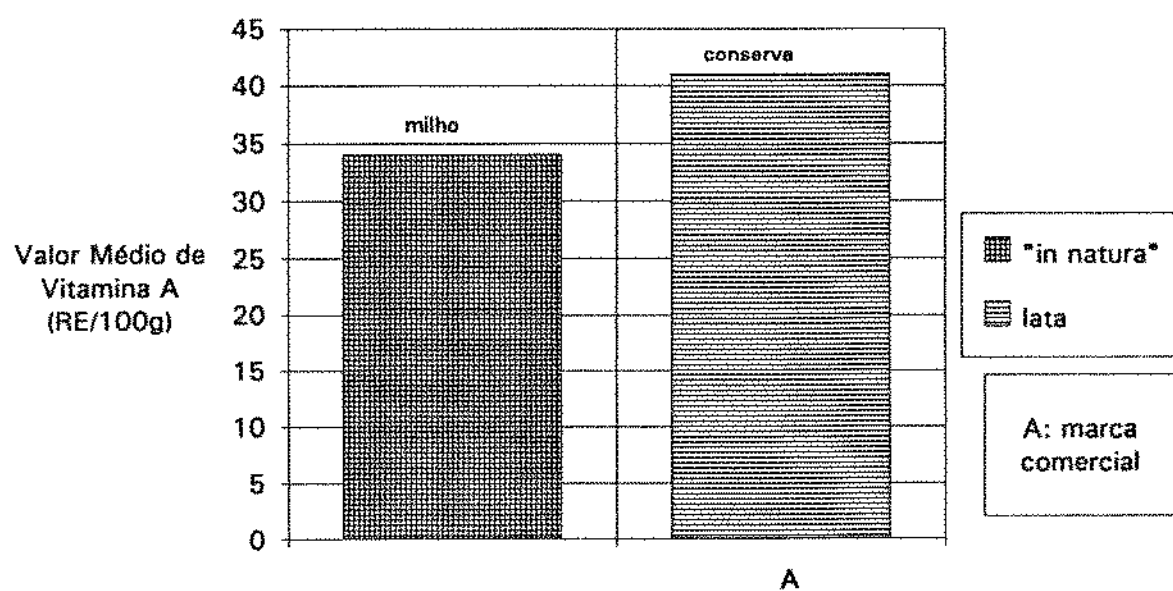


FIGURA 11 - Valor Médio de Vitamina A (RE/100g) em Milho "in natura" e no Milho em Conserva.

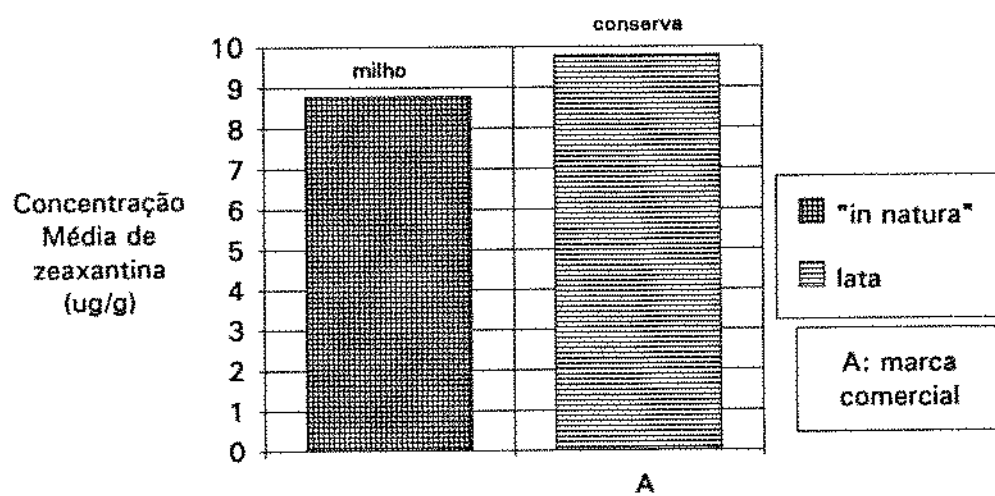


FIGURA 12 - Concentração Média de trans-zeaxantina em Milho "in natura" e no Milho em Conserva.

4.4. Importância da Separação de Estereoisômeros na Determinação do Valor de Vitamina A.

Embora vários trabalhos por cromatografia em coluna clássica (Sweeney & Marsh, 1970; Gebhardt *et al.*, 1977) e por HPLC (Chandler & Schwartz, 1987; Quackenbush, 1987) enfatizem a importância da quantificação individual dos isômeros cis e trans da provitamina A, os resultados foram expressos em porcentagens, ao invés de concentrações absolutas. Os valores de vitamina A não foram calculados e muito menos o erro decorrente da não separação dos isômeros. Apenas uma ou duas amostras de alguns poucos alimentos foram analisados. No presente trabalho, o erro gerado no valor de vitamina A quando os isômeros não são separados foi quantificado em um grande número de amostras, e assim pudemos ter uma visão mais representativa da ocorrência de cis isômeros.

4.4.1. Tomate e produtos de tomate

Em dez amostras de tomate “in natura” analisados, os isômeros cis do β -caroteno não foram encontrados. Esse resultado coincide com o relato de Chandler & Schwartz (1987) que através de HPLC não encontraram isômeros cis do β -caroteno em uma amostra de tomate

analisada.

Por outro lado, os cis-isômeros do β -caroteno foram detectados nas 42 amostras de produtos processados de tomate nas duas marcas analisadas (Tabelas 25 e 26). Esse fato sugere que a isomerização do β -caroteno foi consequência do processamento.

O isômero 13-cis- β -caroteno predominou na quase totalidade das amostras fato esse que concorda com o trabalho de Sweeney & Marsh (1970) que reporta maior ocorrência desse isômero nos vegetais amarelos e vermelhos submetidos a processamento térmico. Esse mesmo trabalho relata que o 9-cis- β -caroteno é o principal isômero de vegetais verdes.

Como era esperado, o suco de tomate, que é submetido a um processamento térmico mais ameno, teve os menores níveis de isômeros detectados. A concentração variou de 0,01 a 0,02 $\mu\text{g/g}$ para o 13-cis- β -caroteno e o 9-cis- β -caroteno não foi detectado.

Em relação ao purê e ao extrato, níveis apreciáveis e variáveis dos isômeros do β -caroteno foram encontrados. Na marca A, tanto purê como extrato apresentaram concentrações semelhantes, porém a variação foi ampla, com níveis de 13-cis- β -caroteno oscilando entre 0,1 a 3,8 $\mu\text{g/g}$ no purê e 0,3 a 3,8 $\mu\text{g/g}$ no extrato; o 9-cis- β -caroteno variou de não detectado a 0,9 $\mu\text{g/g}$ no purê e no extrato de não detectado a 0,5 $\mu\text{g/g}$. Na marca B as faixas correspondentes foram 0,4 a 2,5 $\mu\text{g/g}$ e 0,9 a 2,9 $\mu\text{g/g}$ de 13-cis- β -caroteno para purê e extrato, respectivamente. O 9-cis- β -caroteno variou de 0,2 a 0,6 $\mu\text{g/g}$ no purê e 0,4 a 1,1 $\mu\text{g/g}$ no extrato.

TABELA 25- Concentração de Provitamina A ($\mu\text{g/g}$) em Produtos Processados de Tomate (Marca A).

Alimento		Antes da Separação de Isômeros		Após a Separação de Isômeros ¹		
		Fração de β -caroteno	13- <u>cis</u> - β -caroteno	<u>trans</u> β -caroteno	9- <u>cis</u> - β -caroteno	
Suco de tomate em vidro	1	2,5	0,02	2,3	nd	
	2	2,6	0,02	2,3	nd	
	3	1,6	0,01	1,5	nd	
Purê	em	1	4,1	0,1	3,1	nd
	caixa	2	4,4	1,1	2,1	0,3
		3	6,6	2,1	3,9	0,5
	em	1	6,8	1,2	4,3	nd
	copo	2	8,5	1,3	5,7	nd
		3	4,3	0,5	3,0	nd
	em	1	4,1	1,1	2,4	0,2
	lata	2	5,4	1,4	3,4	0,2
		3	12,9	3,8	7,2	0,9
	em	1	9,3	2,9	5,1	0,5
	copo	2	13,4	1,5	11,3	0,2
		3	11,7	1,2	9,8	nd
Extrato	em	1	10,4	1,9	5,2	nd
	lata	2	9,9	0,3	7,5	nd
		3	13,8	3,8	7,2	nd
Catchup em vidro	1	4,1	0,3	2,8	0,6	
	2	5,4	0,2	4,3	0,8	
	3	4,9	0,5	3,4	0,6	

1: separação dos isômeros efetuada em coluna de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e desenvolvida com gradientes de éter etílico em éter de petróleo.

TABELA 26 -Concentração de Provitaminas A ($\mu\text{g/g}$) em Produtos Processados de Tomate (Marca B).

Alimento			Antes da Separação de Isômeros	Após a Separação de Isômeros ¹		
			Fração de β -caroteno	13-mono- <u>cis</u> - β -caroteno	<u>trans</u> β -caroteno	9-mono- <u>cis</u> - β -caroteno
Purê	em	1	8,28	2,48	4,84	0,61
	caixa	2	8,26	1,13	6,10	0,62
		3	6,87	1,83	4,00	0,55
	em	1	5,49	0,36	4,65	0,21
	copo	2	8,93	1,10	6,79	0,56
		3	10,57	2,47	7,25	0,52
	em	1	5,22	1,16	3,42	0,47
	lata	2	4,94	1,32	3,11	0,34
		3	7,06	1,20	5,07	0,58
Extrato	em	1	8,77	1,44	5,44	0,75
	copo	2	10,16	1,32	7,07	0,44
		3	7,91	0,88	5,25	0,42
	em	1	8,05	2,61	3,42	1,07
	lata	2	9,06	2,88	4,43	0,92
		3	9,14	2,26	5,10	0,95
Catchup em vidro		1	4,72	0,52	3,40	0,49
		2	5,81	0,64	4,18	0,61
		3	4,26	0,47	3,06	0,45

1: separação dos isômeros efetuada em coluna de Ca(OH)_2 e desenvolvida com gradientes de éter etílico em éter de petróleo.

Em relação ao valor de vitamina A, os cálculos foram feitos com e sem a separação dos isômeros do β -caroteno o que resultou numa superestimação de 8 a 13% no suco de tomate. Em purê de tomate, a superestimação para a marca A variou de 26 a 57% e para marca B de 12 a 34% (Tabelas 27 e 28). No extrato, a faixa de superestimação foi de 10 a 68% na marca A e 28 a 58% na marca B. Para catchup a faixa foi de 14 a 28% em ambas as marcas.

A perda de trans- β -caroteno na coluna de Hiflosupercel: MgO foi relatada por Sweeney & Marsh (1970) como 2%. Esse valor já foi confirmado repetidas vezes em nosso laboratório. Para a coluna de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, utilizada na separação dos isômeros, a perda foi de 4%, mesmo valor obtido por Sweeney & Marsh (1970). Isomerização do β -caroteno na coluna não foi detectado nem em nosso laboratório nem por Sweeney & Marsh (1970).

Quando a perda de 4% de trans- β -caroteno na coluna de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ foi levada em consideração, a superestimação decorrente da não separação dos isômeros cis do β -caroteno foi de para 4-7% no suco de tomate, 23-54% para purê e 6-62% para extrato de tomate (marca A), 8-22% para purê e 23 a 51% para extrato (marca B) e 11-24% para catchup das marcas A e B.

Nos cálculos de vitamina A acima discutidos, as biopotências utilizadas foram 53% para 13-cis- β -caroteno, 38% para 9-cis- β -caroteno e 100% para trans- β -caroteno. Estas atividades foram determinadas através de ensaios com ratos executados por Deuel *et al.* (1944, 1945), monitorando o ganho de peso. Esse parâmetro, no entanto, não é um indicador sensível e preciso.

Em um trabalho mais recente, Sweeney & Marsh (1973) sugeriram valores de biopotências de 74% para 13-cis- β -caroteno e 61% para 9-cis- β -caroteno, baseado nos teores

de vitamina A no fígado. Quando estes valores de biopotência são utilizados e se faz as correções de perda na coluna para o trans- β -caroteno, as taxas de superestimação decresceram para 11-40% no purê, 3-52% no extrato de tomate (marca A), 6-19% no purê e 11-31% no extrato (marca B) e, finalmente 13-21% no catchup das marcas A e B. No suco de tomate, a variação diminuiu para 2 a 5%.

TABELA 27 - Valor de Vitamina A (RE/100g) em Produtos Processados de Tomate (Marca A).

Produto/Amostra		Valor de Vitamina A						% de Superestimação		
		sem separação de isômeros		com separação de isômeros						
				1	2	3	1	2	3	
Suco de tomate	1	42	38	40	40	10	5	2		
	2	43	39	40	40	13	7	5		
	3	27	25	26	26	8	4	4		
Purê	em caixa	1	68	52	55	55	31	24	24	
		2	74	47	48	53	57	54	40	
		3	110	87	89	99	26	23	11	
	em copo	1	113	82	85	89	38	33	27	
		2	142	106	110	115	34	29	23	
		3	72	54	56	58	33	29	24	
	em lata	1	68	51	53	57	33	28	19	
		2	90	70	73	78	28	23	15	
		3	215	160	164	181	34	31	19	
	Extrato	em copo	1	155	114	117	129	36	32	20
			2	223	203	210	216	10	6	3
			3	195	174	180	185	12	8	5
em lata		1	173	103	107	114	68	62	52	
		2	165	128	133	134	29	24	23	
		3	230	154	158	172	49	46	34	
Catchup em vidro	1	68	53	55	56	28	24	21		
	2	90	79	81	82	14	11	19		
	3	82	65	67	69	26	22	19		

1: Valor de Vitamina A calculado com os valores de biopotência propostos por Deuel *et al* (1944, 1945).

2: Valor de Vitamina A calculado com os valores de biopotência propostos por Deuel *et al* (1944, 1945) corrigidos com perdas na coluna de Ca(OH)_2 .

3: Valor de Vitamina A calculado com valores de biopotência propostos por Sweeney e Marsh (1973) corrigido com a perda na coluna de Ca(OH)_2 .

TABELA 28 - Valor de Vitamina A (RE/100g) em Produtos Processados de Tomate (Marca B).

Produto/Amostra		Valor de Vitamina A						% de Superestimação		
		sem separação		com separação						
		de isômeros		de isômeros						
				1	2	3	1	2	3	
Purê	caixa	1	138	106	113	121	30	22	14	
		2	138	116	120	126	19	15	9	
		3	115	86	89	97	34	29	19	
	copo	1	92	82	85	87	12	8	6	
		2	149	126	131	137	18	14	9	
		3	176	146	151	161	20	16	9	
	lata	1	87	70	72	78	24	21	11	
		2	82	66	68	74	24	21	11	
		3	118	99	102	109	19	16	8	
Extrato	copo	1	146	108	112	120	35	30	22	
		2	169	132	137	143	28	23	18	
		3	132	98	99	106	35	33	24	
	lata	1	134	87	89	102	54	51	31	
		2	151	105	108	122	44	40	24	
		3	152	111	114	126	37	33	21	
Catchup	1	79	64	67	70	23	18	13		
	2	97	79	82	86	23	18	13		
	3	71	58	60	63	22	18	13		

1: Valor de Vitamina A calculado com os valores de biopotência propostos por Deuel *et al* (1944, 1945).

2: Valor de Vitamina A calculado com os valores de biopotência propostos por Deuel *et al* (1944, 1945) e corrigidos com as perdas na coluna de Ca(OH)_2 .

3: Valor de Vitamina A calculado com os valores de biopotência por Sweeney e Marsh (1973) e corrigidos com as perdas na coluna de Ca(OH)_2 .

4.4.2. Pêssego, milho e seus produtos

O aspecto de superestimação no cálculo de vitamina A também foi verificado nas amostras de milho e pêssego “in natura” e processados.

Nesse caso, os isômeros cis foram encontrados tanto nas amostras “in natura” como nos produtos processados. Além dos isômeros do β -caroteno foi detectada também a presença de neocriptoxantina A. A estrutura desse carotenóide ainda não foi verificada por ressonância magnética nuclear.

O número de amostras avaliadas não permite afirmações seguras, porém os resultados mostram que no milho “in natura” houve predominância do 13-cis- β -caroteno enquanto que no milho em conserva o 9-cis- β -caroteno apareceu em maior concentração em uma amostra e em concentrações iguais nas outras duas. Perfil semelhante foi constatado na comparação de pêssego “in natura”, suco de pêssego e pêssego em calda.

Em relação a neocriptoxantina, sua concentração pareceu ser maior no pêssego “in natura” que nos produtos processados. Já no milho a neocriptoxantina A apareceu nos mesmos níveis tanto na amostras “in natura” como nas processadas (Tabelas 29 e 31).

A superestimação nos valores de vitamina A devido a não separação dos cis isômeros foi de aproximadamente 51 a 74% em pêssego “in natura”, 10-35% no suco de pêssego e pêssego enlatado, 4-41% em milho “in natura” e 39-45% no milho enlatado. (Tabelas 30 e 32)

Deve ser lembrado, no entanto, que esses altos valores de

superestimação não foram corrigidos pelas perdas na coluna de Ca(OH)_2 que devem ser maiores em termos de β -criptoxantina por se tratar de um carotenóide hidroxilado, portanto mais retido na coluna. Os cálculos foram feitos em termos de Deuel *et al.* (1944, 1945) uma vez que Sweeney & Marsh (1973) não determinaram a atividade de neocriptoxantina. Além disso, embora a diferença de biopotência entre neocriptoxantina e *trans*- β -criptoxantina é comparativamente pequena (42% e 50-60%, respectivamente), houve a subestimação do teor de neocriptoxantina que por falta de seu próprio coeficiente, foi calculada na base do $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ de *trans*- β -criptoxantina. No caso de β -caroteno, os coeficientes dos isômeros *cis* mostraram-se menores que o da forma *trans* (2360 para 13-*cis*- β -caroteno e 1930 para 9-*cis*- β -caroteno contra 2592 para o *trans*- β -caroteno). Em relação a *trans*- β -criptoxantina, a biopotência citada na literatura (Deuel *et al.*, 1946) é de 50-60%, portanto, uma atividade de 55% foi utilizada no cálculo.

Os resultados obtidos demonstraram que os *cis* isômeros da provitaminas A estão presentes em alimentos em concentrações marcadamente variáveis, alcançando níveis apreciáveis em alguns alimentos. Portanto, a despeito da dificuldade em sua execução, a separação nos *cis* isômeros é necessária em alguns alimentos. No entanto, o grau de superestimação quando os isômeros não são separados, conseqüentemente, a confiabilidade dos valores de vitamina A, depende da maneira pela qual o cálculo é feito. Portanto, antes que uma etapa difícil e sujeita a erros seja considerada obrigatória em métodos oficiais para a determinação do valor de vitamina A, várias pesquisas básicas devem ser conduzidas. Novos ensaios, utilizando técnicas modernas (p.e. uso de compostos radioativos), devem ser realizados para determinar a biodisponibilidade de provitamina A no homem. No aspecto analítico, são necessárias colunas C_{18} para CLAE mais eficientes para separar

os isômeros cis ou, então, a aplicabilidade das colunas CLAE de Ca(OH)_2 a outras provitaminas A deve ser demonstrada.

Embora o procedimento esteja bem estabelecido, a eficiência e reprodutibilidade da separação em colunas clássicas dependem consideravelmente da experiência e habilidade do analista.

Seja por CLAE ou coluna clássica, é imprescindível que os coeficientes de absorção ($A^{1\%}_{1\text{cm}}$) das provitaminas sejam reconfirmados devido a algumas discrepâncias encontradas na literatura ou então determinadas para provitaminas, como neocriptoxantina, para as quais este valor ainda é desconhecido. Nos métodos por CLAE, as concentrações dos padrões são determinadas espectrofotometricamente, utilizando estes coeficientes. Para métodos por cromatografia em coluna clássica, as várias frações separadas na coluna são recolhidas e quantificadas espectrofotometricamente.

É evidente também que quando a separação dos isômeros cis torna-se obrigatória na obtenção de valores vitamínicos para Tabelas de Composição de Alimentos, um número grande de amostras devem ser analisadas para se chegar a uma média mais representativa. Isso em decorrência da variabilidade marcante nos teores de isômeros cis, especialmente nos alimentos processados.

TABELA 29 - Concentração de Provitaminas A ($\mu\text{g/g}$) em Milho "in natura" e Milho em Conserva.

Carotenóide	Milho "in natura"			Milho em Conserva		
	1	2	3	1	2	3
Fração de β -caroteno	1,8	1,6	1,7	2,5	1,6	1,3
Fração de β -criptoxantina	1,2	1,1	2,2	3,8	2,3	3,1
Após a separação de isômeros:						
13- <u>cis</u> - β -caroteno	0,3	0,5	0,2	0,5	0,2	0,3
<u>trans</u> - β -caroteno	1,0	0,8	1,6	1,2	0,9	0,7
9- <u>cis</u> - β -caroteno	0,2	0,2	nd	0,6	0,2	0,3
neocriptoxantina A	0,3	0,3	0,5	0,4	0,3	0,2
<u>trans</u> - β -criptoxantina	0,7	0,7	1,5	2,4	1,4	2,0

TABELA 30 - Valor de Vitamina A (RE/100g) de Milho "in natura" e Milho em Conserva.

Produto/Amostra	Valor de Vitamina A		% de Superestimação
	sem separação de isômeros	com separação de isômeros	
		1	1
"in natura"			
1	41	29	41
2	37	27	37
3	48	46	4
conserva (em lata)			
1	76	53	43
2	48	33	45
3	50	36	39

1: Valor de Vitamina A calculado segundo valores de biopotência propostos por Deuel *et al* (1945) e Zechmeister (1962).

TABELA 31- Concentração de Provitaminas A ($\mu\text{g/g}$) de Pêssego " in natura " e
Produtos Processados.

Carotenóide	Pêssego "in natura"			Suco de Pêssego			Pêssego em Calda		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Fração de β -caroteno	1,6	1,6	0,9	1,1	1,2	1,3	1,2	1,2	1,7
Fração de β -criptoxantina	11,0	17,7	9,8	2,1	1,9	2,6	4,2	3,4	3,5
Após a separação de isômeros:									
13-mono-cis- β -caroteno	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
<u>trans</u> - β -caroteno	1,1	1,4	0,6	0,8	0,8	1,0	0,7	0,9	1,3
9-mono-cis- β -caroteno	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2
neocriptoxantina A	0,4	1,3	1,4	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4	0,6
<u>trans</u> - β -criptoxantina	5,5	9,9	4,9	1,5	1,3	2,1	2,9	2,2	2,5

TABELA 32 - Valor de Vitamina A (RE/100g) de Pêssego "in natura" e Produtos Processados.

Produto/Amostra	Valor de Vitamina A		% de Superestimação
	sem separação de isômeros	com separação de isômeros	
		1	1
Pêssego "in natura"	1	127	73
	2	189	125
	3	105	67
Pêssego em Calda (em lata)	1	58	43
	2	51	41
	3	60	52
Suco de Pêssego (em vidro)	1	37	31
	2	37	31
	3	45	41

I: Valor de Vitamina A calculado segundo valores de biopotência propostos por Deuel et al (1945) e Zechmeister (1962).

5. CONCLUSÕES

1. O tomate cultivar "Santa Cruz" contém fitoflueno, trans- β -caroteno, trans- ζ -caroteno, trans- γ -caroteno, cis e trans licopeno. O principal carotenóide é o trans-licopeno, perfazendo aproximadamente 75% do total de carotenóides (41,4 μ g/g).
2. Os isômeros cis de β -caroteno, não detectado no tomate "in natura", aparecem em teores variáveis nos produtos processados de tomate (suco, purê, extrato e catchup), sendo menores no suco que recebe tratamento térmico mais ameno. O 13-cis- β -caroteno é o isômero cis predominante.
3. O extrato de tomate, produto mais concentrado possui valores de vitamina A e teores de licopeno proporcionalmente menores que os demais produtos, refletindo perdas durante o processamento.
4. Considerando todos os fatores envolvidos (necessidade de cozimento, variações entre amostras e teores encontrados), a melhor fonte de provitamina A é o tomate "in natura" e de licopeno, o purê e o suco. O catchup é uma boa fonte, tanto de provitamina A como de licopeno.
5. Os carotenóides de pêssgo cultivar "Rei da Conserva" são: trans- β -criptoxantina, trans-luteína, trans-zeaxantina, trans- β -caroteno, necriptoxantina A, trans-violaxantina, trans- ζ -caroteno, 13-cis- β -

caroteno, e 9-cis- β -caroteno. β -criptoxantina, principal carotenóide, compreende 48% do total (13,2 $\mu\text{g/g}$).

6. A conversão de epóxidos 5,6 e 5',6' pode ocorrer durante o processamento ou estocagem, refletido na transformação de violaxantina em auroxantina no suco e em luteoxantina na conserva de pêssego.

7. O valor de vitamina A é maior no pêssego "in natura" (88 RE/100g) e menor no suco (34 RE/100g). A conserva tem teor intermediário (45 RE/100g).

8. Ao contrário do ocorrido com tomate, isômeros cis do β -caroteno e também da β -criptoxantina aparecem tanto nas amostras "in natura" como em produtos processados.

9. Os carotenóides do milho "in natura" são: trans- β -criptoxantina, trans-luteína, trans-zeaxantina, trans- β -caroteno, necriptoxantina A, trans-violaxantina, 13-cis- β -caroteno, 9-cis- β -caroteno e trans- β -zeacaroteno. A trans-zeaxantina é o principal pigmento, perfazendo 38% do total de carotenóides (16,6 $\mu\text{g/g}$).

10. A epoxidação pode ocorrer durante o processamento ou estocagem, refletida no aparecimento de mutatoxantina.

11. O valor de vitamina A parece ser maior no milho em conserva (41 RE/100g) em relação ao milho

“in natura” (34 RE/100g).

12. A não separação de isômeros cis e trans na determinação do valor de vitamina A acarreta erros variáveis, alcançando níveis consideráveis em certos produtos. A magnitude do erro, porém, depende das biopotências e coeficientes de absorção utilizados no cálculo e das perdas na coluna cromatográfica. Portanto, é prematuro exigir a separação de isômeros nos métodos oficiais, antes que esses pontos sejam solucionados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACZEL, A. 1977. Change of the carotenoid contents of yellow peach during the canning process and storage. *Lebensm. Wiss Technol.* 10: 120.
- AOAC. 1980. "Official Methods of Analysis". 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- ARIMA, H.K. & RODRIGUES-AMAYA, D. 1988. Carotenoid composition and vitamin A value of commercial Brazilian squashes and pumpkins. *J. Micronutr. Anal.* 4: 177.
- BAUERNFEIND, J. C. 1972. Carotenoids vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *J. Agric. Food Chem.* 20:456.
- BEN-AZIZ, A., BRITTON, G & GOODWIN, T. W. 1973. Carotene epoxides of *Lycopersicon esculentum*. *Phytochem.* 12: 2759.

- BICKOFF, E. M., ATKINS, M. E., BAILEY, G. F. & STTIT, F. 1949. Stereoisomeric analysis of beta-carotene. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 32:766.
- BLESSIN, C. W., BRECHER, J. D., DIMLER, R. J., GROGAN, C. O. & CAMPBELL, C. M. 1963. Carotenoids of corn and sorghum. *Cereal Chem.* 40:436.
- BOLETIM CEAGESP, 1990. Anônimo.
- BOSKOVIC, M. A. 1979. Fate of lycopene in dehydrated tomato products: carotenoid isomerization in food system *J. Food Sci.* 44:84.
- BUREAU, J. L. & BUSHWAY, R. J. 1986. HPLC determination of carotenoids in fruits and vegetables in the United States. *J. Food Sci.* 51: 128.
- BUSHWAY, R. J. 1985. Separation of carotenoid in fruits and vegetables by high performance liquid chromatography. *J. Liq. Chromatogr.*, 8:1527.
- CALLISON, E.C., HALLMAN, L.F., MARTIN, W.F. & ORENT-KEILES, E. 1953. Comparison of chemical analysis and bioassay as measures of vitamin A value: yellow corn meal. *J. Nutr.*, 50:85.

- CECCHI, H. M. & RODRIGUEZ-AMAYA D. B., 1981a. Carotenóides e valor de vitamina A em suco de maracujá processado, *Ciênc. Cultura*, 33:72.
- CECCHI, H. M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. 1981b; Carotenoid composition and vitamin A and vitamin A value of fresh and pasteurized cashew-apple juice. *J. Food Sci.*, 46: 147.
- CHANDLER, L. A. & SCHWARTZ, S. J. 1987. HPLC separation of cis-trans carotenes isomers in fresh and processed fruits and vegetables. *J. Food Sci.*, 52: 669.
- CHANDLER, L. A. & SCHWARTZ, S. J. 1988. Isomerization and losses of trans- β -carotene in sweet potatoes as affected by processing treatments. *J. Agric. Food Chem.*, 36: 129.
- CLOUGH, J. M. & PATTENDEN, G. 1979. Naturally occurring poly-cis-carotenoids stereochemistry of poly-cis-licopene and its congeners in 'Tangerine' tomato fruits. *J. C. S. Chem. Commun.*, 1:616.
- CURL, A. L. 1959. The carotenoids of cling peaches. *Food Research* 24:413.
- CURL, A. L. 1961. The xanthophylls of tomatoes. *J. Food Sci.* 26: 106.

- DAVIES B.H. 1976. Carotenoids Em "Chemistry and Brochemistry of Plant Pigments",
2nd edn, vol. 2, (ed.) T.W. Goodwin Academic Press, London, pp 38-165. Academic Press,
London.
- DAOOD, H. G., BIACS, P.A., HOSCHKE, Á., HARKAY-VINKLER, M. & HADJU, F. 1987.
Separation and identification of tomato fruit pigments by TLC and HPLC.
Acta Alimentaria, 16:339.
- DEI-TUTU, J., EDWARDS, R. A., BUCKLE, K.A. 1970. Pigments and colour of Australian
peache varieties. Food Tech. Aust., 22:272.
- DESROSIER, T.,SMYRL, T.G. & PAQUETTE, G. 1985. Retention of carotene in green
peppers and peaches after a home dehydration process. 1985. Can. Inst.
Food Sci. Technol. J., 18:145.
- DEUEL, H.J., JOHNSTON, C., SUMMER, E., POLGAR, A. & ZECHMEISTER, L. 1944. Stereo
chemical configuration and provitamin A activity I. All-trans- β -carotene and neo- β -carotene U.
Arch. Brochem., 5:107.

DEUEL, H.J., JOHNSTON, C., MESERVE, E.R., POLGAR, A. & ZECHMEISTER, L. 1945.

Stereochemical configuration and provitamin A activity IV. Neo- β -carotene B and neo- β -carotene
U. Arch. Biochem., 7: 247.

DEUEL, H.J., MESERVE, E.R., SANDOVAL, A., & ZECHMEISTER, L. 1946. Stereochemical
configuration and provitamin A activity V. Neocryptoxanthin A. Arch. Biochem., 10:491.

DIETZ, J. M. & GOULD, W. A. 1986. Effects of process stage and storage on retention of beta-
carotene in tomato juice. J. Food Sci., 51:847.

EDWARDS, R. A. & REUTER, F. H. 1967. Pigment changes during the maturation of tomato fruits.
Food Technol Aust., 19:352.

ENGLERT, G., BROWN, B. O., MOSS, G.P., WEEDON, B.C.L., BRITTON, G., GOODWIN, T.W.,
SIMPSON, K.L. & WILLIAMS, R.J.H. 1979. Polycopene a tetra-cis carotene with two hindered
cis double. J. C. S. Chem. Commun., 545.

FARROW, R. P., LAMB, F.C., ELKINS, E.R., LOW N., HUMPHREY, J. & KEMPER, K. 1973.
Nutritive content of canned tomato juice and whole kernel corn. J. Food Sci., 38: 595.

- FRAPS, G. S. & KEMMERER, A. R. 1941. Determination of carotene and cryptoxanthin in yellow corn. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 13: 806.
- GEBHARDT, S.E., ELKINS, E.L. & HUMPHTEY, J. 1977. Comparison of two methods for determining the vitamin A value of clingstone Peaches. J. Agric. Food Chem. 25:628.
- GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. 1987. Changes in individual carotenoids on processing and storage of mango (*Mangifera indica*) slices and puree. Int. J. Food Sci. Technol., 22: 451.
- GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. 1989. Carotenoid composition of commercial mangos from Brazil. Lebensm. Wiss. Technol., 22:100.
- GOODWIN, T. W. & JAMIKORN, M. 1952. Biosynthesis of carotenoids in ripening tomatoes. Nature 170: 104.
- GROSS, J. 1979. Carotenoid changes in the mesocarp of the Readhaven peach (*Prunus persica*) during ripening. Z. Pflanzenphysiol., 94:461.
- GROSS, J. 1987. Carotenoids Em "Pigments in Fruits". Academic Press, London, pp 87-284.

- GROSS J., GABAI, M. & LIFSHITZ, A. 1971. Carotenoids in juice of Shamouti orange. J. Food Sci., 36:466.
- HEINONEN, M. I., OLLILAINEN, V., LINKOLA, E. K., VARO, P.T. & KOIVISTOINEN, P. E. 1989. Carotenoids in finish foods: vegetables, fruits and berries. J. Agric. Food. Chem., 37:655.
- JEN, J. J. 1974a. Influence of spectral quality of light on pigment system of ripening tomatoes. J. Food Sci., 39: 907.
- JEN, J.J. 1974b. Carotenoid of yellow and red lutescent tomatoes. J. Agric. Food Chem., 22:908.
- JOHJIMA, Y. & OGURA H. 1983. Analysis of tomato carotenoids by thin-layer chromatography and a cis form γ -carotene newly identified in tangerine tomato J. Jap. Soc. Hort. Sci., 52:202.
- KARGL, T.E., QUACKENBUSH, F.W. & TOMES, M.L. 1960. The carotene polyene system in a strain of tomatoes high in delta-carotene and its comparison with eight other tomato strains. Proc. Am. Soc. Hort. Sci., 75: 574.
- KATAYAMA, T., NAKAYAMA, T.O.M., LEE, T.H. & CHICHESTER, C.O. 1971. Carotenoid transformations in ripening apricots and peaches. J. Food Sci., 36: 804.

- KHACIK, F, BEECHER, G.R. & WHITAKER, N.F. 1986. Separation, identification and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 34: 603.
- KHACIK, F& BEECHER, G.R. 1988. Separation and identification of carotenoids and carotenol fatty acid esters in some squash products by liquid chromatography. I. Quantitation of carotenoids and related esters by HPLC. *J. Agric. Food Chem.*, 36:929.
- KHACIK, F, BEECHER, G.R. & LUSBY, W.R. 1989. Separation, identification and quantification of the major carotenoids in extracts of apricots, peaches, cantaloupe and pink grape fruit by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 37:1467.
- KIMURA, M., RODRIGUEZ-AMAYA , D. B., & YOKOYAMA, S. M. 1991. Cultivar differences and geographic effects on the carotenoid composition and vitamin A value of papaya. *Lebensm. Wiss. Technol.* (no prelo).
- KOSKITALO, L. N. & ORMROD, D. P. 1972. Effects of sub-optimal ripening temperatures of the color quality and pigment on composition of tomato fruit. *J. Food. Sci.*, 37: 56.
- KRINSKY, N. I. 1989. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Rad. Biol. & Med.*, 7: 617.

KUHN, R. & GRUNDMANN, C. 1932. Die konstitution des lycopins. Ber. Deut. Chem., 65: 1880.

KUHN, G. S. & GRUNDMANN, C. 1933. Über krypto-xanthin, ein xanthophyll der
formel $C_{40}H_{56}O$. Ber. Deut. Chem., 66: 1746.

KUHN, G. S. & GRUNDMANN, C. 1934. Krypto-xanthin aus gelben Mais. Ber. Deut. Chem., 67:563.

LEE, W.G. & AMMERMAN, G.R. 1974. Carotene stereoisomerization in sweet potatoes as
affected by rotating and still retort canning processes. J. Food Sci., 39:1188.

LEE, C.Y., McCOON, P.E. & LE BOWITZ, J.M. 1981. Vitamin A value of sweet corn. J.
Agric. Food Chem., 29: 1294.

LEE, C. Y. & ROBINSON, R. W. 1980. Influence of the crimson gene on vitamin A
content of tomato. Hortscience, 15: 260.

LESSERTOIS, D. & MONEGER, R. 1978. Evolution des pigments pendant la croissance
et la maturation du fruit de *Prunus persica*. Phytochem., 17: 411.

LIU, Y. K. & LUH, B. S. 1977. Effect of harvest maturity on carotenoids in pastes
made from VF 145-7879 tomatoes. J. Food Sci., 42: 216.

- LOVRIC, T., SABLEK, Z. & BOSKOVIC, M. 1970. Cis-trans isomerization of lycopene and colour stability of foam-mat dried tomato paste during storage. J. Sci. Food Agric., 21:641.
- MACKINNEY, G. 1937. Carotenoids of the peach. Plant Physiol., 42: 216.
- Mc CARTY, C. D. & LESLEY, J. W. 1954. The carotenoids, Amygdalin Content, and Titratable acidity of white and yellow fleshed peaches within a nearly isogenic line. Proc. Am. Soc. Hortic. Sci., 64: 289.
- Mc COLLUM, J.P. 1954. Effects of light on the formation of carotenoid in the tomato fruits. Food Res., 19: 182.
- MACKINNEY, G. & JENKINS, J. A. 1952. Carotenoid differences in tomatoes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 38: 48.
- MATHEUS-ROTH, M. M. 1985. Carotenoids and cancer prevention: experimental and epidemiological studies. Pure. Appl. Chem., 57: 717.

- MERCADANTE, A. Z. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. 1990. Carotenoids composition and vitamin A value of some native Brazilian green leafy vegetables. *Internat. J. Food Sci. Technol.*, 25:213.
- MEREDITH, F. I. & PURCELL, A. E. 1966. Changes in concentration of carotenes of ripening Homestead tomatoes. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 89: 544.
- MIERS, J. C.; WONG, F.F.; HARRIS, J. G. & DIETRICH, W.C. 1958. Factors affecting storage stability of spray-dried tomato powder. *Food Technol.*, 12:542.
- NOBLE, A. C. 1975. Investigation of the color changes in heat concentrated tomato pulp. *J. Agric. Food Chem.*, 23: 48.
- OGUNLESI, A. T. & LEE, C.Y. 1979. Effect of processing on the stereoisomerization of major carotenoids and vitamin A value of carrots. *Food Chem.*, 4: 311.
- OLSON, J.A. 1988. Provitamin A function of carotenoids: the conversion of β -carotene into vitamin A. *J. Nutr.*, 119:105.

PADULA, M., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. & MORAES, M.A.C. 1983. Comparison of the carotenoid composition and general properties of the processed juice of guava cultivar IAC-4 and commercial juices. *Cienc. e Tecnol.*, 3:109.

PADULA, M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. 1986. Characterisation of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of Brazilian guavas. *Food Chem.*, 20: 11.

PADULA, M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. 1987. Changes in individual carotenoids and vitamin C on processing and storage of guava juice. *Acta. Alimentaria.*, 3: 109.

PANALAKS, T. & MURRAY, T. K. 1970. The effect on processing on the content of carotene isomers in vegetables and peaches. *J. Inst. Can. Technol. Aliment.*, 3: 145.

QUACKENBUSH, F. W., FIRCH, J.G., RABOURN, W. J., MC QUISTAN, M., PETZOLD, E. N. & KARGL, T. E. 1961. Analysis of carotenoids in corn grain. *J. Agric. Food Chem.*, 9:132.

QUACKENBUSH, F.W. 1963. Corn carotenoids: effects of temperature and moisture on losses during storage. *Cereal Chem.*, 40:266.

- QUACKENBUSH, F.W. & SMALLIDGE, R. L. 1986. Nonaqueous reverse phase liquid chromatographic system for separation and quantitation of provitamins A. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 69: 767.
- QUACKENBUSH, F. 1987. Reverse phase HPLC separation of cis-trans carotenoids and its application to β -carotenes in food materials. J. Liq. Chromatogr., 10: 643.
- RAMOS, D. R. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. 1987. Determination of the vitamin A value of common Brazilian leafy vegetables. J. Micronutrient Anal., 3: 147.
- RAYMUNDO, L.C., CHICHESTER, C.O. & SIMPSON, K.L. 1976. Light dependent carotenoid synthesis in the tomato fruit. J. Agric. Food Chem., 24: 59.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. 1989. Critical review of provitamin A determination in plant Food. J. of Micronutrient Anal., 5: 191.
- RODRIGUEZ, D.B., RAYMUNDO, L.C., LEE, T.C., SIMPSON, K.L. & CHICHESTER, C. O. 1976. Carotenoids pigment changes in ripening *Momordica charantia*. Ann. Bot., 40: 615.

- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B., BOBBIO, P.A. & BOBBIO, F.O. 1983. Carotenoid composition and vitamin A value of the Brazilian fruit, *Cyphomandra betacea*. Food. Chem., 12: 61.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. & KIMURA, M. 1989. Carotenóides e valor de vitamina A em cajá (*Spondias Lutea*). Bol. Soc. Bras. Cienc. Tecnol. Alim., 9:148.
- STRACHAN, C.C., MOYLS, A.W., ATKINSON, F.E. & BUTTON, J.E. 1951. Can. Dept. Agric. Publ. 862. Citado em "Carotenoid as Colorants and Vitamin A Precursors", Ed., J.C. Bauernfeind, 1981, Academic Press, London.
- SWEENEY, J. P. & MARSH, A. C. 1970. Separation of carotene stereoisomers in vegetables. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 53: 937.
- SWEENEY, J. P. & MARSH, A. C. 1971. Effect of processing on provitamin A in vegetables. J. Am. Diet. Assoc., 59:238.
- SWEENEY, J. P. & MARSH, A. C. 1973. Liver storage of vitamin A in rats fed carotene stereoisomers. J. Nutr., 103:20.
- TAN, B. 1988. Analytical and preparative chromatography of tomato paste carotenoids. J. Food Sci., 53: 954.

- THALER, H. & SCHULTE, K.E. 1940. Die carotinoide der gelben Pfirsiche. Biochem. Z., 306:4.
- THOMAS, R. L. & JEN, J. J. 1975. Red light intensity e carotenoid biosynthesis in ripening tomatoes. J. Food. Sci., 40: 566.
- TICHENOR, D. A., DUDLEY, C. M. & WELLS, C. 1965. Carotenoid content of frozen and irradiated sweet corn. Food Tech., 19: 106.
- TROMBLY, H.H. & PORTER, J.W. 1953. Additional carotenes and a colorless polyene of Lycopersicon species and strains. Arch. Bioch. Biophys., 43:443.
- TRUJILLO, J. A., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B., ESTEVES, W. & PLONIS, G. F. 1990. Carotenoid composition and vitamin A values of oils from four Brazilian palm fruits. Fat. Sci. Technol., 6:222.
- TSUKIDA, K., SAIKI, K., & SIGIURA, M. 1981. Structural elucidation of the main cis- β -carotenes, J. Nutr. Sci. Vitamin, 27: 551.
- TSUKIDA, K., SAIKI, K., TAKII, T. & KOYAMA, Y. 1982. Separation and determination of cis-trans- β -carotene by high performance liquid chromatography, J. Chromatogr., 245: 359.

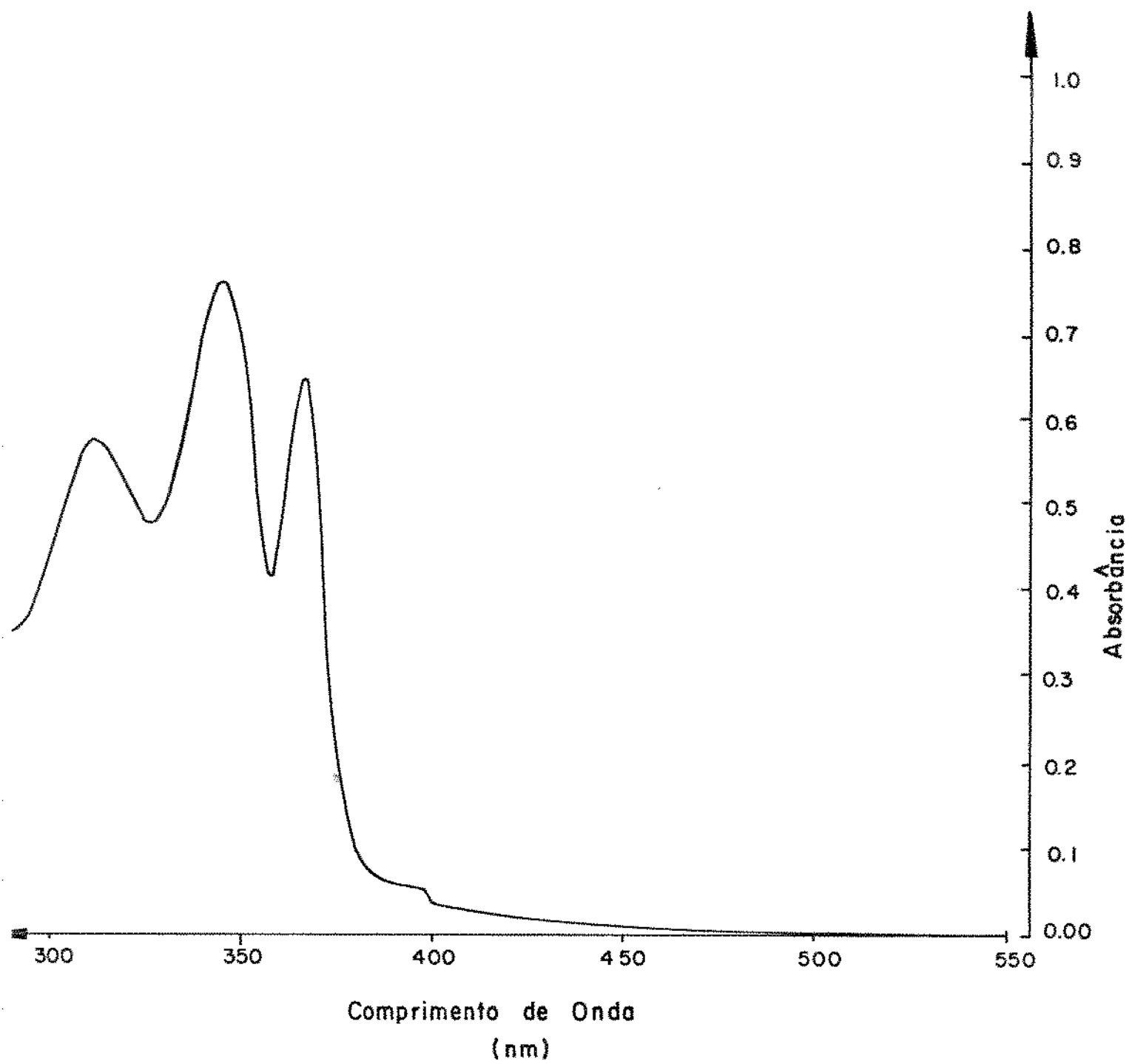
- URBÁNYI, G. & HORTI, K. 1989. Colour and carotenoid content of quick frozen tomato cubes during frozen storage. *Acta Alimentaria*, 18: 247.
- WEBER, E. J. (1987). Carotenoids and tocols of corn grain determined by HPLC. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 64: 1129.
- WHITE, J.W., ZSCHEILE, F.P. & BRUNSON, A.M. 1942. The carotenoids of yellow corn grain. *J. Am. Chem. Soc.*, 64:2603.
- WONG, F. F. & BOHARDT, G. S. 1957. Observations on the color of vacuum-dried tomato juice powder during storage. *Food. Technol.*, 11:293.
- ZECHMEISTER, L. 1949. Stereoisomeric provitamins A. *Vitam. and Horm.*, 7:57.
- ZECHMEISTER, L. 1962. Cis-trans isomeric carotenoids vitamins A and arylpolyenes. Academic Press, New York.
- ZUBECKIS, E. 1968. *Can. J. Publ. Health* 59:193-6. Citado em "Carotenoid as Colorants and Vitamin A Precursors", Ed., J.C. Bauernfeind, 1981, Academic Press, London.

ANEXO 1 - Consumo Anual de Matéria Prima (ton) versus Respective Produtos Processados.

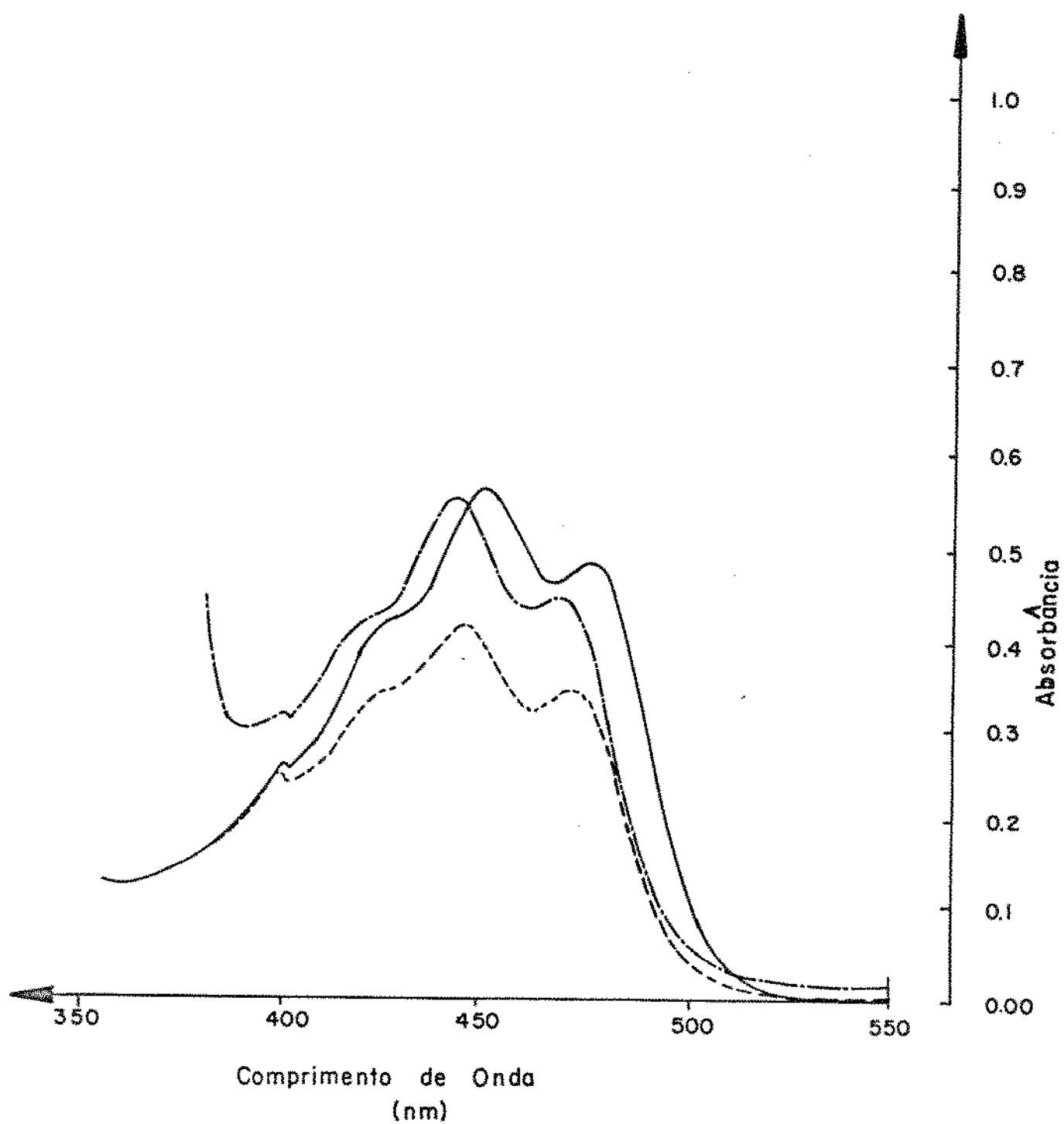
	Matéria-Prima	Produto Processado
Matéria-Prima	"in natura"	(ton)
	(ton)	

tomate	300.000	77.000
milho	20.000	5.000
pêssego	3.600	1.600

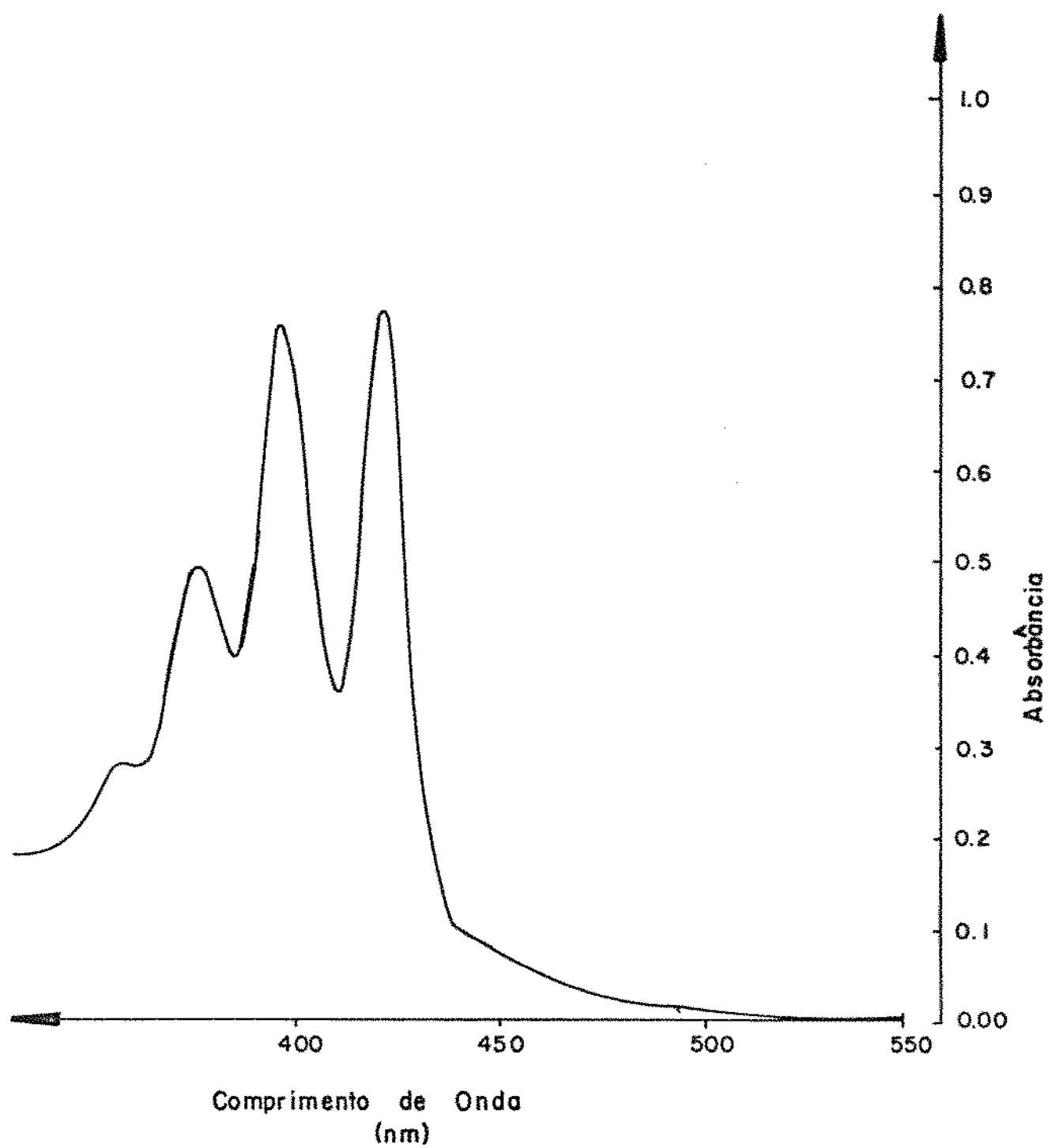
Fonte: Boletim CEAGESP (1990).



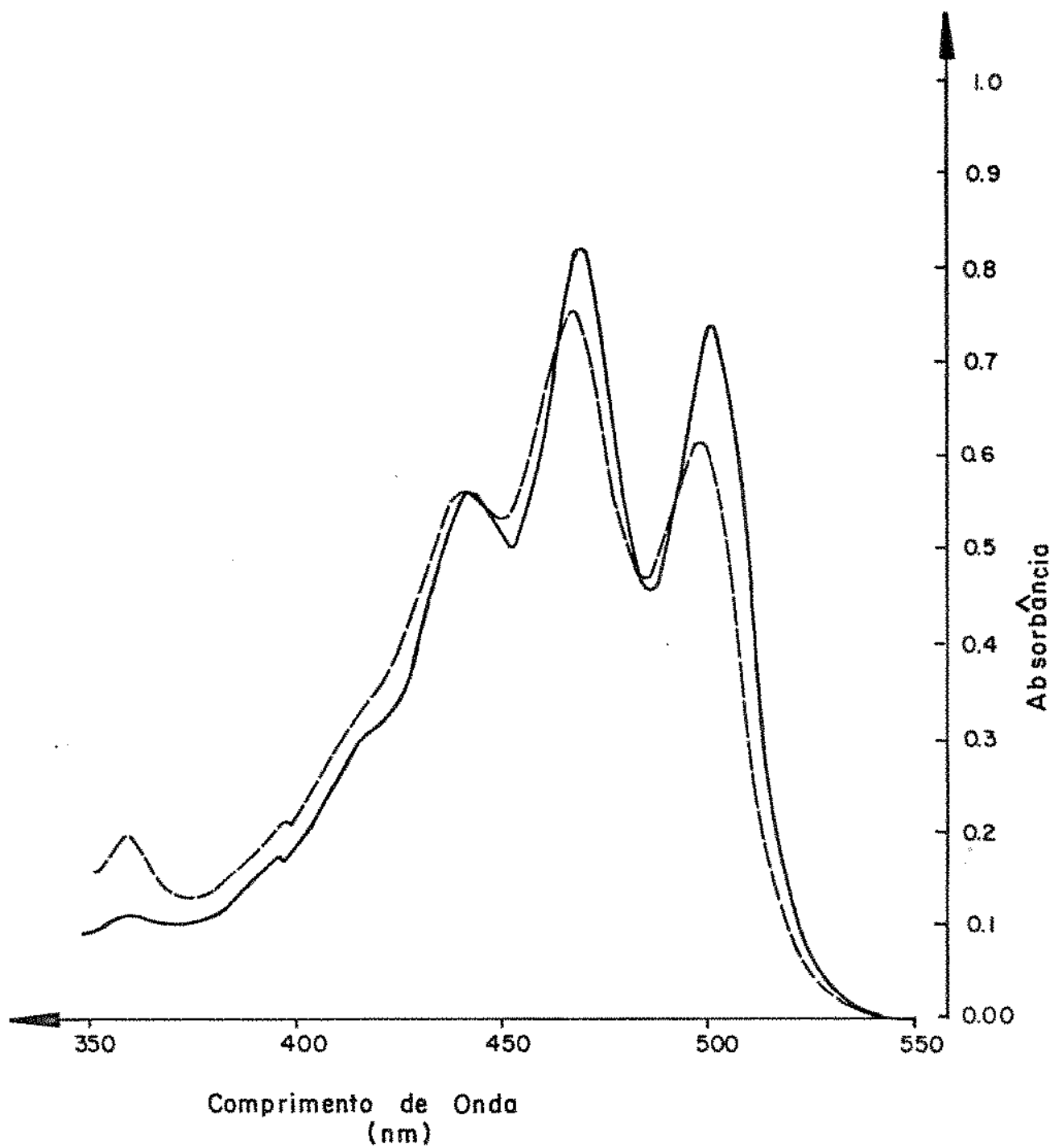
ANEXO 2 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do Fitoflueno.



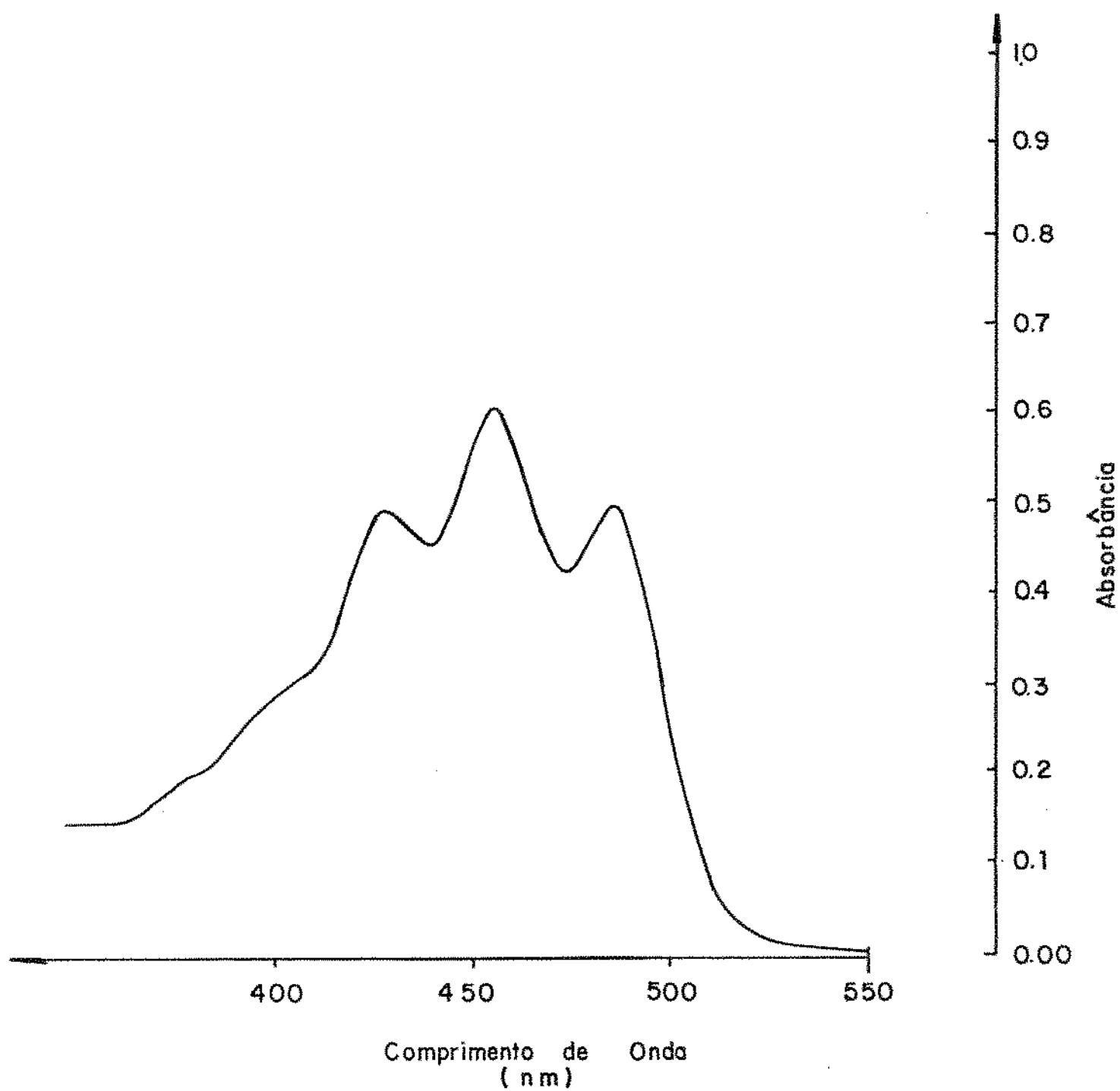
ANEXO 3 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do 13-cis-β-caroteno (-.-.); trans-β-caroteno (—) e 9-cis-β-caroteno (---).



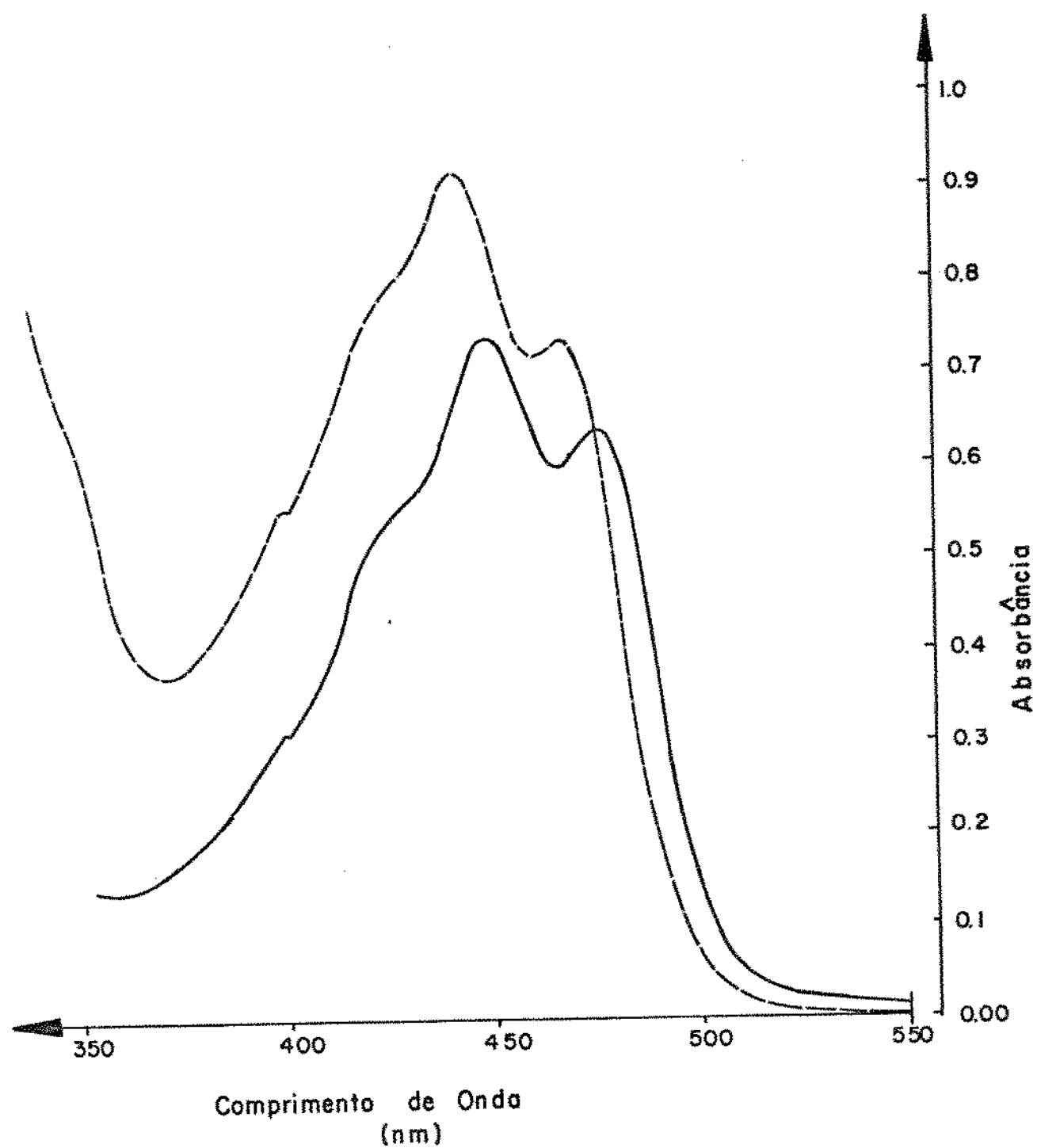
ANEXO 4 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do *trans*-ζ-caroteno.



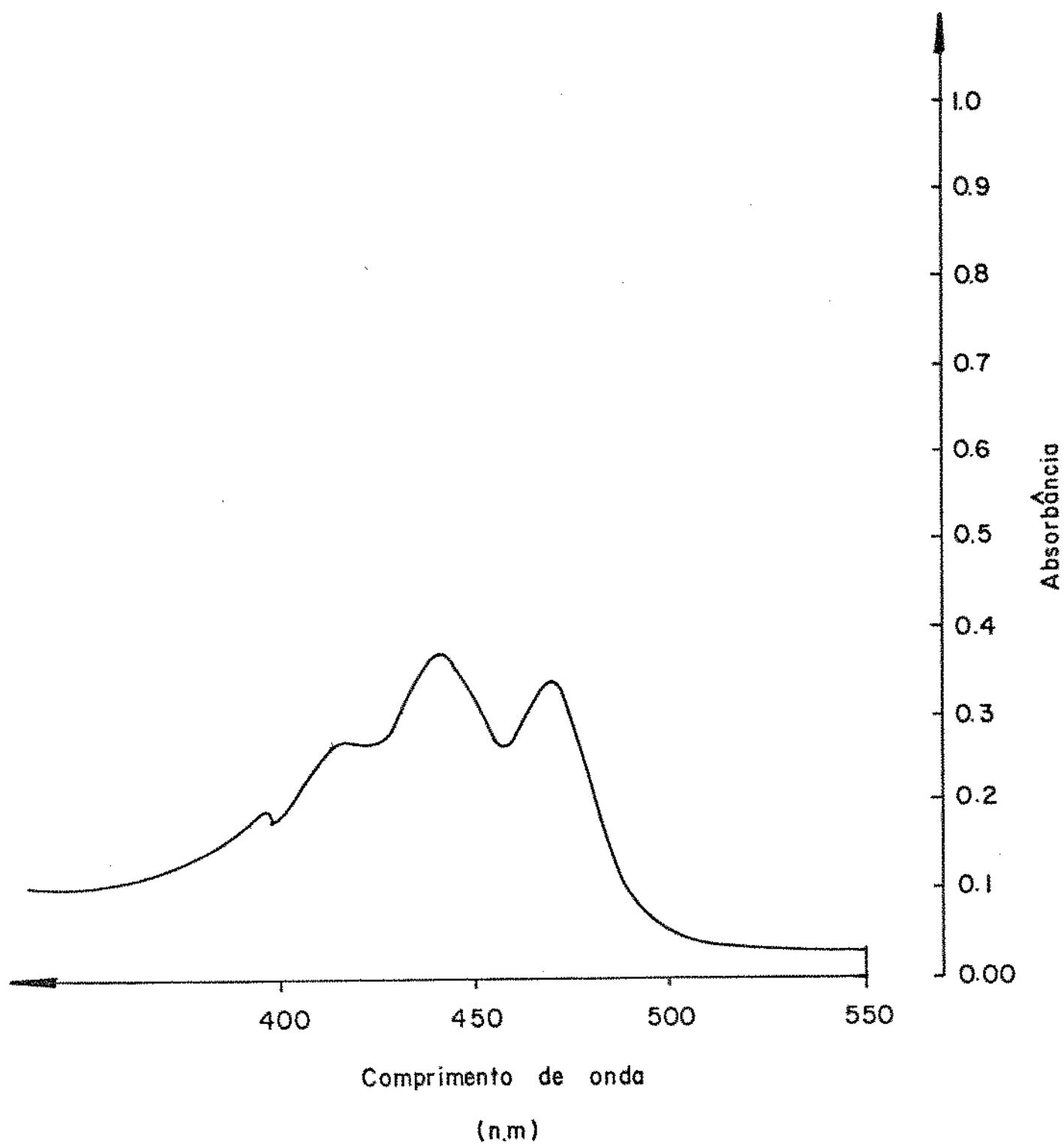
ANEXO 5 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do *cis*-licopeno (---) e *trans*-licopeno (—).



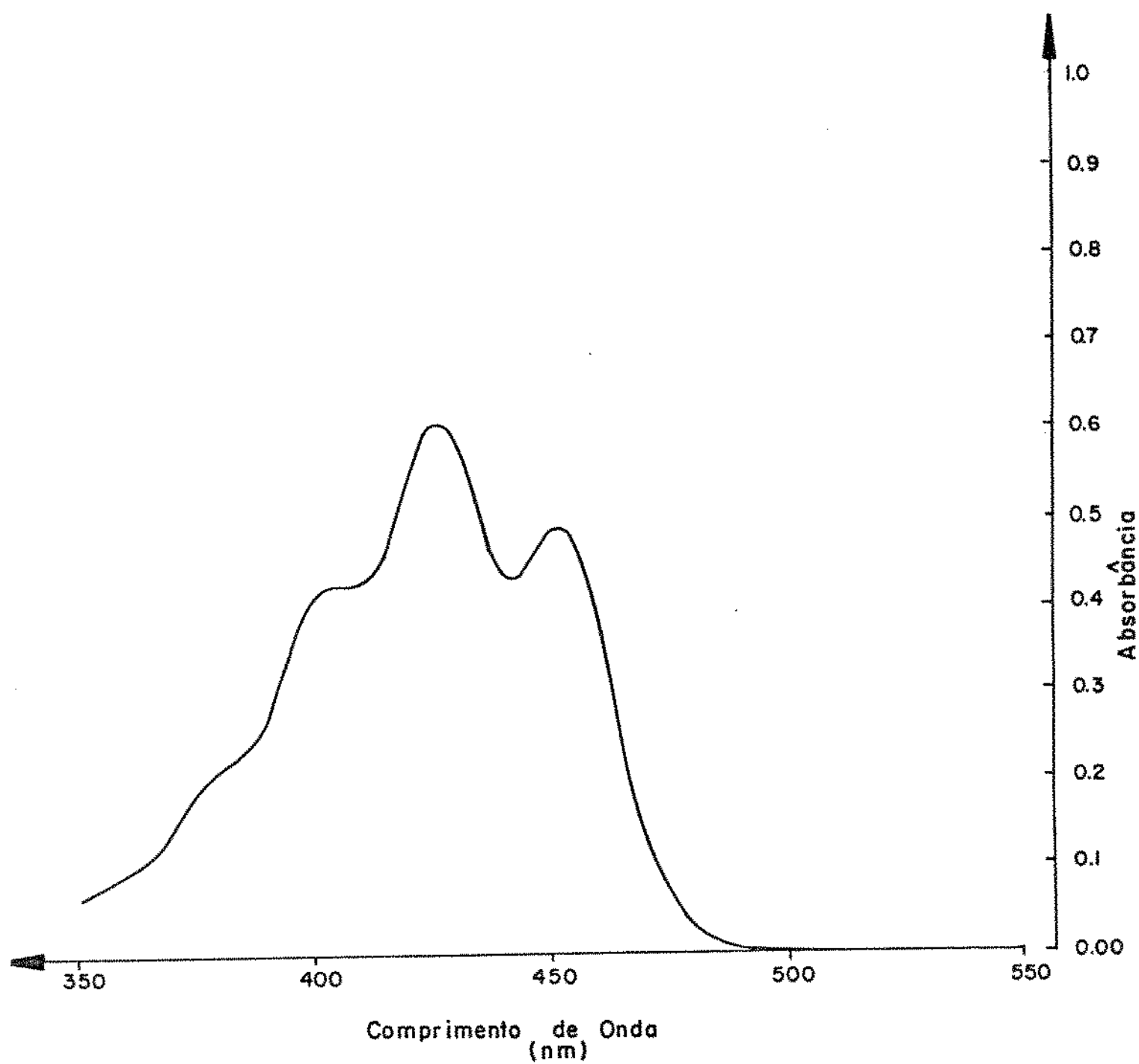
ANEXO 6 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do *trans*- γ -caroteno.



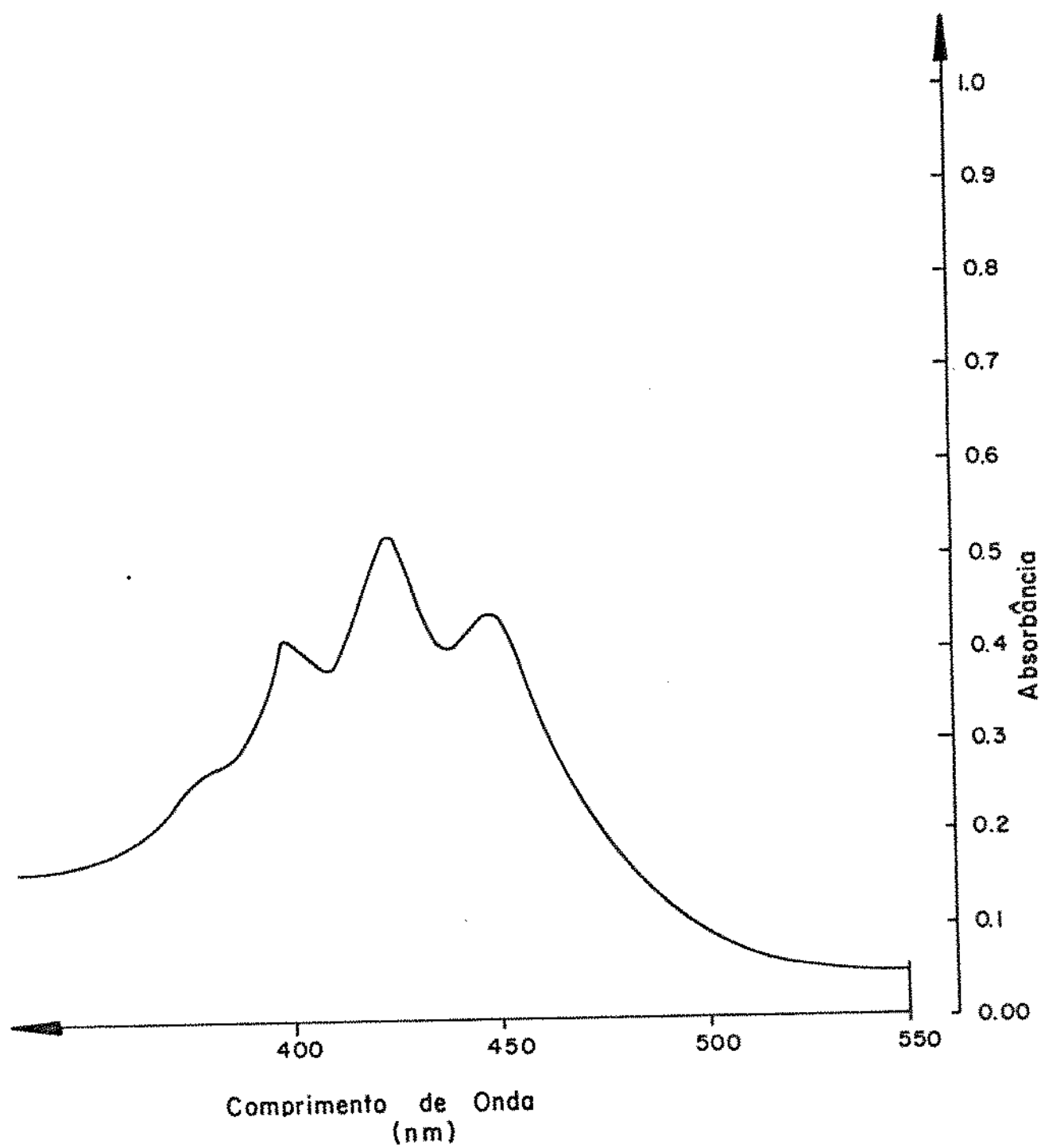
ANEXO 7 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da neocryptoxantina A (- - -); trans- β -criptoxantina e trans-zeaxantina (-).



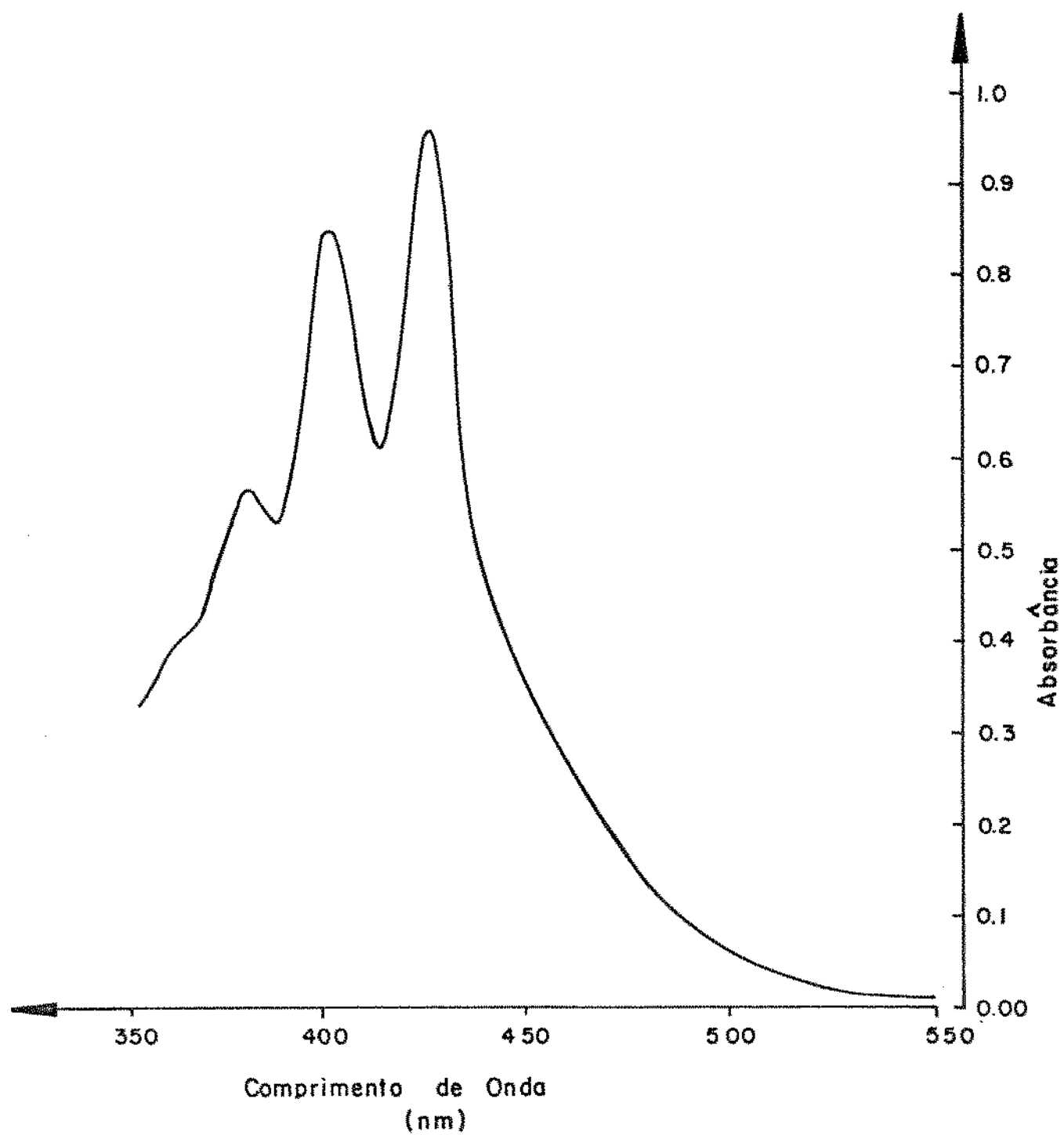
ANEXO 8 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da *trans*-luteína.



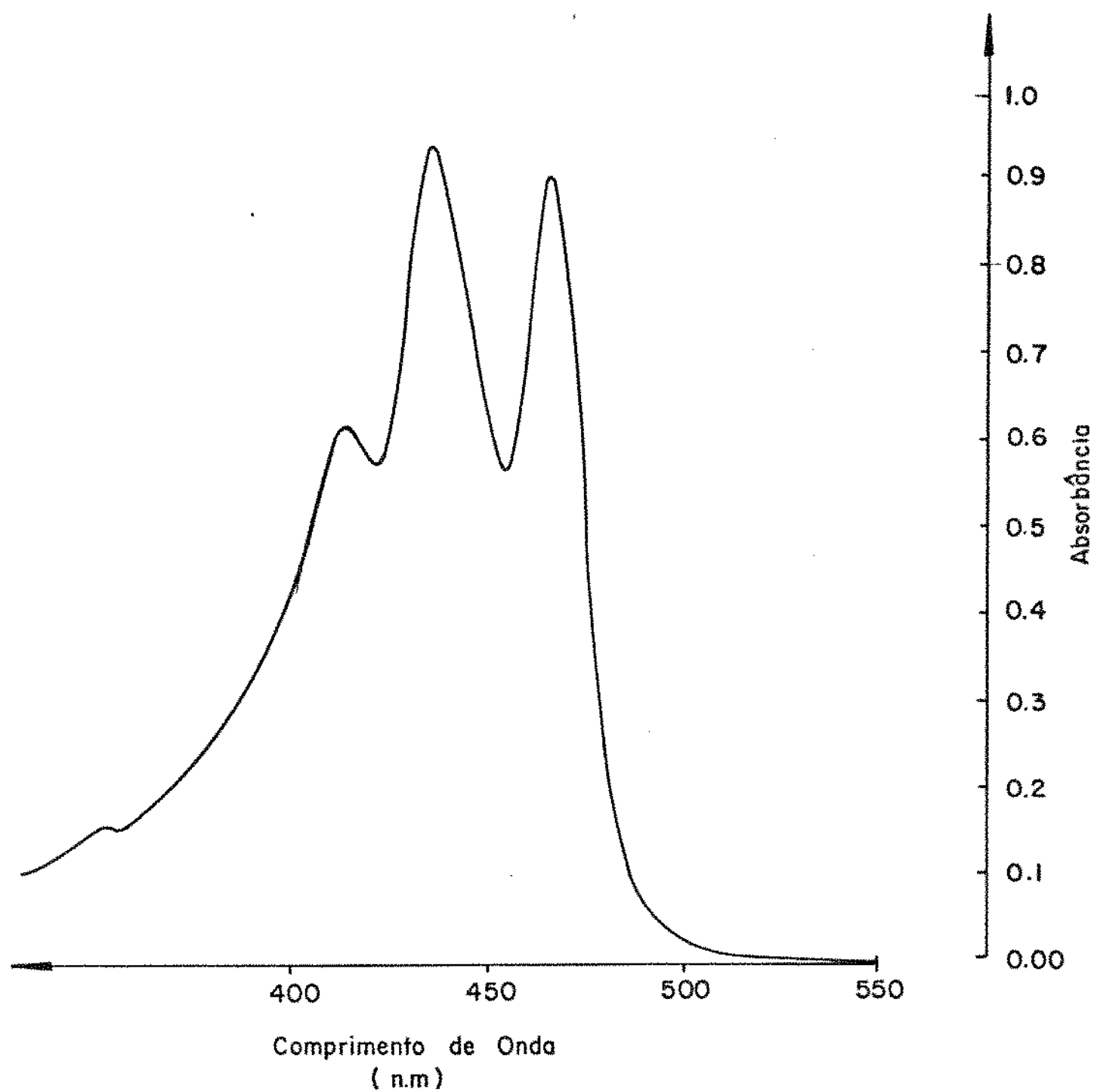
ANEXO 9 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo do *trans*- β -zeacaroteno.



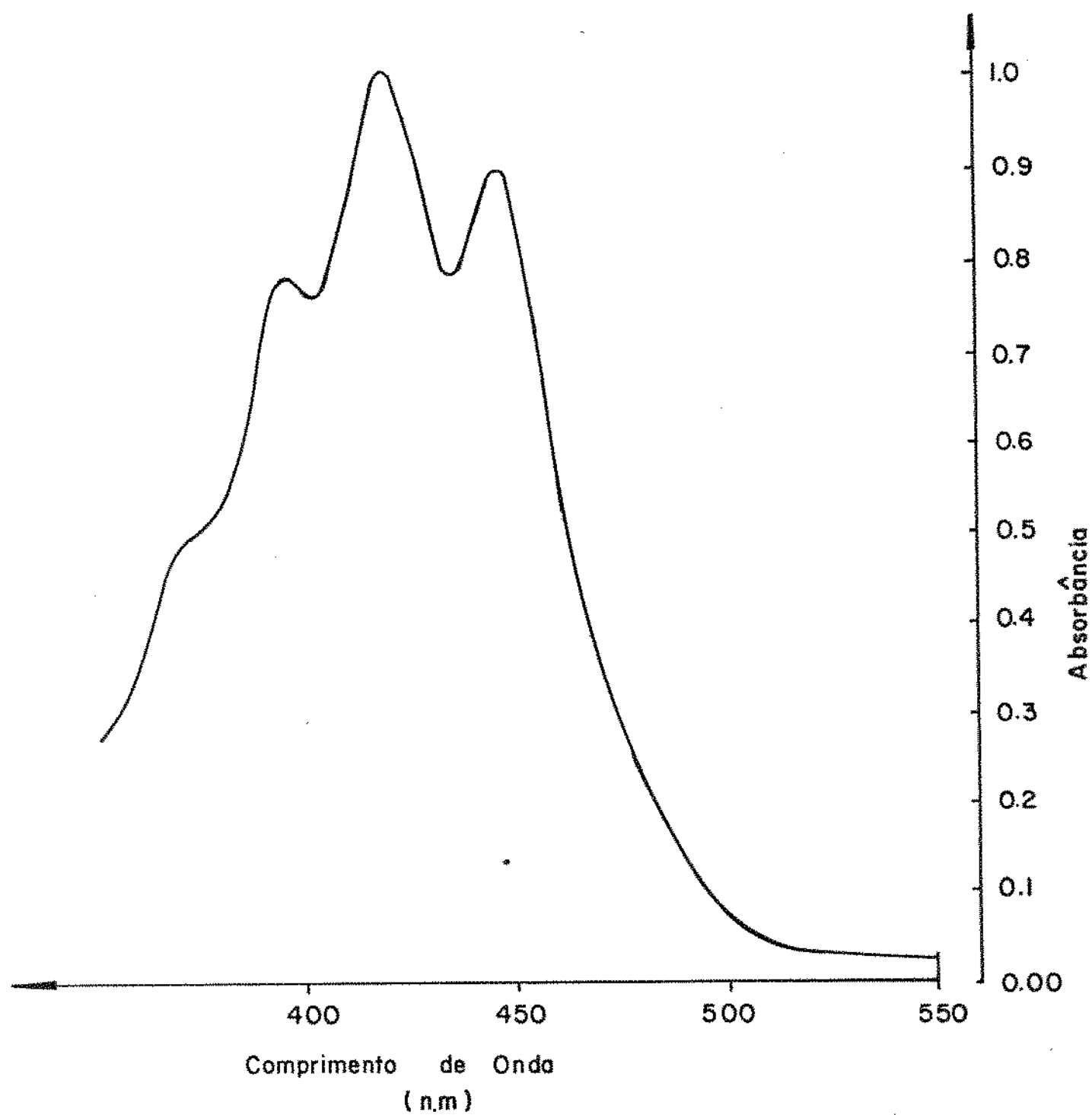
ANEXO 10 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da Mutatoxantina.



ANEXO 11 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da Auroxantina.



ANEXO 12 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da Violaxantina.



ANEXO 13 - Espectro de Absorção em Éter de Petróleo da Luteoxantina.