

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES DE PRODUTOS DE MARACUJÁ,
MANGA E AÇAÍ**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Sandra Regina da Silva**, aprovada pela Comissão Julgadora em 22 de fevereiro de 2002.

Campinas, 22 de fevereiro de 2002



Profa. Dra. Adriana Z. Mercadante
Presidente da Banca

Sandra Regina da Silva

Engenheira de Alimentos (UFV)

Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFV)

Profa. Dra. Adriana Zerlotti Mercadante

Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Campinas - SP
2002

i
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

UNIDADE	Be
Nº CHAMADA	Si38c
V	
TOMEL	48719
PROC.	16-837/02
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	01/05/02
Nº CPD	

CM00167026-1

BIB ID 239230

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

Si38c Silva, Sandra Regina da
Composição de carotenóides de produtos de maracujá, manga e açaí / Sandra Regina da Silva. – Campinas, SP: [s.n.], 2001.

Orientador: Adriana Zerlotti Mercadante
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Carotenóides. 2.Frutas tropicais. 3.Cromatografia líquida de alta eficiência. I.Mercadante, Adriana Zerlotti.
II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

Adriana Z. Mercadante

Profa. Dra. Adriana Zerlotti Mercadante
(FEA/UNICAMP)

Paulo César Stringheta

Prof. Dr. Paulo César Stringheta
(DTA/UFV)

Mieko Kimura

Profa. Dra. Mieko Kimura
(FEA/UNICAMP)

Helena Teixeira Godoy

Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy
(FEA/UNICAMP)

Célia Maria de Sylos

Profa. Dra. Célia Maria de Sylos
(FEA/UNICAMP)

Profa. Dra. Neura Bragagnolo
(FEA/UNICAMP)

suplente

Profa. Dra. Florinda Orsatti Bobbio
(FEA/UNICAMP)

suplente

*Ao Isaias, meu marido e melhor dos amigos
Aos meus pais e irmãos
Aos meus amigos*

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo.

À Profa. Dra. Adriana Zerlotti Mercadante pela orientação dedicada e imprescindível durante o decorrer dessa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Paulo César Stringheta, meu ex-orientador, pela participação na banca, correções, amizade e incentivo na minha carreira acadêmica.

Às professoras: Profa. Dra. Mieko Kimura, Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy, Profa. Dra. Célia Maria de Sylos, Profa. Dra. Neura Bragagnolo, Profa. Dra. Florinda Orsatti Bobbio pelas correções e relevantes sugestões, bem como a participação na banca examinadora.

Aos professores Paulo A. Bobbio (*in memoriam*) e Florinda O. Bobbio pela amizade, dicas criativas, apoio e agradável convivência no laboratório.

Aos amigos do laboratório de Química de Alimentos, Sandra, Patrícia, Fábio, Evelise, Rose, Rogério, Alessandro, ao João, nosso técnico, e muitos outros que de alguma forma contribuíram para uma estada agradável e produtiva.

Aos meus amigos eternos Eli, Teresa, Rosana, Janice, Cristina, Raquel, Elisa, Daniela, Lina, que sempre me apoiaram e me deram força nas horas boas e ruins.

Aos amigos do Laboratório Geral do Departamento de Ciência de Alimentos, Tatiana, Egito, Daniela, Karla, Iriane, Patrícia e todos os outros que estão guardados no meu coração, pela grande amizade.

Às amigas Graciela, Soraya, Miriam, Avani, Michela e Meibel, Sheila, pela calorosa acolhida e pelo enorme carinho e amizade.

Ao meu marido Isaias pelo incentivo e pelas inúmeras dicas em informática.

Ao pessoal da Secretaria do Departamento de Ciências de Alimentos, Jardete, Marcão, Marquinhos e Ricardo pela amizade, informações e apoio técnico.

Ao pessoal da Secretaria de Pós Graduação da FEA, em especial ao Cosme pelas informações precisas e disponibilidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela bolsa de estudos concedida durante o período da realização desta pesquisa.

Aos meus pais, irmãs e irmãos pelo apoio e ajuda que me motivaram a vencer os obstáculos encontrados.

Aos meus lindos sobrinhos, sobrinhas e afilhadinhos pelas doces e agitadas horas de divertimento.

Agradeço a todos os professores e funcionários da Faculdade de Engenharia de Alimentos que me auxiliaram durante o desenvolvimento deste trabalho, e em especial à professora Helena Teixeira Godoy pelos inúmeros esclarecimentos de dúvidas surgidas durante o curso.

À professora Adilma R.P. Scamparini pelas caminhadas, amizade e sincero apoio.

Ao MCT-FINEP-CNPq pelo suporte financeiro através do projeto PRONEX nº 4196091500.

Ao Depto. de Ciência de Alimentos, FEA, UNICAMP, pela oportunidade de realizar o programa de doutorado nesta instituição.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho o meu sincero: **MUITO OBRIGADA!!!!**

RESUMO

Neste trabalho determinou-se a composição de carotenóides e o valor de vitamina A de maracujá-amarelo *in natura*, de diferentes produtos comerciais de maracujá (polpa congelada, sucos pasteurizado e concentrado congelado açucarado, bebidas à base de suco e soja e à base de suco e iogurte) e de polpa congelada de açaí. Os carotenóides pró-vitamínicos A de produtos comerciais de manga (polpa congelada, sucos pronto para beber, pasteurizado e concentrado congelado) foram investigados. Todas as 99 amostras foram adquiridas em Campinas, São Paulo.

Em todas as amostras os carotenóides foram extraídos com acetona e após transferência para éter de petróleo/éter etílico, o extrato foi saponificado. Os carotenóides foram separados em cromatógrafo líquido de alta eficiência equipado com detector de arranjo de diodos e coluna C₁₈ e como fases móveis acetonitrila/metanol/acetato de etila nas proporções de 75:15:10 para maracujá e açaí e de metanol/acetato de etila, 90:10 para os produtos de manga.

Em todas as amostras de maracujá e em seus produtos foram encontrados os seguintes carotenóides: β -criptoxantina, prolicopeno, ζ -caroteno, *cis*- ζ -caroteno, *all-trans*- ζ -caroteno, e 13-*cis*- β -caroteno, além de outros carotenóides minoritários. Foi observada uma pequena variação qualitativa, porém foi grande a diferença quantitativa entre os lotes e as amostras. Na fruta *in natura* o ζ -caroteno foi o carotenóide principal em 2 lotes (7,78 e 12,86 $\mu\text{g/g}$) enquanto que em outros dois lotes o β -caroteno foi o majoritário (10,79 e 13,35 $\mu\text{g/g}$) e o *cis*- ζ -caroteno (7,38 $\mu\text{g/g}$) esteve presente em maior concentração em 1 dos lotes. Na maioria dos produtos processados o ζ -caroteno foi o pigmento majoritário, variando de 0,10 $\mu\text{g/g}$ em bebida à base de soja a 10,36 $\mu\text{g/g}$ em polpa congelada, porém o β -caroteno foi o carotenóide principal em 2 lotes de suco da marca A e em 2 lotes de polpa congelada marca G, variando de 0,05 $\mu\text{g/g}$ em bebida à base de soja a 15,65 $\mu\text{g/g}$ em suco pasteurizado. O valor de vitamina A em frutos de maracujá *in natura* variou de 43,6 a 244,5 ER/100g e em seus produtos processados de 1,2 ER/100g em bebida à

base de soja a 158,2 ER/100g em suco pasteurizado da marca A. Esses dois produtos apresentaram, respectivamente, os menores e os maiores valores de carotenóides totais.

Todos os produtos comerciais de manga apresentaram os seguintes carotenóides pró-vitamínicos: β -criptoxantina, *all-trans*- β -caroteno, 9-*cis*- β -caroteno, 13-*cis*- β -caroteno e 15-*cis*- β -caroteno, além de ζ -caroteno e traços de outros carotenóides não identificados. Houve pequena variação qualitativa entre lotes e produtos, porém a variação quantitativa foi considerável entre produtos, e mesmo entre lotes de um mesmo produto. O *all-trans*- β -caroteno foi o carotenóide majoritário em todos os produtos analisados, variando de 1,08 $\mu\text{g/g}$ no suco pronto para beber da marca H a 8,75 $\mu\text{g/g}$ na polpa congelada da marca A, perfazendo de 53 a 90% de carotenóides totais. O valor de vitamina A variou de 23,8 a 181,3 ER/100g.

Polpas de frutos de açaí, apesar de apresentarem coloração violácea, possuem carotenóides, sendo que os principais encontrados nas polpas congeladas foram: luteína (0,86 a 1,05 $\mu\text{g/g}$), α -caroteno (0,25 a 0,43 $\mu\text{g/g}$), *all-trans*- β -caroteno (1,12 a 1,65 $\mu\text{g/g}$) e 13-*cis*- β -caroteno (0,07 a 0,22 $\mu\text{g/g}$). Ao contrário dos produtos de maracujá e de manga, observou-se uma pequena variação quantitativa nos carotenóides das diferentes marcas de polpa congelada de açaí analisadas.

SUMMARY

In this work the carotenoid composition and vitamin A value of fresh yellow passion fruit, different commercial products of passion fruit (frozen pulp, pasteurized, ready-to-drink and sweetened concentrated frozen juices, and soft drinks made with soy and yogurt), and of frozen pulp of açaí were determined. The provitamin A carotenoids from many mango commercial products (frozen pulp, ready-to-drink, pasteurized and sweetened concentrated frozen juices) were investigated. All 99 samples were acquired in Campinas, São Paulo.

The carotenoids from all samples were extracted with acetone, transferred to petroleum ether/diethyl ether and saponified. The carotenoids were separated by high performance liquid chromatography equipped with diode array detector and C₁₈ column with the following mobile phases acetonitrile/methanol/ethyl acetate (75:15:10) for passion fruit and açaí, and methanol/ethyl acetate (90:10) for mango products.

In all samples of fresh passion fruit and its different products the following carotenoids were found: β -cryptoxanthin, prolycopene, *cis*- ζ -carotene, ζ -carotene, all-*trans*- β -carotene, 13-*cis*- β -carotene, and other minor carotenoids. A small qualitative difference was observed, however there was a significantly quantitative variation among lots and samples. In the fresh fruit, ζ -carotene was the major carotenoid in two lots (7.78 and 12.86 $\mu\text{g/g}$) while in other two lots β -carotene (10.79 and 13.35 $\mu\text{g/g}$) was the main carotenoid and *cis*- ζ -carotene (7.38 $\mu\text{g/g}$) was present as the major carotenoid in one of the lots. In the majority of the processed products ζ -carotene was the principal pigment, ranging from 0.10 $\mu\text{g/g}$ in soy based soft drink to 10.36 $\mu\text{g/g}$ in frozen pulp. However, β -carotene was the major carotenoid in 2 lots of juice brand A and in 2 lots of frozen pulp brand G, ranging from 0.05 $\mu\text{g/g}$ in soy based soft drink to 15.65 $\mu\text{g/g}$ in juice. The vitamin A value ranged from 43.6 to 244.5 RE/100g in fresh passion fruit and in its products from 1.2 RE/100 g in soy based drink to 158.2

RE/100 g in pasteurized juice brand A. These two products presented, respectively, the lowest and highest total carotenoid content.

In all commercial products of mango the following provitamin A carotenoids were detected: β -cryptoxanthin, *all-trans*- β -carotene, 9-*cis*- β -carotene, 13-*cis*- β -carotene and 15-*cis*- β -carotene, along with ζ -carotene and traces of non identified carotenoids. The qualitative variation among lots and products were small, however the quantitative variation was considerable among the products and even among lots of the same product. The *all-trans*- β -carotene was the major carotenoid in all products, ranging from 1.08 $\mu\text{g/g}$ in ready-to-drink juice brand H to 8.75 $\mu\text{g/g}$ in frozen pulp brand A, contributing with 53 to 90% of total carotenoid content. The vitamin A value ranged from 23.8 to 181.3 RE/100 g.

Although the pulp of açai presents purple color, carotenoids could be found in frozen pulps being the principal ones lutein (0.86 to 1.05 $\mu\text{g/g}$), α -carotene (0.25 to 0.43 $\mu\text{g/g}$), *all-trans*- β -carotene (1.12 to 1.65 $\mu\text{g/g}$) and 13-*cis*- β -carotene (0.07 to 0.22 $\mu\text{g/g}$). In contrast to passion fruit and mango products, small quantitative variation was found in the carotenoids from different brands of frozen pulp of açai.

ÍNDICE

	página
AGRADECIMENTOS.....	vii
RESUMO.....	xi
SUMMARY.....	xv
LISTA DE TABELAS.....	xxv
LISTA DE FIGURAS.....	xxvii
ANEXO 1 – CAPÍTULO 2.....	xxix
ANEXO 2 – CAPÍTULO 3.....	xxxi
ANEXO 3 – CAPÍTULO 5.....	xxxvii
INTRODUÇÃO GERAL.....	01
OBJETIVOS.....	04
 CAPÍTULO 1	 05
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1. CAROTENÓIDES DE MARACUJÁ.....	06
2. CAROTENÓIDES DE MANGA.....	09
3. AÇAÍ.....	14
4. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	16
4.1 EXTRAÇÃO.....	17
4.2 SAPONIFICAÇÃO.....	18
4.3 SEPARAÇÃO.....	19
4.4 IDENTIFICAÇÃO.....	20
4.5 QUANTIFICAÇÃO.....	22
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
 CAPÍTULO 2	 31
COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES DE MARACUJÁ-AMARELO (<i>Passiflora edulis flavicarpa</i>) IN NATURA	

RESUMO	32
SUMMARY	33
1 – INTRODUÇÃO	34
2 – MATERIAL E MÉTODO	35
2.1 – Amostras	35
2.2 – Análise de Carotenóides	35
2.3 – Análise Estatística	37
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4 – CONCLUSÕES	48
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
6 – AGRADECIMENTOS	51

CAPÍTULO 3 52
COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES DE DIFERENTES PRODUTOS COMERCIAIS
DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis*)

RESUMO	53
INTRODUÇÃO	54
MATERIAIS E MÉTODOS	55
Amostras	55
Preparo dos Padrões	56
Determinação de Carotenóides	57
Determinação dos Sólidos Solúveis (°Brix)	58
Determinação do pH	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
Precisão	59
Composição Qualitativa	59
Composição Quantitativa	64

AGRADECIMENTOS	69
REFERÊNCIAS	70

CAPÍTULO 4 72

CAROTENÓIDES PRÓ-VITAMÍNICOS A DE PRODUTOS COMERCIAIS DE MANGA (*Mangifera indica* L.)

RESUMO	73
SUMMARY	74
1 – INTRODUÇÃO	75
2 – MATERIAL E MÉTODO	76
2.1 – Amostras	76
2.2 – Análise de Carotenóides	77
2.3 – Determinação dos Sólidos Solúveis (°Brix)	78
2.4 – Determinação do pH	79
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
3.1 – Precisão	79
3.2 – Composição Qualitativa de Carotenóides	80
3.3 – Composição Quantitativa de Carotenóides	84
4 – CONCLUSÕES	88
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
6 – AGRADECIMENTOS	91

CAPÍTULO 5 92

COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES EM POLPA CONGELADA DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea* MART.)

RESUMO	93
SUMMARY	94
1 – INTRODUÇÃO	95
2 – MATERIAL E MÉTODO	95
2.1 – Amostras	95
2.2 – Análise de Carotenóides	96
2.3 – Determinação dos Sólidos Solúveis (°Brix)	97
2.4 – Determinação do pH	98
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	98
4 – CONCLUSÕES	105
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106
6 – AGRADECIMENTOS	108

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

TABELA 1. Carotenóides encontrados em maracujá e seus produtos	07
TABELA 2. Carotenóides encontrados em manga <i>in natura</i>	10
TABELA 3. Carotenóides encontrados em produtos de manga	13
TABELA 4. Tabela nutricional para 100g de açaí	15

CAPÍTULO 2

TABELA 1. Propriedades, obtidas por CLAE, dos carotenóides de maracujá <i>in natura</i>	42
TABELA 2. Composição de carotenóides e valor de vitamina A de maracujá <i>in natura</i>	43

CAPÍTULO 3

TABELA 1. Propriedades, obtidas por CLAE, de carotenóides de produtos comerciais de maracujá	62
TABELA 2. Composição de carotenóides e valor de vitamina A em suco pasteurizado comercial de maracujá	65
TABELA 3. Composição de carotenóides e valor de vitamina A em polpa congelada de maracujá	67
TABELA 4. Composição de carotenóides e valor de vitamina A em produtos comerciais de maracujá	68

CAPÍTULO 4

TABELA 1. Propriedades, obtidas por CLAE, dos carotenóides de produtos comerciais de manga	82
TABELA 2: Composição de carotenóides ($\mu\text{g/g}$) e valor de vitamina A (ER/100g) em produtos comerciais de manga	85

CAPÍTULO 5

TABELA 1. Propriedades, obtidas por CLAE, dos principais carotenóides de polpa congelada comercial de açaí	100
TABELA 2. Propriedades, obtidas por CLAE, dos carotenóides minoritários de polpa congelada comercial de açaí	102
TABELA 3. Composição de carotenóides e valor de vitamina A de polpa de açaí congelada comercial	103

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

FIGURA 1. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de maracujá do lote 1	39
--	----

FIGURA 2. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de maracujá do lote 3	40
FIGURA 3. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de maracujá do lote 4	41

CAPÍTULO 3

FIGURA 1. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de suco pasteurizado de maracujá da marca D	60
FIGURA 2. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de suco pasteurizado de maracujá da marca A	61

CAPÍTULO 4

FIGURA 1. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de suco de manga	81
FIGURA 2. Espectros de absorção, obtidos pelo DAD, em metanol/acetato de etila (9:1) do a - <i>all-trans</i> - β -caroteno, b - 9- <i>cis</i> - β -caroteno, c - 13- <i>cis</i> - β -caroteno, d - 15- <i>cis</i> - β -caroteno	83

CAPÍTULO 5

FIGURA 1. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de polpa processada de açaí	99
--	----

ANEXO 1 – CAPÍTULO 2

Figura 1. Espectro de absorção no UV-visível da β -criptoxantina (pico 1), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	110
Figura 2. Espectro de absorção no UV-visível do prolicopeno (pico 2), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	110

Figura 3. Espectro de absorção no UV-visível do neurosporeno (pico 3), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	111
Figura 4. Espectro de absorção no UV-visível de uma mistura (pico 4), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	111
Figura 5. Espectro de absorção no UV-visível do <i>cis</i> - ζ -caroteno (pico 6), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	112
Figura 6. Espectro de absorção no UV-visível do ζ -caroteno (pico 7), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	112
Figura 7. Espectro de absorção no UV-visível do all- <i>trans</i> - β -caroteno (pico 8), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	113
Figura 8. Espectro de absorção no UV-visível do fitoflueno (pico 8), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	113
Figura 9. Espectro de absorção no UV-visível do 13- <i>cis</i> - β -caroteno (pico 9), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	114
Figura 10. Espectro de absorção no UV-visível do fitoeno (pico 10), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	114

ANEXO 2 – CAPÍTULO 3

Figura 11. Espectro de absorção no UV-visível da auroxantina (pico 1), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	116
Figura 12. Espectro de absorção no UV-visível da β -criptoxantina (pico 3), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	116
Figura 13. Espectro de absorção no UV-visível do licopeno (pico 4), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	117

Figura 14. Espectro de absorção no UV-visível do <i>cis</i> -licopeno (pico 5), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	117
Figura 15. Espectro de absorção no UV-visível do <i>cis</i> -licopeno (pico 6), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	118
Figura 16. Espectro de absorção no UV-visível de uma mistura (pico 7), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	118
Figura 7. Espectro de absorção no UV-visível do prolicopeno (pico 8), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	119
Figura 8. Espectro de absorção no UV-visível do neurosporeno (pico 9), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	119
Figura 9. Espectro de absorção no UV-visível de uma mistura (pico 10), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	120
Figura 10. Espectro de absorção no UV-visível do <i>cis</i> - ζ -caroteno (pico 12), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	120
Figura 11. Espectro de absorção no UV-visível do ζ -caroteno (pico 13), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	121
Figura 12. Espectro de absorção no UV-visível do all- <i>trans</i> - β -caroteno (pico 14), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	121
Figura 13. Espectro de absorção no UV-visível do fitoflueno (pico 15), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	122
Figura 14. Espectro de absorção no UV-visível do 13- <i>cis</i> - β -caroteno (pico 16), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	122
Figura 15. Espectro de absorção no UV-visível do fitoeno (pico 17), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	123
Figura 16. Espectro de absorção no UV-visível do composto eluído em torno de 7 min, em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	123

- Figura 17. Cromatograma obtido no λ_{max} no UV-visível dos padrões β -criptoxantina ($t_R = 10,4 - 11,2$), prolicopeno ($t_R = 17,4 - 18,9$), ζ -caroteno ($t_R = 23,7 - 25,9$), β -caroteno ($t_R = 28,0 - 30,4$) em acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10)..... 124
- Figura 18. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de bebida a base de soja e suco de maracujá. Condições cromatográficas: coluna Nova-Pak C_{18} (4 μm , 3,9 x 300 mm) e como fase móvel: acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10) com fluxo de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} 125
- Figura 19. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de polpa de maracujá congelada da marca E. Condições cromatográficas: coluna Nova-Pak C_{18} (4 μm , 3,9 x 300 mm) e como fase móvel: acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10) com fluxo de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} 126
- Figura 20. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de bebida a base de suco de maracujá e iogurte. Condições cromatográficas: coluna Nova-Pak C_{18} (4 μm , 3,9 x 300 mm) e como fase móvel: acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10) com fluxo de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} 127
- Figura 21. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de suco concentrado congelado açucarado de maracujá. Condições cromatográficas: coluna Nova-Pak C_{18} (4 μm , 3,9 x 300 mm) e como fase móvel: acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10) com fluxo de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} 128

ANEXO 3 – CAPÍTULO 5

Figura 17. Espectro de absorção no UV-visível da luteína (pico 1), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	130
Figura 18. Espectro de absorção no UV-visível do α -caroteno (pico 2), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	130
Figura 19. Espectro de absorção no UV-visível do β -caroteno (pico 3), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	131
Figura 20. Espectro de absorção no UV-visível do 13- <i>cis</i> - β -caroteno (pico 4), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	131
Figura 21. Espectro de absorção no UV-visível do neocromo ($t_R= 3,2$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	132
Figura 22. Espectro de absorção no UV-visível da neoxantina ($t_R= 3,4$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	132
Figura 23. Espectro de absorção no UV-visível da auroxantina ($t_R= 3,4 - 3,5$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	133
Figura 24. Espectro de absorção no UV-visível da mistura ($t_R= 3,6 - 3,62$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	133
Figura 25. Espectro de absorção no UV-visível da luteoxantina ($t_R= 3,5 - 3,9$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	134
Figura 26. Espectro de absorção no UV-visível da violaxantina ($t_R= 3,3 - 4,0$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	134
Figura 11. Espectro de absorção no UV-visível da zeaxantina ($t_R= 4,0 - 4,6$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	135
Figura 12. Espectro de absorção no UV-visível de um carotenóide não identificado ($t_R= 4,2 - 4,7$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	135

Figura 13. Espectro de absorção no UV-visível de um carotenóide não identificado ($t_R = 4,7 - 4,9$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	136
Figura 14. Espectro de absorção de um carotenóide não identificado ($t_R = 7,5 - 8,0$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	136
Figura 15. Espectro de absorção no UV-visível de um carotenóide não identificado ($t_R = 15,3$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	137
Figura 16. Espectro de absorção no UV-visível de um carotenóide não identificado ($t_R = 15,9 - 17,9$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	137
Figura 17. Espectro de absorção no UV-visível do fitoeno, ($t_R = 34,1 - 36,3$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).	138
Figura 18. Espectro de absorção no UV-visível dos padrões luteína ($t_R = 4,37$), α -caroteno ($t_R = 27,60$), β -caroteno ($t_R = 29,80$), 13- <i>cis</i> - β -caroteno ($t_R = 31,25$) em acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10).	139

INTRODUÇÃO GERAL

Os carotenóides, pigmentos naturais de cores que vão do amarelo ao vermelho, têm despertado a curiosidade dos cientistas desde o aparecimento da química orgânica. Os carotenóides são encontrados em fungos, bactérias, alguns animais, aves, peixes e crustáceos, assim como em todos os tecidos verdes de plantas e também em frutas, flores, sementes e raízes.

Em termos tecnológicos, a importância dos carotenóides continua sendo como agente corante. Além de poucos carotenóides sintéticos disponíveis comercialmente, são encontrados no comércio, extratos naturais de carotenóides, como bixina (urucum), capsantina, capsorubina (páprica) e crocina (açafrão) (GROSS, 1987; GOODWIN, 1976).

Alguns carotenóides são capazes de serem convertidos em vitamina A e, como tais, desempenham um importante papel nutricional. Esta função adquire maior importância nos países em desenvolvimento, onde a vitamina A pré-formada é raramente ingerida, principalmente por crianças, e os alimentos ricos em carotenóides constituem, assim, as principais fontes de vitamina A (OLSON, 1989). Nestes países, o suprimento inadequado de vitamina A é um dos problemas de saúde mais sérios.

Nos últimos anos, grande atenção tem sido dirigida aos experimentos que associam os pigmentos carotenóides com a redução do risco de câncer, sem que estes sejam primeiramente convertidos em vitamina A (ZIEGLER, 1991). Os carotenóides também exercem outras funções, tais como: antioxidante, regulador do gene conexão-43, diminuição do risco de doenças degenerativas, prevenção da formação de catarata, redução da degeneração macular relacionada ao envelhecimento e redução do risco de doenças coronárias (KRINSKY, 1994).

Os carotenóides apresentam um sistema de ligações duplas conjugadas que é o responsável pela absorção de luz. Entretanto, o alto grau de insaturações é a principal característica estrutural responsável pela alta susceptibilidade à

degradação. Os carotenóides quando no seu estado natural estão protegidos pela ultra-estrutura celular, como por exemplo, complexado com proteínas, o que lhe confere estabilidade. A destruição da estrutura celular e dos complexos levam a uma diminuição da estabilidade desses pigmentos. A destruição total ou parcial da estrutura das células pode ocorrer durante o processamento dos alimentos, deixando os carotenóides em contato direto com ácidos, oxigênio e calor, que são catalisadores da sua degradação.

As principais transformações que ocorrem com os carotenóides durante o processamento são a isomerização *cis-trans* e conversão de epóxidos 5,6 a furanóxidos 5,8. Oxidação, quebra da cadeia e formação de compostos de menor peso molecular requerem condições mais drásticas. A isomerização acarreta uma diminuição da atividade pró-vitâmica A do carotenóide e diminuição da cor, fenômeno não perceptível ao olho humano. O rearranjo epóxi-furanóide resulta em uma maior diminuição da cor.

Devido às transformações e/ou degradações de nutrientes que podem ocorrer durante o processamento de alimentos é importante a obtenção de dados de alimentos processados. Outra dificuldade é que as tabelas de composição de alimentos não consideram estes como realmente são ingeridos (efeito do processamento doméstico, artesanal ou industrial), disponibilizando, assim, dados não compatíveis com a realidade brasileira. Aliado a esse fato, segundo LAJOLO (1987), nos países em desenvolvimento, e em especial no Brasil, há uma grande necessidade de obtenção de dados de composição de alimentos produzidos no próprio país, pois na maioria das vezes estes são obtidos através de extrapolações dos dados de países desenvolvidos. Deste modo, se faz imprescindível a obtenção de dados sobre a composição de alimentos processados no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GROSS, J. Pigments in Fruits. Academic Press, Londres, 1987. p. 87-258.
- GOODWIN, T. W. Distribution of carotenoids. In: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. 2nd ed. TW. Goodwin (Ed.), Academic Press, Londres, 1976.
- KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. *Pure Appl. Chem.* 66: 1003-1010, 1994.
- LAJOLO, F. M. Efeito do processamento sobre o valor nutricional dos alimentos. Situação na América Latina e Caribe, e importância para elaboração de tabelas de composição. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 37: 666-672, 1987.
- OLSON, J. A. Biological actions of carotenoids. *J. Nutr.* 119: 94-95, 1989.
- ZIEGLER, R. G. Vegetables, fruits, and carotenoids and risk of cancer. *Amer. J. Clin. Nutr.* 53: 251-259, 1991.

OBJETIVOS

Devido ao crescimento do mercado de alimentos processados e considerando-se a falta de dados de tabelas nutricionais sobre carotenóides dos mesmos, o presente estudo teve por objetivos:

1. A determinação da composição de carotenóides e valor de vitamina A em maracujá-amarelo *in natura* comercializado em Campinas, Brasil.
2. A determinação da composição de carotenóides e valor de vitamina A em diferentes produtos comerciais de maracujá (polpa congelada, suco pasteurizado, bebida à base de soja, bebida à base de iogurte e suco concentrado congelado açucarado).
3. A determinação da composição de carotenóides pró-vitamínicos A de vários produtos de manga (polpa congelada, suco integral, suco pronto para beber, suco concentrado e suco concentrado congelado açucarado).
4. A determinação da composição de carotenóides e valor de vitamina A em polpas congeladas comerciais de açaí.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. CAROTENÓIDES DE MARACUJÁ

Segundo HOEHNE, citado por MEDINA (1980), cerca de 150 espécies de *Passiflora* são nativas do Brasil, das quais mais de 60 produzem frutos que podem ser aproveitados direta ou indiretamente como alimentos. O maracujá-amarelo (*P. flavicarpa*), o mais cultivado no Brasil, reúne algumas vantagens sobre o maracujá-roxo (*P. edulis*), tais como maior resistência a moléstias, particularmente à murcha ou fusariose, maior produtividade, maior tamanho, produzindo mais suco por unidade e suco mais ácido, o que dá ao processador flexibilidade para adição de açúcar (COOPER & BROSTOWICZ, citado por MEDINA, 1980).

O maracujá-amarelo é cultivado em quase todo o território nacional, destacando-se como principais produtores os Estados do Pará, Bahia, Sergipe, São Paulo e Minas Gerais. Juntos, são responsáveis pela liderança brasileira na produção mundial dessa fruta (MELETTI & MAIA, 1999). A produção de maracujá no Brasil vem sofrendo oscilações nos últimos dez anos, apresentando um máximo de produção em 1992 e 1996, com respectivamente, 418.246 e 409.497 toneladas e uma queda em 1998, com 298.255 toneladas, sendo que a região Nordeste foi responsável por 44,5% da produção destes frutos, seguida pelas regiões Sudeste (35,4%) e Norte (12%) (AGRIANUAL, 2001). O Brasil é o maior exportador mundial de suco de maracujá (CHAN, 1993), sendo que cerca de 85% da produção brasileira destina-se à produção de sucos (MARINO & MENDES, 2001). O maracujá-amarelo não é utilizado normalmente para o consumo direto como fruto de mesa, devido à sua elevada acidez e por ser constituído de numerosas sementes contidas em micelas, que possuem forte sabor e coloração amarela devido à presença de carotenóides.

A Tabela 1 apresenta trabalhos, onde os autores determinaram a composição de carotenóides de maracujá.

TABELA 1. Carotenóides encontrados em maracujá e seus produtos.

Tipo de Produto	Nº de amostras	Procedência	Carotenóides (µg/g)	Referência
Suco de maracujá-roxo*	não especificado	não especificada	β-caroteno, ζ-caroteno, α-caroteno, fitoflueno e três carotenóides não identificados	PRUTHI & LAL (1958)
Frutos <i>in natura</i> de maracujá-roxo	não especificado	Angola (Quênia)	β-caroteno (2,7), ζ-caroteno (3,2), fitoflueno (3,5), auroxantina*, β-apo-12'-carotenal*, β-apo-8'-carotenal*, criptoxantina*, mutatoxantina*	LEUENBERGER & THOMMEN (1972)
Suco processado da cv amarela	2 marcas	Brasil (Nordeste)	β-caroteno (1,1-2,3), ζ-caroteno (3,6-6,3), α-caroteno (traços), neurosporeno (1,1-2,2), <i>cis</i> -neurosporeno (0,4-0,5), γ-caroteno (traços), licopeno (traços), aurocromo (traços), auroxantina (traços), criptocromo (traços)	CECCHI & RODRIGUEZ-AMAYA (1981)
Frutos <i>in natura</i> da cv amarela*	3 lotes	Brasil (Campinas)	β-caroteno, ζ-caroteno (principal), fitoflueno, fitoeno, neurosporeno, licopeno, prolicopeno, epoxi-β-caroteno, β-criptoxantina, β-citraurina, anteraxantina, violaxantina, neoxantina	MERCADANTE <i>et al.</i> (1998)

*Os carotenóides não foram quantificados.

A primeira investigação sobre carotenóides de maracujá data de 1958 e foi conduzida por PRUTHI & LAL em suco de maracujá roxo, estes autores encontraram β -caroteno como sendo o carotenóide majoritário com 57,8% do total de carotenóides, seguido de ζ -caroteno (8%), α -caroteno (7,5%), fitoflueno e outros não identificados. LEUMBERGER & THOMMEN (1972) também analisaram maracujá roxo proveniente da África, porém estes autores encontraram em suco fresco destes frutos, fitoflueno (37,2%) como sendo o carotenóide majoritário, seguido de ζ -caroteno (34,0%), β -caroteno (28,7%) e outros carotenóides que não foram quantificados (auroxantina, β -apo-12'-carotenal, β -apo-8'-carotenal, criptoxantina e mutatoxantina).

Já CECCHI & RODRIGUEZ-AMAYA (1981) analisaram suco comercial brasileiro e encontraram ζ -caroteno (56 a 58%) como sendo o carotenóide majoritário, seguido de β -caroteno (18 a 20%), neurosporeno (18 a 19%) e *cis*-neurosporeno (4 a 6%), além de outros carotenóides em quantidades traços (γ -caroteno, licopeno, aurocromo, auroxantina e criptocromo). Apesar de não especificado, o maracujá do suco analisado por CECCHI & RODRIGUEZ-AMAYA (1981) é provavelmente da variedade amarela, pois somente esta variedade é destinada à produção de suco no Brasil. Outro trabalho, utilizando maracujá-amarelo cultivado no Brasil, confirmou a identidade de 13 carotenóides em frutos *in natura*, sendo o ζ -caroteno o carotenóide principal (MERCADANTE *et al.*, 1998). Estes autores encontraram em maracujá-amarelo, além dos citados no trabalho anterior, fitoflueno, fitoeno, prolicopeno, epóxi- β -caroteno, β -criptoxantina, β -citraurina, anteraxantina, violaxantina e neuxantina, porém não encontraram α -caroteno, *cis*-neurosporeno, γ -caroteno, aurocromo, auroxantina e criptocromo.

Somente os carotenóides ζ -caroteno e β -caroteno foram encontrados tanto na variedade roxa, quanto na amarela.

2. CAROTENÓIDES DE MANGA

A manga destaca-se como uma fruta de alto valor comercial em muitas regiões do mundo, principalmente as tropicais. O Brasil é o quinto produtor mundial, sendo a Índia o principal produtor.

No Brasil, a região Nordeste lidera a produção de manga, sendo que em 1998, esta produziu 430.976 toneladas contra 354.143 toneladas do Sudeste. Juntas, as duas regiões produzem 93% da produção nacional, que foi, naquele ano de 843.467 toneladas. A produção no Nordeste é distribuída entre Bahia (116.264 ton), Pernambuco (86.022 ton), Paraíba (66.115 ton), Ceará (47.346), Rio Grande do Norte (33.324 ton), Sergipe (30.574 ton), Piauí (25.314 ton), Maranhão (15.518 ton) e Alagoas (10.498) (AGRIANUAL, 2001).

A manga é rica em carotenóides que são os responsáveis pela coloração amarelo-laranja de sua polpa.

Como mostra a Tabela 2, a quantidade de β -caroteno variou de 5,8 a 74,4 $\mu\text{g/g}$ em manga *in natura*, dependendo do cultivar/variedade da manga, região de cultivo e estágio de maturação.

Assim como CHAUDHARAY (1950) e JOHN *et al.* (1970), MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA (1998) reportaram que durante o amadurecimento da manga os teores de β -caroteno praticamente triplicaram.

TABELA 2. Carotenóides encontrados em manga *in natura*.

Cultivares de manga <i>in natura</i>	Nº de amostras	Procedência	Carotenóides (µg/g)	Referência
Haden, Bourbon, Extrema, Ouro, Tommy Atkins	5 lotes de cada cv.	Brasil (São Paulo e Mato Grosso)	β-caroteno (4,9-27,0), luteoxantina (0,8-5,5), violaxantina (0,7-3,2), mutatoxantina (ND-2,0), α-criptoxantina (0,3-1,1), auroxantina (ND-0,9), mutatocromo (ND-0,1), ζ-caroteno (ND-0,1)	GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA (1989)
Keitt e Tommy Atkins	3 lotes de cada cv.	Brasil (Araraquara)	all- <i>trans</i> -β-caroteno (5,8-6,7), β-criptoxantina (<i>cis</i> : tr-0,1 e <i>trans</i> : 0,1-0,2), all- <i>trans</i> -zeaxantina (0,5-0,8), <i>cis</i> + <i>trans</i> -luteoxantina (2,7), violaxantina (<i>trans</i> :17,5-18,0; 9- <i>cis</i> : 7,2-9,0 e 13- <i>cis</i> : ND-0,7), neoxantina (<i>cis</i> : 0,3-0,4 e <i>trans</i> : 1,9-6,6)	MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA (1998)
Keitt	3 lotes	Brasil (Bahia)	all- <i>trans</i> -β-caroteno (15,1), β-criptoxantina (<i>cis</i> : 0,1 e <i>trans</i> : 0,3), all- <i>trans</i> -zeaxantina (0,8), <i>cis</i> + <i>trans</i> -luteoxantina (3,8), violaxantina (<i>trans</i> : 21,1; 9- <i>cis</i> : 10,1 e 13- <i>cis</i> : 1,4), neoxantina (<i>cis</i> : 0,1 e <i>trans</i> : 2,1); luteína e mutatocromo (não detectados por CLAE)	MERCADANTE <i>et al.</i> (1997)

continua...

TABELA 2. Carotenóides encontrados em manga *in natura*. Continuação

Cultivares de manga <i>in natura</i>	Nº de amostras	Procedência	Carotenóides (µg/g)	Referência
não especificado*	13 lotes	Brasil (Rio de Janeiro)	β-caroteno (8,2-28,7)	WILBERG & RODRIGUEZ-AMAYA (1995)
Haden e Tommy Atkins	5 lotes de cada cv.	Brasil (região não especificada)	all- <i>trans</i> -β-caroteno (12,5-15,5), <i>trans</i> -α-criptoxantina (0,3 - 0,4) e 13- <i>cis</i> -β-caroteno (tr em 3 lotes)	GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA (1994)
Alphonso	1 lote	Índia	fitoeno (4,6), fitoflueno (8,6), <i>cis</i> -β-caroteno (0,5), β-caroteno (74,4), γ-caroteno (0,01), 5,6-epóxi-β-caroteno (1,1), mutatocromo (1,9), criptoxantina (0,8), violaxantina (1,6), <i>cis</i> -violaxantina (11,3), anteraxantina (1,3), <i>cis</i> -anteraxantina (0,6), zeaxantina (0,01), luteoxantina (14,1), mutatoxantina (0,95), auroxantina (3,4).	JUNGALWALA & CAMA (1963)

* Somente o β-caroteno foi quantificado.

ND: não detectado

tr: traços

GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA (1989) determinaram a composição de carotenóides de cinco variedades de manga comercializadas no Brasil. Os teores de β -caroteno e carotenóides totais variaram, respectivamente, de 6,71 a 10,52 $\mu\text{g/g}$ e 13,51 a 15,37 $\mu\text{g/g}$ na manga Bourbon, de 4,94 a 7,82 $\mu\text{g/g}$ e 12,76 a 14,95 $\mu\text{g/g}$ na variedade Haden, de 23,32 a 27,02 $\mu\text{g/g}$ e 28,68 a 31,21 $\mu\text{g/g}$ na variedade Extrema, de 16,76 a 20,05 $\mu\text{g/g}$ e 22,17 a 25,98 $\mu\text{g/g}$ na variedade Ouro e de 12,09 a 14,05 $\mu\text{g/g}$ e 17,65 a 19,72 $\mu\text{g/g}$ na variedade Tommy Atkins.

MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA (1998) encontraram teores de β -caroteno similares nos cultivares de manga Keitt e Tommy Atkins, de 6,7 e 5,8 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. Devido ao maior teor de *all-trans* e *cis*-violaxantina na manga cultivar Tommy Atkins, esta apresentou teor de carotenóides totais (51,2 $\mu\text{g/g}$) maior que a cultivar Keitt com 38,0 $\mu\text{g/g}$. Como mostra a Tabela 2, diferenças substanciais nos teores de carotenóides foram encontradas quando se analisou manga cultivar Keitt cultivadas nos Estados de São Paulo (MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA, 1998) e da Bahia (MERCADANTE *et al.*, 1997).

É interessante ressaltar que as cultivares Bourbon, Extrema e Ouro (GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA, 1989) apresentaram teores de β -caroteno superiores às cultivares Haden, Tommy Atkins e Keitt (GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA, 1989; MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA, 1998). Variedades não especificadas cultivadas no Estado do Rio de Janeiro (WILBERG & RODRIGUEZ-AMAYA, 1995) também apresentaram níveis de β -caroteno superiores às cultivares Haden, Tommy Atkins e Keitt que atualmente apresentam maior valor comercial que as demais mangas brasileiras. A manga cultivar Alphonso, cultivada na Índia, apresentou teor de β -caroteno (74,4 $\mu\text{g/g}$) muito superior aos teores encontrados em todos os estudos realizados com mangas cultivadas no Brasil (GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA, 1989 e 1994; WILBERG & RODRIGUEZ-AMAYA, 1995; MERCADANTE *et al.*, 1997; MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA, 1998).

A Tabela 3 apresenta alguns trabalhos que investigaram a composição de carotenóides em produtos processados de manga.

TABELA 3. Carotenóides encontrados em produtos de manga.

Tipo de produto	Nº de amostras	Procedência	Carotenóides (µg/g)	Referência
"chutney", pedaços em calda e suco*	1 de "chutney", 1 de manga em calda, 2 de suco	Brasil (Rio de Janeiro)	β -caroteno em "chutney" (1,2), em manga em calda (17,8), em suco (5,2-5,4)	WILBERG & RODRIGUEZ-AMAYA (1995)
Suco pasteurizado comercial	3 marcas	Brasil (Campinas)	β -caroteno (6,3-11,7), β -criptoxantina (0,1-0,3) e auroxantina (3,8-6,4)	MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA (1998)
Fatiado congelado não comercial cv. Alphonso *	não especificado	Espanha (Madrid)	anteraxantina (<i>trans</i> e <i>cis</i>), violaxantina (<i>cis</i> - e <i>trans</i> -), luteoxantina (<i>trans</i> e <i>cis</i>), neocromo, luteína, <i>trans</i> -mutatocromo e β -caroteno	CANO & ANCOS, 1994
pedaços em calda cv. Alphonso *	não especificado	Espanha (Madrid)	β -caroteno (90%) e mutatocromo <i>cis</i> (5%) e <i>trans</i> (7%)	CANO & ANCOS, 1994
Pedaços em calda não comercial cv. Tommy Atkins	não especificado	Brasil (Mato Grosso)	β -caroteno (14,6), ζ -caroteno (0,1), α -criptoxantina (0,3), violaxantina (1,6), mutatoxantina (0,3), auroxantina (0,6), luteoxantina (2,5)	GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA (1987)
Purê de manga não comercial cv. Ouro	não especificado	Brasil (São Paulo)	β -caroteno (15,7), ζ -caroteno (0,1), α -criptoxantina (0,4), violaxantina (1,8), mutatoxantina (0,3), auroxantina (2,7), luteoxantina (1,5)	GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA (1987)

* Os carotenóides não foram quantificados.

* Somente o β -caroteno foi quantificado.

CANO & ANCOS (1994) observaram que os extratos de manga *in natura* e de manga congelada apresentaram a mesma composição qualitativa de carotenóides. Entretanto, o perfil de carotenóides encontrado em manga em calda enlatada foi significativamente diferente, pois o processo comercial levou à degradação das xantofilas. Estes autores não quantificaram os carotenóides e não separaram os isômeros *cis* de β -caroteno.

MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA (1998) também relataram um efeito marcante no perfil de carotenóides após processamento comercial para obtenção de suco de manga. Estes autores verificaram que ocorreu degradação de xantofilas e formação de auroxantina devido à conversão dos grupos 5,6-epóxido da violaxantina a 5,8-furanóxido presentes na auroxantina. Neste trabalho não foi investigada a presença de isômeros *cis* do β -caroteno.

GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA (1987) verificaram o efeito do processamento não comercial para obtenção de purê de manga e manga em pedaços em calda no perfil de carotenóides. Os autores reportaram que perdas de β -caroteno e dos outros carotenóides foram insignificantes no processamento de manga em pedaços; entretanto no purê houve diminuição dos teores de β -caroteno e formação de auroxantina, devido à conversão epóxi-furanóide. Estes autores também não investigaram a formação de isômeros *cis*.

3. AÇAÍ (*Euterpe Oleracea* Mart)

O açaí, fruto proveniente da Amazônia, vem ganhando mercado nas regiões Sudeste e Sul do Brasil devido às suas atribuídas qualidades nutritivas (Tabela 4).

TABELA 4. Tabela nutricional para 100g de açaí.

Proteínas: 13 g	Ferro: 26 mg
Fibras: 34 g	Fósforo: 227 mg
Lipídios: 17 g	Sódio: 56,4 mg
Potássio: 932 mg	Vitamina C: 17 mg
Cálcio: 286 mg	Vitamina E: 45 mg
Magnésio: 174 mg	

Fonte: AGUIAR *et al.* (1980).

O açaizeiro é uma palmeira da Amazônia Oriental, tipicamente tropical, encontrada nos Estados do Amapá, Pará e Maranhão. Ocorre em estado nativo, em agrupamentos densos em áreas de várzea, igapó e terra firme. A palmeira, de estirpe delgada, pode atingir até 25 m de altura, com troncos de 9 a 16 cm de diâmetro, com folhas grandes, finamente recortadas em tiras, de coloração verde-escura, atingindo freqüentemente 2 m de comprimento, suas flores são pequenas, agrupadas em grandes cachos pendentes, de coloração amarelada. Os frutos, de forma arredondada ou ovóide, aparecem em cachos de coloração violácea, quase negra quando maduros (ALTMAN, 1956).

Certas regiões Amazônicas são caracterizadas pela produção em grande escala do "vinho" e da polpa de açaí, visando suprir os mercados e indústrias regionais e mesmo o próprio país. A palmeira do açaí é uma espécie de grande importância sócio-econômica para o Amazonas, devido a seu enorme potencial do uso integral de seu material bruto.

Os frutos são largamente procurados para produção do tradicional "vinho ou suco de açaí", de consumo popular e para a fabricação de suco e polpa, também sendo utilizado para o preparo de sorvetes, picolés, geléias, corantes e mingau. O palmito é consumido fresco ou em conserva, a palha é utilizada para cobertura de casa, fabricação de chapéu, cesta, tapete e abanador, o caroço é utilizado como

adubo ou colar, e o tronco para a fabricação de ripas e caibros para construção (GOMES, 1975).

No sistema extrativo que atualmente vigora na exploração do açaizeiro, seus frutos destinam-se ao consumo local, pois são altamente perecíveis.

A cor violeta escura dos frutos é devido à presença de antocianinas (BOBBIO *et al.*, 2000). Não foram encontrados na literatura estudos sobre carotenóides de açaí.

4. ANÁLISE DE CAROTENÓIDES POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Desde 1970, o uso da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a análise de carotenóides vem aumentando, pois oferece algumas vantagens tais como: separação mais rápida e mais eficiente, não exposição da amostra à luz e ao oxigênio, improvável modificação na estrutura dos componentes da amostra devido à disponibilidade de fases estacionárias inertes e que possibilitam uma maior reprodutibilidade da separação. Todavia, uma verificação dos dados publicados revela que o potencial desta técnica não tem sido completamente aproveitado e os resultados quantitativos apresentados chegam a ser divergentes (KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

Como os carotenóides são compostos altamente susceptíveis à degradação, independentemente da técnica de análise, várias precauções devem ser tomadas durante a análise, tais como as citadas por MERCADANTE (1999): (1) uso de atmosfera inerte, trocando o ar por vácuo ou gás inerte (N_2 ou Ar), (2) evitar alta temperatura como temperatura máxima de 35°C no evaporador rotatório ou evaporação de pequenos volumes de solvente sob N_2 ou Ar; (3) estocagem dos extratos e carotenóides à baixa temperatura preferencialmente em congelador; (4) evitar luz, ácido e álcali e (5) efetuar a análise no menor tempo possível.

Além disso, os carotenóides ou extratos brutos devem ser armazenados secos, pois isomerização *cis-trans* pode ocorrer em solução mesmo na ausência de catalisador (MERCADANTE, 1999).

4.1 EXTRAÇÃO

A escolha do melhor solvente extrator depende do tipo de amostra, seu pré-tratamento e da composição de carotenóides (MERCADANTE, 1999).

Os solventes orgânicos miscíveis com água, como acetona, são os mais indicados para a extração de carotenóides de alimentos *in natura* que possuem alta porcentagem de água (DAVIES, 1976; MERCADANTE, 1999). De fato, este solvente tem sido o mais utilizado para extração de carotenóides de vegetais verdes (BRAUMANN & GRIMME, 1981, TAKAGI, 1985), de páprica e pimenta vermelha (FISHER & KOCIS, 1987; ALMELA *et al.*, 1991) e de frutas (GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA, 1994; MERCADANTE *et al.*, 1997 e 1998).

Amostras secas ou liofilizadas podem ser extraídas com solventes imiscíveis em água, como acetato de etila utilizado para goiaba liofilizada (MERCADANTE *et al.*, 1999) ou preferencialmente as amostras podem ser reidratadas, no caso de análise quantitativa, como para abóbora (ARIMA & RODRIGUEZ-AMAYA, 1988) e macarrão (PEREIRA *et al.*, 1998).

Existem outras opções de solventes, como tetraidrofurano que segundo KHACHIK *et al.* (1986) é o solvente mais adequado para a extração dos pigmentos de hortaliças, pois além de solubilizar facilmente os carotenóides, tem o poder de destruir o complexo proteína-carotenóide e evitar a formação de emulsão.

A adição de NaHCO_3 , MgCO_3 ou CaCO_3 é recomendada para neutralizar os ácidos liberados no rompimento dos tecidos. Antioxidantes, tais como BHT e pirogallol, também podem ser adicionados para evitar a oxidação (DAVIES, 1976).

4.2 SAPONIFICAÇÃO

A saponificação, pela hidrólise alcalina, é utilizada para hidrolisar os ésteres de carotenóides e remover lipídios e clorofila (DAVIES, 1976; MERCADANTE, 1999). Diferentes concentrações de álcali, tempo e temperatura têm sido empregados.

Um procedimento geralmente utilizado em alimentos é a adição de KOH 10% em metanol ao extrato hexânico de carotenóides que é deixado no escuro à temperatura ambiente por uma noite. Empregando tais condições, KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA (1999) mostraram que o tempo de 4 horas não foi suficiente para a hidrólise total das xantofilas de mamão, o que foi conseguido com o período de uma noite. Entretanto, um tempo de saponificação de 3 horas foi suficiente para hidrolisar completamente os ésteres de produtos de cajá (HAMANO & MERCADANTE, 2001).

Vários autores excluíram a etapa de saponificação, visando evitar a degradação e diminuir o tempo de análise, desenvolvendo métodos para a separação dos ésteres de diversas frutas como abóbora (KHACHIK & BEECHER, 1988; KHACHIK *et al.*, 1988), pêssego (KHACHIK *et al.*, 1989), páprica (GREGORY *et al.*, 1987; SCALIA & FRANCIS, 1989), suco de laranja (PHILIP *et al.*, 1988), caqui e mamão (PHILIP & CHEN, 1988).

BUSHWAY & WILSON (1982) relataram não ter havido diferença nos teores de α - e β -caroteno entre amostras saponificadas (condições não especificadas) e não saponificadas. Entretanto, KHACHIK *et al.* (1986) reportaram perda de 6% de β -caroteno e de 17 a 84% de xantofilas em brócolis, após saponificação com 30% de KOH metanólico à temperatura ambiente.

4.3 SEPARAÇÃO

Apesar da possibilidade da CLAE proporcionar alta resolução e melhor reprodutibilidade do que a cromatografia em coluna clássica (RUEDI, 1985), é muito difícil promover a separação completa dos carotenóides e suas respectivas formas isoméricas em uma mesma corrida. Deste modo, a análise dos carotenóides tem seguido duas abordagens: determinação de β -caroteno em suas formas isoméricas e determinação da composição completa de carotenóides sem separação dos isômeros geométricos.

As primeiras tentativas para a separação de isômeros por CLAE foram feitas empregando colunas de alumina (VECCHI *et al.*, 1981) ou de hidróxido de cálcio (TSUKIDA *et al.*, 1982; CHANDLER & SCHWARTZ, 1987, 1988; SCHMITZ *et al.*, 1995). A resolução obtida foi considerada muito boa, mas essas colunas não estão disponíveis comercialmente.

Mais de 20 colunas comerciais de fase reversa (C_8 e C_{18}) foram testadas e somente em 3 colunas poliméricas (marca Vydac) foi obtida a separação dos isômeros de β -caroteno (QUACKENBUSH & SMALLIDGE, 1986). Em 1985, BUSHWAY já havia verificado a eficácia deste tipo de coluna na separação de isômeros. O'NEIL *et al.* (1991) avaliaram 3 colunas de C_{18} e de $Ca(OH)_2$ e confirmaram que as colunas poliméricas e de $Ca(OH)_2$ foram as mais eficientes para separar os isômeros de β -caroteno.

A coluna "Vydac" tem sido amplamente empregada para separar os carotenóides em alimentos processados como em suco de cenoura (CHEN *et al.*, 1995) e vegetais verdes (GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA, 1994; NYAMBAKA & RYLEY, 1996; MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Mais recentemente, uma coluna polimérica de fase reversa de C_{30} foi especialmente desenvolvida para separação de isômeros geométricos de carotenóides (SANDER *et al.*, 1994). Esta fase estacionária foi capaz de reter os carotenóides mais polares em um tempo de retenção que permitiu a separação entre

eles, além de mostrar uma seletividade superior para os isômeros geométricos. Dentre as colunas de fase reversa, a coluna C₃₀ foi a única capaz de separar os isômeros geométricos de carotenóides assimétricos (EMENHISER *et al.*, 1995). Esta coluna foi empregada para a separação de isômeros geométricos de β-caroteno em vegetais e frutas processados (LESSIN *et al.*, 1997) e de 39 carotenóides de suco de laranja (ROUSEFF *et al.*, 1996).

A maioria dos trabalhos visando a determinação da composição de carotenóides utiliza colunas de fase reversa, entretanto coluna de fase normal foi utilizada em alguns trabalhos como coluna de sílica para separar os carotenóides de diversas folhas (TAKAGI, 1985) e de 16 carotenóides em páprica e em vários cultivares de pimenta vermelha (ALMELA *et al.*, 1990, 1991). A coluna ciano foi empregada para separar 8 carotenóides em manga (MERCADANTE *et al.*, 1997).

Um exemplo interessante da evolução das colunas cromatográficas é o caso de folhas verdes, onde se observa um aumento no número de carotenóides separados de 4 (neoxantina, violaxantina, luteína e caroteno), utilizando-se uma coluna de fase reversa C₁₈ (37-75 μm, 61 cm x 7 mm d.i.) para 6 (neoxantina, violaxantina, luteína-5,6-epóxido, anteraxantina, luteína e β-caroteno) com uma coluna C₈ (10 μm, 25 cm x 4,6 mm d.i.) e uma diminuição no tempo de corrida de 100 (ESKINS *et al.*, 1977) para 18 minutos (BRAUMANN & GRIMME, 1981).

KIMURA (2000) separou na linha de base 5 carotenóides de folha verde em coluna C₁₈ (3 μm, 15 cm x 4,6 mm d.i.) utilizando gradiente de solvente, com tempo de 42 minutos de corrida.

4.4 IDENTIFICAÇÃO

Na maioria dos trabalhos a identificação dos carotenóides foi realizada por comparação do tempo de retenção com padrões ou amostras de composição conhecida, complementado por co-cromatografia e pelo espectro de absorção no

UV-visível (SIMON & WOLFF, 1987; DAOOD *et al.*, 1987; ROUSEFF *et al.*, 1992; GRANADO *et al.*, 1992; GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA, 1994).

Além dos parâmetros citados acima, foram utilizadas reações químicas como redução com boroidreto de sódio (MATUS *et al.*, 1981; BARANYAI *et al.*, 1982; DELI *et al.*, 1992), rearranjo epóxido-furanóxido pela adição de HCl (MATUS *et al.*, 1981, BRAUMANN & GRIMME, 1981; CANO, 1991), metilação e isomerização catalisada com iodo (HAMANO & MERCADANTE, 2001).

MERCADANTE *et al.* (1997) também utilizaram os parâmetros tradicionais e reações de metilação, isomerização e rearranjo epóxido-furanóxido para identificar os carotenóides de manga. Estes autores confirmaram a identidade dos carotenóides separados por espectrometria de massas (EM) não acoplada a CLAE.

KHACHIK *et al.* (1986, 1992) utilizaram EM acoplada a CLAE, além dos parâmetros citados acima, para identificar os carotenóides majoritários de vegetais verdes e tomate.

4.5 QUANTIFICAÇÃO

Em CLAE, as concentrações dos compostos são determinadas por comparação com soluções padrões de concentração conhecida. Então qualquer erro na quantificação das soluções padrões irá refletir na quantificação dos compostos da amostra.

Atualmente, inúmeros padrões de carotenóides, com diferentes graus de pureza, podem ser adquiridos (www.carotenature.com). Entretanto, devido à alta instabilidade dos carotenóides, reações de isomerização e degradação ocorrem após abertura da embalagem.

A quantificação absoluta de carotenóides tem sido feita por padronização interna com diferentes padrões internos como o β -apo-8'-carotenal (NOGA & LENZ, 1983; KHACHIK *et al.*, 1986; SIMON & WOLFF, 1987), cantaxantina (BARANYAI *et al.*, 1982; GREGORY *et al.*, 1987), decapreno- β -caroteno (KHACHIK & BEECHER, 1985), nonapreno- β -caroteno (KHACHIK & BEECHER, 1987) e Sudan I (QUACKENBUSH & SMALLIDGE, 1986; CARVALHO *et al.*, 1992; MERCADANTE *et al.*, 1997; MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA, 1998).

Entretanto, com exceção do Sudan I que co-elui com as xantofilas di- e poli-hidroxiladas, os outros carotenóides utilizados como padrão interno são instáveis. Por isso, atualmente a grande maioria dos trabalhos (HAMANO & MERCADANTE, 2001; ASSUNÇÃO, 2001; GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA, 1998; WILBERG & RODRIGUEZ-AMAYA, 1995; CANO & ANCOS, 1994; DAOOD *et al.*, 1992; ABDEL-KADER, 1991; CANO, 1991; BUSHWAY, 1986; BUSHWAY & WILSON, 1982; BRAUMANN & GRIMME, 1981) tem empregado padronização externa para quantificar os carotenóides, através de isolamento e purificação de carotenóides de fontes naturais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-KADER, Z.M. Determination of carotenoids in foods by high-performance liquid chromatography. *Die Nahrung* 35: 689-693, 1991.
- AGRIANUAL. *Anuário da Agricultura Brasileira*: 381- 406, 2001.
- AGUIAR, J. P. L.; MARINHO, H. A.; REBELO, Y. S. & SHRIMPTON, R. Aspectos nutritivos de alguns frutos da Amazônia. *Acta Amazônica* 10:755-758, 1980.
- ALMELA, L.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; CANDELA, M. E. & ALCÁZAR, M. D. Separation and determination of individual carotenoids in a *Capsicum* cultivar by normal-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 502: 95-106, 1990.
- ALMELA, L.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; CANDELA, M. E. & ALCÁZAR, M. D. Carotenoid composition of new cultivars of red pepper for paprika. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1606-1609, 1991.
- ALTMAN, R. F. A. Instituto Agrônomo do Norte. O caroço de açaí (*Euterpe oleracea*). *Boletim Técnico Agrônomo do Norte* 3: 109 -111, 1956.
- ASSUNÇÃO, R.B. Carotenóides e vitamina C em produtos processados de caju e em frutos *in natura* de diferentes variedades e localizações geográficas, Tese de Mestrado – UNICAMP, Campinas - SP, 2001.
- ARIMA, H. K. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition and vitamin A value of commercial Brazilian squashes and pumpkins. *J. Micronutrient Anal.* 4: 177 - 191, 1988.
- BARANYAI, M.; MATUS, Z. & SZABOLCS, J. Determination, by HPLC, of carotenoids in paprika products. *Acta Alimentaria* 11: 309 - 23, 1982.
- BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRÃO, P. A.; BOBBIO, P. A. & FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe Oleracea* Mart.). *Ciênc. Tecnol. Alim.* 20: 388 - 390, 2000.

- BRAUMANN, T. & GRIMME, L. H. Reversed-phase high-performance liquid chromatography of chlorophylls and carotenoids. *Biochim. Biophys. Acta* 637: 8-17, 1981.
- BUSHWAY, R. J. & WILSON, A. M. Determination of α - and β -carotene in fruit and vegetables by HPLC. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 15: 165-169, 1982
- BUSHWAY, R. J. Separation of carotenoids in fruits and vegetables by high performance liquid chromatography. *J. Liq. Chromatogr.* 8: 1527-1547, 1985.
- BUSHWAY, R. J. Determination of α - and β -carotene in some raw fruits and vegetables by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 34:409-412, 1986.
- CANO, M. P. & ANCOS, B. Carotenoid and carotenoid ester composition in mango fruit as influenced by processing method. *J. Agric. Food Chem.* 42:2737-2742, 1994.
- CANO, M. P. HPLC separation of chlorophyll and carotenoid pigments of four kiwi fruit cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1786-1791, 1991.
- CARVALHO, P. R. N.; COLLINS, C. H. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Comparison of provitamin A determination by normal-phase gravity-flow column chromatography and reversed-phase high performance liquid chromatography. *Chromatographia* 33: 133 - 137, 1992.
- CECCHI, H. M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. Carotenóides e valor de vitamina A em suco de maracujá processado. *Ciência e Cultura* 33: 72 - 76, 1981.
- CHAN, H. T. Passion fruit, papaya and guava juices. In "*Fruit Juice Processing Technology*"; Nagy, S., Chen, C.S., Shaw, P.E. (Eds.). Agscience Inc., Auburndale, 1993. pp 334 - 348.
- CHANDLER, L. A. & SCHWARTZ, S. J. HPLC separation of *cis* - *trans* carotene isomers in fresh and processed fruits and vegetables. *J. Food Sci.* 52 (3): 669 - 672, 1987.

- CHANDLER, L. A. & SCHWARTZ, S. J. Isomerization and losses of *trans*- β -carotene in sweet potatoes, as affected by processing treatments. *J. Agric. Food Chem.* 36: 129-133, 1988.
- CHAUDHARY, M. T. Carotenoid pigments of different varieties of mangoes, changes during ripening. *J. Sci. Food Agric.* 1: 173-177, 1950.
- CHEN, B. H.; PENG, H. Y. & CHEN, H. E. Changes of carotenoids, color, and vitamin A contents during processing of carrot juice. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1912-1918, 1995.
- DAOOD, H. G.; BIACS, P. A.; HOSCHKE, A.; HARKEY-VINKLER, M. & HAJDU, F. Separation and identification of tomato fruit pigments by TLC and HPLC. *Acta Alimentaria* 16: 339-350, 1987.
- DAOOD, H. G.; BIACS, P. ; CZINKOTAI, B.; HOSCHKE, A. Chromatographic investigation of carotenoids, sugars and organic acids from *Diospyros kaki* fruits. *Food Chem.* 45: 151-155, 1992.
- DAVIES, B. H. Carotenoids. In: "*Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*" v.2. Goodwin, T. W. (Ed.), 2nd ed. Academic Press, London, 1976. pp.38-65.
- DELI, J.; MATUS, Z. & SZABOLCS, J. Carotenoid composition in the fruits of black paprika (*Capsicum annum* variety longum nigrum) during ripening. *J. Agric. Food Chem.* 40: 2072-2076, 1992.
- EMENHISER, C.; SANDER, L. C. & SCHWARTZ, S. J. Capability of a polymeric C₃₀ stationary phase to resolve *cis-trans* carotenoid isomers in reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 707: 205-216, 1995.
- ESKINS, K.; SCHOLFIELD, C. R. & DUTTON, H. J. High-performance liquid chromatography of plant pigments. *J. Chromatogr.* 135: 217-220, 1977.
- FISHER, C. & KOCIS, J. A. Separation of paprika pigments by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 35: 55-57, 1987.
- GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Changes in individual carotenoids on processing and storage of mango (*Mangifera indica*) slices and pureé. *Intern. J. Food Technol.* 22: 451-460, 1987.

- GODOY, H.T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. Composição de carotenóides em nectarina (*Prunus persica*) brasileira. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 57: 73-79, 1998.
- GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. *Technol. Lebensm.-Wissens.* 22: 100-103, 1989.
- GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Occurrence of *cis*-isomers of provitamin A in Brazilian fruits. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1306-1313, 1994.
- GOMES, R. P. Fruticultura brasileira. 2ª. ed. Nobel, São Paulo, 1975. 446p.
- GRANADO, F.; OLMEDILLA, B.; BLANCO, I. & ROJAS-HIDALGO, E. Carotenoid composition in raw and cooked Spanish vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 40: 2135-2140, 1992.
- GREGORY, G.K.; CHEN, T.S. & PHILIP, T. Quantitative analysis of carotenoids and carotenoids esters in fruits by HPLC: red bell peppers. *J. Food Sci.* 52: 1071-1073, 1987.
- HAMANO, P. S. & MERCADANTE, A. Z. Composition of carotenoids from commercial products of caja (*Spondias lutea*). *J. Food Compos. Anal.* 14: 335-343, 2001.
- JOHN, J.; SUBBARAYAN, C. & CAMA, H. R. Carotenoids in three stages of ripening of mango. *J. Food Sci.* 35: 262, 1970.
- JUNGALWALA, F. B. & CAMA, H. R. Carotenoids in mango (*Mangifera indica*) fruit. *Indian J. Chem.* 1: 36-40, 1963.
- KHACHIK, F. & BEECHER, G. R. Decapreno- β -carotene as an internal standard for the quantification of the hydrocarbon carotenoids by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 346: 237-246, 1985.
- KHACHIK, F. & BEECHER, G. R. Application of C-45- β -carotene as an internal standard for the quantification of carotenoids in yellow/orange vegetables by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 35: 732-738, 1987.
- KHACHIK, F. & BEECHER, G. R. Separation and identification of carotenoids and carotenol fatty acid esters in some squash products by liquid chromatography. 1.

- Quantification of carotenoids and related esters by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 36: 929-937, 1988.
- KHACHIK, F.; BEECHER, G. R. & WHITTAKER, N. F. 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: 603-616, 1986.
- KHACHIK, F.; BEECHER, G. R. & LUSKY, W. R. Separation and identification of carotenoids and carotenol fatty acid esters in some squash products by liquid chromatography. 2. Isolation and characterization of carotenoids and related esters. *J. Agric. Food Chem.* 36: 938-946, 1988.
- KHACHIK, F.; BEECHER, G. R. & LUSKY, W. R. Separation, identification, and quantification of the major carotenoids in extracts of apricots, peaches, cantaloupe, and pink grapefruit by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 37: 1465-1473, 1989.
- KHACHIK, F.; GOLI, M. B.; BEECHER, G. R.; HOLDEN, J.; LUSBY, W. R., TENORIO, M. D. & BARRERA, M. R. Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 40: 390-398, 1992.
- KIMURA, M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Sources of errors in the quantitative analysis of food carotenoids by HPLC. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 49: 58-66, 1999.
- KIMURA, M. Aprimoramento da metodologia para determinação de carotenóides em alimentos. Tese de Doutorado – UNICAMP, Campinas – SP, 2001.
- LESSIN, W.J. ; CATIGANI, G. L.; SCHWARTZ, S. J. Quantification of *cis-trans* isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 45: 3728-32, 1997.
- LEUENBERGER, F. J. & THOMMEN, H. Zum Vorkommen von carotinoiden in der Passionsfrucht. *Z. Lebensm. -Unters. -Forsch.* 149: 279 -282, 1972.
- MARINO, L.K. & MENDES, M. Fraca presença das frutas brasileiras no exterior. *AGRIANUAL*: 22-25, 2001.

- MATUS, Z.; BARANYAI, M.; TOTH, G.; SZABOLCS, J. Identification of oxo, epoxy and some *cis*-carotenoids in high performance liquid chromatography. *Chromatographia* 28: 249-52, 1981.
- MEDINA, J. C. Maracujá – Cultura. In: “*Maracujá da Cultura ao Processamento e Comercialização*”. Série Frutas Tropicais. 9 – Maracujá, ITAL, 1980.
- MELETTI, L.M.M. & MAIA, M.L. “*Maracujá: Produção e Comercialização*”. Boletim Técnico, 181. Instituto Agronômico de Campinas (IAC), 1999.
- MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. & BRITTON, G. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. *J. Agric. Food Chem.* 45: 120-123, 1997.
- MERCADANTE, A. Z., BRITTON, G. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoids from yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). *J. Agric. Food Chem.* 46: 4102-4106, 1998.
- MERCADANTE, A. Z. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. *J. Agric. Food Chem.* 46: 128-130, 1998.
- MERCADANTE, A. Z. Chromatographic separation of carotenoids. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 49: 52s-57s, 1999.
- MERCADANTE, A. Z. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmação da identidade da α -criptoxantina e incidência de carotenóides minoritários provitamínicos A em verduras folhosas verdes. *Ciênc. Tecnol. Alim.* 2001 (aceito em 18/05/2001).
- NYAMBAKA, H. & RYLEY, J. An isocratic reversed-phase HPLC separation of the stereoisomers of the provitamin A carotenoids (α - and β -carotene) in dark green vegetables. *Food Chem.* 55: 63-72, 1996.
- NOGA, G. & LENZ, F. Separation of citrus carotenoids by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Chromatographia* 17: 139-142, 1983.
- O'NEIL, C. A.; SCHWARTZ, S. J. & CATIGNANI, G. L. Comparison of liquid chromatographic methods for determination of *cis-trans* isomers of beta-carotene. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 74: 36-42, 1991.

- PEREIRA, M. R., AMAYA-FARFAN, J.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação da metodologia analítica para determinação de β -caroteno em macarrão fortificado. *Ciênc. Tecnol. Alim.* 18: 35 -38, 1998.
- PHILIP, T.; CHEN, T.-S. & NELSON, D. B. Liquid chromatographic profiles of major carotenoid esters in commercially processed California Navel and Valencia orange juice concentrates. *J. Chromatogr.* 442: 249-265, 1988.
- PHILIP, T. & CHEN, T.-S. Quantitative analysis of major carotenoid fatty acid esters in fruits by liquid chromatography: persimmon and papaya. *J. Food Sci.* 53: 1720-1722, 1745, 1988.
- PRUTHI, J. S. & LAL, G. Carotenoids in passion fruit juice. *Food Res.* 23: 505-510, 1958.
- QUACKENBUSH, F. W. & SMALLIDGE, R. L. Nonaqueous reverse phase liquid chromatography system for separation and quantitation of provitamin A. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 69: 767-772, 1986.
- ROUSEFF, R.L.; SADLER, G.D.; PUTNAM, T.J. & DAVIS, J.E. Determination of α -carotene and other hydrocarbon carotenoids in red grapefruit cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 40: 47-51, 1992.
- ROUSEFF, R.; RALEY, L.; HOFSSOMMER, H. J. Application of diode array detection with a C-30 reversed phase column for the separation and identification of saponified orange juice carotenoids. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2176-81, 1996.
- RUEDI, P. A. Powerful tool in carotenoid research. *Pure Appl. Chem.* 57: 793-800, 1985.
- SANDER, L. C.; SHARPLESS, K. E., CRAFT, N. E.; WISE, A. S. Development of engineered stationary phases for the separation of carotenoid isomers. *Anal. Chem.* 66: 1667-74, 1994.
- SCALIA, S. & FRANCIS, G. W. Preparative scale reversed-phase HPLC method for simultaneous separation of carotenoids and carotenoid esters. *Chromatographia* 28: 129-132, 1989.

- SCHMITZ, H.H., EMENHISER, C. SCHWARTZ, S.J. HPLC separation of *cis-trans* carotene isomers using a calcium hydroxide stationary phase. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1212-1218, 1995.
- SIMON, P. W. & WOLFF, X. Y. Carotenes in typical and dark orange carrots. *J. Agric. Food Chem.* 35: 1017-22, 1987.
- TAKAGI, S. Determination of green leaf carotenoids by HPLC. *Agric. Biol. Chem.* 49: 1211-1213, 1985.
- TSUKIDA, K.; SAIKI, K.; TAKII, T. & KOYAMA, Y. Separation and identification of *cis/trans* β -carotenes by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 245: 559-564, 1982.
- VECCHI, M.; ENGLERT, G.; MAURER, R. & MEDUNA, V. Trennung und charakterisierung von beta-carotin-isomeren. *Helv. Chim. Acta* 64: 2746 -2758, 1981.
- WILBERG, V.C. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. HPLC Quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. *Technol. Lebensm.-Wissens. Technol.* 28: 474-480, 1995.

CAPÍTULO 2

COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES DE MARACUJÁ-AMARELO (*Passiflora edulis* flavicarpa) *IN NATURA*

(versão revisada enviada à revista Ciência e Tecnologia de Alimentos em 19/07/01)

RESUMO

A composição de carotenóides de maracujá-amarelo *in natura* (*Passiflora edulis*) comercializado em Campinas, Brasil, foi avaliada utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência com coluna C₁₈ Nova-Pak e acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10) como fase móvel. Em todas as amostras foram encontrados os seguintes carotenóides: β -caroteno, ζ -caroteno, prolicopeno, β -criptoxantina, *cis*- ζ -caroteno e 13-*cis*- β -caroteno, além de neurosporeno e γ -caroteno em alguns lotes. Em geral, os teores de carotenóides nos diversos lotes foram significativamente diferentes. Em dois dos cinco lotes analisados, o ζ -caroteno foi o carotenóide principal, contribuindo com 41 e 62% do total de carotenóides, enquanto o β -caroteno contribuiu com 24 e 11%, respectivamente. Já em outros dois lotes, o β -caroteno foi o majoritário, com 55 e 74% do total, enquanto o ζ -caroteno contribuiu com 12 e 9%, respectivamente. Em um dos lotes o *cis*- ζ -caroteno esteve presente em maior concentração com 32% do total de carotenóides, seguido por β -caroteno com 30% e ζ -caroteno com 17%. Este tipo de inversão entre os carotenóides majoritários não é comumente encontrado em frutas e vegetais.

Palavras-chave: carotenóides, maracujá-amarelo, *Passiflora edulis*, cromatografia líquida de alta eficiência

SUMMARY

CAROTENOID COMPOSITION OF FRESH YELLOW PASSION FRUIT (*Passiflora*

edulis). The carotenoid composition of fresh yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) commercialized in Campinas, Brazil, was evaluated by high performance liquid chromatography with Nova-Pak C₁₈ column and acetonitrile/methanol/ethyl acetate (75:15:10) as mobile phase. In all the samples, the following carotenoids were found: β -carotene, ζ -carotene, polycopene, β -cryptoxanthin, *cis*- ζ -carotene and 13-*cis*- β -carotene. Besides that neurosporene and γ -carotene were also found in some lots. In general, the carotenoid contents were significantly different amongst the lots. In two of the five lots, ζ -carotene was the major carotenoid, contributing with 41 and 62% of the total carotenoid content, while the relative amount of β -carotene was 24 and 11%, respectively. In other two lots, β -carotene was the main carotenoid, with 55 and 74% of the total carotenoid, followed by ζ -carotene with 12 and 9%, respectively. In one of the lots, *cis*- ζ -carotene was present as the major carotenoid, with 32%, followed by β -carotene with 30% and 17% of ζ -carotene. The inversion occurred between the main carotenoids is not frequently found in fruits and vegetables.

Keywords: carotenoids, yellow passion fruit, *Passiflora edulis*, high performance liquid chromatography.

1 – INTRODUÇÃO

Os carotenóides são corantes naturais de frutas, verduras, raízes, aves, certos peixes, crustáceos e alguns microrganismos. Estes pigmentos de cores que vão do amarelo ao vermelho têm despertado a curiosidade dos cientistas desde o aparecimento da química orgânica devido às suas relevantes funções e ações. Alguns carotenóides são capazes de serem convertidos em vitamina A e como tal desempenham um importante papel nutricional. Esta função adquire maior importância nos países em desenvolvimento, onde os vegetais e frutos ricos em carotenóides constituem as principais fontes de vitamina A [19]. Os carotenóides também exercem outras ações não relacionadas com a atividade provitamínica A, tais como, diminuição do risco de doenças degenerativas, prevenção da formação de catarata, redução da degeneração macular relacionada ao envelhecimento e redução do risco de doenças coronárias. Além disso, os carotenóides desempenham um papel fundamental como pigmento acessório na fotossíntese, agindo como coletor de energia e protetor contra foto-oxidação [13].

Cerca de 150 espécies de *Passiflora* são nativas do Brasil, das quais mais de 60 produzem frutos que podem ser aproveitados direta ou indiretamente como alimento. O maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa) é o mais cultivado no Brasil e destina-se predominantemente à produção de sucos. A produção brasileira de maracujá supera a de manga, goiaba, e mamão, sendo o Brasil o maior exportador mundial de suco de maracujá [7].

Embora a identidade dos carotenóides de maracujá-amarelo *in natura* já tenha sido confirmada por espectrometria de massas (EM) por MERCADANTE *et al.* [15], a quantificação não foi realizada por estes autores. Já CECCHI & RODRIGUEZ-AMAYA [6] quantificaram somente carotenóides de suco comercial de maracujá.

Este estudo teve por objetivo determinar a composição de carotenóides de maracujá-amarelo *in natura*.

2 – MATERIAL E MÉTODO

2.1 - Amostras

As amostras de maracujá-amarelo (*P. edulis flavicarpa*) foram adquiridas no comércio de Campinas, Brasil, durante o período de abril a julho de 1999. Foram analisados 5 lotes, sendo que cada lote da fruta *in natura* no estágio completo de amadurecimento consistiu de 4 unidades, cujas polpas foram misturadas e aproximadamente 12 g foram tomadas para análise. O estágio de amadurecimento foi determinado pela aparência visual da casca completamente amarela, por observação da polpa solta do pericarpo ao se agitar os frutos, e pelos valores de sólidos solúveis (11 a 14°Brix) e de pH (2,7 a 2,8).

2.2 – Análise de Carotenóides

O extrato de carotenóides foi preparado de acordo com MERCADANTE *et al.* [16]. As etapas principais foram extração dos pigmentos com acetona e saponificação com 10% KOH em metanol por uma noite à temperatura ambiente. Após remoção do álcali, o extrato foi concentrado em evaporador rotatório ($T \leq 35^{\circ}\text{C}$) até quase a secura e esta etapa foi concluída utilizando-se fluxo de N_2 . A extração foi realizada em duplicata sendo cada uma injetada duas vezes no cromatógrafo. Imediatamente antes da análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) o extrato foi dissolvido em 1ml de acetonitrila e metanol (1:1).

Utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Waters), equipado com detector de conjunto de diodos (Waters, modelo 996), forno para coluna, bomba quaternária (Waters, modelo 600), sistema de desgaseificação "on line", injetor "Rheodyne" com alça de amostra de 20 μl e sistema de processamento e aquisição de dados Millennium (Waters). Os carotenóides foram separados em coluna C_{18} Nova-Pak (4 μm de tamanho de partícula, 3,9 x 300 mm) e acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10) como fase móvel, com vazão de 1ml/min, e temperatura da coluna

mantida a 29°C. Os espectros foram adquiridos entre 250 e 600 nm e os cromatogramas foram processados no comprimento de onda de máximo de absorção (λ_{max}) de cada carotenóide.

A identificação dos carotenóides foi realizada através de informações obtidas dos espectros de absorção no UV-visível fornecidos pelo detector de conjunto de diodos, co-cromatografia com padrões, ordem de eluição na coluna e comparação dos tempos de retenção dos componentes da amostra com padrões conhecidos. Os comprimentos de onda máximos de absorção e o grau de estrutura fina do espectro, definido como %III/II, foram comparados com dados da literatura [4].

Os padrões de β -caroteno, β -criptoxantina e ζ -caroteno foram fornecidos pela F. Hoffmann-La Roche (Basiléia, Suíça). O padrão de prolicopeno foi obtido segundo SILVA & MERCADANTE [23], a partir de 400 g de polpa de frutos *in natura* de maracujá. Este procedimento envolveu extração, saponificação, cromatografia em coluna aberta (CCA) empacotada com alumina neutra (grau III) de onde a primeira fração eluída com éter de petróleo, contendo os carotenos, foi coletada. Esta fração foi submetida à cromatografia de camada delgada (CCD) em MgO/kieselguhr (1:1) desenvolvida com 15% de acetona em éter de petróleo. Seis bandas foram separadas e a banda 1.2 com $R_f = 0,25$, correspondente ao prolicopeno, foi raspada, eluída e novamente recromatografada em placa nas mesmas condições.

Foram construídas curvas de calibração para os principais carotenóides (β -caroteno, ζ -caroteno, prolicopeno e β -criptoxantina), com 6 a 9 níveis de concentração, em triplicata. O 13-*cis*- β -caroteno e o *cis*- ζ -caroteno foram quantificados utilizando-se as curvas dos respectivos carotenóides *trans*. A mistura de carotenóides foi quantificada utilizando-se a curva do β -caroteno. Pontos de concentração conhecida foram injetados diariamente para quantificação das amostras. Os carotenos incolores, fitoeno e fitoflueno, não foram quantificados.

O valor de vitamina A foi calculado de acordo com os fatores de conversão relatados pelo NAS-NRC [18], onde 6 μg de β -caroteno correspondem a 1 μg de

equivalente de retinol (ER). As bioatividades utilizadas foram: 100% para all-*trans*- β -caroteno, 50% para all-*trans*- β -criptoxantina [3] e de 50% para o 13-*cis*- β -caroteno.

A precisão entre extrações e injeções foi verificada para os principais carotenóides.

2.3 – Análise Estatística

A comparação entre as médias, duas a duas, foi feita mediante teste de Tukey, a um nível de significância de 0,0001 [21].

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores do coeficiente de variação (CV) obtidos entre extrações variaram de 1,8 a 3,2% para β -criptoxantina, de 1,6 a 2,7% para prolicopeno, de 1,0 a 3,1% para *cis*- ζ -caroteno, de 1,9 a 3,6% para ζ -caroteno e de 1,4 a 3,7% para β -caroteno. Estes valores são mais baixos ou comparáveis àqueles relatados para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) na literatura [5, 8, 16, 22]. Injeções em duplicata da mesma extração, como esperado, apresentaram valores de CV mais baixos, como de 0,0 a 1,0% para β -criptoxantina, de 0,0 a 1,8% para prolicopeno, de 0,0 a 0,4% para *cis*- ζ -caroteno, de 0,1 a 0,9% para ζ -caroteno e de 0,0 a 0,9% para β -caroteno. Estes valores são próximos aos obtidos por HAMANO & MERCADANTE [11]; SCOTT *et al.* [22]; BUSHWAY & WILSON [5] e menores que os obtidos por ASSUNÇÃO [2].

A *Figura 1* mostra o cromatograma do extrato de carotenóides do lote 1 cujo perfil foi semelhante ao do lote 2. Uma vez que os perfis de carotenóides dos lotes 3 e 5 foram semelhantes, a *Figura 2* apresenta o cromatograma relativo ao lote 3. O cromatograma referente ao lote 4 que mostrou um perfil diferente dos demais lotes está na *Figura 3*.

A identidade dos picos presentes nos cromatogramas das Figuras 1, 2 e 3 e suas características obtidas por CLAE estão apresentadas na Tabela 1. Os espectros de absorção no UV-visível dos pigmentos de maracujá obtidos pelo detector de arranjo de diodos estão apresentados no Anexo 1, Figuras 1 a 10. Em todos os lotes foram encontrados os seguintes carotenóides: β -criptoxantina, prolicopeno, *cis*- ζ -caroteno, ζ -caroteno, β -caroteno, 13-*cis*- β -caroteno e fitoeno. O γ -caroteno ocorreu em traços somente no lote 3 e traços de neurosporeno foi encontrado nos lotes 1 e 2. O fitoflueno foi encontrado em todos os lotes, porém co-eluiu com o β -caroteno.

O pico 4, presente em todas as amostras, caracterizou-se por ser uma mistura de carotenóides. Os carotenóides contidos nesta mistura co-eluíram em todas as fases móveis testadas para CLAE. Além disso, tentativas de separar esta mistura por CCA e CCD, para posterior identificação dos carotenóides, não foram bem sucedidas.

MERCADANTE *et al.* [15], utilizando EM, confirmaram a identidade dos carotenóides encontrados no presente estudo, além de licopeno, anteraxantina, violaxantina, neoxantina e β -citraurina, este último encontrado somente em um dos três lotes analisados de maracujá *in natura*. Porém, estes autores não encontraram *cis*- ζ -caroteno e 13-*cis*- β -caroteno, os quais foram detectados no presente trabalho. Isto se deve ao fato do isolamento dos carotenóides ter sido realizado no trabalho citado por CCA e CCD, ambas de fase normal, que não possibilitam a separação dos isômeros *cis-trans*; além disto a EM é uma técnica que não permite a identificação de isômeros geométricos.

Foram observadas concentrações significativamente diferentes ($p < 0,0001$) entre os mesmos carotenóides nos cinco lotes de frutos de maracujá *in natura* analisados no presente estudo, como pode ser observado na Tabela 2.

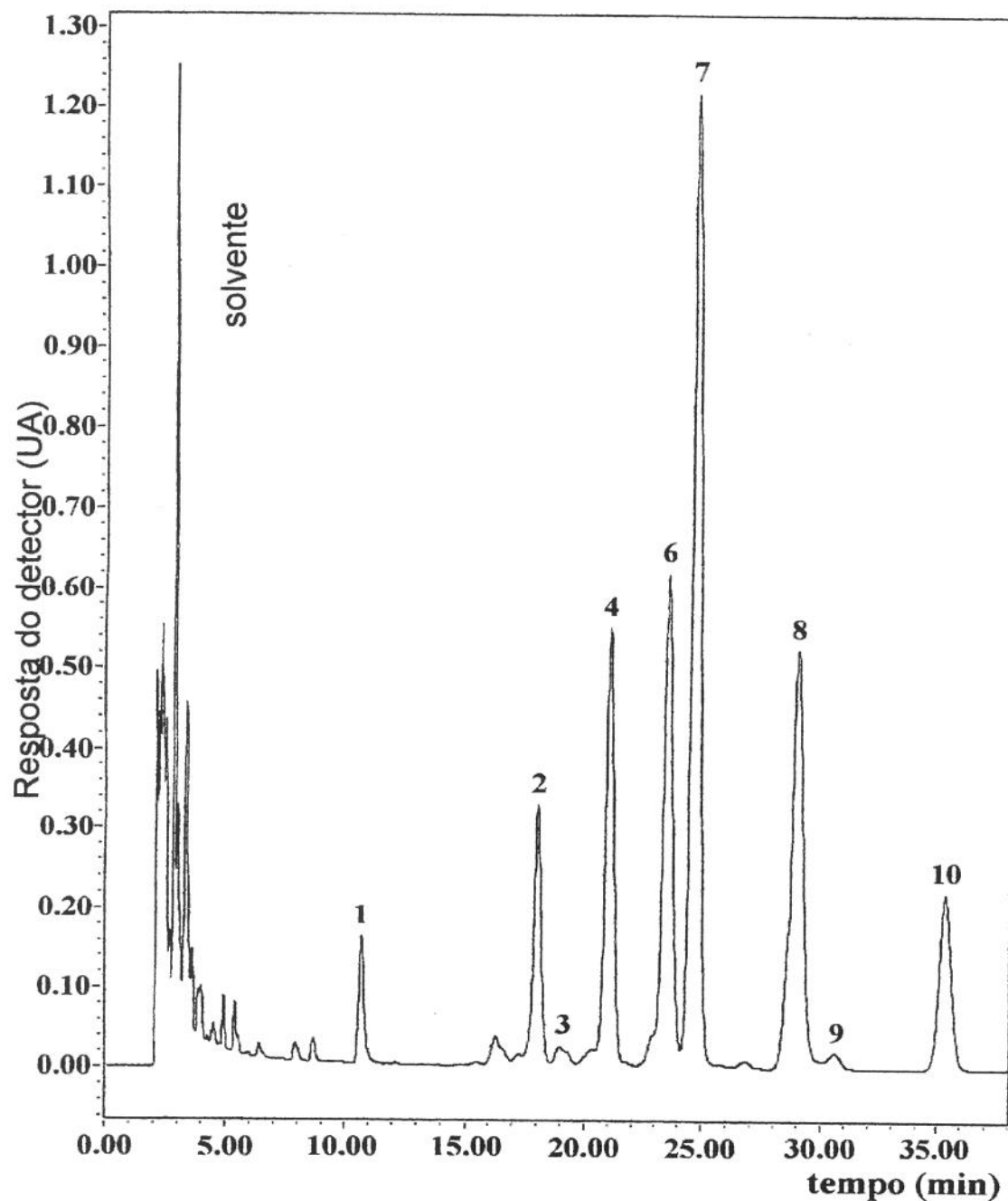


FIGURA 1. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de maracujá do **lote 1**. Condições cromatográficas: coluna C_{18} Nova-Pak ($4\ \mu\text{m}$, $3,9 \times 300\ \text{mm}$), fase móvel: acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10), vazão de $1\ \text{ml/min}$ e temperatura da coluna de 29°C . Detecção no λ_{max} . A identidade dos picos encontra-se na *Tabela 1*.

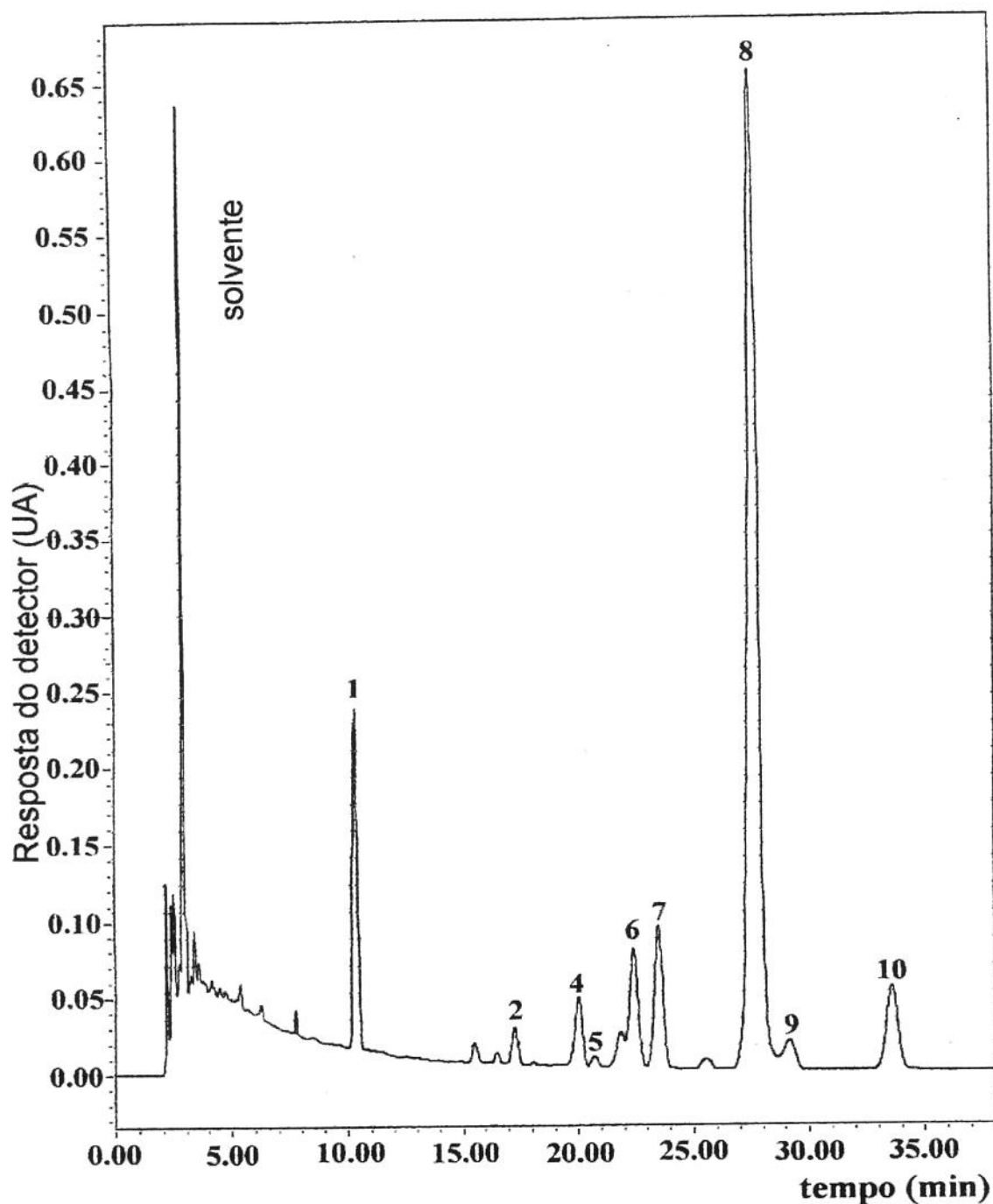


FIGURA 2. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de maracujá do lote 3. Condições cromatográficas: coluna C₁₈ Nova-Pak (4 µm, 3,9 x 300 mm), fase móvel: acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10), vazão de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} . A identidade dos picos encontra-se na Tabela 1.

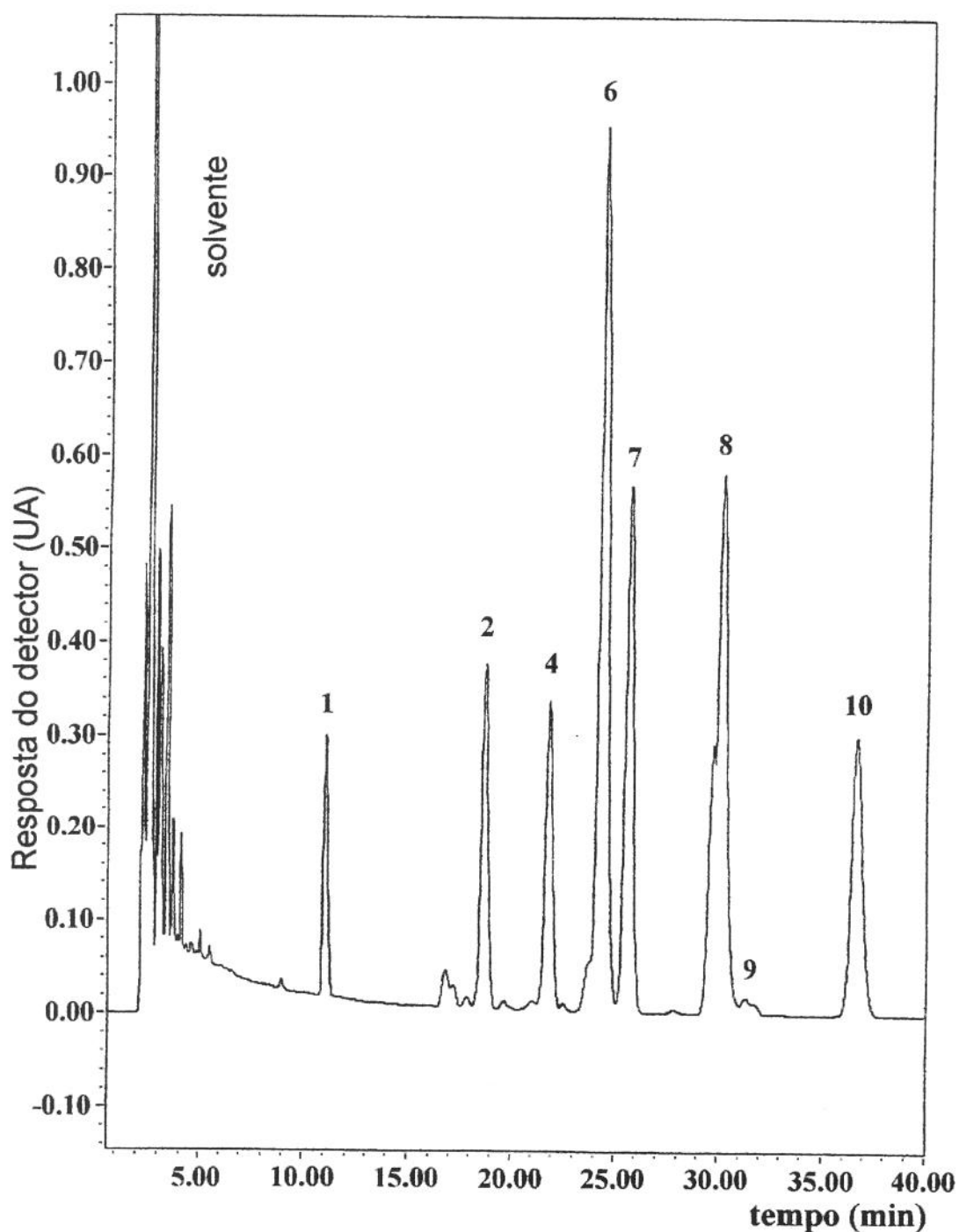


FIGURA 3. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de maracujá do **lote 4**. Condições cromatográficas: coluna C₁₈ Nova-Pak (4 μm, 3,9 x 300 mm), fase móvel: acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10), vazão de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} . A identidade dos picos encontra-se na *Tabela 1*.

TABELA 1. Propriedades, obtidas por CLAE, dos carotenóides de maracujá *in natura*.

pico ^a	carotenóide	t _R (min) ^b	λ _{max} (nm) ^c	% III/II
1	β-criptoxantina	10,3 - 11,1	(428), 454, 482	29
2	prolicopeno	17,3 - 18,7	(418), 441, (466)	0
3	neurosporeno	18,9 - 19,3	417, 441, 470	96
4	mistura	20,0 - 21,9	_____	_____
5	γ-caroteno	20,7	(435), 461, 490	45
6	cis-ζ-caroteno	22,4 - 24,4	296, 378, 400, 425	89
7	ζ-caroteno	23,5 - 25,7	381, 401, 426	104
8	β-caroteno + fitoflueno	27,7 - 30,1	(424), 454, 480 333, 349, 366	25 103
9	13-cis-β-caroteno	29,2 - 30,7	339, (426), 447, 470	12
10	fitoeno	33,6 - 36,7	(273), 285, (293)	0

^a Numerado de acordo com os cromatogramas apresentados nas Figuras 1, 2 e 3.

^b Faixa de 20 corridas.

^c Solvente: acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10). Parêntesis indica ombro ao invés de pico

TABELA 2. Composição de carotenóides e valor de vitamina A de maracujá *in natura*.

carotenóide ^a	concentração (µg/g) ^b			
	lote 1	lote 2	lote 3	lote 4
	média ± DP	média ± DP	média ± DP	média ± DP
β-criptoxantina	0,69 ± 0,02 a	0,45 ± 0,01 b	1,27 ± 0,04 c	1,75 ± 0,03 d
prolicopeno	1,71 ± 0,03 a	2,25 ± 0,06 b	0,30 ± 0,00 c	3,02 ± 0,07 d
neurosporeno	tr	tr	ND	ND
mistura	3,69 ± 0,03 a	4,59 ± 0,02 b	0,63 ± 0,02 c	3,34 ± 0,04 d
γ-caroteno	ND	ND	tr	ND
cis-ζ-caroteno	4,45 ± 0,07 a	2,82 ± 0,06 b	0,74 ± 0,02 c	7,38 ± 0,07 d
ζ-caroteno	7,78 ± 0,21 a	12,86 ± 0,46 b	1,26 ± 0,04 c	3,93 ± 0,08 d
β-caroteno	4,48 ± 0,07 a	2,39 ± 0,03 b	10,79 ± 0,40 c	6,77 ± 0,12 d
13-cis-β-caroteno	tr	tr	0,36 ± 0,01 b	tr
total	22,80 ± 0,37 a	25,37 ± 0,35 b	15,36 ± 0,37 c	25,19 ± 0,20 d
valor de vitamina A (ER/100g)	80 ± 1 a	44 ± 0,5 b	193 ± 7 c	127 ± 2 d
				244 ± 6 e

^a Ordem de eluição na coluna C₁₈ Nova-Pak.

^b Média e desvio-padrão de duplicatas injetadas duas vezes.

ND: não detectado.

tr: traços (menor que 0,01 µg/g).

Valores na mesma linha com letras diferentes foram significativamente diferentes (p<0,0001).

O ζ -caroteno foi o carotenóide majoritário nos lotes 1 e 2, com 41 e 62% do total de carotenóides, respectivamente, enquanto o β -caroteno contribuiu com 24 e 11%. No entanto, nos lotes 3 e 5, o β -caroteno foi o principal carotenóide, perfazendo, respectivamente, 74 e 55% do total, enquanto o ζ -caroteno contribuiu com 9 e 12%. Já no lote 4, o *cis*- ζ -caroteno apresentou-se em maior proporção (32%) que o β -caroteno (30%) e o ζ -caroteno (17%). Este tipo de inversão entre os carotenóides majoritários não é comumente encontrado em frutas e vegetais.

Verificou-se que houve, também, variação na proporção dos demais carotenóides, e que esta variação foi dependente do carotenóide majoritário presente nas amostras (Tabela 2). Pode-se observar que nos lotes 1 e 2 onde o ζ -caroteno foi o carotenóide principal, o neurosporeno foi detectado em quantidades muito pequenas e as concentrações de prolicopeno foram maiores comparativamente às encontradas nos lotes 3 e 5 onde o β -caroteno foi majoritário. Similarmente, nos lotes 3 e 5 onde o β -caroteno predominou, a β -criptoxantina foi encontrada em concentrações maiores que nos lotes onde ζ -caroteno era majoritário e o neurosporeno não foi detectado. Como essas transformações são controladas por enzimas específicas para cada reação, a ação das enzimas que promove a ciclização e posterior hidroxilação dos carotenóides acíclicos foi favorecida nos lotes 3 e 5, o que resultou na alta concentração de β -caroteno e de β -criptoxantina em detrimento das concentrações de ζ -caroteno, de prolicopeno e de neurosporeno.

Algumas variações nas proporções de carotenóides de frutos e vegetais também foram observadas em outros trabalhos. MERCADANTE *et al.* [15] encontraram β -citraurina em somente um dos três lotes analisados de maracujá *in natura*. Em abóbora e moranga comercializadas no Estado de São Paulo, Brasil, foram encontradas além de marcantes diferenças qualitativas entre variedades distintas, variações de até oito vezes no teor do carotenóide majoritário nos cinco lotes de amostra de uma mesma variedade, provavelmente devido às diferenças no grau de maturação em que estes produtos são comercializados [1].

Este tipo de variação também foi observado em alguns lotes de produtos comerciais de maracujá analisados por SILVA & MERCADANTE [23]. Em uma das quatro marcas de suco pasteurizado, e em uma das três marcas de polpa congelada, o ζ -caroteno foi o carotenóide principal em três lotes, enquanto o β -caroteno foi o majoritário em dois lotes, em ambos os produtos. Nas outras marcas de suco e polpa, bem como nos outros produtos, o ζ -caroteno esteve sempre presente em maior concentração. PRUTHI & LAL [20] em suco de maracujá roxo, também encontraram β -caroteno como sendo o carotenóide majoritário com 57,8% do total de carotenóides, seguido de ζ -caroteno (8%), α -caroteno (7,5%) e fitoflueno. Por outro lado, este fato não foi observado em outro trabalho com maracujá *in natura* da variedade púrpura, onde LEUMBERGER & THOMMEN [14] encontraram em suco fresco destes frutos, fitoflueno como sendo o carotenóide majoritário, seguido de ζ -caroteno, β -caroteno e outros carotenóides que não foram quantificados. Em suco processado de maracujá-amarelo CECCHI & RODRIGUEZ-AMAYA [6] encontraram ζ -caroteno como sendo o carotenóide majoritário, seguido de β -caroteno, neurosporeno e *cis*-neurosporeno, além de traços de outros carotenóides. Outro trabalho, utilizando maracujá-amarelo cultivado no Brasil, confirmou a identidade de 13 carotenóides em frutos *in natura*, sendo o ζ -caroteno o carotenóide principal [15]. Entretanto, nestes estudos utilizou-se um número menor de amostras.

Como o β -caroteno foi o principal carotenóide que contribuiu para o valor de vitamina A e este apresentou variações marcantes em seu conteúdo, valores de vitamina A de 43,63 a 244,50 ER/100g também foram significativamente diferentes entre os lotes analisados, com um nível de significância de 0,0001 (*Tabela 2*). Esta variação elevada pode provavelmente ser explicada pela diferença na procedência das amostras (solo e clima) e do grau de maturação, pois como o maracujá é uma fruta climatérica este apresenta alta taxa respiratória ocasionando mudanças bioquímicas muito rápidas. Variações no conteúdo de vitamina A de 98,8 a 193,4 RE/100g foram encontradas por KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA [12] em mamão Formosa de São Paulo e Bahia, respectivamente, provavelmente devido a efeitos

geográficos. Variações significantes foram encontradas por ASSUNÇÃO [2] em caju de diferentes tipos e localidades e por MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA [17] em manga de diferentes Estados do Brasil.

Os valores de vitamina A encontrados no presente trabalho para maracujá-amarelo foram superiores aos encontrados para caju [2], cajá [11], nectarina [9], piqui, pêssago [8], manga Tommy Atkins de São Paulo [17] e inferiores aos encontrados para manga [10], buriti [8] e manga Tommy Atkins do Mato Grosso do Sul [17].

O teor total de carotenóides encontrado em frutos de maracujá-amarelo no presente trabalho (15,36 a 27,14 $\mu\text{g/g}$) foi superior ao encontrado por CECCHI & RODRIGUEZ-AMAYA [6] em 2 marcas comerciais de suco de maracujá processado (6,2 a 11,3 $\mu\text{g/g}$). Porém, os valores do presente estudo se encontram dentro da faixa dos teores relatados por SILVA & MERCADANTE [23] para 4 marcas de suco de maracujá (7,16 a 28,44 $\mu\text{g/g}$).

4- CONCLUSÕES

Em todos os lotes de maracujá-amarelo *in natura* foram encontrados os seguintes carotenóides: β -criptoxantina, prolicopeno, *cis*- ζ -caroteno, ζ -caroteno, β -caroteno e 13-*cis*- β -caroteno.

Houve uma grande variação quantitativa nos teores dos diferentes carotenóides nos cinco lotes analisados. O ζ -caroteno foi encontrado em concentrações de até 62% do total de carotenóides, sendo o carotenóide principal em 2 dos 5 lotes analisados. O β -caroteno foi encontrado em concentrações de até 74% do total, sendo o carotenóide majoritário em outros dois lotes. O *cis*- ζ -caroteno esteve em maior concentração em 1 dos lotes, com 29%. O β -caroteno foi o carotenóide responsável pela maior contribuição para o valor de vitamina A.

Esta variação é difícil de ser explicada pela diferença na procedência das amostras (solo e clima), pois os frutos foram adquiridos no comércio de Campinas. Outra fonte de variação pode ser o grau de maturação, pois como o maracujá é uma fruta climatérica, apresenta alta taxa respiratória, ocasionando mudanças bioquímicas muito rápidas.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ARIMA, H.K.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of commercial brazilian squashes and pumpkins. **Journal of Micronutrient Analysis**, v.4, p.177-191, 1988.
- [2] ASSUNÇÃO, R.B. Carotenóides e vitamina C em produtos processados de caju e em frutos *in natura* de diferentes variedades e localizações geográficas, Tese de Mestrado – UNICAMP, Campinas - SP, 2001.
- [3] BAUERFEIND, J.C. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.20, p. 456-473, 1972.
- [4] BRITTON, G. UV/visible spectroscopy. In *Carotenoids Vol. 1B: Spectroscopy* (Britton, G., Pfander, H., Liaaen-Jensen, S., Eds.). p. 13-62. Birkhauser: Basel., 1995.
- [5] BUSHWAY, R. J. & WILSON, A. M. Determination of α -and β -carotene in fruit and vegetables by high performance liquid chromatography. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, v. 15, p. 165-169, 1982.
- [6] CECCHI, H.M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. Carotenóides e valor de vitamina A em suco de maracujá processado. **Ciência e Cultura**, v.33, p. 72-76, 1981.
- [7] CHAN, H.T. Passion fruit, mamão and guava juices. In: NAGY, S.; CHEN, C.S.; SHAW, P.E. (Eds.) **Fruit Juice Processing Technology**. Agscience Inc.: Auburndale (Flórida), p. 334-348, 1993.
- [8] GODOY, H.T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. Occurrence of *cis*-isomers of provitamin A in brazilian fruits. **J. Agric. Food Chem.** v.42, p. 1306-1313, 1994.
- [9] GODOY, H.T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. Composição de carotenóides em nectarina (*Prunus persica*) brasileira. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.57, p. 73-79, 1998.
- [10] GODOY, H.T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v.22, p. 100-103, 1989.

- [11] HAMANO, P.S.; MERCADANTE, A.Z. Composition of carotenoids from commercial products of caja (*Spondias lutea*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.14, p. 335-343, 2001.
- [12] KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; YOKOYAMA, S.M. Cultivar differences and geographic effects on the carotenoid composition and vitamin A value of papaya. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v.24, p. 415-418, 1991.
- [13] KRINSKY, N.I. The biological properties of carotenoids. **Pure & Applied Chemistry**, v. 66, p. 1003-1010, 1994.
- [14] LEUENBERGER, F.J.; THOMMEN, H. Zum Vorkommen von carotinoiden in der Passionsfrucht. **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung**, v.149, p 279-282 , 1972.
- [15] MERCADANTE, A.Z.; BRITTON, G; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoids from yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4102-4106, 1998.
- [16] MERCADANTE, A.Z; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; BRITTON, G. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p. 120-123, 1997.
- [17] MERCADANTE, A.Z & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 46, p. 128-130, 1998.
- [18] NAS-NRC. **Recommended Dietary Allowances**, National Academy of Science, Washington. p. 78-92, 1989.
- [19] OLSON, J.A. Biological actions of carotenoids. **Journal of Nutrition**, v.119, p. 94-95, 1989.
- [20] PRUTHI, J.S.; LAL, G. Carotenoids in passion fruit juice. **Food Research**, v. 23, p. 505-510, 1958.
- [21] SAS Institute Inc. **SAS/STAT Guide for Personal Computers**, version 6.03; SAS Institute: Cary, NC, 1987.

- [22] SCOTT, K. J., FINGLAS, P. M., SEALE, R., HART, D. J. and FROIDMONT-GÖRTZ, I.. Interlaboratory studies of HPLC procedures for the analysis of carotenoids in foods. **Food Chemistry** , v. 57, p. 85-90, 1996.
- [23] SILVA, S.R.; MERCADANTE, A.Z. Composition of carotenoids from commercial products of passion fruit (*Passiflora edulis*). **Journal of Food Composition and Analysis**, 2001 (em preparação).

6 – AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o auxílio financeiro do CNPq e MCT/FINEP/PRONEX.

CAPÍTULO 3

COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES DE DIFERENTES PRODUTOS COMERCIAIS DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis*)

(em preparação para submissão ao Journal of Food Composition and Analysis)

RESUMO

A composição de carotenóides e valor de vitamina A de várias marcas de diferentes produtos comerciais de maracujá (*Passiflora edulis*), polpas congeladas, sucos pasteurizados, bebida à base de suco e soja, bebida à base de suco e iogurte e suco concentrado congelado açucarado foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando-se coluna C₁₈ Nova-Pak e acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10) como fase móvel. Em todos os produtos foram encontrados os seguintes carotenóides: β -criptoxantina, prolicopeno, *cis*- ζ -caroteno, ζ -caroteno e β -caroteno. Foi observada uma pequena variação qualitativa, porém a quantitativa foi elevada entre as amostras. Na maioria das amostras analisadas, o ζ -caroteno foi o carotenóide majoritário, variando de 0,10 $\mu\text{g/g}$ em bebida à base de soja a 10,36 $\mu\text{g/g}$ em polpa congelada, porém o β -caroteno foi o carotenóide principal em 2 lotes da amostra de suco marca A e em 2 lotes de polpa congelada marca G, variando de 0,05 $\mu\text{g/g}$ em bebida a base de soja a 15,65 $\mu\text{g/g}$ em suco pasteurizado. O β -caroteno foi o carotenóide que forneceu a maior contribuição para o valor de vitamina A, que nos diversos produtos variou de 0,92 a 313,46 ER/100g.

Palavras-Chave: carotenóides; maracujá; *Passiflora edulis*; produtos comerciais.

INTRODUÇÃO

Sucos, polpas e outros produtos comerciais de maracujá são produzidos predominantemente a partir de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa), enquanto o maracujá-roxo é mais consumido *in natura*. O maracujá-amarelo é o mais cultivado no Brasil e reúne vantagens sobre o maracujá-roxo (*P. edulis* Sims), tais como maior resistência à moléstia, maior produtividade, fruta de maior tamanho. Além disso, produz maior quantidade de suco por unidade, e seu suco sendo mais ácido dá ao processador flexibilidade para a adição de açúcar (Medina, 1980). Sucos e polpas de maracujá são produzidos pelo Brasil, Colômbia, Peru, Venezuela, Equador, Costa Rica, Quênia e Sri Lanka (Frupe, 1994). O Brasil é o maior exportador mundial de suco de maracujá (Chan, 1993) e estima-se que pelo menos 50% da produção brasileira seja absorvida pela indústria de suco (Ruggiero *et al.*, 1996), além de pequenas empresas extratoras de polpa, que comercializam seus produtos junto às redes de supermercados, lanchonetes e hotéis (Meletti & Maia, 1999).

Os carotenóides são pigmentos importantes, pois além de serem responsáveis pela cor do maracujá e de seus produtos, exercem outras funções como a comprovada atividade de vitamina A de alguns carotenóides. Os carotenóides também estão relacionados com a diminuição ao risco de doenças degenerativas, prevenção da formação de catarata, redução da degeneração macular relacionada ao envelhecimento e redução do risco de doenças coronárias (Krinsky, 1994).

Em suco de maracujá processado comercial, Cecchi e Rodriguez-Amaya (1981) detectaram e quantificaram α -caroteno, β -caroteno, ζ -caroteno, *cis*-neurosporeno, neurosporeno, licopeno, γ -caroteno, aurocromo, criptocromo e auroxantina. Estes autores reportaram também a presença de traços de γ -caroteno, licopeno, aurocromo, criptocromo e auroxantina. Mercadante *et al.* (1998) identificaram fitoeno, fitoflueno, ζ -caroteno, neurosporeno, β -caroteno, licopeno, prolicopeno, monoepóxi- β -caroteno, β -criptoxantina, β -citraurina, anteraxantina, violaxantina e neoxantina em frutos de maracujá-amarelo.

Segundo Lajolo (1987), nos países em desenvolvimento, e em especial aqueles com grande riqueza em recursos naturais, há uma grande necessidade de obtenção de dados de composição nutricional de alimentos produzidos no próprio país, e não através de extrapolações de dados obtidos em países desenvolvidos, pois além destas tabelas não considerarem os alimentos, como realmente são ingeridos (efeito do processamento doméstico, artesanal ou industrial), estes têm a composição influenciada pelo clima, solo e variedade. Além disso, dúvidas quanto à confiabilidade dos resultados obtidos sempre têm surgido, visto a natureza, diversidade e complexidade dos procedimentos analíticos envolvidos.

Acrescenta-se também que devido à facilidade no preparo doméstico, tem sido cada vez maior a procura e o consumo de alimentos processados. Atualmente estes representam, sem dúvida, uma grande parcela dos alimentos consumidos, o que vem a reafirmar a necessidade de dados nutricionais acerca dos alimentos processados comercialmente.

Diante desses fatos, se faz imprescindível a obtenção de dados sobre a composição de alimentos processados no Brasil. Este estudo teve por objetivo determinar a composição dos principais carotenóides presentes em vários produtos comerciais de maracujá.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

Foram analisadas 4 marcas (A, B, C e D) de suco pasteurizado (embalagem plástica ou vidro), 3 marcas (E, F e G) de polpa congelada, 1 marca de bebida à base de suco e soja, 1 marca de bebida à base de suco e iogurte e 1 marca de suco concentrado congelado com adição de açúcar. Cinco lotes de cada produto foram adquiridos no comércio de Campinas, Brasil, durante o período de abril a setembro

de 1999, com exceção do suco marca C, polpa marca F e suco concentrado congelado, para os quais só foram encontrados 2, 3 e 4 lotes, respectivamente. Foram analisadas no total 44 amostras.

Cada amostra foi obtida pela mistura de duas embalagens do mesmo lote. Para análise, foram tomadas aproximadamente 12 g de suco e de polpa, 300 g de bebida à base de suco e soja, 60 g de bebida à base de suco e iogurte e 50 g de suco congelado concentrado açucarado.

Preparo dos Padrões

Os padrões de *all-trans*- β -caroteno, β -criptoxantina e ζ -caroteno foram fornecidos pela F. Hoffmann-La Roche (Basel, Suíça). O padrão de *all-trans*- β -caroteno apresentou traços de *cis*- β -caroteno, pois a ampola já havia sido aberta há algum tempo. Este padrão foi submetido à cromatografia em coluna aberta em Ca(OH)_2 , desenvolvida com éter de petróleo como fase móvel, e a parte central da banda principal de cor laranja (*all-trans*- β -caroteno) foi removida. No entanto, após análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), verificou-se que os isômeros *cis* não haviam sido totalmente retirados. Desta forma, o padrão de β -caroteno foi utilizado sem purificação.

O padrão de prolicopeno foi preparado a partir de 400 g de polpa de frutos *in natura* de maracujá, seguindo os passos gerais descritos previamente por Mercadante *et al.* (1998). Este procedimento envolveu extração, saponificação, cromatografia em coluna aberta empacotada com alumina neutra (grau III) de onde a primeira fração, contendo os carotenos, eluída com éter de petróleo foi coletada. Após concentração, esta fração foi submetida à cromatografia de camada delgada em MgO/kieselguhr (1:1) desenvolvida com 15% de acetona em éter de petróleo. Seis bandas foram separadas (1.1-1.6). A banda 1.2 com $R_f = 0,25$, correspondente ao prolicopeno, foi raspada, eluída e novamente recromatografada em placa nas mesmas condições.

O cromatograma dos padrões encontra-se no Anexo 1.

Os valores de absorvidade utilizados para o cálculo da concentração de cada carotenóide foram os apresentados por Davies (1976) e Britton (1995).

Determinação de Carotenóides

Para a análise de carotenóides utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Waters), equipado com bomba quaternária (Waters, modelo 600), sistema de desgaseificação "on line", injetor "Rheodyne" com alça de amostra de 20 μ l, forno para coluna, detector de arranjo de diodos (DAD) Waters (modelo 996) e sistema de processamento e aquisição de dados Millenium (Waters). Os carotenóides foram separados em coluna Nova-Pak C₁₈ (4 μ m de tamanho de partícula, 3,9 x 300 mm) com acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10) como fase móvel, com uma vazão de 1ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Os espectros foram adquiridos entre 250 e 600 nm e os cromatogramas foram processados nos comprimentos de onda máximos de absorção (λ_{max}) de cada carotenóide.

O extrato de carotenóides foi preparado de acordo com Mercadante *et al.* (1997) e Rodriguez-Amaya (1999). Os pigmentos foram extraídos com acetona em um liquidificador, transferidos para éter de petróleo e a saponificação realizada com 10% de KOH em metanol por uma noite à temperatura ambiente. Após remoção do álcali, o extrato foi concentrado em evaporador rotatório ($T \leq 35^{\circ}\text{C}$) até quase a secura e esta etapa foi concluída utilizando-se fluxo de N₂. A extração foi realizada em duplicata sendo cada uma injetada duas vezes no cromatógrafo. Imediatamente antes da análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) o extrato foi dissolvido em 1ml de acetonitrila e metanol (1:1).

Para estabelecer a melhor fase móvel foram realizados testes com: 100% de metanol; metanol/acetato de etila (95:5); metanol/acetato de etila/água (92:5:3, 93:5:2, 88:10:2, 87:10:3 e 94:5:1); metanol/acetato de etila (98:2 e 97:3); metanol/tetrahidrofurano/água (93:5:2); metanol/tetra-hidrofurano (97:3);

acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:20:5 e 75:15:10); acetonitrila/metanol/diclorometano (65:20:15 e 75:15:10).

A identificação dos carotenóides foi realizada através de informações obtidas dos espectros de absorção no UV-visível (comprimento de onda máximo de absorção e estrutura fina do espectro %III/II) fornecidos pelo detector de conjunto de diodos, co-cromatografia com padrões, ordem de eluição na coluna e comparação dos tempos de retenção dos componentes da amostra com padrões conhecidos.

Para a quantificação externa foram construídas curvas de calibração para os principais carotenóides, com 6 a 9 níveis de concentração em triplicata, para verificar a faixa de linearidade dos padrões. As curvas-padrão estão apresentadas no Anexo 2. Pontos de concentração conhecida, dentro desta faixa, foram utilizados diariamente para quantificação das amostras. O 13-*cis*- β -caroteno e o *cis*- ζ -caroteno foram quantificados utilizando-se as curvas dos respectivos carotenóides *trans*. Os carotenos incolores, fitoeno e fitoflueno, não foram quantificados.

O valor de vitamina A foi calculado de acordo com os fatores de conversão relatados pelo NAS-NRC (1989), onde 6 μ g de β -caroteno correspondem a 1 μ g de equivalente de retinol (ER). As bioatividades utilizadas foram: 100% para all-*trans*- β -caroteno, 50% para all-*trans*- β -criptoxantina (Bauerfeind, 1972) e 50% para o 13-*cis*- β -caroteno.

Para avaliar o método utilizado, a precisão entre extrações e injeções foi verificada para os principais carotenóides.

Determinação dos Sólidos Solúveis (°Brix)

O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi lido em um refratômetro marca ATAGO, modelo 8572, com escala de 0 a 90%, utilizando-se a tabela de correção de temperatura para 20°C.

Determinação do pH

O pH foi medido em um potenciômetro marca Digimed, modelo DM 20. A calibração do aparelho foi feita com tampões de pH 7,0 e 4,0 à temperatura ambiente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Precisão

O coeficiente de variação (CV) variou entre extrações de 0,1 a 7,5% para β -criptoxantina, de 0,4 a 8,8% para prolicopeno, de 0,4 a 6,9% para *cis*- ζ -caroteno, de 0,2 a 12,5% para ζ -caroteno, de 0,3 a 9,9% para β -caroteno, de 0,5 a 5,9% para *cis*- β -caroteno. Estes valores são comparáveis àqueles relatados na literatura (Assunção, 2001; Hamano e Mercadante, 2001; Wilberg e Rodriguez-Amaya, 1995; Bushway e Wilson, 1982). Como esperado, injeções em duplicata da mesma extração apresentaram menor CV, como 0,0 a 3,4% para β -criptoxantina, de 0,1 a 4,1% para prolicopeno, de 0,0 a 4,4% para *cis*- ζ -caroteno, de 0,1 a 4,3% para ζ -caroteno, de 0,0 a 3,3% para β -caroteno, de 0,0 a 3,6% para *cis*- β -caroteno. Estes valores são próximos aos obtidos por Hamano e Mercadante (2001) e menores que os obtidos por Assunção (2001).

Composição Qualitativa

Todos os produtos apresentaram os mesmos carotenóides principais em diferentes concentrações. A Figura 1 mostra o perfil de carotenóides presentes na maioria das amostras, enquanto que na Figura 2 encontra-se o perfil que representa 2 lotes de suco da marca A e 2 lotes de polpa congelada da marca G. A identificação e caracterização dos picos estão apresentadas na Tabela 1.

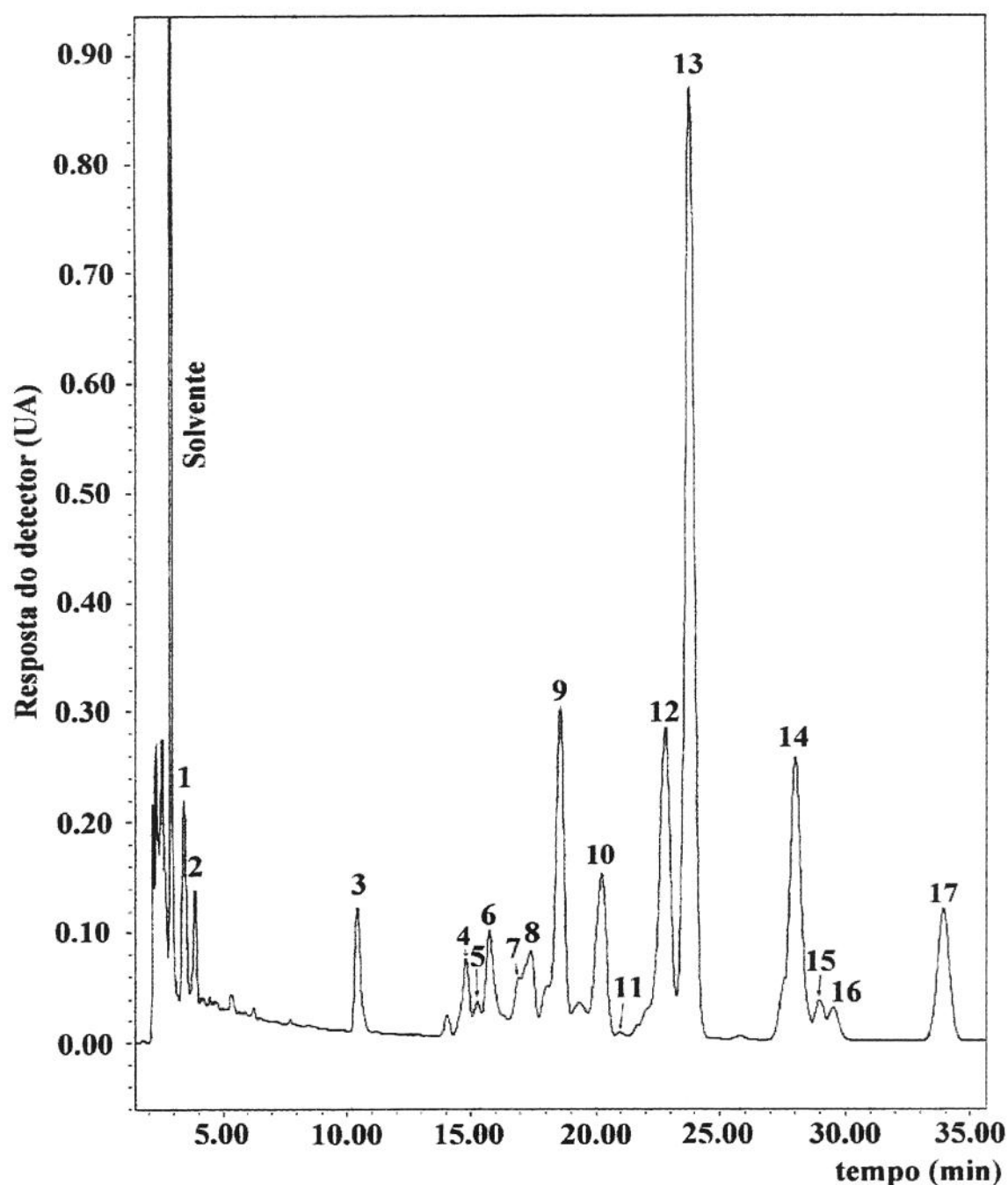


FIGURA 1. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de suco pasteurizado de maracujá da marca D. Condições cromatográficas: coluna Nova-Pak C₁₈ (4 μ m, 3,9 x 300 mm) e como fase móvel: acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10) com vazão de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} . A identidade dos picos encontra-se na *Tabela 1*.

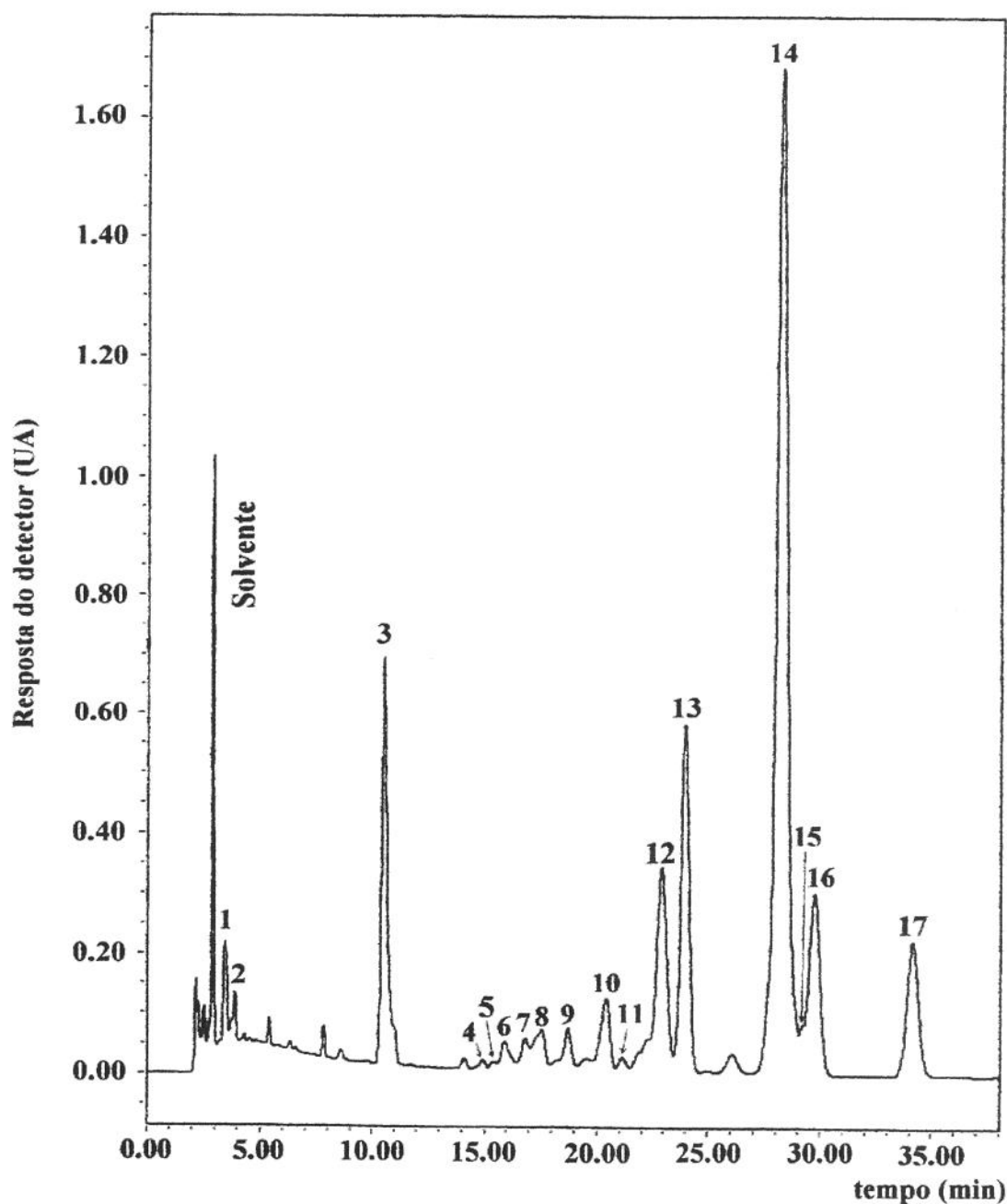


FIGURA 2. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de suco pasteurizado de maracujá da marca A. Condições cromatográficas: coluna Nova-Pak C₁₈ (4 μ m, 3,9 x 300 mm) e como fase móvel: acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10) com fluxo de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29 °C. Detecção no λ_{max} . A identidade dos picos encontra-se na *Tabela 1*.

TABELA 1. Propriedades, obtidas por CLAE, de carotenóides de produtos comerciais de maracujá.

nº do pico ^a	carotenóide identificado	faixa t _R (min) ^b	λ _{max} (nm)	% III/II
1	Auroxantina ^c	2,6 - 3,45	381, 401, 426	104
2	n.i.	3,9 - 3,93	313, (408), 431, 454	75
3	β-criptoxantina	10,4 - 11,2	279, (428), 454, 482	29
4	licopeno	14,8 - 16,3	295, 447, 475, 505	91
5	cis-licopeno ^c	15,3 - 15,8	295, 360, 444, 472, 503	84
6	cis-licopeno ^c	15,7 - 16,8	295, 442, 471, 501	29
7	mistura	15,2 - 16,9	—	—
8	prolicopeno	17,4 - 18,9	298, (418), 441, (466)	0
9	Neurosporeno ^c	18,6 - 19,3	266, 331, 417, 441, 470	96
10	mistura	17,2 - 22,1	—	—
11	γ-caroteno ^c	20,7 - 21,5	(435), 461, 490	45
12	cis-ζ-caroteno ^c	22,6 - 24,6	296, 378, 400, 425	89
13	ζ-caroteno	23,7 - 25,9	294, 381, 401, 426	104
14	β-caroteno	28,0 - 30,4	276, (424), 454, 480	25
15	fitoflueno	27,4 - 31,2	333, 348, 366	103
16	13-cis-β-caroteno	29,4 - 31,6	339, (426), 447, 470	12
17	fitoeno	33,8 - 37,0	(273), 285 (293)	0

^a Numerado de acordo com os cromatogramas apresentados nas Figuras 1 e 2.

^b Faixa de 180 corridas.

^c Identificação tentativa.

Como esperado para colunas de fase reversa, carotenóides polares com dois grupos hidroxilas, picos 1 e 2, eluíram antes do carotenóide monoidroxilado β -criptoxantina (pico 3) e os carotenos (picos 4 a 16) foram os últimos a eluírem. Nas condições empregadas, não houve separação entre os isômeros *cis* do β -caroteno.

Os espectros de absorção no UV-visível dos pigmentos de maracujá, o perfil dos padrões de carotenóides e o perfil dos demais produtos processados de maracujá obtidos pelo detector de arranjo de diodos estão apresentados no Anexo 2, Figuras 1 a 16, Figura 17, e Figuras 18 a 21 respectivamente.

Em todos os lotes analisados foi detectada a presença de uma substância com t_R de 7,0 a 8,1 min e espectro no UV-visível com λ_{max} em 420 nm (Anexo 3, Figura 14) e aspecto muito diferente dos espectros de carotenóides.

Os espectros no UV-visível dos picos 7 e 10 mostraram que estes picos constituíam-se de uma mistura de carotenóides. Entretanto, em todas as fases móveis testadas para CLAE os carotenóides contidos nestas misturas co-eluíram.

O pico 1 foi encontrado em praticamente todos os lotes dos produtos analisados. Este carotenóide foi tentativamente identificado como auroxantina por comparação dos λ_{max} obtidos no presente trabalho (Tabela 1) com valores da literatura (Davies, 1976; Britton, 1995) e do t_R encontrado ter sido bem menor que da β -criptoxantina.

O licopeno (pico 4) foi detectado em todas as marcas de suco pasteurizado, porém não foi encontrado nos demais produtos. Os isômeros *cis* de licopeno (picos 5 e 6) também só foram detectados nos sucos e na polpa congelada marca G.

O pico 9, identificado como neurosporeno, foi detectado em todas as marcas de suco pasteurizado, em algumas marcas de polpa congelada e nos derivados de iogurte e de soja. Entretanto, este carotenóide não foi encontrado no suco concentrado congelado. Como a quantidade de neurosporeno nestas amostras variou muito, este carotenóide não foi quantificado. Além disso, não havia padrão de neurosporeno disponível.

O γ -caroteno, pico 11, foi encontrado somente em dois lotes do suco pasteurizado marca A.

Composição Quantitativa

Nas bebidas de maracujá à base de soja e de iogurte o ζ -caroteno foi o principal carotenóide perfazendo 39 a 48%, respectivamente; seguido do β -caroteno com 19 e 15% do total de carotenóides nestes produtos.

No suco pasteurizado da marca A o teor de ζ -caroteno variou de 3,6 a 7,5 $\mu\text{g/g}$ e o de β -caroteno de 2,1 a 15,7 $\mu\text{g/g}$ nos 5 lotes analisados. Desta forma o β -caroteno foi o carotenóide majoritário em 2 lotes perfazendo 51 e 55% dos carotenóides totais enquanto que nos outros 3 lotes o ζ -caroteno foi o carotenóide principal com 41 a 53% do total de carotenóides. Em polpa congelada da marca G o β -caroteno foi majoritário em 2 lotes, perfazendo 38 e 55% do total de carotenóides, enquanto que em outros 2 lotes a contribuição do ζ -caroteno foi de 37% e em 1 dos lotes as porcentagens de β -caroteno e ζ -caroteno foram similares.

Esta inversão entre os carotenóides majoritários também foi encontrada em maracujá *in natura* por Silva e Mercadante (2001). Em 2 dos 5 lotes analisados o ζ -caroteno foi o carotenóide principal contribuindo com 41 e 62% do total de carotenóides, enquanto que o β -caroteno com 55 e 74% do total foi o carotenóide majoritário em outros 2 lotes.

Nas demais marcas de suco e polpa o ζ -caroteno foi o carotenóide principal, contribuindo com 41 a 54%, respectivamente.

Cecchi e Rodriguez-Amaya (1981) reportaram para 2 marcas de suco pasteurizado engarrafado no Nordeste, porcentagens de ζ -caroteno de 56 a 58%, sendo este o carotenóide majoritário em todos os 3 lotes das duas marcas analisadas. O segundo carotenóide encontrado por esses autores foi o β -caroteno, com teores de 18 a 20%.

TABELA 2. Composição de carotenóides e valor de vitamina A em suco pasteurizado comercial de maracujá.

carotenóide ^a	Concentração (µg/g)			
	Marca A ^b	Marca B ^b	Marca C ^c	Marca D ^b
β-criptoxantina	2,6 ± 1,6	0,8 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,9 ± 0,3
prolicopeno	0,7 ± 0,5	1,2 ± 0,5	0,9 ± 1,1	1,1 ± 0,2
cis-ζ-caroteno	2,4 ± 0,5	2,2 ± 0,6	1,6 ± 0,6	2,6 ± 0,6
ζ-caroteno	6,6 ± 2,2	5,4 ± 0,6	5,9 ± 3,2	5,5 ± 0,9
β-caroteno	7,7 ± 6,5	3,4 ± 0,8	2,1 ± 0,4	2,4 ± 0,7
cis-β-caroteno	0,9 ± 0,7	0,3 ± 0,1	tr	tr
total	21,0 ± 6,2	13,3 ± 1,2	11,0 ± 5,4	12,4 ± 1,9
valor de	158,2 ± 127,1	66,3 ± 12,7	38,5 ± 7,8	47,6 ± 12,3
vitamina A				
(ER/100g)				

^a Ordem de eluição da coluna.

^b Média e desvio-padrão de 5 lotes

^c Média e desvio-padrão de 2 lotes

tr: traços (limite de 0,01 µg/g)

Os teores de ζ -caroteno encontrados nos sucos pasteurizados analisados no presente trabalho (Tabela 2) foram comparáveis ao teor de 6,3 $\mu\text{g/g}$ relatado por Cecchi e Rodriguez-Amaya (1981) para suco pasteurizado da marca B. Entretanto, estes autores encontraram 3,6 $\mu\text{g/g}$ de ζ -caroteno no suco da marca A. Os sucos das marcas C e D analisados no presente trabalho também apresentaram teores de β -caroteno e total de carotenóides similares aos do suco marca B analisado por Cecchi e Rodriguez-Amaya (1981). Os sucos da marca A do presente trabalho apresentaram teores bem superiores de β -caroteno (Tabela 2) do que os demais sucos.

Os teores de β -caroteno das polpas congeladas (Tabela 3) foram comparáveis aos dos sucos pasteurizados das marcas B, C e D (Tabela 2). Como esperado, as bebidas de maracujá à base de soja e iogurte (Tabela 4) apresentaram teores de carotenóides menores que as polpas e sucos.

Os teores dos carotenóides, assim como do total de carotenóides também foram menores no suco concentrado congelado (Tabela 4).

Os valores de vitamina A das três marcas de polpa e dos sucos das marcas A, B e D (Tabelas 2 e 3) se encontram dentro da faixa dos teores observados na fruta fresca (Silva e Mercadante, 2001). O valor de vitamina A do suco da marca C (Tabela 2), como também os valores dos outros produtos (Tabela 4) foram menores que os valores de vitamina A reportados para maracujá fresco.

TABELA 3. Composição de carotenóides e valor de vitamina A em polpa congelada de maracujá.

carotenóide ^a	concentração (µg/g)		
	Marca E ^b	Marca F ^c	Marca G ^b
β-criptoxantina	1,1 ± 0,2	0,7 ± 0,4	0,9 ± 0,5
prolicopeno	2,4 ± 1,0	1,2 ± 0,6	1,5 ± 0,6
cis-ζ-caroteno	4,3 ± 1,1	2,4 ± 1,2	2,0 ± 0,7
ζ-caroteno	7,7 ± 1,9	8,1 ± 3,1	3,4 ± 1,5
β-caroteno	3,5 ± 0,9	2,4 ± 1,3	4,0 ± 2,2
cis-β-caroteno	0,4 ± 0,2	tr	0,3 ± 0,1
total	19,5 ± 4,6	14,8 ± 5,7	11,9 ± 2,1
valor de vitamina A (ER/100g)	70,2 ± 16,0	45,7 ± 24,4	75,6 ± 40,1

^a Ordem de eluição da coluna.

^b Média e desvio-padrão de 5 lotes.

^c Média e desvio-padrão de 3 lotes.

tr: traços (limite de 0,01 µg/g)

TABELA 4. Composição de carotenóides e valor de vitamina A em produtos comerciais de maracujá.

carotenóide ^a	concentração (µg/g)		
	bebida à base de soja ^b	bebida à base de suco e iogurte ^b	suco concentrado congelado ^c
β-criptoxantina	0,01 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,47 ± 0,26
prolicopeno	0,04 ± 0,01	0,26 ± 0,09	0,61 ± 0,24
cis-ζ-caroteno	0,08 ± 0,01	0,55 ± 0,22	0,84 ± 0,28
ζ-caroteno	0,12 ± 0,02	1,13 ± 0,46	1,50 ± 0,48
β-caroteno	0,06 ± 0,01	0,34 ± 0,14	1,27 ± 0,42
cis-β-caroteno	tr	0,02 ± 0,01	tr
total	0,31 ± 0,03	2,34 ± 0,83	4,68 ± 1,61
valor de vitamina A (ER/100g)	1,17 ± 0,15	6,10 ± 2,48	25,01 ± 8,99

^a Ordem de eluição da coluna.

^b Média e desvio-padrão de 5 lotes.

^b Média e desvio-padrão de 4 lotes.

tr: traços (limite de 0,01 µg/g)

Segundo o Regulamento Técnico Geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta (MAA, 2000), polpas de maracujá devem apresentar valores de pH mínimo de 2,7 e máximo de 3,8 e sólidos solúveis em °Brix, a 20°C, de no mínimo 11 °Brix. Nas polpas analisadas os valores de pH variaram de 2,71 a 3,10 e os teores de sólidos solúveis foram de 12,0 a 13,5°Brix na polpa da marca E, de 9,0 a 10,0 °Brix na da marca F e de 5,0 a 7,0 °Brix na da marca G. Deste modo, observamos que todas as polpas analisadas apresentaram valores de pH satisfatórios a este regulamento, porém quanto aos teores de sólidos solúveis, somente a polpa congelada de marca E, apresentou valores adequados quanto a este quesito. Podemos também verificar uma correlação positiva entre os valores de sólidos solúveis e teores de carotenóides totais obtidos para as polpas congeladas, uma vez que ambos os valores foram crescentes na seguinte ordem marca G, F e E.

Quanto aos sucos de maracujá, este Regulamento (MAA, 2000) menciona valor de sólidos solúveis de no mínimo 11°Brix à 20°C, não fazendo referência quanto a valores de pH. Para os sucos analisados no presente trabalho obtivemos valores de 10,0 a 11,5 °Brix para a marca A, de 11,0 °Brix para a marca B, de 11,5 a 12,0 °Brix para a marca C e de 12,5 a 13,0 °Brix para a marca D. Segundo este Regulamento, somente um lote do suco de marca A não satisfaz esta exigência. Não houve correlação entre os teores de carotenóides totais e os valores de sólidos solúveis.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq, Hoffmann-La Roche e MCT-FINEP-CNPq/PRONEX pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- BAUERFEIND, J. C. (1972). Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *J. Agric. Food Chem.* **20**, 456-473.
- BRITTON, G. (1995). UV/visible spectroscopy. In *Carotenoids Vol. 1B: Spectroscopy* (Britton, G., Pfander, H., Liaaen-Jensen, S., Eds.). p. 13-62. Birkhauser: Basel.
- BUSHWAY, R. J. and WILSON, A. M. (1982). Determination of α - and β -carotene in fruit and vegetables by high performance liquid chromatography. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* **15**, 165-169.
- CECCHI, H. M. and RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. (1981). Carotenóides e valor de vitamina A em suco de maracujá processado. *Ciênc. Cult.* **33**, 72-76.
- CHAN, H. T. (1993). Passion fruit, papaya and guava juices. In *Fruit Juice Processing Technology* (NAGY, S.; CHEN, C.S.; SHAW, P.E. Eds.). p. 334-348. Agscience Inc.: Auburndale (Flórida).
- DAVIES, B. H. (1976). Carotenoids. In: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments, vol 2* (Goodwin, T. W. ed.). p. 38-65. Academic Press, London, 2nd ed.
- FRUPEX (1994) - Manual de Exportação de Frutas. Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura - IICA. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária e Secretária de Desenvolvimento Rural – SDR.
- HAMANO, P. S. and MERCADANTE, A.Z. (2001). Composition of carotenoids from commercial products of caja (*Spondias lutea*). *J. Food Compos. Anal* **14**, 335-343.
- KRINSKY, N. I. (1994). The biological properties of carotenoids. *Pure Appl. Chem.* **66**, 1003-1010.
- LAJOLO, F. M. (1987). Efeito do processamento sobre o valor nutricional dos alimentos. Situação na América Latina e Caribe, e importância para elaboração de tabelas de composição. *Arch. Latinoamer. Nutr.* **37**, 666-672.
- LEUENBERGER, F.J.; THOMMEN, H. (1972) Zum Vorkommen von carotinoiden in der Passionsfrucht. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung* **149**, 279-282.

- MAA (2000) Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. Instrução Normativa MAA, 7 de janeiro, n. 1, p.103-119.
- MEDINA, J. C. (1980) Maracujá – Cultura. *In: Maracujá da Cultura ao Processamento e Comercialização*. Série Frutas Tropicais. 9 – ITAL.
- MELETTI, L.M.M. & MAIA, M.L. (1999) “Maracujá: Produção e Comercialização”. Boletim Técnico, 181. Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).
- MERCADANTE, A.Z; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. and BRITTON, G. (1997). HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 120-123.
- MERCADANTE, A. Z.; BRITTON, G. and RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. (1998). Carotenoids from yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). *J. Agric. Food Chem.* **46**, 4102-4106.
- NAS-NRC. (1989) *Recommended Dietary Allowances*, National Academy of Science, Washington. p.78-92.
- PRUTHI, J. S. and LAL, G. (1958). Carotenoids in passion fruit juice. *Food Res.* **23**, 505-510.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. (1999) A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI Press, 23-45.
- RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A.R.; VOLPE, C.A.; OLIVEIRA, J.C. de; DURIGAN, J.F.; BAUMGARTNER, J.G.; SILVA, J.R.; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M.E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V. de P. (1996) Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília, MAARA, Secretaria de Desenvolvimento Rural, EMBRAPA-SOI, 64p. (Série Publicações Técnicas FRUPEX, 19).
- SILVA, S. R. and MERCADANTE, A. Z. (2001). Composição de carotenóides de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Flavicarpa) *in natura*. *Ciênc. Tecnol. Alim.* (aceito).
- WILBERG, V. C. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. (1995). HPLC Quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. *Food Sci. Technol. Lebensm.-Wissens. Technol.* **28**, 474-480.

CAPÍTULO 4

CAROTENÓIDES PRÓ-VITAMÍNICOS A DE PRODUTOS COMERCIAIS DE MANGA (*Mangifera indica* L.)

(em preparação para submissão à revista Ciência e Tecnologia de Alimentos)

RESUMO

Devido ao crescimento do mercado de alimentos processados, a composição de carotenóides de vários produtos de manga (polpa congelada, suco integral, suco pronto para beber e suco concentrado congelado açucarado) comercializados em Campinas, Brasil, foi determinada. Os carotenóides foram separados e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência com coluna C₁₈ Nova-Pak (4µm de tamanho de partícula, 3,9 x 300 mm) e metanol/acetato de etila (9:1) como fase móvel. Em todos os produtos foram encontrados os seguintes carotenóides pró-vitamínicos: β-criptoxantina, all-*trans*-β-caroteno, 9-*cis*-β-caroteno, 13-*cis*-β-caroteno e 15-*cis*-β-caroteno, além de ζ-caroteno e traços de outros carotenóides não identificados. Houve pequena variação qualitativa entre lotes e produtos, porém a variação quantitativa foi considerável entre produtos, e mesmo entre lotes de um mesmo produto. O all-*trans*-β-caroteno foi o carotenóide majoritário em todos os produtos analisados, variando de 1,08 a 8,75 µg/g e perfazendo de 53 a 90% de carotenóides totais, o que demonstra que estes produtos podem ser considerados uma importante fonte de pró-vitamina A na dieta, chegando a valores de 181 ± 30 ER/100g.

Palavras-chave: carotenóides; *Mangifera indica*; manga; produtos processados comerciais; cromatografia líquida de alta eficiência.

SUMMARY

PROVITAMIN A CAROTENOIDS FROM COMMERCIAL PRODUCTS OF MANGO (*Mangifera indica* L.). Due to the increasing market of processed foods, the carotenoid composition of several mango products (frozen pulp, pasteurized juice, ready-to-drink juice and frozen concentrated sugar added juice) commercialized in Campinas, Brazil, was analyzed. In all products, the following carotenoids were found: β -cryptoxanthin, all-*trans*- β -carotene, 9-*cis*- β -carotene, 13-*cis*- β -carotene and 15-*cis*- β -carotene, along with ζ -carotene and traces of not identified carotenoids. A small qualitative variation was observed among lots and products, however, the quantitative variation was considerable among products, and even among lots of the same product. In all products, all-*trans*- β -carotene was the main carotenoid, ranging from 1.08 to 8.75 $\mu\text{g/g}$ and accounting for 53 to 90% of the total carotenoid contents. These products can be considered an important source of provitamin A for the diet, reaching $181 \pm 30 \text{ RE/100g}$.

Keywords: carotenoids; mango; *Mangifera indica*; commercial processed products; high performance liquid chromatography.

1 – INTRODUÇÃO

A manga destaca-se como uma fruta de alto valor comercial em muitas regiões do mundo, principalmente nas tropicais. A manga foi a quarta fruta dos trópicos a alcançar o mercado internacional, depois da banana, do abacaxi e do abacate [9].

Dados da FAO [8] classificam o Brasil como o quinto maior produtor mundial de manga, ainda que o país responda por apenas 2,7% da produção total de 15.022.000 toneladas, vindo depois da Índia (63,2%), México (5,3%), Paquistão (4,2%) e China (3,0%). Os principais produtores/exportadores de polpa de manga são Brasil, Índia, México, Filipinas, Colômbia e Venezuela. A produção brasileira desta fruta supera a de mamão e maracujá, sendo que a produção no ano de 1998 foi de 843.467 toneladas e as principais regiões produtoras são as Nordeste e Sudeste [1].

Os carotenóides são importantes para a manga, pois são responsáveis pela agradável cor de sua polpa. Além disso, o β -caroteno possui atividade pró-vitâmica A e outras funções desejáveis [7]. Devido à importância econômica desta fruta, os carotenóides de manga já receberam a atenção de diversos pesquisadores [6, 10, 11, 12, 15, 16, 19, 20, 26, 27].

No Brasil, GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA [11, 12], WILBERG & RODRIGUEZ-AMAYA [27], MERCADANTE *et al.* [19] e MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA [20] analisaram os carotenóides de diversas variedades de manga *in natura*. Outros autores analisaram carotenóides de frutos de manga (variedade Alphonso), porém provenientes da Espanha [6] e da Índia [16]. A estabilidade dos carotenóides de purê de manga e manga em calda de duas variedades de manga, produtos não comerciais, foi acompanhada por GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA [11]. CANO & ANCOS [6] também processaram pedaços de manga em calda e pedaços congelados de manga e verificaram o perfil de carotenóides. Produtos processados comerciais de manga foram analisados por MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA [20] e por WILBERG & RODRIGUEZ-

AMAYA [27], sendo que os primeiros autores analisaram sucos processados e os segundos analisaram “chutney”, manga em pedaços em calda e suco de manga.

A cada dia que passa aumenta a preferência do consumidor por produtos processados, rápidos e práticos de serem utilizados. Sobretudo em países em desenvolvimento, onde as taxas de urbanização crescem a cada ano, essa tendência é cada vez mais forte. Dessa maneira, o estudo das características nutricionais de produtos industrializados é imprescindível na determinação de uma dieta saudável e equilibrada, capaz de atender às necessidades do mercado consumidor.

No presente trabalho, os carotenóides pró-vitâmicos A de diferentes produtos processados de manga disponíveis comercialmente foram avaliados.

2 – MATERIAL E MÉTODO

2.1 – Amostras

Quarenta e três amostras de produtos processados de manga (*Mangifera indica*) foram adquiridas no comércio de Campinas, Brasil, durante o período de junho a dezembro de 1999.

Foram analisadas 2 marcas de polpa congelada, 1 marca de suco concentrado açucarado, 3 marcas de suco pasteurizado e de suco de manga pronto para beber. De cada marca, foram analisados 5 lotes, com exceção de uma marca de polpa congelada e de uma de suco pronto para beber, para os quais foram analisados 4 lotes. Foram tomadas para análise em torno de 6 g de suco pasteurizado, 6 g de polpa congelada, 8 a 10 g de suco pronto para beber e 10 g de suco concentrado açucarado.

2.2 – Análise de Carotenóides

O extrato de carotenóides foi preparado de acordo com MERCADANTE *et al.* [19]. As etapas principais foram extração dos pigmentos com acetona e saponificação com 10% KOH em metanol por uma noite à temperatura ambiente. Após remoção do álcali, o extrato foi concentrado em evaporador rotatório ($T \leq 35^{\circ}\text{C}$) até quase a secura e esta etapa foi concluída utilizando-se fluxo de N_2 . A extração foi realizada em duplicata sendo cada uma injetada duas vezes no cromatógrafo. Imediatamente antes da análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) o extrato foi dissolvido em 1ml de acetato de etila e metanol (1:1).

Utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Waters), equipado com bomba quaternária (Waters, modelo 600), sistema de desgaseificação "on line", injetor "Rheodyne" com alça de amostra de 20 μl , forno para coluna, detector de arranjo de diodos (DAD) Waters (modelo 996) e sistema de processamento e aquisição de dados Millennium (Waters). Os carotenóides foram separados em coluna C_{18} Nova-Pak (4 μm de tamanho de partícula, 3,9 x 300 mm) com metanol/acetato de etila (9:1) como fase móvel, com vazão de 1ml/min e temperatura da coluna mantida a 29°C. Foram testadas várias fases móveis, inclusive gradiente, mas não ocorreu separação dos carotenóides hidroxilados e dos carotenos em uma mesma corrida com tempo de eluição inferior a 40 minutos. Os espectros foram adquiridos entre 250 e 600 nm e os cromatogramas foram processados no comprimento de onda de máximo de absorção (λ_{max}) de cada carotenóide.

A identificação dos carotenóides foi realizada através de informações obtidas dos espectros de absorção no UV-visível fornecidos pelo detector de conjunto de diodos, co-cromatografia com padrões, ordem de eluição na coluna e comparação dos tempos de retenção dos componentes da amostra com padrões conhecidos. Foram comparados os comprimentos de onda de absorção máximos e o grau de estrutura fina do espectro, definido como %III/II, com valores da literatura [3].

Os padrões de β -criptoxantina, ζ -caroteno, *all-trans*- β -caroteno, 9-*cis*- β -caroteno, 13-*cis*- β -caroteno e 15-*cis*- β -caroteno foram fornecidos pela F. Hoffmann-La Roche (Basiléia, Suíça).

Foram construídas curvas de calibração em triplicata para os carotenóides, com 6 a 9 níveis de concentração. Pontos de concentração conhecida, dentro desta faixa, foram injetados diariamente para quantificação das amostras. O caroteno incolor fitoflueno não foi quantificado. Para quantificação das soluções de padrões utilizou-se o seguinte valor de absortividade: 2592 para *all-trans*- β -caroteno [7], 2380 e 1740 para 9-*cis* e 13-*cis*- β -caroteno, respectivamente [13] e para o 15-*cis*- β -caroteno foi utilizado o valor de 1740.

O valor de vitamina A foi calculado de acordo com os fatores de conversão relatados pelo NAS-NRC [21], onde 6 μg de β -caroteno correspondem a 1 μg de equivalente de retinol (ER). As bioatividades utilizadas foram de 100% para *all-trans*- β -caroteno, 50% para *all-trans*- β -criptoxantina [2] e de 50% para os isômeros *cis* de β -caroteno.

A precisão entre extrações e injeções foi verificada para os principais carotenóides.

2.3 – Determinação dos Sólidos Solúveis (°Brix)

O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi lido em um refratômetro marca ATAGO, modelo 8572, com escala de 0 a 90%, utilizando-se a tabela de correção de temperatura para 20°C.

2.4 – Determinação do pH

O pH foi medido em um potenciômetro marca Digimed, modelo DM 20. A calibração do aparelho foi feita com tampões de pH 7,0 e 4,0 à temperatura ambiente.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Precisão

Os valores do coeficiente de variação (CV) obtidos entre extrações variaram de 0,0 a 7,9% para β -criptoxantina, de 0,0 a 8,8% para ζ -caroteno, de 0,2 a 5,3% para *all-trans*- β -caroteno, de 0,2 a 8,9% para 9-*cis*- β -caroteno, de 0,0 a 9,3% para 13-*cis*- β -caroteno e de 0,1 a 9,9% para 15-*cis*- β -caroteno. Injeções em duplicata da mesma extração, como esperado, apresentaram valores de CV mais baixos, como 0,0 a 5,1% para β -criptoxantina, de 0,0 a 5,9% para ζ -caroteno, de 0,0 a 2,7% para *all-trans*- β -caroteno, de 0,0 a 7,2% para 9-*cis*- β -caroteno, de 0,0 a 5,4% para 13-*cis*- β -caroteno e de 0,0 a 7,3% para 15-*cis*- β -caroteno. Os valores encontrados de CV para os isômeros *cis* foram mais altos que os dos demais carotenos, pois os picos destes isômeros não estavam separados na linha de base e apresentaram baixa concentração.

Hamano e Mercadante [14] reportaram valores de CV de no máximo 2,8% para carotenóides separados na linha de base, enquanto que valores de até 22% foram encontrados para *cis*- β -criptoxantina devido à baixa concentração e não separação na linha e base.

3.2 – Composição Qualitativa de Carotenóides

Os principais carotenos presentes nos produtos comerciais de manga foram: ζ -caroteno, all-*trans*- β -caroteno, 9-*cis*- β -caroteno, 13-*cis*- β -caroteno e 15-*cis*- β -caroteno, sendo estes eluídos nesta ordem da coluna cromatográfica (*Figura 1*). Também foram encontrados traços de β -criptoxantina, *cis*- ζ -caroteno, fitoflueno e outros carotenóides não identificados.

A identificação dos picos e características dos espectros no UV-visível estão apresentadas na *Tabela 1*.

A ordem de eluição dos isômeros *cis* de β -caroteno varia conforme o recobrimento das colunas de fase reversa e da fase móvel utilizada [5, 13, 14, 22, 23, 24, 25]. No presente trabalho, os isômeros de β -caroteno foram conclusivamente identificados através da co-cromatografia com padrões autênticos e das informações provenientes dos espectros no UV-visível (*Tabela 1 e Figura 2*).

Os carotenóides geralmente estão presentes em alimentos na sua forma mais estável que é a configuração *trans*. Entretanto, os isômeros *cis* podem ocorrer naturalmente ou serem formados durante exposição do carotenóide à luz, ácido e calor.

A presença de isômeros *cis* nas amostras processadas analisadas no presente estudo era esperada, pois algumas condições que catalisam a isomerização são inerentes ao processamento para obtenção de tais produtos.

GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA [13] relataram a presença de traços de 13-*cis*- β -caroteno em 5 dos 10 lotes de manga Haden e Tommy Atkins analisados. Nos outros trabalhos envolvendo produtos processados de manga [6, 20, 27] não houve separação entre os isômeros geométricos. Os seguintes produtos apresentaram β -caroteno, além de β -criptoxantina e auroxantina em suco comercial de manga [20], e mutacromo em manga em pedaços enlatada [6]. Em produtos não comerciais de manga (purê e em pedaços) foi reportada a presença de ζ -caroteno, α -criptoxantina, violaxantina, luteoxantina, auroxantina e mutatoxantina, além do β -caroteno [11].

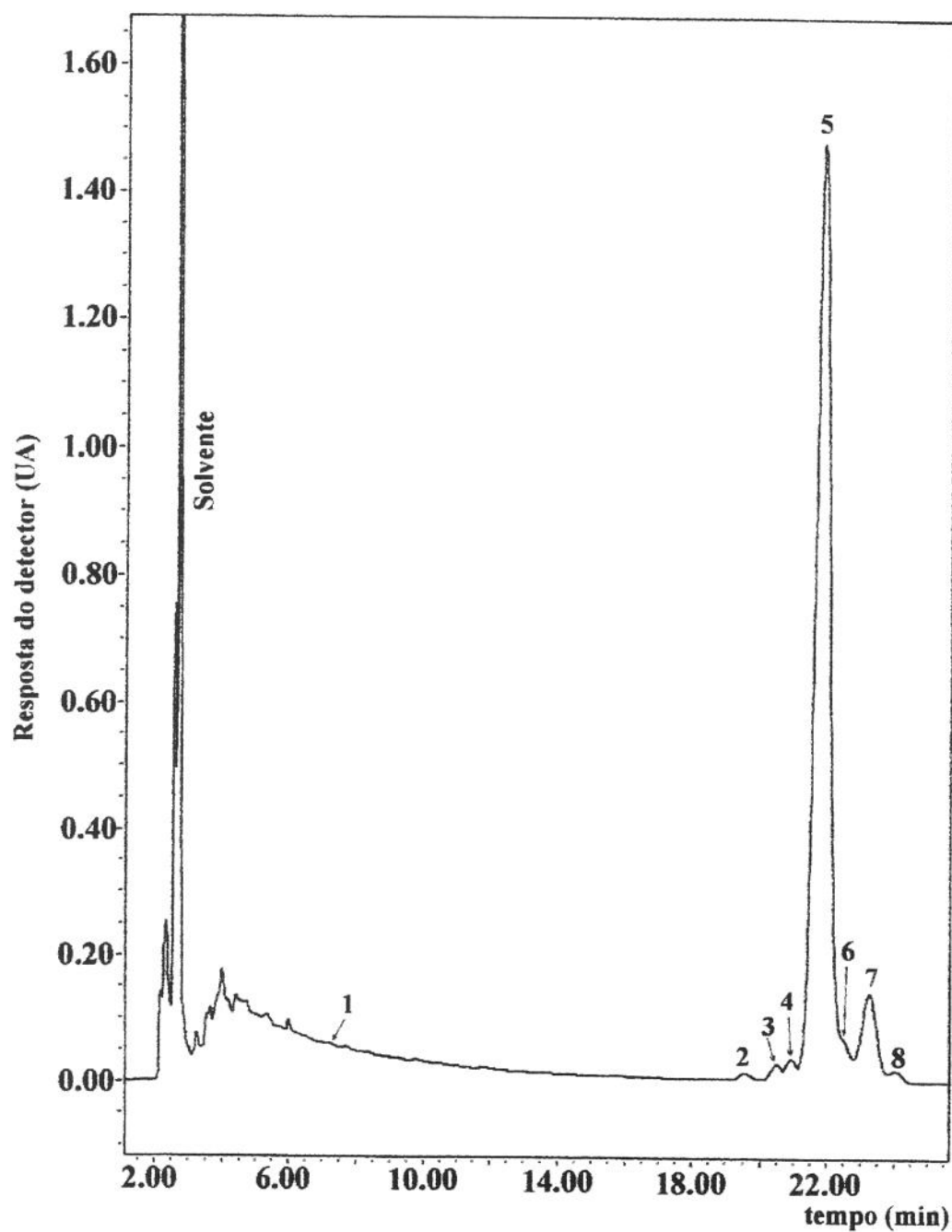


FIGURA 1. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de suco de manga. Condições cromatográficas: coluna C₁₈ Nova-Pak (4 μm, 3,9 x 300 mm), fase móvel: metanol/acetato de etila (9:1), vazão de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} . A identidade dos picos encontra-se na *Tabela 1*.

TABELA 1. Propriedades, obtidas por CLAE, dos carotenóides de produtos comerciais de manga.

pico ^a	carotenóide	faixa t _R (min) ^b	λ _{max} (nm) ^c	% III/II
1	β-criptoxantina	7,1 - 7,7	278, (423), 450, 478	27
2	cis-ζ-caroteno	19,6 - 20,7	293, 372, 400, 421	89
3	ζ-caroteno	19,3 - 21,7	298, 378, 400, 421	94
4	fitoflueno	20,6 - 22,2	333, 349, 366	103
5	all-trans-β-caroteno	21,5 - 23,0	(425), 452, 476	25
6	9-cis-β-caroteno	22,2 - 23,8	(420), 447, 471	32
7	13-cis-β-caroteno	22,4 - 24,6	338, (418), 442, 470	8
8	15-cis-β-caroteno	23,1 - 25,4	338, (424), 447, 475	0

^a Numerado de acordo com o cromatograma apresentado na *Figura 1*.

^b Faixa de 172 corridas.

^c Solvente: metanol/acetato de etila (9:1). Parêntesis indica ombro ao invés de pico.

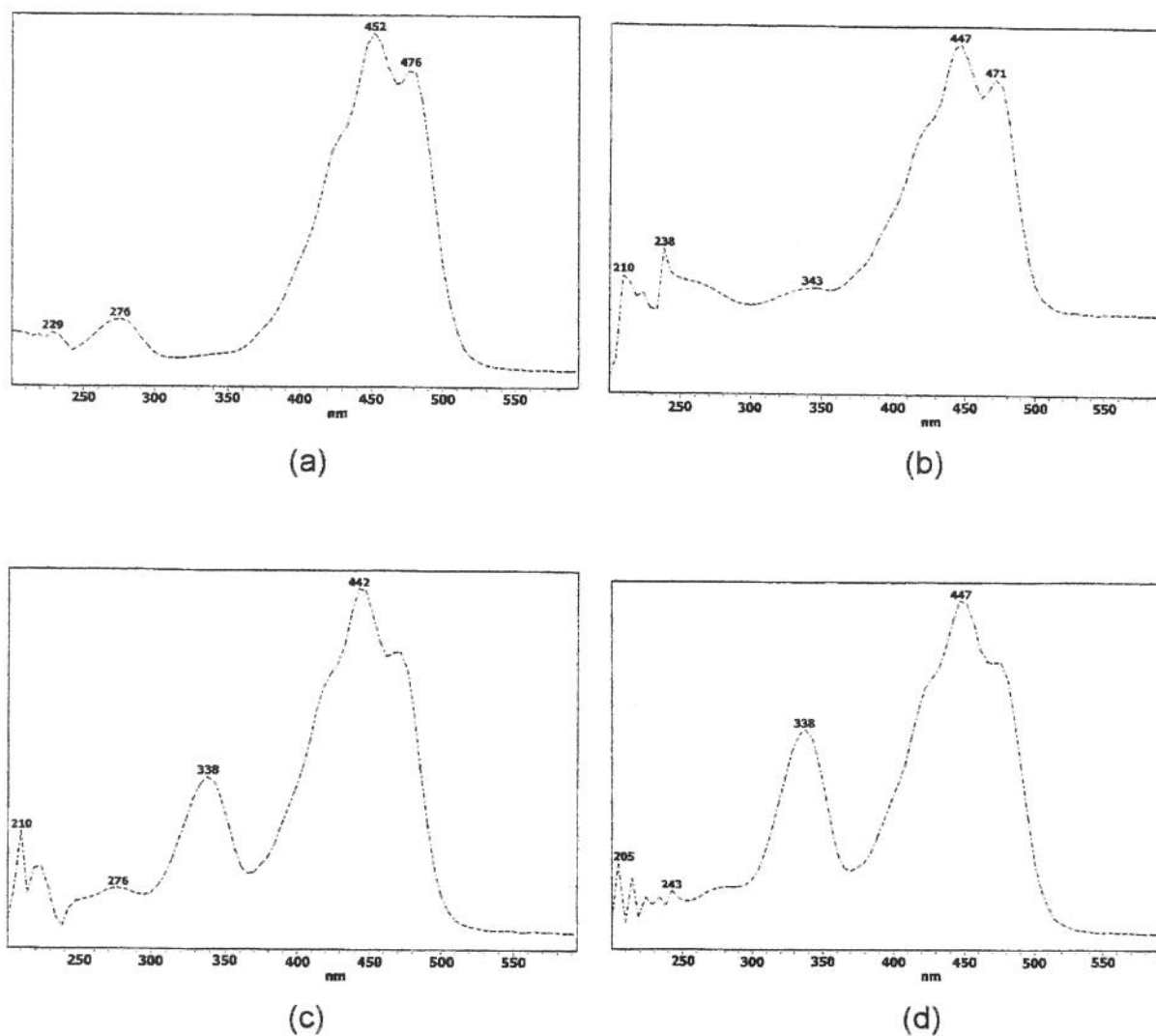


FIGURA 2. Espectros de absorção, obtidos pelo DAD, em metanol/acetato de etila (9:1) do a - *all-trans*- β -caroteno, b - *9-cis*- β -caroteno, c - *13-cis*- β -caroteno, d - *15-cis*- β -caroteno.

Em todos os trabalhos, assim como no presente estudo, o *all-trans*- β -caroteno foi o principal carotenóide nos produtos processados de manga.

3.3 – Composição Quantitativa de Carotenóides

Como mostra a *Tabela 2*, o *all-trans*- β -caroteno foi o carotenóide majoritário em todos os produtos de manga processados, perfazendo de 53 a 90% nos diferentes produtos. Como esperado, os sucos pronto para beber apresentaram menor teor de β -caroteno e carotenóides totais do que os outros produtos que necessitam de diluição para serem consumidos, com exceção do suco marca F que apresentou quantidades de carotenóides maiores às encontradas em suco pasteurizado.

Uma das explicações para a diferença nos teores de β -caroteno e carotenóides totais entre marcas do mesmo produto pode ser a utilização da fruta *in natura* de diferentes variedades e/ou regiões. GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA [12] encontraram teores de β -caroteno variando de 4,94 a 27,02 $\mu\text{g/g}$, dependendo do cultivar. MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA [20] reportaram teores de β -caroteno de 5,8 e 15,1 $\mu\text{g/g}$ para o mesmo cultivar de manga proveniente do Estado de São Paulo e da Bahia, respectivamente.

MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA [20] encontraram de 6,3 a 11,7 $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno em suco comercial de manga. Estes valores são mais altos que os encontrados neste estudo, mas os isômeros *cis* não foram separados no citado trabalho. De fato, quando se somou a quantidade de todos os isômeros de β -caroteno no presente estudo, os valores de 5,74 a 11,25 $\mu\text{g/g}$ se aproximaram daqueles reportados anteriormente [18]. WILBERG & RODRIGUEZ-AMAYA [27] analisaram o teor de β -caroteno de suco de manga comercializado no Rio de Janeiro sem separação de isômeros *cis* e obtiveram valores de 5,2 a 5,4 $\mu\text{g/g}$. Estes valores são próximos ou menores que os obtidos no presente trabalho. Analisando valores

TABELA 2: Composição de carotenóides ($\mu\text{g/g}$) e valor de vitamina A (ER/100g) em produtos comerciais de manga.

Carotenóide ^a	Polpa		Suco integral			Suco pronto para beber			Suco concentrado Marca I ^b
	Marca A ^b	Marca B ^c	Marca C ^b	Marca D ^b	Marca E ^b	Marca F ^b	Marca G ^b	Marca H ^c	
β -criptoxantina	0,01 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,08	0,08 $\pm$ 0,09	0,02 $\pm$ 0,04	0,04 $\pm$ 0,02	0,01 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,03	0,04 $\pm$ 0,05
all- <i>trans</i> - β -caroteno	8,75 $\pm$ 2,47	5,30 $\pm$ 2,26	7,21 $\pm$ 4,19	8,24 $\pm$ 1,95	4,70 $\pm$ 1,44	8,71 $\pm$ 1,46	1,14 $\pm$ 0,52	1,08 $\pm$ 0,31	7,12 $\pm$ 0,49
9- <i>cis</i> - β -caroteno	0,29 $\pm$ 0,08	0,41 $\pm$ 0,04	0,71 $\pm$ 0,17	0,93 $\pm$ 0,43	0,25 $\pm$ 0,13	1,04 $\pm$ 0,52	0,10 $\pm$ 0,05	0,12 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,04
13- <i>cis</i> - β -caroteno	1,03 $\pm$ 0,69	1,69 $\pm$ 0,85	0,95 $\pm$ 0,12	1,81 $\pm$ 0,43	0,68 $\pm$ 0,29	2,84 $\pm$ 0,45	0,42 $\pm$ 0,14	0,71 $\pm$ 0,25	0,43 $\pm$ 0,20
15- <i>cis</i> - β -caroteno	0,21 $\pm$ 0,18	0,33 $\pm$ 0,41	0,50 $\pm$ 0,22	0,27 $\pm$ 0,29	0,11 $\pm$ 0,05	0,47 $\pm$ 0,13	0,05 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,39
total	10,30 $\pm$ 3,24	7,90 $\pm$ 2,25	9,36 $\pm$ 4,66	11,52 $\pm$ 2,35	5,88 $\pm$ 1,11	13,23 $\pm$ 2,08	1,75 $\pm$ 0,55	2,11 $\pm$ 0,51	7,91 $\pm$ 0,77
Valor de vitamina A	159 $\pm$ 47	109 $\pm$ 37	165 $\pm$ 26	164 $\pm$ 34	87 $\pm$ 21	181 $\pm$ 30	24 $\pm$ 9	26 $\pm$ 7	133 $\pm$ 21
(ER/100g)									

a Ordem de eluição da coluna

b Média e desvio-padrão de 5 lotes

c Média e desvio-padrão de 4 lotes

de β -caroteno encontrados por estes mesmos autores para manga *in natura* adquirida em mercados do Rio de Janeiro, podemos perceber que pode haver grandes diferenças entre teores de β -caroteno de produtos processados de manga, já que é grande a variação no teor deste carotenóide em frutos *in natura* adquiridos comercialmente (8,2 a 28,7 $\mu\text{g/g}$).

Dos isômeros *cis* do β -caroteno, o 13-*cis*- β -caroteno foi o que apresentou concentrações mais elevadas e o 15-*cis*- β -caroteno foi o que apresentou as menores concentrações em todos os produtos analisados no presente estudo. Em todas as frutas analisadas por GODOY & RODRIGUEZ-AMAYA [13] que apresentaram isômeros *cis* do β -caroteno, o isômero na posição 13 apresentou-se em maior concentração que o na posição 9.

No presente trabalho, a razão entre isômeros *cis* e *all-trans*- β -caroteno foi maior em sucos pronto para beber, sendo que o suco da marca H foi o que apresentou a maior proporção de isômeros *cis* do β -caroteno (0,85) em relação ao *all-trans*- β -caroteno, enquanto que nas marcas F e G esta razão foi de 0,5. Nos sucos pasteurizados a proporção dos isômeros *cis/trans* foi de 0,22, 0,30 e 0,37 para as marcas E, C e D, respectivamente. Já nas duas polpas analisadas foi grande a diferença na razão dos isômeros do β -caroteno, sendo de 0,17 para a marca A e de 0,46 para a marca B. Ao contrário do esperado o suco concentrado congelado açucarado apresentou o valor de 0,10 para a razão isômeros *cis/trans*.

A β -criptoxantina esteve presente em quantidades traço ou não foi detectada em alguns lotes de produtos analisados, como em 2 lotes da polpa congelada Marca A, 2 lotes do suco pasteurizado Marca D, 2 lotes do suco pasteurizado Marca E, 4 lotes do suco pronto para beber Marca G e 1 lote do suco pronto para beber Marca H.

Através dos dados presentes na *Tabela 2* podemos constatar, que apesar da considerável variação de concentração de carotenóides entre os diferentes produtos de manga, mesmo após o processamento, estes produtos apresentam um considerável conteúdo de carotenóides pró-vitamínicos A.

Os valores de vitamina A das polpas congeladas, sucos integrais e do suco concentrado congelado foram maiores que os reportados para produtos de cajá [14] e para as frutas acerola, piqui, pêssago e nectarina [13].

Os valores de pH e Brix foram monitorados para verificar se os produtos de manga estavam de acordo com a legislação brasileira [18], que especifica valores de pH entre 3,3 e 4,5 e um mínimo de 11°Brix para polpa.

No presente trabalho foram encontrados valores de pH entre 3,18 e 4,38 e valores de 11 a 14°Brix para polpas congeladas, sendo que 4 dos 5 lotes analisados da polpa da marca A estavam com valores de pH ligeiramente abaixo do estabelecido na legislação [18].

Os valores de pH e Brix obtidos foram, respectivamente, 3,14 a 3,63 e de 9 a 14°Brix para sucos integrais, de 3,07 a 4,06 e de 12 a 15°Brix para suco pronto para beber e de 2,84 a 3,06 e de 64 a 66 °Brix para suco concentrado congelado açucarado. Entretanto a legislação citada não estabelece valores para estes produtos de manga.

Se compararmos os valores de °Brix entre os sucos “pronto para beber” com as respectivas concentrações de carotenóides totais, obtemos uma correlação positiva entre estes, pois o suco da marca F, que apresentou um elevado teor de carotenóides totais ($13,23 \pm 2,08 \mu\text{g/g}$) apresentou também um valor de Brix mais alto (14 a 15°Brix), enquanto os sucos das marcas G e H, apresentaram teores de carotenóides e valores de Brix menores (12 a 13 °Brix). O valor de Brix do suco “pronto para beber” da marca F inclusive foi maior que os valores encontrados para sucos concentrados e polpas analisados no presente trabalho.

4- CONCLUSÕES

Em todos os produtos processados de manga foi detectada a presença dos carotenóides pró-vitamínicos β -criptoxantina, *all-trans*- β -caroteno, 9-*cis*- β -caroteno, 13-*cis*- β -caroteno e 15-*cis*- β -caroteno. O *all-trans*- β -caroteno foi o principal carotenóide em todos os produtos de manga analisados, variando de 1,08 a 8,75 $\mu\text{g/g}$ e perfazendo de 53 a 90% do total de carotenóides, o que demonstra que produtos comerciais de manga são uma importante fonte de pró-vitamina A na dieta, chegando a valores de $181 \pm 30 \text{ ER/100g}$, com exceção de 2 marcas de suco pronto para beber e 1 marca de suco integral.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGRIANUAL. *Anuário da Agricultura Brasileira*: 381- 406, 2001.
- [2] BAUERFEIND, J. C. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 20, p. 456-473, 1972.
- [3] BRITTON, G. UV/visible spectroscopy. In **Carotenoids Vol. 1B: Spectroscopy** (Britton, G., Pfander, H., Liaaen-Jensen, S., Eds.). p. 13-62. Birkhauser: Basel, 1995.
- [4] BUSHWAY, R. J. & WILSON, A. M. Determination of α -and β -carotene in fruit and vegetables by high performance liquid chromatography. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal** v. 15, p. 165-169, 1982.
- [5] BUSHWAY, R. J. Separation of carotenoids in fruits and vegetables by high performance liquid chromatography. **Journal of Liquid Chromatography** v. 8, p. 1527-1547, 1985.
- [6] CANO, M. P. & ANCOS, B. Carotenoid and carotenoid ester composition in mango fruit as influenced by processing method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 42, p. 2737-2742, 1994.
- [7] DAVIES, B. H. Carotenoids. In: **Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments**, 2nd ed.; Goodwin, T.W. (Ed.). Academic Press: London, 1976; v.2, pp 38-165.
- [8] FAO. **Production Yearbook**. Roma: 1990.
- [9] FRUPEX - **Manga para exportação: Aspectos Técnicos da Produção**. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária e Secretária de Desenvolvimento Rural - SDR, Banco do Brasil, EMBRAPA, 1994.
- [10] GIL, A. M.; DUARTE, I. F.; DELGADILLO, I.; COLQUHOUN, I. J.; CASUSCELLI, F.; HUMPFER, E.; SPRAUL, M. Study of the compositional changes of mango during ripening by use of nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1524-1536, 2000.
- [11] GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Changes in individual carotenoids on processing and storage of mango (*Mangifera indica*) slices and purée. *International Journal of Food Science and Technology* v. 22, p. 451-460, 1987.

- [12] GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. **Technology Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie** v. 22, p. 100-103, 1989.
- [13] GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Occurrence of *cis*-isomers of provitamin A in Brazilian fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1306-1313, 1994.
- [14] HAMANO, P. S. & MERCADANTE, A. Z. Composition of carotenoids from commercial products of caja (*Spondias lutea*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.14, p. 335-343, 2001.
- [15] JOHN, J.; SUBBARAYAN, C. & CAMA, H. R. Carotenoids in 3 stages of ripening of mango. **Journal of Food Science**, v. 35, p. 262-265, 1970.
- [16] JUNGALWALA, F.B. & CAMA, H.R. Carotenoids in mango (*Mangifera indica*) fruit. **Indian Journal of Chemistry**, v. 1, p. 36-40, 1963.
- [17] KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure & Applied Chemistry**, v. 66, p. 1003-1010, 1994.
- [18] MAA, **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. Instrução Normativa MAA, 7 de janeiro, nº. 1 p. 103-119, 2000.
- [19] MERCADANTE, A. Z; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. & BRITTON, G. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 120-123, 1997.
- [20] MERCADANTE, A. Z. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 46, p. 128-130, 1998.
- [21] NAS-NRC. **Recommended Dietary Allowances**, National Academy of Science, Washington. p. 78-92, 1989.
- [22] NYAMBAKA, H. & RYLEY, J. An isocratic reversed-phase HPLC separation of the stereoisomers of the provitamin A carotenoids (α - and β -carotene) in dark green vegetables. **Food Chemistry** v. 55, p. 63-72, 1996.

- [23] O'NEIL, C. A.; SCHWARTZ, S. J. & CATIGNANI, G. L. Comparison of liquid chromatographic methods for determination of *cis-trans* isomers of beta-carotene. **Journal of the Association of Official Analytical Chemistry** v. 74, p. 36-42, 1991.
- [24] QUACKENBUSH, F. W. Reverse phase HPLC separation of *cis* and *trans* carotenoids and its application to β -carotenes in food materials. **Journal of Liquid Chromatography** v. 10, p. 643-653, 1987.
- [25] SCHIERLE, J.; HÄRDI, W.; FACCIN, N.; BÜHLER, I. & SCHÜEP, W. Example 8: Geometrical isomers of β,β -carotene. In: Carotenoids vol 1A: Isolation and analysis. Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander, H. (editors). Basel: Birkhäuser,
- [26] YAH, A. R. C., NOVELO, S. A. G., CORTÉS, J. A. T., ARGUMEDO, J. J. & DUCH, E. S. The effect of ethephon on the colour, composition and quality of mango (*Mangifera indica*, cv Kent). **Food Science and Technology International**, v. 4, p. 199-205, 1998.
- [27] WILBERG, V. C. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. HPLC Quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. **Technology Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie** v. 28, p. 474-480, 1995.

6 – AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o auxílio financeiro do CNPq, Hoffmann-La Roche e MCT/FINEP/PRONEX.

CAPÍTULO 5

COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES EM POLPA CONGELADA DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea* MART.)

(em preparação para submissão à revista Ciência e Tecnologia de Alimentos)

RESUMO

A composição de carotenóides e valor de vitamina A de 3 marcas de polpas congeladas de açaí comercializadas em Campinas, Brasil, foram determinados utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência com coluna C₁₈ Nova-Pak e acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10) como fase móvel. As polpas dos frutos, apesar de apresentarem coloração violácea, possuem carotenóides, sendo que os principais encontrados foram luteína (0,86 a 1,05 µg/g), α-caroteno (0,25 a 0,43 µg/g), all-*trans*-β-caroteno (1,12 a 1,65 µg/g) e 13-*cis*-β-caroteno (0,07 a 0,22 µg/g). Não houve uma significativa diferença nos teores de carotenóides encontrados entre os lotes e marcas das polpas analisadas. Este fato pode ser atribuído, tanto a fatores relacionados ao cultivo destes frutos, uma vez que estes são provenientes de uma mesma região, quanto ao fato das amostras terem sido coletadas durante um curto período de tempo (2 meses). O teor de vitamina A encontrado nas polpas analisadas de açaí variou de 22 a 33 ER/100g, indicando que o açaí não pode ser considerado uma boa fonte de pró-vitamina A.

Palavras-chave: carotenóides; açaí; *Euterpe oleracea* Mart; polpa congelada; cromatografia líquida de alta eficiência.

SUMMARY

COMPOSITION OF CAROTENOIDS FROM FROZEN PULP OF AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart.). The carotenoid composition and vitamin A value of 3 brands of frozen pulp of açaí commercialized in Campinas, Brazil, were determined by high performance liquid chromatography on a C₁₈ Nova-Pak column and acetonitrile/methanol/ethyl acetate (75:15:10) as mobile phase. Although the purple color of the pulp of açaí, carotenoids were found, being the principal ones lutein (0.86 to 1.05 µg/g), α-carotene (0.25 to 0.43 µg/g), all-*trans*-β-carotene (1.12 to 1.65 µg/g) and 13-*cis*-β-carotene (0.07 to 0.22 µg/g). There was no significant difference on the carotenoid content among lots and brands. This fact can be explained either by factors related to plantation of this fruit since they come from the same region or due to the fact that all samples were collected during a short period of time (2 months). The vitamin A level found in the pulps of açaí ranged from 22 to 33 RE/100g, indicating that açaí can not be considered a good source of provitamin A to the diet.

Keywords: carotenoids; açaí; *Euterpe oleracea* Mart.; frozen pulp; high performance liquid chromatography.

1 – INTRODUÇÃO

O açaizeiro é uma palmeira originária da Amazônia Oriental, também presente nos Estados do Amapá, Pará e Maranhão, encontrada no estado nativo, em agrupamentos densos em áreas de várzea, igapó e terra firme.

Os frutos que aparecem em cachos são de coloração violácea, quase negra quando maduros devido à presença de antocianinas [1, 4]. O teor de antocianinas total determinado por BOBBIO *et. al.* [4] foi de 50 mg/100g de frutos descascados, e de 263 mg/100g na casca.

De acordo com a adição ou não de água, os produtos são classificados em polpa de açaí extraída por meio mecânico, sem filtração e sem adição de água, açaí especial (tipo A) ou regular (tipo B) constituídos de polpa extraída com adição de água e filtração, e açaí fino pó (tipo C) que possui uma aparência pouco densa [12].

Devido ao notável aumento do consumo de polpas de açaí, decorrente da popularização de sua propriedade energética e considerando que nenhum estudo a respeito da composição de carotenóides destes frutos foi encontrado, o presente trabalho teve como objetivo verificar a composição de carotenóides em polpas congeladas de açaí.

2 – MATERIAL E MÉTODO

2.1 – Amostras

As amostras de polpa congelada de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) foram adquiridas no comércio de Campinas, Brasil, nos meses de novembro e dezembro de 1999. Foram analisados 1 lote de polpa congelada marca A, 4 lotes da marca B e 2 lotes da marca C.

As polpas congeladas de açaí apresentaram aspecto físico pastoso, com pontos escuros acentuados, provavelmente provenientes da casca que envolve a polpa do fruto.

2.2 – Análise de Carotenóides

O extrato de carotenóides foi preparado de acordo com MERCADANTE *et al.* [13]. Aproximadamente 10g de amostra foram extraídas com acetona, seguido de partição para éter de petróleo e éter etílico e saponificação com 10% KOH em metanol por uma noite à temperatura ambiente. Após remoção do álcali, o extrato foi concentrado em evaporador rotatório ($T \leq 35^{\circ}\text{C}$) até quase a secura e esta etapa foi concluída utilizando-se fluxo de N_2 . A extração foi realizada em duplicata sendo cada uma injetada duas vezes no cromatógrafo. Imediatamente antes da análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) o extrato foi dissolvido em 1ml de acetonitrila e metanol (1:1).

Utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Waters), equipado com bomba quaternária (Waters, modelo 600), sistema de desgaseificação “on line”, injetor “Rheodyne” com alça de amostra de 20 μl , forno para coluna, detector de arranjo de diodos (DAD) (Waters, modelo 996) e sistema de processamento e aquisição de dados Millenium (Waters). Os carotenóides foram separados em coluna C_{18} Nova-Pak (4 μm de tamanho de partícula, 3,9 x 300 mm) com acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10) como fase móvel, vazão de 1ml/min e temperatura da coluna mantida a 29°C. Os espectros foram adquiridos entre 250 e 600 nm e os cromatogramas foram processados no comprimento de onda de máximo de absorção (λ_{max}) de cada carotenóide.

A identificação dos carotenóides foi realizada através de informações obtidas dos espectros de absorção no UV-visível fornecidos pelo detector de conjunto de diodos, co-cromatografia com padrões, ordem de eluição na coluna e comparação

dos tempos de retenção dos componentes da amostra com padrões conhecidos. Além da comparação dos comprimentos de onda de absorção máximos, comparou-se o grau de estrutura fina do espectro, que é definido como %III/II, com dados da literatura [5].

Os padrões de luteína, *all-trans*- β -caroteno e 13-*cis*- β -caroteno foram fornecidos pela F. Hoffmann-La Roche (Basiléia, Suíça). O padrão de α -caroteno foi preparado a partir de cenoura de acordo com ASSUNÇÃO [2], através de purificação por cromatografia de camada delgada com MgO:kieselguhr.

Foram construídas curvas de calibração em triplicata para os principais carotenóides, utilizando-se 6 níveis de concentração. Pontos de concentração conhecida, dentro desta faixa, foram injetados diariamente para quantificação das amostras. O caroteno incolor fitoeno não foi quantificado.

O valor de vitamina A foi calculado de acordo com os fatores de conversão relatados pelo NAS-NRC [14], onde 6 μ g de β -caroteno correspondem a 1 μ g de equivalente de retinol (ER). As bioatividades utilizadas foram: 100% para *all-trans*- β -caroteno [3] e de 50% para o 13-*cis*- β -caroteno.

A precisão entre extrações e injeções foi verificada para os principais carotenóides.

2.3 – Determinação dos Sólidos Solúveis (°Brix)

O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi obtido em um refratômetro marca ATAGO, modelo 8572, com escala de 0 a 90%, utilizando-se a tabela de correção de temperatura para 20°C.

2.4 – Determinação do pH

O pH foi medido em um potenciômetro marca Digimed, modelo DM 20. A calibração do aparelho foi feita com tampões de pH 7,0 e 4,0 à temperatura ambiente.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os principais carotenóides encontrados nas polpas de açaí analisadas foram: luteína, α -caroteno, all-*trans*- β -caroteno e 13-*cis*- β -caroteno, sendo estes eluídos nesta ordem da coluna cromatográfica (*Figura 1*). A identificação dos picos e características dos espectros no UV-visível estão apresentadas na *Tabela 1*.

Os espectros de absorção no UV-visível dos pigmentos de açaí e o perfil dos padrões de carotenóides obtidos pelo detector de arranjo de diodos estão apresentados no *Anexo 3, Figuras 1 a 17 e Figura 18*, respectivamente.

Os valores do coeficiente de variação (CV) obtidos entre extrações variaram de 1,1 a 5,9% para luteína, de 2,8 a 4,6% para α -caroteno, de 1,9 a 5,1% para all-*trans*- β -caroteno e de 0,2 a 6,5% para 13-*cis*- β -caroteno. Estes valores são comparáveis àqueles relatados para CLAE na literatura [2, 6, 10, 15, 17]. Injeções em duplicata da mesma extração, como esperado, apresentaram valores de CV mais baixos, como de 0,0 a 2,5% para luteína, de 0,4 a 3,1% para α -caroteno, de 0,1 a 3,6% para all-*trans*- β -caroteno e de 0,1 a 3,4% para 13-*cis*- β -caroteno. O desvio padrão da luteína (*Tabela 3*) foi maior que o desvio dos demais carotenóides devido a este pico eluir no final da cauda do solvente. Os valores de CV obtidos para os isômeros do β -caroteno foram ligeiramente mais altos que os do α -caroteno porque a separação entre o all-*trans*- e 13-*cis*- β -caroteno não foi total na linha de base como a separação entre α - e all-*trans*- β -caroteno.

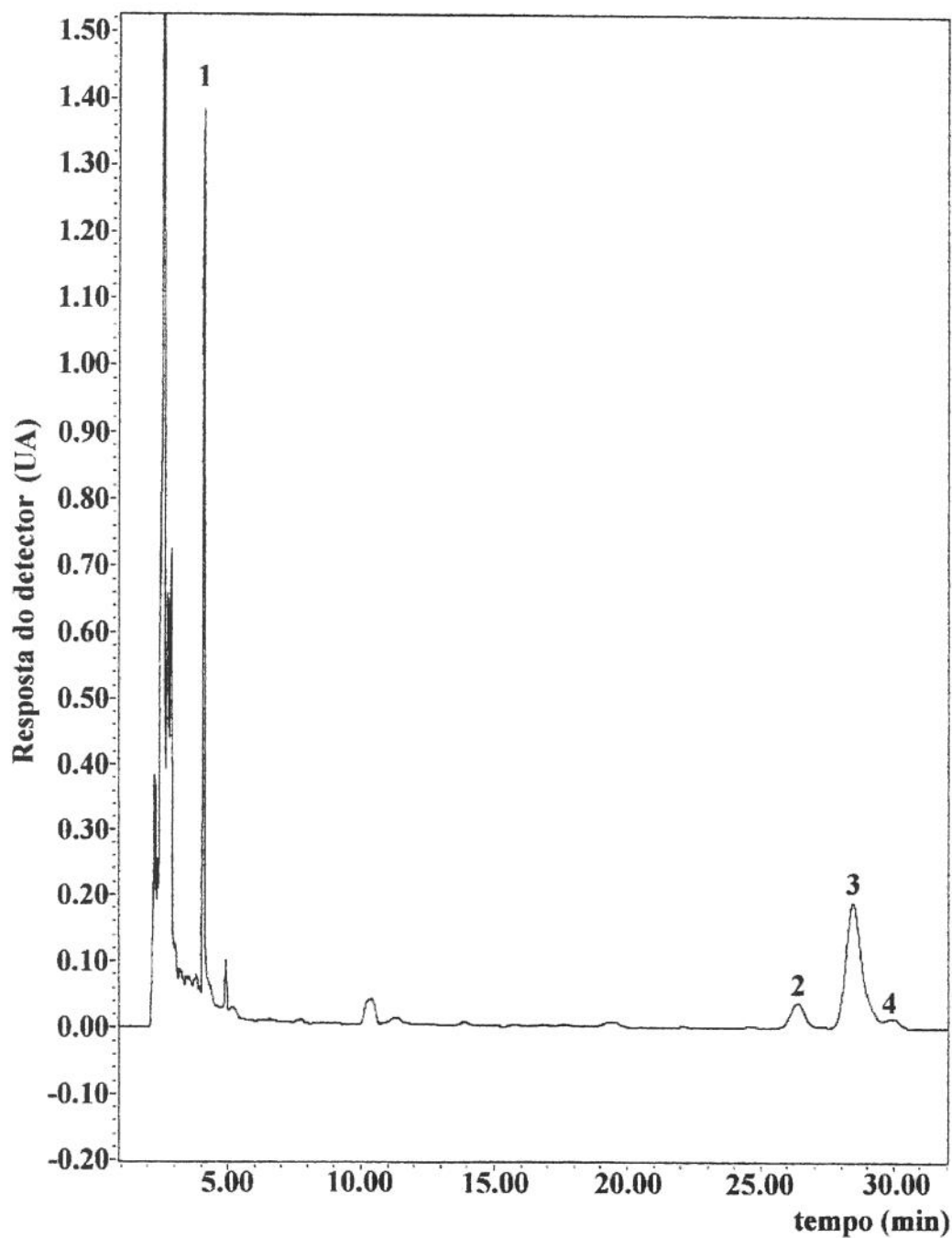


FIGURA 1. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de polpa congelada de açaí. Condições cromatográficas: coluna C₁₈ Nova-Pak (4 μ m, 3,9 x 300 mm), fase móvel: acetonitrila/metanol/acetato de etila/ (75:15:10), vazão de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} . A identidade dos picos encontra-se na Tabela 1.

TABELA 1. Propriedades, obtidas por CLAE, dos principais carotenóides de polpa congelada de açaí.

pico ^a	carotenóide	faixa t _R (min) ^b	λ_{max} (nm) ^c	% III/II
1	luteína	3,9 - 4,5	266, (420), 447, 476	52
2	α -caroteno	26,04 - 27,54	266, (424), 447, 476	52
3	β -caroteno	28,05 - 29,8	276, (428), 454, 480	33
4	13- <i>cis</i> - β -caroteno	29,5 - 31,4	339, (418), 447, 474	22

^a Numerado de acordo com o cromatograma apresentado na *Figura 1*.

^b Faixa de 28 corridas.

^c Solvente: acetonitrila/metanol/acetato de etila/ (75:15:10). Parêntesis indica ombro ao invés de pico.

Apesar destes fatos, os valores de CV obtidos no presente trabalho para o all-*trans*- β -caroteno foram menores que os reportados para este mesmo carotenóide por HAMANO & MERCADANTE [10] E por ASSUNÇÃO [2].

O pico, com t_R entre 7,5 e 8,0 min, foi encontrado em quase todas as amostras apresentando λ_{max} a 420 nm e estrutura do espectro de absorção no UV-visível não característica de carotenóide. Este composto também foi encontrado em vários produtos processados de maracujá [18] e de caju [2].

Outros carotenóides encontrados em quantidades pequenas e que não estavam presentes em todas as amostras foram tentativamente identificados como mostra a *Tabela 2*. Devido à pequena concentração não foi possível confirmar a identidade através de derivatizações químicas ou outras técnicas e estes carotenóides também não foram quantificados.

O all-*trans*- β -caroteno foi o carotenóide majoritário em todas as amostras analisadas, contribuindo com 48 a 53% dos carotenóides totais, seguido pela luteína (28 a 37%) e α -caroteno (11 a 13%).

A *Tabela 3* apresenta a composição quantitativa dos carotenóides das polpas congeladas.

A variação quantitativa entre os carotenóides foi bem pequena tanto entre marcas quanto entre os lotes de uma mesma amostra (*Tabela 3*). Este fato pode ser devido a que praticamente toda a polpa de açaí comercializada dentro e fora do Brasil provém de uma mesma região (Norte), o que significa que esses frutos são cultivados sob as mesmas condições de solo, clima e luminosidade. Outra razão possível é que como o período de coleta das amostras foi pequeno, as frutas processadas foram provavelmente colhidas na mesma época ou provenientes da mesma safra. Diversos trabalhos têm demonstrado que o local de cultivo e o clima têm influência marcante no conteúdo de carotenóides de frutas [2, 11, 13].

Comparando-se os conteúdos de β -caroteno e de pró-vitamina A das polpas congeladas de açaí com outras frutas e produtos processados verifica-se que o açaí possui menores teores que manga [7, 13, 17], caju [10], mamão [11], maracujá, pitanga e acerola [8]. Entretanto, apresenta quantidade de β -caroteno maior que

TABELA 2. Propriedades, obtidas por CLAE, dos carotenóides minoritários de polpa congelada de açaí.

faixa t_R (min)	λ_{max} (nm) ^a	% III/II	identificação ^b
3,2	309, 400, 422, 450	94	neocromo
2,8 - 3,4	319, 408, 434, 467	104	neoxantina
3,4 - 3,5	290, 380, 400, 422	106	auroxantina
3,6 - 3,62	266, 447, 476	-	mistura
3,5 - 3,9	271, (410), 428, 457	57	luteoxantina
3,3 - 4,0	333, 418, 442, 471	95	violaxantina
4,0 - 4,6	271, 428, 452, 481	50	zeaxantina
4,2 - 4,7	262, 418, 440, 470	72	não identificado
4,7 - 4,9	333, 418, 442, 468	42	não identificado
7,5 - 8,0	420	-	não identificado
15,3	295, 447, 471, 505	104	não identificado
15,9 - 17,9	262, (422), 447, 476	30	não identificado
34,1 - 36,3	(273), 285, (303)	0	fitoeno

^a Solvente: acetonitrila/metanol/acetato de etila/ (75:15:10).

^b Identificação tentativa. Parêntesis indica ombro ao invés de pico.

TABELA 3. Composição de carotenóides e valor de vitamina A de polpa de açaí congelada.

carotenóides	concentração ($\mu\text{g/g}$)		
	Marca A ^a	Marca B ^b	Marca C ^c
luteína	0,90	$0,86 \pm 0,34$	$1,05 \pm 0,40$
α -caroteno	0,43	$0,25 \pm 0,03$	$0,38 \pm 0,09$
all- <i>trans</i> - β -caroteno	1,65	$1,12 \pm 0,14$	$1,64 \pm 0,25$
13- <i>cis</i> - β -caroteno	0,22	$0,13 \pm 0,05$	$0,07 \pm 0,01$
total	3,20	$2,35 \pm 0,44$	$3,12 \pm 0,57$
valor de vitamina A (ER/100g)	33	22 ± 3	31 ± 4

^a Valor de 1 lote.

^b Média e desvio-padrão de 4 lotes.

^c Média e desvio-padrão de 2 lotes.

outras frutas nas quais o principal pigmento é antocianina, tais como amora, “red current”, ameixa e morango [9].

O pH e Brix foram monitorados para verificar se as polpas de açaí estavam de acordo com a legislação brasileira [12], que especifica valores de pH entre 4,0 e 6,2 e quanto ao valor de °Brix não há nenhuma especificação.

No presente trabalho foram encontrados valores de pH entre 4,41 e 5,09 e de 1 a 2° Brix nas 3 marcas de polpas congeladas analisadas. Deste modo, podemos perceber que todas as polpas estão de acordo com esta legislação quanto aos valores de pH obtidos.

4- CONCLUSÕES

Os principais carotenóides encontrados nas 3 marcas de polpa congelada comercial de açaí foram luteína, α -caroteno, *all-trans*- β -caroteno e 13-*cis*- β -caroteno.

O β -caroteno foi o carotenóide majoritário em todas as amostras.

As polpas comerciais de açaí apresentaram pequena variação quantitativa de carotenóides, este fato pode ser devido ao cultivo, já que praticamente toda a produção se limita à região Norte do Brasil ou ainda, devido ao curto período de coleta das amostras.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGUIAR, J. P. L.; MARINHO, H. A.; REBELO, Y. S. & SHRIMPTON, R. Aspectos nutritivos de alguns frutos da Amazônia. *Acta Amazônica*, v. 10, p. 755-758, 1980.
- [2] ASSUNÇÃO, R.B. Carotenóides e vitamina C em produtos processados de caju e em frutos *in natura* de diferentes variedades e localizações geográficas, Tese de Mestrado – UNICAMP, Campinas - SP, 2001.
- [3] BAUERFEIND, J.C. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *J. Agric. Food Chem.* v. 20, p. 456-473, 1972.
- [4] BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRÃO, P. A.; BOBBIO, P. A. & FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe Oleracea* Mart.). *Ciênc. Tecnol. Alim.* v. 20, p. 388-390, 2000.
- [5] BRITTON, G. UV/visible spectroscopy. In: *Carotenoids Vol. 1B: Spectroscopy* (Britton, G., Pfander, H., Liaaen-Jensen, S., Eds.). p. 13-62. Birkhauser: Basel., 1995.
- [6] BUSHWAY, R. J. & WILSON, A. M. Determination of α - and β -carotene in fruit and vegetables by HPLC. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* v. 15, p. 165-169, 1982.
- [7] GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. *Technol. Lebensm.-Wissens.* v. 22, p. 100-103, 1989.
- [8] GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Occurrence of *cis*-isomers of provitamin A in Brazilian fruits. *J. Agric. Food Chem.* v. 42, p. 1306-1313, 1994.
- [9] GROSS, J. Pigment Distribution in Fruits. In: *Pigments in Fruits*. Academic Press, London, p. 187-258, 1987.

- [10] HAMANO, P. S. & MERCADANTE, A. Z. Composition of carotenoids from commercial products of caja (*Spondias lutea*). *J. Food Compos. Anal.* V. 14, p. 335-343, 2001.
- [11] KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; YOKOYAMA, S.M. Cultivar differences and geographic effects on the carotenoid composition and vitamin A value of papaya. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* v. 24, p. 415-418, 1991.
- [12] MAA, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. Instrução Normativa MAA, 7 de janeiro, nº. 1 p. 103-119, 2000.
- [13] MERCADANTE, A. Z. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. *J. Agric. Food Chem.* v. 46, p. 128-130, 1998.
- [14] NAS-NRC. *Recommended Dietary Allowances*, National Academy of Science, Washington. p.78-92, 1989.
- [15] SILVA, S. R. & MERCADANTE, A. Z. Composição de carotenóides de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Flavicarpa) *in natura*. *Ciênc. Tecnol. Alim.*, 2001 (submetido).
- [16] SILVA, S. R. & MERCADANTE, A. Z. Composição de carotenóides de diferentes produtos comerciais de maracujá (*Passiflora edulis*). *J. Food Compos. Anal.*, 2001 (em preparação).
- [17] SILVA, S. R. & MERCADANTE, A. Z. Carotenóides pró-vitamínicos A de produtos comerciais de manga (*Mangifera indica* L.). *Ciênc. Tecnol. Alim.*, 2001 (em preparação).

6 – AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o auxílio financeiro do CNPq, Hoffmann-La Roche e MCT/FINEP/PRONEX.

ANEXO 1

REFERENTE AO CAPÍTULO 2

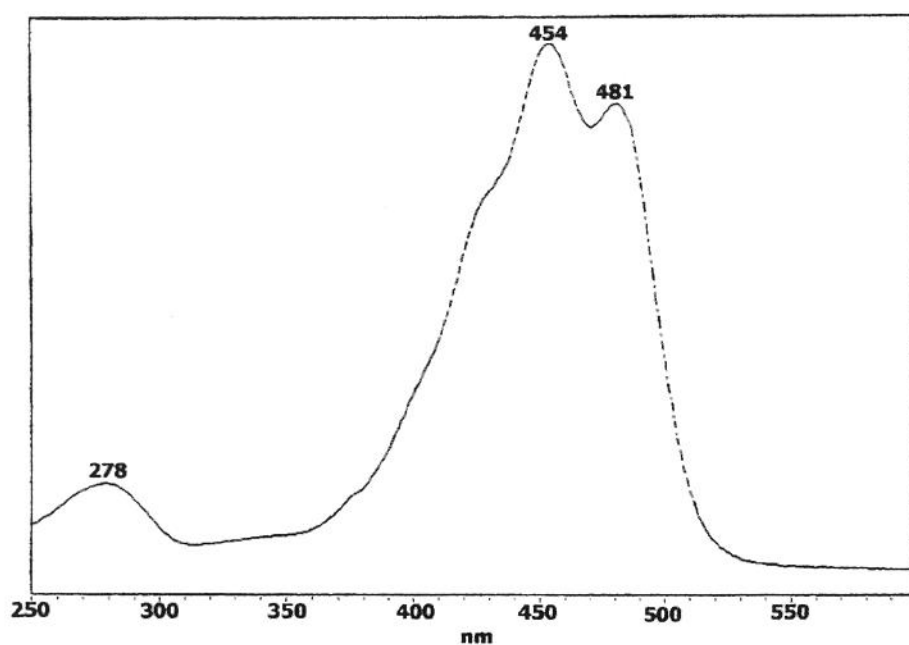


Figura 1. Espectro de absorção no UV-visível da β -criptoxantina (pico 1), em acetonitrila/metanol/acetato de etila(75:15:10).

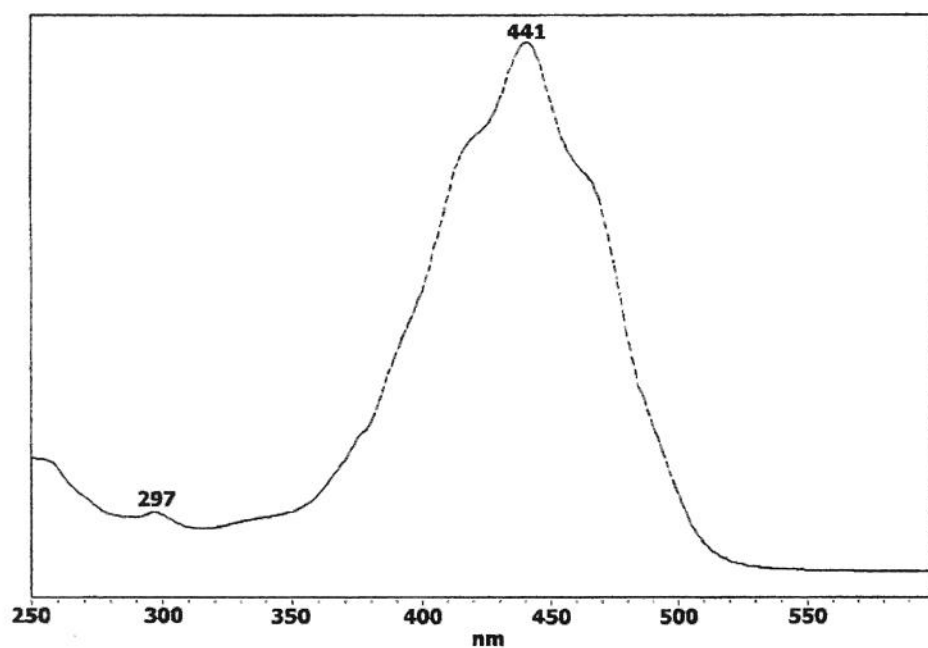


Figura 2. Espectro de absorção no UV-visível do prolicopeno (pico 2), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

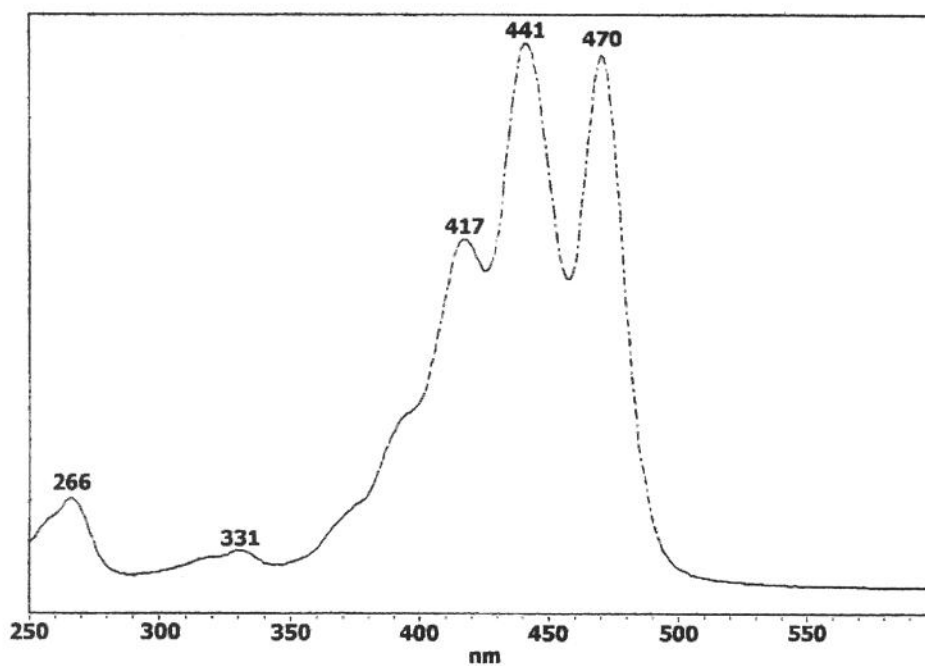


Figura 3. Espectro de absorção no UV-visível do neurosporeno (pico 3), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

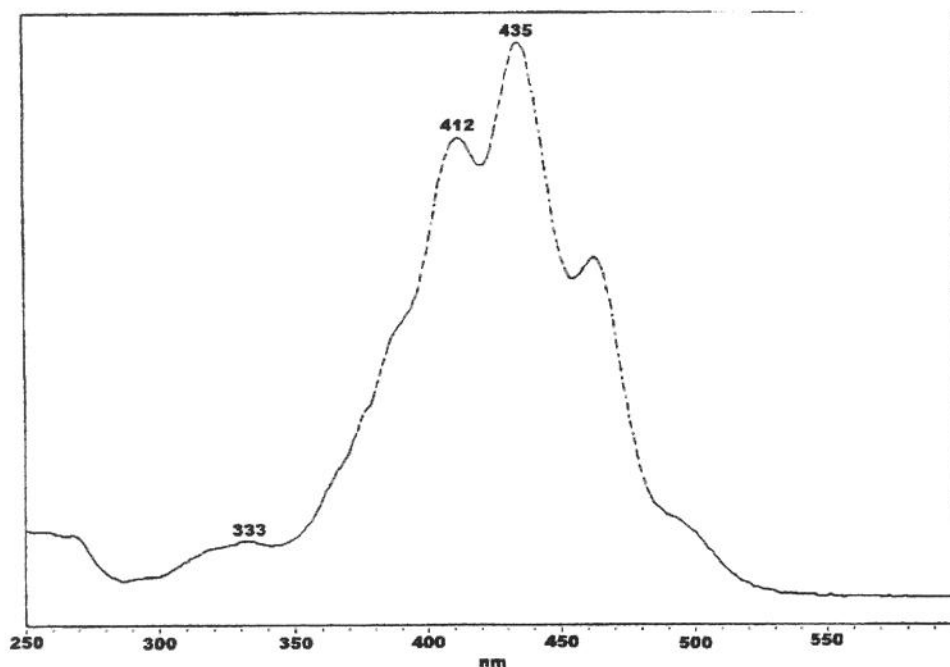


Figura 4. Espectro de absorção no UV-visível de uma mistura (pico 4), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

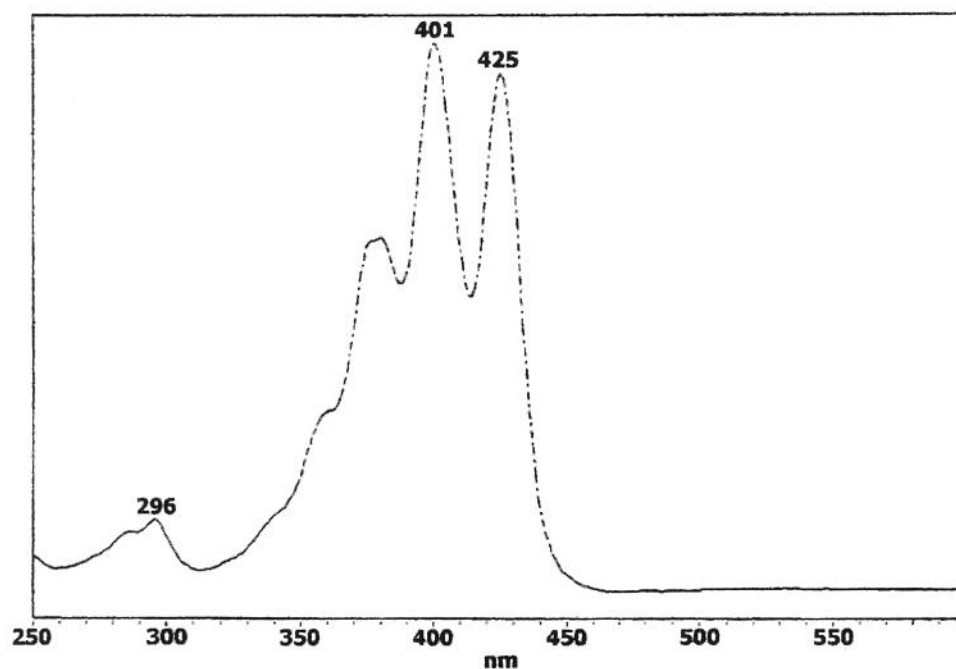


Figura 5. Espectro de absorção no UV-visível do *cis*- ζ -caroteno (pico 6), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

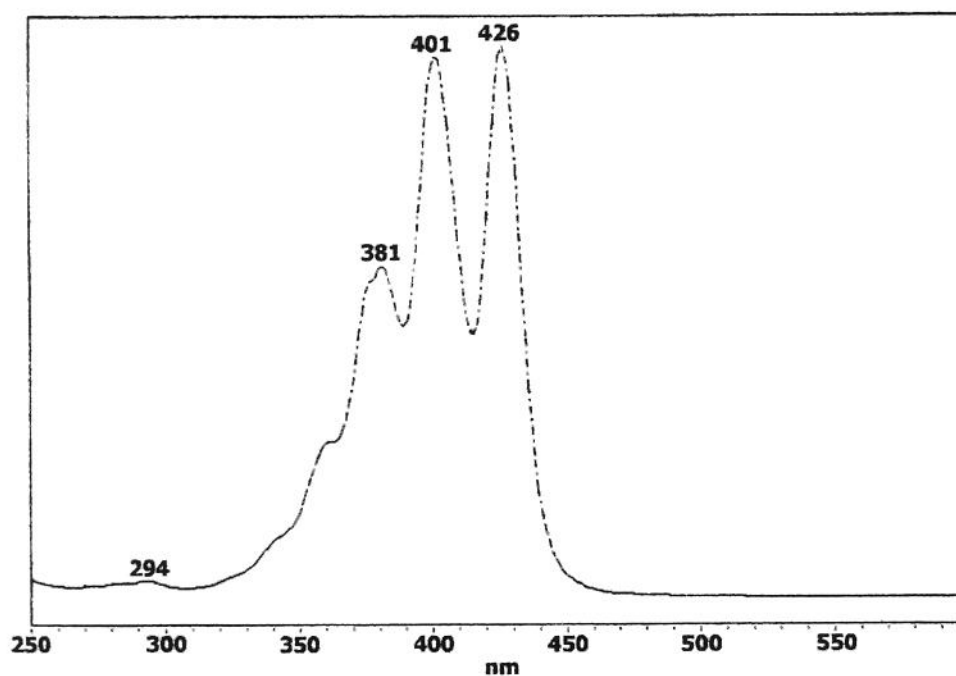


Figura 6. Espectro de absorção no UV-visível do ζ -caroteno (pico 7), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

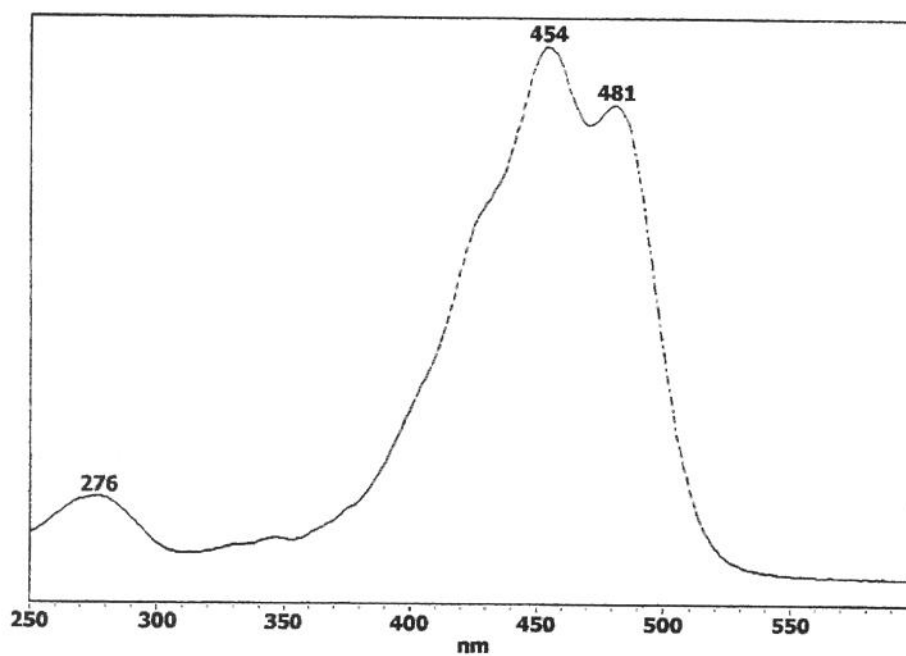


Figura 7. Espectro de absorção no UV-visível do all-*trans*-β-caroteno (pico 8), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

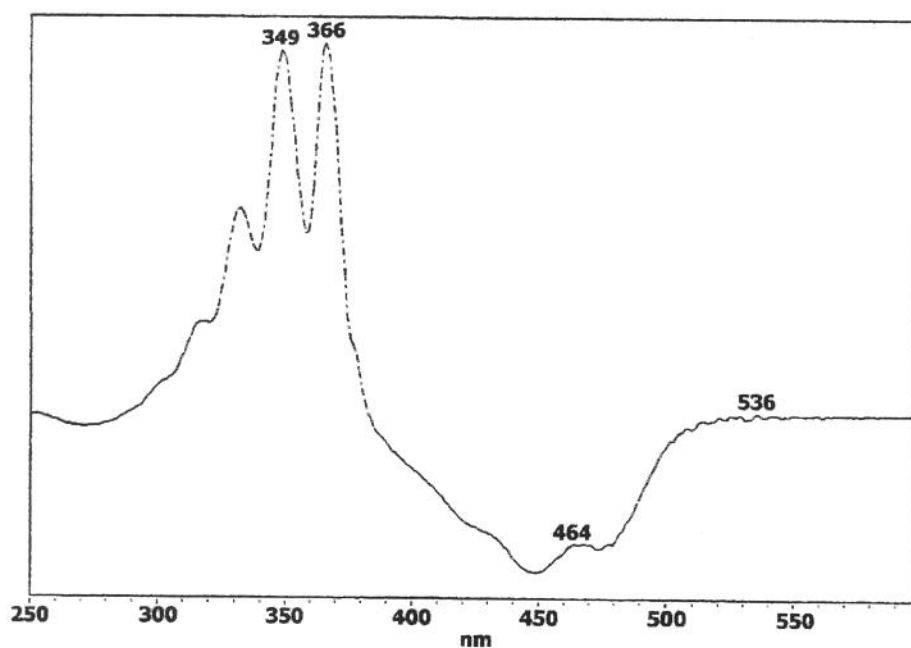


Figura 8. Espectro de absorção no UV-visível do fitoflueno (pico 8), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

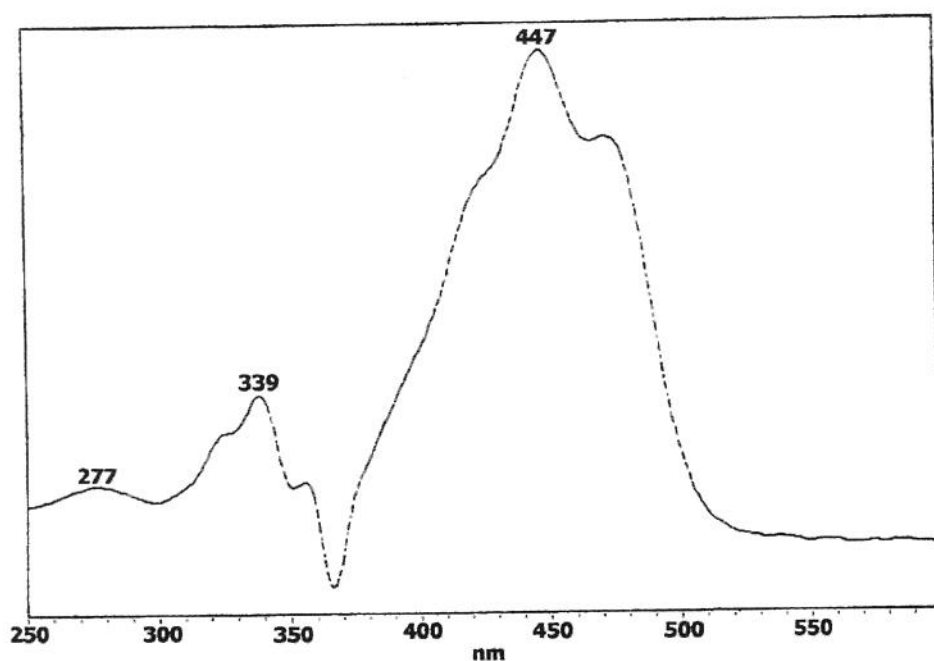


Figura 9. Espectro de absorção no UV-visível do 13-*cis*-β-caroteno (pico 9), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

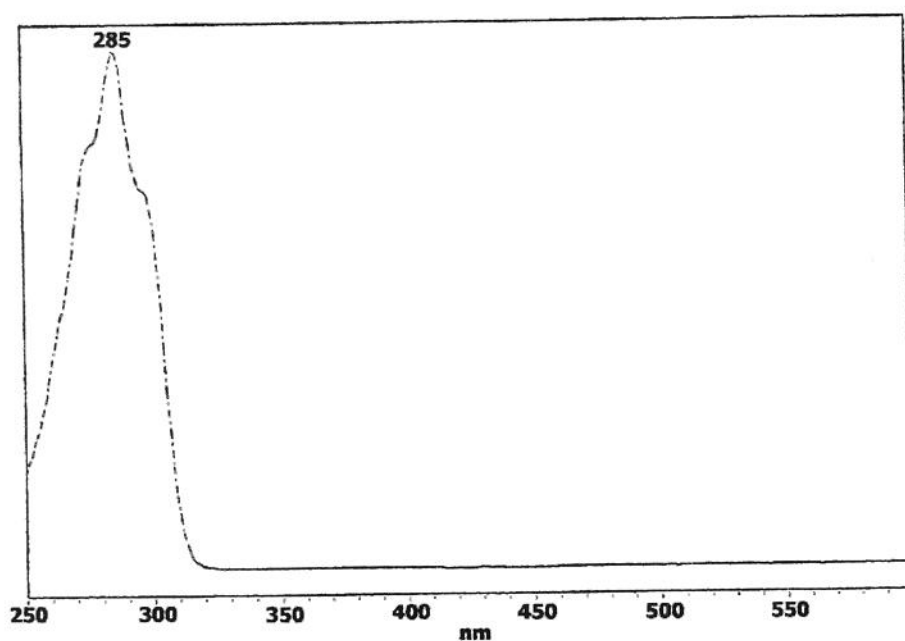


Figura 10. Espectro de absorção no UV-visível do fitoeno (pico 10), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

ANEXO 2

REFERENTE AO CAPÍTULO 3

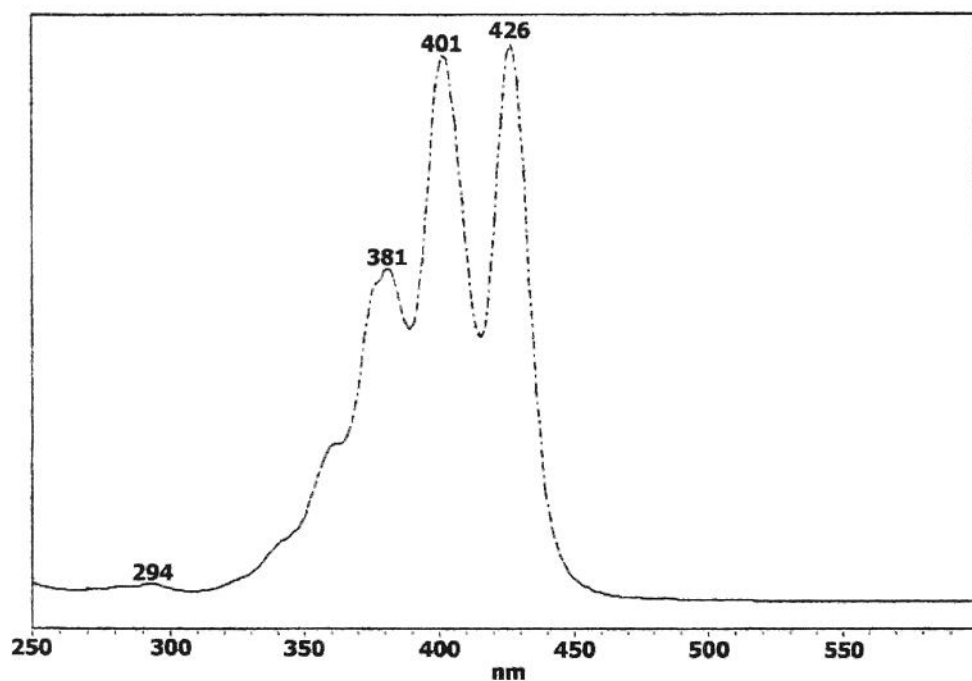


Figura 1. Espectro de absorção no UV-visível da auroxantina (pico 1), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

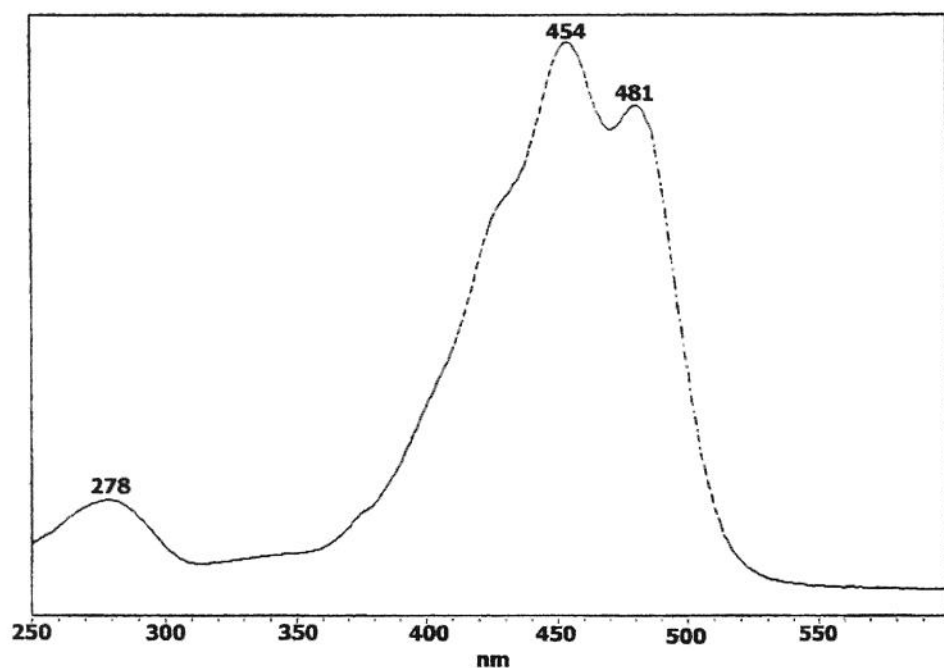


Figura 2. Espectro de absorção no UV-visível da β -criptoxantina (pico 3), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

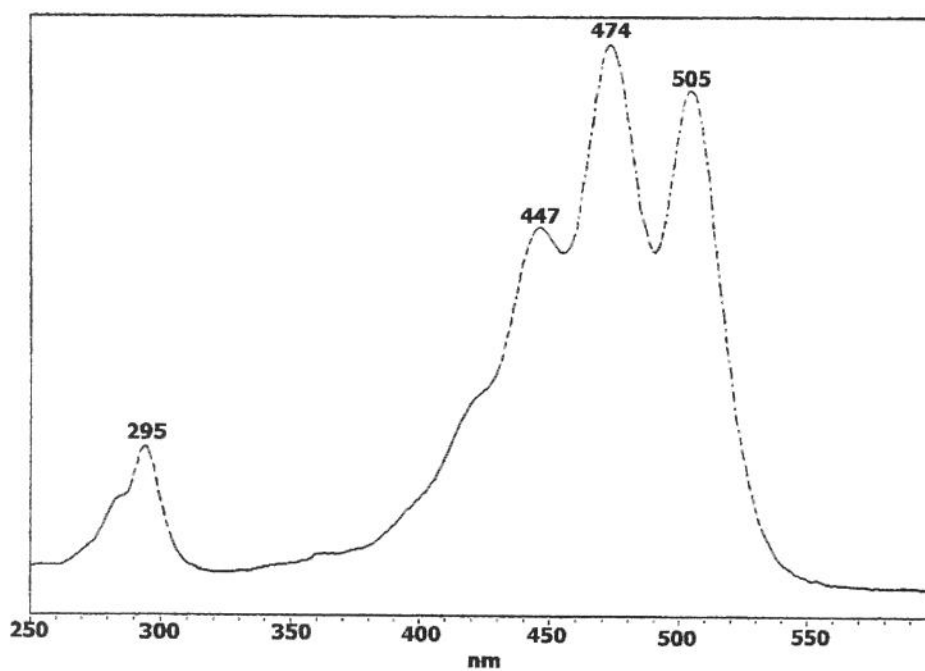


Figura 3. Espectro de absorção no UV-visível do licopeno (pico 4), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

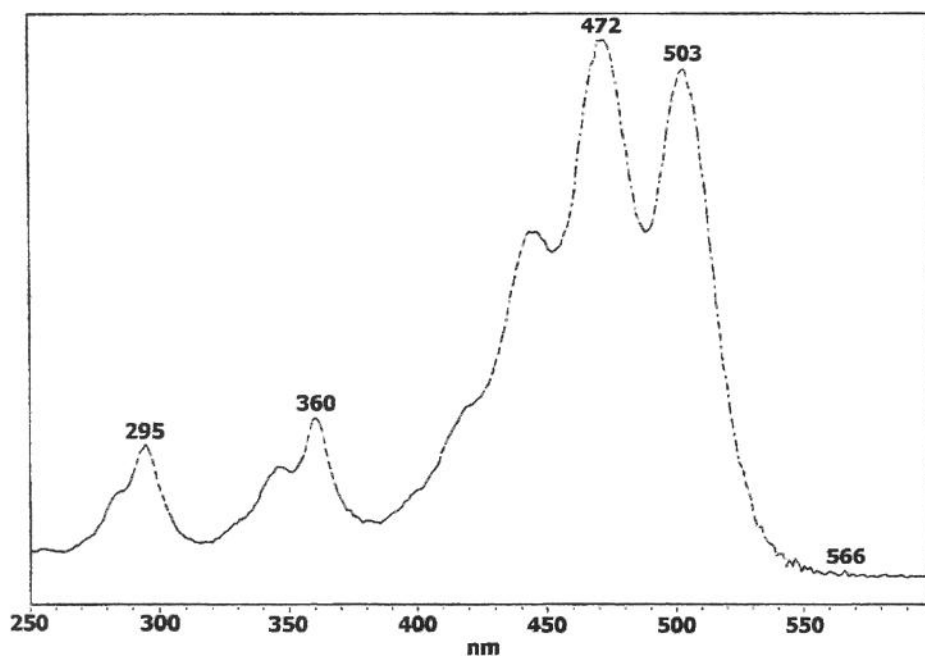


Figura 4. Espectro de absorção no UV-visível do *cis*-licopeno (pico 5), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

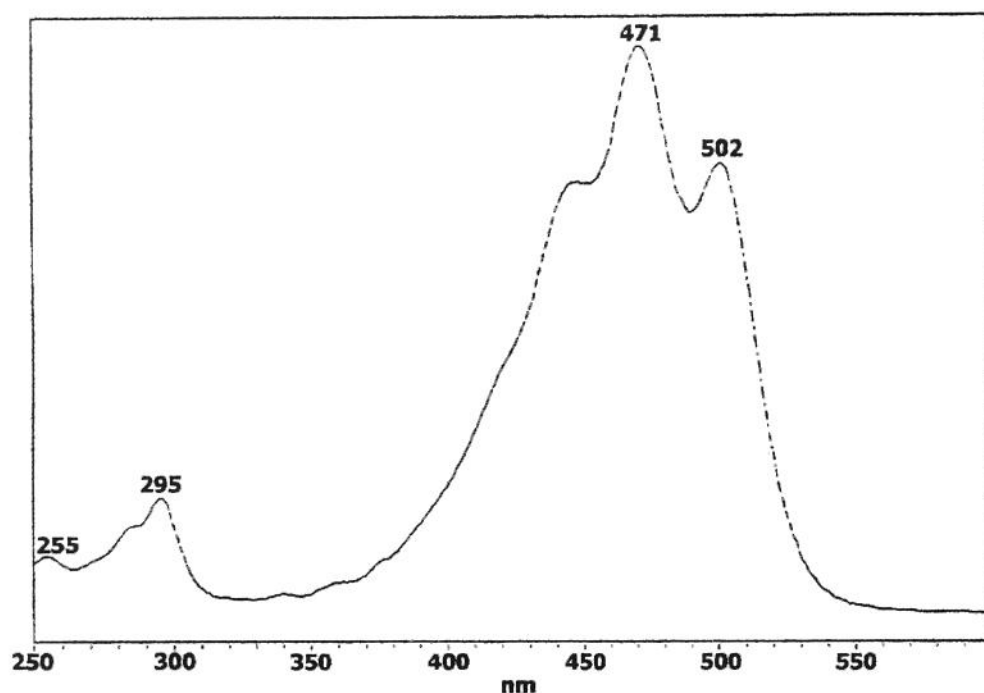


Figura 5. Espectro de absorção no UV-visível do *cis*-licopeno (pico 6), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

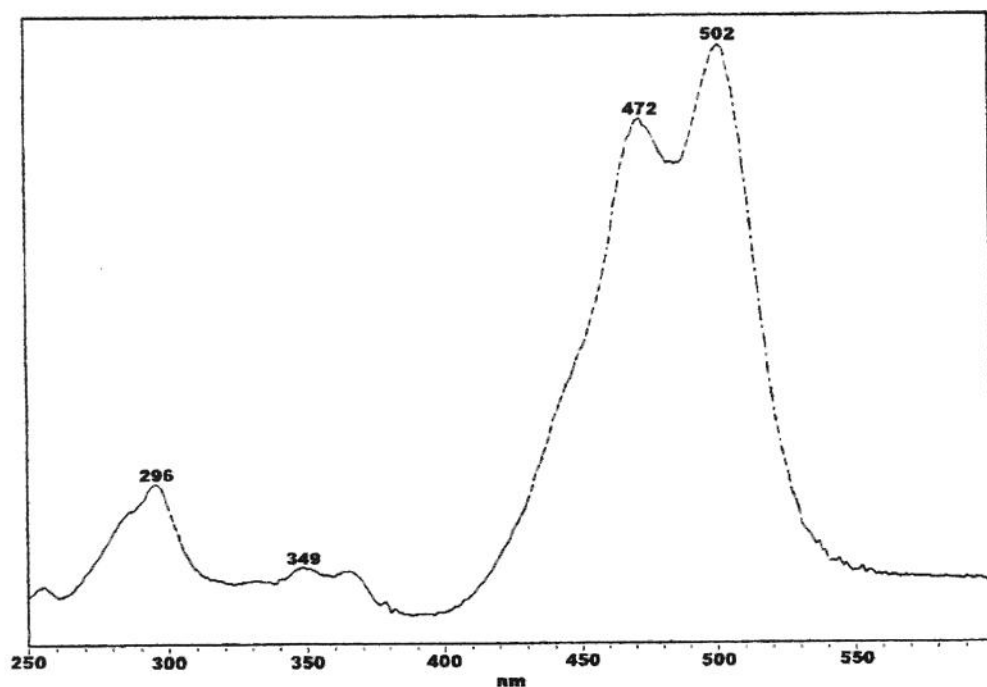


Figura 6. Espectro de absorção no UV-visível de uma mistura (pico 7), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

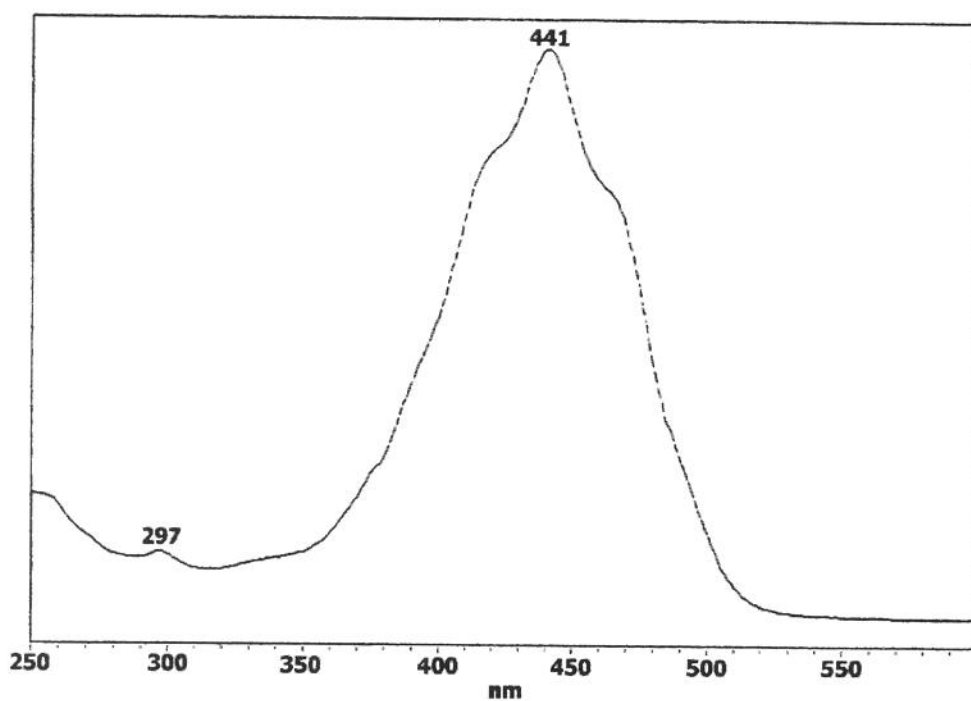


Figura 7. Espectro de absorção no UV-visível do prolicopeno (pico 8), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

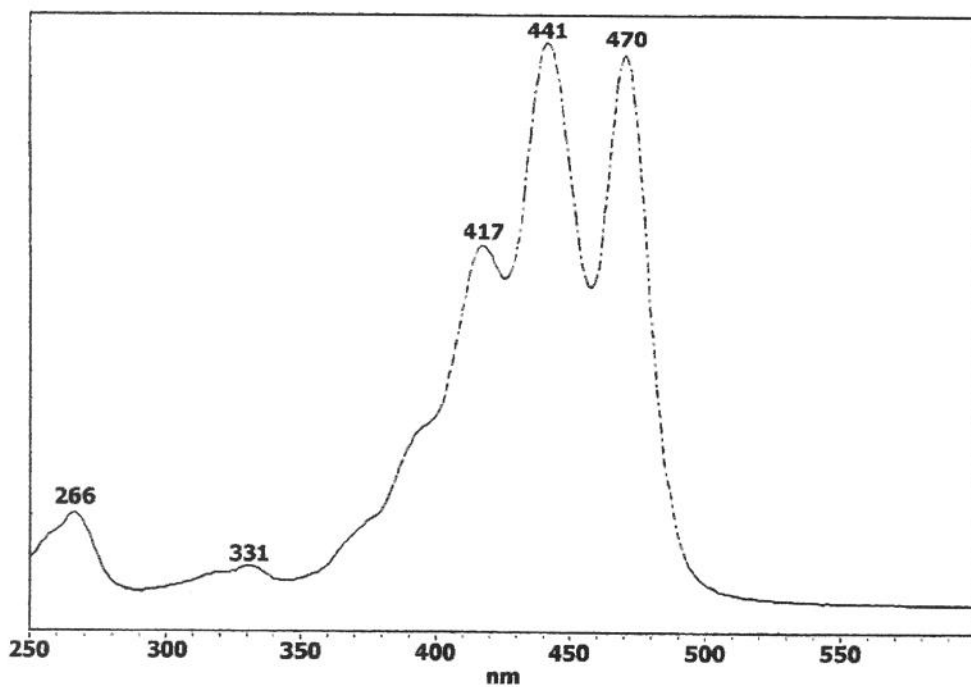


Figura 8. Espectro de absorção no UV-visível do neurosporeno (pico 9), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

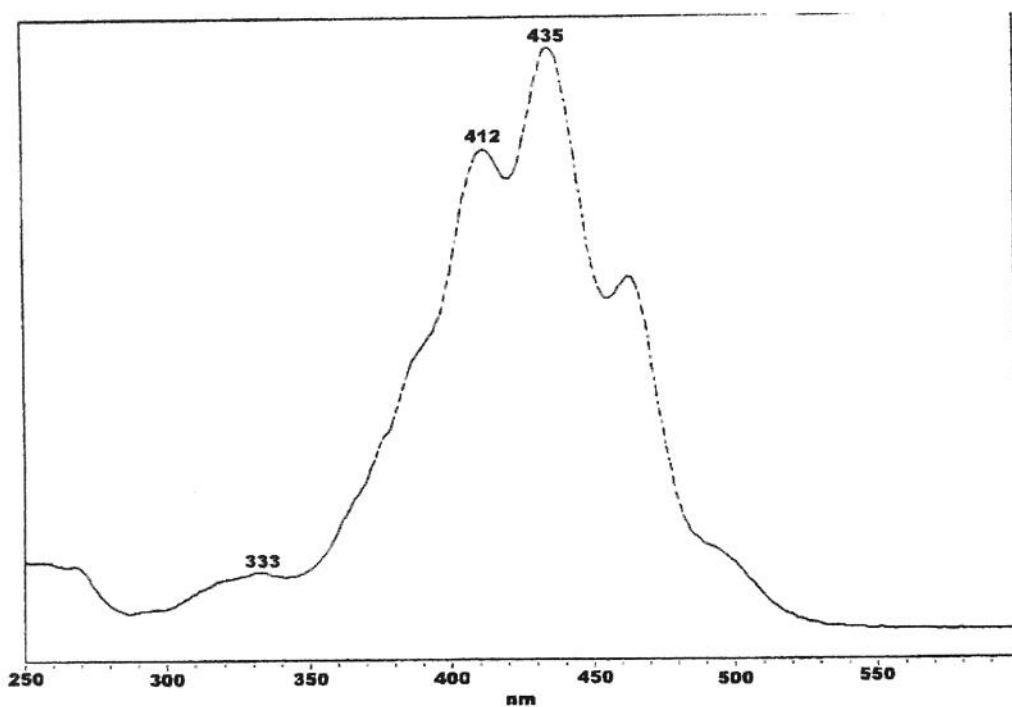


Figura 9. Espectro de absorção no UV-visível de uma mistura (pico 10), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

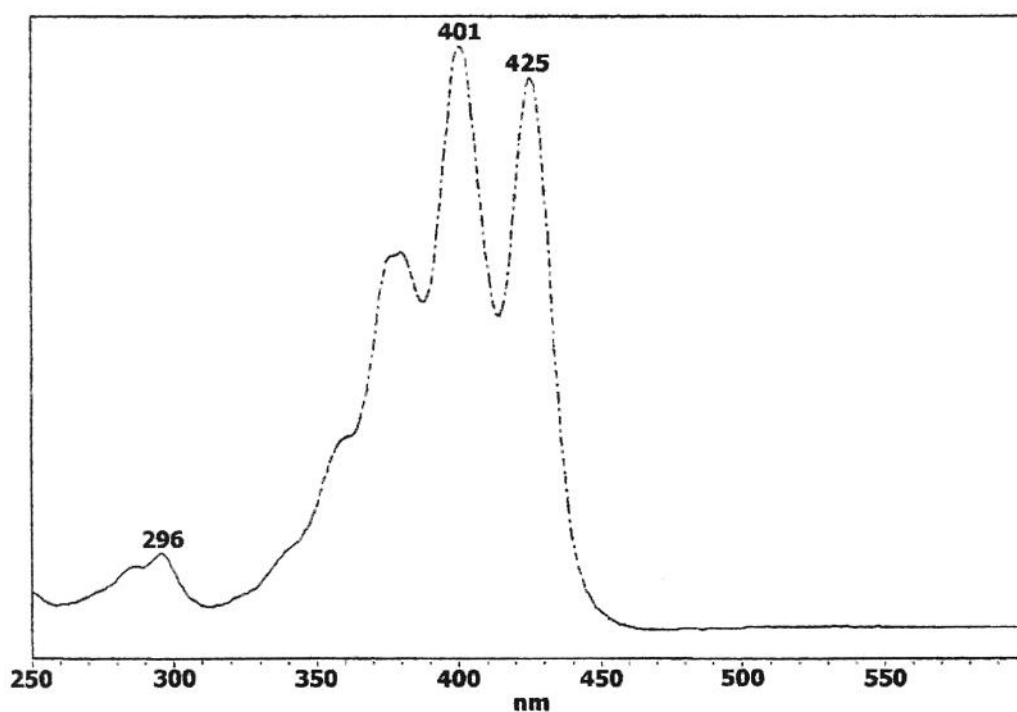


Figura 10. Espectro de absorção no UV-visível do *cis*- ζ -caroteno (pico 12), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

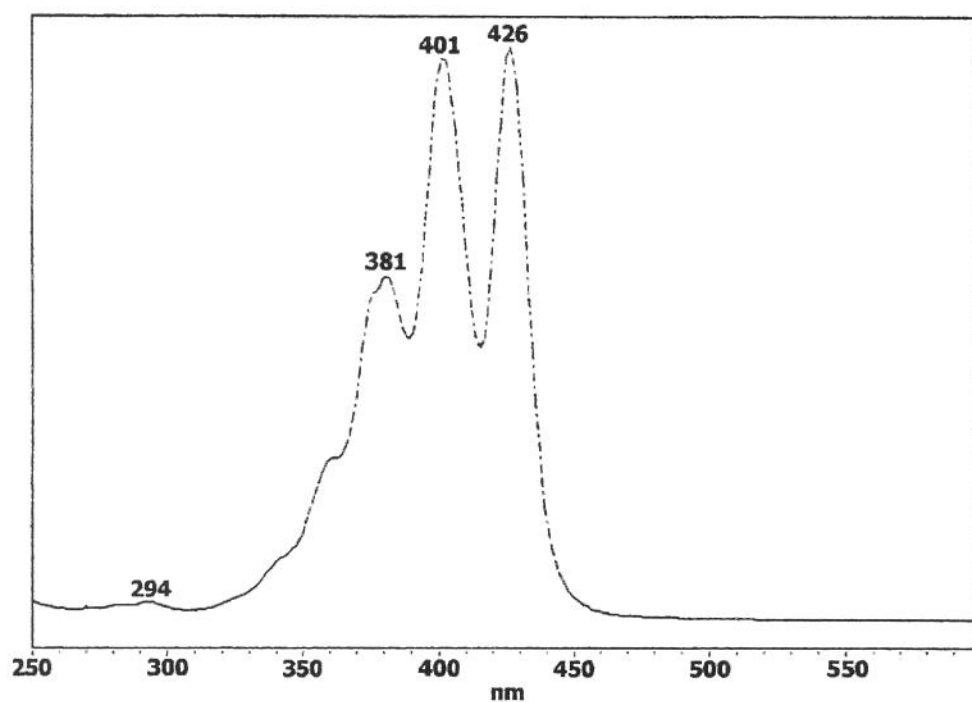


Figura 11. Espectro de absorção no UV-visível do ζ -caroteno (pico 13), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

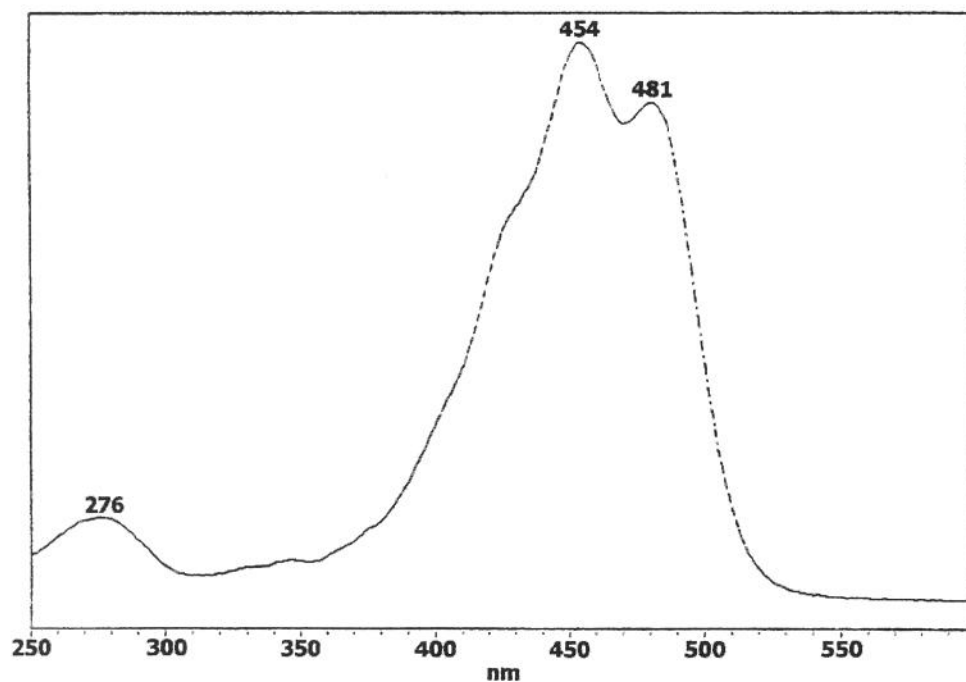


Figura 12. Espectro de absorção no UV-visível do all-*trans*- β -caroteno (pico 14), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

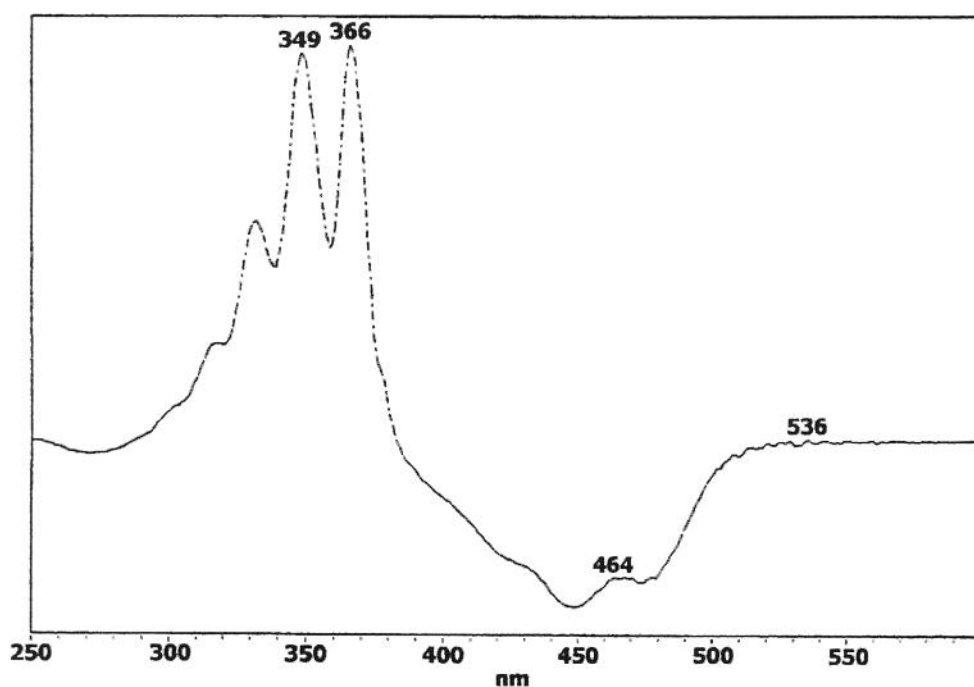


Figura 13. Espectro de absorção no UV-visível do fitoflueno (pico 15), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

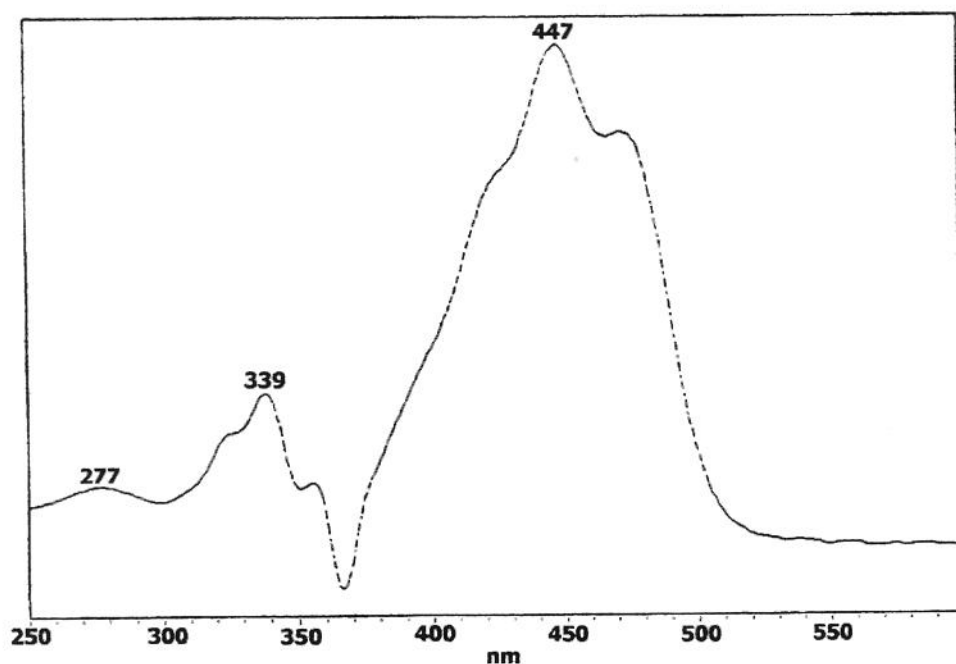


Figura 14. Espectro de absorção no UV-visível do 13-*cis*- β -caroteno (pico 16), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

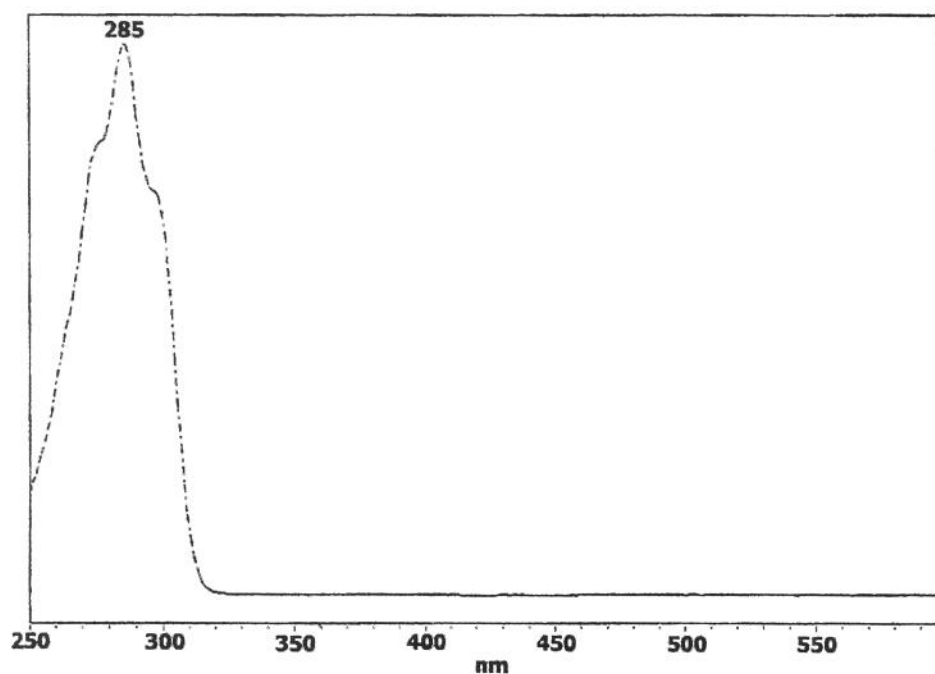


Figura 15. Espectro de absorção no UV-visível do fitoeno (pico 17), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

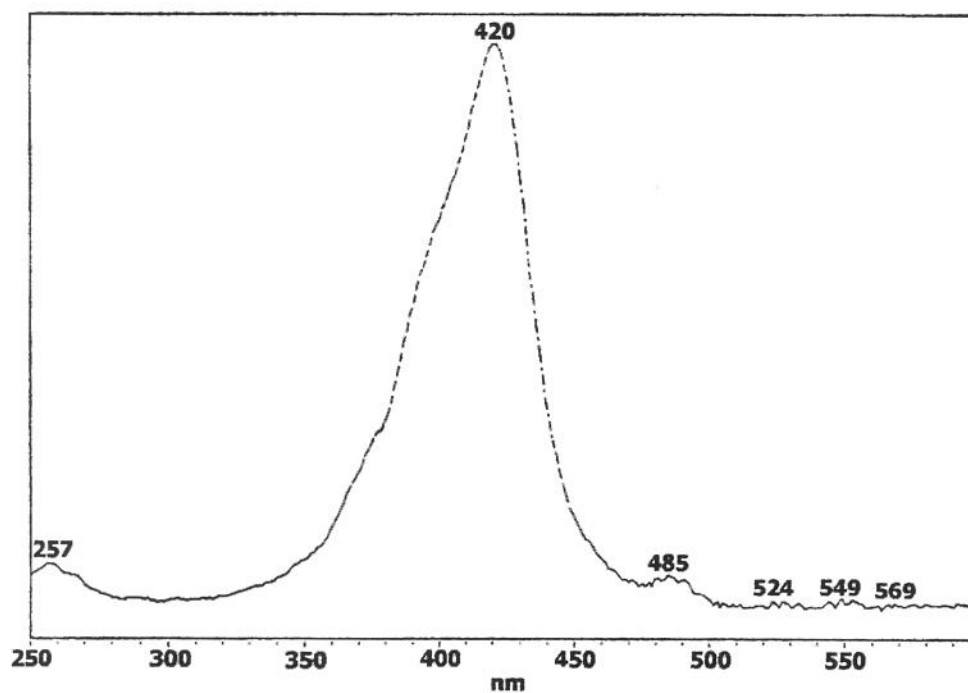


Figura 16. Espectro de absorção no UV-visível do composto eluído em torno de 7 minutos, em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

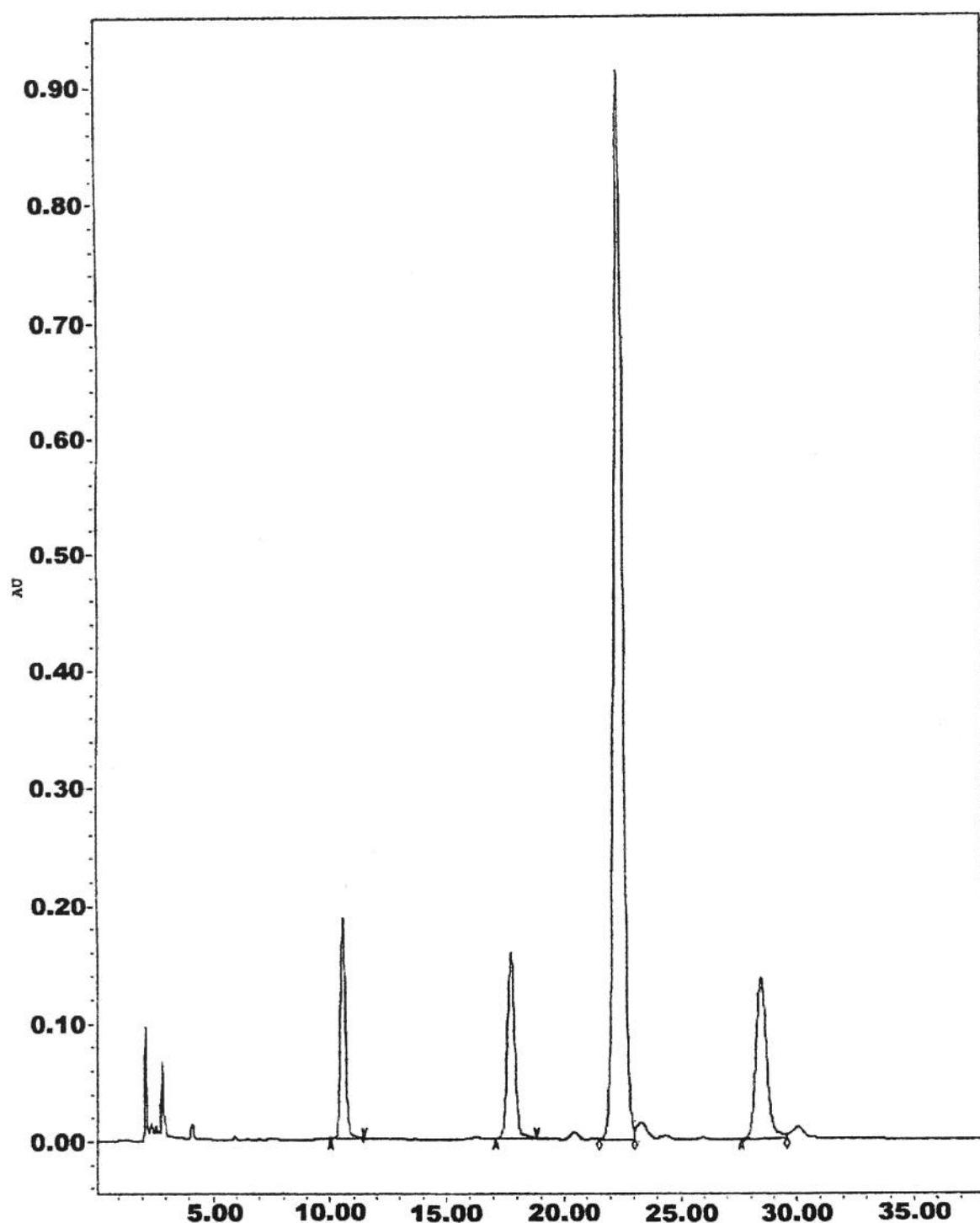


Figura 17. Cromatograma obtido no λ_{max} no UV-visível dos padrões β -criptoxantina ($t_R = 10,4 - 11,2$), prolicopeno ($t_R = 17,4 - 18,9$), ζ -caroteno ($t_R = 23,7 - 25,9$), β -caroteno ($t_R = 28,0 - 30,4$) em acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10).

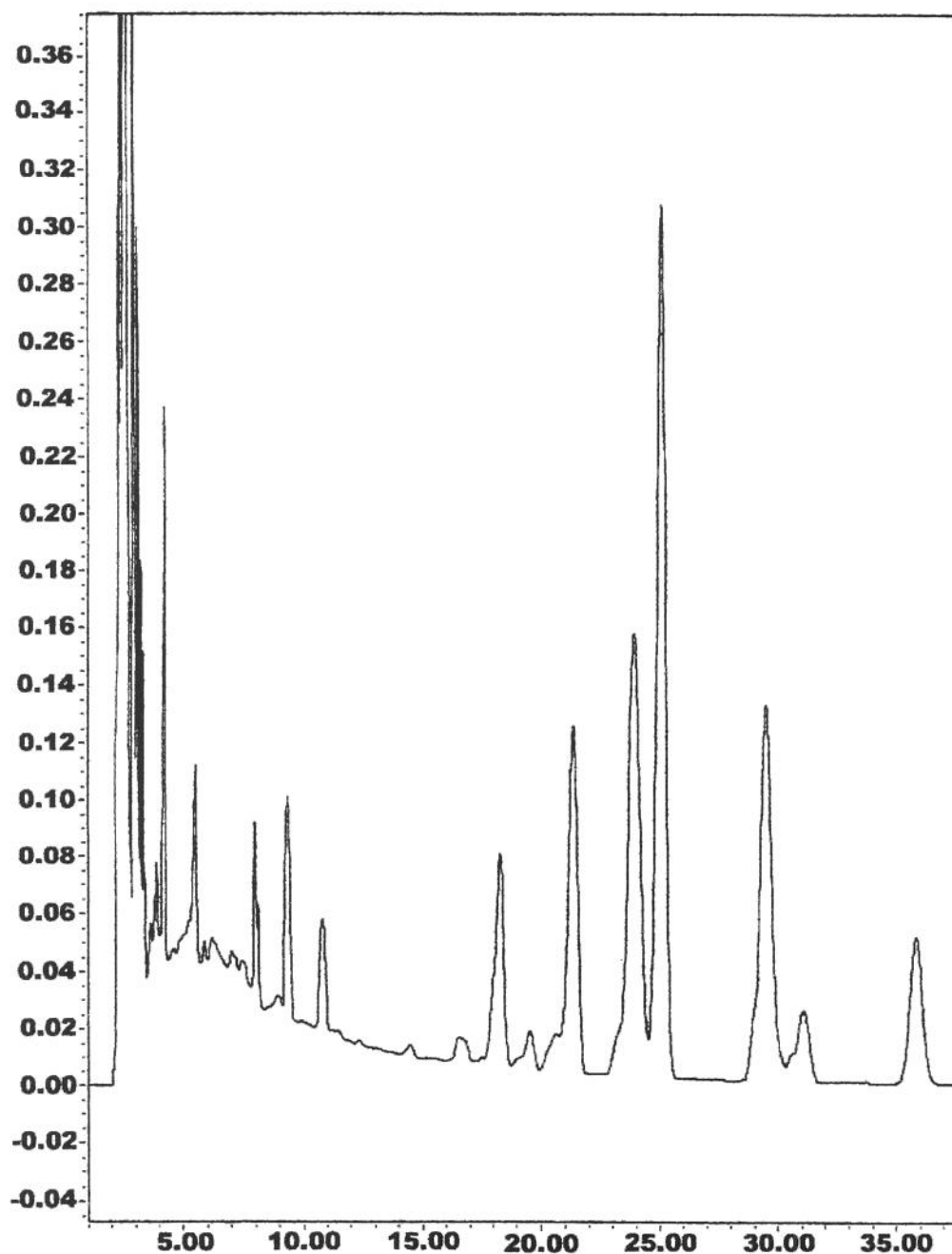


FIGURA 18. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de bebida a base de soja e suco de maracujá. Condições cromatográficas: coluna Nova-Pak C₁₈ (4 μ m, 3,9 x 300 mm) e como fase móvel: acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10) com fluxo de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} .

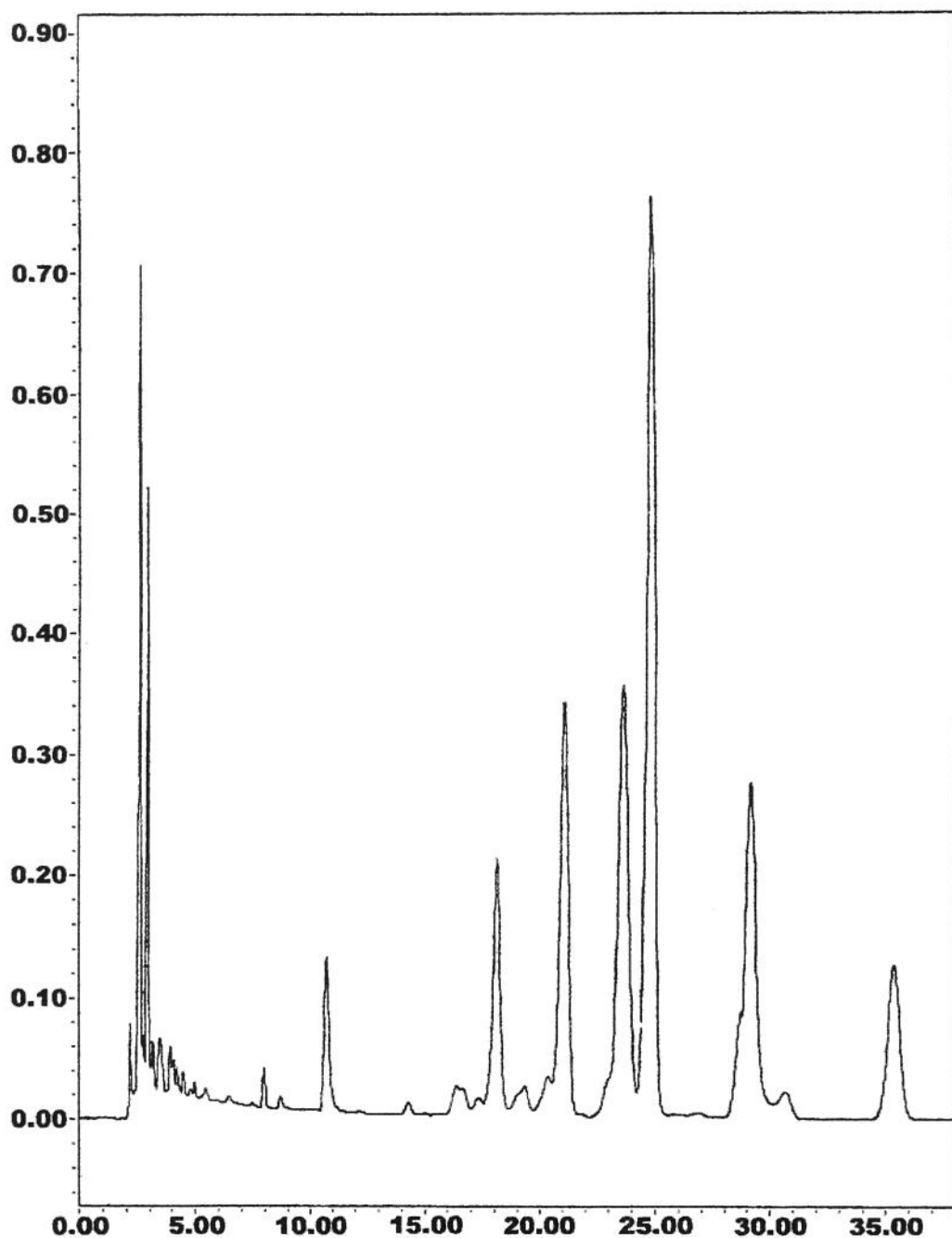


FIGURA 19. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de polpa de maracujá congelada da marca E. Condições cromatográficas: coluna Nova-Pak C₁₈ (4 μ m, 3,9 x 300 mm) e como fase móvel: acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10) com fluxo de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} .

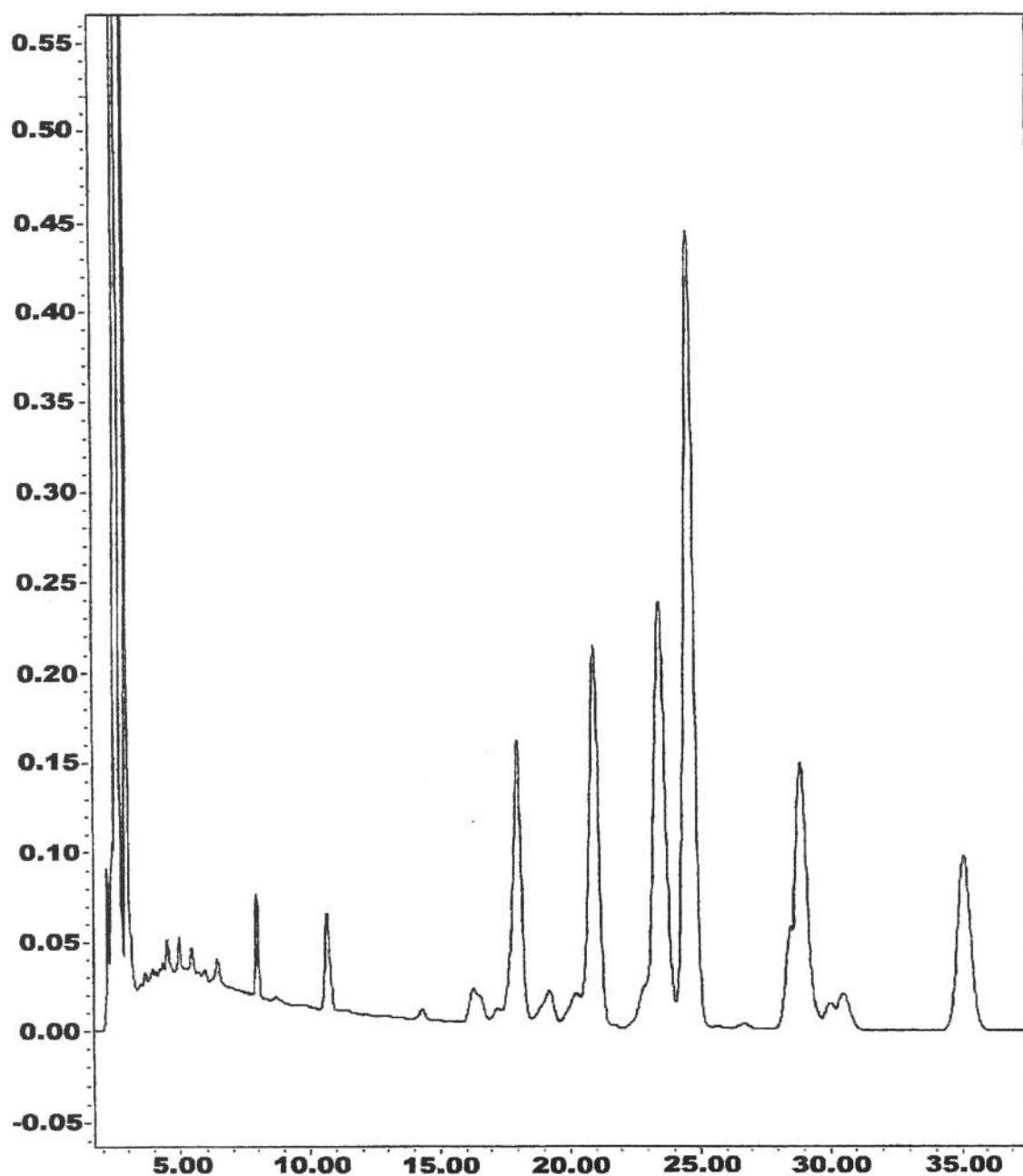


FIGURA 20. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de bebida a base de suco de maracujá e iogurte. Condições cromatográficas: coluna Nova-Pak C₁₈ (4 μ m, 3,9 x 300 mm) e como fase móvel: acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10) com fluxo de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} .

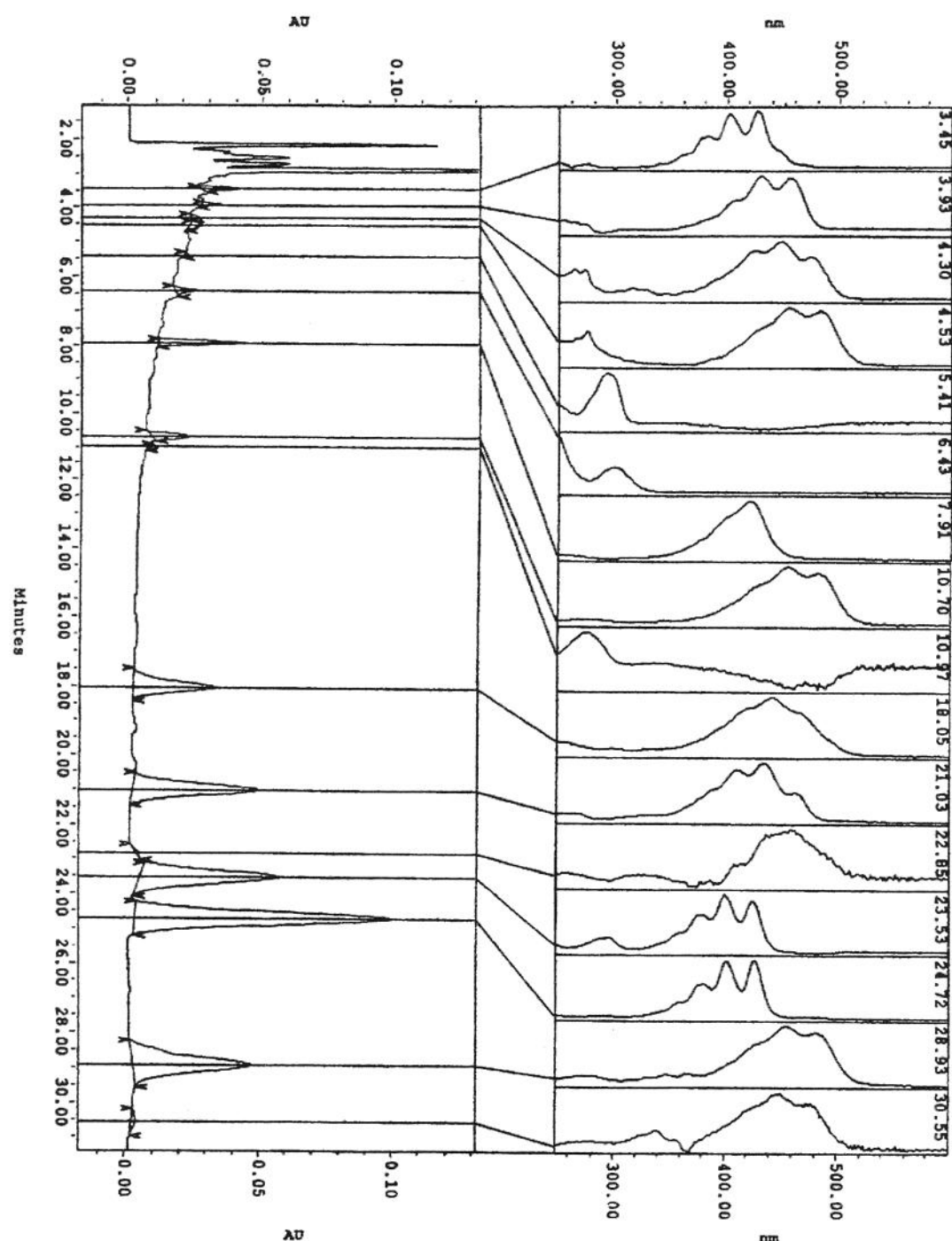


FIGURA 21. Cromatograma, obtido por CLAE, de carotenóides de um dos lotes de suco concentrado congelado açucarado de maracujá. Condições cromatográficas: coluna Nova-Pak C₁₈ (4 μ m, 3,9 x 300 mm) e como fase móvel: acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10) com fluxo de 1 ml/min e temperatura da coluna de 29°C. Detecção no λ_{max} .

ANEXO 3

REFERENTE AO CAPÍTULO 5

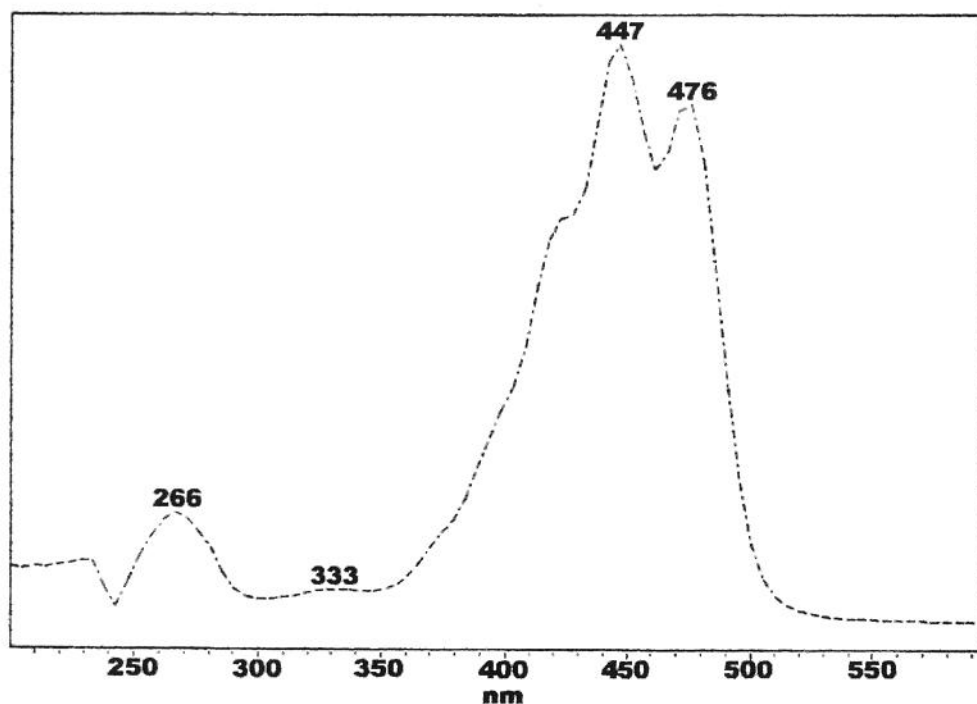


Figura 1. Espectro de absorção no UV-visível da luteína (pico 1), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

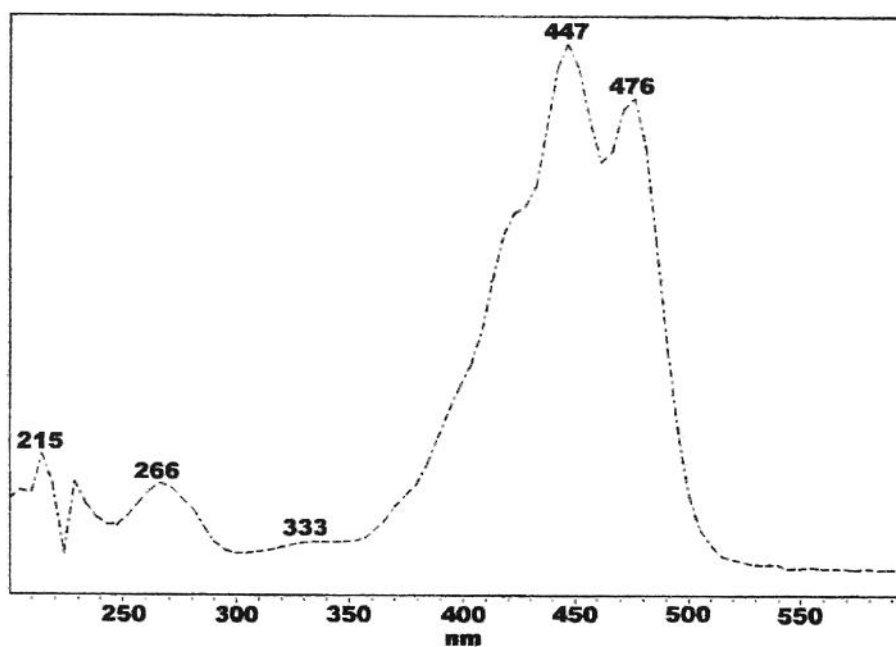


Figura 2. Espectro de absorção no UV-visível do α -caroteno (pico 2), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

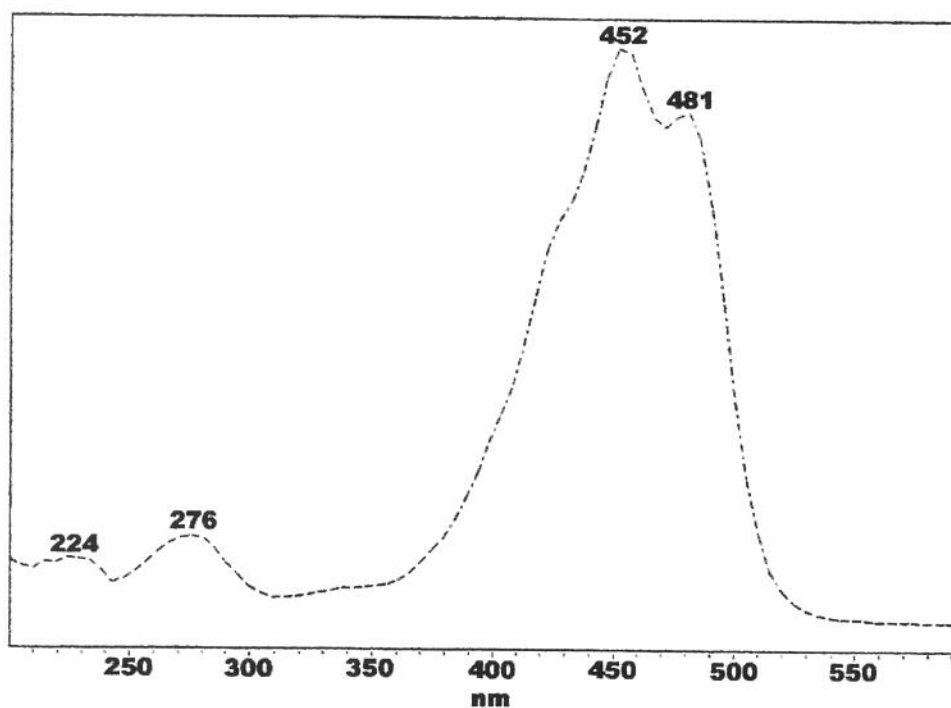


Figura 3. Espectro de absorção no UV-visível do β -caroteno (pico 3), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

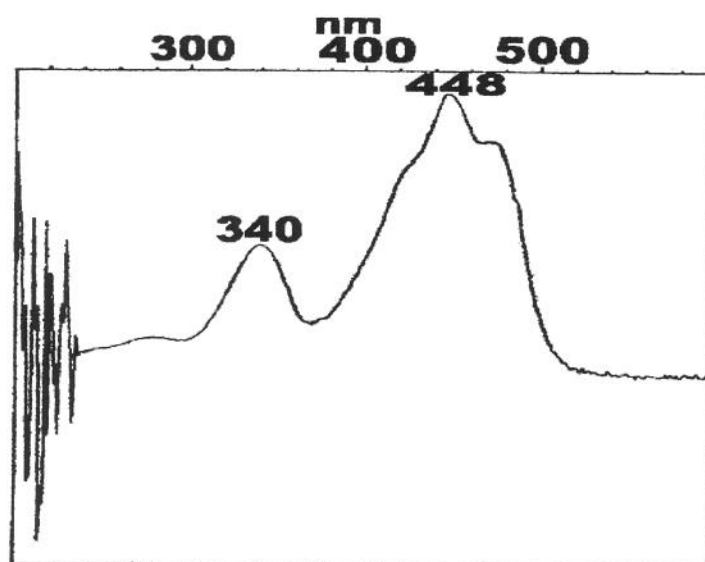


Figura 4. Espectro de absorção no UV-visível do 13-*cis*- β -caroteno (pico 4), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

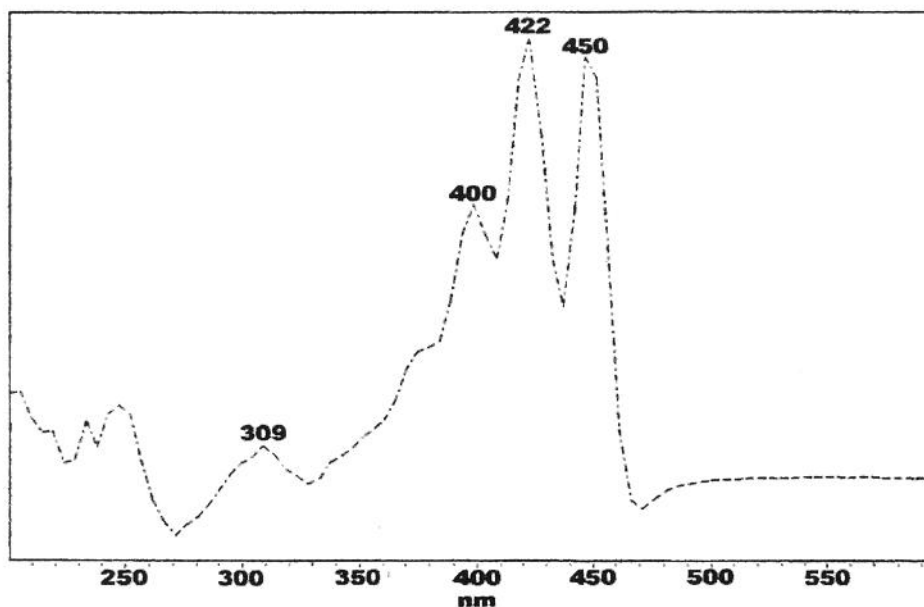


Figura 5. Espectro de absorção no UV-visível do neocromo ($t_R = 3,2$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

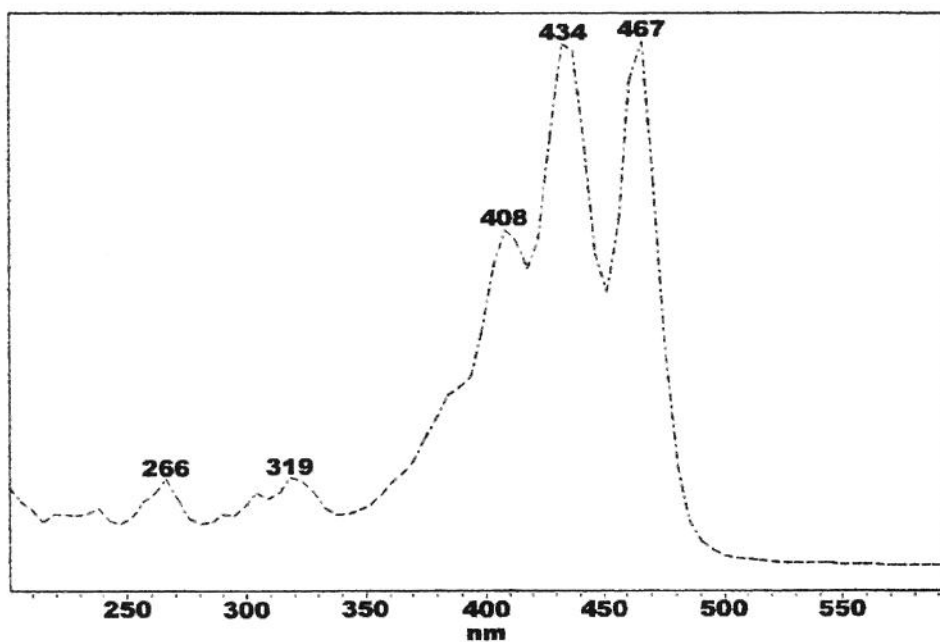


Figura 6. Espectro de absorção no UV-visível da neoxantina ($t_R = 3,4$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

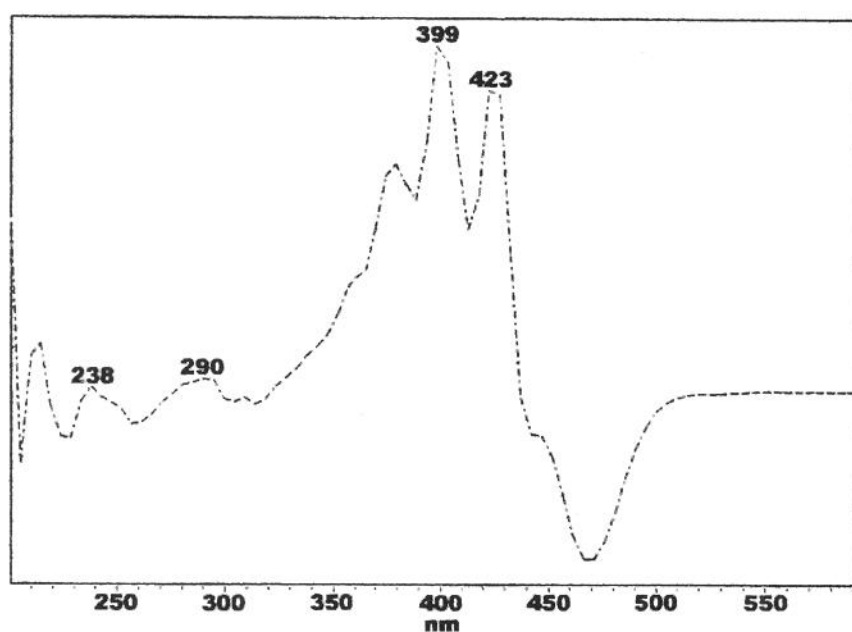


Figura 7. Espectro de absorção no UV-visível da auroxantina ($t_R = 3,4 - 3,5$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

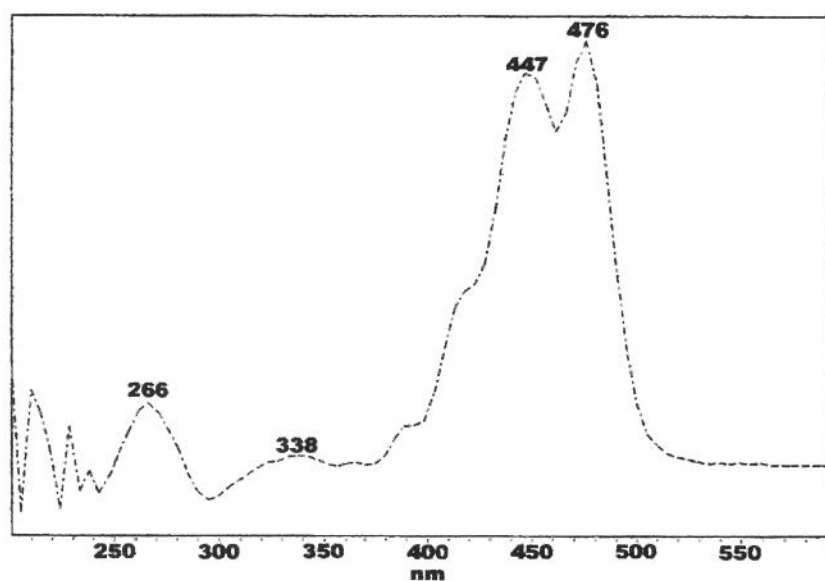


Figura 8. Espectro de absorção no UV-visível da mistura ($t_R = 3,6 - 3,62$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

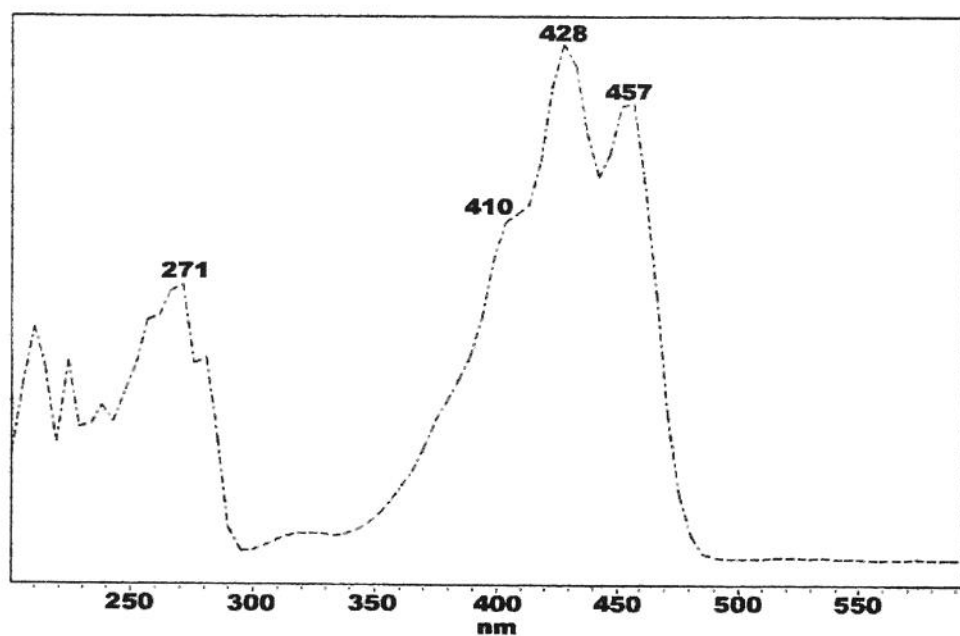


Figura 9. Espectro de absorção no UV-visível da luteoxantina ($t_R = 3,5 - 3,9$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

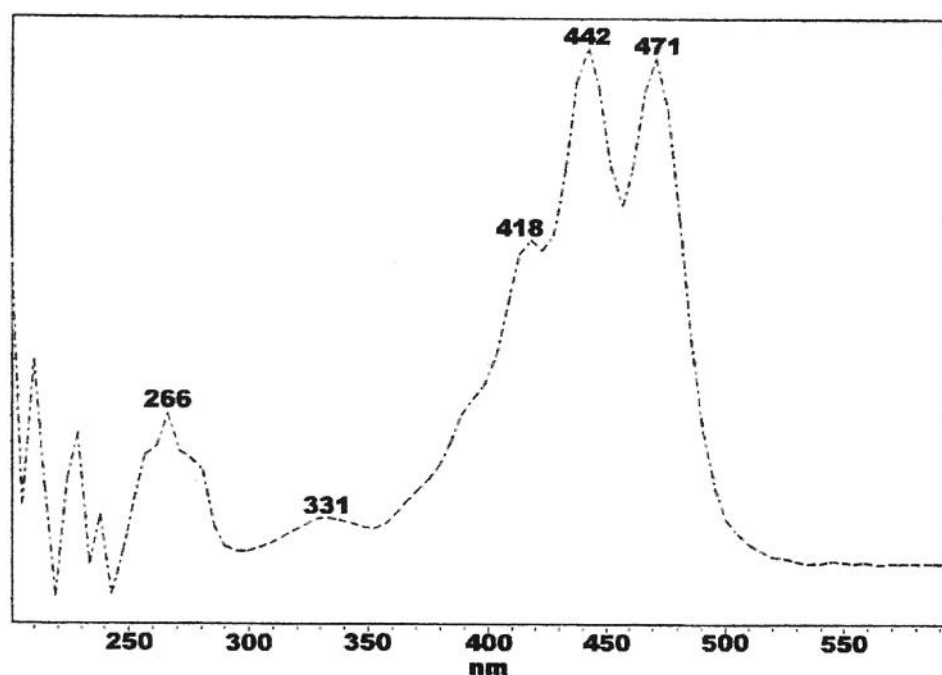


Figura 10. Espectro de absorção no UV-visível da violaxantina ($t_R = 3,3 - 4,0$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

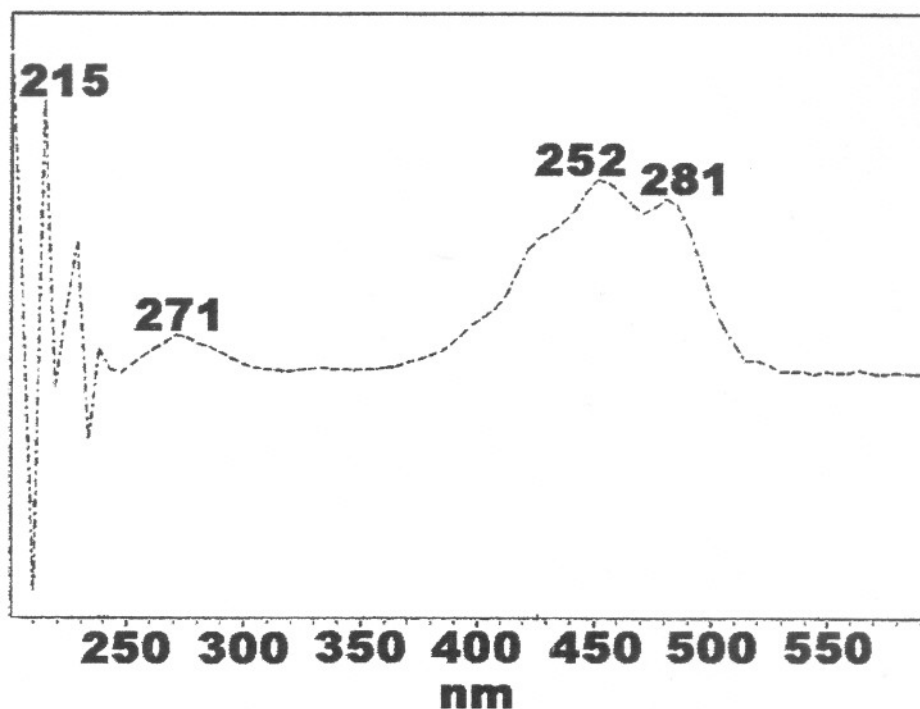


Figura 11. Espectro de absorção no UV-visível da zeaxantina ($t_R = 4,0 - 4,6$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

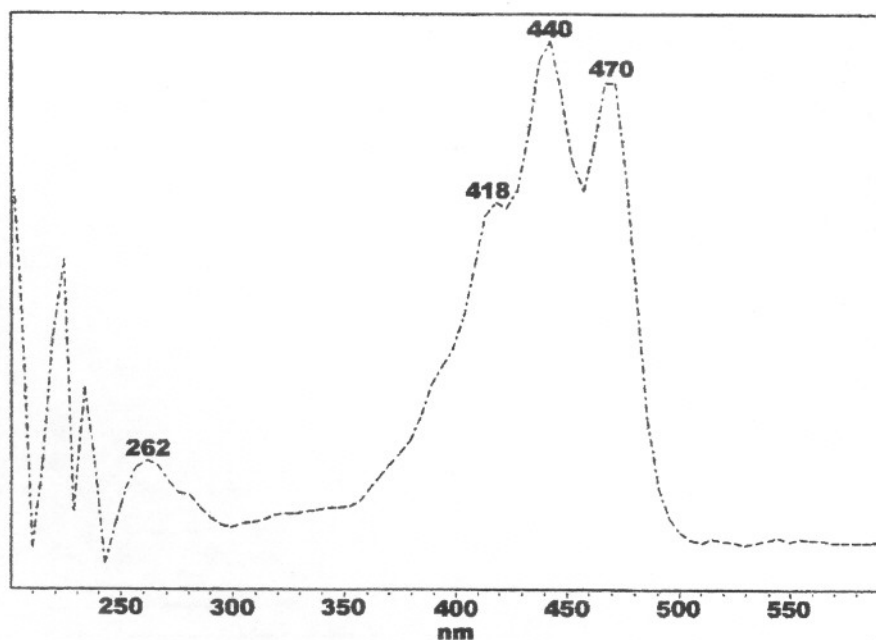


Figura 12. Espectro de absorção no UV-visível de um carotenóide não identificado ($t_R = 4,2 - 4,7$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

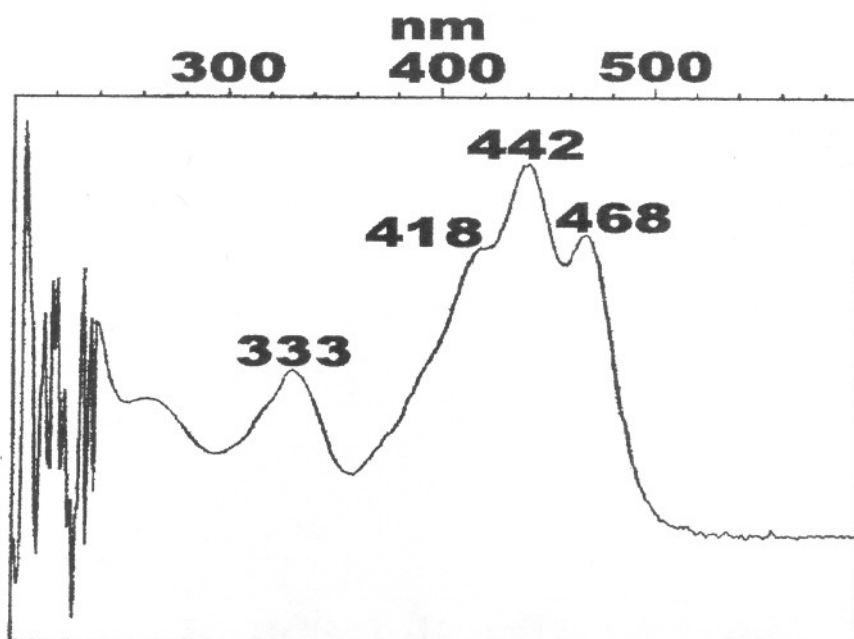


Figura 13. Espectro de absorção no UV-visível de um carotenóide não identificado ($t_R = 4,7 - 4,9$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

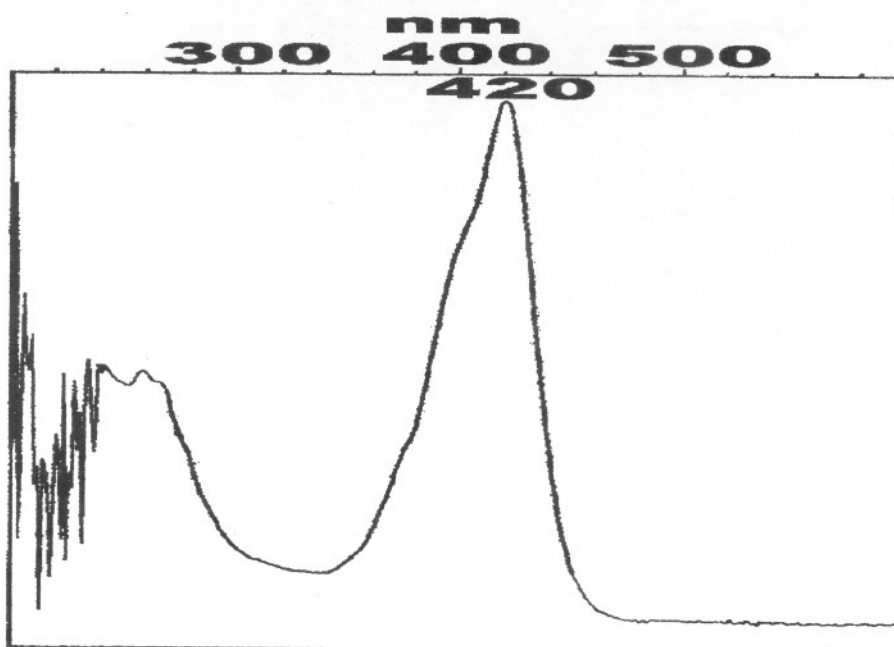


Figura 14. Espectro de absorção no UV-visível de um carotenóide não identificado ($t_R = 7,5 - 8,0$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

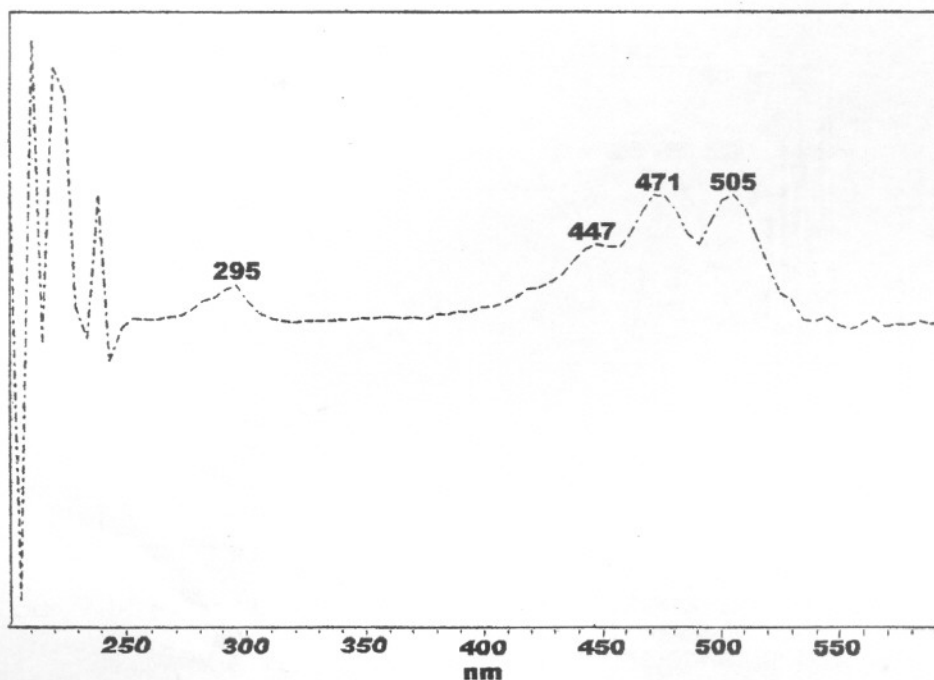


Figura 15. Espectro de absorção no UV-visível de um carotenóide não identificado ($t_R = 15,3$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

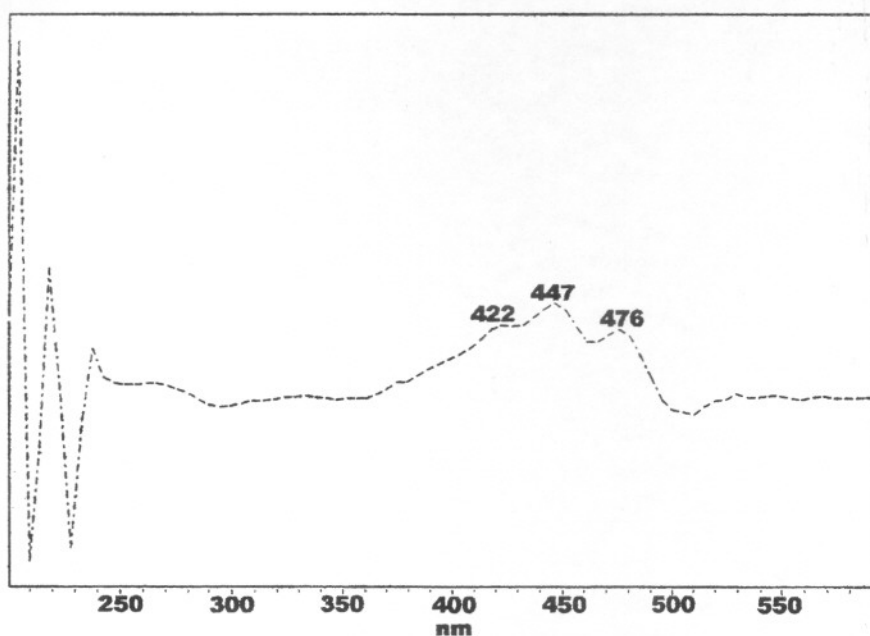


Figura 16. Espectro de absorção no UV-visível de um carotenóide não identificado ($t_R = 15,9 - 17,9$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

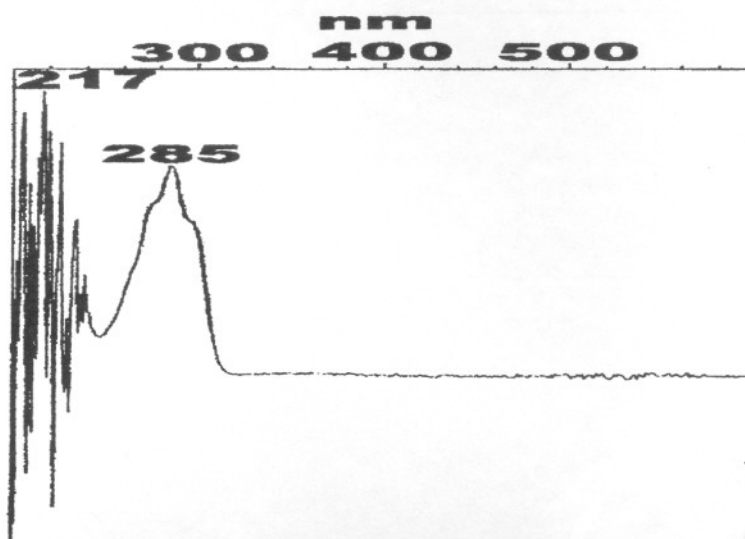


Figura 17. Espectro de absorção no UV-visível do fitoeno ($t_R = 34,1 - 36,3$), em acetonitrila/metanol/acetato de etila (75:15:10).

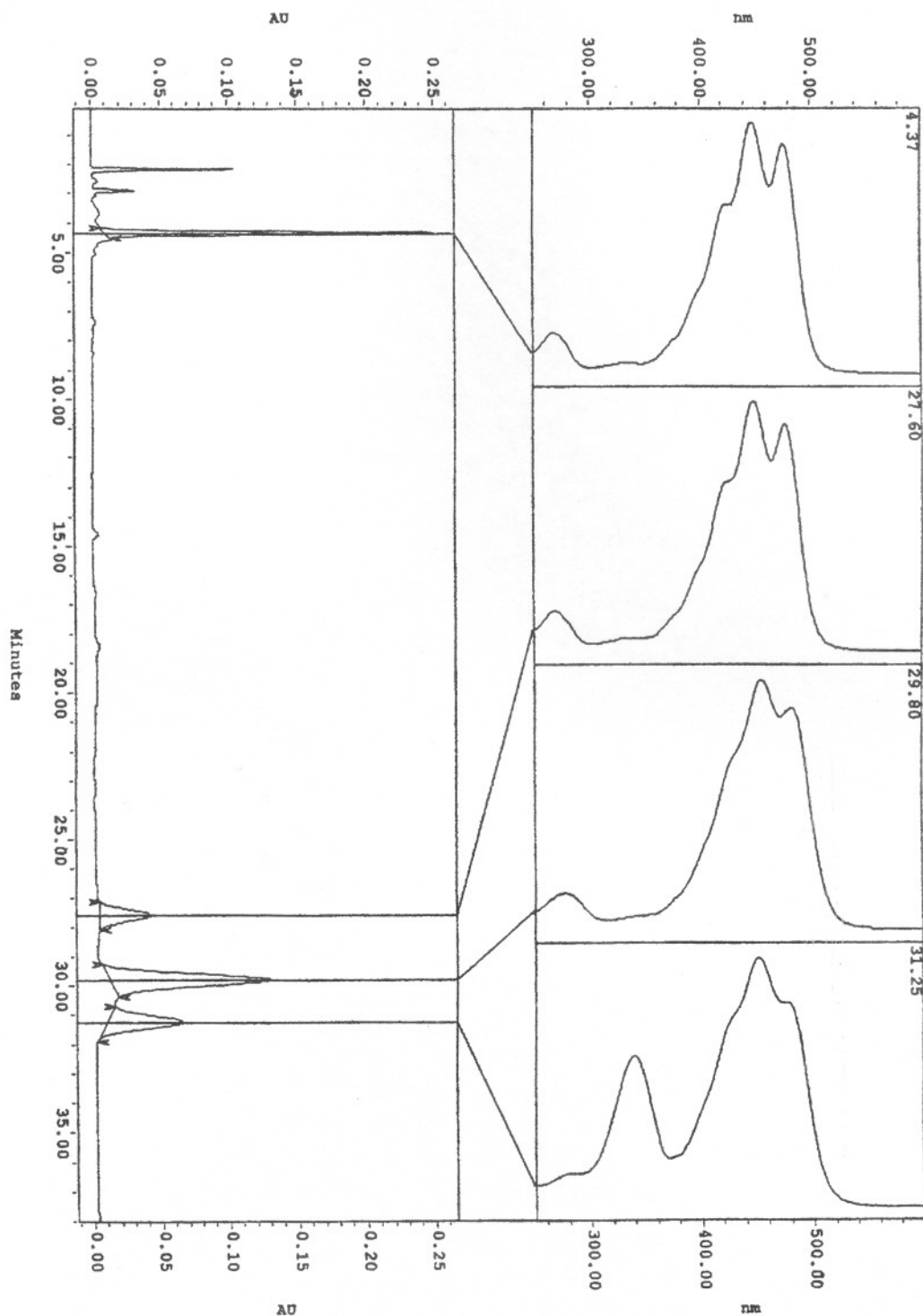


Figura 18. Espectro de absorção no UV-visível dos padrões luteína ($t_R= 4,37$), α -caroteno ($t_R= 27,60$), β -caroteno ($t_R= 29,80$), 13-cis- β -caroteno ($t_R= 31,25$) em acetonitrila/ metanol/ acetato de etila (75:15:10).