

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

**“FATORES QUE INFLUENCIAM NA COMPOSIÇÃO
DE CAROTENÓIDES EM GOIABA, ACEROLA,
PITANGA E SEUS PRODUTOS PROCESSADOS”**

PARECER

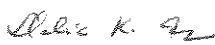
Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Ornella Maria Porcu**, aprovada pela Comissão Julgadora em 26 de novembro de 2004.

Campinas, 26 de novembro de 2004.

Ornella Maria Porcu

Química

Mestre em Química Inorgânica



Prof. Dra. Delia Rodriguez-Amaya
Presidente da Banca

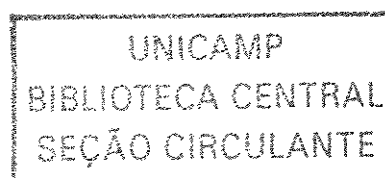
Prof. Dra. Delia B. Rodriguez-Amaya

Orientadora

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

Campinas – SP

2004



UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	P824f
V	EX
TOMBO BC/	61890
PROC.	16-86-05
C	☐
D	☒
PREÇO	11.00
DATA	10-9-05
Nº CPD	

Bib id. 342721

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

P824f Porcu, Ornella Maria
Fatores que influenciam na composição de carotenóides
em goiaba, acerola, pitanga e seus produtos processados /
Ornella Maria Porcu. – Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador: Delia B. Rodriguez-Amaya
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de engenharia de Alimentos.

1.Carotenóides. 2.Frutas tropicais. 3.Goiaba. 4.Acerola.
5.Pitanga. I.Rodriguez-Amaya, Delia B.
II.Univerisdade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.
III.Título.

CARS-FEA

BANCA EXAMINADORA:

Delia B. Rodriguez

Dra. Delia B. Rodriguez-Amaya
(Orientadora)

Helena Teixeira Godoy

Dra. Helena Teixeira Godoy

Heloisa Mascia Cecchi

Dra. Heloisa Mascia Cecchi

Edmar Clemente

Dr. Edmar Clemente

Marisa Padula

Dra. Marisa Padula

Dra. Mieko Kimura

Dra. Myrna Sabino

**“Quando uma criatura
desperta para um grande sonho
e sobre ele lança toda sua alma,
todo o universo
conspira a seu favor.”**

Goethe

*Dedico esta Tese de Doutorado
aos meus amados pais,
Pietro e Maria,
que sempre estiveram ao meu lado
transmitindo-me força, paz,
palavras de incentivo,
amor,
alegrias e
tão somente alegrias.*

*A Mauro, Lucia e Pauletto,
miei caríssimi fratelli.
A voi, ovunque,
Zia Enza e zio Enzo (in memorian),
questo piccolo pensiero.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, luz de minh'alma, presença constante em todos os momentos de dificuldades e de vitórias em minha vida. À Nossa Senhora, que sempre intercedeu junto ao Pai por todas minhas preces.

À Prof^a. Dra. Delia B. Rodriguez-Amaya, pela orientação, oportunidade em compartilhar de seu conhecimento e cultura, atitude compreensiva e pacienciosa, pela confiança, interesse e colaboração para o desenvolvimento deste trabalho.

À Coordenação do curso de Pós-graduação de Ciência de Alimentos, Prof^a. Dra. Helena Teixeira Godoy, pelo pronto atendimento.

Aos professores componentes desta banca.

À GOIABRÁS (Associação dos Produtores de Goiaba no Brasil) na pessoa do presidente Arlindo P. Netto, pelo fornecimento das amostras de goiaba *in natura*, polpa refinada, “guatchup” e goiabada.

Às funcionárias Débora Assis Subirá e Elza Maria Caumo Nania pelos momentos passados em diversos supermercados na busca incansável das amostras de suco e polpa congelada.

Aos amigos de Laboratório Marise C. de Mello, Iriani Maldonade, Mieko Kimura, José Emilson Macedo Ferreira, Marcela Colognesi de Sá, Patrícia Yuasa Niizu, Cristiane Hess, Maybi Cristina da Silva, Graciette Mاتيoli, pela convivência e grande transferência de experiências diárias.

A Hana Arima pela amizade e sugestões.

Ao CEFET-PR/Unidade Oeste, campus de Medianeira, pela colaboração para minha formação profissional.

À CAPES, pela bolsa parcial de doutorado.

Ao MCT-FINEP-CNPq, que financiou a pesquisa através do projeto PRONEX nº 66.2307/1996-8.

À todos aqueles que de modo direto ou indireto contribuíram na realização do presente trabalho.

ÍNDICE

	Página
INTRODUÇÃO GERAL.....	xix
RESUMO GERAL.....	xxi
ABSTRACT.....	xxv
 CAPÍTULO 1.	
COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES EM FRUTAS TROPICAIS: UMA REVISÃO.....	1
RESUMO	3
INTRODUÇÃO	5
BIOSSÍNTESE DE CAROTENÓIDES	6
COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES EM FRUTOS TROPICAIS	13
Abacate (<i>Persea americana</i> Mill).....	14
Abacaxi (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merrill).....	15
Acerola (<i>Malpighia glabra</i> L.).....	16
Banana (<i>MusaXparadisiaca</i> L.).....	18
Bocaiúva (<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. Ex Mart.).....	19
Buriti ou Muriti (<i>Mauritia flexuosa</i> L. f.).....	20
Cajá (<i>Spondias lutea</i> L.).....	20
Caju (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	22
Goiaba (<i>Psidium guajava</i> L.).....	24
Mamão (<i>Carica papaya</i> L.).....	26
Manga (<i>Mangifera indica</i> L.).....	28
Maracujá (<i>Passiflora</i> L.).....	32
Marolo (<i>Annona crassiflora</i> Mart).....	33
Melancia (<i>Citrullus vulgaris</i> Schrad. ex Eckl. & Zeyh.).....	35
Melão (<i>Cucumis melo</i> L.).....	36
Pequi (<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.).....	38
Pitanga (<i>Eugenia uniflora</i> L.).....	39
CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
Abstract	43

Agradecimentos	44
Referências bibliográficas.....	44
Anexo I.	55
FOTOS, NOME CIENTÍFICO E FAMÍLIA BOTÂNICA DE FRUTAS TROPICAIS.....	55

CAPÍTULO 2.

PINK-RED GUAVA AND GUAVA PRODUCTS AS RICH SOURCES OF LYCOPENE. EFFECT OF INDUSTRIAL PROCESSING.....	63
Abstract.....	65
1. INTRODUCTION.....	67
2. MATERIALS AND METHODS.....	68
<i>2.1. Evaluation of the method.:</i>	68
<i>2.2. Determination of the principal carotenoids of marketed fresh and processed guava.....</i>	70
<i>2.3. Evaluation of the effect of industrial processing.....</i>	71
<i>2.4. Statistical analysis.....</i>	72
3. RESULTS AND DISCUSSION.....	72
<i>3.1 Method performance.....</i>	72
<i>3.2 Lycopene and β-carotene contents of market guava and guava products ...</i>	74
<i>3.3 Effect of industrial processing.....</i>	76
Acknowledgements.....	77
References.....	78

CAPÍTULO 3.

VARIATION IN THE CAROTENOID COMPOSITION OF OF ACEROLA AND ITS PROCESSED PRODUCTS	89
Abstract.....	91
INTRODUCTION.....	93
MATERIALS AND METHODS.....	94
Sample collection.....	94
Methods.....	95
<i>Isolation of Carotenoid Standards and Construction of Standard Curves</i>	95
<i>Carotenoid Analysis.....</i>	96

<i>Comparison of OCC and HPLC Determination of β-Carotene</i>	98
<i>Statistical Analysis</i>	98
RESULTS AND DISCUSSION	98
<i>Qualitative Composition</i>	98
<i>Quantitative Composition</i>	100
Acknowledgements	102
References	103
CAPÍTULO 4.	
PRINCIPAL CAROTENOIDS OF “PITANGA” (<i>Eugenia uniflora</i> L.) FRUIT AND ITS PROCESSED PRODUCTS	113
Abstract	115
INTRODUCTION	117
MATERIALS AND METHODS	117
Sample collection.....	117
Isolation of carotenoid standards and construction of standard curves....	118
Carotenoid analysis.....	119
Identification of the carotenoids.....	120
RESULTS AND DISCUSSION	121
Qualitative composition.....	121
Quantitative composition.....	123
Acknowledgements	124
References	125
CONCLUSÕES GERAIS	133

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1	
Figura 1 – Formação do ácido mevalônico e licopeno.	9
Figura 2 – Ciclização e formação de xantofilas.	11
CAPÍTULO 2	
Figure 1. Flowsheet of the industrial processing of pink-fleshed guava products, illustrating the four points where samples were collected.	81
Figure 2. Typical HPLC chromatogram of the carotenoids of pink-fleshed guava fruit.	83
CAPÍTULO 3	
Figure 1. Typical HPLC chromatograms of the carotenoids from West Indian cherry (<i>Malpighia glabra</i> L.), cultivar Olivier, fresh fruit. (A) partially ripe; (B) ripe, peeled; (C) ripe with peel.	107
CAPÍTULO 4	
Figure 1. Typical HPLC chromatograms of the carotenoids of ripe pitanga (<i>Eugenia uniflora</i> L.) from Medianeira, state of Paraná (A) Campinas, state of São Paulo (B).	127

ÍNDICE DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 2.

Table 1. Comparison of the concentration of lycopene ($\mu\text{g/g}$) in pink-fleshed guava obtained by different methods.	85
Table 2. Lycopene and β -carotene contents ($\mu\text{g/g}$) of pink-fleshed guava fruit and processed guava products marketed in Campinas.	86
Table 3. Changes in carotenoids contents, °Brix, pH and moisture (%) during industrial processing of pink-fleshed guava.	87

CAPÍTULO 3.

Table 1. Comparison of the β -carotene content of ripe acerola (undefined variety) determined by OCC and HPLC methods.	109
Table 2. Effect of peeling and ripening on the carotenoid content of acerola.....	110
Table 3. Carotenoid content of the frozen pulp of acerola, marketed in Campinas, Brazil.....	111
Table 4. Carotenoid content of acerola juice, marketed in Campinas, Brazil.....	112

CAPÍTULO 4.

Table 1. Identification parameters of principal carotenoids of pitanga (<i>Eugenia uniflora</i> L.) fruit.	129
Table 2. Principal carotenoids of pitanga from two states and at two stages of maturity.....	130
Table 3. Principal carotenoids of frozen pulp and bottled fruit juice of pitanga marketed in Campinas, Brazil.....	131

INTRODUÇÃO GERAL

Além do seu papel como corante natural, os carotenóides trazem benefícios associados à saúde humana como atividade pró-vitáminica A e redução do risco de doenças degenerativas como câncer, enfermidades cardiovasculares, catarata e degeneração macular. Os carotenóides demonstrados como importantes para a saúde são α -caroteno, β -caroteno, licopeno, β -criptoxantina, luteína e zeaxantina.

O Brasil oferece uma rica diversidade de frutas tropicais cuja composição em carotenóides é complexa e variável. Os fatores que influem na composição de carotenóides em frutas são cultivar, estágio de maturação, condições geográficas ou clima, processamento e estocagem dos alimentos. O processamento, de um lado, pode provocar a degradação, mas por outro lado, pode aumentar a biodisponibilidade. Condições ótimas de processamento, portanto, devem ser estabelecidas para minimizar as perdas por remoção física e degradação dos carotenóides, ao mesmo tempo que proporcionam maior biodisponibilidade.

Embora muitos estudos investigando os carotenóides de frutas brasileiras já tenham sido realizados, o país ainda carece de maiores informações, tanto da composição de carotenóides como dos fatores que influenciam a composição.

Este trabalho, portanto, foi realizado para determinar a composição de carotenóides de goiaba, acerola e pitanga e de seus produtos processados, verificando os efeitos de cultivar, estágio de maturação, local de produção, remoção da pele e do processamento.

RESUMO GERAL

Diante da importância dos carotenóides como corantes naturais e seus efeitos benéficos à saúde, o presente trabalho foi realizado para quantificar os principais carotenóides de goiaba (*Psidium guajava* L.), acerola (*Malpighia glabra* L.), pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e de seus produtos processados. A influência de variáveis agrícolas como diferenças entre cultivares, estágio de maturação, local de produção, e de processamento foi investigada.

Uma revisão bibliográfica abrangendo os estudos sobre a composição de carotenóides em frutos tropicais brasileiros é apresentada no Capítulo 1. Os fatores que influenciam a composição, incluindo os efeitos do processamento, são discutidos.

O Capítulo 2 apresenta os teores dos principais carotenóides de goiaba mostrando as diferenças entre cultivares e os teores de carotenóides em produtos processados (polpa congelada, suco, goiabada, polpa refinada e “guatchup”). Os teores de licopeno e β -caroteno encontrados em goiaba, cultivares Paluma e Ogawa, oriundos do estado de São Paulo, foram de $66,0 \pm 5,2 \mu\text{g/g}$ e $57,0 \pm 8,1 \mu\text{g/g}$ e de $4,3 \pm 1,3 \mu\text{g/g}$ e $2,3 \pm 0,8 \mu\text{g/g}$, respectivamente. Para várias marcas de goiabada, polpa congelada e suco processado de goiaba comercializados em Campinas, estado de São Paulo, a faixa de concentração de licopeno foi de $59,8\text{-}83,0 \mu\text{g/g}$, $37,4\text{-}72,6 \mu\text{g/g}$, $32,6\text{-}60,0 \mu\text{g/g}$ e de β -caroteno foi $3,7\text{-}7,4 \mu\text{g/g}$, $2,7\text{-}4,5 \mu\text{g/g}$, $2,1\text{-}3,4 \mu\text{g/g}$, respectivamente. Acompanhando o processamento industrial, os teores de licopeno foram de $85,2 \pm 4,7 \mu\text{g/g}$ para goiaba, $83,9 \pm 2,0 \mu\text{g/g}$ para goiabada, $134,0 \pm 3,0 \mu\text{g/g}$ para polpa refinada e de $98,3 \pm 1,3 \mu\text{g/g}$ para “guatchup”.

No capítulo 3 estão descritos os estudos sobre os principais carotenóides de acerola *in natura*, inclusive os efeitos de estágio de maturação e retirada de casca, e em seus produtos processados. Os carotenóides identificados foram neoxantina, violaxantina, luteína, β -criptoxantina, α -caroteno e β -caroteno, este último sendo o predominante. A acerola madura da variedade Olivier, proveniente de cultivo comercial do município de Junqueirópolis, apresentou concentração três vezes maior de β -caroteno que a variedade indefinida, proveniente de jardins da cidade de Campinas. A retirada de casca reduziu os níveis de α -caroteno e β -caroteno, mas para a cultivar Olivier também diminuíram violaxantina e luteína, enquanto que, os demais carotenóides mantiveram-se praticamente inalterados. As concentrações de α -caroteno e β -caroteno aumentaram cerca de duas vezes, do estágio parcialmente maduro para o maduro. Todas as quatro marcas das polpas congeladas analisadas apresentaram α -caroteno (0,1 a 0,5 $\mu\text{g/g}$), β -criptoxantina (0,2 a 1,0 $\mu\text{g/g}$) e β -caroteno (3,0 a 16,5 $\mu\text{g/g}$). As marcas B, C e D continham luteína (0,6-1,2 $\mu\text{g/g}$), a marca D neoxantina (0,5 $\mu\text{g/g}$) e a marca C e D, violaxantina (0,02-0,4 $\mu\text{g/g}$). Em sucos processados de acerola a faixa de concentração de luteína, β -criptoxantina, α -caroteno e β -caroteno foram de 0,2-0,6 $\mu\text{g/g}$, 0,4-1,0 $\mu\text{g/g}$, 0,2-0,7 $\mu\text{g/g}$ e 2,7-10,1 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. As marcas F e G apresentaram traços de violaxantina.

No Capítulo 4 estão apresentados os teores de carotenóides de pitanga *in natura*, em dois estádios de maturação, provenientes de São Paulo e Paraná, e em suco processado e polpa congelada adquiridos no comércio de Campinas (estado de São Paulo). Quando comparadas as pitangas de Medianeira (estado do Paraná), as de Campinas tiveram elevados teores de licopeno (14,0 vs 71,1 $\mu\text{g/g}$), 13-*cis*-licopeno (1,1 vs 5,0 $\mu\text{g/g}$) e γ -caroteno (1,6 vs 3,8 $\mu\text{g/g}$), porém, teores muito próximos de β -criptoxantina (12,8 vs 11,8

$\mu\text{g/g}$) e níveis menores de rubixantina (11,5 vs 9,4 $\mu\text{g/g}$), no estágio maduro. Do estágio parcialmente maduro para maduro, licopeno aumentou de duas a três vezes, β -criptoxantina e rubixantina aumentaram apreciavelmente, e γ -caroteno, β -caroteno, luteína e violaxantina mostraram teores ligeiramente maiores. O conteúdo de licopeno foi de 16,5 $\mu\text{g/g}$ na polpa congelada e de 23,0 $\mu\text{g/g}$ e 25,6 $\mu\text{g/g}$ nos sucos processados de pitanga marcas B e C, respectivamente.

ABSTRACT

Due to their importance as natural colorants and their beneficial effects to human health, the present study was carried out to quantify the principal carotenoids of guava (*Psidium guajava* L.), “acerola” (*Malpighia glabra* L.), “pitanga” (*Eugenia uniflora* L.) and their processed products. The influence of agricultural variables, such as cultivar differences, stage of maturity, site of production, and of processing was investigated.

In Chapter 1, a review on the carotenoid composition of Brazilian tropical fruits is presented. Factors that affect the composition, including processing, are discussed.

Chapter 2 presents the principal carotenoids of guava, demonstrating the differences between cultivars and the carotenoid levels in processed products (frozen pulp, juice, “goiabada”, refined pulp and “guatchup”). The lycopene and β -carotene concentrations found in cultivars Paluma and Ogawa from the state of São Paulo were $66.0 \pm 5.2 \mu\text{g/g}$ and $57.0 \pm 8.1 \mu\text{g/g}$, and $4.3 \pm 1.3 \mu\text{g/g}$ and $2.3 \pm 0.8 \mu\text{g/g}$, respectively. In various brands of “goiabada”, frozen pulp and processed juice marketed in Campinas, state of São Paulo, the concentration ranges were 59.8-83.0 $\mu\text{g/g}$, 37.4-72.6 $\mu\text{g/g}$, 32.6-60.0 $\mu\text{g/g}$, respectively, for lycopene and 3.7-7.4 $\mu\text{g/g}$, 2.7-4.5 $\mu\text{g/g}$, 2.1-3.4 $\mu\text{g/g}$, respectively, for β -carotene. In industrial processing the lycopene levels were $85.2 \pm 4.7 \mu\text{g/g}$ in guava fruits, $83.9 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$ in “goiabada”, $134.0 \pm 3.0 \mu\text{g/g}$ in refined pulp and $98.3 \pm 1.3 \mu\text{g/g}$ in “guatchup”.

In Chapter 3 studies on the principal carotenoids in “acerola”, including the effects of ripening and peeling, and in processed products are presented. Neoxanthin, violaxanthin, lutein, β -cryptoxanthin, α -carotene and β -carotene were identified, with the latter predominating. Mature “acerola” of the cultivar Olivier from a commercial orchard of

Junqueirópolis presented a β -carotene concentration three times higher than that of an undefined variety from home gardens in Campinas. Peeling reduced the levels of α -carotene and β -carotene, with violaxanthin and lutein decreasing only for cultivar Olivier; all the other carotenoids remained practically unchanged. The concentrations of α -carotene and β -carotene doubled from the partially ripe to the ripe stage. All the four brands of frozen pulp analyzed had α -carotene (0.1 to 0.5 $\mu\text{g/g}$), β -cryptoxanthin (0.2 to 1.0 $\mu\text{g/g}$) and β -carotene (3.0 to 16.5 $\mu\text{g/g}$). Brands B, C and D had lutein (0.6-1.2 $\mu\text{g/g}$), brand D neoxanthin (0.5 $\mu\text{g/g}$) and brands C and D violaxanthin (0.02-0.4 $\mu\text{g/g}$). In processed juice, the concentration ranges of lutein, β -cryptoxanthin, α -carotene, and β -carotene were 0.2-0.6 $\mu\text{g/g}$, 0.2-0.7 $\mu\text{g/g}$, 0.4-1.0 $\mu\text{g/g}$ and 2.7-10.1 $\mu\text{g/g}$, respectively. Brands F and G had traces of violaxanthin.

Chapter 4 presents the carotenoid levels of “pitanga”, at two stages of maturity and from the states of São Paulo and Paraná, and in processed juice and frozen pulp purchased in Campinas, state of São Paulo. “Pitanga” from Medianeira (Paraná) as compared to that of Campinas (São Paulo) had lower levels of lycopene (14.0 vs 71.1 $\mu\text{g/g}$), 13-*cis*-lycopene (1.1 vs 5.0 $\mu\text{g/g}$) and γ -carotene (1.6 vs 3.8 $\mu\text{g/g}$), but close levels of β -cryptoxanthin (12.8 vs 11.8 $\mu\text{g/g}$) and lower values of rubixanthin (11.5 vs 9.4 $\mu\text{g/g}$) contents at the ripe stage. From the partially ripe to the ripe stage, lycopene increased two to three times, β -cryptoxanthin and rubixanthin increased appreciably, and γ -carotene, β -carotene, lutein and violaxanthin increased slightly. The lycopene content was 16.5 $\mu\text{g/g}$ in frozen pulp and 23.0 $\mu\text{g/g}$ and 25.6 $\mu\text{g/g}$ in processed juice brands B and C, respectively.

CAPÍTULO 1

COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES EM FRUTAS TROPICAIS : UMA REVISÃO

Ornella Maria PORCU

Delia B. RODRIGUEZ-AMAYA *

* Endereço para correspondência: Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, C. P. 6121, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Artigo a ser submetido à *Revista do Instituto Adolfo Lutz*

RESUMO

As frutas são fontes complexas e variáveis de carotenóides, uma importante classe de pigmentos naturais, não só devido à sua ação corante, mas também pelas suas propriedades funcionais especiais associadas à saúde. Quantidades insignificantes destes carotenóides foram detectados em *Ananas comosus* (L.) Merril (abacaxi). Pigmentos típicos de cloroplastos tais como luteína, violaxantina e neoxantina foram encontrados no estágio que antecipa a maturação das frutas em geral. O ζ -caroteno é o majoritário em *Passiflora edulis* f. (maracujá), ao passo que licopeno predomina em *Psidium guajava* L. (goiaba), *Eugenia uniflora* L. (pitanga), *Carica papaya* L. (mamão, cultivares Solo, Formosa e Tailândia) e *Citrullus vulgaris* Schrad. ex Eckl. & Zeyh. (melancia). Em *Malpighia glabra* L. (acerola), *Mauritia flexuosa* L. (buriti), *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. (bocaiúva), *Cucumis melo* L. (melão) e *Annona crassiflora* Mart. (marolo), o carotenóide de maior concentração é o β -caroteno. A produção majoritária de β -criptoxantina ocorre em *Anacardium occidentale* L. (caju), *Spondias lutea* L. (cajá) e *Carica papaya* L. (mamão cv. Common). Interessantemente, zeaxantina é o dominante em *Caryocar brasiliense* Camb. (pequi). A violaxantina é o carotenóide predominante em *Mangifera indica* L. (manga, cultivar Keitt). A marcante variabilidade de carotenóides entre frutas é acentuada por variações entre amostras da mesma fruta devido às variáveis agrícolas (cultivar, clima, época de colheita, estágio de maturação) e efeitos do processamento e estocagem de alimentos. Tendo em vista a importância de dados sobre a composição de carotenóides em frutas, o presente artigo, apresenta uma revisão bibliográfica que abrange as frutas tropicais carotenogênicas.

PALAVRAS CHAVE. Carotenóides; frutas tropicais; composição; maturação; cultivares; processamento.

INTRODUÇÃO

Os carotenóides pertencem ao grupo dos terpenóides e são encontrados amplamente distribuídos numa grande variedade de alimentos: muitas frutas, hortaliças, peixes como salmão e truta, gema de ovo, alguns crustáceos, grãos, flores e raízes. Também estão presentes em alguns fungos, bactérias, leveduras e algas. Estes pigmentos são biossintetizados pelas plantas superiores e por microrganismos enquanto que os animais os adquirem através da dieta acumulando-os sem ou com ligeira modificação.

Devido à sua ação corante, extratos naturais de urucum (bixina), páprica (capsantina e capsorubina) e açafrão (crocina) vem sendo comercializados ao longo de muitos anos, enquanto que outros, licopeno, β -caroteno, cantaxantina, astaxantina, 8'-apo- β -carotenal, etil 8'-apo-8- β -caroten-8'-oato e citranaxantina, são sintetizados em escala industrial²⁹.

Os carotenóides geralmente são compostos de 40 átomos de carbono, tendo uma série de duplas ligações conjugadas, que constituem o cromóforo responsável pela absorção de luz na região visível. Podem ser acíclicos ou ciclizados em uma ou ambas as extremidades (Figura 1 e 2). De acordo com o tipo e teor de carotenóides, surgem as várias cores características de muitos alimentos, que podem variar desde o amarelo pálido até o vermelho intenso. Quimicamente, distinguem-se dois grupos de carotenóides: os carotenos, constituídos por hidrocarbonetos, e as xantofilas ou oxicarotenóides, que contém substituintes com oxigênio como os grupos epoxi, furanoxi, hidroxí (monol, diol, polióis), metoxi, ceto ou carboxi.

Além de ser corante natural, alguns carotenóides são precursores da vitamina A, sendo o β -caroteno a pró-vitamina A mais potente. Outros carotenóides pró-vitâmicos A

são α -caroteno, β -criptoxantina e γ -caroteno. Esta atividade pró-vitâmica A é de suma importância para os países em desenvolvimento, onde a deficiência de vitamina A é considerada um grave problema nutricional.

Aos carotenóides se tem atribuído, mais recentemente, propriedade antioxidante por seqüestro de oxigênio singlete ou radicais livres, interrompendo a propagação da reação de radicais livres em cadeia. Neste caso, o licopeno, que não apresenta atividade pró-vitâmica A demonstrou-se mais eficiente que o β -caroteno²⁵. Este é o mecanismo de ação mais citada em relação à possível ação dos carotenóides contra doenças degenerativas, como o câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular e catarata. Outros mecanismos da ação protetora dos carotenóides são: modulação de carcinógenos, inibição de proliferação celular; aumento da diferenciação celular via retinóides; estímulo da comunicação celular; aumento da resposta imune; filtração da luz azul⁶⁹.

Luteína e zeaxantina constituem o pigmento amarelo da mácula da retina⁴⁴. A ingestão a nível plasmático destes pigmentos tem sido correlacionada inversamente com o risco de degeneração macular, principal causa da cegueira irreversível em idosos^{27,86}. Moeller *et al.*⁶², relatou a existência de efeito protetor consistente no ser humano, da luteína da dieta no desenvolvimento de catarata.

BIOSSÍNTESE DE CAROTENÓIDES

As seqüências de reações responsáveis pela formação dos carotenóides em fontes como plantas, fungos, leveduras e bactérias foram investigadas e elucidadas através de estudos que envolveram inibidores, estimuladores, mutantes e marcadores radioativos

O caminho biossintético pode ser resumido em: (I) formação do ácido mevalônico (MVA); (II) formação de fitoeno; (III) dessaturação; (IV) ciclização; (V) formação de xantofilas^{14,39}.

Como primeira etapa ocorre a fusão de três moléculas de acetil-CoA para formar 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) que é convertido por ação da HMG-CoA redutase a ácido mevalônico (Figura 1). O ácido mevalônico é fosforilado sequencialmente pelas enzimas mevalonato quinase e depois por mevalonato-5-pirofosfato quinase, produzindo 5-mevalonato pirofosfato. Este composto sofre decarboxilação catalisada por pirofosfomevalonato decarboxilase que requer adenosina trifosfato (ATP) e cátion divalente (Mn^{+2}). O ácido mevalônico dá origem ao isopentil pirofosfato (IPP) que é o principal precursor de muitos compostos isoprenóides de cadeia longa (Figura 1)^{14,39}.

Para iniciar a elongação da cadeia, o IPP (C_5) é isomerizado ao seu isômero alílico, dimetilalil pirofosfato (DMAPP). A condensação de IPP e DMAPP leva a formação de uma molécula de 10 átomos de carbono, geranyl pirofosfato (GPP). Uma adição de IPP a GPP resulta em farnesil pirofosfato (FPP, C_{15}) que com outra adição de uma molécula de IPP origina geranyl geranyl pirofosfato (GGPP, C_{20}). Por dimerização de GGPP surge o intermediário prefitoeno pirofosfato que por subsequente eliminação do grupo pirofosfato e abstração específica de próton leva à formação de fitoeno (C_{40}). Esta etapa é catalisada por fitoeno sintase^{14,39}.

O fitoeno, incolor e com três duplas ligações conjugadas, por uma série de reações forma com a introdução sequencial de duplas ligações: fitoflueno, ζ -caroteno, neurosporeno e finalmente licopeno, com 11 duplas ligações conjugadas e coloração vermelho intensa.

Licopeno é precursor para ciclização, formando os anéis α - e β -, grupos cíclicos que diferem pela posição da dupla ligação no anel e que dependem da enzima ciclase (Figura 2).

Pela ação de β -ciclase, ocorre a conversão de licopeno em γ -caroteno (um anel β -) e β -caroteno (dois anéis β -), enquanto que ϵ -ciclase catalisa a formação de δ -caroteno (um anel ϵ -) e α -caroteno (um anel ϵ -), sendo que para o último a β -ciclase leva à ciclização da outra extremidade em anel β ^{14,39}.

A inserção das funções hidroxí e epoxi após a ciclização leva à formação de xantofilas. A hidroxilação ocorre na posição C-3, formando rubixantina (monohidroxilado) a partir de γ -caroteno. Ao ocorrer a hidroxilação nas posições do C-3 e C-3' do β -caroteno e α -caroteno, resultam os dihidroxilados, zeaxantina e luteína, via os monohidroxilados β -criptoxantina e α -criptoxantina (zeinoxantina), respectivamente^{12,14,39}.

Violaxantina é formada a partir da epoxidação de zeaxantina (grupos 5,6-epoxi e 5',6'-epoxi são introduzidos em 3-hidroxi-anel- β e 3'-hidroxi-anel- β), via o intermediário monoepoxidado anteraxantina, sendo a reação reversível para zeaxantina por ação catalítica de zeaxantina epoxidase (de-epoxidação)^{14,39}.

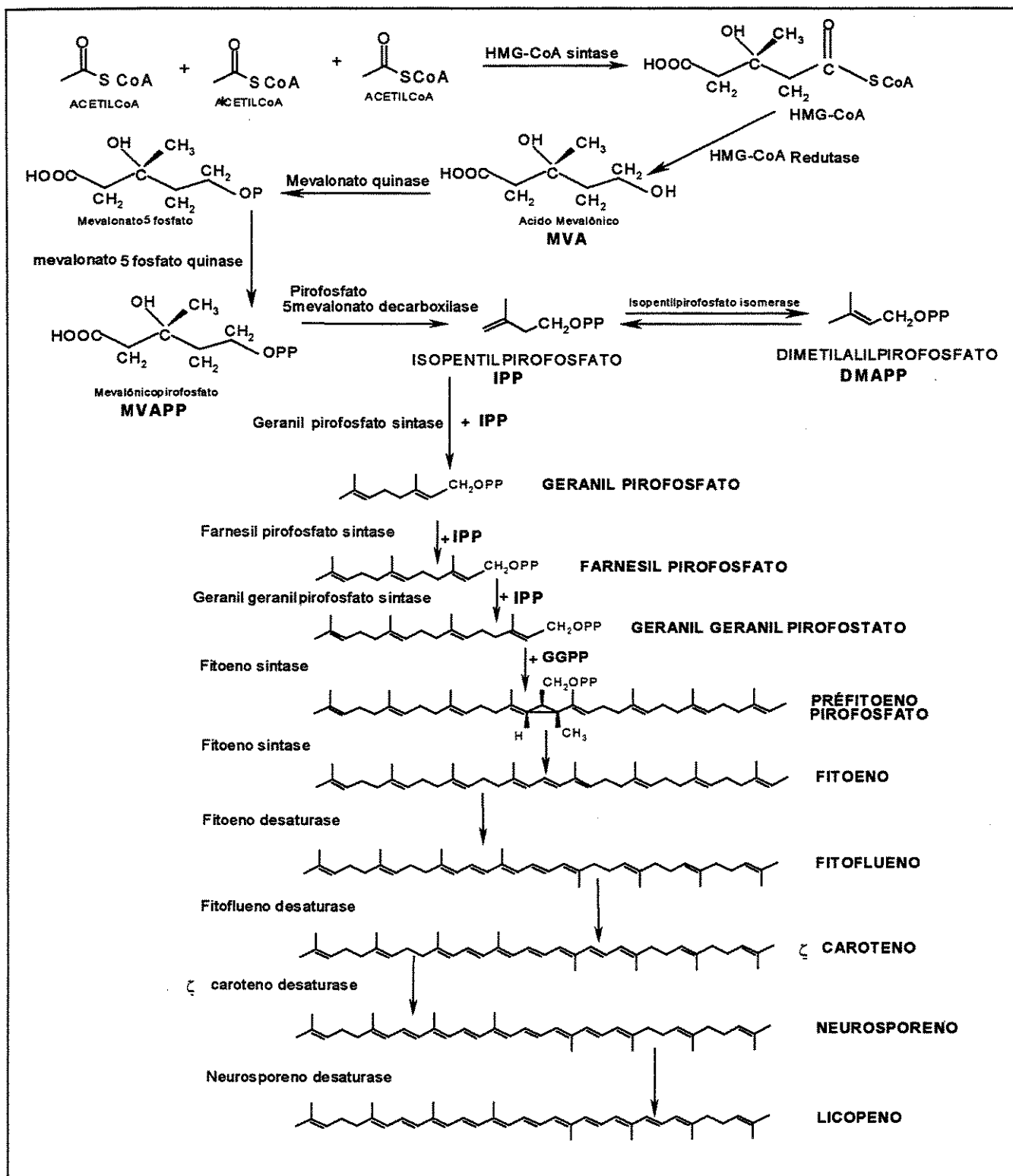


Figura 1 – Formação do ácido mevalônico e do licopeno.

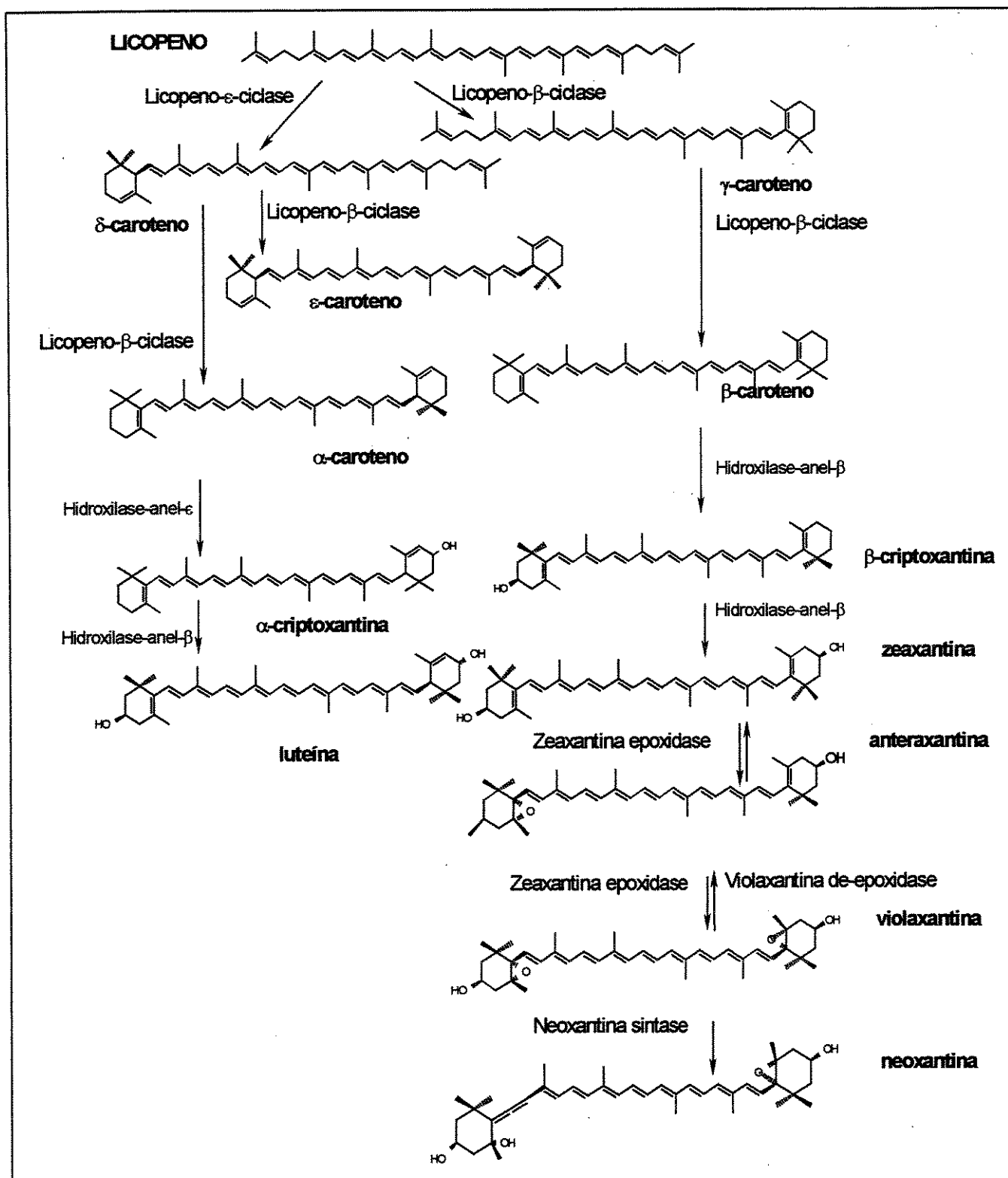


Figura 2 – Ciclização e formação de xantofilas.

Neoxantina contém um grupo alênico que se origina por abstração do próton no C-7 adjacente a 5,6-epoxi-5,6-dihidroxi do anel- β de violaxantina. A transformação ocorre por ação de neoxantina sintase. Epoxidação de carotenos e xantofilas produz uma variedade de mono- e diepoxi-carotenóides (Figura 2)^{14,39}.

COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES EM FRUTOS TROPICAIS

O Brasil é um dos países mais ricos em frutas tropicais, subtropicais e de clima temperado, que são aproveitadas cruas ou em saborosos sucos, doces e geléias. Entre elas, estão as frutas carotenogênicas como pitanga, acerola, goiaba, melancia, mamão, melão, ameixa-amarela, tangerinas, maracujá, caju, cajá e pequi^{78,79,81}. As estruturas químicas dos carotenóides mais comumente encontrados nessas frutas são apresentadas na Figura 2.

Os carotenóides podem ocorrer em pequenas estruturas subcelulares denominados cloroplastos, os quais são encontrados em folhas e em maiores quantidades na película do que na polpa verde de frutos imaturos⁴². Os carotenóides de cloroplastos são neoxantina, violaxantina, luteína e β -caroteno.

Sistematicamente a coloração muda com o processo de amadurecimento e na maioria dos frutos, os pigmentos de cloroplastos diminuem, ocorrendo o aumento dos outros carotenóides com o início da biossíntese. Estes últimos são encontrados em flores e frutos maduros variando em coloração do amarelo para laranja e para vermelho. Os carotenóides presentes nos cromoplastos possuem intensa atividade metabólica e devido a enzimas carotenogênicas altamente autônomas e capazes de dar prosseguimento à

biossíntese, evidencia-se um aumento no número e teor de carotenóides em frutos durante amadurecimento^{11,42}.

Em termos de conteúdo de carotenóides as frutas podem ser divididas em 8 grupos principais^{37,38}:

- (1) frutas que produzem quantidades insignificantes de carotenóides;
- (2) frutas que produzem principalmente carotenóides característicos de cloroplastos (neoxantina, violaxantina, luteína e β -caroteno);
- (3) frutas em que há predomínio da síntese de licopeno e seus precursores ;
- (4) frutas que sintetizam o β -caroteno e seus derivados como pigmentos principais;
- (5) frutas que sintetizam pigmentos que são quase que exclusivamente específicos da espécie;
- (6) frutas que produzem grandes quantidades de epóxidos;
- (7) frutas que sintetizam principalmente poli-*cis*-carotenóides;
- (8) frutas em que predominam os apocarotenóides.

Junto com os pigmentos principais, vários outros carotenóides são geralmente encontrados.

Serão discutidos a seguir algumas frutas tropicais brasileiras cujas composições de carotenóides já foram determinadas. Os nomes científicos, famílias e fotografias destas frutas estão no anexo I.

ABACATE (*Persea americana* Mill)

O abacate é da família Lauraceae, frutifica o ano inteiro, tem casca de coloração verde-oliva brilhante com polpa verde-amarelada ou amarela envolvendo um grande

caroço. No Brasil a polpa é comumente consumida *in natura* ou também misturada ao leite ou é bebida misturada com o suco de outras frutas. Os estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Espírito Santo, Pará e Rio Grande do Sul se destacam pela produção nacional^{18,82,85}.

A composição de carotenóides de abacate (cv. Nabal) é caracterizada por luteína (25,0 %), crisantemaxantina (20,4 %), neocromo (9,2 %), isoluteína (9,0 %), mulaxantina (8,6 %), neoxantina (7,3 %), β -criptoxantina (5,2 %), violaxantina (4,0 %), β -caroteno (4,0 %), α -criptoxantina (1,2 %), luteoxantina (1,1 %), C₂₇-apocarotenol (5,8-epóxido) (1,0 %), β -citraurina (0,7 %), α -caroteno (0,9 %), ζ -caroteno (0,5 %), *cis*-neoxantina (0,5 %). Entre estes, luteína foi predominante com 2,3 $\mu\text{g/g}$ seguida por 1,6 $\mu\text{g/g}$ de auroxantina^{40,41,42}. No abacate (*Persea americana* Mill)¹⁰ foi verificado que a luteína foi a principal xantofila (<0,5 $\mu\text{g/g}$). Em abacate *in natura*, embora de cultivar desconhecida, Muller⁶⁶ demonstrou a presença de luteína (2,3 $\mu\text{g/g}$), violaxantina (1,0 $\mu\text{g/g}$), β -caroteno (0,4 $\mu\text{g/g}$), fitoeno (0,3 $\mu\text{g/g}$), β -criptoxantina (0,2 $\mu\text{g/g}$), *cis*- β -caroteno (0,12 $\mu\text{g/g}$), α -caroteno (0,1 $\mu\text{g/g}$), α -criptoxantina (0,08 $\mu\text{g/g}$), e neoxantina (0,07 $\mu\text{g/g}$).

ABACAXI (*Ananas comosus* (L.) Merrill)

Conhecido cientificamente como *Ananas comosus* (L.) Merrill, pertencente a família Bromeliaceae, o abacaxi é uma fruta tropical conhecida mundialmente, e produzida o ano inteiro. Observa-se uma coroa de folhas duras na sua porção superior, de coloração verde intensa denominada brácteas, e, em torno de um eixo central aglomera-se uma estrutura ovóide cuja polpa é comestível. A produção nacional se encontra concentrada nos estados de Minas Gerais, Paraíba, Pará e Bahia sendo, no entanto, mais de 80 % é consumida na

região Sudeste. Na grande maioria das vezes, é comercializado como fruta fresca, porém, as indústrias fabricam principalmente suco, compota e geléia^{82,84,85}.

Em abacaxi *in natura*, 21 carotenóides foram encontrados sendo que os constituintes majoritários foram di-*cis*-violaxantina (27 %), *cis*-violaxantina (25 %), neoxantina (9,6 %), *cis*-luteoxantina (7,2 %), luteoxantina (6,2 %), β -caroteno (6,7 %), auroxantina (3,4 %), luteína (2,5 %), trolixantina (2,1 %), criptoxantina (1,6 %), neocromo (1,5 %), α -criptoxantina (0,9 %), ζ -caroteno (0,9 %) e flavoxantina (0,3 %)⁶³.

Os estudos realizados por Heinonen *et al.*⁴⁶ encontraram no abacaxi processado em lata, baixas concentrações de β -criptoxantina (0,018 $\mu\text{g/g}$), luteína (0,016 $\mu\text{g/g}$) e β -caroteno predominante (0,18 $\mu\text{g/g}$).

ACEROLA (*Malpighia glabra* L.)

A acerola ou cereja-das-antilhas, *Malpighia glabra* L. ou pela principal sinonímia *Malpighia puniceifolia* L., e ainda denominada por *Malpighia emarginata* DC, da família das Malpigiáceas é originária das Antilhas, norte da América do Sul e América Central. Conhecida há mais de cinquenta anos no país, era encontrada em chácaras, sítios e fazendas, mas não como plantios com finalidades comerciais e/ou industriais⁶⁷. O cultivo em escala comercial se iniciou apenas na década de 90 e ganhou posição de destaque em praticamente todos os estados no Brasil, particularmente Bahia (35 % da produção nacional), Rio Grande do Norte (26 %), Pernambuco (17 %) e Pará (16 %), e em pequenas quantidades em Paraná e São Paulo^{4,18,67}.

A acerola é uma fruta carnosa, de superfície lisa ou dividida em três gomos, coloração vermelha intensa quando madura, com polpa macia e cheia de suco. Pode ser

encontrada durante o ano todo na forma *in natura* e pode ser consumida tanto *in natura* ou industrializada na forma de sucos, néctares, geléias, doces, sorvetes, alimentos infantis e cápsulas. Por se constituir em uma das principais fontes naturais de vitamina C, o fruto de acerola também pode ser empregado no enriquecimento do suco de outras frutas com baixos teores desta vitamina^{3,5,17,18}.

Os carotenóides de acerola *in natura* de três estados diferentes (Pernambuco, Ceará e São Paulo) foram determinados por cromatografia em coluna aberta (CCA) por Cavalcante e Rodriguez-Amaya^{19,20}. O pigmento predominante foi β -caroteno, cujo teor foi 25,8 $\mu\text{g/g}$ para frutas pernambucanas e 21,5 $\mu\text{g/g}$ para frutas cearenses, teores cinco a seis vezes maior que em amostras do estado de São Paulo (4,0 $\mu\text{g/g}$). Foram encontrados também β -criptoxantina (3,6 $\mu\text{g/g}$, 2,1 $\mu\text{g/g}$ e 0,5 $\mu\text{g/g}$, para Pernambuco, Ceará e São Paulo, respectivamente) e α -caroteno observado em traços nas frutas dos estados de Ceará e São Paulo.

Eleutério²⁸ observou o efeito do armazenamento sobre os níveis de β -caroteno em suco e geléia de acerolas oriundas de Louveira, estado de São Paulo. Os sucos foram armazenados a -18°C pelo período de 12 meses e a geléia armazenada por 6 meses a 7°C . Após o período de armazenamento, o conteúdo de β -caroteno diminuiu de 2,48 para 1,69 $\mu\text{g/g}$ no suco de acerolas verdes, de 4,34 para 3,03 $\mu\text{g/g}$ no suco de acerolas maduras e de 1,02 para 0,54 $\mu\text{g/g}$ na geléia.

Agostini-Costa *et al.*,² avaliaram, através da CCA, o efeito do congelamento e tempo de estocagem na polpa da acerola proveniente de Fortaleza. A polpa de acerola recém-processada não congelada continha: β -caroteno (7,1 $\mu\text{g/g}$), β -criptoxantina (1,7 $\mu\text{g/g}$) e α -caroteno (0,2 $\mu\text{g/g}$). A estocagem ocorreu por um período de 11 meses e já no

quarto mês de estocagem os resultados indicaram uma perda de 20 % no teor de β -caroteno, enquanto que β -criptoxantina reduziu em 37 % no primeiro mês de estocagem, totalizando uma perda de 62 % ao final de 11 meses.

BANANA (*MusaXparadisiaca* L.)

Os frutos das bananeiras nascem em grandes cachos de cor verde quando não maduros. A polpa de coloração amarelada é variável de acordo com a variedade. As regiões Norte e Nordeste se destacam como as maiores produtoras nacionais de banana. Para o consumo *in natura* são produzidas as Maçã, Ouro, Prata e Nanica. As mais utilizadas para fritar são Terra e Figo. Para assar e fritar à milanesa é a Nanica. As variedades Figo e Nanica geralmente são usadas para preparar compotas enquanto que a variedade Prata para preparar a passa^{84,85}.

Gross⁴² constatou que o teor de xantofilas na forma livre e esterificada é seis vezes maior na casca que na polpa. Na polpa, do conteúdo total de carotenóides de 0,8 $\mu\text{g/g}$, 33 % representavam monoésteres, diésteres de luteína e luteína livre, 31 % α -caroteno e 28 % β -caroteno.

Hart e Scott⁴⁵ relataram que a polpa de banana fresca (cultivar (cv.) não definido) contém α -caroteno (0,50 $\mu\text{g/g}$), β -caroteno (0,39 $\mu\text{g/g}$), luteína (0,33 $\mu\text{g/g}$), além de zeaxantina (0,04 $\mu\text{g/g}$).

Curiosamente, a presença de licopeno foi relatado em *Musa paradisiaca* (Indonésia - Bogor, West Java). Os teores de licopeno, criptoxantina e β -caroteno foram 1,14 $\mu\text{g/g}$, 0,97 $\mu\text{g/g}$ e 0,03 $\mu\text{g/g}$, respectivamente⁸³.

Na polpa liofilizada de banana (cv. não definido) proveniente de Haifa, Israel, foi encontrado um total de 23,3 µg/g de carotenóides em base seca. Com enfoque na determinação de 9-*cis*-β-caroteno (0,3 µg/g), os autores também detectaram 11,1 µg/g de β-zeacaroteno, 5,7 µg/g de α-caroteno, 1,8 µg/g de zeaxantina, 0,9 µg/g de β-criptoxantina, 0,8 µg/g de *cis*-zeaxantina, 0,7 µg/g de α-criptoxantina, 0,5 µg/g de *cis*-violaxantina, 0,5 µg/g de *cis*-β-criptoxantina, 0,4 µg/g de luteína, 0,4 µg/g de violaxantina, 0,3 µg/g de neoxantina, todos em base seca, mas *trans*-β-caroteno não foi detectado⁹.

BOCAIUVA (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.)

Da família Palmae (família Arecaceae), esta fruta é também conhecida por cocobabão, macaíba, macaúba. Ocorre no estado do Mato Grosso do Sul, e, há grandes plantações em Minas Gerais⁶⁵. Apresenta uma polpa de cor amarelo-alaranjada podendo ser consumida na forma *in natura*, ou na forma de geléias e doces. A amêndoa, pode ser consumida *in natura* e na forma de paçocas²⁶.

Hiane e Penteado⁴⁷ detectaram através de CCA, cinco carotenóides em bocaiúva *in natura* madura. O teor total de carotenóides foi 66,55 µg/g sendo 89,27 % do total representado por β-caroteno (59,41 µg/g). O segundo principal foi *cis*-licopeno (4,43 µg/g) seguido por β-criptoxantina (1,68 µg/g), γ-caroteno (0,86 µg/g) e *cis*-flavoxantina (0,17 µg/g).

Esses mesmos autores analisaram a farinha obtida da polpa de bocaiúva e identificaram seis carotenóides. Além de β-caroteno (22,32 µg/g) e γ-caroteno (0,51 µg/g), detectaram-se 5,6-monoepoxi-β-caroteno (1,30 µg/g), mutacromo (1,73 µg/g), 5,6-5',8'-

diepoxi-criptoxantina (1,25 µg/g) e auroxantina (0,36 µg/g). O processamento provocou a formação de isômeros de β-caroteno e de γ-caroteno que totalizaram juntos 4,92 µg/g⁴⁷.

BURITI ou MURITI (*Mauritia flexuosa* L. f.)

Mauritia flexuosa L. é uma fruta de palmeira originária da região Amazônica composta de casca, polpa, uma camada de celulose e semente. A superfície é castanha-avermelhada revestida por escamas. Quando o fruto está maduro a polpa adquire coloração amarela-avermelhada. Da polpa, além da extração do óleo de buriti, também pode-se preparar sorvetes, cremes, geléias, licores e sucos de sabores exóticos com alta concentração de vitamina C⁸⁵.

Godoy e Rodriguez-Amaya³⁶ investigaram frutos provenientes de Teresina, estado do Piauí, por CCA. Nove carotenóides foram identificados como β-caroteno (359,8 µg/g), α-caroteno (80,1 µg/g), γ-caroteno (36,8 µg/g), zeaxantina (20,1 µg/g), β-zeacaroteno (5,4 µg/g), ζ-caroteno (4,6 µg/g), 13-*cis*-α-caroteno (1,5 µg/g), 13-*cis*-β-caroteno (3,8 µg/g) e 9-*cis*-β-caroteno (0,7 µg/g). O conteúdo total de carotenóides perfaz 512,8 µg/g. Entre as frutas já estudadas, o buriti, apresenta portanto, o maior teor de β-caroteno.

França *et al.*³², através de extração supercrítica, obtiveram um óleo a partir da casca e da polpa de buriti, que teve um teor total de carotenóides igual a 10.430 µg/g.

CAJÁ (*Spondias lutea* L.)

O fruto do cajazeiro (*Spondias lutea* L.) pertencente à família Anacardiaceae é típico das regiões Norte e Nordeste do Brasil. A casca é fina e lisa, de cor amarelo-

alaranjada, com polpa fibrosa contendo um “caroço” central grande que pode ou não apresentar formas pontiagudas. Pode ser consumido na forma *in natura* com ou sem casca, ou processado como polpa, suco, sorvetes, picolés, aguardente e conservas^{85,88}.

Kimura e Rodriguez-Amaya^{50,80} em amostras provenientes de Recife (Pernambuco) obtiveram, através de CCA, na polpa com casca $16,5 \pm 2,3$ µg/g de β-criptoxantina, $4,3 \pm 0,6$ µg/g de zeinoxantina, $1,8 \pm 0,7$ µg/g de criptoflavina, $1,6 \pm 0,2$ µg/g de β-caroteno, $0,9 \pm 0,4$ µg/g de α-caroteno, $0,4 \pm 0,3$ µg/g de luteína e $0,3 \pm 0,1$ µg/g de ζ-caroteno. Na polpa ζ-caroteno não foi encontrado, e as concentrações correspondentes para os demais carotenóides foram 8,3, 1,7, 0,6, 2,6, 2,1 e 2,0 µg/g, respectivamente. Os resultados indicaram que o α-caroteno, β-caroteno e luteína estavam mais concentrados na polpa e a β-criptoxantina na casca.

Determinando apenas os carotenóides pró-vitâmicos A, Godoy e Rodriguez-Amaya³⁵ encontraram, em amostras vindas do estado do Maranhão, α-caroteno (0,3 µg/g), β-caroteno (1,4 µg/g) e β-criptoxantina (16,9 µg/g), todos em configuração *trans*, além de traços de *neocriptoxantina*.

Embora as frutas tenham sido de diferente origem geográfica, β-criptoxantina apresentou-se como o principal carotenóide nos dois estudos e o maior contribuinte à atividade pró-vitâmica A.

Hamano e Mercadante⁴³ determinaram a composição de carotenóides por CLAE em polpa congelada e suco pasteurizado de cajá. Em três marcas de polpa congeladas foram encontrados β-criptoxantina (5,97 a 8,19 µg/g), luteína (5,12 a 6,16 µg/g), zeinoxantina (3,79 a 3,85 µg/g), β-caroteno (1,64 a 2,12 µg/g), α-caroteno (0,79 a 1,00 µg/g), *cis*-β-criptoxantina (0,37 a 0,66 µg/g), 9-*cis*+13-*cis*-β-caroteno (0,29 a 0,50 µg/g), fitoeno (0,2 a

0,49 µg/g). Uma marca de suco pasteurizado apresentou 5,54 µg/g de β-criptoxantina, 3,52 µg/g de luteína, 3,52 µg/g de zeinoxantina, 1,37 µg/g de β-caroteno, 1,14 µg/g de α-caroteno, 0,82 µg/g de *cis*-β-criptoxantina, 0,38 µg/g de 9-*cis*+13-*cis*-β-caroteno e 0,40 µg/g de fitoeno.

CAJU (*Anacardium occidentale* L.)

O caju é um pseudofruto composto pela castanha e pedúnculo que pode ser amarelo, laranja e avermelhado quando totalmente maduro. A forma pode ser esférica e cilíndrica. Embora a produção industrial explore a castanha, outros produtos vêm sendo comercializados, como o suco do pseudo-fruto cujo conteúdo de vitamina C é maior que o suco de laranja^{26,82,85}.

A composição de carotenóides do caju amarelo e vermelho oriundos dos estados de Ceará, Pará e São Paulo, foi estudada por Cecchi e Rodriguez-Amaya²¹. Por CCA, os carotenóides identificados foram α-caroteno (0,3 vs 0,1 µg/g), β-caroteno (1,7 vs 0,6 µg/g), *cis*-β-caroteno (0,5 vs 0,3 µg/g), criptoxantina (1,1 vs 0,5 µg/g) e traços de ζ-caroteno e criptocromo para as frutas do tipo vermelho e amarelo. O fruto vermelho apresentou proporção de carotenóides duas vezes maior que o amarelo, mas o β-caroteno foi o principal pigmento em ambos.

Recentemente, três variedades de caju maduro (amarelo, vermelho e vermelho redondo) foram estudadas por Assunção e Mercadante^{6,7} por CLAE. Em todas as variedades estudadas para as amostras do estado do Piauí, os carotenóides encontrados foram violaxantina, luteína, zeinoxantina, *trans* e *cis*-β-criptoxantina, α-caroteno, β-caroteno, *trans* e 9+13 *cis*-β-caroteno. Zeaxantina foi detectada nos caju amarelo e

vermelho redondo. Na variedade vermelha, β -criptoxantina foi o principal carotenóide (0,530 a 0,644 $\mu\text{g/g}$) e apresentou maior conteúdo total de carotenóides (2,04 $\mu\text{g/g}$), enquanto que a amarela e vermelha redonda tiveram carotenóides totais de 1,74 $\mu\text{g/g}$ e 1,19 $\mu\text{g/g}$, respectivamente.

As variedades amarela e vermelha de caju do estado de São Paulo não apresentaram violaxantina e zeaxantina, enquanto que β -caroteno (0,381 vs 0,668 $\mu\text{g/g}$) e α -caroteno (0,269 vs 0,519 $\mu\text{g/g}$) foram os carotenóides em maiores quantidades⁶.

Estes mesmos autores⁷ investigaram a composição de carotenóides em produtos industrializados de caju como suco concentrado, polpa congelada, suco pronto para beber, néctar e suco concentrado já adoçado. Dentre todos os produtos citados, a polpa congelada apresentou o maior teor de carotenóides totais (1,978 $\mu\text{g/g}$), quase o dobro do suco (1,011 $\mu\text{g/g}$). β -Caroteno foi quantificado juntamente com fitoflueno e destacou-se como majoritário na polpa congelada ($0,778 \pm 0,278$ $\mu\text{g/g}$), suco concentrado ($0,471 \pm 0,061$ $\mu\text{g/g}$), néctar ($0,032 \pm 0,012$ $\mu\text{g/g}$), suco pronto para beber ($0,055 \pm 0,032$ $\mu\text{g/g}$) e suco concentrado já adoçado ($0,104 \pm 0,023$ $\mu\text{g/g}$). Nestes produtos foi encontrada adicionalmente auroxantina (níveis inferiores a 0,01 $\mu\text{g/g}$) e ζ -caroteno presente somente na polpa congelada ($0,026 \pm 0,01$ $\mu\text{g/g}$) e suco concentrado ($0,011 \pm 0,037$ $\mu\text{g/g}$). Em todos os produtos 5,8, epoxi-luteína (0,001-0,020 $\mu\text{g/g}$) foi detectada, ao passo que, os epóxidos de criptoxantina (0,018-0,036 $\mu\text{g/g}$) surgiram apenas na polpa, suco concentrado e suco pronto para beber.

O suco processado de caju pasteurizado estudado por Cecchi e Rodriguez-Amaya²¹, teve β -caroteno (0,6-0,8 $\mu\text{g/g}$) como majoritário, seguido por criptoxantina (0,5 $\mu\text{g/g}$) e *cis*-

β -caroteno (0,1 $\mu\text{g/g}$). Auroxantina, criptocromo e aurocromo juntos totalizaram 0,4-0,5 $\mu\text{g/g}$, os quais não foram detectados na fruta *in natura*.

GOIABA (*Psidium guajava* L.)

A goiaba (*Psidium guajava* L.) da família Myrtaceae, é uma fruta originária do México, América Central, e Norte da América do Sul, porém, adaptou-se muito bem em outros países de clima tropical como Austrália, Índia, sul dos EUA e alguns países africanos. A partir da década de 70, o Brasil iniciou a produção de goiabas em escala comercial e atualmente destacam-se as regiões de Ribeirão Preto e Monte Alegre no estado São Paulo, estado de Minas Gerais e superplantações irrigadas do Vale do São Francisco, na Bahia e Pernambuco^{56,85}.

A fruta é saborosa e perfumada, cuja polpa colore-se do branco ao amarelo, rosa ou vermelho. Sua utilização não se prende só à fabricação da goiabada (doce mais popular no Brasil) como também é matéria-prima para a produção de sucos, compotas, geleias, goiabadas, sorvetes e outros produtos sofisticados como “guatchup” de grandes possibilidades de exportação. Além de ser uma excelente fonte de vitamina C, também fornece vitaminas B₁, K, pró-vitaminas A e fibras^{3,56,87}.

No Brasil a goiaba cultivar IAC-4 de polpa vermelha, oriunda da cidade de Campinas, estado de São Paulo e outras de cultivar desconhecido de Pernambuco e Ceará, foram estudadas por Padula e Rodriguez-Amaya⁷¹. Os carotenóides de goiaba IAC-4 foram identificados como β -caroteno, ζ -caroteno, γ -caroteno, zeinoxantina, licopeno, 5,6,5',6'-diepoxi- β -caroteno e 5,8-epoxi-3,3'-trihidroxi- β -caroteno. O licopeno foi o principal pigmento com teores de 56,6 $\mu\text{g/g}$ e 53,4 $\mu\text{g/g}$, na fruta com e sem pele, respectivamente.

Quando comparadas às goiabas do nordeste, os níveis de licopeno foram ligeiramente superiores enquanto que o teor de β -caroteno (5,5 $\mu\text{g/g}$ para São Paulo e 11,9 $\mu\text{g/g}$ para a de Pernambuco) foi maior⁷¹.

Para essa mesma cultivar, Mercadante, Steck e Pfander⁶¹ isolaram 16 carotenóides sendo que a elucidação das estruturas utilizaram diversas técnicas (^1H NMR, ^{13}C NMR, EM e Dicroísmo circular). Os carotenóides identificados foram fitoflueno, (*todo*-E)- β -caroteno, (9Z)- β -caroteno, (13Z)- β -caroteno, (15Z)- β -caroteno, (*todo*-E)- γ -caroteno, (*todo*-E)-licopeno, (9Z)-licopeno, (13Z)-licopeno, (15Z)-licopeno, (*todo*-E,3R)- β -criptoxantina, (*todo*-E,3S,5R,8S)- β -criptoflavina, (*todo*-E,3R)-rubixantina, (*todo*-E,3R,3'R,6R)-luteína, (*todo*-E,3S,5R,6R,3'S,5'R,8'S)-neocromo e (*todo*-E,3S,5R,6R,3'S,5'R,8'R)-neocromo.

Foram verificadas também as alterações nos carotenóides de suco de goiaba cv. IAC-4 na pasteurização (87°C, 5 min) e estocagem por 10 meses à temperatura ambiente. No suco recém processado o teor de licopeno diminuiu (31,0 para 26,8 $\mu\text{g/g}$) enquanto que o nível de β -caroteno permaneceu estável (2,7 $\mu\text{g/g}$). Além dos carotenóides anteriormente citados presentes na fruta *in natura*, também foram detectados *cis*-licopeno, 5,8-epoxi-3,3',4-trihidroxi- β -caroteno e 5,6,5',6'-diepoxi- β -caroteno⁷².

Embora o tratamento térmico tenha sido mais severo que o comumente aplicado, o suco de goiaba cv. IAC-4 pasteurizado em planta piloto e estocado por 10 meses, ainda continha níveis consideráveis de licopeno (26,8 para 20,2 $\mu\text{g/g}$) e de β -caroteno (2,7 para 2,5 $\mu\text{g/g}$) quando comparado com duas diferentes marcas de sucos comerciais (Marca A = 9,3 e 2,6 $\mu\text{g/g}$ e Marca B = 2,5 e 0,4 $\mu\text{g/g}$ para licopeno e β -caroteno, respectivamente)^{70,72}. O curioso foi a presença de cantaxantina detectada nos sucos

comerciais, evidenciando o uso de um pigmento sintético para a manutenção de cor, fato observado também em suco de maracujá²².

Seguiram-se outras pesquisas e Wilberg e Rodriguez-Amaya^{89,90} determinaram por CLAE licopeno e β -caroteno em goiaba de cultivar desconhecida e alguns produtos processados de goiaba, todos provenientes do estado do Rio de Janeiro. Para licopeno, foram encontrados níveis de 44,8-60,6 $\mu\text{g/g}$ em goiaba madura *in natura*, 27,8-29,9 $\mu\text{g/g}$ em doce em calda, 26,8-27,4 $\mu\text{g/g}$ em doce em massa (goiabada), 11,1-40,6 $\mu\text{g/g}$ em suco e 11,5-23,2 $\mu\text{g/g}$ em geléia. Para β -caroteno, foram obtidos níveis de 3,03-5,93 $\mu\text{g/g}$ em goiaba madura *in natura*, 3,11-4,50 $\mu\text{g/g}$ em doce em massa (goiabada), 1,80-4,88 $\mu\text{g/g}$ em, 1,70-1,94 $\mu\text{g/g}$ em doce em calda, e 0,47-1,67 $\mu\text{g/g}$ em geléia.

MAMÃO (*Carica papaya* L.)

No Brasil, este fruto (*Carica papaya* L.) é muito popular e disponível o ano todo. Seu tamanho é variável, sua casca é lisa e firme, e, sua polpa espessa possui coloração vermelho-alaranjada com numerosas sementes pretas. O mamão é consumido na forma *in natura* ou na forma de doces. O Brasil é o principal produtor mundial e vem seguido por Nigéria, México e Malásia. Na produção nacional destacam-se os estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e São Paulo^{84,85}.

As cultivares de mamão Common, Solo, Formosa e Tailândia apresentaram β -criptoxantina ($8,1 \pm 1,7$ a $9,7 \pm 1,8$ $\mu\text{g/g}$), β -caroteno ($1,2 \pm 0,9$ a $3,7 \pm 2,7$ $\mu\text{g/g}$), ζ -caroteno ($0,8 \pm 0,5$ a $2,0 \pm 0,4$ $\mu\text{g/g}$), β -zeacaroteno ($\leq 0,1$ $\mu\text{g/g}$), γ -caroteno ($\leq 0,2$ $\mu\text{g/g}$) e 5,6-monoepoxi- β -criptoxantina ($2,0 \pm 1,1$ a $2,8 \pm 1,4$ $\mu\text{g/g}$). Anteraxantina esteve presente apenas nos cultivares Formosa ($2,6 \pm 0,8$ $\mu\text{g/g}$) e Tailândia ($4,0 \pm 2,9$ $\mu\text{g/g}$). O mamão cv.

Common de São Paulo teve β -criptoxantina ($8,1 \pm 1,7 \mu\text{g/g}$) como dominante, licopeno e anteraxantina estiveram ausentes, e a criptoflavina ($0,8 \pm 0,3 \mu\text{g/g}$) foi detectada unicamente nesta cultivar. Licopeno predominou nas cultivares Solo, Formosa e Tailândia em frutas provenientes da Bahia com teores de $21,0 \pm 15,8 \mu\text{g/g}$, $22,8 \pm 51 \mu\text{g/g}$ e $40,0 \pm 6,3 \mu\text{g/g}$, respectivamente^{50,51}.

Este estudo também demonstrou a influência geográfica no cultivar Formosa, sendo que os níveis de licopeno ($26,5 \pm 2,6 \mu\text{g/g}$ vs $19,1 \pm 4,1 \mu\text{g/g}$), β -criptoxantina ($8,6 \pm 2,2 \mu\text{g/g}$ vs $5,3 \pm 1,1 \mu\text{g/g}$) e β -caroteno ($6,1 \pm 1,4 \mu\text{g/g}$ vs $1,4 \pm 0,5 \mu\text{g/g}$) foram maiores nas frutas produzidas na Bahia em comparação àquelas provenientes de São Paulo⁵¹.

O mamão também é comumente consumido em Israel e a composição em carotenóides consistiu de β -criptoxantina ($24,3 \mu\text{g/g}$), α -criptoxantina ($16,5 \mu\text{g/g}$), β -caroteno ($10,6 \mu\text{g/g}$), *cis*- β -criptoxantina ($8,3 \mu\text{g/g}$), β -zeacaroteno ($7,5 \mu\text{g/g}$), luteína ($7,1 \mu\text{g/g}$), 9-*cis*- β -caroteno ($7,0 \mu\text{g/g}$), α -caroteno ($5,6 \mu\text{g/g}$), zeaxantina ($4,6 \mu\text{g/g}$), violaxantina ($3,9 \mu\text{g/g}$), *cis*-zeaxantina ($2,9 \mu\text{g/g}$), *cis*-violaxantina ($2,2 \mu\text{g/g}$), neoxantina ($2,0 \mu\text{g/g}$), perfazendo um total de $103 \mu\text{g/g}$. Neste caso, 9-*cis*- β -caroteno surgiu em elevada concentração⁹.

Em estudos^{89,90} no mamão proveniente do Rio de Janeiro, foram obtidos teores de $17,1$ - $28,6 \mu\text{g/g}$, $5,4$ - $7,8 \mu\text{g/g}$ e $0,96$ - $1,76 \mu\text{g/g}$ para licopeno, β -criptoxantina e β -caroteno em polpa madura. Os valores correspondentes na fruta imatura foram $0,2$ - $13,2 \mu\text{g/g}$, $0,6$ - $2,2 \mu\text{g/g}$ e $0,16$ - $1,48 \mu\text{g/g}$.

Neste mesmo trabalho, alguns produtos de mamão como a fruta cristalizada e bala foram analisados. Para a fruta cristalizada, encontraram-se $78,4$ - $80,5 \mu\text{g/g}$, $16,6$ - $24,4 \mu\text{g/g}$

e 6,76-8,04 $\mu\text{g/g}$ para licopeno, β -criptoxantina e β -caroteno, respectivamente. A bala apresentou apenas β -criptoxantina (1,2 $\mu\text{g/g}$) e β -caroteno (0,36 $\mu\text{g/g}$)⁹⁰.

MANGA (*Mangifera indica* L.)

Espécie originária da Ásia, a manga (*Mangifera indica* L.) é atualmente produzida nas regiões tropicais e subtropicais como Índia, Paquistão, México, Brasil e China. No Brasil os principais estados produtores são Minas Gerais, São Paulo, Paraíba, Piauí, Ceará, Pernambuco e Bahia^{84,85}.

Existem muitas variedades, porém as mais cultivadas são de origem norte-americana, como Haden, Tommy Atkins, Keitt, van Dyke, Parvin e Winter sendo as preferidas para exportação, Haden e Tommy Atkins⁸⁵.

Estudos brasileiros sobre o perfil qualitativo e quantitativo de carotenóides em mangas foram realizados por Godoy e Rodriguez-Amaya^{34,35}. Os carotenóides detectados em cinco diferentes cultivares (Haden, Tommy Atkins, Bourbon, Extreme, e Golden), oriundos de plantações comerciais do estado de São Paulo, foram β -caroteno, ζ -caroteno, mutacromo, α -criptoxantina, violaxantina, luteoxantina, mutatoxantina e auroxantina, mas diferiram quanto às quantidades. O pigmento principal foi o β -caroteno ($6,61 \pm 1,07$ a $25,45 \pm 1,50$ $\mu\text{g/g}$) seguido por luteoxantina ($1,44 \pm 0,46$ a $4,36 \pm 0,58$ $\mu\text{g/g}$) e violaxantina ($0,81 \pm 0,22$ a $3,00 \pm 0,19$ $\mu\text{g/g}$)³⁴.

Pronunciadas alterações quantitativas foram observadas, por CLAE, durante o estágio de maturação das cultivares Keitt e Tommy Atkins⁶⁰. Para a cultivar Keitt o todo-*trans*-violaxantina, todo-*trans*- β -caroteno, 9-*cis*-violaxantina, isômeros de luteoxantina, todo-*trans*-zeaxantina, *cis*-neoxantina aumentaram, respectivamente, de $5,4 \pm 1,7$ $\mu\text{g/g}$, 1,7

$\pm 0,3 \mu\text{g/g}$, $1,7 \pm 0,4 \mu\text{g/g}$ e $1,0 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$ para $18,0 \pm 4,0 \mu\text{g/g}$, $6,7 \pm 1,6 \mu\text{g/g}$, $7,2 \pm 1,4 \mu\text{g/g}$, $2,7 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$, do estágio imaturo a maduro. Para a cultivar Tommy Atkins, o *todo-trans*-violaxantina, 9-*cis*- violaxantina, *todo-trans*-neoxantina, *todo-trans*- β -caroteno e os isômeros de luteoxantina, aumentaram de $6,9 \pm 3,0 \mu\text{g/g}$, $3,3 \pm 1,3 \mu\text{g/g}$, $2,6 \pm 1,8 \mu\text{g/g}$, $2,0 \pm 0,8 \mu\text{g/g}$, e $1,3 \pm 0,7 \mu\text{g/g}$ para $22,4 \pm 9,1 \mu\text{g/g}$, $14,5 \pm 4,7 \mu\text{g/g}$, $4,9 \pm 4,5 \mu\text{g/g}$, $5,8 \pm 2,5 \mu\text{g/g}$ e $2,0 \pm 0,6 \mu\text{g/g}$, do estágio imaturo a maduro, respectivamente. Os níveis de *cis*- e *trans*- β -criptoxantina e *todo-trans*-zeaxantina juntos perfizeram $0,8 \mu\text{g/g}$ ao passo que *cis*-neoxantina surgiu com $1,0 \pm 1,0 \mu\text{g/g}$, no estágio maduro. Para ambas as variedades, no estágio maduro, 13-*cis*-violaxantina desapareceu. Para os três distintos estádios de maturação o teor de carotenóides totais variou de $12,3 \pm 3,2 \mu\text{g/g}$ e $23,6 \pm 1,8 \mu\text{g/g}$ para $38,0 \pm 7,7 \mu\text{g/g}$ e de $17,0 \pm 7,8 \mu\text{g/g}$ e $45,1 \pm 20,7 \mu\text{g/g}$ para $51,2 \pm 16,8 \mu\text{g/g}$ para os estádios *de vez*, parcialmente maduro e maduro nas cultivares Keitt e Tommy Atkins, respectivamente. No estágio maduro, ambas as variedades apresentaram como contribuinte principal *todo-trans*-violaxantina o que está de acordo com a cultivar Keitt proveniente do estado da Bahia identificada por espectrometria de massa (EM)^{58,60}. A violaxantina é altamente instável e facilmente perdida. Talvez seja por causa da perda de violaxantina, que vários trabalhos especialmente os mais antigos, apontaram β -caroteno como o principal carotenóide na manga.

Wilberg e Rodriguez-Amaya^{89,90} relataram para manga de cultivar não definida, proveniente do Rio de Janeiro, o β -caroteno ($8,2$ a $28,7 \mu\text{g/g}$) como o principal contribuinte pró-vitamínico A.

Segundo Godoy e Rodriguez-Amaya³⁵ o β -caroteno é também o principal contribuinte pró-vitamínico A para as cultivares Extreme e Golden que continham $25,45 \pm$

1,5 µg/g, $0,66 \pm 0,22$ µg/g e $18,02 \pm 1,26$ µg/g, $0,75 \pm 0,30$ µg/g para β-caroteno e *trans*-α-criptoxantina, respectivamente.

Burns, Fraser e Bramley¹⁶ em manga da Costa Rica identificaram fitoeno e β-caroteno, porém, somente este último foi quantificado, $49,8 \pm 9,8$ µg/g.

Em mangas (cv. não definida) obtidas na área de Haifa (Israel), os autores⁹ detectaram resultados similares para o β-caroteno (49,3 µg/g), o qual foi o pigmento predominante. O segundo principal foi β-criptoxantina (26,4 µg/g), seguido por zeaxantina (22,5 µg/g), α-caroteno (6,7 µg/g), luteína (25,8 µg/g) e neoxantina (5,9 µg/g).

Mangas indonesianas provenientes do distrito de Leste de Java de diferentes variedades foram estudadas e neste caso foram somente reportados alguns pró-vitâmicos A: todo-*trans*-α-caroteno (55-67 µg/g) e todo-*trans*-β-caroteno (190-3267 µg/g)⁴⁹.

Mercadante e Rodriguez-Amaya⁶⁰ investigaram três diferentes marcas de suco de manga processado e notaram que o processamento influenciou grandemente a composição de carotenóides. Diferentemente da manga *in natura* (cvs. Keitt e Tommy Atkins) na qual a violaxantina predominava, o β-caroteno foi o carotenóide majoritário, enquanto que auroxantina, ausente na fruta, esteve presente em todos os sucos analisados.

Mangas de cultivar Tommy Atkins (Mato Grosso) e Golden (São Paulo) após processamento para forma de fatias e purê, respectivamente, tiveram modificações em relação à composição de carotenóides quando comparadas com a fruta *in natura*. A manga em fatias sofreu pasteurização (100 °C, 20 min.) e o purê passou por um tratamento térmico mantido a 80 °C durante 10 min³³. Para a manga em fatias (cv. Tommy Atkins) β-caroteno, luteoxantina e auroxantina, aumentaram de $13,39 \pm 0,02$ µg/g, $1,74 \pm 0,40$ µg/g e $0,28 \pm 0,07$ µg/g para $14,55 \pm 0,38$ µg/g, $2,45 \pm 0,12$ µg/g e $0,55 \pm 0,16$ µg/g, respectivamente.

Violaxantina e α -criptoxantina diminuíram de $2,68 \pm 0,52 \mu\text{g/g}$ e $0,39 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$ para $1,58 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$ e $0,34 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$, respectivamente. Para o purê de manga (cv. Golden) β -caroteno, luteoxantina, violaxantina, α -criptoxantina, mutatoxantina diminuíram de $18,05 \pm 0,07 \mu\text{g/g}$, $1,83 \pm 0,41 \mu\text{g/g}$, $2,72 \pm 0,13 \mu\text{g/g}$, $0,64 \pm 0,25 \mu\text{g/g}$ e $0,51 \pm 0,22 \mu\text{g/g}$ para $15,74 \pm 0,46 \mu\text{g/g}$, $1,48 \pm 0,05 \mu\text{g/g}$, $1,83 \pm 0,21 \mu\text{g/g}$, $0,41 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$ e $0,31 \pm 0,55 \mu\text{g/g}$. Por outro lado, o ζ -caroteno aumentou de $0,07 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$ para $0,12 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$. Mutatocromo, presente na manga *in natura* (cv. Golden) com $0,08 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$ desapareceu, enquanto que, auroxantina anteriormente ausente foi detectada em purê de manga ($2,66 \pm 0,49 \mu\text{g/g}$)³³.

Estes mesmos autores³³ avaliaram a influência da estocagem (24 meses a temperatura ambiente) sobre a composição de carotenóides da manga em fatias e em purê. Em ambos os produtos, β -caroteno reduziu drasticamente (2,30 a $2,34 \mu\text{g/g}$), enquanto que auroxantina manteve-se em níveis elevados (1,50 a $1,71 \mu\text{g/g}$) e os demais pigmentos diminuíram ligeiramente.

Conserva, suco e fatias de manga em calda, produzidos no Rio de Janeiro, apresentaram $1,2 \mu\text{g/g}$, $17,8 \mu\text{g/g}$ e $5,2 - 5,4 \mu\text{g/g}$ de β -caroteno, respectivamente^{89,90}.

Pott *et al.*⁷⁴ avaliou o efeito do processo de secagem (conduzido com presença e sob ausência de luz) em mangas fatiadas (cvs. Kent e Tommy Atkins, oriundas da Alemanha; cvs. Namdok Mai e Kaew, oriundas da Tailândia). Observou-se perda de β -caroteno e crescente aumento de formação dos seus *cis*-isômeros: 13-*cis*- β -caroteno e 9-*cis*- β -caroteno.

Para as cultivares Kent e Tommy Atkins levadas a secagem sob ausência de luz (75 °C, 3-3,5 h), β -caroteno diminuiu de $45,80 \mu\text{g/g}$ e $36,50 \mu\text{g/g}$ para $42,70 \mu\text{g/g}$ e $25,10 \mu\text{g/g}$.

respectivamente. No entanto, 13-*cis*- β -caroteno manteve-se relativamente estável, 11,20 $\mu\text{g/g}$ e 13,90 $\mu\text{g/g}$ para a cultivar Kent e 9,40 $\mu\text{g/g}$ para 9,30 $\mu\text{g/g}$ para a cultivar Tommy Atkins, respectivamente. O 9-*cis*- β -caroteno para a cultivar Kent aumentou de traços para 1,80 $\mu\text{g/g}$. Para as cultivares Namdok Mai e Kaew seco sob luz solar (62 °C, 7-8 h), β -caroteno reduziu de 36,50 $\mu\text{g/g}$ e 116,80 $\mu\text{g/g}$ para 24,00 $\mu\text{g/g}$ e 68,20 $\mu\text{g/g}$, respectivamente, ao passo que 9-*cis*- β -caroteno aumentou de traços e 10,10 $\mu\text{g/g}$ para 8,10 $\mu\text{g/g}$ e 20,50 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. Nesta condição de processamento o 13-*cis*- β -caroteno diminui de 9,90 $\mu\text{g/g}$ para 7,30 $\mu\text{g/g}$ para a cultivar Namdok Mai, mas aumentou de 12,20 $\mu\text{g/g}$ para 14,30 $\mu\text{g/g}$ para a cultivar Kaew⁷⁴.

MARACUJÁ (*Passiflora* L.)

O maracujá pertencente à família Passifloraceae, apresenta sazonalidade. Pode ser espécie de coloração amarelo-intenso com polpa alaranjada (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) ou púrpura (*P. edulis*). O maracujá-amarelo é o mais cultivado e o Brasil é atualmente o maior produtor mundial. O estado de São Paulo participa com mais de 50 % da produção anual de maracujá, disponibilizando para o mercado produtos como polpa congelada, sucos, suco integral, ao natural ou congelado^{23,82,85}.

Pruth e Lal⁷⁵ estudaram os principais pigmentos de *P. edulis* identificando uma mistura complexa de pigmentos: xantofilas livres (10,3-21,5 %), xantofilas esterificadas (11,1-34,6 %) e carotenos não saponificáveis (45,7-76,3 %). Os mesmos carotenóides foram mais tarde confirmados por Leuenberger e Thommen⁵³ citados por Gross⁴². Em todas as partes da fruta, foram encontrados fitoflueno, α -caroteno, β -caroteno, e ζ -caroteno e

adicionalmente, β -apo-12'-carotenal e β -apo-8'-carotenal, criptoxantina, auroxantina e mutatoxantina.

Através de espectrometria de massa (EM) e ressonância magnética nuclear (RMN), foram identificados e confirmados em maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) totalmente maduro, 13 carotenóides: fitoeno, fitoflueno, ζ -caroteno (principal carotenóide), neurosporeno, α -caroteno, β -caroteno, licopeno, prolicopeno, monoepóxi- β -caroteno, β -criptoxantina, β -citraurina, anteraxantina, violaxantina e neoxantina⁵⁷. Os carotenóides principais foram ζ -caroteno ($3,05 \pm 0,08$ a $12,86 \pm 0,46$ $\mu\text{g/g}$) e β -caroteno ($2,39 \pm 0,03$ a $13,35 \pm 0,31$ $\mu\text{g/g}$) na fruta *in natura*⁵⁹.

No suco de maracujá de duas marcas diferentes, foram detectadas por CCA, ζ -caroteno (3,6 e 6,3 $\mu\text{g/g}$), neurosporeno (1,1 e 2,2 $\mu\text{g/g}$), β -caroteno (1,1 e 2,3 $\mu\text{g/g}$) e traços de α -caroteno, γ -caroteno, licopeno, criptocromo, com ausência de aurocromo e auroxantina²².

MAROLO (*Annona crassiflora* Mart.)

O marolo (*Annona crassiflora* Mart.) é fruta típica do cerrado brasileiro, pertencente à família das Anonáceas. Popularmente se conhecem três variedades como marolo amarelo, vermelho e branco. Possui uma polpa altamente aromática e é comumente consumida na forma *in natura*^{26,31}.

Agostini *et al.*¹ estudaram a composição de carotenóides na polpa do marolo de variedade amarela originária de Alfenas, sul do estado de Minas Gerais, e em produtos preparados de modo caseiro como geléia e o licor (processado com e sem proteção da luz).

A polpa *in natura* apresentou nove carotenóides com um conteúdo total de 9,0 µg/g. Os carotenóides detectados foram β-caroteno (7,0 µg/g), luteína (0,7 µg/g), α-caroteno (0,6 µg/g), mutatoxantina (0,2 µg/g), violaxantina (0,14 µg/g), β-criptoxantina (0,11 µg/g), ζ-caroteno (0,07 µg/g), β-zeacaroteno (0,06 µg/g) e ε-caroteno (0,07 µg/g)¹.

Na geléia, violaxantina esteve ausente enquanto que β-caroteno ($1,67 \pm 0,09$ para $1,18 \pm 0,06$ µg/g), luteína ($0,28 \pm 0,03$ para $0,22 \pm 0,01$ µg/g), α-caroteno ($0,20 \pm 0,02$ para $0,22 \pm 0,02$ µg/g), mutatoxantina ($0,10 \pm 0,01$ para $0,09 \pm 0,01$ µg/g), β-criptoxantina ($0,05 \pm 0,01$ para $0,08 \pm 0,0$ µg/g), ζ-caroteno ($0,04 \pm 0,0$ para $0,03 \pm 0,01$ µg/g), β-zeacaroteno ($0,03 \pm 0,01$ para $0,04 \pm 0,01$ µg/g) e ε-caroteno ($0,02 \pm 0,0$ para $0,03 \pm 0,0$ µg/g), mostraram alterações durante estocagem por 90 dias a 10 °C¹.

O licor recém processado sem e com proteção da luz, apresentou β-caroteno ($7,0 \pm 0,8$ e $14,0 \pm 0,3$ µg/g), luteína ($0,7 \pm 0,4$ e $1,3 \pm 0,3$ µg/g), α-caroteno ($0,5 \pm 0,1$ e $1,2 \pm 0,2$ µg/g), mutatoxantina ($0,2 \pm 0,0$ e $0,9 \pm 0,2$ µg/g), respectivamente. A estocagem também influenciou fortemente no teor de β-caroteno e nos demais carotenóides, pois, houve um decréscimo do conteúdo total de carotenóides no licor processado na presença de luz ($7,0 \pm 0,8$ µg/g para $2,21 \pm 0,05$ µg/g) e no licor processado com proteção da luz ($14,0 \pm 3,0$ µg/g para $4,0 \pm 1,0$ µg/g). Neste mesmo trabalho¹ os autores observaram na polpa *in natura* (0,05 a 0,12 µg/g e 0,1 a 0,4 µg/g), geléia (0,06 a 0,07 µg/g e 0,07 a 0,14 µg/g) e licor (0,25 µg/g e 0,16 a 0,23 µg/g), os isômeros do β-caroteno (9-mono-*cis* e 13- mono-*cis*, respectivamente).

MELANCIA (*Citrullus vulgaris* Schrad. ex Eckl. & Zeyh.)

A melancia, é fruta da família Curcubitaceae, de grande tamanho, arredondado ou alongado, de casca lisa verde ou rajada por manchas amareladas. A cor da polpa, que contém grande proporção de água, varia de cor branco-rósea, amarelada, avermelhada ou púrpura, pontilhada com sementes pequenas, chatas, lisas, pretas ou avermelhadas. Os estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Bahia e Pernambuco destacam-se como produtores nacionais. A melancia é normalmente consumida *in natura*⁸⁵.

Licopeno e seus *cis*-isômeros foram os pigmentos majoritários da melancia de Queensland cv. Candy Red (*Citrullus vulgaris*), perfazendo juntos 81,30 % do conteúdo total de carotenóides; β -caroteno (4,09 %), fitoeno (2,1 %), fitoflueno (1,43 %), ζ -caroteno (1,59 %) e γ -caroteno (0,36 %) também foram encontrados⁶⁴.

Dados analíticos sobre carotenóides em alimentos foram compilados por Mangels *et al.*⁵⁵. Para a melancia os valores médios citados para licopeno, β -caroteno e α -caroteno foram 41 $\mu\text{g/g}$, 2,3 $\mu\text{g/g}$ e 0,01 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. A soma média de luteína e zeaxantina foi 0,14 $\mu\text{g/g}$. O licopeno variou de 23 a 72 $\mu\text{g/g}$.

Melancias (*Citrullus vulgaris*) vermelha e amarela oriundas da Indonésia, foram estudadas por Setiawan⁸³. A melancia vermelha apresentou 113,89 $\mu\text{g/g}$ de licopeno, 5,92 $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno e β -criptoxantina não foi detectada. Para a melancia amarela os teores encontrados para β -caroteno, β -criptoxantina e licopeno foram 1,40 $\mu\text{g/g}$, 0,90 $\mu\text{g/g}$ e 0,71 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. No entanto, os dados, especialmente para os de melancia amarela, devem ser avaliados com precaução uma vez que estes autores detectaram licopeno em frutas como banana, manga, abacaxi e maçã, nas quais este carotenóide nunca foi encontrado.

No Brasil, a cultivar Crimson Sweet é o mais produzido e as frutas de dois estados, São Paulo e Goiás, foram comparadas quanto à concentração de licopeno e β -caroteno. Os níveis de licopeno e β -caroteno foram $36 \pm 5 \mu\text{g/g}$ e $4,7 \pm 2,4 \mu\text{g/g}$, respectivamente, para as frutas de São Paulo e $35 \pm 2 \mu\text{g/g}$ e $2,6 \pm 1,7 \mu\text{g/g}$, respectivamente, para as frutas de Goiás, dados que são equivalentes estatisticamente⁶⁸.

Perkin-Veazie e Collins⁷³ verificaram em relação às cultivares Summer Flavor 800 e Sugar Chack, provenientes de Oklahoma, que o teor de licopeno é afetado durante estocagem sob atmosfera modificada. Após 7 dias de estocagem a 2°C o conteúdo total de licopeno mostrou-se 6 % menor para Summer Flavor 800 e 11 % menor para Sugar Chack em relação ao inicial e β -caroteno ($2 \mu\text{g/g}$) permaneceu estável. Estes valores foram ligeiramente inferiores aos reportados na database de carotenóides do USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos) ($49 \mu\text{g/g}$ e $3 \mu\text{g/g}$, respectivamente)⁴⁸.

MELÃO (*Cucumis melo* L.)

O melão (*Cucumis melo* L.) é da família das Curcubitáceas. Os frutos variam em tamanho, forma, cor da casca, cor da polpa, a qual é comumente de coloração esverdeada, amarela ou salmão. A cor externa típica é um amarelo intenso quando a fruta está madura e as sementes são envolvidas por uma espécie de fibras que preenchem a cavidade central do fruto⁸⁵.

Normalmente a fruta é consumida *in natura*, mas é possível encontrar a polpa congelada de melão. A região Nordeste é um grande pólo produtor, destacando-se os estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Pernambuco e Bahia⁸⁵.

O melão laranja (*Cucumis melo* L.) é comumente chamado de “cantaloupe” nos EUA e é conhecido como boa fonte de carotenóides como β -caroteno que representou 84,7 % do conteúdo total de carotenóides. O ζ -caroteno perfaz 6,8 %, seguido por pequenas quantidades de fitoflueno (2,4 %), fitoeno (1,5 %), luteína (1,0 %), violaxantina (0,9 %), zeaxantina (0,08 %) e outros mono- e poli-hidroxi, mono e diepoxi carotenóides minoritários²⁴.

Outras variedades de melão “cantaloupe” como Honeydew, Casba e Galia também foram investigadas. Tanto na polpa como na casca, os carotenóides de cloroplastos predominaram mas em distintas concentrações. Honeydew e Casba apresentaram traços de carotenóides (0,2-0,3 $\mu\text{g/g}$). A cv. Galia apresentou na polpa madura e na casca teores de 1,9 $\mu\text{g/g}$ e 32,0 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. Nesta mesma cultivar a polpa teve 20 % de β -caroteno, 28 % de luteína+violaxantina, e 1,5 % neoxantina. Na casca encontrou-se 7,5 % de β -caroteno, 14 % de violaxantina, 32 % de luteína e 3,4 % de neoxantina⁴².

Para “cantaloupe” oriundo da Califórnia, os hidrocarbonos β -caroteno e seus isômeros e ζ -caroteno foram majoritários. Foram encontrados todo-*trans*- β -caroteno + *neo*- β -caroteno A + *neo*- β -caroteno B (15, 15') (215,6 $\mu\text{g/g}$), todo-*trans*- ζ -caroteno (3,94 $\mu\text{g/g}$), *neo*- β -caroteno U (39,36 $\mu\text{g/g}$), todo-*trans*- e *cis*-fitoflueno (0,44 $\mu\text{g/g}$) e todo-*trans*- e *cis*-fitoeno (0,38 $\mu\text{g/g}$), perfazendo um total de carotenóides de 259,72 $\mu\text{g/g}$ ⁵².

Diferentemente dos estudos anteriormente citados, a presença de α -caroteno foi relatada por Bureau e Bushway¹⁵. Dentre as 22 frutas coletadas em cinco diferentes cidades dos EUA (Los Angeles, Dallas, Chicago, Miami, Boston), o “cantaloupe” continha os pró-vitâmicos β -caroteno (16,43 $\mu\text{g/g}$), α -caroteno (0,009 $\mu\text{g/g}$), e β -criptoxantina (0,006 $\mu\text{g/g}$).

A avaliação dos isômeros *cis* e *trans* dos pró-vitâmicos α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina foi realizada para as frutas de “cantaloupe” provenientes do estado de Carolina do Norte. Para a configuração *todo-trans*, foram constatadas β -caroteno (162,8 $\mu\text{g/g}$), α -caroteno (0,9 $\mu\text{g/g}$) e β -criptoxantina (0,9 $\mu\text{g/g}$)⁵⁴.

No Brasil, a cultivar de melão laranja, Imperial 45, proveniente do estado de São Paulo foi qualitativamente caracterizado por CLAE-EM (espectrometria de massa)⁸. Os carotenóides identificados foram β -caroteno, luteína, 5,6-epoxi- β -caroteno, ζ -caroteno e *cis*- β -caroteno⁸.

PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.)

O pequi ou piquazeiro é planta do cerrado brasileiro característico das regiões Norte, Nordeste e Centro-oeste do Brasil. A polpa de coloração amarelo-intenso, branca ou rósea, envolve um caroço duro formado por grande quantidade de pequenos espinhos. Quando maduro, sua casca que sempre permanece da mesma cor (verde-amarelada), amolece. É possível da polpa preparar o licor de pequi, sendo que a polpa crua ou cozida é fonte de gordura e alimento. Nos supermercados, é possível encontrar a polpa e a fruta inteira congelada^{26,31,85}.

O pequi foi considerado uma rica fonte em pró-vitamina A³⁵ e *Caryocar villosum* e *Caryocar brasiliense* são consideradas as espécies mais importantes. A espécie *villosum* apresentou sete pigmentos e, diferentemente de outras frutas, apresentou conclusivamente zeaxantina (7,8 $\mu\text{g/g}$) como majoritário. A predominância de zeaxantina foi considerado por Gross⁴² bastante incomum de ocorrer em frutas. Outros pigmentos encontrados foram

β -caroteno (1,2 $\mu\text{g/g}$), ζ -caroteno (0,5 $\mu\text{g/g}$), *neo*- β -criptoxantina (0,4 $\mu\text{g/g}$), β -criptoxantina (0,4 $\mu\text{g/g}$), α -caroteno (0,1 $\mu\text{g/g}$) e traços de 13-*cis*- β -caroteno.

Para a espécie *Caryocar brasiliense* Camb. estudada por Ramos *et al.*⁷⁶, tanto nas amostras cruas como cozidas, foram encontrados adicionalmente criptoflavina, anteraxantina, mutatoxantina. O conteúdo total de carotenóides foi superior para a polpa *in natura* (231,09 $\mu\text{g/g}$), quando comparada com a polpa cozida (154,06 $\mu\text{g/g}$), sendo a β -criptoxantina (93,67 $\mu\text{g/g}$) encontrada em maior teor na polpa *in natura* enquanto que zeaxantina passou a ser majoritário após cozimento (4,32 para 79,73 $\mu\text{g/g}$).

A polpa amarela de *Caryocar brasiliense* Camb. originária de Campo Grande, estado do Mato Grosso, apresenta um teor de carotenóides totais quando *in natura* igual a 559,0 $\mu\text{g/g}$ e após branqueamento em vapor saturado 415,7 $\mu\text{g/g}$. Durante a desidratação da polpa amarela do pequi tratada a diferentes concentrações de ácido ascórbico (0,0 %, 0,2 %, 0,4% e 0,8 %) em três diferentes temperaturas (70 °C, 85 °C e 95 °C), ocorreram perdas de carotenóides totais, sendo que o aumento da temperatura de secagem provocou uma porcentagem maior de perda⁷⁷.

PITANGA (*Eugenia uniflora* L.)

A pitanga (*Eugenia uniflora* L.) pertencente à família Myrtaceae, cresce bem e é bastante comum na região Amazônica, nas regiões úmidas do Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-oeste. Os primeiros plantios comerciais surgiram no município de Bonito no estado de Pernambuco^{3,30}.

Cavalcante e Rodriguez-Amaya^{19,20} determinaram a composição de carotenóides em pitanga *in natura*, polpa congelada e suco processado de amostras oriundas de diferentes

pontos do estado de Pernambuco. Na pitanga *in natura*, foram identificados por CCA, licopeno ($71,8 \pm 1,1$ a $73,7 \pm 1,5$ $\mu\text{g/g}$), γ -caroteno ($49,4 \pm 1,2$ a $58,2 \pm 0,2$ $\mu\text{g/g}$), β -criptoxantina ($44,8 \pm 2,0$ a $47,0 \pm 1,0$ $\mu\text{g/g}$), rubixantina ($21,5 \pm 1,0$ a $25,3 \pm 1,6$ $\mu\text{g/g}$), fitoflueno ($11,4 \pm 0,5$ a $16,4 \pm 0,7$ $\mu\text{g/g}$), β -caroteno ($8,1 \pm 0,6$ a $12,5 \pm 0,8$ $\mu\text{g/g}$), ζ -caroteno ($3,6 \pm 0,5$ a $6,6 \pm 0,4$ $\mu\text{g/g}$).

Após congelamento a -18 °C da polpa de pitanga, esta foi submetida a estocagem por um período de 90 dias. Os teores dos carotenóides diminuíram para licopeno ($25,9 \pm 2,1$ $\mu\text{g/g}$ para $16,6 \pm 0,5$ $\mu\text{g/g}$), rubixantina ($21,6 \pm 0,8$ $\mu\text{g/g}$ para $14,8 \pm 0,4$ $\mu\text{g/g}$), γ -caroteno ($14,7 \pm 0,9$ $\mu\text{g/g}$ para $4,5 \pm 0,5$ $\mu\text{g/g}$), β -criptoxantina ($12,3 \pm 0,6$ $\mu\text{g/g}$ para $7,6 \pm 0,3$ $\mu\text{g/g}$), β -caroteno ($7,3 \pm 0,4$ $\mu\text{g/g}$ a $2,5 \pm 0,2$ $\mu\text{g/g}$) e ζ -caroteno ($2,5 \pm 0,4$ $\mu\text{g/g}$ para $1,5 \pm 0,2$ $\mu\text{g/g}$)¹⁹.

Os mesmos autores também observaram perdas no processamento (80 °C/3 min.) de suco de pitanga. Licopeno ($57,4 \pm 0,9$ $\mu\text{g/g}$ para $22,1 \pm 0,1$ $\mu\text{g/g}$), γ -caroteno ($40,3 \pm 0,6$ $\mu\text{g/g}$ para $8,2 \pm 0,8$ $\mu\text{g/g}$), β -criptoxantina ($35,8 \pm 1,6$ $\mu\text{g/g}$ para $9,4 \pm 0,7$ $\mu\text{g/g}$), rubixantina ($17,2 \pm 0,8$ $\mu\text{g/g}$ para $16,8 \pm 0,5$ $\mu\text{g/g}$) e ζ -caroteno ($2,9 \pm 0,4$ $\mu\text{g/g}$ para $2,0 \pm 0,1$ $\mu\text{g/g}$) mostraram apreciáveis perdas. O *cis*-licopeno ($1,5 \pm 0,5$ $\mu\text{g/g}$) e *cis*- γ -caroteno ($1,1 \pm 0,1$ $\mu\text{g/g}$) foram detectados após processamento, enquanto que, houve um ligeiro aumento no teor de β -caroteno ($6,5 \pm 0,5$ para $7,5 \pm 0,4$ $\mu\text{g/g}$). Após estocagem de 180 dias (temperatura ambiente média de 28 °C) observou-se uma grande queda no teor de carotenóides¹⁹.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos aqui relacionados demonstraram a presença de carotenóides de cloroplastos (luteína, neoxantina, violaxantina além de β -caroteno) em abacaxi, abacate e banana. Verificou-se variação na composição de carotenóides causada pela influência dos diferentes processamentos, sejam estes últimos caseiros ou industriais. Acusaram-se diferenças devidas ao clima ou localização geográfica, cultivar, produção, estágio de maturação e retirada de casca. Goiaba, melancia, melão, mamão (cultivar Solo, Formosa e Tailândia), pitanga são exemplos de frutas ricas em licopeno, enquanto que acerola, bocaiúva, buriti, manga e marolo, contém elevados teores de β -caroteno. Além do β -caroteno, ζ -caroteno também se destacou em maracujá. β -Criptoxantina foi o principal em cajá e mamão Common, enquanto que zeaxantina predominou em pequi.

A revisão demonstra que as frutas tropicais brasileiras bem como seus derivados preparados de modo caseiro ou industrializados são ainda campo de pesquisa para o terceiro milênio. Futuros estudos devem contemplar outras frutas ainda pouco estudadas como araçá, aroeira, licuri, jaracatiá, mangostão, murumuru, mururerana, pindaíba, sapotados-solimões, entre outras.

ABSTRACT

Fruits are complex and variable sources of carotenoids, an important class of natural pigments not only because of their coloring action but also because of their functional properties associated to health. Insignificant quantities of these carotenoids were detected in *Ananas comosus* (L.) Merrill (pineapple). The typical pigments of chloroplasts such as lutein, violaxanthin and neoxanthin were found at the stage preceeding the ripening of fruits in general. ζ -Caroteno is the major carotenoid in *Passiflora edulis* f. (passion fruit), while lycopene predominates in *Psidium guajava* L. (guava), *Eugenia uniflora* L. (Surinam cherry), *Carica papaya* L. (papaya cultivars Solo, Formosa and Tailândia) and *Citrullus lanatus* Schrad. ex Eckl. & Zeyh. (watermelon). In *Malpighia glabra* L. (West Indian cherry), *Mauritia flexuosa* L. (buriti), *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.(bocaiuva), *Cucumis melo* L. (melon) and *Annona crassiflora* Mart.(marolo), the carotenoid of greater concentration is β -caroteno. Major production of β -cryptoxanthin occurs in *Anacardium occidentale* L. (caju), *Spondias lutea* L. (caja), and *Carica papaya* L. (papaya cv. Common). Interestingly, zeaxanthin is the dominant carotenoid in *Caryocar brasiliense* Camb. (pequi). Violaxanthin is the predominant carotenoid in *Mangifera indica* L. (mango cultivar Keitt). The high variability of carotenoids between fruits is accentuated by variations between samples of the same fruit due to agricultural variables (cultivar, climate, season, stage of maturity) and effects of processing and storage of foods. Considering the importance of data on carotenoid composition in fruits, in the present article a review of the literature is presented covering carotenogenic tropical fruits.

KEYWORDS: Carotenoids, tropical fruit, composition, maturation, cultivars, processing

AGRADECIMENTOS

Ao MCT-CNPq-FINEP, pelos recursos financeiros através do Projeto PRONEX no. 4196091500/CNPq no. 662307/1996-8.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agostini, T.S.; Cecchi, H. M.; Godoy, H.T. Composição de carotenóides no marolo *in natura* e em produtos de preparo caseiro. **Ciênc. Tec. Aliment.**, 16: 67-71, 1996.
2. Agostini-Costa, T.S.; Abreu, L.N.; Rossetti, A.G. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Rev. Bras. Frutic.**, 25: 56-8, 2003.
3. Almeida, R.B.de; Valsechi, O. **Guia de Composição de frutas**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo – Instituto Zimotécnico Prof. Jaime Rocha de Almeida; 1966. 87 p.
4. Araújo, P.S.R. de; Minami, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill; 1994. 81p.
5. Asenjo, C.F.; Moscoso, C.G. Ascorbic acid content and other characteristics of the West Indian Cherry. **Food Res.**, 15: 103-6, 1950.
6. Assunção, R.B.; Mercadante, A.Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. **Food Chem.**, 8: 495-502, 2003.
7. Assunção, R.B.; Mercadante, A.Z. Carotenoids and ascorbic acid from commercial products of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) **J. Food Comp. Anal.**, 16: 647-57, 2003.

8. Hess, C. A. M.; Rodriguez-Amaya, D.B. **Análise de carotenóides em alimentos brasileiros por cromatografia líquida de alta eficiência – espectrometria de massas**. Campinas/SP, 2003. [Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP].
9. Bem-Amotz, A.; Fisher, R. Analysis of carotenoids with emphasis on 9-*cis*- β -caroteno in vegetables and fruits commonly consumed in Israel. **Food Chem.**, 62: 512 – 20, 1998.
10. Breithaupt, D.E; Bamedi, A. Carotenoid esters in vegetables and fruits: a screening with emphasis in β -criptoxanthin esters. **J. Agric. Food Chem.**, 49: 2064-70, 2001.
11. Britton, G.; Homero-Mendez, D. Carotenoids and colour in fruit and vegetables. In: Tomás-Barberán, F.A. and Robins, R.J. editors. **Phytochemistry of fruits and vegetables**. Oxford: Oxford Science Publications; 1997. p.11-27.
12. Britton, G.; Homero-Mendez, D. Involvement of NADPH in the cyclization reaction of carotenoid biosynthesis. **FEBS Letters**, 515: 133-36, 2002.
13. Britton, G.; Lockley, W.J.S.; Patel, N.J.; Goodwin, T.W. The use of deuterium from deuterium oxide as a label in studies of biosynthetic pathways. Carotenoids transformation in a *Flavobacterium* species. **FEBS Letters**, 79: 281-283, 1977.
14. Britton, G. Carotenoid Biosynthesis - An overview. In: **Carotenoids, chemistry and biology**. New York: Plenum press; 1989. p.167-84.
15. Bureau, J.L.; Bushway, R.J. HPLC determination of carotenoids in fruits and vegetables in the United States. **J. Food Sci.**, 51: 128-30, 1986.

16. Burns, J.; Fraser, P.D.; Bramley P.M. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. **Phytochem.**, 62: 939-47, 2003.
17. Campelo, E.C. de Souza et al. Teores de vitamina C em polpas de acerola (*Malpighia glabra* L.) congeladas. **B. CEPPA**, 16: 107-13, 1998.
18. Castro, P.R.C.; Kluge, R.A. **Ecofisiologia de fruteiras – abacateiro, aceroleira, macieira, pereira e videira**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres Ltda.; 2003.136p.
19. Cavalcante, M.L.; Rodriguez-Amaya, D.B. **Composição de carotenóides e valor de vitamina A em pitanga (*Eugenia uniflora*) e acerola (*Malpighia glabra* L.)** Rio de Janeiro. 1991. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP].
20. Cavalcante, M.L.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. In: Charalambous G., editor. **Food Science and Human Nutrition**. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V.; 1992.p.643-50.
21. Cecchi, H.M.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of fresh and pasteurized cashew-apple. (*Anacardium occidentale* L.) juice. **J. Food Sci.**, 46: 147-149, 1981.
22. Cecchi, H.M.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenóides e valor de vitamina A em suco de maracujá. **Ciênc. & Cultura** (J. Braz. Assoc. Adv. Sci.), 33: 72-6, 1981.

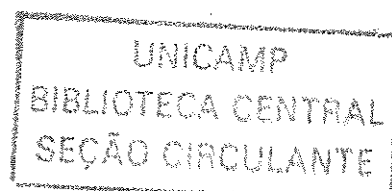
23. Crochemore, M.L., Molinari, H.B., Stenzel, N.M.C. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* ssp.) **Rev. Bras. Frutic.** 25: 5-10, 2003.
24. Curl, A.L. The carotenoids of muskmelons. **J. Food Sci.**, 31: 759-761, 1966.
25. Di Mascio, P. et al. Singlet molecular oxygen: generation reactivity, identification and biological effects. **Ciênc. Cultura** (J. Braz. Assoc. Adv. Sci.), 47: 297-311, 1995.
26. Duke, J. A. **CRC Handbook of nuts**. Florida: CRC Press, 1989. p.343.
27. EDCC (Eye Disease Case-Control) Study Group. Antioxidant status and neovascular age-related macular degeneration. **Arch. Ophthalm.**, 111: 104-9, 1993.
28. Eleutério, R.M.C. **Variação do teor de ácido ascórbico e de β -caroteno em suco e geléia de acerola (*Malpighia glabra* L. sinônimo *M. puniceifolia* L.) durante armazenamento**. Piracicaba, 1998. [Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo].
29. Ernst, H. Recent advances in industrial carotenoid synthesis. **Pure Appl. Chem.**, 74: 1369-482, 2002.
30. Epstein, L. Pitanga, gostosa e perfumada! **Bahia Agr.**, 2:13-16, 1998.
31. Ferreira, M.B. Frutos comestíveis do Distrito Federal III. Piqui, mangaba, marolo e mamãozinho. **Cerrado**, 5: 22-5, 1973.
32. França, L.F. et al. Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region. **J. Supercr. Fluids**, 14: 247-56, 1999.

33. Godoy, H.T.; Rodriguez-Amaya, D.B. Changes in individual carotenoids on processing and storage of mango (*Mangifera indica*) slices and pureé. **Int. J. Food Sci. Technol.**, 22: 451-60, 1987.
34. Godoy, H.T.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. **Lebensm.-Wiss.-Technol.**, 22: 100-3, 1989.
35. Godoy, H.T.; Rodriguez-Amaya, D.B. Occurrence of *cis*- isomers of provitamin A in brazilian fruits. **J. Agric. Food Chem.**, 42: 1306-13, 1994.
36. Godoy, H.T.; Rodriguez-Amaya, D.B. Buriti (*Mauritia vinifera* Mart.), uma fonte riquíssima de provitamina A. **Arq. Biol. Technol.**, 38: 109-20, 1995.
37. Goodwin, T.W. Nature and distribution of carotenoids. **Food Chem.** 5: 3-13, 1980.
38. Goodwin, T.W.; Britton, G. Distribution and analysis of carotenoids. In: Goodwin T.W., editor. **Plant Pigments**. London: Academic Press; 1988. p.61-134.
39. Goodwin, T. W. Biosynthesis of carotenoids: an overview. In: Packer, L., editor. **Methods in enzymology, Carotenoids Part B, Metabolism, Genetic, and Biosynthesis**. San Diego: Academic Press; 1993. p.330-40.
40. Gross, J.; Gabai, M.; Lifshitz, A. The carotenoids of the avocado pear. **J. Food Sci.**, 37: 589-91, 1972.
41. Gross, J.; Gabai, M.; Lifshitz, A. Carotenoids in pulp, peel and leaves of *Persea americana*. **Phytochem.**, 12: 2259-63, 1973.
42. Gross, J. Carotenoids. In: Schweigert, B.S., editor. **Pigments in Fruits**. London: Academic Press; 1987. 303p.
43. Hamano, P.S.; Mercadante, A.Z. Composition of carotenoids from commercial products of caja (*Spondias lutea*). **J. Food Comp. Anal.**, 14: 335-43, 2001.

44. Handelman, G.J. et al. Carotenoids in the human macula and whole retina. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, 29:850-5, 1988.
45. Hart, D.J.; Scott, K.J. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. **Food Chem.**, 54: 101-11, 1995.
46. Heinonen, M.I. Carotenoids in Finnish foods: vegetables, fruits and berries. **J. Agric. Food Chem.**, 37: 655-9, 1989.
47. Hiane, P. A.; Penteado, M. De V.C. Carotenóides e valores de vitamina A do fruto e da farinha de bocaiúva (*Acronomia mokayàyba Barb. Rodr.*) do Estado do Mato Grosso do Sul. **Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo**, 25: 158-68, 1989.
48. Holden, J. M. et al. Carotenoid content of US foods: an update of the database. **J. Food Comp. Anal.**, 12:169-96, 1999.
49. Hulshof, P. J. M. et al. Application of a validated method for the determination of provitamin A carotenoids in Indonesian foods of different maturity and origin. **J. Agric. Food. Chem.**, 45: 1174-1179, 1997.
50. Kimura, M. **Revalidação de métodos analíticos e determinação da composição de carotenóides e valor de vitamina A em mamão e cajá.** Campinas, 1989. [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP].
51. 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.-Technol.**, 24: 415-8, 1991.

52. Khachik, F.; Beecher, G.R.; Lusby, 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: 1465-73, 1989.
53. Leuenberger, F.J.; Thommen, H. The presence of carotenoids within *Passiflora edulis*. **Z. Lebensm. Unters. Forsch.**, 149: 279-82, 1972.
54. Lessin, W.; 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.
55. Mangels, A.R. et al. Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. **Res.**, 93: 284-96, 1993.
56. Medina, J.C. et al. **Goiaba: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos – Série Frutas Tropicais Nº 6, 2ª ed.** Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos; 1988. 224 p.
57. Mercadante, A.Z.; Britton, G.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoids from yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). **J. Agric. Food Chem.**, 6: 4102-6, 1998.
58. Mercadante, A.Z.; Rodriguez-Amaya, D.B. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoid from mango. **J. Agric. Food Chem.**, 45: 120-3, 1997.
59. Mercadante, A.Z.; Rodriguez-Amaya, D.B. Composição de carotenóides de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa) *in natura*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 22:254-258, 2002.

60. Mercadante, A.Z.; Rodriguez-Amaya, D.B. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. **J. Agric. Food Chem.**, 46:128-30, 1998.
61. Mercadante, A.Z.; Steck, A.; Pfander, H. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L.): isolation and structure elucidation. **J. Agric. Food Chem.**, 47: 145-51, 1999.
62. Moeller, S.M.; Jacques, P.F.; Blumberg, J.B. The potential role of dietary xanthophylls in cataract and age-related macular degeneration. **J. Am. Col. Nutr.**, 19:522S-7S, 2000.
63. Morgan, R.C. Chemical studies on concentrated pineapple juice. 1. Carotenoid composition of fresh pineapples. **J. Food Sci.**, 31: 213-7, 1966.
64. Morgan, R.C. The carotenoid of Queensland fruits – carotenes of the watermelon (*Citrullus vulgaris*). **J. Food Sci.**, 32: 275-8, 1967.
65. Motta, P.E.F.; Curi, N.; Oliveira-Filho, A.T.E; Gomes, J.B.V. Ocorrência da macaúba em Minas Gerais: relação com atributos climáticos, pedológicos e vegetacionais. **Pesq. Agropec. Bras.**, 37: 1023-31, 2002.
66. Muller, H. Determination of the carotenoid content in selected vegetables and fruit by HPLC and photodiode array detection. **Z. Lebensm. Unters. Forsch. An.**, 204:88-94, 1997.
67. Netto, L.M. **Acerola, a cereja tropical**. São Paulo: Livraria Nobel S. A.; 1986. 94p.
68. Niizu, P.Y. & Rodriguez-Amaya, D.B. Watermelon as source of lycopene. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 62, 195-199. 2003.
69. Olson, J.A. Carotenoids and human health. **Arch. LatinoAm. Nutr.**, 49: 7-11, 1999.



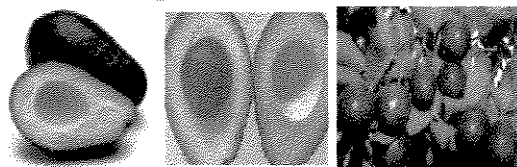
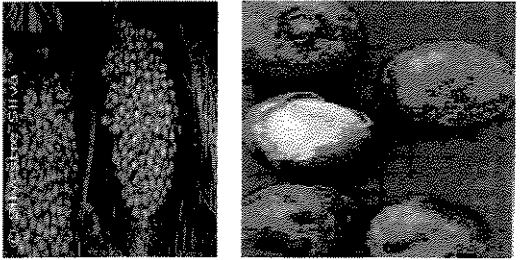
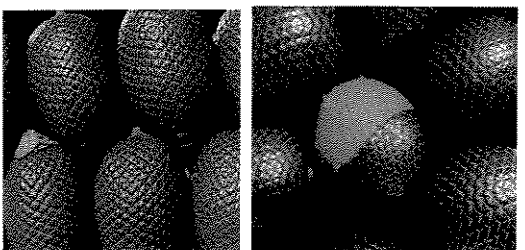
70. Padula, M.; Rodriguez-Amaya, D.B. Comparison of the processed juice of guava cultivar IAC-4 and comercial juices. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 3:109-16, 1983.
71. Padula, M.; Rodriguez-Amaya, D.B. Characterization of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of brasilian guavas (*Psidium guajava* L.). **Food Chem.** 20: 11-19, 1986.
72. Padula, M.; Rodriguez-Amaya, D.B. Changes in individual carotenoids and vitamin C on processing and storage of guava juice. **Acta Alim.**, 16: 200-16, 1987.
73. Perkins-Veazie, P.; Collins, J.K. Fresh quality and lycopene stability of fresh-cut watermelon. **Postharv. Biol. Technol.**, 31: 159-66, 2004.
74. Pott, I. et al. Quantitative determination of β -carotene stereoisomers in fresh, dried, and solar-dried mangoes (*Mangifera indica* L.) **J. Agric. Food Chem.**, 51:4527-31, 2003.
75. Puth, J.S.; Lal, G. Carotenoid in passion fruit juice, **Food Res.** 23:505-10, 1958.
76. Ramos, M.I.L. et al. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenóides pró-vitamínicos A da polpa de piqui (*Caryocar brasiliense* Camb.). **B. CEPPA**, 19: 23-32, 2001.
77. Ramos, M.I.L. Desidratação do piqui (*Caryocar brasiliense* Camb.) avaliação do processo através dos teores de carotenóides totais. São Paulo, 1987, [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].
78. Rodriguez-Amaya, D.B. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: G. Charalambous, editor. **Shelf life studies of foods and beverages, chemical, biological, physical and nutritional aspects**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.; 1993.p.547-87.

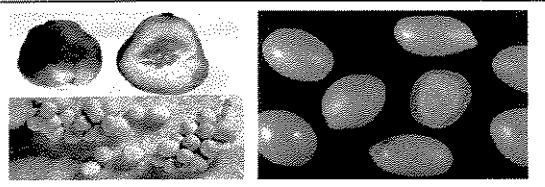
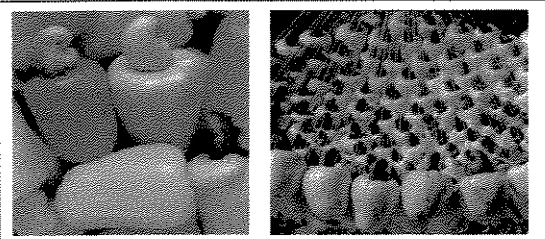
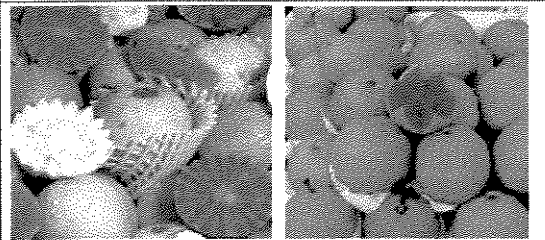
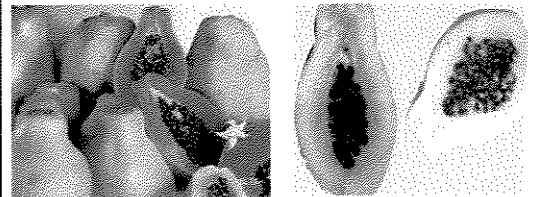
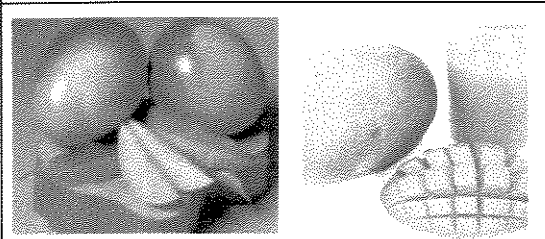
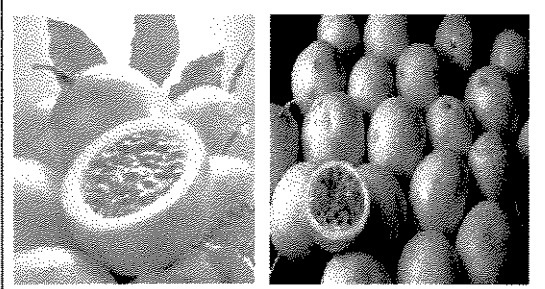
79. Rodriguez-Amaya, D.B. Latin American food sources of carotenoids **Arch. Latinoam. Nutr.**, 49: 74S-84S, 1999.
80. Rodriguez-Amaya, D.B.; Kimura, M. Carotenoids e valor de vitamina A em cajá (*Spondias lutea*). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 9: p.148-62, 1989.
81. Rodriguez-Amaya, D.B. Brazil, a bounty of carotenoid sources. **Sight & Life**, 41: 3-9, 2002.
82. Salunkhe, D.K.; Desai, B.B. **Postharvest biotechnology of fruits**. CRC Press, Inc., Florida, Vol. II, 1984. p.147.
83. Setiawan, B. et al. Carotenoid content of selected Indonesian fruits. **J. Food Comp. Anal.**, 14: 169-76, 2001.
84. Simão, S. **Manual de fruticultura**. Editora Agronômica "Ceres" Ltda. Piracicaba. 1971. p.530.
85. Silva, S.P. **Frutas no Brasil**. São Paulo: Empresa das Artes; 1996. 232p.
86. Snodderly, D.M. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. **Am. J. Nutr.**, 62: 1448S-62S, 1995.
87. Sobrado, M.O.C.do B. et al. A composição química da goiabeira (*Psidium guajava* L.). **Anais da Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz**, 18: 184-91, 1961.
88. Souza, F. X. De, et al. Aspectos morfológicos da unidade de dispersão da cajazeira. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, 35: 215-220, 2000.
89. Wilberg, V.C.; Rodriguez-Amaya, D.B. **Quantificação de provitaminas A e carotenóides majoritários em frutas e hortaliças por cromatografia líquida de alta eficiência**. Campinas, 1992. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP].

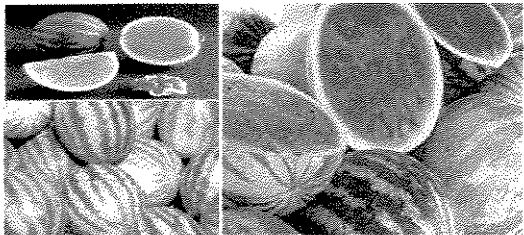
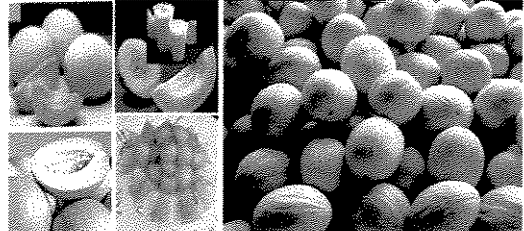
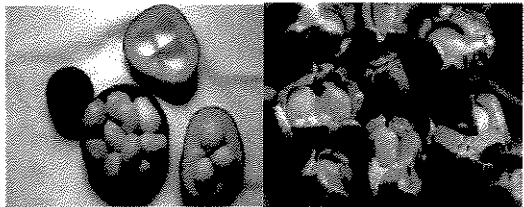
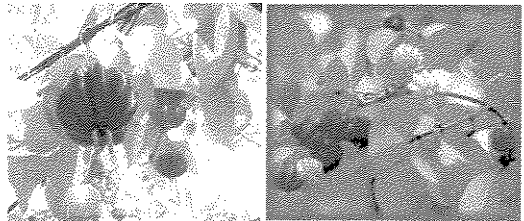
90. Wilberg, V.C.; Rodriguez-Amaya, D.B. HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. **Lebensm.-Wiss.-Technol.**, 28: 474-80, 1995.

ANEXO I

**FOTOS, NOME CIENTÍFICO E FAMÍLIA BOTÂNICA
DE FRUTAS TROPICAIS**

	Abacate Nome Científico: <i>Persea americana</i> Mill Família botânica: Lauraceae
	Abacaxi Nome Científico: <i>Ananas comosus</i> (L.) Merril Família botânica: Bromeliaceae
	Acerola ou cereja-das-Antilhas Nome Científico: <i>Malpighia glabra</i> L. Família botânica: Malpighiaceae
	Banana Nome Científico: <i>MusaXparadisiaca</i> L. Família botânica: Musaceae
	Bocaiúva / Macaúba Nome Popular: bocaiúva, coco babão, macaíba, macajuba, coco-de-espinho Nome Científico: <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart. Família botânica: Palmae (Arecaceae)
	Buriti Nome Popular: carandá; guaçu; coqueiro -buriti; palmeira-do- brejo; miriti. Nome Científico: <i>Mauritia flexuosa</i> L. Família botânica: Palmae (Arecaceae)

	Cajá Nome Científico: <i>Spondias lutea</i> L. Família botânica: Anacardiaceae
	Caju Nome Científico: <i>Anacardium occidentale</i> L. Família botânica: Anacardiaceae
	Goiaba Nome Científico: <i>Psidium guajava</i> L. Família botânica: Myrtaceae
	Mamão Nome Científico: <i>Carica papaya</i> L. Família botânica: Caricaceae
	Manga Nome Científico: <i>Mangifera indica</i> L. Família botânica: Anacardiaceae
	Maracujá Nome Popular: maracujá-mirim; maracujá-suspiro; maracujá-mamão; flor-da-paixão. Nome Científico: <i>Passiflora</i> L. Família botânica: Passifloraceae

	Marolo Nome Popular: araticum ou marolo Nome Científico: <i>Annona crassiflora</i> Mart. Família botânica: Annonaceae
	Melancia Nome Científico: <i>Citrullus vulgaris</i> Schrad. ex Eckl. & Zeyh. Família botânica: Cucurbitaceae
	Melão Nome Científico: <i>Cucumis melo</i> L. Família botânica: Cucurbitaceae
	Pequi Nome Científico: <i>Cariocar brasiliense</i> Camb. Família botânica: Caryocaraceae
	Pitanga Nome Científico: <i>Eugenia uniflora</i> L. Família botânica: Myrtaceae

CAPÍTULO 2

PINK-FLESHED GUAVA AND GUAVA PRODUCTS AS RICH SOURCES OF LYCOPENE. EFFECT OF INDUSTRIAL PROCESSING

Ornella Maria Porcu & Delia B. Rodriguez-Amaya*

Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos

Universidade Estadual de Campinas, C. P. 6121, 13083-862, Campinas, SP, Brasil

*Corresponding author. Fax: 55-19-3788-2153. E-mail address: delia@fea.unicamp.br

Running title: Carotenoids of guava and guava products

Artigo a ser submetido à revista *Food Chemistry*

Pink-fleshed guava and guava products as rich sources of lycopene.

Effect of industrial processing

Abstract

The principal carotenoids of guava and guava products were quantified by HPLC. The analytical method was first assessed for accuracy, particularly for lycopene. Lycopene and β -carotene levels of 66.0 $\mu\text{g/g}$ and 4.3 $\mu\text{g/g}$ and 57.0 $\mu\text{g/g}$ and 2.3 $\mu\text{g/g}$, respectively, were found in guava cultivars Paluma and Ogawa from the state of São Paulo (Southeastern Brazil). For three brands each of "goiabada", frozen pulp and guava juice taken from the market, the ranges for lycopene were 59.8-83.0 $\mu\text{g/g}$, 37.4-72.6 $\mu\text{g/g}$ and 32.6-60.0 $\mu\text{g/g}$, respectively. The respective β -carotene ranges were 3.7-7.4, 2.7-4.5 and 2.1-3.4 $\mu\text{g/g}$. Concentration changes during industrial processing were also monitored, the lycopene content immediately after processing being 83.9 $\mu\text{g/g}$ in "goiabada", 134.0 $\mu\text{g/g}$ in refined pulp and 98.3 $\mu\text{g/g}$ in "guatchup." Although degradation occurred during processing, both fresh and processed guava proved to be rich sources of lycopene.

Keywords: guava, carotenoids, lycopene, analysis, processing.

1. Introduction

Lycopene has drawn considerable attention because of its potential health promoting effects in terms of reducing the risk of degenerative diseases such as cancer and cardiovascular diseases (Clinton, 1998; Gerster, 1997; Giovannucci, 1999; Sies & Stahl, 1998; Stahl & Sies, 1996). This vitamin A-inactive carotenoid has been shown to be more effective in the quenching of singlet oxygen than the provitamin β -carotene (Di Mascio, Kaiser, & Sies, 1989).

Unlike many countries where tomato and tomato-based products are practically the only food sources of lycopene, Brazil has several food sources, such as pink-fleshed guava (Padula & Rodriguez-Amaya, 1983, 1986), red-fleshed papaya (Kimura, Rodriguez-Amaya, & Yokoyama, 1991), watermelon (Niizu & Rodriguez-Amaya, 2003) and pitanga (*Eugenia uniflora* L.) (Cavalcante & Rodriguez-Amaya, 1992). This country is a major producer of pink-fleshed guava, which is commercially cultivated in the states of São Paulo, Rio Janeiro, Minas Gerais, Pernambuco and Bahia. The annual production of guava was 82,207,000 fruits in 1996, reaching 1,960,223,000 fruits in 2000, decreasing to 321,127,000 fruits in 2002 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2004). In terms of production, this fruit ranked 8th among all fruits in 1996, falling to 11th in 2002.

Guava producers have been making a conscientious effort to seek better cultivars and diversify and improve guava products, including raising the lycopene content. Thus, although Brazilian guava and guava products have been studied previously (Padula & Rodriguez-Amaya, 1983, 1986; Wilberg & Rodriguez-Amaya, 1995), there has been a change in the cultivars that are being marketed and in the industrial products derived from guava, aside from refinements in the analytical method. This study was therefore

carried out to determine the lycopene and β -carotene contents of current commercial cultivars and processed products and to evaluate losses during industrial processing.

The highly unsaturated carotenoid molecule is known to be susceptible to degradation during processing and storage of fruits. On the other hand, processing can increase the bioavailability, as in the case of lycopene in heat-processed tomato juice (Stahl & Sies, 1992) and tomato paste (Gärtner, Stahl, & Sies, 1997). Processing conditions should therefore be optimized so as to minimize losses of these important compounds while increasing their bioavailability.

2. Materials and methods

2.1. Evaluation of the method

The carotenoid extract was prepared according to Rodriguez-Amaya (1999). Guava fruits were quartered and homogenized in a Waring blender. With a mortar and pestle the carotenoids were extracted with cold acetone (a total about 200 ml per sample) from guava samples (6 g), the extraction and subsequent filtration being repeated until the residue became colourless (5 times). The carotenoids were partitioned to petroleum ether (70-100 ml) and concentrated in a rotary evaporator (temperature < 35 °C) to a volume of 25 ml. The total carotenoid content was determined spectrophotometrically, using the absorption at the maximum wavelength (λ_{max}) (470 nm in petroleum ether) and the absorption coefficient of lycopene ($A_{1\text{ cm}}^{1\%} = 3450$) (Davies, 1976). From this solution, an aliquot (5 ml) was evaporated with N_2 , redissolved in HPLC grade acetone,

filtered in a syringe filter (0.22 μm PTFE) and a 10 μl aliquot was injected into the liquid chromatograph. The rest of the solution (20 ml) was concentrated in the rotary evaporator and the carotenoids separated by open column chromatography (OCC) with $\text{MgO}:\text{Hyflosupercel}$ (1:2) as adsorbent (Rodriguez-Amaya, 1999). β -Carotene was eluted from the column with 0.5-1% ethyl ether in petroleum ether and lycopene with 12-18% acetone in petroleum ether. The concentration of each carotenoid was determined spectrophotometrically.

A Varian liquid chromatograph (model 9010) equipped with a UV-visible photodiode detector (Waters model 994) was used. The column was C_{18} Vydac 218TP254, 5 μm , 250 x 4.6 mm, the mobile phase consisting of tetrahydrofuran:water:methanol (15:4:81). The flow rate was 0.5 ml/min. Quantification was carried out by external standardization. The calibration curve was constructed with five points in triplicate, the concentration ranging from 43.6 to 218.0 $\mu\text{g/ml}$ for lycopene and from 2.2 to 11.1 $\mu\text{g/ml}$ for β -carotene. The coefficient of correlation was 0.9918 for lycopene and 0.9996 for β -carotene.

The standards were isolated from guava fruit (20-50 g) by OCC as described above, and the average purity of the standards monitored by HPLC was 94 % for β -carotene and 96 % for lycopene. The concentrations of the standard solutions were corrected accordingly.

The lycopene concentration was also calculated from the total carotenoid content determined spectrophotometrically corrected by the percentage of the area of the lycopene peak in relation to the total area of all absorbing carotenoids at the λ_{max} of lycopene of the HPLC chromatogram.

The parameters used for the identification of lycopene and β -carotene were the absorption spectra, order of elution from the column, retention time and co-chromatography with carotenoid standards.

2.2. Determination of the principal carotenoids of marketed fresh and processed guava

Samples of fresh guava, cultivars Paluma and Ogawa, were supplied by the Brazilian Association of Guava Producers (GOIABRAS), through their central office in São Paulo. These guavas were ovoid in shape with a mean length of 7 and 6 cm for the Paluma and Ogawa cultivars, respectively.

Five sample lots were analyzed individually for each cultivar. Each lot consisted of 15 fruits, which were quartered and two opposite sections from each fruit were combined and homogenized in a Waring blender. Analytical samples of 6 g were taken for analysis; the total carotenoid content was determined spectrophotometrically and the lycopene and β -carotene concentrations by HPLC as described above.

Three brands each of “goiabada”, a popular traditional guava dessert (sold in blocks), frozen pulp and juice were also analyzed. The samples were bought at supermarkets in the city of Campinas. For each brand, five sample lots were analyzed individually, three units of 100 g and 500 ml, being taken at random at the market for each lot of frozen pulp and juice, respectively. For “goiabada”, each lot was made up of three 500 g units. For each lot, the three units were mixed and homogenized in a Waring blender; “goiabada” had to cut into 1x2 cm slices first. Five g samples were submitted to analysis.

2.3. Evaluation of the effect of industrial processing

Guava cultivar Paluma was processed in the modern industrial plant of Indústria de Polpas e Conservas Val Ltda. The flowsheet and the points at which analytical samples were taken are shown in Figure 1. Processing consisted initially of fruit reception and washing. After fruit selection, the fruits that had only small defects were trimmed to make them acceptable for processing. The fruits were pulped in a paddle pulper to a puree, followed by enzyme inactivation (90-94.5°C), then pumped to the finisher to remove seeds and fibrous skin tissues through a 1.5 mm diameter screen. This pulp was used for “goiabada” and “guatchup” processing. For “goiabada”, after adding sugar and citric acid, the pulp was concentrated (60-65°C, 2.5 h) to 74.8°Brix and hot filled into Flow-Pack boxes of 500 g. For “guatchup” the finished pulp could be used immediately or stored after refining until use. The pulp was refined in a colloidal mill (Urshell, USA), concentrated to 13.9°Brix, pasteurized and packed in aseptic bags (200 kg). For “guatchup”, condiments, paprika, vinegar and xanthan gum were added to the refined pulp, followed by concentration to 33 °Brix, pasteurization and hot filling/bottling. The °Brix was determined by an Abbe refractometer (Lambda 2WAJ, 20°C) and the pH by a pHmeter (Micronal, model B474, 25 °C). Moisture was determined by drying to constant weight in an air oven at 105°C.

Thirty guava fruits, three units of 500 g of “goiabada”, three units of 1 to 2 kg of refined pulp and three units of 1 kg “guatchup” were taken at the initial, middle and final part of the conveyor at the processing plant. The fruits were quartered and two opposite sections from each fruit were combined and homogenized in a Waring blender. For “goiabada”, refined pulp and “guatchup”, the three units of each lot were mixed and

homogenized. Ten g of guava fruit and 5 g of the processed products were used for carotenoid extraction.

“Guatchup” is a new product developed by the Brazilian Association of Guava Producers, as an alternative to the tomato catchup.

2.4. Statistical analysis

The results obtained with the method evaluation were submitted to analysis of variance ($p \leq 0,05$) and the Tukey’s test.

3. Results and discussion

3.1 Method performance

Participating in interlaboratory studies and analysis of certified reference materials are considered the best means of verifying a laboratory’s capability to obtain accurate results. Both procedures are, however, costly; access to interlaboratory studies is rare and availability of reference materials that resemble the food samples of interest in terms of matrix and carotenoid composition is limited. Thus, laboratories must have some other means of verifying the validity of their results.

Among the carotenoids, lycopene has drawn concern analytically because of reported low recoveries from HPLC column and high intralaboratory (Hart & Scott, 1995) and interlaboratory (Scott, Finglas, Seale, Hart, & Froidmont-Görtz, 1996) coefficients of

variation. A lower range of linearity was also found for this carotenoid (Riso & Porrini, 1997). Konings & Roomans (1997) observed a considerable loss of lycopene, about 40%, even when biocompatible hastalloy frit was used. Metal surfaces, particularly stainless steel frits in the guard and analytical columns, were previously reported to promote carotenoid degradation (Scott, 1992), thus the use of metal-free columns and tubing for column connections had been recommended (Craft, Wise, & Soares, 1992; Hart & Scott, 1995). Because of the analytical problems with the HPLC determination of lycopene, even after two interlaboratory studies (Scott et al., 1996; Sharpless, Gill, Margolis, Wise, & Edgar, 1999), no reference material has been certified for lycopene; only reference values are given for a baby food composite and a dehydrated vegetable mix.

In the present study, before the lycopene concentrations in fresh and processed guava were determined and retention during processing was appraised, the analytical method was evaluated to guarantee the reliability of the results (Table 1). The lycopene concentrations obtained by correcting the total carotenoid content with the area percentage of lycopene, by the open column method and by HPLC are equivalent for samples 3 to 8 (six out of 10 samples). The lycopene contents obtained by the HPLC method are significantly higher ($p \leq 0.05$) for samples 1 and 10. Especially for sample 1, the value appears erroneous because it is higher than the total carotenoid content. For samples 2 and 9, the values obtained by open column method are significantly higher. The results showed that errors could occur in either the OCC or HPLC method; this is a complicated analysis that requires careful execution whatever method is used. In any case, the results showed that degradation of lycopene did not occur in the HPLC and open column methods used. Determining the total carotenoid content and correcting for the presence of minor peaks in a food sample containing about 90 % lycopene is a rapid

estimation of the concentration of this carotenoid. It is also an effective and simple means of verifying the coherence of quantitative data obtained by HPLC and open column methods, including the occurrence of degradation. The procedure can also be used for other carotenoids in samples where there is a single predominating carotenoid. Being the current method of choice internationally and considering the availability of the instrument in our laboratory, the HPLC method was used in the rest of this work.

3.2 Lycopene and β -carotene contents of marketed guava and guava products

β -Carotene exhibited a spectrum with λ_{max} at 428 (shoulder), 455 and 480 nm in the HPLC mobile phase with little fine spectral structure (% III/II = 25), consistent with a chromophore of 11 conjugated double bonds, two of which situated in β -rings. The absence of substituents was indicated by the retention time of 18.3 minutes under the chromatographic conditions used. This carotenoid co-chromatographed with β -carotene standard.

Lycopene absorbed maximally at 442, 473 and 502 nm in the HPLC mobile phase with defined peaks (% III/II = 67), commensurate with an acyclic structure with 11 conjugated double bonds. This carotenoid had a retention time of 23.0 minutes, indicating the absence of substituents and it co-chromatographed with lycopene standard.

The lycopene and β -carotene contents of fresh and processed guava are shown in Table 2 and the typical chromatogram is presented in Figure 2. Lycopene comprised about 91 and 93% of the total carotenoid content of the guava cultivars Paluma (66.0 $\mu\text{g/g}$) and Ogawa (57.0 $\mu\text{g/g}$), respectively, the levels being generally higher than those found in the cultivar IAC-4 from the state of São Paulo (53.4 $\mu\text{g/g}$) and guavas of

unknown cultivars from the states of Pernambuco (53.4 $\mu\text{g/g}$), Ceará (48.5 and 47.0 $\mu\text{g/g}$ for the round-shaped and pear-shaped guavas, respectively) and Rio de Janeiro (44.8-58.6 $\mu\text{g/g}$) analyzed previously (Padula & Rodriguez-Amaya, 1986; Wilberg & Rodriguez-Amaya, 1995). The cultivar Paluma has now substituted the cultivar IAC-4, which used to be the most commercialized guava in São Paulo.

The cultivar Paluma also had a higher β -carotene content (4.3 $\mu\text{g/g}$) than the cultivar Ogawa (2.3 $\mu\text{g/g}$). The β -carotene content obtained in this study for the cultivar Paluma is also higher than that encountered by Padula and Rodriguez-Amaya (1986) for guava IAC-4 of São Paulo (3.7 $\mu\text{g/g}$), but was lower than those of guavas from Ceará (6.6 $\mu\text{g/g}$ for the round-shaped and 5.5 $\mu\text{g/g}$ for the pear-shaped) and Pernambuco (11.9 $\mu\text{g/g}$).

The lycopene levels of the guava cultivars Paluma and Ogawa obtained in the present study are higher than those found in watermelon cultivar Crimson (36.0 $\mu\text{g/g}$) (Niizu & Rodriguez-Amaya, 2003), papaya cultivar Formosa (19 $\mu\text{g/g}$) (Kimura et al., 1991) and tomato cultivars Santa Cruz (31.1 $\mu\text{g/g}$) (Tavares & Rodriguez-Amaya, 1994) and Carmen (35.4 $\mu\text{g/g}$) (Niizu & Rodriguez-Amaya, 2004), but lower than that of pitanga (71.1 $\mu\text{g/g}$) (Porcu & Rodriguez-Amaya, unpublished result). All the above values are those of fruits produced in São Paulo to eliminate geographic effects in the comparison.

“Goiabada” had 59.8 to 83.0 $\mu\text{g/g}$ of lycopene and 3.7 to 7.4 $\mu\text{g/g}$ β -carotene, brand A presenting the higher levels. Since this is a concentrated product which should have much higher carotenoid contents than the fresh fruit, degradation apparently occurred, commensurate with the long and drastic processing condition.

For the frozen pulp, lycopene ranged from 37.4 to 72.6 $\mu\text{g/g}$ and β -carotene from a 2.7 to 4.5 $\mu\text{g/g}$, brand E and brand D having higher lycopene and β -carotene contents,

respectively. In the juice, lycopene varied from 32.6 to 60.0 $\mu\text{g/g}$ and β -carotene from 2.1 to 3.4 $\mu\text{g/g}$, with brand G having the higher lycopene levels. The wide variation and the lower values obtained for both products indicate that optimization of processing conditions is warranted to have better levels of lycopene in brands D and F of frozen pulp and brands H and I for juice. Variation in the carotenoid contents of processed products can be due to compositional variability of the raw material and variation in the duration and conditions of processing. The frozen pulp is not submitted to heat treatment and thus not subject to thermal degradation, but enzymatic oxidation can occur. On the other hand, the thermal processing of the juice can provoke oxidative degradation.

3.3 Effect of industrial processing

The concentrations of lycopene and β -carotene during industrial processing were also monitored (Table 3). In the guava raw material, lycopene and β -carotene were 85.2 and 4.5 $\mu\text{g/g}$, respectively. In the manufacture of “goiabada”, the °Brix increased from 9.5 to 74.8 °Brix, and the moisture content reduced from 84 % to 23 %, demonstrating concentration of the product, which should result in much higher carotenoid levels. “Goiabada”, however, had similar lycopene content (83.0 $\mu\text{g/g}$) and only a slightly higher β -carotene level (5.8 $\mu\text{g/g}$). Indeed, the percent retention, calculated on a dry weight basis, was only 20% for lycopene and 27% of β -carotene. Thus, considerable degradation occurred during the drastic processing, confirming the analytical data obtained with the marketed “goiabada”.

The higher lycopene (134.0 µg/g) and β-carotene (9.7 µg/g) contents of the refined pulp suggested some loss of water during processing, as indicated by the slightly higher °Brix (from 9.5 to 13.9 °Brix).

Since other ingredients (condiments, paprika, vinegar and xanthan gum) were added in the manufacture of “guatchup”, no conclusion can be drawn about its carotenoid content. In any case, all products including “goiabada” are rich sources of lycopene.

Acknowledgement

The authors acknowledge with gratitude the financial support given by MCT-CNPq-FINEP through the project PRONEX CNPq no. 66.2307/1996-8.

References

- Cavalcante, M. L., & Rodriguez-Amaya, D. B. (1992). Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. In G. Charalambous (Ed.), *Food science and human nutrition* (pp. 643-650). Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.
- Clinton, S. K. (1998). Lycopene: Chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutrition Reviews*, 56, 35-51
- Craft, N. E., Wise, S. A., & Soares, J. H. Jr. (1992). Optimization of an isocratic high-performance liquid chromatographic separation of carotenoids. *Journal of Chromatography*, 589, 171-176.
- Davies, B. H. (1976). Carotenoids. In T. W. Goodwin (Ed.), *Chemistry and biochemistry of plant pigments*, vol. 2 (pp. 38-165). London: Academic Press.
- Di Mascio, P., Kaiser, S., & Sies, H. (1989). Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 274, 532-538.
- Gärtner, C., Stahl, W., & Sies, H. (1997). Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *American Journal of Clinical Nutrition*, 66, 116-122.
- Gerster, H. Y. (1997). The potential role of lycopene for human health. *Journal of the American College of Nutrition* 16, 109-126.
- Giovannucci, E. (1999). Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. *Journal of the National Cancer Institute*, 91, 317-331.
- Hart, D. J., & Scott, K. J. (1995). Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content

- of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry*, 54, 101-111.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2004). IBGE Banco de Dados Agregados. Retrieved July 28, 2004 at <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/>.
- Kimura, M., Rodriguez-Amaya, D. B., & Yokoyama, S. M. (1991). Cultivar differences and geographic effects on the carotenoid composition and vitamin A value of papaya. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 24, 415-418.
- Konings, E. J. M., & Roomans, H. H. S. (1997). Evaluation and validation of an LC method for the analysis of carotenoids in vegetables and fruit. *Food Chemistry*, 59, 599-603.
- Niizu, P. Y., & Rodriguez-Amaya, D. B. (2003). Watermelon as source of lycopene. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 62, 195-199.
- Niizu, P. Y., & Rodriguez-Amaya, D. B. (2004). New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* (accepted for publication).
- Padula, M., & Rodriguez-Amaya, D. B. (1983). Comparison of the carotenoid composition and general properties of the processed juice of guava cultivar IAC-4 and commercial juices. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 3, 109-116.
- Padula, M., & Rodriguez-Amaya, D. B. (1986). Characterisation of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of Brazilian guavas (*Psidium guajava* L.). *Food Chemistry*, 20, 11-19.
- Riso, P., & Porrini, M. (1997). Determination of carotenoids in vegetable foods and plasma. *International Journal of Vitaminology and Nutrition Research*, 67, 47-54.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (1999). *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington, DC: Life Sciences Institute Press.

- Scott, K. J. (1992). Observations on some of the problems associated with the analysis of carotenoids in foods by HPLC. *Food Chemistry*, 45, 357-364.
- Scott, K. J., Finglas, P. M., Seale, R., Hart, D. J., & Froidmont-Görtz, I. (1996). Interlaboratory studies of HPLC procedures for the analysis of carotenoids in foods. *Food Chemistry*, 57, 85-90.
- Sharpless, K. E., Gill, L. M., Margolis, S. A., Wise, S. A., & Elkins, E. (1999). Preparation of standard reference material 2383 (baby food composite) and use of an interlaboratory comparison exercise for value assignment of its nutrient concentrations. *Journal of AOAC International*, 82, 276-287.
- Sies, H., & Stahl, W. (1998). Lycopene: Antioxidant and biological effects and its bioavailability in the human. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 218, 121-124.
- Stahl, W., & Sies, H. (1992). Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice. *Journal of Nutrition*, 122, 2161-2166.
- Stahl, W., & Sies, H. (1996). Lycopene: A biologically important carotenoid for humans? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 336, 1-9.
- Tavares, C. A., & Rodriguez-Amaya, D. B. (1994). Carotenoid composition of Brazilian tomatoes and tomato products. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 27, 219-224.
- Wilberg, V. C., & Rodriguez-Amaya, D. B. (1995). HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28, 474-480.

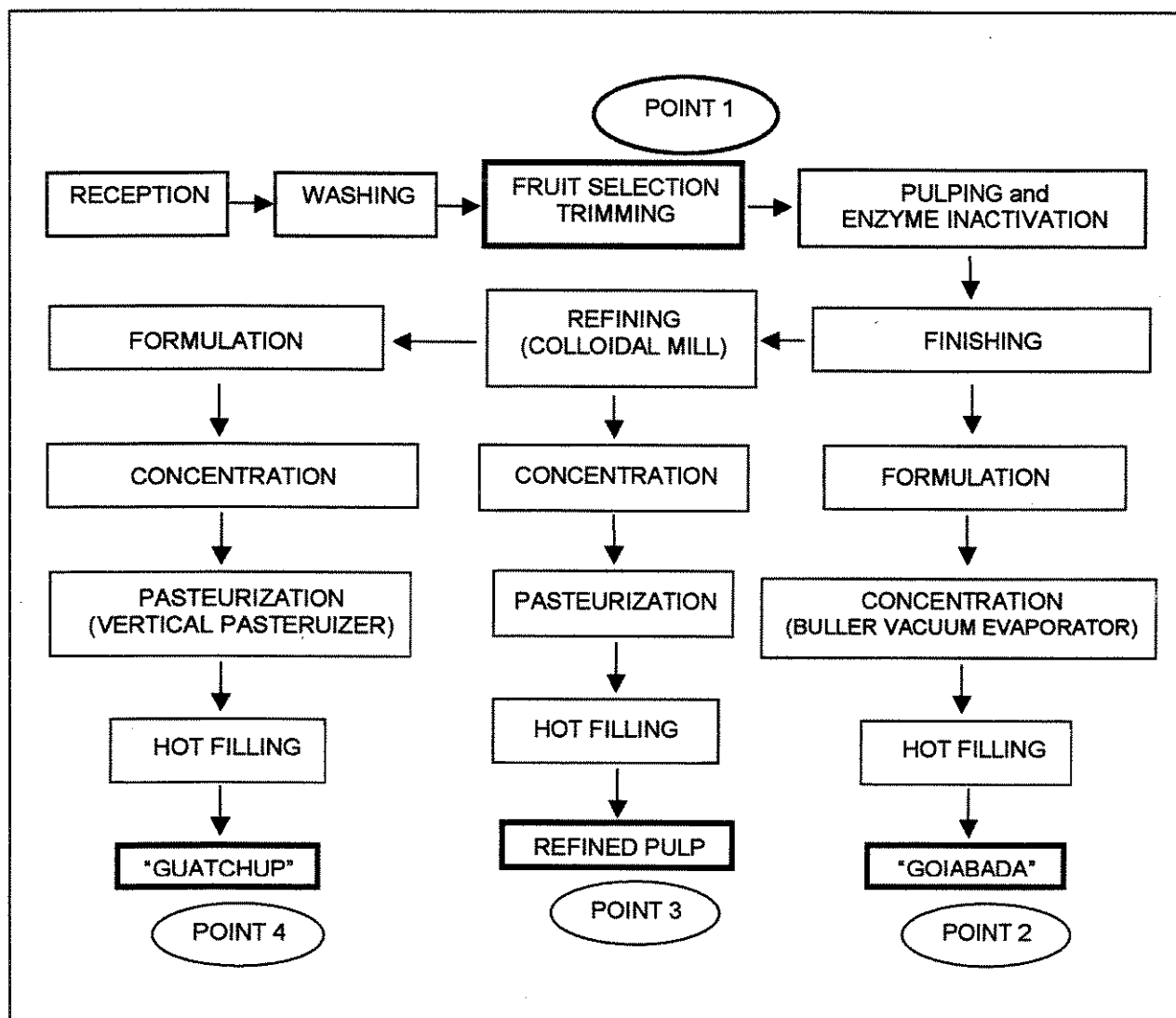


Fig. 1. Flowsheet of the industrial processing of pink-fleshed guava products, illustrating the four points where samples were collected.

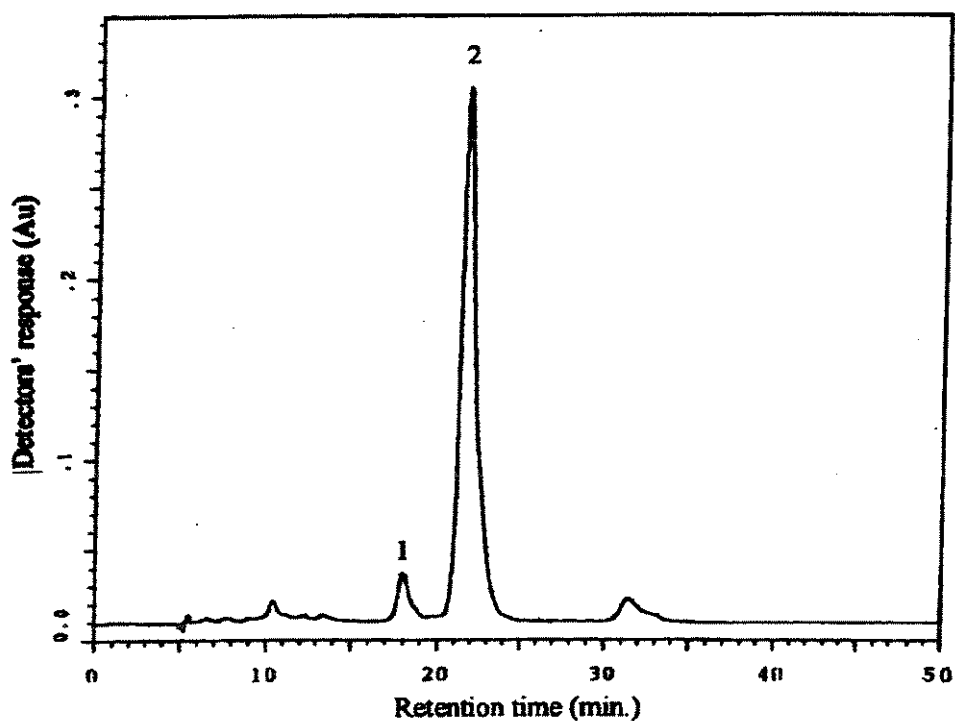


Fig. 2. Typical HPLC chromatogram of the carotenoids of pink-fleshed guava fruit. Identification of peaks: (1) β -carotene, (2) lycopene. Chromatographic conditions: Column C_{18} Vydac 218TP254 (5 μ m, 250 x 4.6 mm); Mobile phase: tetrahydrofuran:water:methanol (15:4:81) at 0.5 ml/min.

Table 1.

Comparison of the concentration of lycopene ($\mu\text{g/g}$) in pink-fleshed guava obtained by different methods

Guava sample	Total carotenoid	Corrected total carotenoid	Lycopene by OCC method	Lycopene by HPLC method
1	68.8 ± 0.2	61.9 ± 1.0 b	63.7 ± 0.1 b	72.4 ± 3.3 a
2	78.1 ± 0.9	66.9 ± 0.4 b	73.1 ± 1.6 a	67.3 ± 0.6 b
3	73.6 ± 1.0	67.5 ± 1.1 a	62.8 ± 1.5 a	67.1 ± 0.0 a
4	78.0 ± 0.0	68.6 ± 1.8 a	69.3 ± 0.8 a	67.4 ± 5.7 a
5	68.7 ± 0.6	60.2 ± 0.2 a	60.9 ± 0.1 a	60.2 ± 1.3 a
6	55.5 ± 1.2	49.7 ± 1.3 a	48.7 ± 1.0 a	51.9 ± 3.0 a
7	62.7 ± 0.4	55.7 ± 0.4 a	57.3 ± 0.8 a	61.1 ± 3.4 a
8	60.5 ± 1.1	54.7 ± 1.1 a	52.8 ± 2.8 a	52.1 ± 2.4 a
9	56.4 ± 1.0	49.9 ± 0.3 b	55.3 ± 2.4 a	49.6 ± 0.6 b
10	71.4 ± 0.5	64.6 ± 0.0 b	63.7 ± 0.3 b	69.5 ± 0.3 a

Means and standard deviations of duplicate analysis.

Means followed by the same letters in the same line did not differ statistically at 5% level of significance.

Table 2.

Lycopene and β -carotene contents ($\mu\text{g/g}$) of pink-fleshed guava fruit and processed guava products marketed in Campinas, Brazil

Sample	Origin Municipality/state	Total carotenoid	Lycopene	β -Carotene
<i>Guava</i>				
cv. Paluma	Monte Alto/São Paulo	72.5 ± 5.1	66.0 ± 5.2	4.3 ± 1.3
cv. Ogawa	Monte Alto/São Paulo	61.3 ± 6.4	57.0 ± 8.1	2.3 ± 0.8
<i>"Goiabada"</i>				
Brand A	Vista Alegre do Alto/São Paulo	88.2 ± 12.5	83.0 ± 6.6	7.4 ± 4.4
Brand B	Goiânia/Goiás	66.3 ± 3.7	59.8 ± 5.8	3.7 ± 2.8
Brand C	Nerópolis/Goiás	75.6 ± 16.1	65.0 ± 13.0	4.0 ± 2.5
<i>Frozen pulp</i>				
Brand D	Feira de Santana/Bahia	47.1 ± 13.6	37.4 ± 12.2	4.5 ± 2.0
Brand E	Jundiaí/São Paulo	85.1 ± 21.9	72.6 ± 17.6	3.5 ± 0.7
Brand F	Petrolina/Pernambuco	48.2 ± 16.9	43.7 ± 9.3	2.7 ± 1.2
<i>Processed juice</i>				
Brand G	Jundiaí/São Paulo	63.4 ± 4.1	60.0 ± 4.6	3.2 ± 0.7
Brand H	Araguari/Minas Gerais	34.7 ± 4.4	32.6 ± 3.6	2.1 ± 0.5
Brand I	Mogi das Cruzes/São Paulo	48.1 ± 20.8	45.8 ± 20.0	3.4 ± 1.1

Means and standard deviations of 5 sample lots analyzed individually in duplicate.

Table 3.

Changes in carotenoid contents ($\mu\text{g/g}$), °Brix, pH and moisture (%) during industrial processing of pink-fleshed guava

Sample	Total carotenoid	Lycopene	β -carotene	°Brix	pH	Moisture
Guava (cv. Paluma)	92.8 ± 9.5	85.2 ± 4.7	4.5 ± 2.5	9.5	3.53	84
“Goiabada”	94.5 ± 2.8	83.9 ± 2.0	5.8 ± 1.3	74.8	3.69	23
Refined pulp	146.8 ± 1.2	134.0 ± 3.0	9.7 ± 1.9	13.9	3.67	---
“Guatchup”	125.6 ± 0.8	98.3 ± 1.3	5.8 ± 0.3	33.0	3.50	73

Means and standard deviations of 3 sample lots analyzed in triplicate.

CAPÍTULO 3

VARIATION IN THE CAROTENOID COMPOSITION OF ACEROLA AND ITS PROCESSED PRODUCTS

Ornella Maria Porcu and Delia B. Rodriguez-Amaya*

Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

Universidade Estadual de Campinas, C.P. 6121, CEP 13083-862, Campinas, SP, Brasil.

*To whom correspondence should be sent (e-mail: delia@fea.unicamp.br;

fax: 55-19-3788-2153; telephone: 55-19-3788-4013)

Artigo a ser submetido ao Food Science and Technology International

Abstract

Neoxanthin, violaxanthin, lutein, β -cryptoxanthin, α -carotene and β -carotene were found in the acerola fruit. β -Carotene predominated with mean concentrations of 12.4 and 38.1 $\mu\text{g/g}$ in the ripe fruit, 8.8 and 30.1 $\mu\text{g/g}$ in the peeled ripe fruit and 5.4 and 12.0 $\mu\text{g/g}$ in the partially ripe fruit of an undefined variety taken from home gardens and the commercial cultivar Olivier, respectively. Except for lutein in the garden fruits and neoxanthin in the commercial fruits, all carotenoids had lower levels in the partially ripe fruits. Peeling reduced the levels of the provitamins A β -carotene and α -carotene; violaxanthin and lutein decreased in the commercial fruits and the other carotenoids remained virtually unchanged. Four brands of frozen pulp had β -cryptoxanthin (0.2 to 1.0 $\mu\text{g/g}$), α -carotene (0.1 to 0.5 $\mu\text{g/g}$), and β -carotene (3.0 to 16.5 $\mu\text{g/g}$). Lutein (1.0 to 1.2 $\mu\text{g/g}$) was found in brands B, C and D; only brand D had neoxanthin (0.5 $\mu\text{g/g}$) and brands C and D, violaxanthin (0.02 to 0.4 $\mu\text{g/g}$). In three brands of processed juice, the ranges for lutein, β -cryptoxanthin, α -carotene and β -carotene were 0.2 to 0.6 $\mu\text{g/g}$, 0.4 to 1.0 $\mu\text{g/g}$, 0.2 to 0.7 $\mu\text{g/g}$ and 2.7 to 10.1 $\mu\text{g/g}$, respectively.

Keywords: Carotenoids, acerola, β -carotene, liquid chromatography, processed products.

INTRODUCTION

Brazil has a wide variety of tropical, subtropical and temperate fruits that are carotenogenic (Rodriguez-Amaya, 1999b, 2002). Among the tropical Brazilian fruits is acerola (*Malpighia glabra* Linn.) of the family *Malpighiaceae*. Dark red when ripe, the succulent fruit originated from Central America and north of South America. It is also known popularly as cherry of Antilles, cherry of Barbados or West Indian cherry (Silva, 1996). Production of this fruit is increasing worldwide with Brazil as the leading producer.

In Brazil, acerola is now widely consumed as fresh fruit, fresh and thermally processed juice, frozen pulp transformed into juice just before consumption or juices in combination with other fruits. Acerola is being produced commercially for both the domestic market and for export to Japan, U.S.A. and Europe. There is good potential for expansion, but more research on this fruit is needed. For many years, the same undefined variety was produced. In more recent years, concomitant with commercial production, improved varieties are being developed.

Considered as one of the richest natural sources of vitamin C (Asenjo and Moscoso, 1950; Vendramini and Trugo, 2000), acerola is also a good source of β -carotene. In acerola of an unspecified variety, this carotenoid varied from 4.0 $\mu\text{g/g}$ to 21.5 and 25.8 $\mu\text{g/g}$ in fruits from São Paulo (Southeastern Brazil), Ceará and Pernambuco (the last two states are both of Northeastern Brazil) (Cavalcante and Rodriguez-Amaya, 1992), indicating that the hot climate of the Northeastern region favored carotenoid biosynthesis.

The purpose of the present work was to determine the concentrations of the carotenoids of acerola fruit, verifying the effects of stage of maturity and peeling, and of frozen pulp and bottled fruit juice.

MATERIALS AND METHODS

Sample Collection

Five sample lots of acerola (*Malpighia glabra* L.) were collected from home gardens in the city of Campinas, state of São Paulo, Brazil, during the seasons of October/2000 to February/2001 and October/2001 to February/2002. Each lot consisted of 60 to 100 fruits, from which 15 to 20 fruits each were taken for the analysis of ripe, ripe and peeled, and partially ripe fruits. An orange-red peel characterized the partially ripe stage and the fully red peel the ripe stage. The partially ripe fruits had an average weight of 5 g and a mean size of 2 x 2 cm, were firm and had a sour taste. The ripe fruits had the same weight and size as the partially ripe fruits, had softer texture and also a sour taste. The fruits were deseeded and homogenized with a food processor. Two subsamples of 15 to 20 g samples were taken for analysis.

Three sample lots of acerola were also purchased at a supermarket in Campinas in January/2002, originating from a commercial orchard in Junqueirópolis, state of São Paulo. These fruits were of the cultivar Olivier, which was developed and optimized by

the Agricultural Association of Junqueirópolis for commercial production in this region. Each sample lot consisted of 60-70 fruits, having a mean size of 2 x 2.5 cm, from which 10-15 fruits each of ripe, ripe and peeled, and partially ripe fruits were taken. After deseeding and homogenizing with a food processor, subsamples of 15 g were taken for analysis.

Three brands of processed fruit juice and four brands of frozen pulp were bought at supermarkets in Campinas. Each lot consisted of three units (500 mL bottles, 100 g packages), the contents of which were homogenized in a food processor, 15 g of frozen pulp and 15 to 20 g of bottled fruit juice being taken for analysis.

Methods

Isolation of Carotenoid Standards and Construction of Standard Curves

Standards of neoxanthin, violaxanthin and lutein were isolated from parsley, β -cryptoxanthin was obtained from frozen pulp of acerola, and α -carotene and β -carotene from carrot. The carotenoids were extracted (from about 30 g of parsley, 100-200 g of frozen acerola pulp and 20-30 g of carrot) with cold acetone and the extract of the frozen pulp saponified (the extracts of parsley and carrot were not saponified) as described below. After concentration in a rotary evaporator, the desired carotenoids were isolated by open column chromatography (OCC) using an activated MgO:Hyflosuperpel (1:1) column, according to Kimura and Rodriguez-Amaya (2002). Violaxanthin was eluted from the column with 12% acetone, lutein with 18% acetone

and neoxanthin with 50% acetone in petroleum ether. α -Carotene and β -carotene were eluted with 0.5% and 1% ethyl ether in petroleum ether, respectively. β -Cryptoxanthin was eluted from the column with 5% acetone in petroleum ether. The carotenoid concentrations were determined spectrophotometrically (Davies, 1976).

The average purity as verified by HPLC was 99%, 99%, 93%, 95%, 96% and 96% for violaxanthin, lutein, neoxanthin, α -carotene, β -carotene and β -cryptoxanthin, respectively. The concentrations of the standard solutions were corrected accordingly.

Aliquots of the carotenoid isolates (in petroleum ether) were taken in volumes that would give the relative proportion found in the samples, mixed and made up to volume. Aliquots were transferred to culture tubes and dried under N_2 . Immediately before injection, the carotenoids were redissolved in HPLC grade acetone (1 mL) and filtered through a syringe filter (0.22 μ m PTFE), 10 μ L being injected into the liquid chromatograph. Standard curves were constructed, consisting of five points in triplicate. The curves passed through the origin, bracketed the expected concentrations of the carotenoids in the samples and had coefficient of correlation of 0.9905, 0.9932, 0.9928, 0.9956, 0.9999, and 0.9982 for violaxanthin, lutein, neoxanthin, α -carotene, β -carotene and β -cryptoxanthin, respectively.

Carotenoid Analysis

The carotenoid extract was prepared according to Rodriguez-Amaya (1999a). The carotenoids were extracted from the acerola samples with cold acetone (total of about 150 mL per sample) with a mortar and pestle, the extraction and subsequent filtration being repeated until the residue turned colorless (5 times). The carotenoids were

partitioned to petroleum ether (70-100 mL) and saponified overnight with equal volume of 10% KOH in methanol with 0.1% BHT. After washing to neutral pH, the carotenoid solution was concentrated in a rotary evaporator ($T \leq 35^{\circ}\text{C}$) and brought to dryness under nitrogen. The carotenoids were injected into the HPLC equipment as described above.

The HPLC system consisted of a Waters separation module (model 2690), equipped with an autosampler injector and a UV-visible photodiode array detector (Waters model 996), controlled by a Millennium workstation (version 2010). Detection was at the wavelengths of maximum absorption (max plot: 420–550 nm). Reversed phase chromatography was carried out, using a monomeric C_{18} column (Spherisorb ODS2, 3 μm , 4.6 x 150 mm). The mobile phase consisted of acetonitrile containing 0.05% triethylamine, methanol and ethyl acetate, in a concave gradient (curve 10) from a proportion of 90:10:0 to 55:10:35 in 30 min, maintaining the last proportion until the end of the run. Reequilibration took 15 min. The flow rate was 0.5 mL/min. The average room temperature was 21°C .

Identification of the carotenoids was done according to Rodriguez-Amaya (1999a). This involved the combined use of retention times, co-chromatography with authentic carotenoids, visible spectra (λ_{max} and spectral fine structure) obtained with a recording spectrophotometer (Beckman, model DU[®]640) and with the photodiode array detector. Quantification was done by external standardization.

To express the spectral fine structure, the % III/II was calculated. This is the ratio of the height of the longest-wavelength absorption peak, designated III, and that of the middle absorption peak, designated II, taking the minimum between the two peaks as baseline, multiplied by 100 (Britton, 1995).

Comparison of OCC and HPLC Determination of β -Carotene

Carotenoids were extracted from homogenized samples of ripe acerola (15-20 g) and partitioned to petroleum ether as described above. The petroleum ether solution was reduced to a volume of 50 mL. From this solution, an aliquot (5-10 mL) was evaporated with N₂, redissolved in HPLC grade acetone, filtered in a syringe filter (0.22 μ m PTFE) and injected (10 μ L) into the liquid chromatograph (HPLC conditions are described above). The rest of the solution (40-45 mL) was concentrated in the rotary evaporator (T $\leq$ 35°C) and β -carotene was separated by OCC with MgO:Hyflosupercel (1:1) as adsorbent (Rodriguez-Amaya, 1999a). β -Carotene was eluted from the column with 0.5-1% ethyl ether in petroleum ether and the concentration was determined spectrophotometrically.

Statistical Analysis

The results obtained by OCC and HPLC were evaluated by analysis of Paired T-Test using Minitab Release 14, Statistical Software for Windows.

RESULTS AND DISCUSSION

Qualitative Composition

Typical chromatograms of the carotenoids of acerola are shown in Figure 1. The following carotenoids were identified in the fruit: neoxanthin (5',6'-epoxy-6,7-

didehydro-5,6,5',6'-tetrahydro- β,β -carotene-3,5,3'-triol), violaxanthin (5,6,5',6'-diepoxy-5,6,5',6'-tetrahydro- β,β -carotene-3,3'-diol), lutein (β,ϵ -carotene-3,3'-diol), β -cryptoxanthin (β,β -caroten-3-ol), α -carotene (β,ϵ -carotene) and β -carotene (β,β -carotene).

Neoxanthin: The absorption spectrum with ($\lambda_{\max}$ at 414, 438, 466 nm in petroleum ether and at 415, 439, 467 nm in the mobile phase and defined fine structure, % III/II = 88) were consistent with a carotenoid having nine conjugated double bonds and an allene group in the polyene chain.

Violaxanthin: The $\lambda_{\max}$ at 416, 440, 469 nm in petroleum ether and at 417, 442, 471 nm in the mobile phase and the well defined fine structure (% III/II = 98) of the UV-visible spectrum were characteristic of a carotenoid with nine conjugated bonds in the polyene chain.

Lutein: The absorption spectrum ($\lambda_{\max}$ at 422, 444, 473 nm in petroleum ether and at 424, 448, 476 nm in the mobile phase and less fine structure, % III/II = 60) was typical of a carotenoid with 10 conjugated double bonds, nine in the polyene chain and one in β -ring.

β -Cryptoxanthin: The absorption spectrum with $\lambda_{\max}$ at 425 (shoulder), 448 and 476 nm in petroleum ether and at 428 (shoulder), 454, 480 nm in the mobile phase and much lower spectral fine structure (% III/II = 25), was that of a carotenoid with 11 conjugated double bonds, nine in the polyene chain and two in β -rings.

α -Carotene: The absorption spectrum similar to that of lutein was compatible with a chromophore of 10 conjugated double bonds, one of which situated in a β -ring and nine in the polyene chain.

β -Carotene: The absorption spectrum resembled that of β -cryptoxanthin, reflecting the 11 conjugated double bonds, two of which situated in β -rings.

The order of elution from the HPLC column and co-chromatography with the corresponding standards completed the identification. Identification of the carotenoids of acerola has been confirmed by HPLC-MS (mass spectrometry) by Azevedo-Meleiro and Rodriguez-Amaya (2004).

Quantitative Composition

The β -carotene contents obtained by open column and HPLC methods are presented in Table 1. The results for eight samples did not differ significantly ($p \leq 0.05$), attesting to the reliability of both methods and showing that either method could be used to quantify β -carotene.

The quantitative composition of acerola is presented in Table 2. β -Carotene, the principal carotenoid, comprised about 69% and 86% of the total carotenoid content of the ripe fruits from the garden and commercial orchard, respectively (Table 2). Notably, the β -carotene content of the commercial ripe fruits (cultivar Olivier) was three times that of the garden fruits, demonstrating the superiority of the commercial variety, aside from optimized conditions of production.

Ripe acerola also from the state of São Paulo, investigated by Cavalcante & Rodriguez-Amaya (1992), had lower β -carotene content than the values obtained in the present study. Since the OCC method used by Cavalcante & Rodriguez-Amaya was shown to be equivalent (Table 1) to the HPLC method employed in the present study, the differences appear to be natural variation. Because there was no preoccupation in the

previous study to separate the fully ripe and partially ripe cherries, stage of maturity could be one of the influencing factors.

Peeling of the ripe fruit resulted in lower concentrations of α -carotene and β -carotene in both garden and commercial fruits (Table 2). Violaxanthin also decreased on peeling in the supermarket lot. All the other carotenoids remained virtually unchanged. β -Carotene increased 2 to 3 times from the partially ripe to the ripe fruits. There was also an increase in α -carotene, β -cryptoxanthin and violaxanthin. Enhancement of carotenoid formation during ripening was also observed in studies of other fruits (Gross, 1987; Rodriguez-Amaya, 1993, 1999b; Hulshof et al., 1997; Mercadante and Rodriguez-Amaya, 1998).

The β -carotene content of the whole ripe acerola, cultivar Olivier, is higher than those of mango cultivars Bourbon (8.1 $\mu\text{g/g}$), Haden (6.6 $\mu\text{g/g}$), Extreme (25.4 $\mu\text{g/g}$), Golden (18.0 $\mu\text{g/g}$) (Godoy and Rodriguez-Amaya, 1989) and Tommy Atkins (5.8 $\mu\text{g/g}$) (Mercadante and Rodriguez-Amaya, 1998), and loquat (7.8 $\mu\text{g/g}$) (Godoy and Rodriguez-Amaya, 1995). All these values are those of fruits produced in São Paulo to eliminate geographic effects in the comparison.

Tables 2 and 3 show the concentrations of the principal carotenoids of the frozen pulp and fruit juice of acerola, respectively. Processing altered the carotenoid composition qualitatively and quantitatively.

For the frozen pulp, the product from São Paulo (Southeastern Brazil) (brand D) had higher carotenoid levels (Table 3). Considering the work of Cavalcante and Rodriguez-Amaya (1992), which demonstrated high β -carotene levels in acerola from the Northeastern region, these results indicate better quality control in the São Paulo processing plants, aside from using the β -carotene-rich cultivar Olivier as raw material.

Nevertheless, the β -carotene content of brand D was still only about half of that of the fresh fruit. Since the frozen pulp was not submitted to thermal treatment, this low value was apparently due to enzymatic oxidation. The food processor should consider blanching to inactivate the enzyme responsible for carotenoid oxidation. Neoxanthin was not detected in the brands manufactured in the Northeast. Of the three Northeastern brands, violaxanthin was found in brand C, lutein was not detected in one brand and brand C had the highest carotenoid levels.

The carotenoid contents of the juice were generally low (Table 4). Neoxanthin was not detected in any one of the three brands of juice. Violaxanthin was not detected in brand E and it was found at very low and trace levels in brands F and G, respectively. The low levels could be due to any one or a combination of the following causes: (a) there could be an appreciable amount of partially ripe fruits in the raw material used; (b) the peel or at least part of the peel was removed during the pulping process; (c) degradation occurred during the thermal processing; (d) the raw material or the juice were stored for some time. Brand E was especially low in carotenoids, indicating lack of quality control at the processing plant.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the financial support through the Project PRONEX N^o 66.2307/1996-8.

REFERENCES

- Asenjo, C.F. and Moscoso, C.G. (1950). Ascorbic acid content and other characteristics of the West Indian cherry. *Food Research* **15**: 103-106.
- Azevedo-Meleiro, C. H. and Rodriguez-Amaya, D.B. (2004). Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Journal of Food Composition and Analysis* **17**: 385-396.
- Britton, G. (1995). UV/visible spectroscopy. In: Britton, G., Liaaen-Jensen, S. and Pfander, H. (eds.), *Carotenoids Vol. 1B: Spectroscopy*. Basel: Birkhäuser Verlag, pp.13-62.
- Cavalcante, M.L. and Rodriguez-Amaya, D.B. (1992). Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. In Charalambous, G. (ed.), *Food Science and Human Nutrition*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., pp.643-650.
- Davies, B.H. (1976). Carotenoids. In: Goodwin, T.W. (ed.), *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, Vol. 2, London: Academic Press, pp.38-165.
- Godoy, H.T. and Rodriguez-Amaya, D.B. (1989). Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* **22**: 100-103.
- Godoy, H.T. and Rodriguez-Amaya, D.B. (1994). Occurrence of *cis*-isomers of pro-vitamin A in Brazilian fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **42**: 1306-1313.
- Godoy, H.T. and Rodriguez-Amaya, D.B. (1995). Carotenoid composition and vitamin A value of Brazilian loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* **45**: 336-339.

Gross, J. (1987). *Pigments in Fruits*. London: Academic Press.

Hulsholf, P.J.M., Xu, C., van de Bovenkamp, P., Muhilal and West, C.E. (1997).

Application of a validated method for the determination of pro-vitamin A carotenoids in Indonesian foods of different maturity and origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 1174-1179.

Kimura, M. and Rodriguez-Amaya, D.B. (2002). A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. *Food Chemistry* 78: 389-398.

Meet Minitab Release 14 for Windows®, 2003. Minitab Inc. ISB 0-925636-48-7, USA.

From the Wide

Web:<http://www.minitab.com/products/minitab/14/documentation.aspx>

Mercadante, A.Z. and Rodriguez-Amaya, D.B. (1998). Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 6: 128-130.

Rodriguez-Amaya, D.B. (1993). Nature and distribution of carotenoids in foods. In: Charalambous, G. (ed.), *Shelf life Studies of Foods and Beverages: Chemical, Biological, Physical and Nutritional Aspects*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V., pp. 547-587.

Rodriguez-Amaya, D.B. (1999a). *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. Washington DC: ILSI Press.

Rodriguez-Amaya, D.B. (1999b). Latin American food sources of carotenoids. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 49: 74S-84S.

Rodriguez-Amaya, D.B. (2002). Brazil: A bounty of carotenoid sources. *Sight and Life Newsletter* 4: 3-9. Silva, S.P. (1996). *Frutas no Brasil*. São Paulo: Empresa das Artes, pp. 23-24.

Vendramini, A.L. and Trugo, L.C. (2000). Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. *Food Chemistry* 71: 195-198.

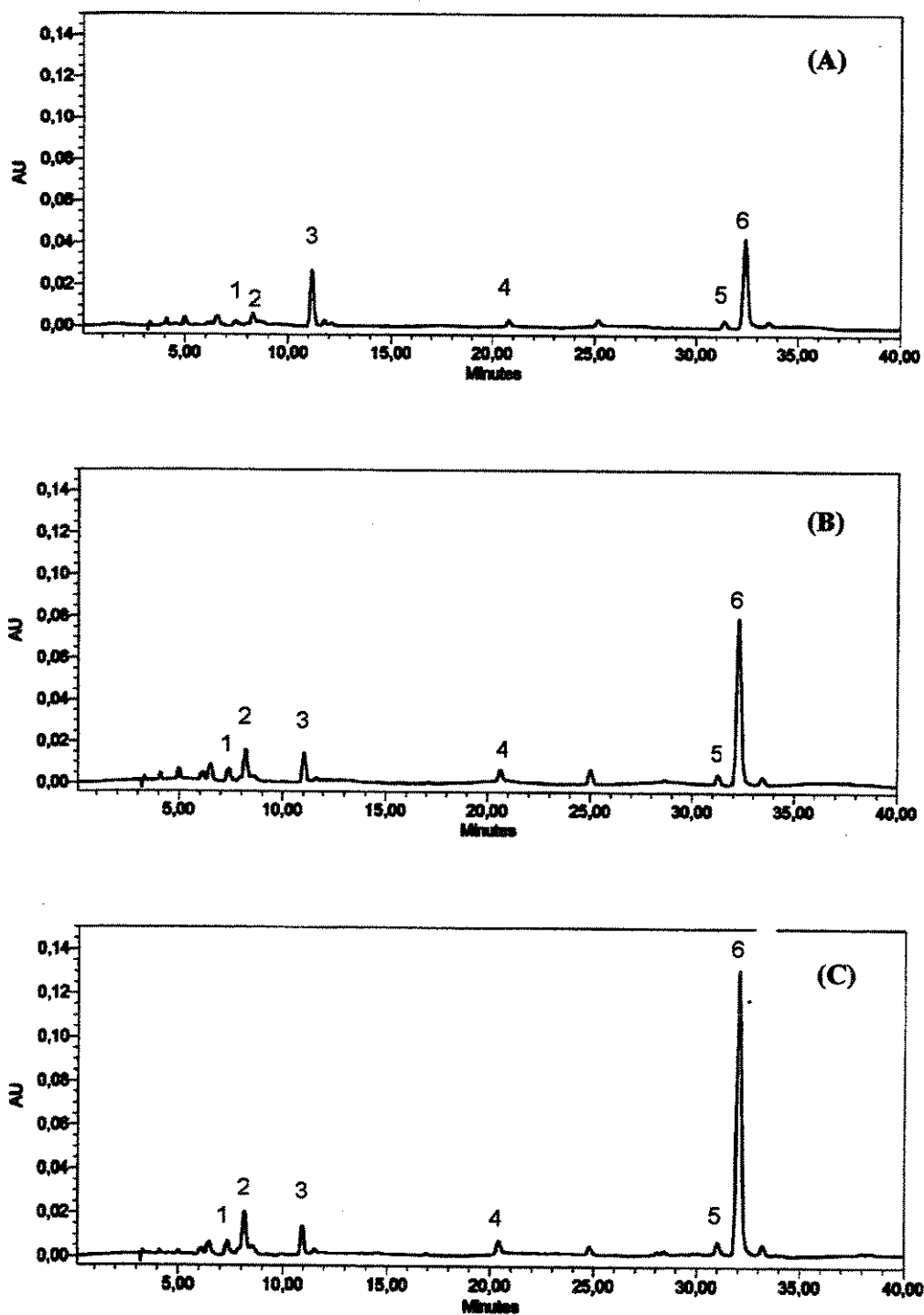


Figure 1. Typical HPLC chromatograms of the carotenoids from West Indian cherry (*Malpighia glabra* L.), cultivar Olivier, fresh fruit. (A) partially ripe; (B) ripe, peeled; (C) ripe with peel. Detection at λ_{max} . HPLC conditions are described in the text. Peak identification: 1- neoxanthin; 2- violaxanthin; 3- lutein; 4- β -cryptoxanthin; 5- α -carotene and 6- β -carotene .

Table 1. Comparison of the β -carotene content of ripe acerola (undefined variety) fruit determined by OCC and HPLC methods.

Sample	β -Carotene Content by OCC Method	β -Carotene Content by HPLC Method
	($\mu\text{g/g}$)	($\mu\text{g/g}$)
1	10.9	10.4
2	8.8	9.6
3	11.3	10.9
4	8.5	8.4
5	10.1	10.8
6	11.0	11.3
7	7.2	7.9
8	10.8	10.6

Table 2. Effect of peeling and ripening on the carotenoid content of acerola.

Carotenoid	Concentration ($\mu\text{g/g}$)					
	Garden Lots (undefined cultivar) ¹			Supermarket Lots (cultivar Olivier) ²		
	Partially Ripe	Ripe, Peeled	Ripe	Partially Ripe	Ripe, Peeled	Ripe
Neoxanthin	1.0 ± 0.4	1.4 ± 0.4	1.4 ± 0.5	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
Violaxanthin	0.3 ± 0.3	0.7 ± 0.4	0.6 ± 0.4	0.7 ± 0.1	1.6 ± 0.3	3.1 ± 0.6
Lutein	1.6 ± 0.9	1.2 ± 0.6	1.3 ± 0.9	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.2	1.1 ± 0.1
β -Cryptoxanthin	0.5 ± 0.1	0.8 ± 0.2	1.1 ± 0.4	0.3 ± 0.0	1.1 ± 0.4	1.2 ± 0.1
α -Carotene	0.5 ± 0.4	0.7 ± 0.5	1.1 ± 0.8	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.5	0.7 ± 0.0
β -Carotene	5.4 ± 1.0	8.8 ± 1.6	12.4 ± 1.7	12.0 ± 0.7	30.1 ± 4.6	38.1 ± 5.3

¹Means and standard deviations of 5 sample lots analyzed in duplicate.²Means and standard deviations of 3 sample lots analyzed in duplicate.

Table 3. Carotenoid content of the frozen pulp of acerola, marketed in Campinas, Brazil.

Carotenoid	Carotenoid Concentration ($\mu\text{g/g}$)			
	Brand A	Brand B	Brand C	Brand D
Neoxanthin	ND	ND	ND	0.5 ± 0.2
Violaxanthin	ND	ND	0.02 ± 0.0	0.4 ± 0.2
Lutein	ND	1.0 ± 0.4	1.0 ± 0.4	1.2 ± 0.3
β -Cryptoxanthin	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.3	1.0 ± 0.4	0.8 ± 0.3
α -Carotene	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.3	0.4 ± 0.1
β -Carotene	3.0 ± 1.8	7.1 ± 5.6	13.0 ± 2.8	16.5 ± 3.4

Means and standard deviations of 3 sample lots for brand A, 4 sample lots for brand B and 5 sample lots for brands C and D, each lot analyzed in duplicate. Brand A came from Ipiauí, Bahia, brand B from Mossoró, Rio Grande do Norte, brand C from Feira de Santana, Bahia and brand D from Jundiaí, São Paulo. ND – not detected.

Table 4. Carotenoid content of acerola juice, marketed in Campinas, Brazil.

Carotenoid	Carotenoid Concentration ($\mu\text{g/g}$)		
	Brand E	Brand F	Brand G
Violaxanthin	ND	0.04 ± 0.0	0.1 ± 0.0
Lutein	0.2 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1
β -Cryptoxanthin	0.4 ± 0.2	1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.1
α -Carotene	0.3 ± 0.3	0.7 ± 0.4	0.2 ± 0.1
β -Carotene	2.7 ± 1.4	8.0 ± 1.6	10.1 ± 1.9

Means and standard deviations of 3 sample lots for brand E, 5 sample lots for brand F and G, each lot analyzed in duplicate. Brand E came from Coruripe, Alagoas, brand F from Aracati, Ceará and brand G from Belo Jardim, Pernambuco. ND – not detected.

CAPÍTULO 4

PRINCIPAL CAROTENOIDS OF PITANGA (*Eugenia uniflora* L.) FRUIT AND ITS PROCESSED PRODUCTS

ORNELLA MARIA, PORCU AND DELIA B., RODRIGUEZ-AMAYA

Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

Universidade Estadual de Campinas, C.P. 6121, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Artigo a ser submetido ao *Journal of the Science of Food and Agriculture*

Principal Carotenoids of Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Fruit and its Processed Products

The principal carotenoids of the pitanga fruit from two states and at two stages of ripening, as well as of processed pitanga products (frozen pulp and juice) marketed in Campinas, São Paulo, were determined by HPLC using external standardization. Alterations occurred from the partially ripe to the ripe fruits, with lycopene increasing two to three times, β -cryptoxanthin and rubixanthin increasing appreciably, and γ -carotene, β -carotene, lutein and violaxanthin increasing slightly. As compared with pitanga from Medianeira-PR, those from Campinas-SP have higher lycopene (14.0 vs 71.1 $\mu\text{g/g}$), 13-*cis*-lycopene (1.1 vs 5.0 $\mu\text{g/g}$) and γ -carotene (1.6 vs 3.8 $\mu\text{g/g}$) contents, but close values of β -cryptoxanthin (12.8 vs 11.8 $\mu\text{g/g}$) and lower levels of rubixanthin (11.5 vs 9.4 $\mu\text{g/g}$) levels in the ripe stage. The lycopene concentration was 16.6 $\mu\text{g/g}$ for frozen pulp, 23.0 $\mu\text{g/g}$ for bottled juice brand B and 25.6 $\mu\text{g/g}$ for bottled juice brand C, commercialized in Campinas, São Paulo.

Keywords: carotenoids, pitanga, liquid chromatography, processed products, maturity effects, geographic effects.

INTRODUCTION

Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) belongs to the *Myrtaceae* family and it is also known as Surinam cherry or Brazilian cherry. It is commonly found in Southeastern, Southern, Central-Western and Northeastern Brazil, mainly in the state of Pernambuco.

The fruit passes from green to yellow (unripe) and orange (partially ripe), reaching intense red when totally ripe. It is largely consumed in the Northeastern region as fresh fruit, fruit juice, frozen pulp, jam, liquor and wine (1). Consumption of this fruit has extended to other regions of Brazil.

Cavalcante and Rodriguez-Amaya (2) quantified by open column chromatography/spectrophotometry lycopene (73.0 $\mu\text{g/g}$), γ -carotene (52.7 $\mu\text{g/g}$), β -cryptoxanthin (47.0 $\mu\text{g/g}$), rubixanthin (23.0 $\mu\text{g/g}$), phytofluene (13.1 $\mu\text{g/g}$), β -carotene (9.5 $\mu\text{g/g}$) and ζ -carotene (4.7 $\mu\text{g/g}$), in pitanga from Pernambuco.

The present study had the objective of quantifying the principal carotenoids of pitanga fruit from two states (São Paulo and Paraná), at two stages of maturity. Processed products (fruit juice and frozen pulp) were also analyzed.

MATERIALS AND METHODS

Sample collection. Pitanga fruits were collected from different home gardens in the cities of Campinas (state of São Paulo) and Medianeira (state of Paraná), Brazil, during the season of August/2002 to February/2003. The fruits were collected at two stages of maturity, as shown by the color. An orange peel characterized the partially ripe stage

and an intense red peel the ripe stage. The partially ripe fruits were firm and had an average weight of 3.3 g and a mean size of 1.0 x 1.5 cm. The ripe fruit had similar weight (3.6 g) and size (1.0 x 1.6 cm) but the pulp was soft and succulent. Five lots were collected and analyzed for each state. Each lot of fruits consisted of 100 fruits, from which 15 to 20 each were taken for partially ripe and ripe fruits. They were deseeded and homogenized with a food processor. Samples of 3 to 5 g were taken for analysis.

The samples of bottled fruit juice (two different brands) and frozen pulp (one brand only) were purchased from supermarkets in the city of Campinas. The number of lots analyzed per brand depended on the availability of the product at the time of analysis. Each sample lot consisted of three units (500 mL bottles, 100 g packages) that were combined and homogenized in a food processor. Two to 4 g for bottled fruit juice and 3 g for frozen pulp were drawn for analysis.

Isolation of carotenoid standards and construction of standard curves. Standards of violaxanthin and lutein were isolated from parsley, β -carotene was obtained from carrot, and β -cryptoxanthin, γ -carotene, lycopene and rubixanthin from frozen pulp of pitanga. The carotenoid standards were isolated by open column chromatography (OCC) according to a procedure described in detail by Kimura and Rodriguez-Amaya (3). The carotenoids were extracted with acetone, partitioned to petroleum ether and separated in an activated (2 h, 105 °C) magnesium oxide:Hyflosupercel (1:1) column. β -Carotene was eluted with 0.5-1 % ethyl ether in petroleum ether (PE), γ -carotene with 5-6 % acetone (AC) in PE, β -cryptoxanthin with 8-10 % AC in PE, lycopene with 20-24 % AC in PE and rubixanthin with 26-30 % AC in PE. When rubixanthin was obtained with its *cis*-isomer, rechromatography was carried out in a Ca(OH)_2 :Hyflosupercel column (1:1) to separate this *cis*-isomer. Violaxanthin and lutein were eluted with 12 %

and 18 % AC in PE, respectively. Fractions with acetone were washed (4-5 times) with distilled water in a separatory funnel to remove this solvent. The carotenoid standard solutions were dried with anhydrous sodium sulfate, concentrated in a rotary evaporator, and taken to known volumes for spectrophotometric reading and concentration calculation (4). The average purity of the isolated carotenoid standards monitored by HPLC (expressed as peak area percentage of the standard related to the total of peak areas at the wavelength of maximum absorption) was 98 %, 97 %, 91 %, 99 %, 94 %, 91 % and 98 % for violaxanthin, lutein, rubixanthin, β -cryptoxanthin, lycopene, γ -carotene and β -carotene, respectively. The concentrations of the standard solutions were corrected accordingly. Standard curves were constructed consisting of five points in triplicate. The curves passed through the origin and bracketed the expected concentrations of the carotenoids in the samples. The coefficients of correlation for the standard curves were 0.9955, 0.9902, 0.9970, 0.9954, 0.9988, 0.9899 and 0.9972 for violaxanthin, lutein, rubixanthin, β -cryptoxanthin, lycopene, γ -carotene and β -carotene, respectively. *Cis*-rubixanthin and 13-*cis*-lycopene were quantified, using the standard curves of *trans*-rubixanthin and *trans*-lycopene, respectively.

Carotenoid analysis. The carotenoids of the pitanga samples were extracted with cold acetone (150 mL per sample), the extraction and subsequent filtration being repeated until the residue turned colorless (3-4 times), and partitioned to petroleum ether (70-100 mL). Saponification was carried out overnight at room temperature with an equal volume of 10 % methanolic KOH with 0.1 % of BHT. After washing to neutral pH and adding anhydrous sodium sulfate to remove residual water, the extract was concentrated in a rotary evaporator ($T < 36\text{ }^{\circ}\text{C}$) and dried under N_2 . Immediately before the injection, the carotenoids were redissolved in HPLC grade acetone and filtered with a $0.22\text{ }\mu\text{m}$

PTFE syringe filter; 10 μ L was automatically injected into the HPLC equipment. Quantification was done by external standardization.

The HPLC system consisted of a Waters separation module (model 2690), equipped with an autosampler injector and a UV-visible photodiode array detector (Waters model 996), controlled by a Millennium workstation (version 2010). Detection was at the wavelengths of maximum absorption (max plot: 420–550 nm). Reversed phase chromatography was carried out, using a monomeric C₁₈ column (Spherisorb ODS2, 3 μ m, 4.6 x 150 mm). The mobile phase consisted of acetonitrile containing 0.05 % triethylamine, methanol and ethyl acetate, in a concave gradient (curve 10) from a proportion of 90:10:0 to 55:10:35 in 30 min, maintaining the last proportion until the end of the run. The flow rate was 0.5 mL/min. and reequilibration took 15 min. The average room temperature was 21 °C.

Identification of the carotenoids. The identification of the carotenoids was carried out by the combined use of the retention times, co-chromatography with authentic isolated standards, and the visible absorption spectra (λ_{max} and spectral fine structure) obtained with a recording spectrophotometer (Beckman DU 640) and with the photodiode array detector. The identification of the carotenoids of “pitanga” was confirmed by HPLC-MS by Azevedo-Meleiro and Rodriguez-Amaya (5).

The spectral fine structure was expressed as % III/II, which is the ratio of the height of the longest-wavelength absorption peak, designated III, and that of the middle absorption peak, designated II, taking the minimum between the two peaks as baseline, multiplied by 100 (6).

For mono-*cis*-carotenoids, identification was based on the presence of a *cis*-peak at a wavelength about 142 nm below the longest-wavelength absorption maximum

(peak III) in the spectrum of the all-*trans*-carotenoid and by a slightly lower $\lambda_{\max}$ (2 to 6 nm) compared to those of the *trans*-form (6).

The intensity of the *cis*-peak was expressed as % A_B/A_{II} , which is the ratio of the height of the *cis*-peak, designated as A_B , and the height of the middle maximum absorption peak, designated as A_{II} , multiplied by 100 (6).

RESULTS AND DISCUSSION

Qualitative composition. The carotenoids identified in pitanga were violaxanthin (5,6,5',6'-diepoxy-5,6,5',6'-tetrahydro- β,β -carotene-3,3'-diol), lutein (β,ϵ -carotene-3,3'-diol), rubixanthin (3R- β,ψ -Caroten-3-ol), *cis*-rubixanthin, β -cryptoxanthin (β,β -caroten-3-ol), lycopene (ψ,ψ -carotene), 13-*cis*-lycopene, γ -carotene (β,ψ -carotene) and β -carotene (β,β -carotene). Some parameters used to identify the carotenoids are shown in Table 1.

Violaxanthin: The $\lambda_{\max}$ at 417, 442, 471 nm in the mobile phase, the high fine structure (% III/II = 96) of the UV-visible spectrum were characteristics of a carotenoid with nine conjugated bonds in the polyene chain. It behaved chromatographically as a dihydroxycarotenoid with another substituent.

Lutein: The absorption spectrum, with $\lambda_{\max}$ at 424, 448, 476 nm in the mobile phase and less fine structure (% III/II = 60), was typical of a carotenoid with 10 conjugated double bonds, nine in the polyene chain and one in β -ring. The chromatographic behavior was that of a dihydroxycarotenoid.

Rubixanthin: The $\lambda_{\max}$ at 438, 463, 494 nm in the mobile phase and spectral fine structure (% III/II = 41) were consistent with a carotenoid having 11 conjugated double

bonds, one of which situated in a β -ring. Chromatographically, it behaved as a monohydroxy carotenoid.

Cis-rubixanthin: The absorption maxima ($\lambda_{\max}$ at 351, 436, 462, 492 nm), and the presence of *cis*-peak at a wavelength 143 nm lower than that of peak III of the all-*trans* form, were consistent with a *cis*-isomer of rubixanthin.

β -Cryptoxanthin: According to the absorption spectrum with $\lambda_{\max}$ at 428 (shoulder), 454, 480 nm in the mobile phase and much lower spectral fine structure, % III/II = 25, this carotenoid had a chromophore of 11 conjugated double bonds, nine in the polyene chain and two in β -rings. It had the chromatographic behavior of a monohydroxycarotenoid.

Lycopene: The absorption spectrum (% III/II = 69, $\lambda_{\max}$ at 447, 473, 505 nm) was consistent with an acyclic structure with 11 conjugated double bonds. It had the chromatographic behavior of a carotene.

13-*Cis*-lycopene: The absorption maxima ($\lambda_{\max}$ at 361, 441, 467, 498 nm), 5-6 nm lower than those of *trans*-lycopene, and the presence of a *cis*-peak 144 nm below peak III of the all-*trans*-form, indicated that this carotenoid was a *cis*-isomer of the lycopene. The % III/II was 54 and the % A_B/A_{II} was 58. These characteristics were shown by Mercadante, Steck and Pfander (7) to be those of 13-*cis*-lycopene, the structure of which was confirmed by ^1H NMR, ^{13}C NMR, mass, and circular dichroism spectra.

γ -Carotene: The spectrum ($\lambda_{\max}$ at 437, 463, 494 nm, % III/II = 41) was intermediate between those of lycopene and β -carotene, commensurate with 11 conjugated double bonds, one of which in a β -ring. It also eluted between lycopene and β -carotene, this behavior being consistent with a monocyclic carotene.

β -Carotene: The $\lambda_{\max}$ at 428 (shoulder), 454, 480 nm in the mobile phase with low spectral fine structure, % III/II = 25, was compatible with a chromophore of 11

conjugated double bonds, two of which situated in β -rings. The chromatographic behavior was that of a dicyclic carotenoid.

Quantitative composition. The typical chromatogram of the carotenoids of the ripe pitanga is shown in **Figure 1**. The carotenoid concentrations of pitanga from two states at two stages of maturity are presented in **Table 2**. Compared to the ripe fruit from Medianeira, Paraná (Southern Brazil), the ripe fruits from Campinas, São Paulo (Southeastern Brazil), had practically the same violaxanthin and lutein, slightly lower rubixanthin and β -cryptoxanthin, and slightly higher β -carotene level. Notably, the fruits from Campinas had 4 to 5 times the lycopene content and twice the γ -carotene content of the fruits from Medianeira. Pitanga from Recife, Pernambuco (Northeastern Brazil) had comparable level of lycopene (73.0 $\mu\text{g/g}$), but was higher in γ -carotene (52.7 $\mu\text{g/g}$), β -cryptoxanthin (47.0 $\mu\text{g/g}$), rubixanthin (23.0 $\mu\text{g/g}$) and β -carotene (9.5 $\mu\text{g/g}$).

These results demonstrate geographic effects. It appears that lycopene and γ -carotene contents are distinctly higher in the fruits from the hot Pernambuco state compared to the cold Paraná state, with intermediate levels in fruits from São Paulo that has a temperate climate.

When compared to other tropical fruits, the lycopene level (71.1 $\mu\text{g/g}$) found in ripe fruits in this work is higher than those of watermelon (36.0 $\mu\text{g/g}$) (8), guava (53.4 $\mu\text{g/g}$) (9) and papaya (cv. Formosa, 26.5 $\mu\text{g/g}$) (10), all fruits coming from São Paulo.

The levels of lycopene, rubixanthin and β -cryptoxanthin increased markedly from the partially ripe to the ripe stage. There was also an increase in *cis*-rubixanthin, *cis*- β -carotene and γ -carotene contents. As would be expected the chloroplast carotenoids, violaxanthin and lutein, decreased with ripening. The *cis*-rubixanthin and 13-*cis*-lycopene appeared in appreciable levels in fruits from both states, increasing from the partially fruit to the ripe stage.

The concentrations of the principal carotenoids of frozen pulp and bottled juice are shown in **Table 3**. Surprisingly, the lycopene content of the frozen pulp was very low. Since this product was not thermally processed, this loss appeared to be due to enzymatic oxidation and/or removal of the peel during pulping. Moreover, according to information from the producer, it is not uncommon to store frozen pulp for 6 months before commercialization. Only two sample lots were analyzed because this brand was not readily available at the time the present work was done. More studies of this product is needed to improve the retention of lycopene.

The bottled juice had higher lycopene content than the frozen pulp studied here. High levels of lycopene is to be expected in terms of the raw material since the bottled juices were manufactured in Northeastern Brazil where the fruits should have higher lycopene content. However, variation in the carotenoid contents of processed products could be due, aside from climatic effects and the raw material, to the stage of maturity of the fruits and to the processing and storage conditions.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge with gratitude the financial support given by the Ministério de Ciência e Tecnologia and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (MCT-CNPq-FINEP) through the project PRONEX N^o 662307/1996-8.

REFERENCES

- (1) Silva, S. P. *Frutas no Brasil*; Empresa das Artes: São Paulo, Brazil, 1996; p 232.
- (2) Cavalcante, M. L.; Rodriguez-Amaya, D. B. Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. In: *Food Sci. Human Nutr.*; Charalambous, G., Ed.; Elsevier Science Publishers B.V.: Amsterdam, The Netherlands, 1992; pp 643-650.
- (3) Kimura, M., Rodriguez-Amaya, D.B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification for leafy vegetables carotenoids. *Food Chem.* **2002**, *78*, 389-398.
- (4) Davies, B. H. Carotenoids. In: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*; Goodwin, T. W., Ed.; Academic Press: London, 1976; vol. 2, pp 38-165.
- (5) Azevedo-Meleiro, C. H.; Rodriguez-Amaya, D.B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. *J. Food Comp. Anal.* **2004**, *17*, 385-396.
- (6) Britton, G. UV/Visible spectroscopy. In: *Carotenoids*; Britton G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander, H., Eds.; Birkhäuser Verlag: Basel, Switzerland, 1995; vol. 1B, Spectroscopy, pp 13-62.
- (7) Mercadante, A. Z.; Steck, A.; Pfander, H. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L.): isolation and structure elucidation. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 145-151.
- (8) Niizu, P. Y.; Rodriguez-Amaya, D.B. Watermelon as source of lycopene. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **2003**, *62*, 195-199.
- (9) Padula, M.; Rodriguez-Amaya, D.B. Characterization of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of Brazilian guavas (*Psidium guajava* L.). *Food Chem.* **1986**, *20*, 11-19.

- (10) 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.-Technol.* **1991**, *24*, 415-418.

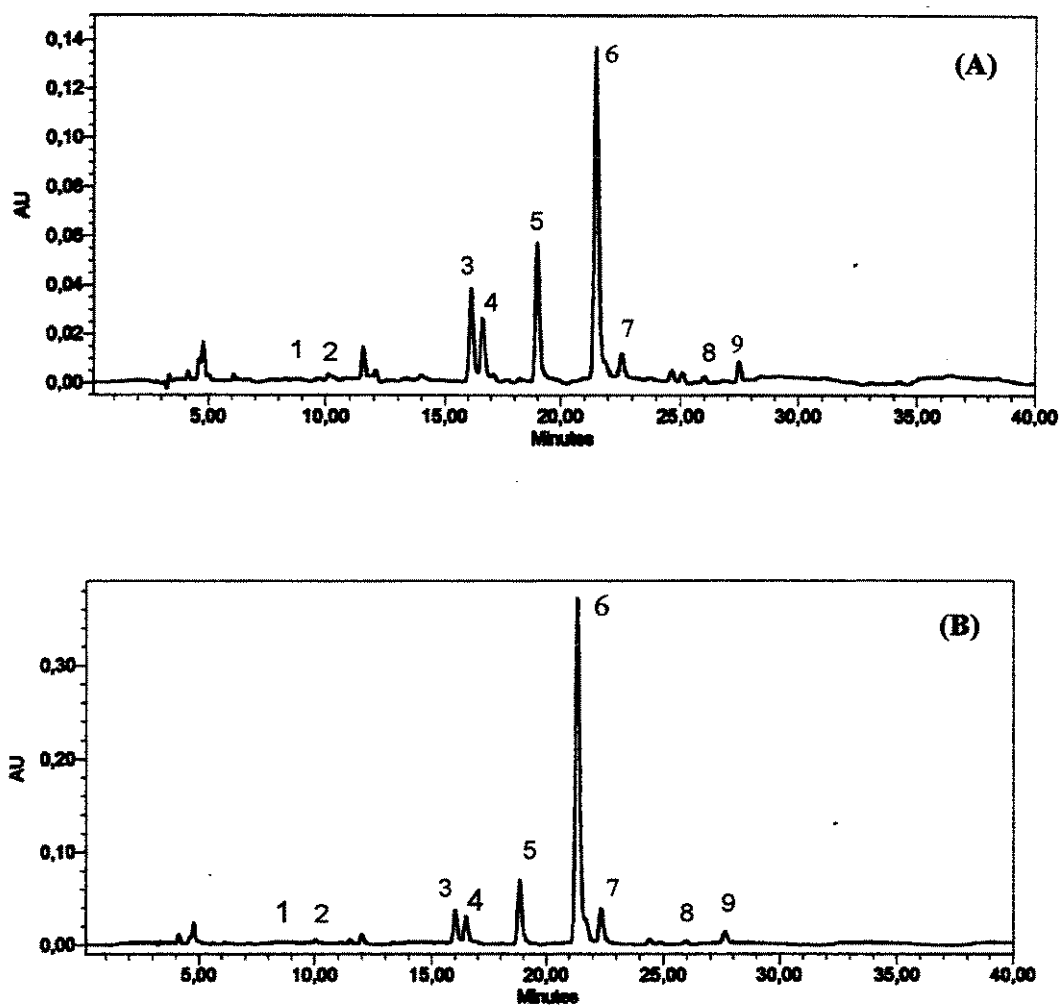


Figure 1 – Typical HPLC chromatograms of the carotenoids of ripe “pitanga” (*Eugenia uniflora* L.) from Medianeira, state of Paraná (A), and Campinas, state of São Paulo (B). Detection at λ_{max} . HPLC conditions are described in the text. Peak identification: 1- violaxanthin; 2- lutein; 3- rubixanthin; 4- *cis*-rubixanthin, 5- β -cryptoxanthin; 6- lycopene; 7- 13-*cis*-lycopene; 8- γ -carotene; and, 9- β -carotene.

Table 1. Identification parameters of principal carotenoids of "pitanga" (*Eugenia uniflora* L.) fruit.

Carotenoid	Peak Chromatogram (min.)	$\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$ (nm) ^a	$\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$ (nm) ^b
			% III/II, % A _B /A _{II}
Violaxanthin	7.7	416, 441, 469	417, 442, 471 96
Lutein	10.9	422, 443, 472	424, 448, 476 60
Rubixanthin	16.3	435, 458, 489	438, 463, 494 41
<i>Cis</i> -rubixanthin	16.5		354, 436, 462, 492 54, 22
β -Cryptoxanthin	19.2	(425), 448, 475	(428), 454, 480 25
Lycopene	21.5	442, 468, 499	447, 473, 505 69
13- <i>Cis</i> -lycopene	22.4		361, 441, 467, 498 54, 58
γ -Carotene	26.0	432, 458, 489	437, 463, 494 41
β -Carotene	27.7	(424), 448, 475	(428), 454, 480 25

^a $\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$ (nm) in petroleum ether.

^b $\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$ (nm) in the HPLC mobile phase.

% III/II = ratio of the height of the longest-wavelength absorption peak, designated III, and that of the middle absorption peak, designated II, taking the minimum between the two peaks as baseline, multiplied by 100 (6).

% A_B/A_{II} = ratio of the height of the *cis*-peak designated as A_B and the height of the middle maximum absorption peak designated as A_{II}, multiplied by 100 (6).

Table 2. Principal carotenoids of “pitanga” from two states and at two stages of maturity.

Carotenoid	Carotenoid content (µg/g)			
	“Pitanga” from Campinas		“Pitanga” from Medianeira	
	Partially ripe	Ripe	Partially ripe	Ripe
Violaxanthin	3.9 ± 1.4	2.3 ± 1.6	3.0 ± 1.3	2.1 ± 1.2
Lutein	3.1 ± 1.3	1.2 ± 0.5	2.5 ± 1.0	1.7 ± 0.4
Rubixanthin	4.7 ± 2.0	9.4 ± 1.7	6.5 ± 2.8	11.5 ± 5.3
<i>Cis</i> -rubixanthin	3.8 ± 2.2	5.3 ± 2.5	3.7 ± 2.2	4.4 ± 2.3
β-Cryptoxanthin	7.6 ± 2.7	11.8 ± 2.4	7.0 ± 1.6	12.8 ± 2.9
Lycopene	33.5 ± 3.0	71.1 ± 8.6	7.0 ± 9.4	14.0 ± 4.6
13- <i>Cis</i> -lycopene	3.6 ± 2.6	5.0 ± 1.3	0.4 ± 0.3	1.1 ± 0.6
γ-Carotene	2.3 ± 1.2	3.8 ± 1.6	1.1 ± 0.7	1.6 ± 0.4
β-Carotene	1.4 ± 0.3	3.2 ± 1.3	1.4 ± 0.9	2.6 ± 0.5

Means and standard deviations of 5 sample lots analyzed in duplicate.

Table 3. Principal carotenoids of frozen pulp and bottled fruit juice of “pitanga” marketed in Campinas, Brazil.

Carotenoid	Frozen pulp	Bottled juice	
	Brand A (µg/g)	Brand B(µg/g)	Brand C(µg/g)
Lutein	1.0 ± 0.0	0.7 ± 0.5	0.4 ± 0.2
Rubixanthin	14.5 ± 2.2	11.3 ± 3.8	10.1 ± 1.6
<i>Cis</i> -rubixanthin	3.8 ± 0.6	3.1 ± 0.9	3.2 ± 1.0
β-Cryptoxanthin	11.5 ± 0.0	9.1 ± 2.1	7.1 ± 1.6
Lycopene	16.6 ± 0.3	23.0 ± 3.6	25.6 ± 7.8
13- <i>Cis</i> -lycopene	1.1 ± 0.1	2.3 ± 0.4	2.3 ± 0.9
γ-Carotene	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.5	0.9 ± 0.1
β-Carotene	3.8 ± 0.2	1.9 ± 0.2	1.5 ± 0.6

Means and standard deviations of 2 sample lots for brand A and B, and 5 sample lots for brand C, each lot analyzed in duplicate. Brand A came from Jundiaí, São Paulo, brand B and C from Aracati, Ceará.

CONCLUSÕES GERAIS

1. Não há degradação de licopeno nos métodos utilizados no nosso laboratório, tanto por cromatografia em coluna aberta como por cromatografia líquida de alta eficiência, sendo que as duas metodologias são equivalentes.
2. A goiaba vermelha (cultivar Paluma e Ogawa) é uma fonte rica de licopeno, superando tomate, melancia e mamão.
3. Os produtos processados de goiaba vermelha continuam sendo fontes ricas de licopeno, porém, ocorre degradação apreciável e variável durante o processamento, a perda sendo maior em “goiabada”, aparentemente devido ao processamento mais longo e drástico.
4. No processamento industrial, a perda de licopeno na goiabada foi confirmada, porém, este produto como a polpa refinada e o guatchup mostraram-se fontes ricas de licopeno.
5. A acerola *in natura* tem β -caroteno como o carotenóide predominante. Os níveis de β -caroteno encontrados são maiores que na manga e nêspera, em frutas provenientes do estado de São Paulo.

6. A cultivar Olivier produzida comercialmente tem teor três vezes maior de β -caroteno que a acerola proveniente de jardins.
7. A retirada da casca de acerola diminui os teores de α -caroteno e β -caroteno em acerolas de jardins e de produção comercial (cultivar Olivier), sendo que, a violaxantina e luteína também diminuem para a cultivar Olivier. Os demais carotenóides permaneceram praticamente inalterados.
8. O amadurecimento de acerola do estágio parcialmente maduro para maduro, aumenta o teor de β -caroteno duas a três vezes. Também aumenta em menor grau β -criptoxantina, α -caroteno e violaxantina.
9. Os produtos processados de acerola continuam sendo fonte de carotenóides pró-vitamínicos A (β -caroteno, β -criptoxantina e α -caroteno), porém, com níveis consideravelmente mais baixos em relação à fruta *in natura*.
10. A pitanga é uma fonte riquíssima de carotenóides, principalmente licopeno, rubixantina e β -criptoxantina. Dentre as frutas provenientes do estado de São Paulo, a pitanga apresentou teor de licopeno superior ao de goiaba, melancia, tomate e mamão vermelho.
11. A pitanga proveniente da região Sudeste (Campinas, estado de São Paulo) apresenta conteúdo total de carotenóides duas vezes maior que a pitanga da região Sul (Medianeira, estado do Paraná), sendo que o teor de licopeno é cinco vezes maior e γ -caroteno é cerca de duas vezes maior.

12. Os produtos processados de pitanga disponíveis comercialmente também são ricos em licopeno e em carotenóides pró-vitamínicos A, particularmente, β -criptoxantina, β -caroteno, e γ -caroteno, porém, com teores substancialmente menores em relação à fruta *in natura*.