UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PROVÁVEIS CORRELAÇÕES ENTRE A BIOSSÍNTESE DE CAROTENÓIDES E A MATURAÇÃO DO MARACUJÁ

Carlos Alberto Bento da Silva
Engenheiro-Agrônomo

Orientador:
Dr. Ottilio Guernelli
Professor Titular da disciplina "Processamento Industrial" da Faculdade de Tecnologia de Alimentos, UNICAMP .

Tese apresentada à Faculdade de Tecnologia de Alimentos,. da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Ciências em Tecnologia de Alimentos.

- Outubro de 1972 -

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

DEDICATÓRIA

A meus pais e irmãos

A Aricleusa,
Consuelo e
Carla

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelo assentimento para participação no Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos;

À Faculdade de Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Campinas, pela oportunidade concedida para realização do citado Curso;

Ao Dr. Ottílio Guernelli, pela orientação e pela incansável e paciente dedicação dispensada a êste trabalho;

À minha espôsa, por toda ajuda e compreensão demonstrada em todos os momentos;

À todos aquêles que, de diversas formas, contribuíram para que êste trabalho fôsse levado a bom têrmo.

ÍNDICE

página

RESUMO 1

SUMMARY 3

INTRODUÇÃO 5

A MATÉRIA PRIMA 6

OS PIGMENTOS CAROTENÓIDES EM FRUTOS

1. Os carotenóides 16

2. Estrutura dos carotenóides 17

3. Carotenóides em maracujá e outros frutos 20

4. Os carotenóides durante a maturação de frutos 24

A BIOSSÍNTESE IOS CAROTENOIDES 37

MODIFICAÇÕES DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO SUCO DE MARACUJÁ DURANTE A MATURAÇÃO 56

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES 59

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 72

.ooo.

R E S U M O

O maracujá é um fruto que, ultimamente, está chamando atenção para sua industrialização, principalmente pela aceitação comercial de seu suco. Várias aplicações estão sendo exploradas, tais como suco puro ou suco diluído, esterilizados ou preservados (mais comuns no Brasil), suco congelado, misturas com outros sucos - como, por exemplo, mistura de 5 a 10 % com suco de maçã - ou preparação de "punches", "cordials", "squashes", bebidas carbonatadas, em mistura com bebidas alcoólicas e como aromatizante em produtos de confeitaria.

O maracujá roxo (Passiflora edulis Sims.) e o maracujá amarelo (Passiflora edulis forma flavicarpa Degener) são os mais explorados comercialmente.

A colheita do maracujá é feita, geralmente, após a queda do fruto da planta, sem que sejam utilizados, como referências, resultados de análises físico-químicas do suco.

O teor em suco está acima de 30 % em relação ao pêso do fruto. Seus constituintes químicos seguem mais ou menos o padrão de outros frutos, ressaltando-se apenas a presença de amido.

Os pigmentos identificados em suco de maracujá roxo são os carotenóides fitoflueno, alfa-caroteno, beta-caroteno e zeta-caroteno. Existem xantofilas, mas não estão identificadas.

Alguns exemplos da ocorrência de carotenóides em sucos de frutos explorados industrialmente são dados nêste trabalho, mostrando que os carotenóides que ocorrem em suco de maracujá estão bem disseminados no reino vegetal.

Em maturação de frutos, o normal é ocorrer um aumento do teor de carotenóides, os quais, geralmente, são visualisados após o desaparecimento da clorofila.

A biossíntese de carotenóides, que deve ocorrer durante o processo de maturação dos frutos, não está ainda completamente

esclarecida. Diversas evidências são tomadas para a proposição de caminhos de formação dêsses compostos.

Partindo-se de acetato (ou acetil coenzima A), uma série de transformações bioquímicas dá origem a ácido mevalônico que, por sua vez, produz isopentenil pirofosfato. Êste, em uma série de reações de condensação, chega a geranilgeranil pirofosfato, composto de 20 carbonos.

Admite-se que duas moléculas de geranilgeranil pirofosfato unem-se para dar origem ao fitoeno, de 40 carbonos, e primeiro composto de uma série proposta para explicar a formação de outros carotenóides.

O fitoeno sofre uma série de desaturações, produzindo vários intermediários, entre os quais fitoflueno, zeta-caroteno, licopeno e neurosporeno. Licopeno e neurospeno, por outros mecanismos, dariam origem a alfa-caroteno e beta-caroteno.

Os carotenos incorporam oxigênio, formando as xantofilas.

Muitas dessas passagens não estão bem esclarecidas, tais como os sistemas enzimáticos envolvidos, mecanismos de união de moléculas, de desaturação, de ciclização e de incorporação de oxigênio.

Os pigmentos identificados no suco de maracujá roxo estão localizados nos esquemas propostos para formação dos diversos carotenóides.

Há necessidade de que se estabeleçam correlações bioquímicas entre a formação e o teor de pigmentos e outros constituintes importantes do suco de maracujá, para que se chegue a um padrão para colheita dos frutos.

SUMMARY

The passion fruit is a fruit which has recently come into proeminence with regard to its possible industrialization, principally with respect to the commercial acceptibility of its juice. Various possibilities are currently being investigated, such as the manufacture of the pure or diluted juice, in either sterilized, preserved (more common in Brazil) or frozen form, its combination with other juices, such as 5 to 10 % apple juice, its incorporation into punches, cordials and squashes, carbonated beverages or alcoholic drinks, or finally its use as a flavoring agent in confectioneries.

The purple passion fruit (Passiflora edulis Sims) and the yellow passion fruit (Passiflora edulis forma flavicarpa Degener) are the most commonly exploited fruits.

The fruit is harvested without the use of any physico-chemical analysis of the juice, since it is generally harvested after the fruit has fallen from the plant.

The yield of juice is about 30 % by weight of the fruit. Chemically it is very similar to the standard constituents of other fruits, although it has a higher than average starch content.

The following carotenoid pigments have been isolated in the juice of the purple passion fruit: phytofluene, alpha-carotene, beta-carotene and zeta-carotene. Xanthophylls are known to be present, but as yet have not been identified.

In this review, some examples of the occurrence of carotenoids in industrially exploited fruit juices are given, showing that the carotenoids of the passion fruit juice are well distributed in the vegetable realm.

During the maturation of fruits, there is generally an increase in the quantity of carotenoids present, these becoming visible after the disappearance of the chlorophyll.

The biosynthesis of the carotenoids, which must occur during maturation, is not as yet completely understood. Various possible pathways have been proposed on the basis of known facts.

Arising from acetate (or acetyl coenzyme A), a series of biochemical transformations give rise to mevalonic acid, which in turn produces isopentenyl pyrophosphate. This, after a series of condensation reactions, produces geranylgeranyl pyrophosphate, a 20-carbon compound.

Assuming that the two molecules of geranylgeranyl pyrophosphate unite to form the 40-carbon compound phytoene, this would provide the first compound in a proposed chain for the formation of the other carotenoids.

The phytoene undergoes a series of desaturation reactions, producing various intermediaries including phytofluene, zeta-carotene, lycopene and neurosporene. Lycopene and neurosporene, via other pathways, give rise to alpha and beta-carotenes.

Incorporation of oxygen into the carotenes gives rise to the xanthophylls.

Many aspects of these pathways are still poorly understood, such as the enzyme systems involved, and the mechanisms of molecular union, desaturation and cyclical reactions, and the incorporation of oxygen.

The pigments identified in the juice of the purple passion fruit, are all encountered in the proposed schemes for the formation of carotenoids.

It is necessary to establish biochemical correlations between the formation and the quantity of pigments and the other important constituents of the passion fruit juice, in order to determine a standard for the harvest of the fruit.

I N T R O D U Ç Ã O

Nos últimos anos tem sido notado um aumento no interêsse pela exploração industrial do maracujá em nosso país. É possível que tal interêsse seja motivado pela aceitação que vem tendo o suco dêsse atraente fruto, de características exóticas, tão ao gôsto de outros povos.

O "flavor" diferente que apresenta, combinado a características gustativas agradáveis, provavelmente é o que tem atraído a atenção dos consumidores de outros países. A acidez pronunciada do suco de maracujá tem levado ao seu maior consumo, em geral, em mistura com outros sucos de frutos. Mesmo assim, suas características organolépticas continuam como fator preponderante de aceitabilidade e consumo.

Os componentes de um suco que influem diretamente nas características organolépticas são, sem dúvida, os açúcares, os ácidos, os voláteis e os pigmentos.

Antes de ingerir um suco, a primeira sensação que o consumidor recebe é o impacto visual causado pela coloração apresentada pelo produto. Essa primeira sensação, certamente, terá marcante influência em sua aceitação.

Dêsse modo, os pigmentos constituem parte importante e primordial da composição de um suco. Tal é o interêsse de um estudo das diversas fases de formação dêsses constituintes do suco de maracujá que, nesta revisão, terão papel mais destacado que os outros, também importantes, componentes.

A MATÉRIA PRIMA

1. *Generalidades*

Maracujá é o nome dado ao fruto de diversas plantas da família Passifloraceae, gênero Passiflora.

O nome maracujá em língua portuguêsa tem origem indígena (mara-cuiã = comida em cuia). Com origem atribuída, possivelmente, ao Brasil, o maracujazeiro despertou a imaginação de missionários que estiveram na América do Sul em época já distante, que viram em suas flôres a imagem da paixão de Jesus Cristo, daí advindo o nome em língua inglêsa "passion fruit" (7, 21, 50).

São conhecidas em tôrno de 530 espécies do gênero Passiflora, das quais mais de 150 seriam nativas do Brasil e cêrca de 60 apresentam frutos comestíveis. Algumas espécies, além disso, apresentam importância médica, como fonte de alcalóides sedativos - harmol, harmina, harman ou passiflorina e outros dois, conhecidos como A e B (7, 12, 34, 50).

Variedades comerciais são cultivadas no Havai, na Austrália, na Índia, na Nova Zelândia e na África do Sul.

No Brasil, parece ter havido um despertar de interêsse pela utilização industrial dêsse fruto, desde que o suco foi introduzido nos mercados nacional e internacional, destacando-se entre outros sucos já existentes. Atribui-se essa aceitação aos seu "flavor", considerado exótico, além de propriedades vitamínicas e sedativas (21, 55).

Nos Estados Unidos e alguns outros países, o suco de maracujá é consumido principalmente em mistura com outros sucos, tais como de laranja, maçã, pêra, pêssego, etc. Com suco de maçã, por exemplo, o suco de maracujá entra com 5 a 10 % na mistura (7).

Recentes testes de comparação organolética (2) entre sucos de laranja e de maracujá, apresentaram como resultados:

- 75 % dos provadores acharam que o suco de maracujá a 20 % é equivalente em aroma ao suco de laranja integral. Os demais 25 % acharam-no muito aromático.

- O suco de maracujá a 8 %, livre de CO_2, foi preferido ao suco de laranja.

- 67 % preferiram suco de maracujá a 25 %, livre de CO_2, ao suco de laranja 25-30 %, livre de CO_2.

- O suco de maracujá a 4 % com CO_2 foi julgado equivalente ao suco de laranja a 10 %.

O suco de maracujá tem sido mais explorado comercialmente no Brasil sob a forma de suco diluído e adoçado, esterilizado ou preservado, ou de suco simples, esterilizado ou preservado. Em outros países, além das misturas com outros sucos, existem os chamados "cordials" e "squashes", que consistem do suco adicionado de açúcar e ácido, servindo de base para bebidas. Sob a forma de xarope, o suco de maracujá é utilizado na elaboração de bebidas carbonatadas. Outros emprêgos estão sendo desenvolvidos, tais como suco congelado (simples ou concentrado), néctar, suco em pó, vinhos, em saladas e "punches" (onde o suco é adicionado a outros frutos, como laranja, abacaxi, goiaba e mamão), aromatizante para bôlos, pudins, em sobremesas, em mistura com bebidas alcoólicas, e produção de geléias (7, 12, 34, 50, 59).

Recentemente, Fonseca (26) estudou a produção de suco concentrado de maracujá, trabalho reportado como pioneiro no Brasil. Em outros países, alguns pesquisadores encontraram dificuldades na concentração, devido ao alto teor de amido apresentado pelo suco de maracujá, que causa acumulação de depósitos gelatinosos na superfície de evaporação (50).

2. *Variedades*

Alguns dados conhecidos sôbre frutos de diversas espécies de maracujá são encontrados na tabela I.

TABELA I . Alguns dados sôbre frutos do gênero Passiflora

Nome		Caracteristicas dos Frutos			
Vulgar	Botânico	Côr	Forma	Diâmetro máximo (cm)	Pêso (g)
Maracujá roxo	P. edulis Sims.	Purpúrea	Ovóide	4-5	30-45
Maracujá amarelo	P. edulis f. flavicarpa Degener	Amarelo canário	Ovóide	5-9	45-75
Maracujá assú	P. quadrangularis L.	Verde pálido	Ovóide, Oblongo ou elíptico	20-25	2 000 4 500
	P. ligularis Juss	Pardo-laranja com manchas brancas	Oval-oblongo	8	-
Granadilla	P. laurifolia L.	Amarelo-laranja	Elipsoidal ou ovóide	5-8	-
	P. maliformis L.	Pardo-amarelada	Globosa	4,5	-
Maracujá Vermelho	P. foetida L.	Vermelha	Globosa	2,5	-
Maracujá de flores brancas	P. alba Link	Amarelada	Ovóide	3,2	-
	P. suberosa	Purpúrea	Oval		-
	P. incarnata L.	Amarela	Oval	5	-
Maracujá banana	P. caerulea L.	Laranja	Ovóide	2,5-3,2	-

Fonte: Brasil, Ministério do Interior - Contribuição ao desenvolvimento da agroindústria. Convênio GEIDA-FCTPTA. Vol. I, p. 165, 1972.

Entre as apresentadas, destaca-se com importância industrial o maracujá roxo (Passiflora edulis Sims.), juntamente com sua variedade, o maracujá amarelo (Passiflora edulis forma flavicarpa Degener). O amarelo é o mais difundido no Brasil, sendo conhecido também como maracujá-peroba, maracujá-mirim e maracujá-do-norte. É também cultivado no Havai e mostra-se mais produtivo e resistente a doenças. Austrália, Nova Zelândia, Índia e África do Sul cultivam maracujá roxo (7, 12, 50).

3. *Características dos frutos*

O maracujá roxo é de forma ovóide ou globosa, com 4 a 5 cm de diâmetro, de côr externa púrpura intensa quando maduro. A casca é fina, coriácea, recoberta por uma fina camada de cêra. O mesocarpo é duro, escamoso. No seu interior encontram-se numerosas sementes pretas, envolvidas por uma pôlpa rica em suco, amarelada, ácida e aromática.

O maracujá amarelo apresenta-se com forma arredondada ou ovóide, tendo a casca com coloração amarelo-canário, de tamanho maior que o anterior. O suco apresenta-se mais ácido que no maracujá roxo, e as sementes são pardo-escuras (7, 52).

4. *Determinação da maturação e colheita*

A maturação de frutos é acompanhada por uma série de transformações fisiológicas e químicas. Esses aspectos e os vários mecanismos envolvidos na síntese e metabolismo de importantes constituintes de frutos de diferentes variedades de maracujá, não estão ainda bem estudados. Apesar disso, é de se esperar que o padrão de tais mudanças bioquímicas não seja diferente da maioria dos frutos (50).

A falta de dados químicos tem levado os estudiosos em frutos a estabelecerem padrões visuais empíricos para determinação do ponto ótimo de colheita. Em trabalho antigo, Krone (40) recomendava que o fruto de maracujá roxo deveria ser co

lhido após completa mudança para coloração mais escura e antes de começar a enrugar-se. Eastwood (25) recomendava que, em épocas quentes, os frutos deveriam ser colhidos logo ao ser iniciado o desenvolvimento da côr escura. Gregory (33) e Wills (67) também recomendam a colheita para determinadas épocas, baseados em aspectos gerais dos frutos.

O ponto ideal para colheita é motivo de controvérsias e depende de vários fatôres. Entre êles, destacam-se: a finalidade a que se destina o fruto, o tempo em que deverá ficar armazenado, as condições de transporte e armazenamento, etc. Mas sabe-se que a vida após a colheita, bem como a qualidade dos produtos elaborados, dependerão em muito do estágio de maturação em que se encontrava o fruto no momento da colheita (7, 50).

Sabe-se que o maracujá cai da planta quando maduro. Isso ocorre cêrca de 70 dias após a polinização. A colheita do fruto é uma operação onerosa (7), sendo geralmente usada a colheita dos frutos no chão (55).

5. *Composição química do suco de maracujá*

O suco constitui, em média, 36,8% do pêso do fruto na variedades roxa e 30,9% no caso do amarelo (50).

Araujo e outros (3) encontraram um máximo de 32,35 % de suco para o maracujá amarelo.

Os dados gerais de composição do suco de maracujá encontram-se na tabela II.

Os principais componentes do suco de maracujá serão discutidos brevemente a seguir.

a. Carboidratos

Em estado livre ou combinado, os açúcares desempenham importante papel como contribuintes para a formação do "flavor", da textura e da aparência de um fruto (64).

Tabela II.

Composição química parcial do suco de maracujá

Constituintes	maracujá roxo	maracujá amarelo	
	Pruthi e Lal (52)	Boyle e outros (6)	Fonseca (26)
Água (%)	80,4	82,0	-
Sólidos solúveis (%)	17,3	15,0	15,0
Acidez (% ác. cítrico p/p)	3,4	4,0	4,26
Relação (º Brix/ /acidez)	5,3	-	3,52
pH	2,83	3,0	2,9
Pectato de cálcio (%)	0,05	-	0,03
Açúcares redutores (%)	4,6	7,0	6,27
Açúcares não redutores (%)	3,2	-	-
Açúcares totais (%)	10,0	10,0	7,84
Amido (%)	2,4	-	2,76
Proteína (N.6,25) (%)	0,8	0,8	-
Matéria mineral (%)	0,46	-	-
Ácido ascórbico (mg %)	34,6	12,0	29,1
Caroteno (U.I. vit. A/100g)	1345	570	-

O conteúdo de açúcares em um fruto varia grandemente, desde traços (60) até altos teores, como é o caso de tâmaras, com 61 % de açúcares (5). Muitas vêzes os açúcares constituem substância de reserva em frutos.

Os principais açúcares encontrados em frutos são sacarose glicose e frutose.

Os estudos de Pruthi e Lal (52) sôbre a composição química do maracujá roxo mostraram que os sólidos totais atingiam a 19,6 %. Os sólidos solúveis concorriam com 17,3 %, dos quais 12,4 % eram representados por carboidratos. Êstes, portanto, constituem a maior parte dos sólidos totais (em tôrno de 63 %) e dos sólidos solúveis (cêrca de 71 %) do suco.

Fonseca (26) encontrou para o maracujá amarelo 15,0 % de sólidos solúveis, dos quais 10,6 % correspondem a carboidratos (aproximadamente 70 % dos sólidos solúveis do suco).

Araujo e outros (3) verificaram que, 60 dias após a polinização, o fruto de maracujá amarelo apresentava 17,45 % de sólidos solúveis no suco.

Almeida e Valsechi (1) encontraram valores superiores a 30,0 % para os sólidos totais em ambas as variedades, com teores variáveis entre 7,11 e 8,32 % para açúcares totais.

Com utilização de cromatografia de papel e outros testes químicos, Pruthi e Lal (53) revelaram que estão presentes no suco de maracujá roxo, glucose (3,6 %), frutose (3,6 %), sacarose (3,8 %) e amido (1,8 %). Teores abaixo de 2,0 % em sacarose foram encontrados por Almeida e Valsechi (1), para ambas as variedades.

Existem frutos em que o teor de glucose excede o de frutose, às vêzes duas a três vêzes mais, como em damasco e ameixa (64). Laranja, uva e groselha (4), como o maracujá, apresentam os mesmos teores dos dois monosacarídeos. Maçã e pêra são exemplos de frutos onde há predominância de frutose sôbre glucose (64).

Sacarose é um oligosacarídeo bastante encontrado em frutos. Seu teor geralmente é determinado por diferença entre os açúcares redutores antes e depois da inversão, e varia grandemente, podendo estar ausente, como em algumas uvas, romã e tomate, ou em valores elevados, como em abacaxi (quase 8 %), e tâmara (mais de 8 %), porcentagens essas expressas em relação à porção comestível. Dificilmente, como ocorre em abacaxi, damasco, pêssego, manga e tangerina, o teor de sacarose é maior que o de açúcares redutores. Em laranja as concentrações são semelhantes (64). O maracujá apresenta um teor médio em sacarose.

O amido é o polisacarídeo mais encontrado em frutos. Pruthi e Lal (52) isolaram o amido do suco de maracujá roxo, encontrando um teor médio de 1,8 %, variando entre 1,1 e 2,8 %. Fonseca (26), após o estudo da hidrólise enzímica do amido, encontrou um teor médio de 2,76 % de amido em suco de maracujá amarelo. Trabalhos anteriores de Cillie e Joubert (11) sugeriam ser o amido isolado do suco de maracujá roxo um tipo quase puro de amilopectina.

b. Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos desempenham importante papel como constituinte de frutos. Diz-se mesmo ser o "flavor" o resultado do balanço entre os conteúdos de açúcares e ácidos no produto considerado. Participam de diversas sínteses no metabolismo vegetal, sendo a relação entre seu conteúdo e o de sólidos solúveis bastante usada para se ter uma idéia do estágio de maturação de um fruto (61).

O suco de maracujá é bastante ácido, com teor de acidez variando entre 2,4 e 4,8 %, com média de 3,4 % em ácido cítrico, em maracujá roxo (52) ou mais alto em maracujá amarelo, atingindo até 7,6 % (48). Resultados diferentes foram encontrados para o maracujá amarelo por Boyle e outros (6) no Havaí - entre 3,0 e 5,0 % - e Fonseca (26) no Brasil - média de 4,26%.

Os principais ácidos orgânicos no suco de maracujá roxo foram motivos de estudo de Pruthi (50). Como é comum ocorrer em frutos, o principal ácido encontrado foi o ácido cítrico, com um teor médio de 95 % do total de ácidos. Os outros 5 % foram atribuídos ao ácido málico, não tendo sido detectado nenhum outro.

O pH do suco de maracujá varia de 2,6 a 3,3 com médias de 2,83 (maracujá roxo) e 3,0 (maracujá amarelo) (26, 50).

A essa elevada acidez do suco de maracujá é atribuída sua alta capacidade de resistir a alterações. (50).

c. *Pigmentos*

Pruthi e Lal (51), ao estudarem a natureza dos pigmentos em suco de maracujá roxo, constataram a presença apenas de carotenóides. Maiores comentários sôbre êsses componentes serão feitos mais adiante.

A presença de antocianinas foi detectada apenas na casca do maracujá roxo (54).

d. *Outros componentes*

O suco de maracujá roxo contém pequena concentração de polifenóis (4,2 mg %), sendo ácido tânico o principal constituinte (50).

As substâncias nitrogenadas do suco de maracujá roxo estão presentes entre os limites de 0,096 a 0,192 %, sendo o teor de proteínas (N . 6,25) encontrado entre 0,6 e 1,2 %, com média de 0,8 %, (52).

Entre os aminoácidos livres, encontram-se leucina, valina, tirosina, treonina, glicina, ácido aspártico, arginina, lisina e prolina. Êste último não é detectado, geralmente, em outros sucos, do mesmo modo que outros sucos apresentam metionina, fenilalanina e triptofano, ausentes no suco examinado (50)

O teor em pectina é bastante baixo, como é usual ocorrer em

outros frutos. Teores da ordem de 0,03 a 0,06 % em pectato de cálcio foram encontrados para o suco de maracujá (26, 52).

Os componentes voláteis foram objeto de estudos de Hiu e Scheuer (37), com uso de cromatografia de partição gás-líquido. O "flavor" característico do suco de maracujá foi atribuído a componentes do óleo insolúvel na água, que constituiam cêrca de 36 ppm do suco. 95 % do óleo eram formados por butirato de n-hexila, caproato de etila, butirato de etila e caproato de n-hexila, sendo êste o principal (cêrca de 70 % da essência volátil do suco). Os demais 5 % do óleo foram atribuídos a compostos de grande complexidade estrutural, responsáveis por características de insaturação olefínica encontradas no óleo.

Não há referências que possam elucidar a possível diferença de componentes voláteis existente entre sucos de maracujá roxo e maracujá amarelo, mas é possível que haja alguma diferença na composição, uma vez que o "flavor" apresenta pequena distinção nos dois casos (50).

Há dados variáveis sôbre a vitamina A em suco de maracujá, desde 10 até 1547 U.I.Vit.A, para suco de maracujá roxo, e em tôrno de 570 U.I.Vit. A para o uso de maracujá amarelo (50). A vitamina C apresenta valores entre 21,9 e 69,9 mg % para o suco de maracujá roxo com média de 34,6 mg % (52), e 29,1 mg % em suco de maracujá amarelo (26).

Catalase e fenolase foram detectadas em suco de maracujá amarelo. Não foi detectada a presença de peroxidase nem de redutase do ácido dehidroascôrbico (57). Foi constatada a presença de pectinametilesterase em suco de maracujá roxo (50).

Entre os minerais, o suco de maracujá não apresenta muitas diferenças com outros sucos, estando presentes cálcio, ferro, potássio e outros (50).

OS PIGMENTOS CAROTENÕIDES EM FRUTOS

1. *Os carotenõides*

Os pigmentos carotenõides estão bem difundidos, tanto no reino animal quanto no reino vegetal. Nêste, são produtos de síntese, ao passo que, naquêles, são oriundos da dieta.

Os carotenõides são de coloração amarela a púrpura, insolúveis em água, solúveis em óleos e solventes orgânicos, sendo porisso classificados como pigmentos lipocrômicos. Compreedem dois grupos principais:

I. *CAROTENOS* - são hidrocarbonetos solúveis em éter de petróleo e pouco solúveis em álcool etílico.

II. *XANTOFILAS* - são os derivados oxigenados dos carotenos - álcoois, ácidos, ésteres, óxidos, etc. - solúveis em etanol mas não em éter de petróleo.

Nos vegetais, os carotenõides são encontrados em diversas partes das plantas, como fôlhas, flôres, frutos, etc. Contribuem na fotossíntese, pela habilidade que têm de transmitir a energia luminosa acumulada à clorofila. Sua função essencial é prevenir ou minimizar a alteração foto-oxidativa do sistema fotossintético catalizada pela clorofila (8).

Através dos conhecimentos acumulados pelos estudiosos dos carotenõides, foram estabelecidos os principais padrões de distribuição dêsses pigmentos em frutos. Assim, um fruto pode apresentar (30):

a. quantidades insignificantes de carotenõides;
b. pequenas quantidades de carotenõides, encontrados em cloroplastos, principalmente *Beta-Caroteno*, *Luteina*, *Violaxantina* e *Neoxantina*;

c. relativamente grandes quantidades de *Licopeno* e seus congêneres parcialmente saturados *Fitoeno*, *Fitoflueno*, *Zeta-Caroteno* e *Neurosporeno*;

d. relativamente grandes quantidades de *Beta-Caroteno* e seus derivados *Criptoxantina* e *Zeaxantina*.

e. grandes quantidades de epóxidos, incluindo epóxi furanóides

f. um só carotenóide, como *Capxantina* em pimenta;

g. poli-cis-carotenóides, como *Prolicopeno*.

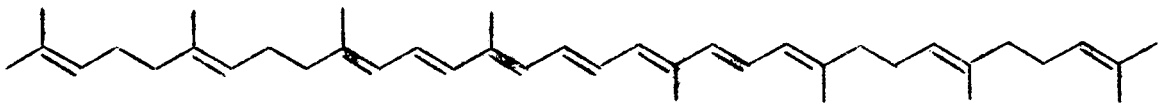
2. *Estrutura dos carotenóides*

Em 1831 Wackenroder extraiu caroteno da cenoura (Daucus carota L.), de onde surgiu o nome. Mas, só em 1930 Karrer estabelecia definitivamente sua estrutura (8). Com o advento da cromatografia como técnica analítica, muitos pesquisadores conseguiram chegar à determinação das estruturas de diversos carotenóides. Os diversos estudos mostraram que os carotenóides tem uma estrutura de natureza isoprênica, o que lhes permite um grande número de isômeros geométricos, com configurações cis e trans, sendo que êstes constituem a grande maioria na natureza. Trabalhos com diversos compostos de muitas ligações conjugadas, mostraram que, com o aumento da cadeia, havia uma intensificação da côr (8).

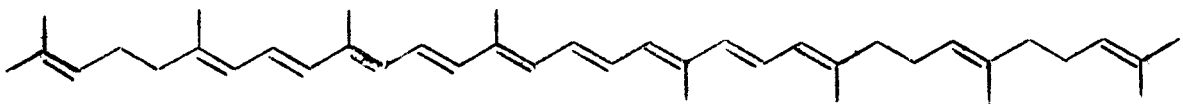
Alguns carotenóides estão representados nas figuras 1 e 2.

FIGURA 1

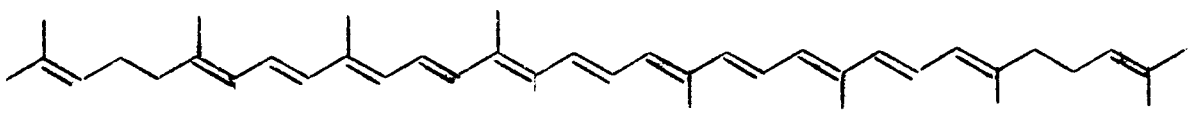
Estruturas de alguns carotenos



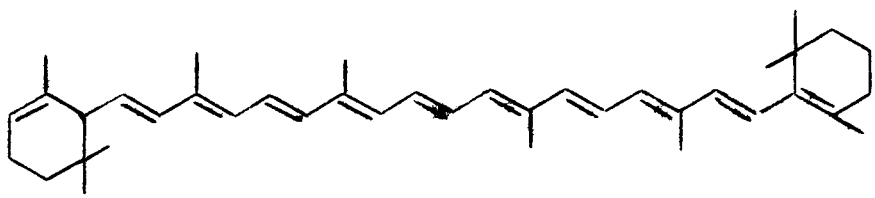
Zeta-caroteno



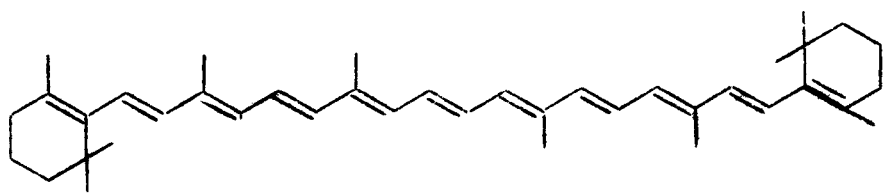
Neurosporeno



Licopeno



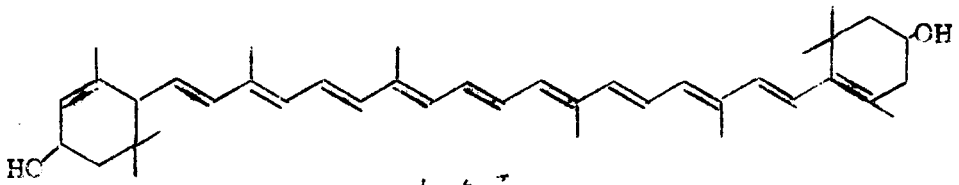
Alfa-caroteno



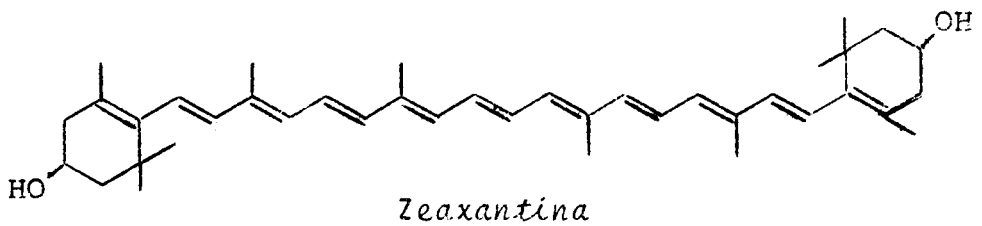
Beta-caroteno

FIGURA 2

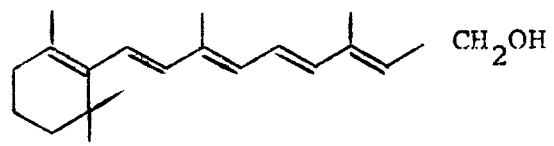
Estruturas de algumas xantofilas e de vitamina A



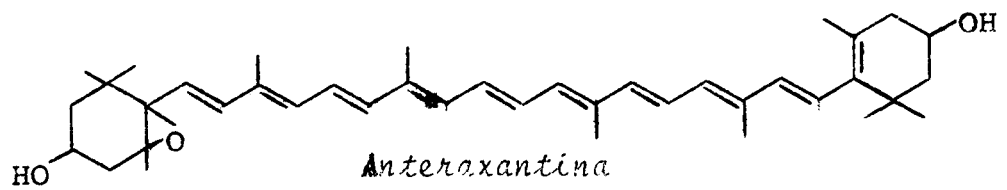
Luteína



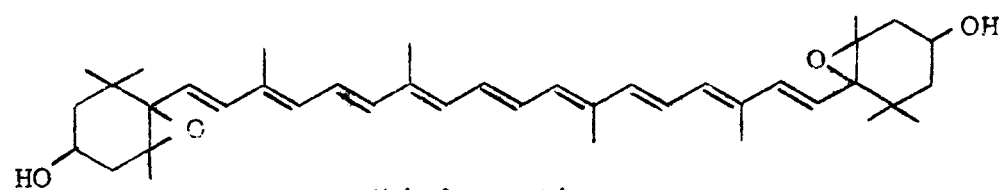
Zeaxantina



Vitamina A



Anteraxantina



Violaxantina

Nas estruturas dêsses carotenos nota-se uma simetria bilateral nos esqueletos de 40 carbonos. As diferenças, pequenas, são evidenciadas na posição das duplas ligações terminais. Essas diferenças, entretanto, têm marcante influência no comportamento dessas substâncias (8).

Um outro fato que deve ser mencionado, por comparação de estruturas, é que o licopeno, não tendo o anel terminal (anel de ionona), não pode ser precursor de vitamina A. Nota-se que a vitamina A é um álcool constituído pela metade da molécula do *Beta-Caroteno*, sendo êste seu precursor encontrado nos vegetais, servindo como fonte aos animais (8).

Entre as xantofilas, destacam-se:

- luteína (3,3' -dihidróxi-alfa-caroteno)
- zeaxantina (3,3' -dihidróxi-beta-caroteno)
- anteraxantina (5,6 epóxizeaxantina)
- violaxantina (5, 6, 5', 6' diepóxizeaxantina)

3. *Carotenóides em maracujá e outros frutos*

A ocorrência de carotenóides em frutos tem sido bastante estudada por diversos pesquisadores. Entretanto, poucos têm sido os que se preocuparam em verificar, durante o período de desenvolvimento do fruto, as transformações verificadas nos componentes responsáveis pela coloração, em conjunto ou isoladamente.

Curl e Bailey (16) conseguiram isolar e identificar os carotenóides de laranja Valencia, encontrando os valores dados na tabela III. Em laranja Navel, os valores encontrados por Curl e Bailey (20) foram bastante semelhantes. Braverman (8) adverte que os pesquisadores têm encontrado valores bastante diversos em análises de carotenóides em laranjas. Há casos em que o teor é da ordem de 2 a 5 % apenas em carotenóides, ficando o restante representado por xantofilas. Goodwin e Goad (30) também comentam que não se pode estender os resultados de uma análise de carotenóides de determinado tipo de fruto de

TABELA III

Alguns carotenóides em suco de laranja Valencia

Pigmentos	% do total de pigmentos
Fitoeno	4,0
Fitoflueno	1,3
Alfa-caroteno	0,5
Beta-caroteno	1,1
Delta-caroteno	5,4
Criptoxantina	5,3
Luteína	2,9
Zeaxantina	4,5
Anteraxantina	5,8
Violaxantinas	7,4
Luteoxantinas	17,0
Auroxantinas	12,0

Fonte: Curl, A.L. & Bailey, G.F. - Orange carotenoids. Part I. Comparison of carotenoids of Valencia orange peel and pulp. J. Agric. Food. Chem. 4: 156, 1956

uma espécie a uma outra família ou mesmo espécie. Tal é o caso exemplificado por Yamamoto (68) com estudos feitos com mamão: problemas de mutação em apenas um gen acarretaram o aparecimento de licopeno em mamão de pôlpa vermelha, pigmento êsse inexistente no mamão de pôlpa amarela.

A análise de carotenóides em tangerinas, realizada por Curl e Bailey (19) no suco e na casca, mostrou que a coloração mais avermelhada dêsse fruto, em relação à laranja, pode ser atribuída à maior quantidade de pigmentos carotenóides, como beta-caroteno e criptoxantina, no suco. Foram detectados ainda outros pigmentos menores, não encontrados anteriormente em laranjas. Entre êles, licopeno, hidróxicantaxantina e um pigmento semelhante a *Gama-Caroteno*. Na análise cromatográfica foi encontrada uma banda semelhante a fitoflueno.

Curl e Bailey (15) mostraram que a maior parte da fração correspondente a xantofilas, em suco de laranja Valencia, estava sob forma esterificada. Assim, entre outras, luteína, criptoxantina, zeaxantina e epóxi-xantofilas ocorriam como ésteres, e os furanóxidos estavam sob forma de álcoois livres.

A comparação entre xantofilas de fôlhas e suco de laranja, realizada por Curl e Bailey (18), mostrou que os dióis encontrados nas fôlhas, estavam em proporção diferente da encontrada no suco. Os polióis encontrados nas fôlhas mostraram-se diferentes dos do suco.

Em pôlpa de "grapefruit", Curl e Bailey (17) determinaram que beta-caroteno (27 % dos carotenóides totais) é um dos principais carotenóides, ao lado de licopeno (40 %). Quantidades bem menores de fitoflueno (4,4 %) e zeta-caroteno (3,5 %) foram encontradas. Fitoeno (16 %) mostrou-se um dos principais carotenóides da pôlpa e o principal (47 %) da casca, seguido de fitoflueno. Outros carotenóides - monóis, dióis e polióis - apareceram em quantidades bem menores (em tôrno de 0,5 % na pôlpa).

Em tomates, Curl (13) verificou que as xantofilas representavam 6 % dos carotenóides. Entre elas, a luteína era a principal (35,5 % das xantofilas), seguindo-se violaxantina, neoxantina, zeaxantina e outros compostos, entre os quais epóxidos.

Magistad (43) investigou as causas da diferença de coloração entre frutos de abacaxi, de local para local e de fruto para fruto. Encontrou diversos carotenos e xantofilas na pôlpa, sendo que os primeiros estavam em maior quantidade (0,15 % dos pigmentos totais) que as xantofilas (0,03 %). As diferenças entre os teores foram encontradas em diversas partes do fruto. Não foram feitas determinações qualitativas e quantitativas para cada tipo de carotenóide.

Frutos de baixo teor em carotenóides foram estudados por Curl (14), que comparou-os com laranja, tangerina, pêssego, tomate, etc. O maior teor foi encontrado em figo (8,5 mg de carotenóides por kg de mistura fruto-fôlhas) e o menor teor foi encontrado em romã (0,16 mg/kg). O maior constituinte dos carotenóides em todos os frutos foi beta-caroteno.

A composição dos carotenóides de abacaxi foi motivo dos estudos de Morgan (45). Foram encontrados 21 componentes, inclusive isômeros. Os principais constituintes da mistura de carotenóides foram violaxantinas (50 % dos carotenóides totais), seguindo-se luteoxantinas (13 %), beta-caroteno (9 %) e neoxantinas (8 %). Carotenóides em teores menores foram determinados como sendo zeta-caroteno, hidróxi-alfa-caroteno, criptoxantinas, luteína, auroxantinas e outros.

Em suco de maracujá, um estudo sôbre carotenóides foi realizado por Pruthi e Lal (51), que determinaram os principais pigmentos em suco de maracujá roxo. Os resultados (tabelas IV, V e VI) revelam a existência de uma complexa mistura de pigmentos. A diferença com suco de laranjas reside no fato de que, no suco de maracujá, predominam os não saponificá

veis, variando de 45,74 % a 76,30 % dos carotenóides totais. Uma análise mais apurada mostrou que os principais carotenóides eram alfa-, beta- e zeta-carotenos e fitoflueno. Não foi possível estabelecer a identidade de três outros pigmentos, mas dois dêles foram supostos serem isômeros. Em síntese, os pigmentos do suco de maracujá roxo apresenta-se sob forma de mistura complexa, com predominância de beta-caroteno.

Em outro estudo, Pruthi (48) não encontrou muita diferença entre as constituições em carotenóides de sucos de maracujá amarelo e maracujá roxo, apenas sendo notado um maior teor em carotenóides totais e ésteres xantofílicos na variedade amarela. Os espectros de absorção de ambos (Figura 3) foram bastante semelhantes. Os resultados analíticos estão na tabela VII.

4. Os Carotenóides durante a maturação de frutos

Em todo fruto que apresenta carotenóides há uma síntese durante a maturação, acompanhada por uma simultânea perda de clorofila (30).

O desaparecimento da clorofila, passando o cloroplasto a cromoplasto, não é um fato essencial para que os cromoplastos se desenvolvam e ocorra a síntese de carotenóides adicionais. Há casos em que a clorofila ainda está presente no fruto maduro, podendo também haver síntese de carotenóides antes do desaparecimento da clorofila (30). Ainda pode não haver síntese de carotenóides até que tôda clorofila tenha desaparecido, havendo apenas uma síntese de fitoeno, que é um polieno incolor (70).

Há diferenças qualitativas e quantitativas entre os carotenóides de partes diferentes do mesmo fruto, sendo mais comum uma concentração maior de carotenóides na casca do fruto(36,42).

Em abacaxi, Gortner (31) notou que, após o desaparecimento da clorofila, havia um pequeno aumento do teor de carotenói

TABELA IV

Partição dos carotenóides do suco de maracujá roxo entre metanol e éter de petróleo

Carotenóides	Densidade ótica	% do total de carotenóides	Variação
Carotenóides totais	0,650	-	0,26 a 0,21 (a)
Xantofilas livres	0,140	21,54	10,26 a 21,54 %
Ésteres xantofílicos	0,205	31,54	11,11 a 34,57 %
Epifásicos não saponificáveis	0,305	46,92	47,74 a 76,30 %

(a) Expresso em densidade ótica a 4250ºA, de um extrato de éter de petróleo de 20 ml de suco de maracujá (diluição 1: 25).

Fonte: Pruthi, J. S. & Lal, G. - Carotenoids in passion fruit juice (Passiflora edulis Sims.). Food Res. 23: 505, 1958.

TABELA V

Constituição em carotenóides do suco de maracujá roxo, extraído em diferentes estágios de maturação

Carotenóides	Estágios de maturação					
	Verde claro		Meio Roxo		Roxo	
	D.O.	%	D.O.	%	D.O	%
Carotenóides totais	0,336		0,54	-	0,71	-
Xantofilas livres	0,045	13,51	0,068	12,59	0,073	10.26
Ésteres xantofílicos	0,065	19,72	0,098	18,11	0,128	18,09
Não saponificáveis	0,220	66,77	0,374	69,30	0,509	71,65

D.O = densidade ótica

As porcentagens estão relacionadas ao total de pigmentos

Fonte: Pruthi, J.S. & Lal, G. - Carotenoids in passion fruit juice (Passiflora edulis Sims.) Food Res. 23: 505, 1958.

TABELA VI

Posição relativa, absorção máxima e côr dos carotenóides em suco de maracujá roxo

Zona	Comprimento da banda (mm)	Côr	Absorção máxima (mu)	Identidade	% aprox.
1	10	Amarela	400, 425, 450	Não identif.	7,6
2	11	Amarela	400, 425, 445	"	8,0
3	10	Laranja avermel.	400, 425	"	9,3
4	8	Amarelo clara	380, 400, 425	Zeta-caroteno	8,0
5	40	Amarela	425, 450, 480	Beta caroteno	57,8
6	15	Amarela	420, 445, 475	Alfa caroteno	7,5
7	-	Incolor	345, 365	Fitoflueno	-

Fonte: Pruthi, J. S. & Lal, G. - Carotenoids in passion fruit juice (Passiflora edulis Sims.) Food. Res. 23: 505, 1958.

TABELA VII

Carotenóides em sucos de
maracujá amarelo e maracujá roxo

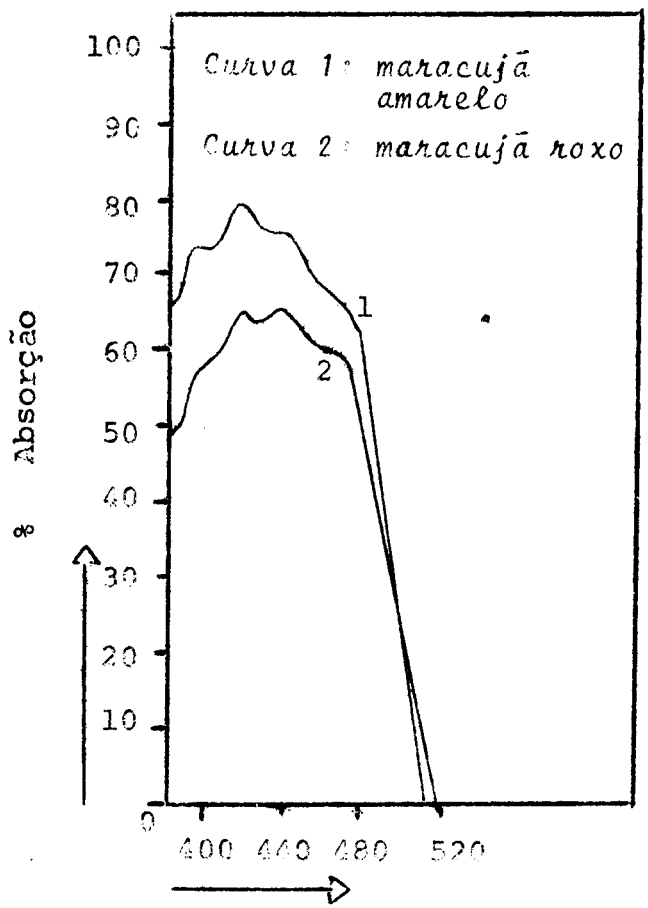
Carotenóides	Maracujá amarelo		Maracujá roxo	
	D.O.	%	D.O.	%
Carotenóides totais	0,360	-	0,260	-
Xantofilas livres	0,047	13,06	0,056	21,54
Ésteres xantofílicos	0,153	42,50	0,082	31,53
Epifásicos não saponificáveis	0,160	44,44	0,120	46,93

D.O. = densidade ótica

Fonte: Pruthi, J.S. - Physico-chemical composition of passion fruit (Passiflora edulis Sims.). II. Varietal differences. Indian J. Hort. 15: 87, 1958.

FIGURA 3

Espectro de absorção dos carotenóides de sucos de maracujá amarelo e maracujá roxo



Fonte: Pruthi J.S. - Physico-chemical composition of passion fruit (Passiflora edulis Sims.) II. Varietal differences. Indian J. Hort. 15: 87, 1958.

dos na casca.

Diversos fatores podem afetar a produção de carotenóides na maturação de frutos, tais como: atmosfera (oxigênio e outros gases), luz, temperatura, nutrientes minerais do solo, tratamentos adicionais recebidos pela planta, e outros (27).

Gortner e Singleton (32) notaram que a isomerização de carotenóides pode ocorrer em certos estágios da maturação de abacaxi. Os dados obtidos mostram que a isomerização ocorre apenas em frutos completamente maduros e translúcidos. Os pigmentos isomerizados foram encontrados em maior quantidade na parte inferior do fruto, fato que é atribuído ao desenvolvimento da maturação no sentido de baixo para cima.

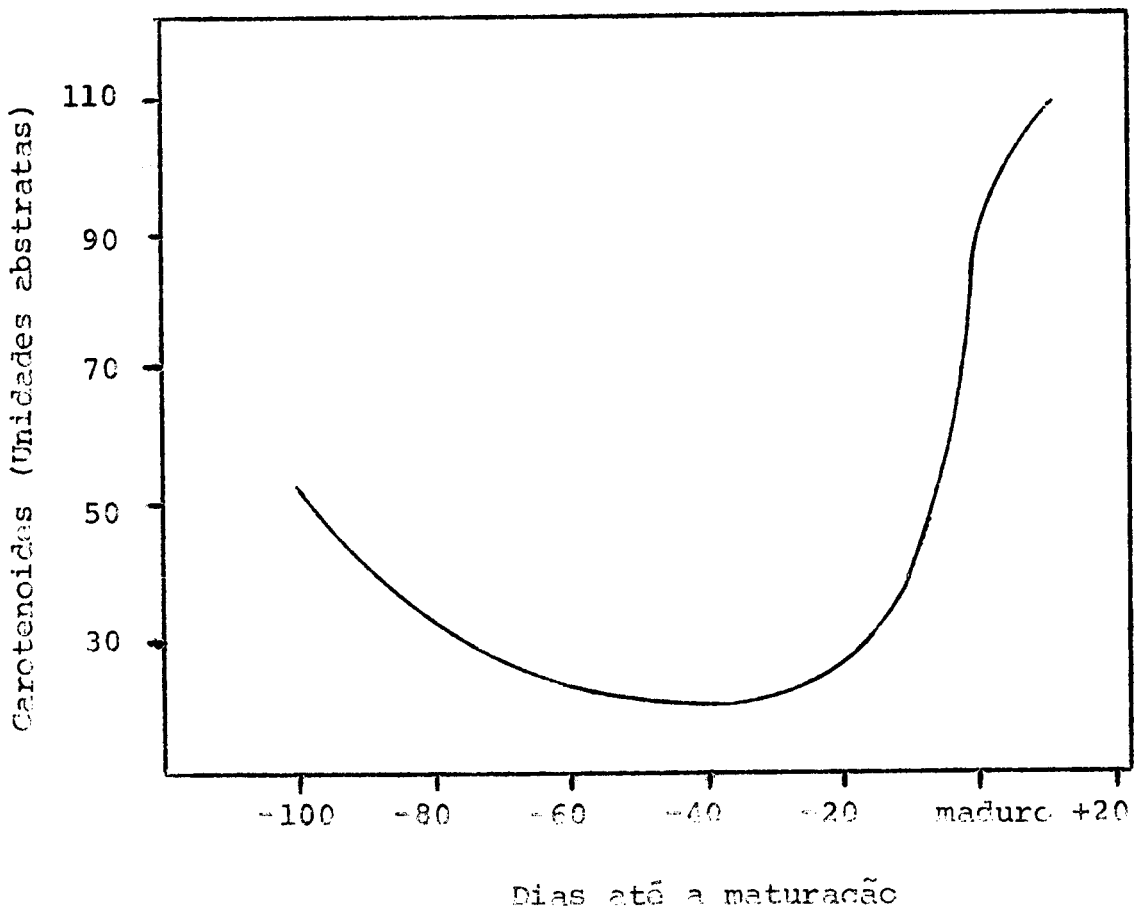
Gortner (31) também verificou que, durante a maturação de lotes de abacaxi, analisados semanalmente, os carotenóides da pôlpa mostravam marcantes diferenças, nos diversos estágios. O teor em carotenóides caiu até cêrca de 7 semanas antes da maturação, crescendo ràpidamente nas duas últimas semanas, como mostra a figura 4. Êsses fatos coincidem com outras mudanças verificadas em diversos outros componentes do fruto, sugerindo os períodos citados como início e fim da maturação.

Em tomates, Dalal e outros (22) constataram que os carotenóides sofriam alterações significativas durante a maturação, independentemente da variedade. Os teores em beta-caroteno e licopeno mostraram-se máximos no ponto denominado "pink", antes de alcançar a coloração vermelha mais intensa, o que é mostrado na figura 5.

Yokoyama e Vandercock (69) compararam os carotenóides de limões meio maduros e maduros. Atribuíram a coloração existente no fruto a uma complexa mistura de carotenóides. Durante a maturação, coincidindo com o desaparecimento da clorofila, alfa-caroteno também desapareceu. Houve um aumento no teor de fitoflueno (de 19 para 22 % do total de carotenóides na pôlpa), o

FIGURA 4

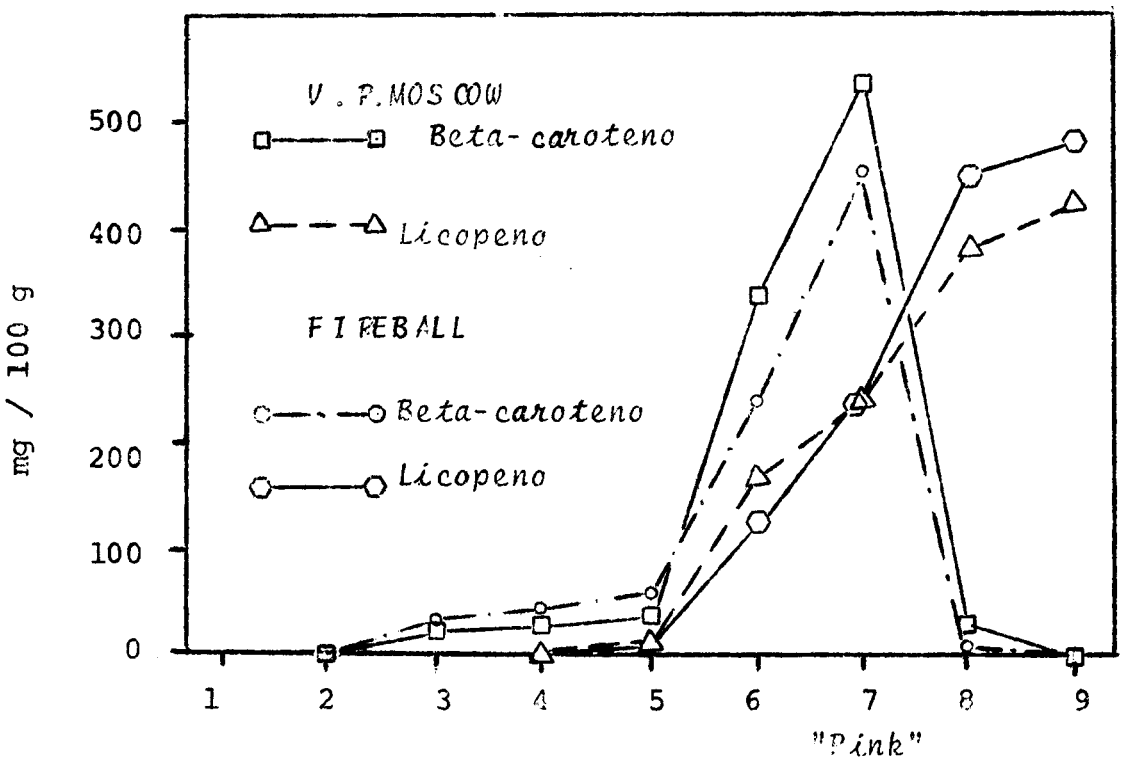
Carotenóides da polpa de abacaxi durante o desenvolvimento do fruto.



Fonte Gortner, W.A. - Chemical and physical development of the pineapple fruit. IV. Plant pigment constituents. J. Food Sci. 30: 30, 1965.

FIGURA 5

Beta-caroteno e licopeno em duas variedades de tomate durante a maturação dos frutos



Fonte: Dalal, K.B.; Salunkhe, D.K.; Boe, A.A. & Olson, L.E. Certain physiological and biochemical changes in the developing tomato fruit (Lycopersicum esculentum Mill.) J. Food Sci. 30. 504, 1965.

mesmo ocorrendo com beta-caroteno (de 3,8 para 6,6 %). Zeta-caroteno, ausente no primeiro estágio, apareceu na pôlpa e na casca (4,0 %).

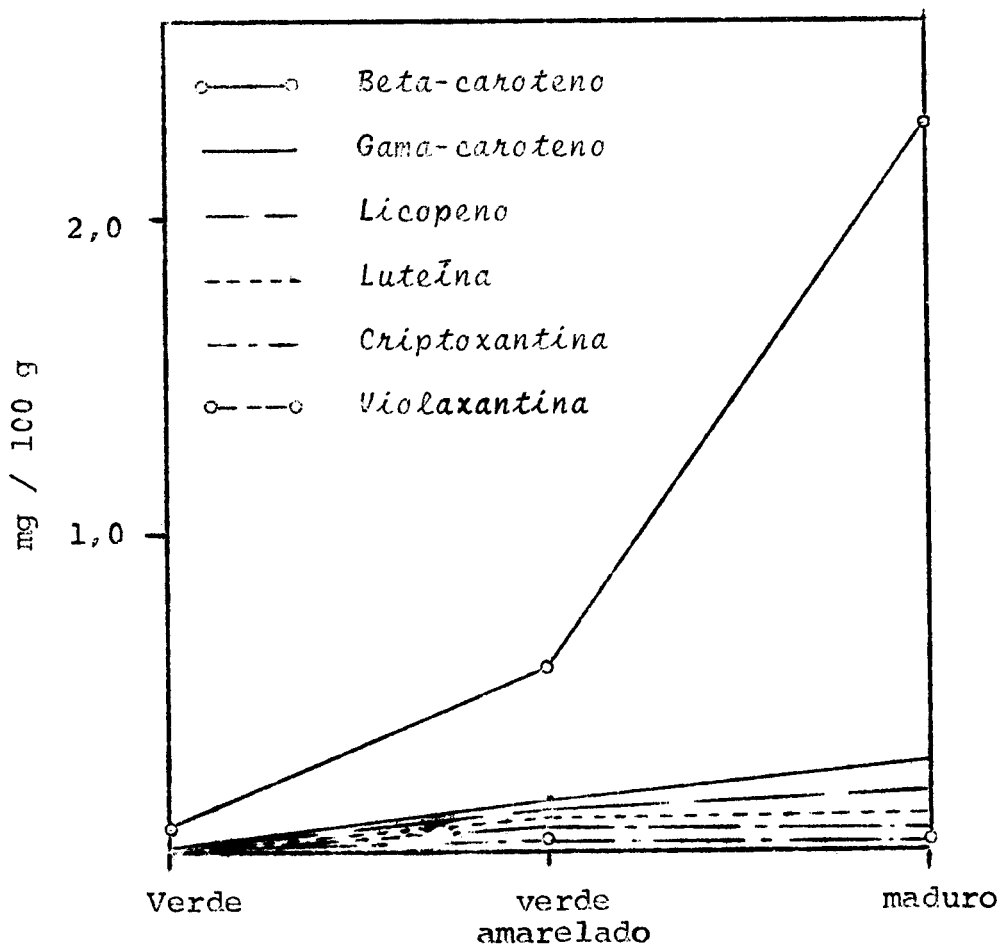
John e outros (38) estudaram a distribuição qualitativa de carotenóides durante três estágios da maturação de manga. Verificaram um aumento em conteúdo e número de carotenóides na pôlpa com a evolução da maturação. Beta-caroteno mostrou-se maior nos estágios imaturo (cêrca de 57 % dos carotenóides presentes) e completamente maduro (em tôrno de 50 %). Quando parcialmente maduro, o fruto apresentou maior teor de fitofluono (mais de 39 %), com beta-caroteno surgindo com um valor superior a 33% nessa fase. A xantofila em maior teor na primeira fase foi a mutatoxantina (em tôrno de 9 %), estando auroxantina em maiores quantidades nas fases intermediária, (acima de 5 %), e final (mais de 10 %). Durante a maturação, notou-se o desaparecimento de luteína.

Recentemente, Katayama e outros (39) investigaram as transformações de carotenóides em damascos e pêssegos em maturação, utilizando carbono radioativo. Beta-caroteno era o pigmento predominante nos tecidos de damasco, sendo acumulado durante a maturação. Em pêssego, entretanto, beta-caroteno, luteína e violaxantina foram sintetizados em quantidades quase iguais durante o processo de maturação. Os tecidos de pêssego e damasco incorporaram o ácido mevalônico-(2-C^{14}) em beta-caroteno, beta-criptoxantina, luteína e ainda em violaxantina em tecidos de pêssego. A maior incorporação se deu durante os estágios iniciais de maturação de pêssego, declinando durante a senescência, especialmente em luteína e violaxantina. As figuras 6 e 7 mostram êsses resultados.

Os conhecimentos a respeito das transformações sofridas pelos carotenóides em maracujá durante a maturação dos frutos são bastante reduzidos. Pruthi e Lal (51) observaram a constituição dos grupos de carotenóides em suco de maracujá roxo em três

FIGURA 6

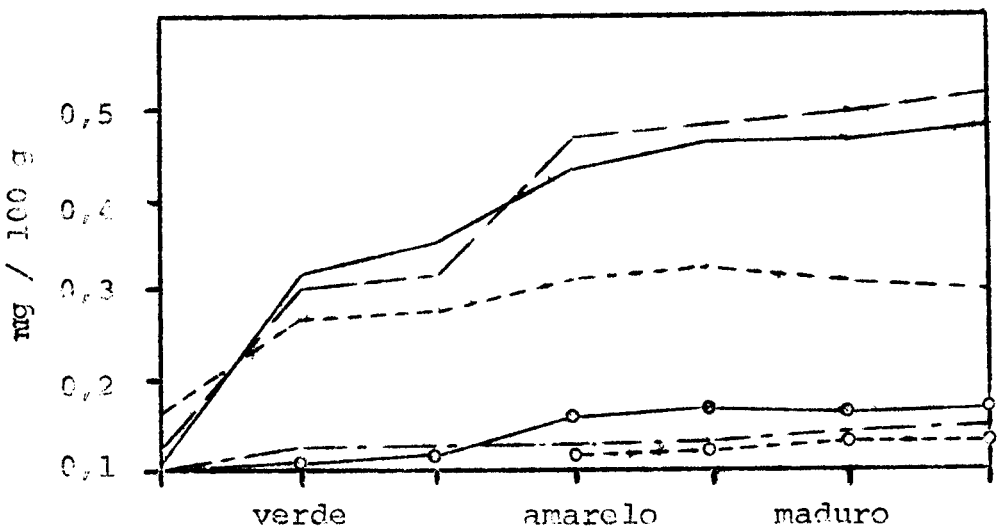
Carotenóides na maturação de damascos



Fonte: Katayama, T.; Nakayama, T.O.M.; Lee, T.H. & Chischester, C.O. - Carotenoid transformations in ripening apricots an peaches. J. Food Sci. 36: 804, 1971.

FIGURA 7

Carotenóides na maturação de pêssegos



— — — Beta-caroteno

——— Violaxantina

------ Luteína

o——o Criptoxantina

—·— Neoxantina

o-----o Zeaxantina

Fonte: Katayama, T., Nakayama, T.O.M., Lee, T.F. & Chischester, C.O. - Carotenoid transformations in ripening apricots and peaches. J.Food Sci. 36: 804, 1971

diferentes estágios de maturação. Os dados obtidos (tabela V) mostram um aumento gradual no teor de carotenóides. Não são dadas as alterações sofridas por cada tipo de pigmento, isoladamente, durante os períodos de maturação observados.

Recente trabalho de Araujo e outros (3) mostrou que a côr do suco apareceu 33 dias após a polinização (A côr verificada foi a "buttercup yellow 5/1", da Horticultural Color Chart). Daí em diante, intensificou-se até a maturidade completa do fruto, apresentando uma aparente estabilidade nos últimos dias.

A BIOSSÍNTESE DOS CAROTENÓIDES

Como já foi verificado anteriormente, são até agora conhecidos como constituintes do suco de maracujá roxo os seguintes carotenóides (51):

- *fitoflueno*
- *alfa-caroteno*
- *beta-caroteno*
- *zeta-caroteno*

São carotenóides não oxigenados. Não foi feita a identificação das xantofilas presentes, sendo ressaltado que elas existiam sob forma livre e esterificada. É possível que estejam representadas pelas frações não identificadas no mesmo trabalho.

A seguir serão vistas algumas idéias predominantes a respeito da biossíntese de carotenóides, destacando-se a daquêles encontrados no suco de maracujá. Muitas das passagens foram sugeridas baseadas em trabalhos realizados em tecidos diferentes de frutos e em microorganismos. Serviram como guias principais revisões sôbre o assunto, executadas por Porter e Anderson (47) e Goodwin (27, 29). Há que se ressaltar a constante presença dêsse último em trabalhos de investigação sôbre biossíntese de carotenóides, como autor principal ou colaborador, uma vez que é dos que têm dedicado parte da existência a êsse fascinante estudo. Por isso, será quase que uma constante sua presença nas citações.

Experiências acumuladas no estudo da biossintese de carotenóides evidenciam que êles são formados a partir de polienos incolores (47). Êsses polienos são produzidos a partir de unidades básicas de 5 átomos de carbono, que sofrem condensações,

aumentando a cadeia até atingir a estrutura com 40 carbonos do incolor fitoeno. A partir de fitoeno, através de uma série de reações, formam-se outros compostos menos saturados, portadores de côr, característica conferida **por grupamentos cromóforos caracteristicos - duplas ligações conjúgadas e grupamentos cíclicos terminais (63).**

A sistematização dessas reações é feita a seguir.

1. Síntese de ácido mevalônico (MMV) (figura 8)

Acetato (ou acetil-coenzima A) pode ser considerado como o composto inicial da biosíntese de carotenóides. Os substratos radioativos utilizados em muitas experiências (acetato 1-C^{14}, acetato-2-C^{14}, ácido beta-hidróxi-beta-metil glutárico-3-C^{14}, $C^{14}O_2$, ácido mevalônico-2-C^{14} e outros), incorporados aos carotenos (principalmente fitoeno, beta-caroteno e licopeno),são convertidos em acetil-coenzima A ou em intermediários entre êle e os carotenos (47).

Acetil-coenzima A pode ter diversas origens, como a partir de ácido acético, de CO_2 pela fotosíntese, do piruvato originário da glicólise, etc. (28).

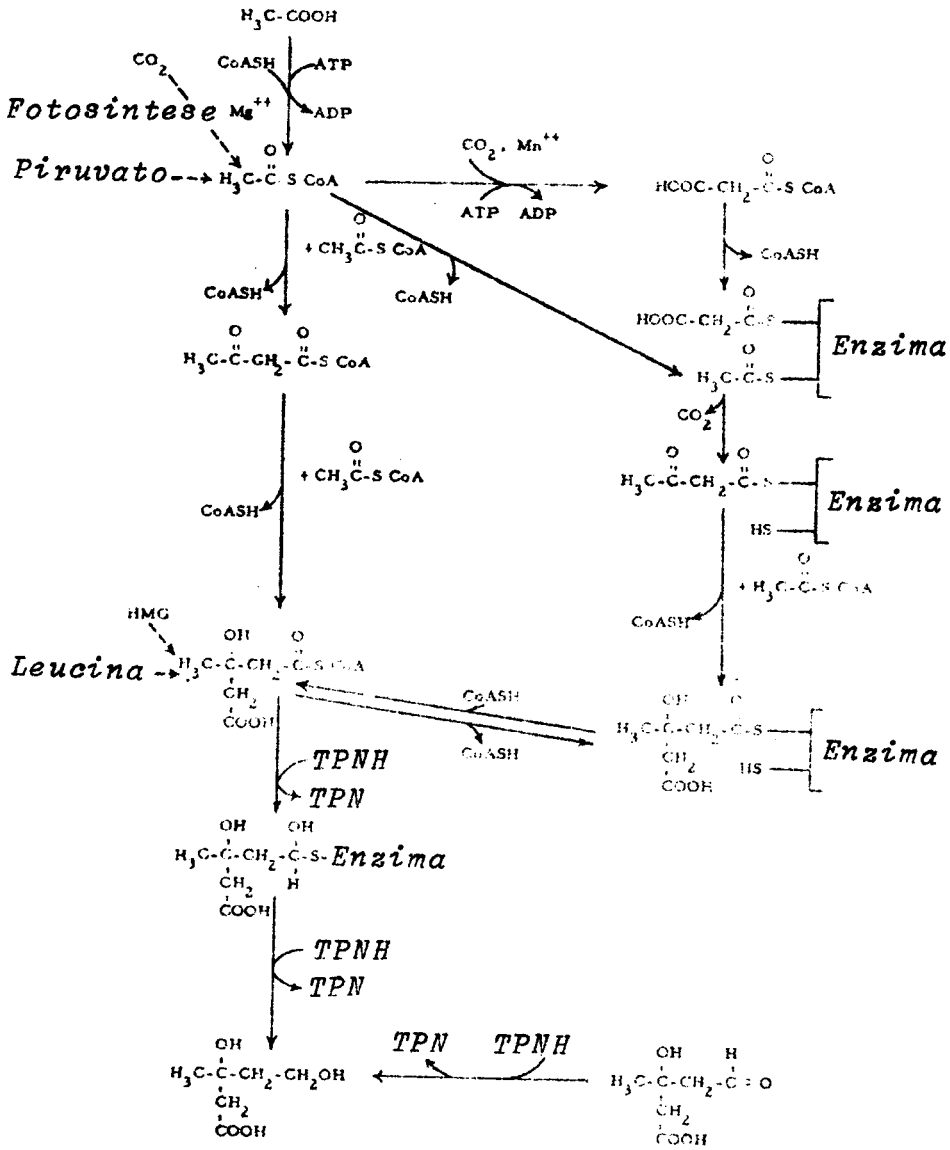
A conversão de acetato (ou acetil-CoA) em beta-hidróxi-beta-metil glutaril coenzima A (HMG-CoA) envolve uma condensação de duas moléculas de acetil-CoA, catalizada pela enzima tiolase, com formação de aceto-acetil-coenzima A (47).

A condensação de aceto-acetil coenzima A com outra molécula de acetil-CoA, catalizada pela enzima condensante de hidróxi-metil glutaril coenzima A, produz HMG-CoA (47).

Um outro caminho para produção de HMG-CoA é a passagem de acetil-CoA para malonil-coenzima A. Êste é levado a acetil e malonil-enzima pela condensação com outra molécula de acetil-CoA. Nessas fases atuam enzimas do tipo sintetase. Por descarboxilação, é produzida acetato-acetil-enzima. Êste composto, em condensação com acetil-CoA produz HMG-enzima, de onde então se origina o HMG-CoA (47).

FIGURA 8

Conversão de acetato em ácido mevalônico



Fonte: Porter, J.W. & Anderson, D.G. Biosynthesis of carotenes. Ann. Rev. Plant Phys. 18: 197, 1967.

HMG-CoA pode também ser originário do catabolismo da leucina (28).

O passo seguinte nêsse caminho é a conversão de HMG-CoA em ácido mevalônico. Essa passagem ainda não está bem esclarecida em tecidos vegetais, tendo sido inferida de experiências com tecidos animais. A formação de AMV envolve uma transformação estereoespecífica, na qual o grupo carboxila do HMG-CoA é reduzido a álcool primário (47). O nucleotídeo reduzido TPNH (Trifosfopiridina nucleotídeo reduzido) é o único cofator requerido para essa reação (24). Brodie e Porter, citados por Porter e Anderson (47), propuseram a possibilidade de ácido mevâldico ser um intermediário na reação. Essa conversão é irreversível, sendo catalizada pela enzima HMG-CoA redutase (28).

2. Formação de isopentenil pirofosfato (IPP) - (figura 9)

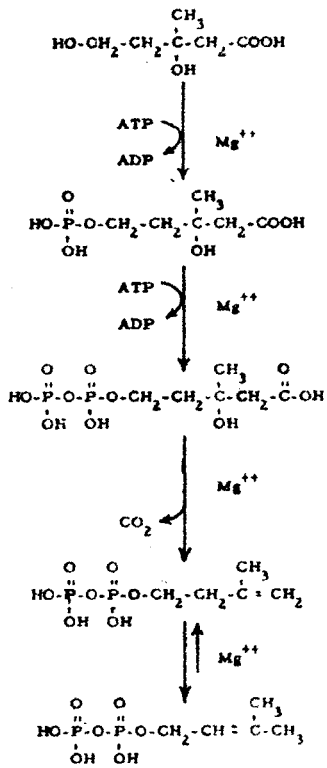
Essa passagem de AMV para IPP foi proposta com auxílio dos resultados de diversos trabalhos onde foi empregado ácido mevalônico-2-C^{14} (47). As enzimas que interferem nêsses passos são quinases do ácido mevalônico e do ácido fosfomevalônico (56), tendo como cofatores ATP e ions Mg^{++} e Mn^{++}. Formam-se como intermediários ácido fosfomevalônico e ácido mevalônico 5-pirofosfato. Admite-se uma reação reversível de IPP para dimetil alil pirofosfato (DAPP), catalizada por isopentenil pirofosfato isomerase (47). DAPP age como iniciador para o aumento da cadeia (29).

3. Produção de geranilgeranil pirofosfato (GGPP) - (figura 10)

O IPP é então transformado em GGPP, composto que apresenta uma estrutura de 20 carbonos. Os sistemas enzimáticos que interferem nesssa reação não estão ainda bem identificados. Sabe-se que ions Mg^{++} e Mn^{++} agem como cofatores (47).

FIGURA 9

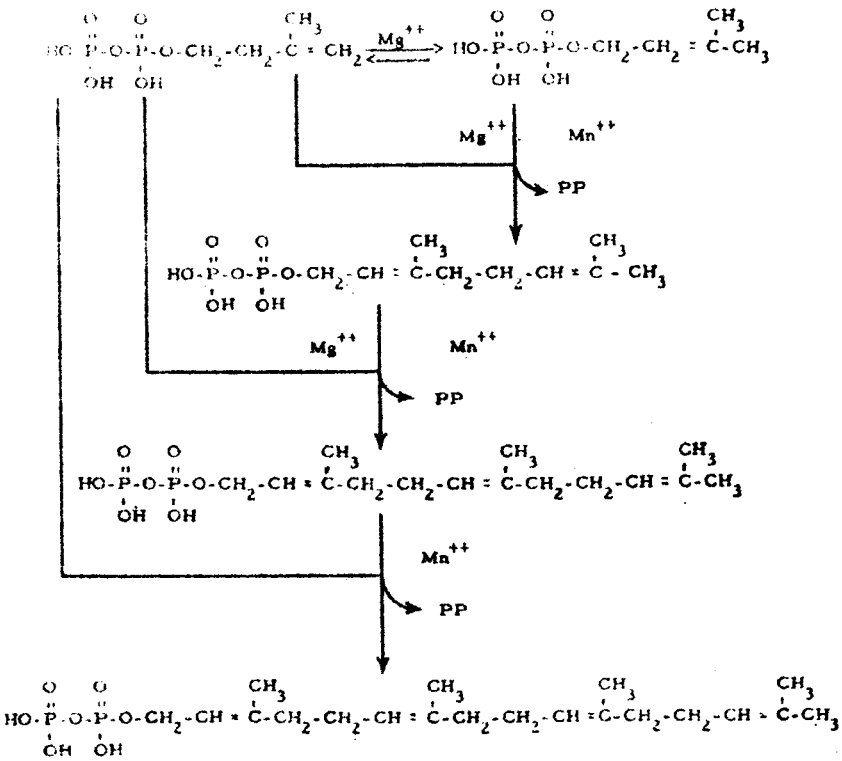
Conversão de ácido mevalônico em isopentenil pirofosfato



Fonte: Porter, J. W. & Anderson, D.G. Biosynthesis of carotenes. Ann. Rev. Plant Phys. 18: 197, 1967.

FIGURA 10

Conversão de isopentenil pirofosfato
em geranilgeranil pirofosfato



Fonte: Porter, J.W. & Anderson, D.G. Biosynthesis of carotenes. Ann. Rev. Plant Phys. 18: 197, 1967.

Segundo Goodwin (29), a enzima preniltransferase transfere inicialmente um resíduo de IPP para DAPP, para formar geranil pirofosfato (com 10 carbonos). O mesmo se repete a seguir, condensando-se IPP com geranil pirofosfato, formando-se farnesil pirofosfato. Nova reação semelhante dará origem ao GGPP.

4. Formação de fitoeno

O mecanismo da união de duas moléculas de GGPP, de 20 carbonos, para produzir uma molécula de fitoeno, com 40 carbonos, tem gerado bastante controvérsias. Diante dos resultados de muitas pesquisas desenvolvidas, a união das moléculas pelas extremidades das cadeias tem sido a hipótese mais aceitável, uma vez que a evidência dos fatos aponta GGPP como intermediário de 20 carbonos na síntese de fitoeno. Goodwin (29) sugere a perda de um hidrogênio em cada uma das moléculas de GGPP, para possibilitar a união, formando fitoeno. Buggy e outros (9) afirmam que os hidrogênios perdidos provêm dos carbonos 1 das moléculas de GGPP. William e outros (66) sugeriram alguns mecanismos para a união dessas moléculas.

Charlton e outros (10) estabeleceram que não há necessidade de TPNH para essa condensação. Isso mostra que a reação não envolve redução.

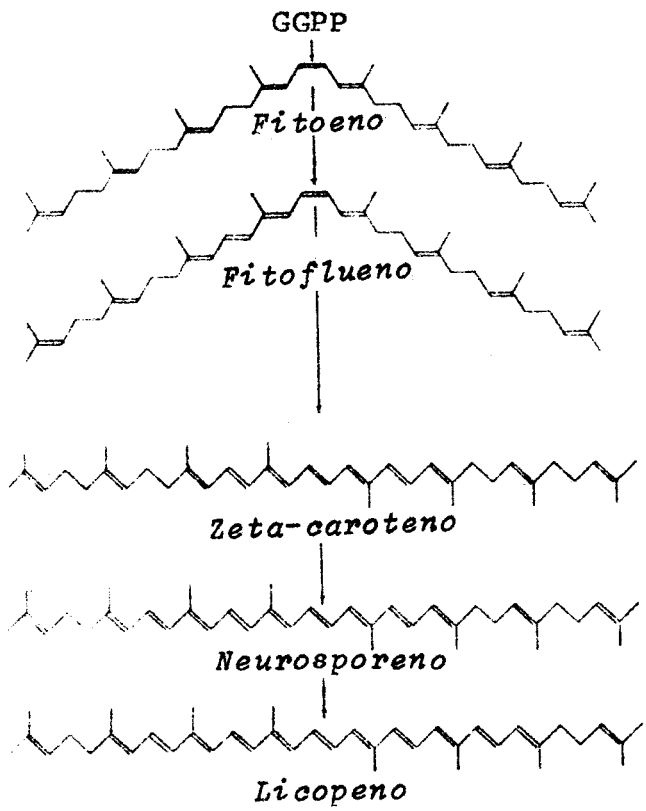
Foi aventada a possibilidade de licoperseno, mais saturado que fitoeno, ser o composto de 40 carbonos inicial da série dos carotenóides. Entretanto, essa hipótese foi afastada, uma vez que não é encontrado êsse composto em todas as células que sintetizam carotenos (28, 44, 47, 58).

5. A série de desaturações (figura 11)

O fitoeno sofre então uma série de desaturações, produzindo os demais compostos da série dos carotenóides.

FIGURA 11

Série de reações de desaturação do fitoeno



Fonte: Porter, J.W. & Anderson. D.G. Biosynthesis of carotenes. Ann. Rev. Plant Phys. 18: 197, 1967.

Foram realizadas pesquisas de caráter genético, fisiológico, com elementos radioativos, com sistemas isolados de plantas e com microorganismos, para elucidar a formação de carotenos pela via de desaturação em sequência a partir do fitoeno.

A desaturação gradativa de fitoeno até licopeno tem bases circunstanciais, apesar de conversões diretas não terem sido claramente demonstradas. Podem ser tomadas como evidências (30):

a. os compostos ocorrem juntos em uma série de tecidos, especialmente frutos;

b. suas estruturas químicas lhes permitem um arranjamento em sequência biogenética lógica;

c. quando são utilizadas substâncias inibidoras de carotenogênese, como difenilamina, há acumulação de intermediários, como fitoeno, e não de licoperseno, nos tecidos estudados;

d. estudos cinéticos de síntese de carotenos mais insaturados e desaparecimento dos mais saturados mostram compatibilidade na relação precursor/produto.

Na conversão de fitoeno a fitoflueno não foram bem estabelecidas as necessidades de cofatores, não se sabendo se ocorre a retirada de hidrogênios em condições aeróbicas ou não, parecendo que o sistema enzimático atua no processo via desidrogenação. Não há alteração na configuração da molécula, uma vez que a dupla ligação central é do tipo cis em ambos, sendo do tipo trans nos demais (47).

Em recente trabalho, Kushwaha e outros (42) levantam a possibilidade de que a conversão de fitoeno em fitoflueno seja dependente da presença de TPN (Trifosfopiridina nucleotídeo), enquanto que as subsequentes transformações parecem requerer FAD (Flavina adenina dinucleotídeo) e Mn^{++}.

A conversão de fitoflueno a zeta-caroteno não está bem explicada. Nessa passagem, além da retirada de dois hidrogênios, deve ocorrer ainda uma mudança de configuração, pela transformação

da dupla ligação central de cis para trans. Não se sabe se existem outras configurações intermediárias que facilitem a passagem de um a outro (tais como trans-fitoflueno ou cis-zeta -caroteno) (47).

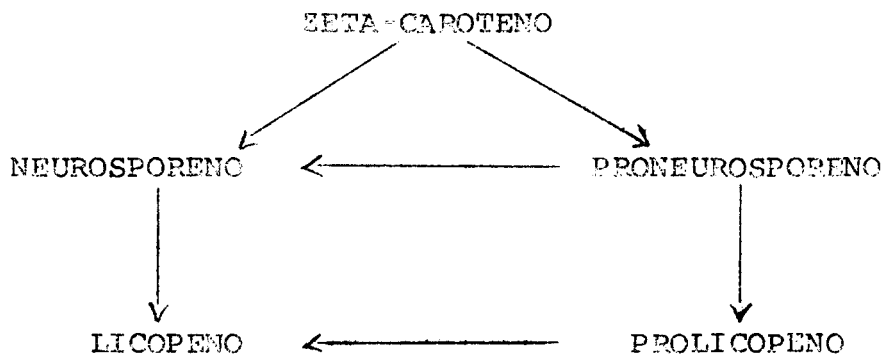
Goodwin (29) cita resultados obtidos por Subbarayan, Kushwaha, Suzue e Porter, em 1970, em trabalhos com cloroplastos isolados de espinafre, indicando que o sistema enzimático deveria não só desaturar fitoflueno para produzir zeta-caroteno, como também produzir uma isomerização, transformando a configuração cis do fitoflueno em trans do zeta-caroteno.

Zeta-caroteno é um composto chave para a formação de carotenóides mais insaturados (fig. 12). É, presumivelmente, o precursor de neurosporeno ou de proneurosporeno. Supõe-se que duas enzimas diferentes estariam envolvidas na formação de cada um dêsses dois compostos. Uma enzima removeria dois hidrogênios, com a formação de trans-neurosporeno e a outra, além de remover dois hidrogênios, converteria as ligações trans a cis, excluindo a ligação central, que é trans em neurosporeno. Outra possibilidade seria a desidrogenação de zeta-caroteno, produzindo proneurosporeno, por uma enzima, ficando a outra com a função de isomerizar proneurosporeno a neurosporeno (47).

Pensa-se que o sistema enzimático necessário à transformação de neurosporeno em licopeno e de proneurosporeno em prolicopeno seria semelhante ao necessário ao passo anterior. Presumivelmente diferentes enzimas seriam necessárias para formar prolicopeno. Cada uma das enzimas removeria dois hidrogênios e uma delas transformaria ligações trans de proneurosporeno em ligações cis. Outra possibilidade seria a desidrogenação de proneurosporeno, para formar prolicopeno, por uma enzima, e a isomerização dêsse composto para licopeno, pela outra enzima (47).

FIGURA 12

Reações propostas para formação de proneurosporeno e prolicopeno



Fonte: Porter, J.W. & Anderson, D.G. - Biosynthesis of carotenes. Ann. Rev. Plant Phys. 18: 197, 1967.

6. Reações de ciclização

Os carotenóides que contêm anel de ionona e os oxigenados dêles derivados são os mais encontrados na natureza, em plantas e microorganismos.

Um fato bastante aceito é que os carotenóides de cadeia hidrocarbônica aberta são os precursores dos carotenóides cíclicos. Isso foi estabelecido com vários experimentos com microorganismos e cloroplastos isolados de plantas. Dêsse modo, pensou-se ser licopeno o precursor da ciclização. Algumas hipóteses contrárias apareceram, sugerindo outros caminhos para formação de carotenos cíclicos (47). Hill e Rogers (35) conseguiram converter licopeno em beta-caroteno, utilizando cloroplastos de plantas superiores, concluindo que, em plastídeos, licopeno pode ser um intermediário na síntese de beta-caroteno. Dêsse modo, delta-caroteno e gama-caroteno seriam intermediários na produção de alfa-caroteno e beta-caroteno, respectivamente. Também Kushwaha e outros (41) conseguiram converter licopeno em alfa-caroteno e beta-caroteno, utilizando cloroplastos de espinafre, em presença de luz, nitrogênio e TPN. Mais recentemente, Hill e outros (36) conseguiram converter licopeno em beta-caroteno utilizando plastídeos isolados de feijão e tomate. Sugerem então que licopeno é um possível, embora não necessariamente o único, precursor de beta-caroteno em plantas superiores.

Outra alternativa existente (fig. 13) é a formação de carotenos cíclicos a partir de neurosporeno. Nêsse caso, beta-zeacaroteno seria um intermediário na formação de beta-caroteno (47).

Goodwin (28) propôs neurosporeno como substrato para formação de alfa-caroteno (fig. 14). Nessa reação, alfa-zeacaroteno é formado a partir de neurosporeno. A seguir, formam-se delta-caroteno e alfa-caroteno. Êsse caminho está em acôrdo com o anterior.

A hipótese de que beta-caroteno pode ser formado por isomeri

FIGURA 13

Conversão de neurosporeno e licopeno em beta-caroteno

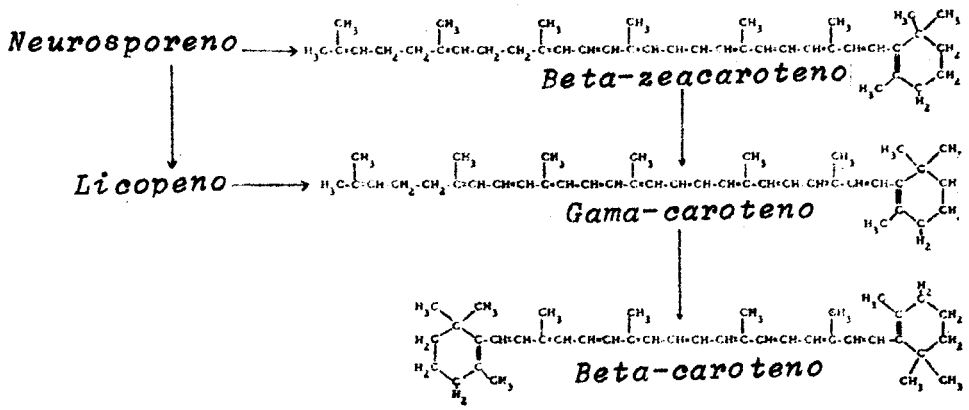
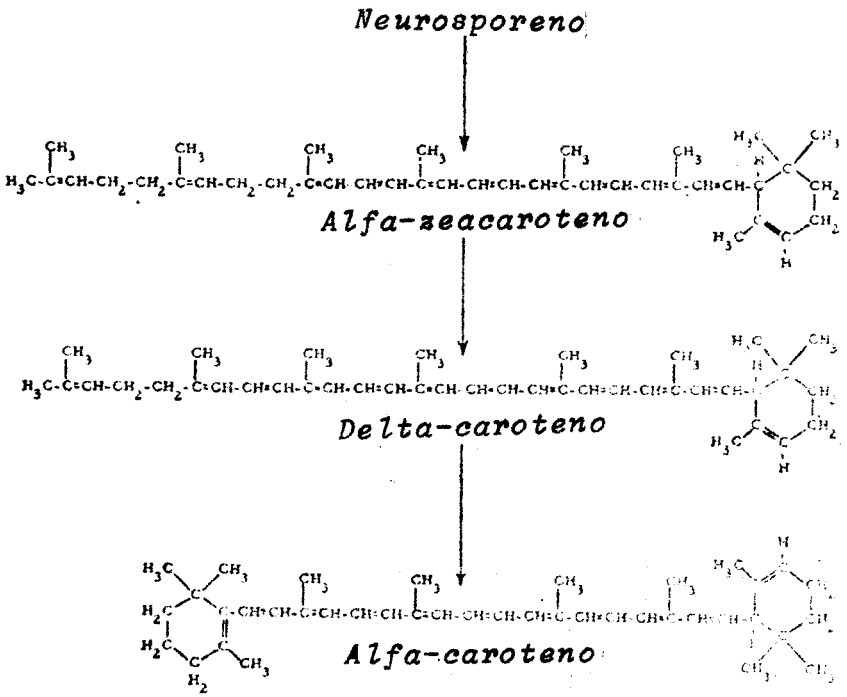


FIGURA 14

Conversão de neurosporeno em alfa-caroteno



Fonte: Porter, J.W. & Anderson, D.G. Biosynthesis of carotenes. Ann. Rev. Plant Phys. 18: 197, 1967.

zação de alfa caroteno também tem sido levantada, mas parece ser um caminho improvável de interconversão. Investigações de Walton e outros (62) e Willian e outros (65) com várias espécies de ácido mevalônico parecem eliminar toda interconversão entre os anéis de alfa e beta-iononas dos carotenos em tecidos verdes, cenouras e tomates.

Um esquema ainda mais completo (fig. 15) foi sugerido recentemente por Goodwin (29). A ciclização a partir de neurosporeno, ao invés de licopeno, no caminho biossintético, é um fato possível porque já foi constatada a existência de alfa-zeacaroteno e beta-zeacaroteno. Alfa-zeacaroteno e beta-zeacaroteno podem ser teoricamente convertidos em delta-caroteno e gama-caroteno, dando então origem a alfa-caroteno e beta-caroteno, respectivamente.

Goodwin (29) propôs esquema simplificado para o mecanismo de ciclização, independentemente do substrato para essa reação (fig. 16). Um proton ataca na dupla ligação terminal, produzindo um intermediário, indicado no esquema como um ion carbonium. Este pode ser estabilizado na presença de uma beta-ciclase, por ejeção de um proton do carbono 6 para produzir o anel de beta-ionona. A perda similar de um proton do carbono 4, na presença de uma alfa-ciclase, produziria um anel de alfa-ionona.

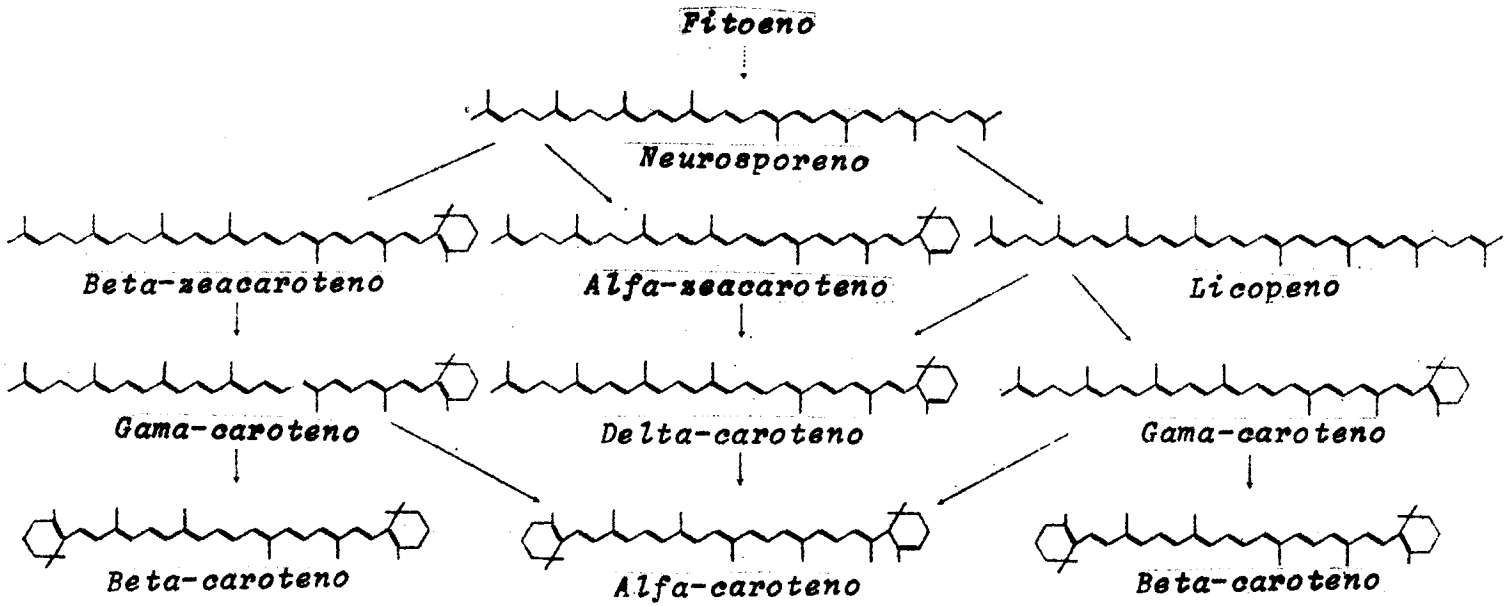
É de se notar portanto que, apesar das informações até hoje acumuladas, ainda não é possível afirmar com segurança o caminho de formação de carotenóides cíclicos. É evidente que são formados a partir dos de cadeia aberta e que, pelo menos alguns, são formados a partir de neurosporeno. É possível, ainda, que novos caminhos sejam descobertos em diferentes organismos ou mesmo dentro de um mesmo tecido.

7. Formação de carotenóides oxigenados

Os carotenóides oxigenados estão bastante difundidos na natureza, sendo que os alifáticos e monocíclicos são mais

FIGURA 15

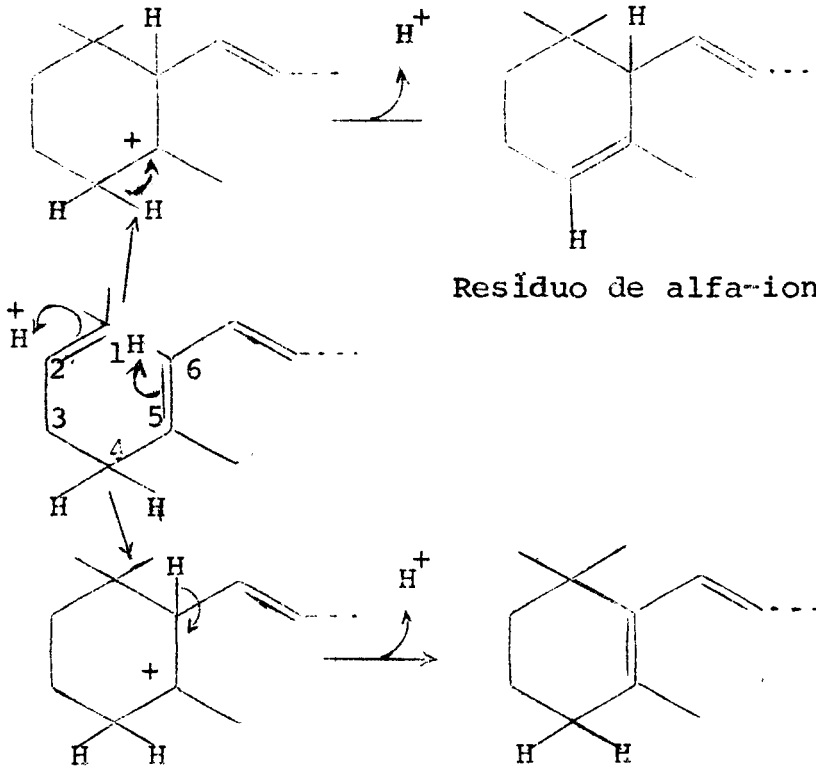
Possíveis caminhos de biossíntese de carotenos cíclicos



Fonte: Goodwin, T.W. - Biosynthesis of carotenoids and plant triterpenes. Biochem. J. 123: 293, 1971.

FIGURA 16

Mecanismo básico para formação de anéis alfa e beta em carotenóides



Fonte: Goodwin, T.W. - Biosynthesis of carotenoids and plant triterpenes. Biochem. J. 123: 293, 1971.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

encontrados em microorganismos e alguns frutos, e muitos dicíclicos estão presentes em tecidos fotosintéticos de plantas verdes (47).

As xantofilas mais abundantes em plantas verdes são os derivados de alfa-caroteno e beta-caroteno.

É mais ou menos aceito o fato de que os carotenóides oxigenados são formados a partir dos correspondentes não oxigenados, não estando ainda bem esclarecido o modo pelo qual é incorporado o oxigênio à molécula. Entretanto, a fonte de oxigênio pode ser água ou oxigênio molecular. Dois processos - hidroxilação e epoxidação - estariam envolvidos nessa passagem (47).

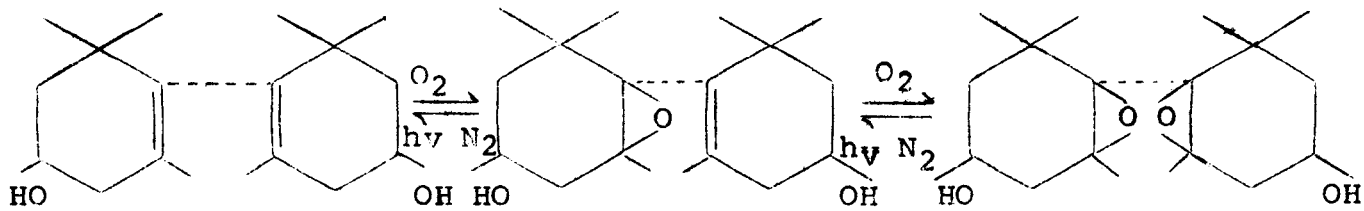
São aventadas várias possibilidades de interconversão entre xantofilas. Como exemplo, podem ser citadas:

- interconversão entre luteína e violaxantina
- interconversão entre violaxantina e zeaxantina (fig. 17), tendo anteraxantina como intermediária (47). Luteína não pode ser convertida diretamente em zeaxantina (62).
- a conversão de zeaxantina a anteraxantina parece ser uma reação que requer oxigênio em obscuridade, ao passo que a reação inversa requer luz e condições anaeróbicas. O mesmo ocorre na interconversão entre anteraxantina e violaxantina (29).

Existe ainda a hipótese de que ocorram interconversões bem mais complexas (fig. 18), envolvendo inclusive a redução de xantofilas a carotenos (como violaxantina a beta-caroteno) em plantas verdes. Nêsse caso, haveria uma espécie de equilíbrio entre os carotenóides de um tecido vegetal (47).

FIGURA 17

Exemplos de interconversões de xantofilas

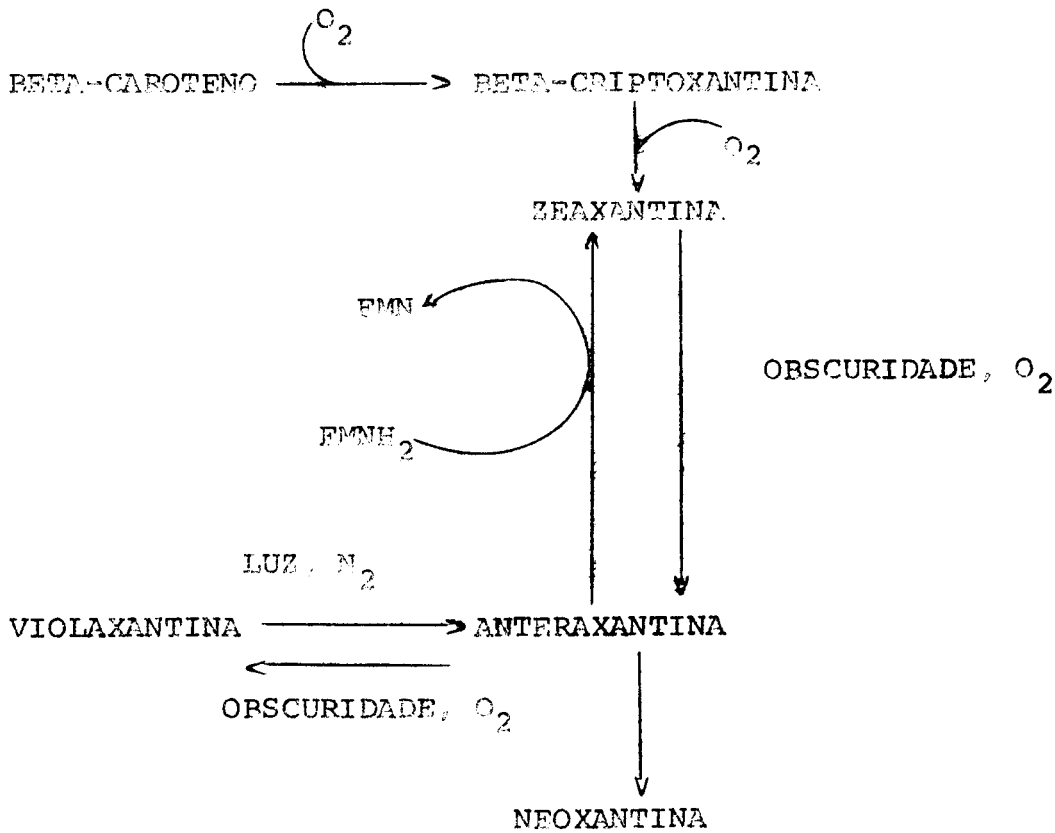


Zeaxantina *Anteraxantina* *Violaxantina*

Fonte: Goodwin, T.W. - Biosynthesis of carotenoids and plant triterpenes. Biochem. J. 123: 293, 1971

FIGURA 18

Formação de xantofilas derivadas de beta-caroteno



Fonte: Porter, J.W. & Anderson, D.G. - Biosynthesis of carotenes. Ann. Rev. Plant Phys. 18: 197, 1967.

MODIFICAÇÕES DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO SUCO DE MARACUJÁ DURANTE A MATURAÇÃO

A maturidade de um fruto, significando um estado próprio para colheita e industrialização, engloba uma série de características alcançadas após um período de desenvolvimento a partir da formação do fruto. Nêsse período são diversas as transformações bioquímicas que ocorrem para a elaboração dos diversos constituintes de um fruto maduro.

Do ponto de vista tecnológico, para produção de um suco, os componentes químicos mais importantes são os açúcares, os ácidos e os pigmentos que, juntamente com os voláteis, serão responsáveis pelas principais características organolépticas do suco a ser produzido.

Também pode ser considerado um fator importante o pêso dos frutos, que servirá de base para comercialização.

Todos os componentes citados devem ser encarados como importantes quando se quer controlar um processo evolutivo de maturação de um fruto, para obtenção de características desejáveis à industrialização.

Um dos fatos que mais se tornam evidentes na colheita de um fruto é que deve ser apresentado o maior teor possível em suco ou pôlpa. Pruthi (49), ao examinar frutos de maracujá roxo, de um mesmo pomar, mas de distintos estágios de maturação, verificou que o teor em suco no primeiro estágio (verde amarelado) era da ordem de 37,6 % do pêso do fruto. Nos estágios subsequentes, o suco estava presente em maior teor (39,2 % e 38,5 % para parcialmente roxo e roxo, respectivamente). Araujo e outros (3) verificaram que o maior teor em suco, para maracujá amarelo, foi alcançado 67 dias após polinização (32, 35 %).

Por outro lado, para obtenção de um bom produto processado, o teor em suco deve ser associado a outros fatores, sendo os

mais importantes os de natureza química do suco. Êstes terão influência marcante na qualidade do produto obtido no processamento, em decorrência do fato sabido de que o processamento, por si só, não possibilita um melhoramento das características do produto inicial, podendo, quando muito, conservá-las.

Os açúcares, durante a maturação, variam de comportamento. O amido, que apresenta um acréscimo de teor durante a evolução do fruto de maracujá (50), pode decrescer em outros frutos, até desaparecimento completo (64). A sacarose pode aumentar durante a maturação em alguns frutos, mas o maracujá apresenta um ligeiro decréscimo, apesar de ainda estar em teor relativamente elevado ao final do processo (49). Os açúcares redutores, em geral, crescem em teor durante a maturação, podendo ocorrer algumas variações na proporção glicose: frutose (64). O maracujá segue êsse mesmo padrão (49).

As alterações no teor de ácidos durante a maturação variam de fruto para fruto. Há casos em que ocorre aumento na acidez titulável até o início do processo de maturação (como em uva e maçã), passando a cair em seguida, ou pode ocorrer um constante decréscimo até a maturação completa, como se dá em banana e pêra (61).

O maracujá apresentou uma baixa no teor de acidez com a evolução do processo de maturação, nos estágios observados por Pruthi (49): de 3,6 % em acidez cítrica, no estágio inicial, passou a 3,3 % e 3,1% nos estágios seguintes. Entretanto, acompanhando durante várias semanas a evolução do fruto, Araujo e outros (3) verificaram que a acidez do suco de maracujá amarelo aumentou até o 46º dia após a polinização, decaindo dêsse ponto até a maturação completa, onde atingiu 4,91 %.

Quanto aos pigmentos responsáveis pela coloração do suco, Pruthi (49) confirmou resultados anteriores (51), verificando que havia um aumento no teor de carotenóides durante a maturação, passando de 0,59 mg/100g de suco no estágio inicial

(verde amarelado) para 0,76 mg/100 g no estágio parcialmente roxo, e chegando a 0,92 mg/100 g no estágio final roxo. Êsses resultados, expressos em U.I. de vitamina A, correspondem a 901, 1149 e 1391, respectivamente.

Araujo e outros (3) observaram que não há marcante modificação na côr do suco nos estágios finais de maturação.

De um modo geral, o estágio inicial de maturação apresenta valores baixos para os principais constituintes do suco de maracujá. Com a evolução do processo maturativo, há um incremento dos constituintes. Entretanto, Pruthi (49) observou que nos dois últimos estágios por êle observados, não havia diferenças marcantes na composição físico-química, exceto que o estágio final (roxo) apresentava suco com melhor aroma. Um ensaio paralelo, com frutos de superfície levemente enrugada (além do ponto final de maturação), mostrou que também não havia diferenças significativas com relação ao estágio completamente maduro (roxo), apenas ocorrendo um teor ligeiramente maior em suco, fato êsse atribuído a uma secagem parcial da casca, o que reduziu o pêso do fruto.

Em abacaxi Cayenne foi realizado um interessante trabalho por Dull e outros (23). Através de análises durante a evolução do fruto, foram estabelecidos correlações entre açúcares redutores, Brix da pôlpa e da casca, pêso do fruto, acidez, carotenóides da pôlpa e da casca, para indicar um estágio adequado para realização da colheita. 95 dias após a floração haver terminado, inicia-se a maturação do abacaxi, sendo então êsse estágio indicado como o ideal para colheita do fruto no Havai, tendo em vista as correlações estabelecidas.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O maracujá é um fruto que parece apresentar grandes possibilidades de industrialização, principalmente para produção de suco. Entretanto, relativamente pouco ainda tem sido feito no estudo de suas características industriais e mesmo de sua tecnologia. As transformações que o fruto sofre durante sua evolução, até a maturidade, e as modificações de seus produtos de processamento, face aos sistemas tecnológicos empregados, ainda permanecem como pontos obscuros.

Prova do pouco conhecimento existente sôbre maracujá é que praticamente tudo que se encontra de mais recente na literatura a respeito dêsse fruto está relacionado às pesquisas efetuadas já há algum tempo por J.S. Pruthi, na Índia. Além disso, a maioria dêsses trabalhos diz respeito a maracujá roxo. É de se pensar, portanto, na necessidade de se reexaminarem vários conceitos emitidos por aquêle pesquisador, não só pela atualização de dados, mas também para poder estendê-los à variedade mais cultivada no Brasil, que é o maracujá amarelo. A atualização de dados seria possível graças às novas técnicas disponíveis de análise.

Os dados sôbre aceitabilidade do suco de maracujá geralmente a atribuem às suas marcantes características organolépticas. Sua acidez, entretanto, lhe dá características de um verdadeiro concentrado natural. Daí então advém seu emprego em mistura com diversos outros sucos em alguns países. No mercado interno podem ser encontrados suco simples ou diluído e adoçado, esterilizado ou preservado. O mais recente talvez seja o néctar de maracujá agora comercializado. Outras utilizações estão sendo desenvolvidas, inclusive como aromatizante, para o suco de maracujá.

Apesar do grande número de espécies do gênero Passiflora, apenas são relacionadas na literatura como exploradas industrialmente a espécie P. edulis Sims. (maracujá roxo) e sua variedade P. edulis forma flavicarpa Degener (maracujá amarelo). O primeiro é mais encontrado na Índia, Nova Zelândia, Austrália, ao passo que o último é mais difundido no Havaí e no Brasil.

O ponto ótimo de maturação do fruto não tem sido até hoje determinado por características físico-químicas do suco e sim por observação de características externas do fruto. Isso parece ser devido, por um lado, às facilidades de colheita após a queda do fruto, e por outro, às próprias características físicas do fruto, cujo envoltório parece dificultar a utilização de métodos instrumentais de avaliação da maturidade, como já se faz em outros frutos.

A composição química do suco de maracujá não o diferencia em muito dos padrões de outros frutos, apesar das naturais discrepâncias de resultados entre investigadores. Os açúcares do suco de maracujá ocorrem em um teor médio em relação aos outros frutos. Característica é a presença do amido em um teor relativamente elevado, o que tem levado à discussão das influências dêsse constituinte durante o processamento.

A pronunciada acidez do suco de maracujá é outra característica, tendo inclusive aparecido o valor de 7,6 % em ácido cítrico p/p, dado na literatura, indo o pH até 2,6.

Pequenos teores de diversos componentes são conhecidos, quais sejam polifenóis, substâncias nitrogenadas, pectina, etc.

Interessante é o que ocorre com os voláteis. Apesar da literatura aprosentar o suco de maracujá como bastante aromático, a análise desenvolvida por Hiu e Scheuer (37) revela como principais componentes apenas quatro ésteres, perfazendo um total de 95 % do óleo insolúvel em água. Os restantes 5%

são atribuídos a compostos de grande complexidade estrutural. Ca proato de n-hexila concorria com quase 70 % do total. Em outros frutos, as análises revelam um grande número de substâncias voláteis. Também é um ponto que necessita confirmação a possível diferença entre os constituintes voláteis dos sucos de maracujá roxo e de maracujá amarelo, uma vez que é possível ser notada uma leve diferença entre seus aromas.

Poucas enzimas já foram identificadas em suco de maracujá, quais sejam catalase, fenolase e pectinametilesterase. A constituição mineral é comum à de outros frutos.

De acôrdo com a análise dos carotenóides do suco de maracujá roxo, realizada por Pruthi e Lal (51), são conhecidos fitoflueno, alfa-caroteno, beta-caroteno e zeta-caroteno. As xantofilas existentes não foram ainda individualizadas através de análises adequadas. Dêsse modo, as análises dos pigmentos do suco de maracujá são incompletas, pois apenas os principais são conhecidos. A ocorrência de antocianinas foi verificada apenas em casca de maracujá roxo.

Verifica-se, assim, a dificuldade que se apresenta para uma análise mais profunda dos prováveis caminhos de formação dos pigmentos do suco de maracujá. Por outro lado, êsses caminhos não são conhecidos mesmo para outros frutos mais estudados, tanto na composição dos pigmentos quanto na evolução durante a maturação do fruto.

Os pigmentos determinados em suco de maracujá são bastante comuns em outros frutos, tais como laranja (16, 20), "grape-fruit" (17), abacaxi (45), etc. Verifica-se ainda que beta-caroteno é o mais difundido entre os pigmentos de suco de frutos. Um maior teor de pigmentos carotenóides em um suco pode conferir-lhe coloração amarela mais intensa que em outros, de menores concentrações em carotenóides (19).

Diferentes partes de um mesmo fruto podem apresentar teores diversos de carotenóides, bem como diferença na identidade dos

pigmentos. O mesmo pode ocorrer entre frutos da mesma espécie mas de diferentes plantas (43).

Outro pigmento bastante difundido no reino vegetal é o licopeno, característico de tomate.

Entre as xantofilas, as mais comuns parecem ser violaxantina, luteoxantina, auroxantina e luteína.

Existem alguns frutos que apresentam baixo teor em carotenóides. **O suco de maracujá apresenta-se altemente rico em carotenóides, apesar da grande variação verificada nos resultados analíticos encontrados na literatura.**

Durante a maturação de um fruto, é um fato aceito de que ocorre uma síntese de carotenóides, coincidentemente ou não com o desaparecimento de clorofila. Várias transformações podem ser notadas nêsse período, inclusive isomerização de pigmentos (32). O ocorrido com abacaxi (31), com a queda de carotenóides até cêrca de 7 semanas antes da maturidade, daí passando a crescer acentuadamente, a partir das duas últimas semanas, talvez seja devido ao aumento relativo dos demais constituintes do suco; com isso, não haveria uma diminuição da quantidade de pigmentos presentes, como poderia parecer,e sim uma síntese mais pronunciada de ácidos, açúcares e outros componentes do suco. Na fase final, a síntese dêsses compostos sofreria uma diminuição de ritmo de formação, voltando então a aparecer mais intensamente a formação de carotenóides. Uma possível perda de água também concorreria para essas modificações.

Outro fato a ser notado é a diferença de comportamento de um mesmo pigmento em diferentes tecidos vegetais. Durante a maturação, pode aumentar em teor numa fase, diminuir na seguinte, aumentar na terceira, e assim por diante. É possível que isso não signifique degradação do pigmento quando ocorre a diminuição de teor, e sim uma estabilização no processo de formação naquêle período, dando ensejo a que outros carotenóides sejam produzidos em maior escala. É também provável que os comporta

mentos sejam diferentes de fruto para fruto devido às naturais diferenças de sistemas enzimáticos, peculiares a cada fruto.

O maracujá mostrou que, com o desenvolvimento da coloração roxa externamente, houve um simultâneo acréscimo no teor de carotenóides. Entretanto, essas observações não mostrarão sempre os mesmos valores de variação pois, ao lado das naturais diferenças originadas pelos tratamentos recebidos durante o desenvolvimento do fruto, tem que ser levada em conta a dificuldade de se obter sempre frutos para estudos precisamente no mesmo estágio de maturação.

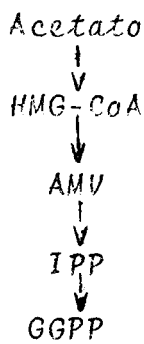
Além da necessidade de se ter uma análise completa dos carotenóides do suco de maracujá, uma verificação periódica dêsses pigmentos durante a maturação do fruto, desde o momento em que aparece a côr até a maturação completa, deveria ser realizada para proporcionar meios para se ter uma idéia melhor das possibilidades de transformações que ocorrem, de um para outro carotenóide, e em que fases elas se passam. Não se pode, entretanto, garantir que a côr aparecerá quando determinado pigmento estiver formado. O mais provável é que, quando diversos pigmentos estiverem formados, uma complexa mistura dêles seja responsável pela visualização da côr.

Com respeito à formação biossintética dos carotenoides, é patente - que muita coisa ainda está para ser esclarecida. Muitos pesquisadores têm dedicado muitos estudos na elucidação dêsse segrêdo da natureza. Entre êles, destaca-se T.W.Goodwin, com diversos colaboradores, que tem publicado trabalhos e revisões nêsse campo de estudo.

Parece que, ultimamente, os trabalhos de pesquisa estão mais concentrados na elucidação do mecanismo de formação dos carotenóides cíclicos. Para tanto, têm sido realizados experimentos com elementos marcados (radioativos), aplicados a compostos acreditados como intermediários na síntese de carotenóides, acompanhando-se a presença dêsses elementos nos diversos

pigmentos formados, sendo utilizados tecidos vegetais e microorganismos.

A parte inicial da biossíntese de carotenóides parece estar mais ou menos aceita pela maioria dos pesquisadores. Algumas passagens necessitam de esclarecimento, principalmente quanto à identidade dos sistemas enzimáticos envolvidos. Mas a série é admitida, a partir de acetato (ou acetil CoA):



A partir de GGPP começam maiores dúvidas, tais como o mecanismo de união das moléculas dêsse composto para formar o fitoeno. A idéia mais recente é de que haja a perda de um hidrogênio de cada uma das duas moléculas de GGPP, sem participação de TPNH.

A possibilidade de que licoperseno seja o composto de 40 carbonos inicial da série de carotenos parece estar eliminada.

A semelhança entre estruturas dos constituintes, além de outras evidências, reforça a idéia da viabilidade da série de desaturações a partir do fitoeno na formação de carotenos mais saturados. Faltam esclarecimentos sôbre as necessidades de cofatores nessas transformações e algumas enzimas que atuam nas diversas fases. O mecanismo da perda de hidrogênio não tem explicação satisfatória, permanecendo igualmente obscuro o modo pelo qual ocorrem as mudanças de configuração das duplas ligações, de cis para trans. Configurações intermediárias e diferentes ações enzimáticas são explicações propostas.

A partir de zeta-caroteno, os caminhos indicados começam a diversificar-se. Parece haver uma tendência maior a aceitar neurosporeno como o intermediário subsequente a zeta-caroteno, mas alguns caminhos paralelos podem ser aceitos, como a formação de proneurosporeno, antes de neurosporeno, ou a passagem de proneurosporeno a prolicopeno, e dêste a licopeno.

A formação das estruturas cíclicas parece ser a preocupação mais acentuada nas últimas pesquisas. É um fato mais ou menos aceito de que os carotenóides cíclicos são formados a partir dos de cadeia aberta, pela ciclização da parte terminal da cadeia. Qual dos acíclicos seria o precursor imediato é um dos pontos mais discutidos. Algumas evidências apontam neurosporeno, para o que haveria necessidade de outros intermediários, quais sejam alfa-zeacaroteno, beta-zeacaroteno, delta-caroteno e gama-caroteno. Por outro lado, diversas pesquisas apontam licopeno como precursor acíclico de carotenóides cíclicos. Nêsse caso, os intermediários seriam delta-caroteno e gama-caroteno. É talvez o mais provável que ambos os caminhos sejam corretos, e ocorram segundo as características fisiológicas de cada tipo de tecido.

É praticamente rejeitada a proposição de que haja interconversão entre alfa e beta-carotenos.

O mecanismo de ciclização proposto por Goodwin (29) é digno de crédito, uma vez que é baseado em conhecimentos adquiridos por observações acumuladas durante muitos anos de pesquisa no assunto.

As xantofilas também não têm sua formação suficientemente explicada. É idéia geral de que são formadas a partir dos respectivos carotenos, pela incorporação de oxigênio. Entretanto, a incorporação do oxigênio à molécula ainda não está seguramente explicada, bem como provas positivas da origem dêsse oxigênio.

Algumas interconversões entre xantofilas são propostas, tendo sido estabelecido que algumas necessitam presença ou ausên

cia de luz, ou condições aeróbias ou não, para se processarem.

Verifica-se então que, diante dos conhecimentos até agora acumulados, mesmo uma sugestão para a formação dos carotenóides do suco de maracujá teria caráter especulativo, tornando-se bastante difícil uma explicação segura. Inicialmente, não se dispõe de uma análise completa de carotenóides do suco de maracujá, mesmo no estágio de fruto maduro. A análise dêsses constituintes durante várias etapas de desenvolvimento do fruto daria ensejo a considerações mais profundas dos possíveis caminhos de formação biossintética, entre os indicados na literatura. Isso não é um fato que só ocorre com maracujá, uma vez que outros frutos, bem mais estudados, não têm servido a êsse tipo de experimento.

Analisando-se a figura 19, verifica-se que não estão identificados, em suco de maracujá, muitos intermediários no caminho entre fitoeno e alfa e beta-carotenos. Apenas, na parte inicial, são conhecidos fitoflueno e zeta-caroteno. Resta então uma série de compostos supostamente intermediários, ainda não identificados, em suco de maracujá.

Resumindo, de acôrdo com as idéias propostas no estudo da biossíntese de carotenóides e levando essas proposições baseadas em tecidos diversos para o suco de maracujá, pode-se dizer que:

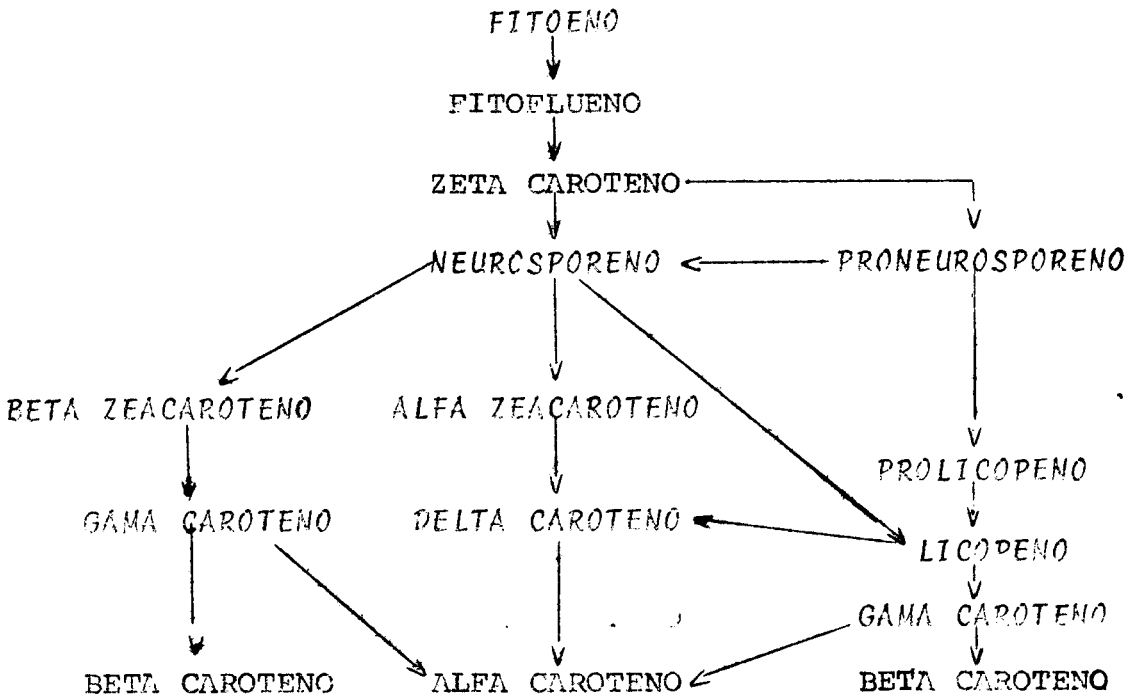
- o fitoflueno é o composto imediato após o fitoeno, na série de desaturações, sendo portanto originário do fitoflueno pela retirada de hidrogênios.

- zeta-caroteno origina-se do fitoflueno, por desaturação, com mecanismo não esclarecido;

- alfa e beta-carotenos têm caminhos diversos de formação, segundo as proposições existentes. Alfa-caroteno pode originar-se da ciclização de delta ou gama-carotenos, tendo êstes sido originários de neurosporeno ou de licopeno, com outros interme

FIGURA 19

Localização dos carotenos identificados no suco de maracujá roxo em um esquema proposto de formação de carotenóides



diários. Beta-caroteno pode originar-se da ciclização de gama -caroteno, tendo êste se formado de neurosporeno ou licopeno, com alguns intermediários.

Torna-se patente a necessidade de se estabelecer uma correlação qualitativa e quantitativa entre os diversos componentes de um suco, para se ter uma idéia mais precisa do momento em que deve ser realizada a colheita do fruto. Isso parece ser extremamente difícil, uma vez que devem ser considerados diversos fatores que influem no desenvolvimento de uma planta, causando as naturais diferenças entre frutos de diferentes espécies e mesmo dentro da mesma espécie. Nêste caso, as diferenças de comportamento evolutivo estão relacionadas com variedades diferentes, clima, tipo de solo, tratos culturais, etc. É possível que êsses padrões para colheita possam ser estabelecidos e empregados de modo válido para uma determinada variedade, em uma mesma região, com tratamentos semelhantes em todos os cultivos, podendo ser estendidos a outras variedades apenas como referência. Tal seria o caso exemplificado para o abacaxi, onde foram estabelecidas as citadas correlações.

Com os dados até agora disponíveis para o maracujá, torna-se impossível a sugestão de uma correlação concreta, existindo a necessidade de muitos estudos complementares.

As naturais mudanças verificadas com os componentes do suco de maracujá são mais ou menos lógicas e esperadas. É possível que o abaixamento no teor de determinado constituinte não seja devido a uma degradação mas sim a um processo mais lento de formação, quando comparado aos demais, ou mesmo a uma transformação em outro tipo de composto.

Os açúcares, os ácidos e os pigmentos seguem um caminho em geral de aumento em teor quanto mais próximo da maturidade se encontra o fruto. No caso considerado por Pruthi (49), com a separação em três estágios supostamente diferentes de maturação, baseado em coloração da casca, torna-se bastante im

precisa a caracterização de que os três estágios sejam mesmo muito diferentes. Talvez o ideal fôsse acompanhar analiticamente a evolução do fruto, baseado em um maior número de estágios, desde a formação do fruto até a maturidade completa. Essas diferenças em composição analisadas em poucos estágios pode frequentemente conduzir a êrros, pela dificuldade em se ter os frutos extamente sempre no mesmo estágio de maturação, para realização dos estudos.

A conclusão de que não há diferenças profundas entre frutos dos estágios finais de maturação pode servir a interpretações distintas. Uma delas é favorável, uma vez que interessa economicamente, pela possibilidade de se ter colheita antecipada, sem prejuízo das características desejadas pela indústria. Por outro lado, isso talvez não corresponda à realidade, ou seja, essas diferenças, insignificantes do ponto de vista analítico, são apenas aparentes. Para exemplificar, tomemos como exemplo o caso dos pigmentos, objeto maior de estudo nessa revisão. Foi verificado que o teor de carotenóides não apresenta marcantes diferenças nos estágios finais de maturação (3, 49), sem afetar sensivelmente a coloração do suco. Não se pode, entretanto afirmar que tenha ocorrido uma estabilização no processo de formação de pigmentos no suco. Isso pode ser verificado através dos dados coletados quando do estudo da biossíntese de carotenóides. Essa aparente estabilização poderia ser causada por uma velocidade menor de formação em relação aos demais componentes do suco, que seriam sintetizados em uma velocidade maior. Ainda, como foi visto na biossíntese, são possíveis diversas transformações de um a outro carotenóide, por reações de desaturação e interconversões. Há inclusive a possibilidade de se ter um equilíbrio dinâmico entre carotenos e xantofilas, com ocorrências de oxidações e reduções, transformando um em outro, sem que haja paralisação do processo biossintético. Mas essas interconversões e demais mudanças não podem se detectadas apenas por meio de análises comuns, onde a

frieza dos números apenas relaciona todos os carotenóides em conjunto, expressando-os como beta-caroteno, não dando, portanto, idéia do dinamismo bioquímico existente, mas sim, de que o processo estacionou, o que, provavelmente, é falso.

No caso de voláteis, os dados de Pruthi (49) levam a crer que ocorre uma síntese mais pronunciada no final da maturação. A êsse respeito, existem muitas dificuldades de se estabelecer a realidade dos fatos, pois um estudo aprofundado dos caminhos biossintéticos de formação de muitos compostos importantes no aroma de sucos, tem encontrado sérios obstáculos, principalmente porque muitos dêles ocorrem em tão pequena quantidade que torna-se praticamente impossível identificá-los e, com mais razão, estabelecer seus caminhos metabólicos de formação (46).

Disso tudo, pode-se ver que é realmente muito árdua a tarefa de estabelecer um padrão, do ponto de vista **industrial**, para a colheita de um fruto. Sem se considerar as diferenças entre frutos de diferentes espécies, o que impede a generalização de padrões para frutos, essas dificuldades atingem até variedades da mesma espécie, que têm comportamentos **diversos** no processo evolutivo de maturação. Acrescente-se a isso uma dificuldade na obtenção de dados na escassa literatura sôbre maracujá. O ideal, por certo, seria estabelecer correlações para as variedades que mais interessam economicamente, em determinadas características ambientais, como foi visto no exemplo do abacaxi (23). Mais ainda, sair do empirismo de determinação da maturidade pelo **aspecto** externo do fruto, com utilização efetiva de dados químicos, baseados em sólidas bases bioquímicas, que expliquem a exata dimensão do dinamismo que ocorre no interior de cada fruto, no seu processo evolutivo.

Finalizando, pode-se dizer que o maracujá, pela potencia

lidade industrial que apresenta, está a merecer estudos mais apurados. Êsses estudos, dirigidos principalmente para o suco como produto mais importante, deveriam ser feitos mais cuidadosamente, envolvendo não só aspectos de identificação e formação de todos os pigmentos existentes, mas também os outros componentes que concorrem para torná-lo um produto, já reconhecidamente, de atrativas características.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almeida, J.R. & Valsechi, O. - Guia de composição de frutas. Boletim nº 21 do Instituto Zimotécnico, 1966. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo.

2. Anônimo - Passionsfrucht - ein neues **aroma**. International Rev. Sugar Conf. 24; 168, 1971 (Food Sci. Tech. Abst. 1 H 45, 1971).

3. Araujo, C.M.; Gava, A.J. & Maia, P.C.B. - Características industriais do maracujá e maturação do fruto. Resumos da XXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, São Paulo. R 28, 1972.

4. Barker, W.G.; Wood, F.A. & Collins, W.B. - Sugar levels in fruits of the lowbush blueberry (Vaccinium angustifolium) estimated at four physiological ages. Nature 198: **810**, 1963.

5. Biale, J.B. - The postharvest biochemistry of tropical and subtropical fruits. Adv. Food Res. 10: 293, 1960.

6. Boyle, F.P.; Shaw, T.N. & Sherman, **G.D.** - Efficient extraction, single strenght technique open up - wide uses for new passion fruit juice. Food Eng. 27 (9): 94, 1955.

7. Brasil. Ministério do Interior - Contribuição ao desenvolvimento da agroindústria. Convênio Grupo Executivo de Irrigação para o Desenvolvimento **Agrícola** e Fundação Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos. Vol. I, p. 165, 1972.

8. Braverman, J.B.S. - Carotenoides. In "Introducción a la bioquímica de los alimentos". Barcelona, Ediciones Omega S.A., p. 34, 1967.

9. Buggy, M.J.; Britton, G. & Goodwin, T.W. - Stereochemistry of phytoene biosynthesis by isolated chloroplasts. Biochem. J. 144: 641, 1969.

10. Charlton, J.M.; Treharne, K.J. & Goodwin, T.W.- Incorporation of 2-^{14}C mevalonic acid into phytoene by isolated chloroplasts. Biochem. J. 105: 205, 1967.

11. Cillie, C.G. & Joubert, F.J. - Occurrence of an amylopectin in the fruit of the grenadilla (Passiflora edulis). J. Sci. Food Agric. 1: 355, 1950.

12. Cooper, B. & Brostovicz, R. - Estudo econômico da cultura do maracujá no Estado do Pará. Ministério do Interior, Superintendência do Desenvolvimento da Amazônia, 1971.

13. Curl, A.L. - The xanthophylls of tomatoes. J. Food. Sci. 26: 106, 1961.

14. Curl, A.L. - The carotenoids of several low-carotenoid fruits. J.Food Sci. 29: 241, 1964.

15. Curl, A.L. & Bailey, G.F. - The state of combination of the carotenoids of Valencia orange juice. Food Res. 20: 371, 1955.

16. Curl, A.L. & Bailey, G.F. - Orange carotenoids. Part I. Comparison of carotenoids of Valencia orange peel and pulp. J. Agric. Food Chem. 4: 156, 1956.

17. Curl, A.L. & Bailey, G.F. - The carotenoids of Rubby Red grape fruit. Food Res. 22; 363, 1957.

18. Curl, A.L. & Bailey, G.F. - Comparison of xanthophylls from leaves and orange juice. Food Res. 22: 323, 1967.

19. Curl, A.L. & Bailey, G.F. - The carotenoids of tangerines. J. Agric. Food Chem. 5: 605, 1957.

20. Curl, A.L. & Bailey, G.F. - The carotenoids of Navel oranges. J.Food Sci. 26: 442, 1961.

21. Czyhrinciw, N. - Tropical fruit technology. Adv. Food. Res. 17: 153, 1968.

22. Dalal, K.B.; Salunkhe, D.K.; Boe, A.A. & Olson, L.E. Certain physiological and biochemical changes in the developing tomato fruit (Lycopersicum esculentum Mill.) J. Food. Sci. 30: 504, 1965.

23. Dull, G.G.; Young, R.E. & Biale, J.B. - Respiratory patterns in fruit of pineapple, Ananas comosus, detached at different stages of development. Phys. Plant. 20: 1.059, 1967.

24. Durr, I.F. & Rudney, H. - Reduction of Beta-hidróxi - beta-methylglutaryl coenzyme A to mevalonic acid. J. Biol. Chem. 235: 2.572, 1960.

25. Eastwood, H.W. - Passion fruit culture. Farmers' Bull. nº 169, 1937. Dept. Agric., N.S.W., Austrália.

26. Fonseca, J.L.F. da - Suco de maracujá concentrado. S.Paulo, 1971. (Tese, Faculdade de Tecnologia de Alimentos, UNICAMP).

27. Goodwin, T.W. - Biosynthesis and function of carotenoids. Ann. Rev. Plant Phys. 12: 219, 1961.

28. Goodwin, T.W., ed. - The biosynthesis of carotenoids. In Chemistry and biochemistry of plant pigments". London e New York, Academic Press, 1965. p. 143.

29. Goodwin, T.W. - Biosynthesis of carotenoids and plant triterpenes. Biochem. J. 123: 293, 1971.

30. Goodwin, T.W. & Goad, L.J. - Carotenoids and triterpenoids. In Hulme, A.C., ed. - "The biochemistry of fruits and their products". London e New York, Academic Press, 1970. Vol. 1, p. 305.

31. Gortner, W.A. - Chemical and physical development of the pineapple fruit. IV. Plant pigment constituents. J. Food Sci. 30: 30, 1965.

32. Gortner, W.A. & Singleton, V.L. - Carotenoid pigments of pineapple fruit. II. Influence of fruit ripeness, handling and processing on pigment isomerization. J. Food Sci. 26: 53, 1961.

33. Gregory, J.H. - Marketing of passion fruit and granadillas. Queensland Agric. J. 38: 43, 1932.

34. Haendler, L. - La passiflore. Fruits 20: 235. 1965.

35. Hill, H.M. & Rogers, L.J. - Conversion of lycopene into beta-carotene by chloroplasts of higher plants. Biochem. J. 113: 31P, 1969.

36. Hill, H.M.; Calderwood, S.K. & Rogers, L.J. - Conversion of lycopene to beta-carotene by plastics isolated from higher plants. Phytochem. 10: 2.)51, 1971.

37. Hiu, D.N. & Scheuer, P.J. - The volatile constituents of passion fruit juice. J. Food Sci. 26: 557, 1961.

38. John, J.; Subbarayan, C. & Cama, H.R. - Carotenoids in 3 stages of ripening of mango. J. Food Sci. 35: 262, 1970.

39. Katayama, T.; Nakayama, T.O.M.; Lee, T.F. & Chichester, C.O. - Carotenoid transformations in ripening apricots and peaches. J. Food Sci. 36: 804, 1971.

40. Krone, B. - Harvesting and packing of passion fruit. J. Agric. Victoria. 27, 407, 1929.

41. Kushwaha, S.C.; Subbarayan, C.; Beeler, D.A. & Porter, J. W. The conversion of lycopene-15,15'-3H to cyclic carotenes by soluble extracts of higher plant plastids. J. Biol. Chem. 244, 3.635, 1969.

42. Kushwaha, S.C.; Suzue, G.; Subbarayan, C. & Porter, J. W. The conversion of phytoene-^{14}C to acyclic, monocyclic and dicyclic carotenes and the conversion of lycopene -15,15'-3H to mono- and dicyclic carotenes by soluble enzyme systems obtained from plastids of tomato fruits. J. Biol. Chem. 245: 4.708, 1970.

43. Magistad, O.C. - Carotene and xanthophyll in pineapples. Plant Phys. 10: 187, 1935.

44. Mercer, E.I.; Davies, B.H. & Goodwin, T.W. - Studies in carotenogenesis. 29. Attempts to detect lycopersene in higher plants. Biochem. J. 87: 317, 1963.

45. Morgan, R.C. - Chemical studies on concentrated pineapple juice. 1. Carotenoid composition of fresh pineapples. J. Food Sci. 31: 213, 1966.

46. Nursten, H.E. - Volatile compounds: the aroma of fruits. In Hulme, A.C., ed. - "The biochemistry of fruits and their products. London e New York, Academic Press, 1970. Vol. 1, p. 239.

47. Porter, J.W. & Anderson, D.G. - Biosynthesis of carotenes. Ann. Rev. Plant Phys. 18: 197, 1967.

48. Pruthi, J.S. - Physico-chemical composition of passion fruit (Passiflora edulis Sims.) II. Varietal differences. Indian J. Hort. 15: 87, 1958.

49. Pruthi, J.S. - Physico-chemical composition of passion fruit (Passiflora edulis Sims.).III. Effect of stage of maturity at picking time. Indian J. Hort. 16: 110, 1959.

50. Pruthi, J.S. - Physiology, chemistry and technology of passion fruit. Adv. Food Res. 12: 203, 1963.

51. Pruthi, J.S. & Lal, G. - Carotenoids in passion fruit juice (Passiflora edulis Sims.) Food Res. 23: 505, 1958.

52. Pruthi, J.S. & Lal, G. - Chemical composition of passion fruit (Passiflora edulis). J. Sci. Food Agric. 10: 188, 1959.

53. Pruthi, J.S. & Lal, G. - Carbohydrates in passion fruit juice (Passiflora edulis Sims.) Indian J. Hort. 17: 133, 1960.

54. Pruthi, J.S.; Susheela, R. & Lal, G. - Anthocyanin pigment in passion fruit rind. J. Food Sci. 26: 385, 1961.

55. Reinhardt, K. - Cultura do maracujá. Bahia Frutos S.A. Salvador, 1970.

56. Rogers, L. J.; Shah, S.P.J. & Goodwin, T.W. - Mevalonato-kinase isoenzymes in plant cells. Biochem. J. 100: 14C, 1966.

57. Ross, E. & Chang, A.T. - Hydrogen peroxide-induced oxidation of ascorbic acid in passion fruit juice. J. Agric. Food. Chem. 6: 610, 1958.

58. Scharf, S.S. & Simpson, K.L. - Attempts to detect lycopersene formation in yeast. Biochem. J. 106: 311, 1968.

59. Seale, P.E. & Sherman, G.D. - Commercial passion fruit processing in Hawaii. Circular nº 58, 1960. Hawaii Agric. Exp. Sta., Univ. of Hawaii.

60. Swisher, H.E. & Higby, W.K. - Lemon and lime juices. In Tressler, D.K. & Joslyn, M.A., ed - "Fruit and vegetable juice processing technology". Westport, Connecticut, AVI Pub. Co. Inc., 1961. p. 903.

61. Ulrich, R. - Organic acids. In Hulme, A.C., ed. - "The biochemistry of fruits and their products". London e New York, Academic Press, 1970. Vol. 1, p. 89.

62. Walton, T.J.; Britton, C.& Goodwin, T.W. - Biosynthesis of xanthophylls in higher plants: stereochemistry of hydroxylation at C-3. Biochem. J. 112: 383, 1969.

63. Weedon, B.C.L. - Chemistry of the carotenoids. In Goodwin, T.W., ed. "Chemistry and biochemistry of plant pigments". London e New York, Academic Press, 1965. p. 75.

64. Whiting, G.C. - Sugars. In Pulme, A.C., ed. - "The biochemistry of fruits and their products". London e New York, Academic Press, 1970. Vol. 1, p. 1.

65. Williams, R.J.H., Britton, G. & Goodwin, T.W. - The biosynthesis of cyclic carotenes. Biochem. J. 105: 99, 1967.

66. Williams, R.J.H., Britton, G., Charlton, J.M. & Goodwin, T.W. - The stereospecific biosynthesis of phytoene and polyunsatured carotenes. Biochem. J. 104: 767, 1967.

67. Wills, J.M. - Passion fruit growing in Southern Queensland. Pamphlet 123, 1948. Dept. Agric. & Stock, Queensland, Austrália.

68. Yamamoto, H.Y. - Comparison of the carotenoids in yellow- and red-fleshed Carica papaya. Nature 201: 1.049, 1964.

69. Yokoyama, H. & Vandercook, C.E. - Citrus carotenoids. I. Comparison of carotenoids of mature-green and yellow lemons. J. Food Sci. 32: 42, 1967.

70. Yokoyama, H. & White, M.J. - Carotenoids in the flavedo of Marsh Seedless grapefruit, J. Agric. Food. Chem. 15: 693, 1967.