

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Departamento de Ciência de Alimentos

**Determinação de carotenóides em alimentos brasileiros
in natura, processados e preparados para a tabela
nacional de composição de alimentos**

Natalia Tawata
Engenheira de Alimentos

Profa. Dra. Delia B. Rodriguez-Amaya
Orientadora

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos

**Campinas – SP
2010**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

T198d Tawata, Natalia
Determinação de carotenoides em alimentos brasileiros in natura processados e preparados para a tabela nacional de composição de alimentos / Natalia Tawata. -- Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientador: Delia B. Rodriguez-Amaya
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Carotenóides. 2. Análise. 3. Composição. 4. Amostragem. 5. Receitas. I. Rodriguez-Amaya, Delia B. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

(lpm/fea)

Título em inglês: Determination of carotenoids in fresh, processed and prepared brazilian foods for a food composition table

Palavras-chave em inglês (Keywords): Carotenoids, Analysis, Composition, Sampling, Recipes

Titulação: Mestre em Ciência de Alimentos

Banca examinadora: Delia B. Rodriguez-Amaya

Mieko Kimura

Helena Teixeira Godoy

Cristiane Hess de Azevedo Meleiro

Marisa Padula

Data da Defesa: 29 de Janeiro de 2010

Programa de Pós Graduação: Programa em Ciência de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Dra. Delia B. Rodriguez-Amaya
(Orientadora)

Dra. Mieko Kimura

Dra. Helena Teixeira Godoy

Dra. Marisa Padula

Dra. Cristiane Hess de Azevedo-Meleiro

Dedico

Aos meus pais, Toyoko e Paulo,
pela dedicação e incentivo para
seguir em frente

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Delia B. Rodriguez-Amaya pela orientação dedicada, paciência, experiência transmitida, e pela persistência e preocupação comigo, minha eterna gratidão.

Aos membros da banca: Profa. Dra. Mieko Kimura, minha orientadora de iniciação científica, pelos ensinamentos e conselhos. Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy, Dra. Marisa Padula, Profa. Dra. Cristiane Hess de Azevedo-Meleiro, pelas correções e sugestões a este trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciência de Alimentos e aos funcionários da Secretaria de Pós-graduação.

Ao NEPA e o ITAL, pelo auxílio com as amostras.

Ao CNPq pelo apoio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

Aos amigos de do Laboratório de Carotenóides, Aline, Cintia, Mitchels, Gi, Márcia, Lísia, Renata e Emilson, e à minha família campineira, Nenis e Fabi pela amizade, conselhos, troca de experiências e ótimos momentos.

A toda a minha família e ao Gui, pelo carinho, compreensão e apoio nas horas difíceis.

À Débora Subirá pela disposição em me ajudar.

Aos amigos de departamento Dani Pane, CD, Ciba e Mário, pela amizade e convívio.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para que esta etapa fosse cumprida.

Índice

RESUMO GERAL	x
GENERAL ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO GERAL	xii
CAPÍTULO 1: BIODIVERSIDADE BRASILEIRA DE FONTES DE CAROTENÓIDES.....	1
RESUMO.....	2
INTRODUÇÃO	3
Fontes de α -caroteno	7
Fontes de β -caroteno.....	8
Fontes de β -criptoxantina	9
Fontes de licopeno	10
Fontes de luteína	11
Fontes de zeaxantina	12
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	13
BIBLIOGRAFIA	14
CAPÍTULO 2: COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES EM ALIMENTOS BRASILEIROS COMUMENTE CONSUMIDOS: COMPARAÇÃO DE DOIS PLANOS DE AMOSTRAGEM.....	22
RESUMO.....	23
INTRODUÇÃO	24
MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
Plano de amostragem.....	25
Preparo da amostra analítica	27
Análise de carotenóides	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
Avaliação da metodologia analítica	28
Comparação entre dois planos de amostragem	29
Novos dados de composição de carotenóides	31
BIBLIOGRAFIA	40
CAPÍTULO 3: CAROTENÓIDES EM ALIMENTOS PROCESSADOS E PREPARADOS	42
RESUMO.....	43

INTRODUÇÃO	44
MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
plano de amostragem	45
análise de carotenóides	46
RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
Composição qualitativa.....	48
Composição quantitativa	48
Comparação entre teores de carotenóides obtidos por análise direta e por cálculo	49
BIBLIOGRAFIA	56
 ANEXO	 59
PROTOCOLOS PADRONIZADOS PARA ALIMENTOS PREPARADOS.....	60

Índice de Tabelas

CAPÍTULO 2: COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES EM ALIMENTOS BRASILEIROS COMUMENTE CONSUMIDOS: COMPARAÇÃO DE DOIS PLANOS DE AMOSTRAGEM.....	22
Tabela 2-1. NOMES CIENTÍFICOS DOS ALIMENTOS ANALISADOS.....	26
Tabela 2-2. COMPARAÇÃO DE DOIS PLANOS DE AMOSTRAGEM.....	30
Tabela 2-3. TEOR DE CAROTENÓIDES EM ALIMENTOS MAIS CONSUMIDOS NO BRASIL.....	33
 CAPÍTULO 3: CAROTENÓIDES EM ALIMENTOS PROCESSADOS E PREPARADOS	42
Tabela 3-1. COMPOSIÇÃO DOS PRINCIPAIS CAROTENÓIDES EM ALIMENTOS PROCESSADOS.....	50
Tabela 3-2. COMPARAÇÃO ENTRE TEORES DE CAROTENÓIDES OBTIDOS POR ANÁLISE DIRETA E POR CÁLCULO	53

Índice de Figuras

CAPÍTULO 1: BIODIVERSIDADE BRASILEIRA DE FONTES DE CAROTENÓIDES.....	1
Figura 1-1. Estruturas dos carotenóides considerados importantes para a dieta humana	6
Figura 1-2. Dez fontes mais ricas em α -caroteno	7
Figura 1-3. Dez fontes mais ricas em β -caroteno	8
Figura 1-4. Dez fontes mais ricas em β -criptoxantina	9
Figura 1-5. Dez fontes mais ricas em licopeno	10
Figura 1-6. Dez fontes mais ricas em luteína	11
Figura 1-7. Dez fontes mais ricas em zeaxantina	12
 CAPÍTULO 2: COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES EM ALIMENTOS BRASILEIROS COMUMENTE CONSUMIDOS: COMPARAÇÃO DE DOIS PLANOS DE AMOSTRAGEM.....	 22
FIGURA 2-1. CROMATOGRAMA DOS CAROTENÓIDES OBTIDOS POR CLAE, DE (A) BANANA PRATA, (B) LARANJA PÊRA E (C) TANGERINA PONCÃ. PICOS IDENTIFICADOS: (1) LUTEÍNA, (2) ZEAXANTINA, (3) β -CRIPTOXANTINA, (4) α -CAROTENO E (5) β -CAROTENO.....	38
FIGURA 2-2. CROMATOGRAMA DOS CAROTENÓIDES OBTIDOS POR CLAE, DE (A) ALFACE ROXA E (B) CHUCHU. PICOS IDENTIFICADOS: (1) LUTEÍNA E (2) β -CAROTENO.	39
 CAPÍTULO 3: CAROTENÓIDES EM ALIMENTOS PROCESSADOS E PREPARADOS	 42
Figura 3-1. Cromatograma dos carotenóides obtidos por CLAE, de (a) espinafre refogado, (b) salada de legumes no vapor, (c) salada de legumes com molho de maionese e (d) tucupi. Picos identificados: (1) luteína, (2) α -caroteno e (3) β -caroteno.	54
Figura 3-2. Cromatograma dos carotenóides obtidos por CLAE, de (a) ervilha enlatada, (b) goiabada em pasta, (c) pêssago enlatado e (d) seleta de legumes enlatada. Picos identificados: (1) luteína, (2) zeaxantina, (3) β -criptoxantina, (4) licopeno, (5) α -caroteno e (6) β -caroteno.	55

RESUMO GERAL

A biodiversidade brasileira em fontes de carotenóides foi demonstrada no Capítulo 1, focalizando a riqueza dos alimentos brasileiros nativos ou pouco cultivados nos seis carotenóides (α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina) considerados importantes à saúde. No Capítulo 2, dentre os produtos *in natura* analisados, frutas de clima temperado apresentaram menores teores de carotenóides do que as frutas tropicais, sendo a manga “Palmer” a maior fonte de β -caroteno. Vegetais folhosos altamente consumidos como alface roxa e rúcula são ricos em luteína e β -caroteno. Banana e tangerina são frutas comumente consumidas que apresentaram teores apreciáveis de carotenóides. No Capítulo 3, foi observado que a composição qualitativa de carotenóides em alimentos processados e preparados reflete a matéria-prima utilizada e a degradação de carotenóides. Entre os alimentos processados e preparados analisados, somente a goiabada em pasta apresentou licopeno com teor altíssimo. A seleta de legumes possui o maior teor de α -caroteno. O teor de β -criptoxantina foi maior em pêssego enlatado. O cereal de milho com açúcar apresentou como carotenóide majoritário a zeaxantina. Os maiores teores de β -caroteno e luteína foram encontrados na catalonha e espinafre refogados. A comparação entre os dados obtidos por análise direta do alimento preparado e por cálculo utilizando dados tabelados dos ingredientes revelaram diferenças marcantes para as três receitas investigadas.

GENERAL ABSTRACT

Brazilian biodiversity in sources of carotenoids is demonstrated in Chapter 1, highlighting the richness of native and uncultivated Brazilian foods in the six carotenoids (α -carotene, β -carotene, β -cryptoxanthin, lycopene, lutein and zeaxanthin) considered important to human health. In Chapter 2, among the raw foods analyzed, fruits of temperate climates had lower levels of carotenoids than tropical fruits, the mango 'Palmer' being the major source of β -carotene. Highly consumed leafy vegetables such as purple lettuce and roquette are rich in lutein and β -carotene. Banana and tangerine are commonly consumed fruits that present appreciable amounts of carotenoids. In Chapter 3, it was observed that the qualitative composition reflected the raw material used and degradation of carotenoids. Among the processed and prepared foods analyzed, only "goiabada" had lycopene at high level. A mixture of vegetables had the highest concentration of α -carotene. β -cryptoxanthin was higher in canned peach. Cereal with sugar presented zeaxanthin as the principal carotenoid. The highest levels of β -carotene and lutein were found in stir-fried "catalonha" and New Zealand spinach. A comparison between calculated values and those obtained by direct analysis of three prepared foods revealed marked differences.

INTRODUÇÃO GERAL

Aos carotenóides são atribuídas ações biológicas importantes como decréscimo do risco de doenças degenerativas como certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular e catarata, além da conhecida função pró-vitamínica A. Pela sua importância na saúde humana, teores de carotenóides devem fazer parte da tabela nacional de composição de alimentos.

Com seu extenso território, especialmente de áreas tropicais e subtropicais cujo clima favorece a biossíntese de carotenóides, o Brasil oferece uma variedade extraordinária de fontes de carotenóides importantes para a saúde humana, que ainda deve ser aproveitada.

Os carotenóides são altamente instáveis, podendo ser perdidos durante o preparo, processamento e estocagem de alimentos. A maioria das tabelas de composição informam dados de alimentos crus e, portanto, a obtenção da composição de alimentos na forma em que são consumidos deve ser enfatizada.

Este trabalho teve como objetivo quantificar os carotenóides de alimentos *in natura*, processados e preparados, comumente consumidos, aproveitando o plano de amostragem do projeto TACO (Tabela Brasileira de Composição de Alimentos).

Capítulo 1

Biodiversidade brasileira de fontes de carotenóides

RESUMO

Os carotenóides são corantes naturais e fitoquímicos que desempenham um importante papel na prevenção de doenças degenerativas e no combate à deficiência de vitamina A. Os principais carotenóides com efeitos benéficos à saúde são o α - e β -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina. Alguns dados sobre composição de carotenóides já demonstram teores mais elevados em alimentos nativos. O buriti é uma fonte riquíssima de α - e β -caroteno, seguida de diferentes variedades brasileiras de abóbora, com valores acima dos encontrados em cenoura, considerada fonte de carotenóides internacionalmente. O buriti também possui teores elevados de zeaxantina. A pitanga e goiaba apresentaram teores de licopeno superiores aos de tomate, além de ser fonte de β -criptoxantina. A flor de capuchinha é rica em luteína, seguida por folhas verdes. Variedades nativas apresentaram teores superiores aos encontrados em vegetais folhosos produzidos comercialmente.

INTRODUÇÃO

Os carotenóides são pigmentos naturais responsáveis pelas cores amarela, laranja ou vermelha de frutas, hortaliças, gema de ovo, crustáceos cozidos e alguns peixes. Por muito tempo, o enfoque das pesquisas foi a coloração dos alimentos conferida por estes compostos.

Atualmente, os carotenóides são investigados como substâncias bioativas com efeitos benéficos à saúde, além da bem conhecida atividade pró-vitamínica A de alguns deles. Estes outros efeitos promotores da saúde têm sido atribuídos a ação biológica sem relação à atividade pró-vitamínica A como: imunomodulação e redução do risco de contrair doenças crônicas degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata e degeneração macular relacionada à idade¹⁻⁴. Tais atividades fisiológicas ocorrem graças às suas propriedades antioxidantes, pela sua capacidade de sequestrar o oxigênio singleto e interagir com os radicais livres^{5, 6}, modulação do metabolismo de substâncias cancerígenas, inibição da proliferação celular, realce da diferenciação celular, estimulação da comunicação intercelular e filtragem da luz azul^{3, 4, 7}.

A capacidade de sequestrar o oxigênio singleto depende do sistema de duplas ligações conjugadas, obtendo-se a máxima proteção daqueles carotenóides que apresentam nove ou mais duplas ligações⁸. Outras características estruturais também interferem na eficiência do carotenóide. Assim, o licopeno, uma molécula acíclica, é mais eficiente do que o dicíclico β -caroteno⁹, ainda que os dois tenham 11 duplas ligações conjugadas. O seqüestro de oxigênio singleto ocorre por dois mecanismos. Pode ser por transferência física de energia de excitação do oxigênio singleto para o carotenóide, resultando na formação de carotenóide tripleto, que retorna ao estado não excitado após dissipar seu excesso de energia como calor. Outro mecanismo, porém menos comum, é uma reação química entre o oxigênio singleto e o carotenóide, que resulta na destruição irreversível desse último^{10, 11}.

Dentre a enorme variedade de carotenóides até hoje contabilizada, o β -caroteno, o α -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina (Figura 1-1) se destacam como os principais carotenóides presentes no sangue humano¹². São também, com exceção da zeaxantina, os mais comumente encontrados nos alimentos, sendo o β -caroteno o mais largamente distribuído¹³.

O β -caroteno, α -caroteno e a β -criptoxantina são precursores da vitamina A. A exigência mínima para um carotenóide possuir atividade pró-vitáminica A é apresentar pelo menos um anel β -ionona não substituído, ligado a uma cadeia poliênica de 11 carbonos. O β -caroteno pode ser convertido em duas moléculas de vitamina A, o que o torna o carotenóide de maior potência vitamínica A, a qual se atribui 100% de atividade. O α -caroteno e a β -criptoxantina têm cerca de 50% da atividade do β -caroteno, ao passo que a luteína, zeaxantina e licopeno não possuem atividade.

A ação do licopeno na saúde humana tem recebido grande destaque nos últimos anos¹⁴⁻²⁰, sendo a evidência científica mais forte em relação ao câncer do pulmão, esôfago e próstata. A ênfase tem sido a sua ação contra câncer da próstata²¹⁻²⁴, por meio de diferentes mecanismos que levam a redução da proliferação de células epiteliais normais e cancerosas da próstata, redução do dano no DNA e melhoramento da defesa contra estresse oxidativo.

Luteína e zeaxantina são usualmente referidas como “pigmentos maculares”, responsáveis pela cor amarela da retina humana²⁵⁻²⁷. Esses dois carotenóides são xantofilas que têm chamado a atenção dos pesquisadores, pois são tidos como os responsáveis pelo efeito protetor oftalmológico, atuando tanto como antioxidantes quanto como filtros da luz azul de alta energia²⁸, a qual induz a formação de radicais livres nas células da retina²⁹. Alguns estudos demonstram que a ingestão de alimentos ricos em luteína e zeaxantina como espinafre, agrião, milho e ovos, ou os seus níveis séricos

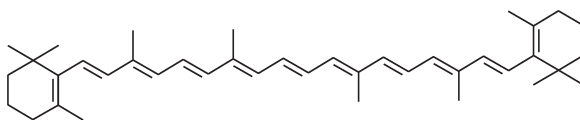
aumentam a densidade desses pigmentos na mácula³⁰⁻³³ e em altas taxas podem reduzir o risco de degeneração macular em até 82%³⁴. Concentrações reduzidas de luteína também aumentam o risco de desenvolver catarata^{33, 35}. Em idosos, a degeneração macular é a principal causa de perda da visão e a cirurgias de cataratas, uma das mais freqüentemente realizadas.

Devido a algumas inconsistências nos resultados das pesquisas e às diferenças aparentes na eficácia dos diferentes carotenóides, além das possíveis sinergias ou, ao menos, dos efeitos aditivos, a recomendação atual permanece sendo o aumento do consumo de uma variedade de frutas e hortaliças ricas em carotenóides, em vez de suplementação.

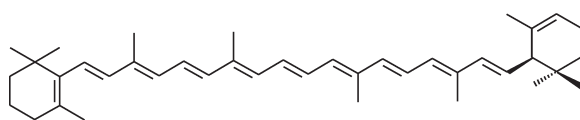
A necessidade de dados confiáveis sobre carotenóides em alimentos é largamente reconhecida em diversos campos de estudo. Alguns dos resultados discrepantes em estudos de biodisponibilidade e do efeito dos carotenóides da alimentação no estado nutricional em vitamina A, bem como na correlação entre a incidência de algumas patologias e o consumo de carotenóides nos estudos epidemiológicos, podem ser atribuídos, ao menos em parte, à utilização de dados não confiáveis sobre os conteúdos de carotenóides nos alimentos. A análise exata dos carotenóides tem sido uma das metas perseguidas durante anos. Estes esforços têm culminado no refino dos métodos analíticos, identificação das fontes de erros e os meios adequados para evitá-los, assim como na implementação de sistemas de garantia da qualidade.

Com seu extenso território, especialmente de áreas tropicais e subtropicais, onde o clima contribui para promover a biossíntese de carotenóides, o Brasil oferece uma variedade extraordinária de fontes de carotenóides. A grande diversidade e os altos teores encontrados nas fontes fazem deste país um dos mais ricos do mundo em recursos de carotenóides. Parte significativa das fontes alimentícias brasileiras já foi estudada e os dados estão apresentados na Tabela Brasileira de Composição de

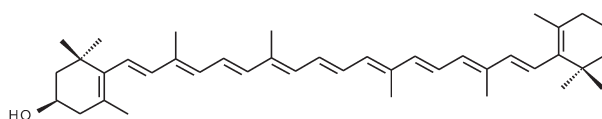
Carotenóides em Alimentos³⁶ dando ênfase especial aos carotenóides considerados importantes para a saúde. A partir desta tabela foram obtidas as dez fontes mais ricas de carotenóides importantes para a saúde humana.



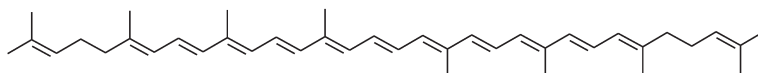
β -caroteno



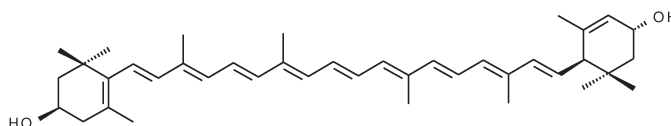
α -caroteno



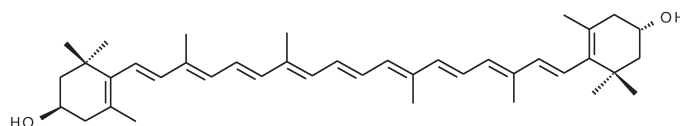
β -criptoxantina



licopeno



luteína



Zeaxantina

Figura 1-1. Estruturas dos carotenóides considerados importantes para a dieta humana

- FONTES DE α -CAROTENO

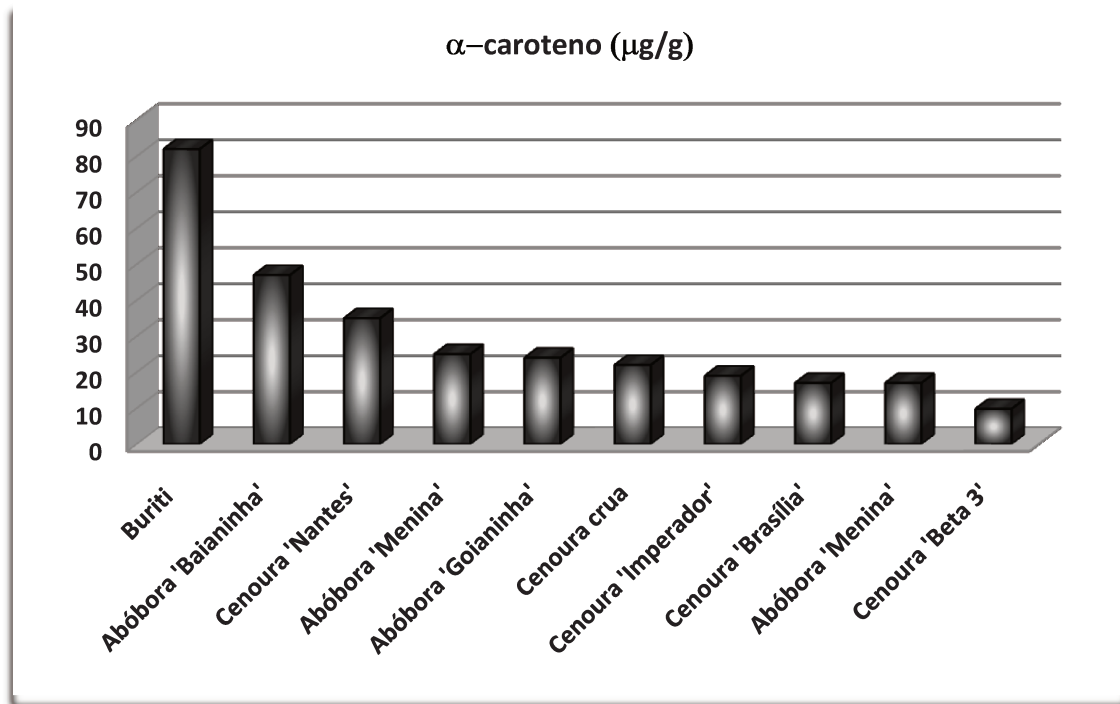


Figura 1-2. Dez fontes mais ricas em α -caroteno

O α -caroteno não é um carotenóide largamente encontrado em alimentos. Dos 274 itens apresentados na Tabela Brasileira³⁶, 88 apresentam α -caroteno. A cenoura é reconhecida internacionalmente como a fonte de alimento mais rica de carotenóides, especialmente o α e o β -caroteno. No entanto, entre os dados reportados, o buriti³⁷ e a abóbora 'Baianinha'³⁸ apresentam teores substanciais de α -caroteno superiores ao das variedades de cenoura³⁹⁻⁴². Dentre os dez alimentos mais ricos no carotenóide, quatro são abóboras^{38, 41, 43, 44} de diferentes variedades e cinco são cenouras de diferentes variedades.

- FONTES DE β -CAROTENO

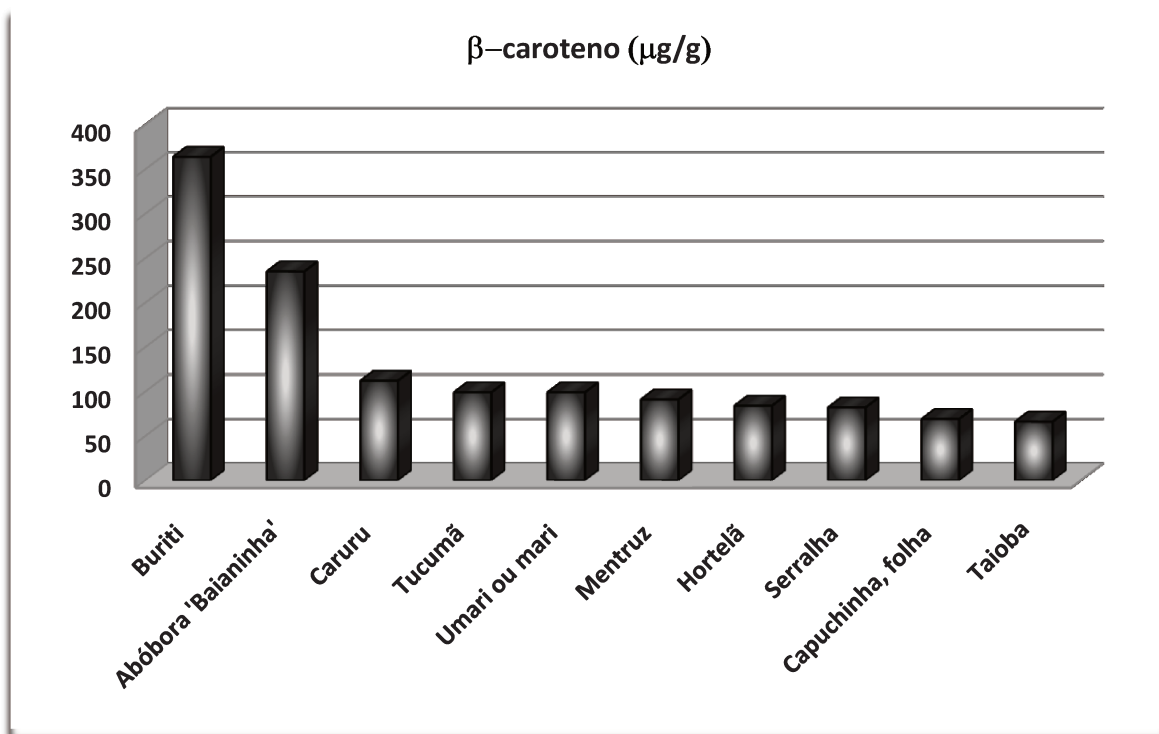


Figura 1-3. Dez fontes mais ricas em β -caroteno

O β -caroteno é o carotenóide mais distribuído nos alimentos. Ele está presente em todos os 274 itens na Tabela Brasileira³⁶, tanto como carotenóide principal quanto carotenóide minoritário. Dentre todos os alimentos já estudados no Brasil, o buriti³⁷ possui a maior concentração de β -caroteno. Outras frutas palmáceas como o tucumã⁴⁵ e umari^{45, 46} também se destacam entre as dez principais fontes deste carotenóide. Estas frutas apresentam uma vantagem adicional, provavelmente porque são ricas em lipídios, os quais estimulam a absorção de carotenóides pelo organismo humano⁴⁷. Ao contrário do que se imagina, a cenoura não é uma das principais fontes de β -caroteno no Brasil. Entre os dez alimentos mais ricos estão as folhas nativas (caruru, mentruz, taioba^{48, 49} e serralha⁵⁰), hortelã⁵¹, a folha de capuchinha⁵² e a abóbora 'baianinha'³⁸, além das frutas palmáceas.

- FONTES DE β -CRIPTOXANTINA

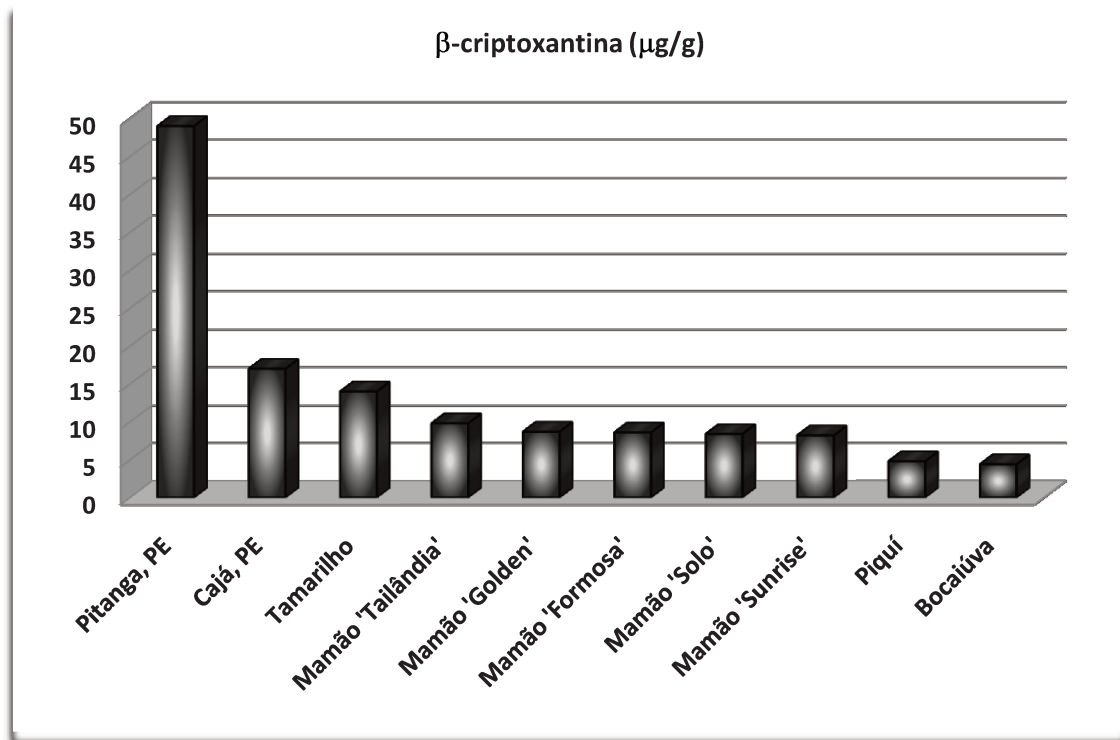


Figura 1-4. Dez fontes mais ricas em β -criptoxantina

Muitas frutas alaranjadas têm a β -criptoxantina como principal carotenóide responsável pela sua coloração. Os teores de β -criptoxantina, no entanto, não são altos. Com exceção da pitanga, as outras fontes mais ricas deste carotenóide têm conteúdo abaixo de $20\mu\text{g/g}$. Dentre as dez principais fontes de β -criptoxantina, destacam-se as frutas tropicais (pitanga⁵³, cajá⁵⁴, tamarilho⁵⁵, piqui³⁷ e bocaiúva⁵⁶) e quatro variedades de mamão^{37, 57}.

- FONTES DE LICOPENO

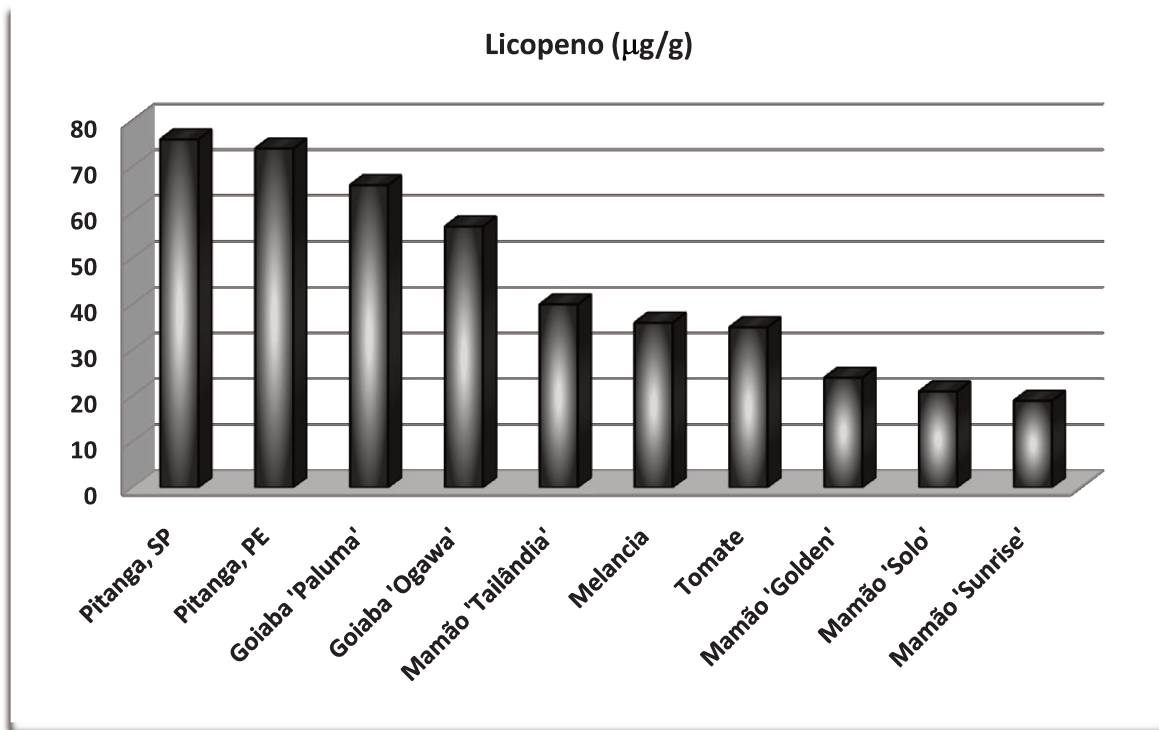


Figura 1-5. Dez fontes mais ricas em licopeno

O licopeno é raramente encontrado em alimentos (40 dos 274 itens da Tabela Brasileira³⁶), mas quando presente é geralmente predominante. Outros países, especialmente os países desenvolvidos, só citam o tomate e produtos de tomate como fonte de licopeno. No Brasil, além do tomate, muitas outras frutas são fontes de licopeno. Dados da Tabela Brasileira³⁶ retratam a pitanga^{37, 53, 58} como principal fonte, seguida de goiaba⁵⁹, mamão^{37, 57} e melancia⁶⁰. Seus valores são até mesmo superiores aos do tomate³⁹. O teor de licopeno do tomate representa quase a metade do valor da pitanga. Três cultivares de mamão fazem parte da lista das dez fontes mais ricas de licopeno e é uma fruta largamente encontrada no país durante o ano todo.

- FONTES DE LUTEÍNA

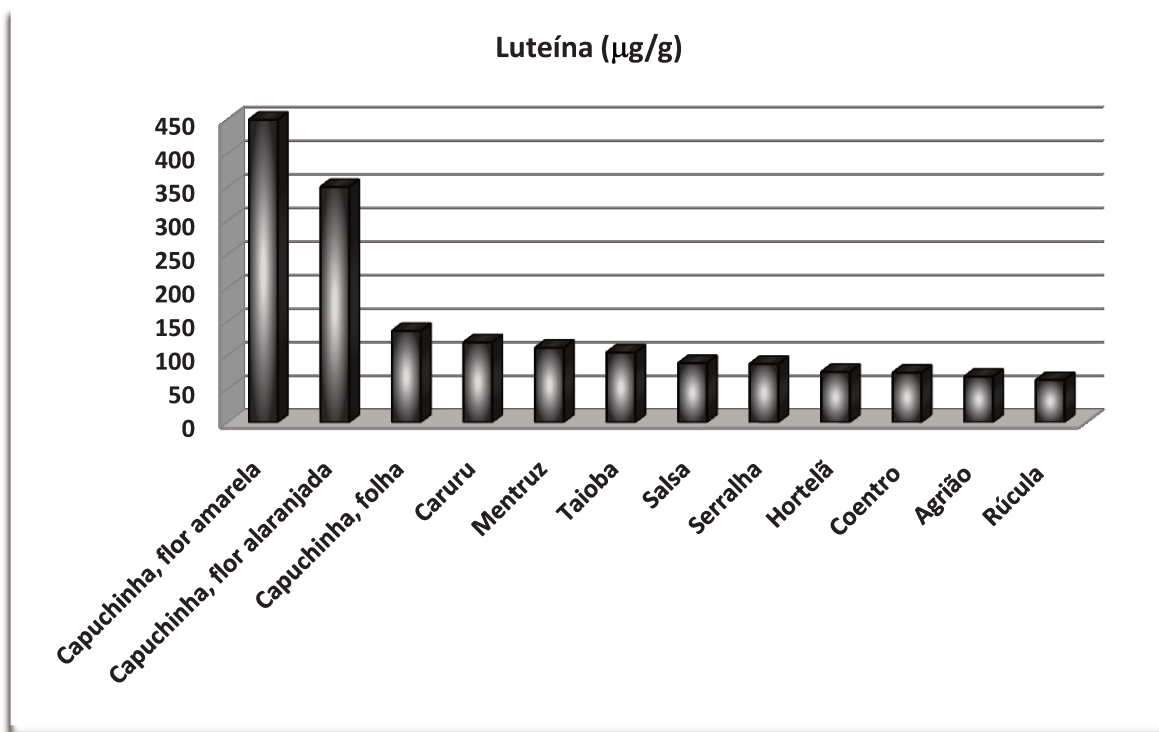


Figura 1-6. Dez fontes mais ricas em luteína

A flor comestível da capuchinha⁵² é extremamente rica em luteína, sendo seus níveis superiores aos das conhecidas fontes de luteína, como as hortaliças verdes. Analisando as hortaliças verdes, nota-se que as hortaliças nativas (caruru, mentruz, taioba e serralha)⁴⁹ possuem teores maiores que as hortaliças produzidas comercialmente (salsa⁴⁹, hortelã⁵¹, coentro^{49, 61}, agrião^{39, 41, 62, 63} e rúcula^{39, 51, 61}). Luteína é mais encontrada nos alimentos que a zeaxantina, explicada pela rara ocorrência do seu precursor α -caroteno como carotenóide principal e pelo acúmulo de luteína, sem a sua transformação em outros carotenóides.

- FONTES DE ZEAXANTINA

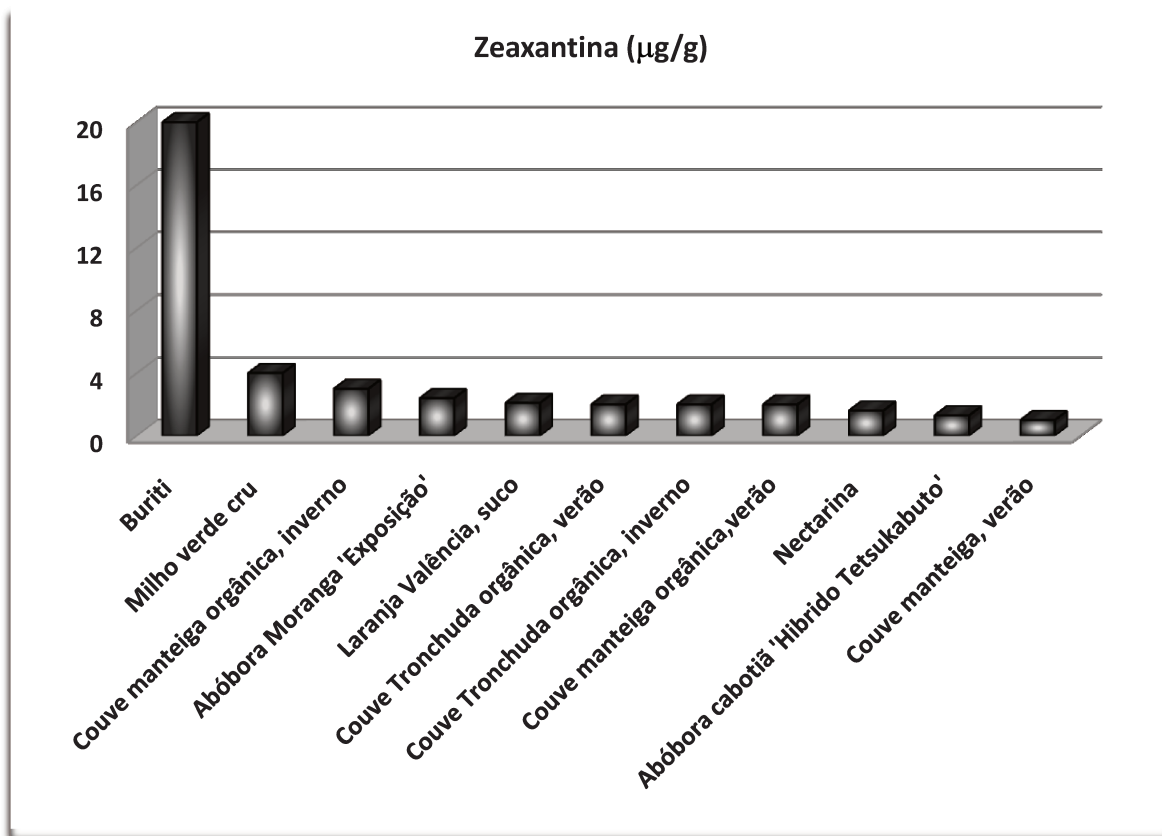


Figura 1-7. Dez fontes mais ricas em zeaxantina

Dentre os poucos alimentos que apresentam zeaxantina, cerca de 42 da Tabela Brasileira, o buriti³⁷ é a maior fonte. Outros alimentos apresentam teores baixos quando comparados com os teores dos carotenóides vistos anteriormente. Isso porque os carotenóides precursores de zeaxantina, o β -caroteno e a β -criptoxantina, estão presentes como carotenóides principais de muitos alimentos. Além disso, a zeaxantina formada está sujeita à epoxidação transformando-se em anteraxantina e violaxantina¹³. O milho verde cru⁶⁴ é a fonte mais rica de zeaxantina disponível comercialmente. Variedades de couve⁶⁵ e abóbora^{43, 44} e as frutas, laranja⁶⁶ e nectarina⁶⁷, aparecem também como fonte deste carotenóide. A nectarina junto com o pêssego são praticamente as únicas frutas cultivadas em clima frio.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Brasil possui a maior biodiversidade do planeta e dimensões continentais que contribuem para uma extraordinária variedade de alimentos excepcionalmente ricos em carotenóides importantes à saúde humana. Muitos dos alimentos brasileiros já estudados demonstram a importância de plantas nativas tanto para a segurança alimentar e nutricional da população quanto para a economia nacional futura, já que muitas superam as comercializadas em conteúdo de substâncias bioativas como carotenóides, e ainda são poucos os alimentos nativos produzidos comercialmente. Sendo assim, outros estudos relacionados à composição de alimentos ainda são necessários para promover o melhor aproveitamento dos recursos genéticos existentes.

BIBLIOGRAFIA

1. Gaziano, J.M.; Hennekens, C.H. The role of beta-carotene in the prevention of cardiovascular disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 691, p. 148-155, 1993.
2. Krinsky, N. I. Actions of carotenoids in biological systems. *Annual Review of Nutrition*, v. 13, p.561-587, 1993.
3. Astorg, P. Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. *Trends in Food Science & Technology*, v. 8, p. 406-413, 1997.
4. Olson, J. A. carotenoids and human health. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 49, p. 7S-11S, 1999.
5. Palozza, P.; Krinsky, N. I. Antioxidant effects of carotenoids *in vivo* and *in vitro*: An overview. *Methods in Enzymology*, v. 213, p. 403-420, 1992.
6. Handelman, G. J. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*, v. 17, p. 818-822, 2001.
7. Stahl, W.; Ale-Agha, N.; Polidori, M. C. Non-antioxidant properties of carotenoids. *Biological Chemistry*, v. 383, p. 553-558, 2002.
8. Foote, C.S.; Chang, Y.C.; Denny, R. W. Chemistry of singlet oxygen. X. Carotenoid quenching parallels biological protection. *Journal of American Chemical Society*, v. 92, p. 5216-5218, 1970.
9. Di Mascio, P.; Kaiser, S.; Sies, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 274, p. 532-538, 1989.

10. Krinsky, N. I. Antioxidant Functions of Carotenoids. *Free Radicals Biology & Medicine*, v.7, p. 617–635, 1989.
11. Sies, H.; Stahl, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 62, p. 1315S–1321S, 1995.
12. Epler, K. S.; Zeigler, R.G., Craft, N. E. Liquid Chromatographic method for the determination of carotenoids, retinoids and tocopherols in human serum and in foods. *Journal of Chromatography*, v. 619, p. 37-48, 1993.
13. Rodriguez-Amaya, D. B. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). *Shelf-life Studies of Foods and Beverages: Chemical, Biological, Physical and Nutritional Aspects*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1993. p. 547-589.
14. Stahl, W.; Sies, H. Lycopene: A biologically important carotenoid for humans? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 336, p. 1-9, 1996.
15. Gerster, H. Y. The potential role of lycopene for human health. *Journal of the American College of Nutrition*, v.16, p. 109-126, 1997.
16. Clinton, S. K. Lycopene: Chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutrition Reviews*, v. 56, p. 35-51, 1998.
17. Sies, H.; Stahl, W. Lycopene: Antioxidant and biological effects and its bioavailability in the human. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, v. 218, p. 121-124, 1998.
18. Giovannucci, E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer. Review of the epidemiologic literature. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 91, p. 317-331, 1999.

19. Rao, A.V.; Agarwal, S. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: A review. *Nutrition Research*, v. 19, p. 305-323, 1999.
20. Khachik, F.; Carvalho, L.; Bernstein, P.S.; Muir, G.J.; Zhao, D.Y.; Katz, N.B. Chemistry, distribution, and metabolism of Tomato carotenoids and their impact on human health. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and medicine*, v. 227, p. 845-851, 2002.
21. Hadley, C.W.; Miller, E. C.; Schwartz, S.J.; Clinton, S.K. Tomatoes, lycopene, and prostate cancer: Progress and promise. *Experimental Biology and Medicine*, v. 227, p. 869-880, 2002.
22. Giovannucci, E.; Rimm, E.B.; Liu, Y.; Stampfer, M.J.; Willet, W.C. A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 94, p. 391-398, 2002.
23. Wertz, K.; Silier, U.; Goralczyk, R. Lycopene: modes of action to promote prostate health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 430, p. 127-134, 2004.
24. Stacewicz-Sapuntzakis, M.; Bowen, P.E. Role of lycopene and tomato products in prostate health. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1740, p. 202-205, 2005.
25. Bone, R.A.; Landrum, J.T.; Fernandez, L.; Tarsist, S.L. Analysis of the macular pigment by HPLC: retinal distribution and age study. *Investigative ophthalmology & Visual Science*, v. 29, p. 843-849, 1988.
26. Handelman, G.J.; Dratz, E.A.; Reay, C.C.; Van Kujik, F.J.G.M. Carotenoids in the human macula and whole retina. *Investigative ophthalmology & Visual Science*, v. 29, p. 850-855, 1988.
27. Landrum, J.T.; Bone, R.A. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 385, p. 28-40, 2001.

28. Krinsky, N.I.; Landrum, J.T.; Bone, R.A. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Annual Review of Nutrition*, v. 23, p. 171-201, 2003.
29. Ham, Jr.W.; Mueller, H.; Sliney, D. Retinal sensitivity to damage from short wavelengths of light, *Nature*, v. 260, p.153-155, 1976.
30. EDCC (Eye Disease Case-Control) Study Group. Antioxidant status and neovascular age-related macular degeneration. *Archives of Ophtalmology*, v. 111, p. 104-109, 1993.
31. Seddon, J.M.; Ajani, U.A.; Sperduto, R.D.; Hiller, R.; Blair, N.; Burton, T.C.; Farber, M.D.; Gragoudas, E.S.; Haller, J.; Miller, D.T.; Yannuzzi, L.A.; Willet, W.; Dietary carotenoids, vitamin A, C and E and advanced age-related macular degeneration. *The Journal of the American Medical Association*, v. 272, p. 1413-1420, 1994.
32. Snodderly, D.M. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 62, p. 1448S-1461S, 1995.
33. Moeller, S.M.; Jacques, P.F.; Blumberg, J.B. The potential role of dietary xanthophylls in cataract and age-related macular degeneration. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 19, p. 522S-527S, 2000.
34. Bone, R.A.; Landrum, J.T.; Mayne, S.T.; Gomez, C.M.; Tibor, S.E.; Twaroska, E.E. Macular pigment in donor eyes with and without AMD: A case-control study. *Investigative Ophtalmology & Visual Science*, v. 42, p. 235-240, 2001.
35. Alves-Rodriguez, A.; Shao, A. The science behind lutein. *Toxicology Letters*, v. 150, p. 57-83, 2004.
36. Rodriguez-Amaya, D.B.; Kimura, M., Amaya-Farfan, J. *Fontes Brasileiras de Carotenóides: tabela de composição de carotenóides em alimentos* - Brasília: MMA/SBF, 2008. 100p.

37. Godoy, H.T.; Rodriguez-Amaya, D.B. Occurrence of *cis* isomers of provitamin A in Brazilian fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 42, p. 1306-1313, 1994.
38. Arima, H.K.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and pumpkin from Northeastern Brasil. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 40, p. 284-292, 1990.
39. Niizu, P.Y.; Rodriguez-Amaya, D.B. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 18, p. 739-749, 2005.
40. Almeida, L.B.; Penteado, M.V.C. Carotenóides com atividade pró-vitáminica A de cenouras (*Daucus carota* L.) comercializadas em São Paulo, v. 23, p. 133-141, 1987.
41. Godoy, H.T.; Rodriguez-Amaya, D.B. Occurrence of *cis* isomers in Brazilian vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, p. 3081-3086, 1998.
42. Almeida, L.B.; Penteado, M.V.C. Carotenóides com atividade pró-vitáminica A de cenouras (*Daucus carota* L.) comercializadas em São Paulo, Brasil. *Revista de farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, v. 23, p. 133-141, 1987.
43. Arima, H.K., Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of commercial Brazilian squashes and pumpikins. *Journal of Micronutrient Analysis*, v.4, p. 177-191, 1988.
44. Azevedo-Meleiro, C.H.; Rodriguez-Amaya, D.B. Qualitative and quantitative differences in carotenoid composition among *Curcubita moschata*, *C. máxima*, and *C. pepo*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 4027-4033, 2007.
45. Marinho, H.A.; Castro, J.S. Carotenóides e valor de pró-vitamina A em frutos da região Amazônica: Pajurá, piquiá, tucumã e umari. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 27., 2002. Anais. Belém, Brasil, 2002.

46. Rodriguez-Amaya, D.B. A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. Washington DC: International Life Sciences Institute (ILSI) Press, 1999, 64 p.
47. Oliveira, G.P.R.; Rodriguez-Amaya, D.B. Composição e bioacessibilidade in vitro dos carotenóides em frutas amazônicas. Apresentado no 8º Slaca, Campinas, Brasil, 08-11 nov. 2009.
48. Mercadante, A.Z.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of some native Brazilian green leafy vegetables. International Journal of Food Science and technology, v. 25,p. 213-219,1990.
49. Kobori, C.N.; Rodriguez-Amaya, D.B. native Brazilian green leafy vegetables are richer sources of carotenoids than commercial leafy vegetables. Food and Nutrition Bulletin, v. 29, p. 333-341, 2008.
50. Almeida-Muradian, L.B.; Vanderline, D.W.; Sasaki, R. Provitamin A activity of raw and cooked Brazilian leaves. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 20, p. 151-153, 2000.
51. Ninomia, L.; Godoy, H.T. Comparison of the carotenoid composition and vitamin A value of hydroponic and conventionally produced leaf vegetables. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, no prelo, 2008.
52. Niizu, P.Y.; Rodriguez-Amaya, D.B. Flowers and leaves of *Tropaelum majus* L. as a rich sources of lutein. Journal of Food Science, v. 70, p. S605-S609, 2005.
53. Cavalcante, M.L.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). Food Science na Human Nutrition. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1992, p. 643-650.
54. Rodriguez-Amaya, D.B.; Kimura, M. Carotenóides e valor de vitamina A em cajá (*Spondias lutea*). Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 9, p. 148-162, 1989.

55. Rodriguez-Amaya, D.B.; Bobbio, P.A.; Bobbio, F.O. Carotenoid composition and vitamin A value of the Brazilian fruit *Cyphomandra betacea*. Food Chemistry, v. 12, p. 61-65, 1983.
56. Hiane, P.A.; Penteado, M.V.C. Carotenóides e valores de vitamina A do fruto e da farinha de bocaiúva (*Acrocomia mokayáya Barb. Rodr.*) do Estado de Mato Grosso do Sul. Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo, v. 25, p. 158-168, 1989.
57. Kimura, M.; Rodriguez-Amaya, D.B.; Yokoyama, S.M. Cultivar differences and geographic effects on the carotenoid composition and vitamin A value of papaya. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, v. 24, p. 415-418, 1991.
58. Porcu, o.; Rodriguez-Amaya, D.B. Variation in the carotenoid composition of lycopene-rich pitanga (*Eugenia uniflora* L.). Plant Foods for Human Nutrition, v. 63,p. 195-199, 2008.
59. Rodriguez-Amaya, D.B.; Porcu, M.M.; Azevedo-Meleiro, C.H. Variation in the carotenoid composition of fruits and vegetables along the food chain. Acta Horticulturae, v. 744, p.387-394, 2007.
60. Niizu, P.Y.; Rodriguez-Amaya, D.B. A melancia como fonte de licopeno. Revista do Instituto Adolf Lutz, v. 62, p. 195-199, 2003.
61. Ramos, D.M.R.; Rodriguez-Amaya, D.B. Determination of the vitamin A value of common Brazilian leafy vegetables. Journal of Micronutrient Analysis, v. 3, p. 147-155, 1987.
62. Ramos, D.M.R.; Rodriguez-Amaya, D.B. Avaliação das perdas de carotenóides e valor de vitamina A durante desidratação e liofilização industrial de espinafre. Arquivos de Biologia e Tecnologia, v. 36, p. 83-94, 1993.

63. Sant'Anna, Z.M.; Penteado, M.V.C. Alterações dos carotenóides decorrentes do cozimento convencional e em forno de microondas de três hortaliças. *Revista de farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, v. 32, p. 53-58, 1996.
64. Oliveira, G.P.R., Rodriguez-Amaya, D.B. Processed and prepared corn products as sources of lutein and zeaxanthin: Compositional variation in the food chain. *Journal of Food Science*, v. 72, p. S79-S85, 2007.
65. Mercadante, A.Z.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition of a leafy vegetable in relation to some agricultural variables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 39, p. 1094-1097, 1991.
66. Gama, J.J.T.; Sylos, C.M. Major carotenoid composition of Brazilian Valencia Orange juice: Identification and quantification by HPLC. *Food Research International*, v. 38, p. 899-903, 2005.
67. Godoy, H.T.; Rodriguez-Amaya, D.B. Composição de carotenóides em nectarina (*Prunus persica*) brasileira. *Revista do Instituto Adolf Lutz*, v. 57, p. 73-79, 1998.

Capítulo 2

Composição de carotenóides em alimentos brasileiros
comumente consumidos: Comparação de dois planos
de amostragem

RESUMO

No presente trabalho, alimentos carotenogênicos comumente consumidos foram analisados em relação ao teor de carotenóides considerados importantes para a saúde humana. Valores consistentes obtidos de amostras coletadas através de dois planos de amostragem demonstraram validade de ambos planos. Frutas de clima temperado apresentaram teores de carotenóides menores do que as frutas tropicais. A manga 'Palmer' pode ser considerada fonte de β -caroteno com $51,10 \pm 0,33\mu\text{g/g}$, tendo ainda $0,78 \pm 0,01\mu\text{g/g}$ de β -criptoxantina e $0,73 \pm 0,02\mu\text{g/g}$ de zeaxantina. Alimentos altamente consumidos como alface roxa e rúcula são ricos em carotenóides. A alface apresentou $20,85 \pm 0,07\mu\text{g/g}$ e a rúcula $34,8 \pm 1,0\mu\text{g/g}$ de β -caroteno, além de $20,36 \pm 0,08\mu\text{g/g}$ e $53,8 \pm 0,8\mu\text{g/g}$ de luteína, respectivamente. Banana e tangerina, frutas altamente consumidas, também apresentaram teores apreciáveis de carotenóides.

INTRODUÇÃO

Os carotenóides são pigmentos naturais cuja função mais conhecida e estudada é a atividade pró-vitâmica A. Porém, nos últimos anos, pesquisadores têm direcionado sua atenção para outras propriedades benéficas à saúde humana como imunomodulação e redução do risco de contrair doenças crônicas degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata e degeneração macular (Gaziano e Hennekens, 1993; Krinsky, 1993; Astorg, 1997; Olson, 1999). Devido a estas importantes características, a composição de carotenóides em alimentos vem sendo determinada em todo o mundo.

O Brasil é um dos países que abriga a maior variedade de alimentos ricos em carotenóides do planeta, especialmente em razão de seu extenso território com áreas tropicais e subtropicais, que contribuem para a promoção da biossíntese destes compostos. Parte significativa das fontes alimentícias brasileiras já foi estudada e estão agrupados na Tabela Brasileira de Composição de Carotenóides em Alimentos (Rodriguez-Amaya *et al.*, 2008), o maior banco de dados do mundo que inclui alimentos *in natura* de diferentes variedades produzidas em diversas regiões brasileiras, além da composição de alimentos processados e preparados para consumo, totalizando 274 itens.

O conhecimento da composição de alimentos consumidos nas diferentes regiões do Brasil demonstra-se essencial para a garantia da segurança alimentar e nutricional da população. Em razão da modernização das metodologias analíticas, aperfeiçoamento genético de vegetais, constantes lançamentos de novos produtos no mercado e mudanças constantes nos hábitos alimentares do brasileiro, faz-se necessário a construção de um banco de dados atualizado de forma contínua (TACO, 2006).

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo contribuir com novos dados de composição de carotenóides nos alimentos mais consumidos pelo brasileiro, aproveitando o plano de amostragem do projeto TACO (Tabela Brasileira de Composição de Alimentos). Da versão I e II desta tabela foram selecionados alguns alimentos *in natura*,

os quais foram analisados quanto à composição dos seis principais carotenóides considerados importantes para a saúde. Ao contrário do Capítulo 1, os alimentos deste capítulo foram selecionados pelo seu nível de consumo e não pelo teor de carotenóides. Para alimentos com dados já estudados foram feitas comparações entre os planos de amostragem do projeto TACO e do Laboratório de Carotenóides.

MATERIAIS E MÉTODOS

Plano de amostragem

Amostras compostas pelos alimentos listados na Tabela 2-1 foram analisadas. A coleta dos alimentos *in natura* foi realizada pela equipe do projeto TACO na Central de Abastecimento de Campinas S.A. (CEASA - Campinas). As amostras foram adquiridas de 3 a 5 fornecedores diferentes com maior volume e condições legais de venda. Em cada empresa, a menor unidade comercial disponível (3 – 20 kg) foi montada a partir de frutas e hortaliças retiradas aleatoriamente do lote inteiro do dia.

Para cada alimento, as amostras coletadas foram reunidas e misturadas no Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, Campinas – SP. Para cada laboratório participante do projeto foram enviados pacotes de 3 a 5kg de alimento *in natura*. Os laboratórios realizaram a homogeneização final antes da análise.

Tabela 2-1. Nomes científicos dos alimentos analisados

Alimento	Nome Científico
Frutas	
Ameixa	<i>Prunus domestica</i>
Banana, maçã	<i>Musa acuminata Colla x Musa balbisiana Colla, Grupo AAB</i>
Banana, nanica	<i>Musa acuminata Colla x Musa balbisiana Colla, Grupo AAA</i>
Banana, ouro	<i>Musa acuminata Colla, Grupo AA</i>
Banana, prata	<i>Musa acuminata Colla x Musa balbisiana Colla, Grupo AAB</i>
Banana, da terra	<i>Musa acuminata Colla x Musa balbisiana Colla, Grupo AAB</i>
Kiwi	<i>Actinidia chinensis</i>
Laranja, var. Baía	<i>Citrus sinenses</i>
Laranja, var. Pêra	<i>Citrus sinenses</i>
Laranja, var. da Terra	<i>Citrus aurantium L.</i>
Limão cravo	<i>Citrus limonia Osbeck</i>
Maçã, cv. Fuji	<i>Malus domestica</i>
Manga, cv. Palmer	<i>Mangifera indica</i>
Pêra, var. Williams	<i>Pyrus communis L.</i>
Tangerina, var. Ponkã	<i>Citrus reticulata</i>
Uva, var. Itália	<i>Vitis vinifera L.</i>
Verduras e Hortaliças	
Abobrinha, italiana	<i>Curcubita pepo L.</i>
Alface, roxa	<i>Lactuca sativa</i>
Alho porro	<i>Allium porrum</i>
Batata, baroa	<i>Chaerophyllum bulbosum</i>
Brócolis	<i>Brassica oleracea var. itálica</i>
Cebolinha	<i>Allium fistulosum</i>
Chuchu	<i>Sechium edule</i>
Jiló	<i>Solanum gilo</i>
Lentilha	<i>Lens culinaris Med.</i>
Majericão	<i>Ocimum basilicum</i>
Maxixe	<i>Cucumis anguria</i>
Pepino	<i>Cucumis sativus L.</i>
Rúcula	<i>Eruca sativa</i>
Salsa	<i>Petroselinum hortense</i>
Vagem	<i>Phaseolus vulgaris</i>

Preparo da amostra analítica

No laboratório de carotenóides, as amostras de frutas e hortaliças não folhosas foram descascadas quando necessário (manga, laranja, banana, tangerina, kiwi, batata baroa e chuchu), quarteadas no sentido longitudinal e homogeneizadas em processador de alimentos caseiro. Para amostras de suco, foi realizada a extração caseira de 3 a 5kg para cada fruta. Para hortaliças folhosas, tanto as folhas novas quanto as folhas maduras da mesma cabeça foram usadas na homogeneização seguindo o procedimento realizado por (Azevedo-Meleiro e Rodriguez-Amaya, 2005). Foram utilizadas 3g de rúcula, salsa, brócolis, manjerição, alface roxa, cebolinha e manga 'Palmer' e 3,5g para a vagem; 5g para abobrinha italiana, alho porro, batata baroa e ameixa; 10g para tangerina poncã, limão cravo, kiwi, todas as variedades de laranja e banana; 15g para chuchu, jiló, pêra 'Williams', maçã 'Fuji' e uva Itália; e 20g para maxixe e pepino. As amostras foram analisadas em triplicata.

Análise de carotenóides

Na análise de carotenóides, foi utilizado um cromatógrafo líquido Waters equipado com bomba quaternária, degasser e vácuo em linha, detector UV-visível com arranjo de diodos (DAD) e coluna monomérica C₁₈ (Spheriosorb ODS2, 3µm, 4,6 x 150mm). Foi empregado gradiente côncavo utilizando fase móvel composta por acetonitrila (contendo 0,05% de trietilamina):metanol:acetato de etila na proporção de 95:5:0 até 60:20:20 em 20 minutos, mantendo esta proporção até o fim da corrida. O tempo de reequilíbrio requerido foi de 15 minutos e o fluxo de 0,5mL/min. A detecção dos carotenóides foi feita nos comprimentos de onda de absorção máxima.

Os carotenóides foram determinados de acordo com método desenvolvido por Kimura e Rodriguez-Amaya (2002), validado por Kimura *et al.* (2007) utilizando um material de referência certificado (mistura de hortaliças liofilizadas).

Os carotenóides foram extraídos com acetona e transferidos para éter de petróleo e éter etílico 1:1 por partição. Os extratos de ameixa, laranjas de diferentes variedades, limão cravo, manga 'Palmer', maçã 'Fuji', tangerina poncã e uva Itália foram saponificadas em KOH 10% e MeOH por 16 horas, à temperatura ambiente e no escuro, seguida de lavagem com água destilada para retirada do álcali. A lentilha crua necessitou de hidratação prévia com 20mL de água destilada seguida de aquecimento em banho-maria a 85°C por 10 minutos, conforme Kimura *et al.* (2007). O extrato etéreo foi concentrado em evaporador rotatório ($T \leq 35^\circ\text{C}$) e seco com nitrogênio. Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo, o extrato seco foi redissolvido em acetona grau cromatográfico e filtrado em filtro PTFE 0,22 μm .

A quantificação foi realizada por padronização externa. Os padrões foram isolados por cromatografia em coluna aberta, utilizando como adsorvente uma mistura de MgO:hyflosupercel (1:1) ativada por 4 horas à 110°C e fase móvel composta por um gradiente de acetona em éter de petróleo segundo Kimura e Rodriguez-Amaya (2002). A concentração das soluções padrão foi determinada espectrofotometricamente e corrigida de acordo com a pureza determinada por CLAE.

A identificação dos carotenóides foi realizada de acordo com Rodriguez-Amaya (1999), utilizando em conjunto o tempo de retenção, co-cromatografias com padrões de carotenóides e espectros de absorção (λ_{max} e estrutura espectral fina) obtidos por detecção de arranjo de diodos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da metodologia analítica

Devido a natureza variada das matrizes e a variação quali e quantitativa da composição de carotenóides, foi feita uma avaliação da aplicabilidade da metodologia

analítica. Graças à coloração do alimento carotenogênico, a extração completa é realizada por extrações sucessivas até que o resíduo torna-se incolor. Quanto à separação cromatográfica, os vegetais verdes apresentaram perfis semelhantes, com os carotenóides de interesse bem separados, uma vez que o gradiente foi otimizado justamente para este tipo de alimento (Kimura e Rodriguez-amaya, 2002). Já os cromatogramas de frutas e hortaliças demonstraram variação e complexidade em alguns alimentos. No entanto, mesmo para aqueles com composição complexa, os carotenóides alvos foram separados, não necessitando adaptação da metodologia analítica.

Comparação entre dois planos de amostragem

Os resultados obtidos no presente trabalho para as amostras de abobrinha italiana, salsa e rúcula (Tabela 2-2) coletadas segundo o plano de amostragem do projeto TACO, foram comparados com os resultados previamente obtidos pelo nosso laboratório com plano de amostragem consistindo da coleta de 5 lotes de alimentos com peso em torno de 500g a 1500g, coletados em diferentes épocas do ano.

Os resultados obtidos de rúcula são bem próximos, o que demonstra a validade dos dois métodos de amostragem. A salsa analisada no presente trabalho apresentou resultados maiores dos obtidos por Kobori e Rodriguez-Amaya (2008), pois partes diferentes da planta foram analisadas. Neste trabalho foram analisadas somente as folhas, enquanto Kobori e Rodriguez-Amaya (2008) analisaram tanto as folhas quanto os talos da salsa. Já para a abobrinha italiana, apesar de metodologias distintas, os resultados são concordantes, mais uma vez demonstrando equivalência dos dois planos de amostragem. Arima e Rodriguez-Amaya (1988) utilizaram a cromatografia em coluna aberta (CCA) para a separação de carotenóides.

Tabela 2-2. Comparação de dois planos de amostragem

Descrição	N	Concentração de carotenóide µg/g					Referência	Método
		α-caroteno	β-caroteno	β-criptoxantina	Licopeno	Luteína		
Abobrinha italiana (<i>Cucurbita pepo</i>)			2,66 ± 0,09			4,60 ± 0,07	Presente trabalho (amostragem TACO)	HPLC
			2,20 ± 0,07 (E)			4,26 ± 0,11 (E)		
Abobrinha italiana 'Caserta'	5		1,4 (E)			4,6 (E)	Arima e Rodriguez- Amaya (1988)	OCC
Salsa (<i>Petroselinum crispum</i>)			113,82 ± 4,26			170,08 ± 0,68	Presente trabalho (amostragem TACO)	HPLC
			95,37 ± 1,64 (E)			158,33 ± 1,15 (E)		
Salsa	5		65 ± 13			88 ± 18	Kobori e Rodriguez- Amaya (2008)	HPLC
Rúcula (<i>Eruca sativa</i>)			34,76 ± 1,05			53,84 ± 0,77	Presente trabalho (amostragem TACO)	HPLC
			29,09 ± 0,76 (E)			49,72 ± 1,17 (E)		
Rúcula	5		28,4 ± 1,5			50,0 ± 4,4	Niizu e Rodriguez- Amaya (2005)	HPLC

N = número de lotes analisados. E = trans.

Novos dados de composição de carotenóides

Frutas de clima temperado como a ameixa, kiwi, maçã, uva Itália e pêra apresentaram baixos teores de carotenóides. A ameixa possui maior concentração de carotenóides pró-vitamínicos A, β -caroteno e β -criptoxantina, com teores de $0,78 \pm 0,04\mu\text{g/g}$ e $2,27 \pm 0,03\mu\text{g/g}$, respectivamente, e os maiores teores de luteína ($2,19 \pm 0,07\mu\text{g/g}$). Os menores valores foram encontrados em pêra 'Williams', que apresentou luteína ($0,37 \pm 0,01\mu\text{g/g}$) como carotenóide principal.

Nas frutas tropicais os teores encontrados foram maiores. A manga 'Palmer' pode ser considerada fonte de β -caroteno com $51,10 \pm 0,33\mu\text{g/g}$, $0,78 \pm 0,01\mu\text{g/g}$ de β -criptoxantina e $0,73 \pm 0,02\mu\text{g/g}$ de zeaxantina. Godoy e Rodriguez-Amaya (1989) estudaram cinco cultivares encontradas em São Paulo, das quais a cultivar 'Extreme' possuía o maior teor de β -caroteno ($25,4 \pm 1,5\mu\text{g/g}$). Mercadante e Rodriguez-Amaya (1998) relataram $15,1 \pm 1,5\mu\text{g/g}$ de β -caroteno na manga 'Keitt'.

Em todas as variedades de banana foram encontrados α -caroteno, β -caroteno e luteína. Dentre essas variedades, a banana terra é a que possui maior teor de carotenóides pró-vitamínicos A, com $7,79 \pm 0,35\mu\text{g/g}$ de α -caroteno e $10,9 \pm 0,5\mu\text{g/g}$ de β -caroteno, seguido das bananas ouro e prata e por último das bananas nanica e maçã.

Em laranjas, foram encontrados β -criptoxantina (na faixa de $0,29 \pm 0,01\mu\text{g/g}$ a $0,50 \pm 0,02\mu\text{g/g}$), luteína ($0,53 \pm 0,02\mu\text{g/g}$ a $0,68 \pm 0,03\mu\text{g/g}$) e zeaxantina ($0,48 \pm 0,01\mu\text{g/g}$ a $1,09 \pm 0,03\mu\text{g/g}$) e traços de α - e β -caroteno. A laranja Terra e o limão Cravo apresentaram $0,57 \pm 0,01\mu\text{g/g}$ e $3,95 \pm 0,01\mu\text{g/g}$ de β -criptoxantina, respectivamente e traços de β -caroteno. O principal carotenóide de tangerina é a β -criptoxantina com $6,35 \pm 0,25\mu\text{g/g}$, além de $1,32 \pm 0,01\mu\text{g/g}$ de luteína, $0,96 \pm 0,00\mu\text{g/g}$ de zeaxantina e traços de α - e β -caroteno.

Nas verduras e hortaliças verdes foram encontrados β -caroteno e luteína. O manjeriço foi o vegetal mais rico em carotenóides, com $67,3 \pm 1,9\mu\text{g/g}$ de β -caroteno e $93,5 \pm 1,8\mu\text{g/g}$ de luteína. No entanto, assim como a cebolinha ele é usado em baixas quantidades como condimento. Alface roxa apresentou $20,85 \pm 0,07\mu\text{g/g}$ de β -caroteno e $20,36 \pm 0,08\mu\text{g/g}$ de luteína. No estudo realizado por Kimura e Rodriguez-Amaya (2003), β -caroteno e luteína foram reportados como carotenóides majoritários nas diferentes variedades de alface hidropônica. Os teores mais altos foram constatados para a variedade crespinha 'French' com $24,6 \pm 3,1\mu\text{g/g}$ de β -caroteno e $22,9 \pm 2,6\mu\text{g/g}$ de luteína. Niizu e Rodriguez-Amaya (2005) encontraram $15,5 \pm 4,2\mu\text{g/g}$ de β -caroteno e $14,3 \pm 2,4\mu\text{g/g}$ para luteína em alface crespa.

Outros vegetais como alho porro, chuchu, jiló, lentilha, maxixe, pepino e vagem apresentaram teores baixos de luteína. Lentilha apresentou traços de β -caroteno, $4,87 \pm 0,16\mu\text{g/g}$ e $2,05 \pm 0,08\mu\text{g/g}$ de zeaxantina. Batata baroa apresentou traços de α -caroteno, $1,54 \pm 0,00\mu\text{g/g}$ de β -caroteno e $2,86 \pm 0,05\mu\text{g/g}$ de luteína, porém sua cor se deve principalmente à violaxantina que não foi quantificada.

Destes alimentos analisados, a rúcula e a manga se destacam pelo alto consumo e pelo alto teor de carotenóides. A banana, tangerina e alface também se destacam por serem altamente consumidos e por apresentarem conteúdos apreciáveis de carotenóides.

Tabela 2-3. Teor de carotenóides em alimentos mais consumidos no Brasil

Descrição	Concentração de carotenóide µg/g ^a					
	α-caroteno	β-caroteno	β-criptoxantina	Licopeno	Luteína	Zeaxantina
Frutas						
Ameixa		0,78 ± 0,04	2,27 ± 0,03		2,19 ± 0,07	tr
		0,60 ± 0,03 (E)	1,50 ± 0,06 (E)		1,99 ± 0,07 (E)	tr
Banana maçã		0,43 ± 0,01			0,28 ± 0,01	
	tr	0,34 ± 0,01 (E)			0,27 ± 0,01 (E)	
Banana nanica	0,43 ± 0,01	0,63 ± 0,02			tr	
	0,42 ± 0,01 (E)	0,58 ± 0,01 (E)				
Banana ouro	1,90 ± 0,07	2,14 ± 0,02			0,56 ± 0,03	
	1,87 ± 0,10 (E)	1,94 ± 0,01 (E)			0,54 ± 0,03 (E)	
Banana prata	1,39 ± 0,04	1,30 ± 0,03			0,35 ± 0,02	
		1,20 ± 0,03 (E)			0,33 ± 0,02 (E)	
Banana terra	7,79 ± 0,35	10,9 ± 0,5			tr	
	7,71 ± 0,35 (E)	10,0 ± 0,4 (E)				
Kiwi		0,35 ± 0,01				
		0,30 ± 0,01 (E)			1,75 ± 0,06 (E)	

Descrição	Concentração de carotenóide µg/g ^a					
	α-caroteno	β-caroteno	β-criptoxantina	Licopeno	Luteína	Zeaxantina
Laranja Baía crua	tr	tr	0,49 ± 0,01		0,53 ± 0,02	0,48 ± 0,01
			0,44 ± 0,00 (E)		0,49 ± 0,02 (E)	0,45 ± 0,01 (E)
Laranja Baía suco	tr	tr	0,50 ± 0,02		0,67 ± 0,02	0,55 ± 0,01
			0,46 ± 0,02 (E)		0,62 ± 0,01 (E)	0,52 ± 0,01 (E)
Laranja Pêra crua	tr	tr	0,22 ± 0,00		0,61 ± 0,00	0,88 ± 0,00
Laranja Pêra suco	tr	tr	0,29 ± 0,01		0,68 ± 0,03	1,09 ± 0,03
Laranja Terra suco		tr	0,57 ± 0,01			
			0,50 ± 0,01 (E)			
Limão cravo		tr	3,95 ± 0,01			
		tr	3,59 ± 0,01 (E)			
Maçã ‘Fuji’		0,42 ± 0,00	tr		0,65 ± 0,03	
			tr		0,60 ± 0,02 (E)	tr
Manga ‘Palmer’		51,1 ± 0,3	0,78 ± 0,01			0,73 ± 0,02
		43,3 ± 0,5 (E)	0,49 ± 0,00 (E)			

Descrição	Concentração de carotenóide µg/g ^a					
	α-caroteno	β-caroteno	β-criptoxantina	Licopeno	Luteína	Zeaxantina
Pêra 'Williams'		tr			0,37 ± 0,01	
					0,35 ± 0,01 (E)	
Tangerina poncã suco	tr	tr	6,35 ± 0,25		1,32 ± 0,01	0,96 ± 0,00
			5,93 ± 0,25 (E)		1,24 ± 0,02 (E)	0,90 ± 0,00 (E)
Tangerina poncã crua	tr	tr	5,91 ± 0,18		1,01 ± 0,04	0,87 ± 0,03
			5,46 ± 0,17 (E)		0,95 ± 0,04 (E)	0,81 ± 0,03 (E)
Uva Italia		0,35 ± 0,01			0,38 ± 0,00	
		0,29 ± 0,00 (E)			0,35 ± 0,00 (E)	
Verduras e hortaliças						
Abobrinha italiana		2,66 ± 0,09			4,60 ± 0,07	
		2,20 ± 0,07 (E)			4,26 ± 0,11 (E)	
Alface, roxa		20,8 ± 0,1			20,4 ± 0,1	
		16,6 ± 0,1 (E)			18,8 ± 0,1 (E)	
Alho porro		1,09 ± 0,01			2,85 ± 0,02	
		0,85 ± 0,01 (E)			2,64 ± 0,02 (E)	

Descrição	Concentração de carotenóide µg/g ^a					
	α-caroteno	β-caroteno	β-criptoxantina	Licopeno	Luteína	Zeaxantina
Batata baroa	tr	1,54 ± 0,00			2,86 ± 0,05	
		1,40 ± 0,02 (E)			2,73 ± 0,04 (E)	
Brócolis		18,1 ± 0,9			28,6 ± 1,2	
		14,5 ± 0,9 (E)			26,4 ± 1,0 (E)	
Cebolinha		9,04 ± 0,35			15,3 ± 1,2	
		7,09 ± 0,43 (E)			14,0 ± 1,2 (E)	
Chuchu		tr			0,20 ± 0,01	
					0,19 ± 0,01 (E)	
Jiló		0,82 ± 0,03			1,49 ± 0,07	
		0,70 ± 0,02 (E)			1,39 ± 0,06 (E)	
Lentilha		tr			4,87 ± 0,16	2,05 ± 0,08
Majericão		67,3 ± 1,9			93,5 ± 1,8	
		56,9 ± 1,5 (E)			86,0 ± 1,6 (E)	
Maxixe		0,36 ± 0,01			0,85 ± 0,02	
		0,30 ± 0,01 (E)			0,79 ± 0,03 (E)	

Descrição	Concentração de carotenóide µg/g ^a					
	α-caroteno	β-caroteno	β-criptoxantina	Licopeno	Luteína	Zeaxantina
Pepino		0,24 ± 0,01				
		0,19 ± 0,00 (<i>E</i>)			0,15 ± 0,01 (<i>E</i>)	
Vagem		2,09 ± 0,04			2,07 ± 0,10	
		1,76 ± 0,03 (<i>E</i>)			1,98 ± 0,08 (<i>E</i>)	

a = média da análise em triplicata. tr = traços. *E* = *trans*

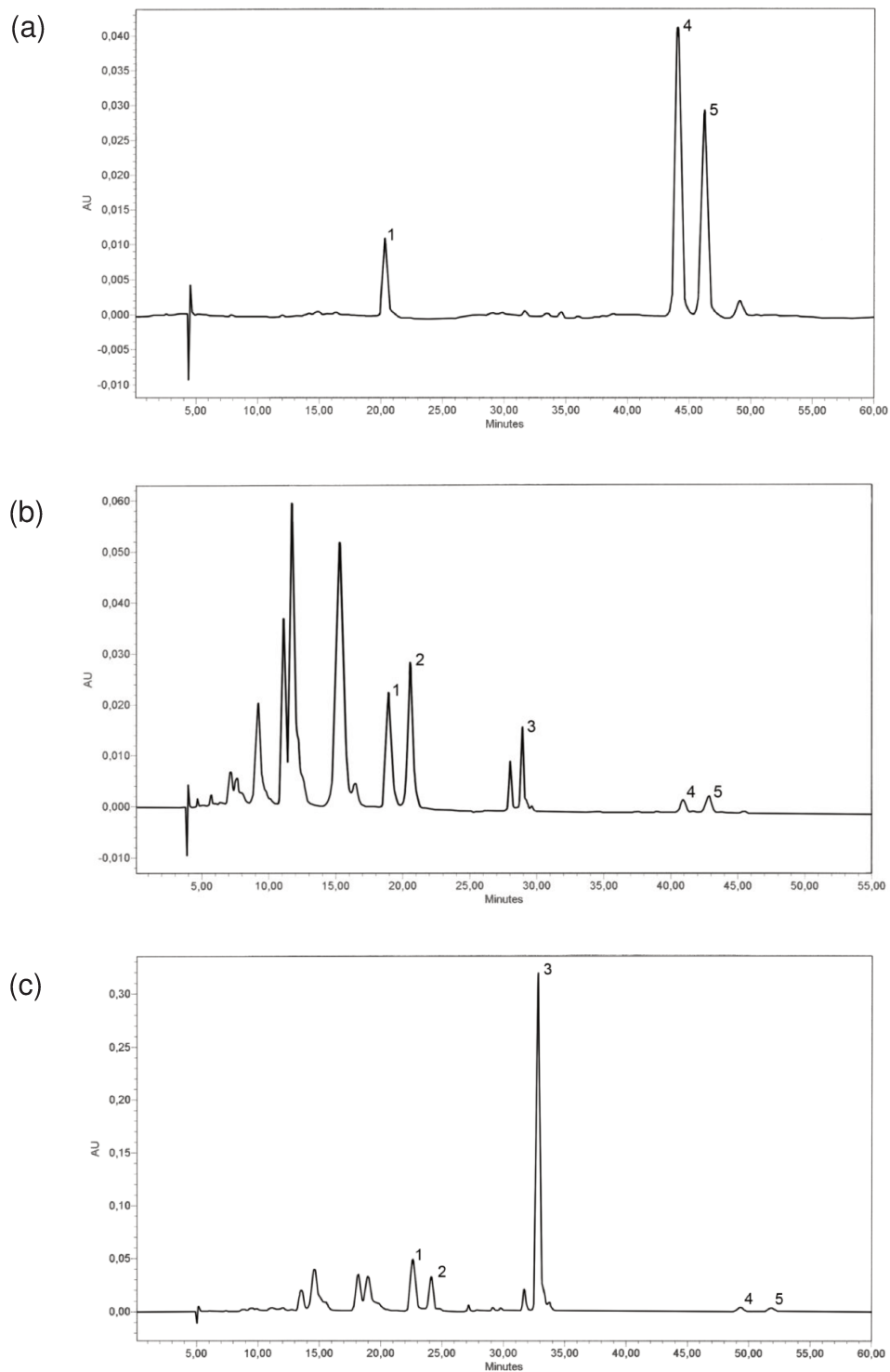


Figura 2-1. Cromatograma dos carotenóides obtidos por CLAE, de (a) banana prata, (b) laranja pêra e (c) tangerina poncã. Picos identificados: (1) luteína, (2) zeaxantina, (3) β -criptoxantina, (4) α -caroteno e (5) β -caroteno.

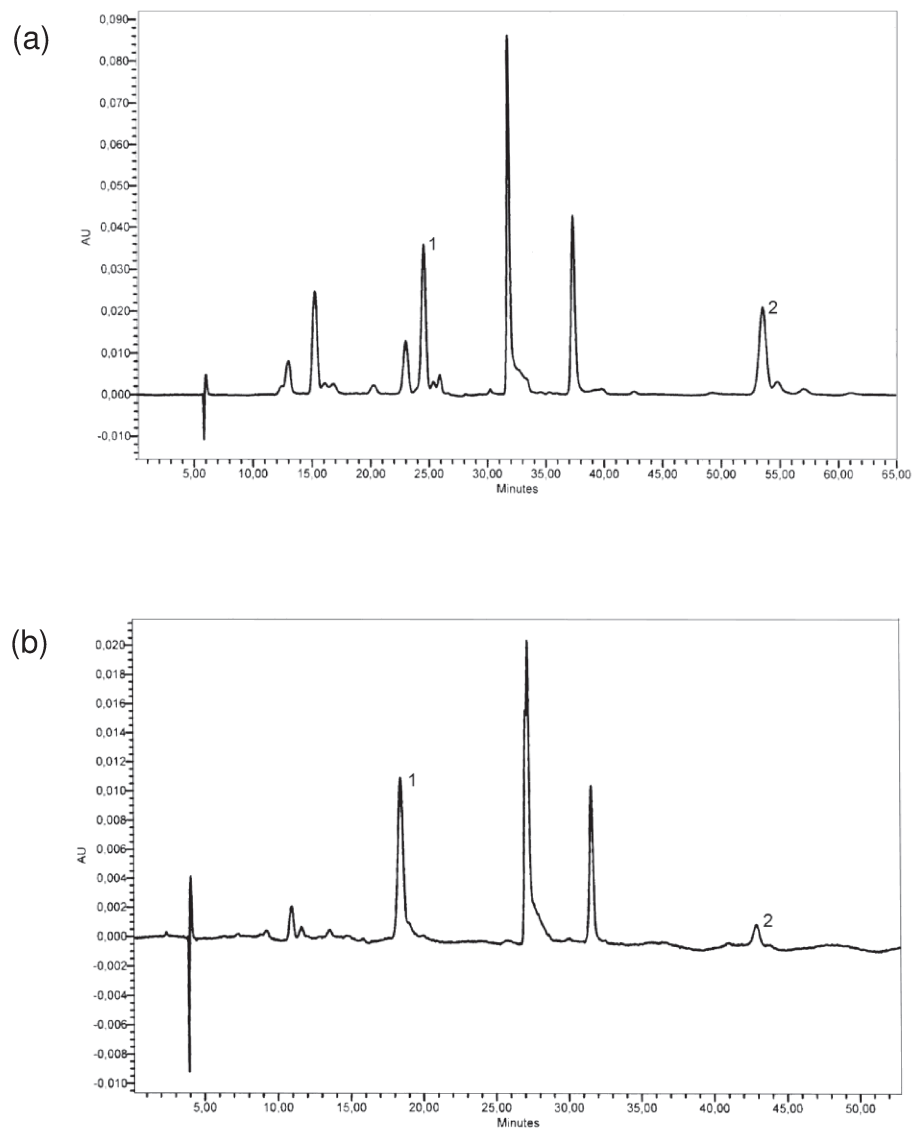


Figura 2-2. Cromatograma dos carotenóides obtidos por CLAE, de (a) alface roxa e (b) chuchu.

Picos identificados: (1) luteína e (2) β -caroteno.

BIBLIOGRAFIA

Arima, H.K.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of commercial Brazilian squashes and pumpkins. *Journal of Micronutrient Analysis*, v. 4, p. 177-191, 1988.

Astorg, P. Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. *Trends in Food Science & Technology*, v. 8, p. 406-413, 1997.

Azevedo-Meleiro, C.H.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoids of endive and New Zealand spinach as affected by maturity, season and minimal processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 18, p. 845–855, 2005.

Gaziano, J.M.; Hennekens, C.H. The role of beta-carotene in the prevention of cardiovascular disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 691, p. 148-155, 1993.

Godoy, H.T.; Rodriguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, v. 22, p. 100-103, 1989.

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

Kimura, M.; Rodriguez-Amaya, D. B. Carotenoid composition of Hydroponic leafy vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, p. 2603-2607, 2003.

Kimura, M.; Kobori, C.N.; Rodriguez-Amaya, D.B.; Nestel, P. Screening and HPLC methods for carotenoids in sweetpotato, cassava and maize for plant breeding trials. *Food Chemistry*, v. 100, p. 1734-1746, 2007.

Kobori, C.N.; Rodriguez-Amaya, D.B. Uncultivated Brazilian green leaves are richer sources of carotenoids than are commercially produced leafy vegetables. *Food and Nutrition Bulletin*, v. 29, p. 320-328, 2008.

Krinsky, N. I. Actions of carotenoids in biological systems. *Annual Review of Nutrition*, v. 13, p.561-587, 1993.

Mercadante, A.Z.; Rodriguez-Amaya, D.B. Effects of ripening, cultivar differences and processing on the carotenoid composition of mango. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, p. 128-130, 1998.

Niizu, P.Y.; Rodriguez-Amaya, D.B. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 18, p. 739-749, 2005.

Olson, J. A. carotenoids and human health. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 49, p. 7S-11S, 1999.

Rodriguez-Amaya, D. B. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. Washington, D. C.: International Life Sciences Institute Press, 1999. 64p.

Rodriguez-Amaya, D.B.; Kimura, M., Amaya-Farfan, J. *Fontes Brasileiras de Carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos – Brasília: MMA/SBF*, 2008. 100p.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos / NEPA–UNICAMP- versão II. 2.ed. Campinas, SP: NEPA – UNICAMP, 2006. 113p.

Capítulo 3

Carotenóides em alimentos processados e preparados comumente consumidos

RESUMO

Os carotenóides são fitoquímicos altamente instáveis durante o processamento de alimentos, podendo sofrer alterações químicas e perdas consideráveis. A composição qualitativa de carotenóides em alimentos processados e preparados reflete a matéria-prima utilizada e a degradação de carotenóides. Em seleta de legumes enlatada nota-se a contribuição de cada ingrediente na composição de carotenóides: α e β -caroteno proveniente de cenoura, luteína de ervilha; e zeaxantina proveniente de milho. Em espinafre refogado o processamento preservou a luteína e o β -caroteno e degradou a neoxantina e violaxantina, os quais são encontrados em teores consideráveis em vegetais verdes. Entre os alimentos analisados, catalonha e espinafre refogados são fontes de β -caroteno e luteína, com $57,3 \pm 2,2 \mu\text{g/g}$ e $42,1 \pm 1,7 \mu\text{g/g}$ de β -caroteno e $76,0 \pm 0,0 \mu\text{g/g}$ e $47,3 \pm 2,0 \mu\text{g/g}$ de luteína, respectivamente. Goiabada em pasta é fonte de licopeno, apresentando $51,5 \pm 1,5 \mu\text{g/g}$. O pêssego enlatado apresentou $3,49 \pm 0,09 \mu\text{g/g}$ de β -criptoxantina, carotenóide majoritário. O cereal de milho com açúcar apresentou como carotenóide majoritário a zeaxantina ($5,47 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$). A comparação entre os dados obtidos por análise direta do alimento preparado e por cálculo utilizando dados tabelados dos ingredientes revelaram diferenças marcantes para as três receitas investigadas.

INTRODUÇÃO

Os carotenóides se destacam entre os constituintes de alimentos devido aos seguintes papéis: i) corante natural responsável pelas cores amarela, laranja e vermelha de inúmeras frutas e verduras; ii) precursores de vitamina A (de alguns deles); iii) substâncias bioativas aos quais são atribuídos efeitos benéficos à saúde correlacionados com a redução de o risco de doenças degenerativas como alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares, catarata e degeneração macular (Gaziano e Hennekens, 1993; Krinsky, 1993; Astorg, 1997; Olson, 1999; Moeller *et al.*, 2000; Krinsky & Johnson, 2005).

Sendo altamente insaturados, os carotenóides são instáveis durante preparo doméstico e processamento industrial, podendo sofrer isomerização e oxidação, resultando na perda de cor e redução da atividade biológica. A isomerização é induzida pelo calor, luz e ácidos. Na presença de oxigênio os carotenóides podem sofrer oxidação que é estimulada pela luz, calor, presença de metais, enzimas, peróxidos e inibida por antioxidantes (Rodriguez-Amaya, 2002).

Visando principalmente a segurança alimentar e nutricional da população, é reconhecida mundialmente a necessidade de obtenção de informações confiáveis e tabelas de composição de alimentos mais completas possível. A maioria das tabelas de composição informam dados de alimentos crus e, portanto, a ênfase agora deve ser a obtenção da composição de alimentos na forma em que são consumidos. Considerando que a análise de carotenóides é difícil, trabalhosa e cara, muitos valores apresentados, inclusive em tabelas internacionais, são em grande parte obtidos por cálculos de dados compilados ao invés de análise direta, o que pode causar a sub/superestimação destes valores. Portanto, a determinação de alimentos preparados e processados por análise direta se faz necessária.

Em vista disso, o presente trabalho teve por objetivo: 1) determinar os teores de carotenóides mais importantes para a saúde em alimentos processados e preparados

seguindo os protocolos de amostragem e preparo adotado pelo projeto TACO; 2) comparar os teores de carotenóides obtidos pela análise direta e por cálculo em alimentos preparados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Plano de amostragem

Como o preparo de alimentos varia muito, todos os alimentos preparados seguiram os protocolos padronizados (ingredientes, quantidades medidas usuais de consumo e técnicas dietéticas) pela Dra. Sonia Tucunduva Philippi, do Departamento de Nutrição – Faculdade de Saúde Pública da USP, os quais estão apresentados no ANEXO I. Os pratos foram preparados no Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL.

Para alimentos industrializados, a aquisição de duas unidades de cada uma das principais marcas comerciais dos produtos (mínimo de 3 e máximo de 5 para cada produto) foi realizada em super/hipermercados de 5 regiões geopolíticas do país (Norte, Nordeste, Sul, Sudeste e Centro-Oeste), pela equipe do projeto TACO. Todos os alimentos foram homogeneizados pelo ITAL segundo protocolo adequado e foram embalados em compotas de 100 a 200g. Cada laboratório de análise recebeu 4 compotas de cada alimento, das quais três foram utilizadas para análise em triplicata e uma como contra-amostra.

Neste trabalho, foram analisados os seguintes alimentos processados: cereal matinal de milho com açúcar, ervilha enlatada, goiabada em pasta, pêssego enlatado e seleta de legumes enlatada. Os alimentos preparados e analisados foram: abóbora moranga refogada, abobrinha italiana refogada, catalonha refogada, espinafre refogado, salada de legumes cozidos á vapor, salada de legumes com molho de maionese, quibebe, salpicão de frango, tucupi e yakissoba de legumes.

No laboratório de carotenóides, foram utilizados 2,5g de goiabada em pasta; 3g de cereal de milho com açúcar, seleta de legumes enlatada, abóbora moranga refogada, abobrinha italiana refogada, catalonha refogada, espinafre refogado, salada de legumes ao vapor e quibebe; 5g de salada de legumes com molho de maionese e tucupi; 6g de ervilha enlatada; e 10g de pêssgo enlatado, salpicão de frango e yakissoba de legumes.

Análise de carotenóides

A metodologia analítica empregada segue o procedimento estabelecido por Kimura e Rodriguez-Amaya (2002) e validado por Kimura *et al.* (2007). Os extratos de carotenóides foram obtidos de extrações sucessivas com acetona e transferidos para éter de petróleo e éter etílico 1:1 por partição. Os extratos de abóbora refogada, abobrinha refogada, catalonha refogada, espinafre refogado, quibebe, salada de legumes com maionese, tucupi com pimenta, pêssgo enlatado, salpicão de frango e yakissoba de legumes foram saponificados com KOH 10% e MeOH por 16 horas, à temperatura ambiente e no escuro, seguida de lavagem com água destilada para retirada do álcali. O extrato etéreo foi concentrado em rotaevaporador ($T \leq 35^{\circ}\text{C}$) e seco com nitrogênio. Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo, o extrato seco foi redissolvido em acetona grau cromatográfico e filtrado em filtro PTFE 0,22 μm .

A etapa cromatográfica das análises foi realizada em cromatógrafo líquido Waters equipado com bomba quaternária, degasser e vácuo em linha, detector UV-visível com arranjo de diodos (DAD) e coluna monomérica C_{18} (Spheriosorb ODS2, 3 μm , 4,6 x 150mm). Foi aplicado gradiente côncavo e fase-móvel composta por acetonitrila (contendo 0,05% de trietilamina):metanol:acetato de etila na proporção de 95:5:0 até 60:20:20 em 20 minutos, mantendo esta proporção até o fim da corrida. O tempo de reequilíbrio requerido foi de 15 minutos e o fluxo de 0,5mL/min. A detecção dos carotenóides foi feita nos comprimentos de onda de absorção máxima.

Os padrões utilizados para a quantificação por padronização externa foram isolados por cromatografia em coluna aberta, utilizando como adsorvente uma mistura de MgO:hyflosupercel (1:1) ativada por 4 horas à 110°C e fase móvel composta por um gradiente de acetona em éter de petróleo segundo Kimura e Rodriguez-Amaya (2002). A concentração das soluções padrão foi determinada espectrofotometricamente e corrigida de acordo com a pureza determinada por CLAE.

A identificação dos carotenóides foi realizada de acordo com Rodriguez-Amaya (1999), utilizando em conjunto o tempo de retenção, co-cromatografias com padrões de carotenóides e espectros de absorção ($\lambda_{\max}$ e estrutura espectral fina) obtidos por detecção de arranjo de diodos.

Cálculo dos teores de carotenóides em receitas

Os teores de carotenóides em três receitas (salada de legumes no vapor, salada de legumes com molho de maionese e yakissoba de legumes) foram calculados pela seguinte fórmula (Charrondiere *et al.*, 2009):

Método de ingredientes

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Ingrediente 1: } VN \times 1/FP \times FR \\ \text{Ingrediente 2: } VN \times 1/FP \times FR \\ \text{Ingrediente 3: } VN \times 1/FP \times FR \end{array} \right.$$

Receita: soma dos ingredientes acima

Onde: VN = valor do nutriente cru; FP = fator referente à mudança de peso; FR = fator de retenção.

Como o Brasil não possui fatores de mudança de peso e retenção, foram utilizados fatores tabelados pela USDA (Mathews & Garrison, 1975 e USDA, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição qualitativa

A composição qualitativa de carotenóides em alimentos processados e preparados reflete a matéria-prima utilizada e a degradação de carotenóides, podendo ser observados nos cromatogramas (Figuras 3-1 e 3-2).

Em salada de legumes, tanto com molho de maionese como cozidos no vapor, é visível a mistura das matérias-primas. Na salada com molho de maionese, por exemplo, a cenoura contribuiu principalmente para a presença do α e β -caroteno e a vagem para a luteína. O mesmo acontece para a seleta de legumes enlatada, o milho verde contribui para a presença de zeaxantina, cenoura para α e β -caroteno e ervilhas para luteína.

A degradação de carotenóides durante o processamento pode ser bem observada no cromatograma de espinafre refogado, que possui a luteína como carotenóide majoritário, seguido de β -caroteno. Porém, neoxantina e violaxantina, que são encontradas em quantidades apreciáveis na folha crua, foram perdidos. O tucupi, apesar do longo cozimento de mandioca, apresenta o cromatograma típico de mandioca com níveis apreciáveis de *cis*-isômeros, além de *trans*- β -caroteno (Kimura *et al.*, 2007). A mandioca é um dos poucos alimentos que apresenta *cis*-isômeros acima do que é normalmente encontrado (traços).

Composição quantitativa

Entre os alimentos analisados (Tabela 3-1) somente a goiabada em pasta apresentou licopeno com teor altíssimo ($51,5 \pm 1,5 \mu\text{g/g}$), além do β -caroteno ($9,08 \pm 0,11 \mu\text{g/g}$), e por isso é considerada fonte de licopeno. A presença do α -caroteno também é pouco freqüente nestes alimentos. A seleta de legumes possui o maior teor de α -

caroteno ($5,77 \pm 0,22\mu\text{g/g}$) aparentemente proveniente da cenoura. Valores apreciáveis de β -caroteno também estão presentes ($12,4 \pm 0,5\mu\text{g/g}$).

Sentanin e Rodriguez-Amaya (2007) estudaram três variedades de pêssego e notaram β -criptoxantina como carotenóide majoritário. O mesmo foi observado em pêssego enlatado com $3,49 \pm 0,09\mu\text{g/g}$ de β -criptoxantina.

O cereal de milho com açúcar apresentou como carotenóide majoritário a zeaxantina ($5,47 \pm 0,02\mu\text{g/g}$), além de luteína ($1,97 \pm 0,03\mu\text{g/g}$), β -criptoxantina ($0,91 \pm 0,01\mu\text{g/g}$) e β -caroteno ($1,75 \pm 0,03\mu\text{g/g}$). Considerando a presença de açúcar é de se esperar teores menores do que os encontrados por Oliveira e Rodriguez-Amaya (2007), que encontraram o dobro de zeaxantina ($9,70 \pm 2,16\mu\text{g/g}$), luteína ($3,17 \pm 0,55\mu\text{g/g}$) e β -criptoxantina ($1,52 \pm 0,39\mu\text{g/g}$) em uma das marcas analisadas. Porém, foram encontrados teores mais elevados de β -caroteno ($1,24 \pm 0,21\mu\text{g/g}$), possivelmente pela variação entre as matérias-primas utilizadas.

O β -caroteno e luteína são os carotenóides mais freqüentes nos alimentos analisados. Os maiores teores são encontrados na catalonha e espinafre refogados, com $57,3 \pm 2,2\mu\text{g/g}$ e $42,1 \pm 1,7\mu\text{g/g}$ de β -caroteno e $76,0 \pm 0,0\mu\text{g/g}$ e $47,3 \pm 2,0\mu\text{g/g}$ de luteína, respectivamente.

Comparação entre teores de carotenóides obtidos por análise direta e por cálculo

As concentrações de α - e β -caroteno obtidas por cálculo e por análise direta estão apresentados na Tabela 3-2, mostrando diferenças marcantes para todas as receitas. Isso é compreensível considerando que fica muito difícil estabelecer fatores de mudança de peso e retenção exatos. Além disso, interação entre compostos/ingredientes durante o cozimento não são levados em consideração.

Tabela 3-1. Composição dos principais carotenóides em alimentos processados

Descrição	Concentração de carotenóide $\mu\text{g/g}^a$					
	α -caroteno	β -caroteno	β -criptoxantina	Licopeno	Luteína	Zeaxantina
Alimentos Processados						
Ervilha enlatada		$0,60 \pm 0,02$			$3,05 \pm 0,08$	
		$0,50 \pm 0,02$ (E)				
Seleto de legumes enlatada	$5,77 \pm 0,22$	$12,4 \pm 0,5$			$2,57 \pm 0,12$	
	$5,53 \pm 0,21$ (E)	$11,3 \pm 0,4$ (E)			$2,34 \pm 0,09$ (E)	$2,82 \pm 0,13$ (E)
Pêssego em calda		$1,38 \pm 0,04$	$3,49 \pm 0,09$		$0,39 \pm 0,01$	
		$0,99 \pm 0,03$ (E)	$3,18 \pm 0,08$ (E)		$0,37 \pm 0,01$ (E)	
Cereal matinal de milho com açúcar		$1,75 \pm 0,03$	$0,91 \pm 0,01$		$1,97 \pm 0,03$	$5,47 \pm 0,02$
		$1,15 \pm 0,04$ (E)	$0,71 \pm 0,01$ (E)		$1,51 \pm 0,01$ (E)	
Goiaba em pasta		$9,08 \pm 0,11$		$51,5 \pm 1,5$		
		$7,29 \pm 0,07$ (E)		$49,1 \pm 1,4$ (E)		

Descrição	Concentração de carotenóide µg/g ^a					
	α-caroteno	β-caroteno	β-criptoxantina	Licopeno	Luteína	Zeaxantina
Alimentos Preparados						
Abóbora refogada		7,00 ± 0,13			2,06 ± 0,06	
		4,44 ± 0,08 (E)			1,71 ± 0,05 (E)	
Abobrinha refogada		2,91 ± 0,13			2,77 ± 0,12	
		2,08 ± 0,12 (E)			1,98 ± 0,11 (E)	
Catalonha refogada		57,3 ± 2,2			76,0 ± 0,0	
		44,7 ± 2,7 (E)			70,8 ± 0,6 (E)	
Espinafre refogado		42,1 ± 1,7			47,3 ± 2,0	
		32,8 ± 1,4 (E)			42,9 ± 2,1 (E)	
Salada de legumes no vapor	14,3 ± 0,6	24,9 ± 0,7			14,3 ± 0,6	
		22,0 ± 0,6 (E)			14,2 ± 0,6 (E)	
Salada de legumes com maionese	5,25 ± 0,06	15,0 ± 0,2			1,07 ± 0,00	tr
	5,21 ± 0,05 (E)	13,7 ± 0,1 (E)			1,04 ± 0,02 (E)	
Quibebe		7,29 ± 0,10			37,5 ± 2,2	
		5,30 ± 0,09 (E)			37,2 ± 2,1 (E)	

Descrição	Concentração de carotenóide µg/g ^a					
	α-caroteno	β-caroteno	β-criptoxantina	Licopeno	Luteína	Zeaxantina
Salpicão de frango		0,95 ± 0,03			0,46 ± 0,02	0,91 ± 0,03
		0,79 ± 0,03 (<i>E</i>)				0,90 ± 0,04 (<i>E</i>)
Tucupi com pimenta		3,92 ± 0,15				
		2,15 ± 0,08 (<i>E</i>)				
Yakissoba de legumes	1,47 ± 0,10	3,11 ± 0,18			0,26 ± 0,04	
		2,86 ± 0,17 (<i>E</i>)				

a = média da análise em triplicata. tr = traços. *E* = *trans*

Tabela 3-2. Comparação entre teores de carotenóides obtidos por análise direta e por cálculo

Alimento	Concentração de Alimentos $\mu\text{g/g}$			
	Calculado		Análise direta	
	α -caroteno	β -caroteno	α -caroteno	β -caroteno
Salada de legumes no vapor	4,03	12,92	$14,3 \pm 0,6$	$24,9 \pm 0,7$
Salada de legumes com maionese	3,81	6,43	$5,25 \pm 0,06$	$15,0 \pm 0,2$
Yakissoba de legumes	0,74	1,30	$1,47 \pm 0,10$	$3,11 \pm 0,18$

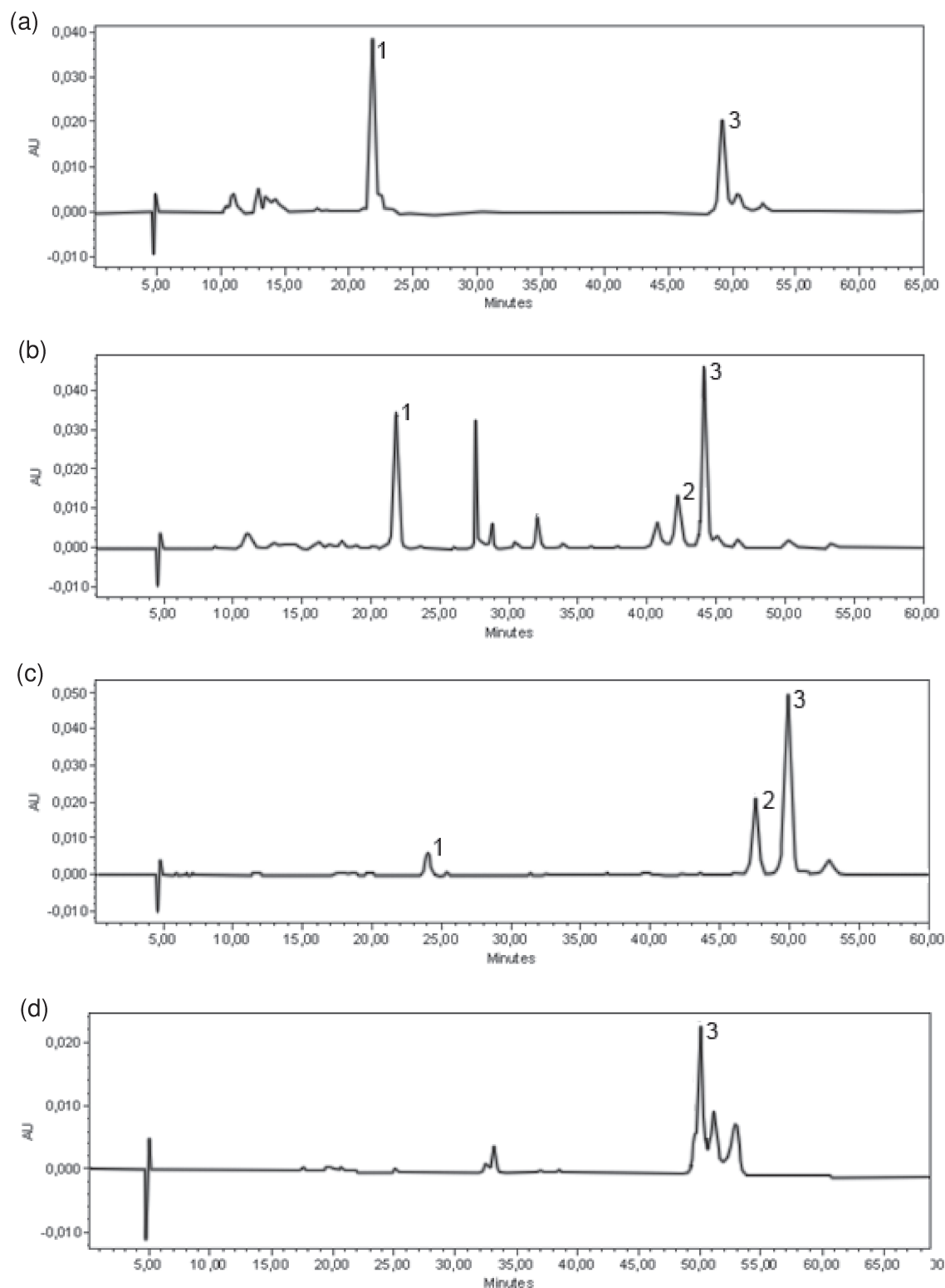


Figura 3-1. Cromatograma dos carotenóides obtidos por CLAE, de (a) espinafre refogado, (b) salada de legumes no vapor, (c) salada de legumes com molho de maionese e (d) tucupi. Picos identificados: (1) luteína, (2) α -caroteno e (3) β -caroteno.

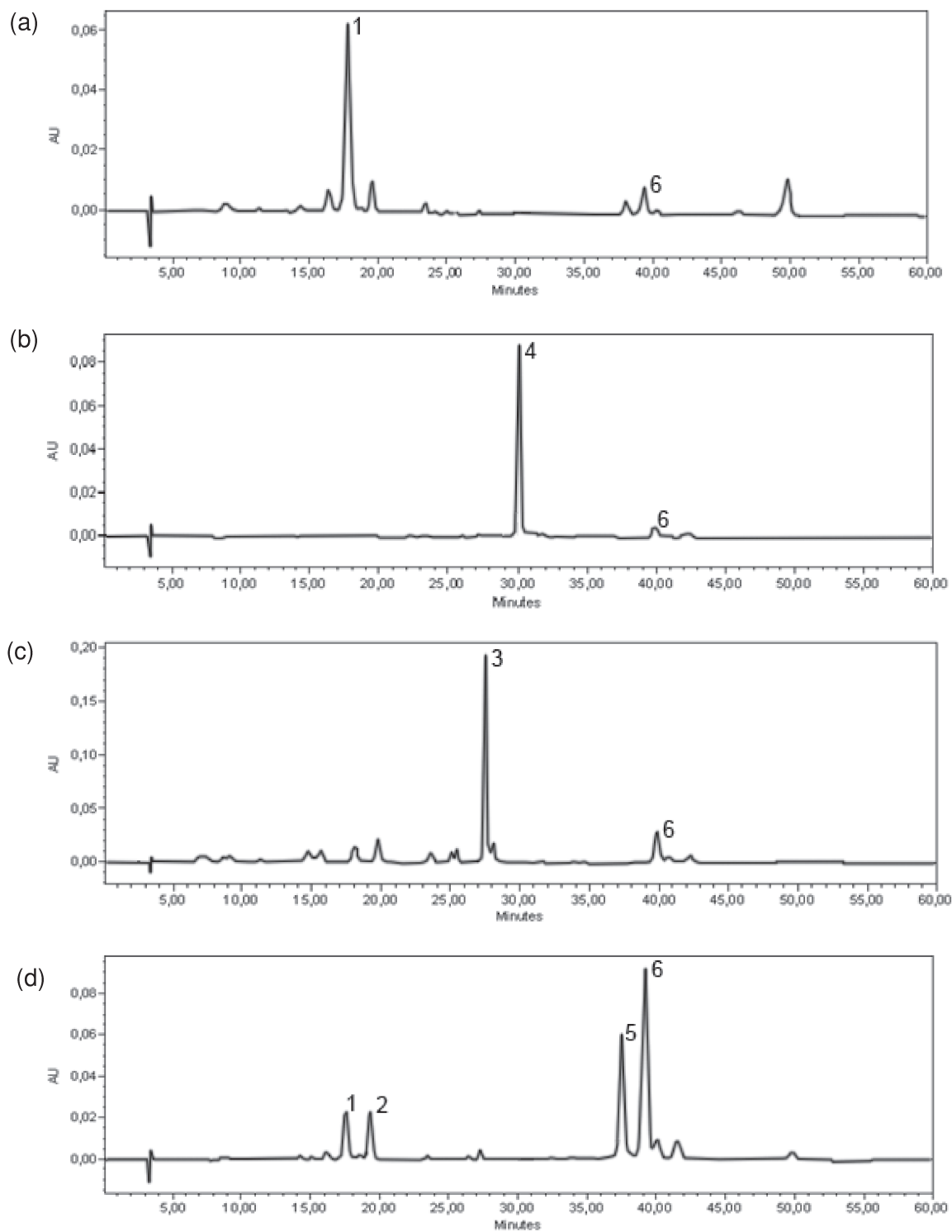


Figura 3-2. Cromatograma dos carotenóides obtidos por CLAE, de (a) ervilha enlatada, (b) goiabada em pasta, (c) pêsssego enlatado e (d) seleta de legumes enlatada. Picos identificados: (1) luteína, (2) zeaxantina, (3) β -criptoxantina, (4) licopeno, (5) α -caroteno e (6) β -caroteno.

BIBLIOGRAFIA

Astorg, P. Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. Trends in Food Science & Technology, v. 8, p. 406-413, 1997.

Charrodiere, U. T., Sivieri, A., Burlingame, B. Differences in nutrient values of recipes due to different calculation methods and sets of nutrient retention factors. Apresentado no 8th International Food Data Conference. Bangkok, Thailand, 01-03 october, 2009.

Gaziano, J.M.; Hennekens, C.H. The role of beta-carotene in the prevention of cardiovascular disease. Annals of the New York Academy of Sciences, v. 691, p. 148-155, 1993.

Kimura, M.; Rodriguez-Amaya, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. Food Chemistry, v. 78, p. 389-398, 2002.

Kimura, M.; Kobori, C.N.; Rodriguez-Amaya, D.B.; Nestel, P. Screening and HPLC methods for carotenoids in sweetpotato, cassava and maize for plant breeding trials. Food Chemistry, v.100, p.1734-1746, 2007.

Krinsky, N. I. Actions of carotenoids in biological systems. Annual Review of Nutrition, v. 13, p.561-587, 1993.

Krinsky, N.I.; Johnson, E.J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. Molecular Aspects of Medicine, v. 26, p. 459-516, 2005.

Mathews, R.H.; Garrison, Y.J. Food yields summarized by different stages of preparation. Agriculture Handbook No. 102 (1975). Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/Classics/ah102.pdf>. Acessado em janeiro de 2010.

Moeller, S.M.; Jacques, P.F.; Blumberg, J.B. The potential role of dietary xanthophylls in cataract and age-related macular degeneration. *Journal of the American College Nutrition*, v. 19, p. 522-527, 2000.

Oliveira, G.P.R., Rodriguez-Amaya, D.B. Processed and prepared corn products as sources of lutein and zeaxanthin: Compositional variation in the food chain. *Journal of Food Science*, v. 72, p. S79-S85, 2007.

Olson, J. A. carotenoids and human health. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 49, p. 7S-11S, 1999.

Rodriguez-Amaya, D. B. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. Washington, D. C.: International Life Sciences Institute Press, 1999.

Rodriguez-Amaya, D. B. Effects of processing and storage on food carotenoids. *Sight Life Newsletter*, v. 3, p. 25-35, 2002.

Sentanin, M.A.; Rodriguez-Amaya, D.B. Teores de carotenóides em mamão e pêsego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, p. 13-19, 2007.

USDA Table of Nutrient Retention Factors, Release 6 (2007). Disponível em: <http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/12354500/Data/retn/retn06.pdf>. Acessado em janeiro de 2010.

CONCLUSÕES GERAIS

1. O plano de amostragem do projeto TACO e do Laboratório de Carotenóides demonstraram validade e equivalência.
2. Frutas de clima temperado apresentam teores de carotenóides mais baixos que os encontrados em frutas tropicais.
3. Manjerição e alface roxa são boas fontes de β -caroteno e luteína.
4. Rúcula e manga se destacam pelo alto consumo e pelo alto teor de carotenóides.
5. Banana, tangerina e alface se destacam por serem altamente consumidos e por apresentarem conteúdos apreciáveis de carotenóides.
6. Alimentos processados ou preparados contêm aparentemente teores menores de carotenóides que os alimentos crus correspondentes.
7. Dos alimentos preparados, a goiabada em pasta se sobressai como fonte de licopeno.
8. A seleta de legumes possui o maior teor de α -caroteno dentre os alimentos analisados.
9. Zeaxantina é o carotenóide majoritário do cereal de milho com açúcar.
10. Catalonha e espinafre refogados são ótimas fontes de β -caroteno e luteína.
11. A obtenção da composição de carotenóides por cálculo não substitui a análise direta.

ANEXO

ANEXO I

Protocolos padronizados para alimentos preparados

Dra. Sonia Tucunduva Philippi, Departamento de Nutrição – Faculdade de Saúde Pública da USP

ABÓBORA, TIPO MORANGA, REFOGADA

Procedimentos:

1. Pesar 8 kg de abóbora.
2. Lavar bem e deixar escorrer a água. Descascar e cortar em cubos de 3x3 cm.
3. Separar em amostras de 1 kg.
4. Não adicionar nenhum ingrediente ao alimento.
5. Em uma panela antiaderente, aquecer 2 colheres de sopa de óleo (16mL) em fogo médio. Refogar uma cebola picada (110g) e um dente de alho picado (2g) até ficarem dourados. Adicionar 1 kg de abóbora e refogar por aproximadamente 5 minutos. Mexer vagarosamente. Acrescentar 1 litro de água e deixar cozinhar por 15 minutos. Se formar muita água, escorrer um pouco, pois é importante que os pedaços fiquem inteiros, sem desmanchar.
6. Desligar o fogo. Deixar com a panela tampada por mais 5 minutos.
7. Repetir a operação para cada quilo de abóbora.

ABOBRINHA, TIPO ITALIANA, REFOGADA

Procedimentos:

1. Pesar 8 kg de abobrinha.
2. Lavar bem e deixar escorrer a água. Cortar em cubos de 1x1 cm.
3. Separar em amostras de 1 kg.
4. Não adicionar nenhum ingrediente ao alimento.
5. Em uma panela antiaderente, aquecer 2 colheres de sopa de óleo (16mL) em fogo médio. Refogar uma cebola picada (110g) e um dente de alho picado (2g), até ficarem dourados. Adicionar 1 kg de abobrinha e refogar por aproximadamente 5 minutos. Mexer vagarosamente. Deixar cozinhar por mais 5 minutos.
6. Deixar esfriar.
7. Repetir a operação para cada quilo de abobrinha.

CATALONHA REFOGADA

Procedimentos:

1. Pesar 6 kg de catalonha.
2. Lavar e deixar escorrer a água. Picar em tiras bem fininhas.
3. Separar em amostras de 1 kg.
4. Aquecer, em uma panela antiaderente, 5 colheres de sopa de óleo (40mL) em fogo médio. Refogar uma cebola picada (110g) e um dente de alho picado (2g) até ficarem dourados. Adicionar 1 kg de catalonha e refogar por aproximadamente 10 minutos, mexendo sempre, até que a catalonha esteja macia. A catalonha deve reduzir aproximadamente até 1/3 do volume inicial.
5. Deixar esfriar.
6. Repetir a operação para cada quilo de catalonha.

ESPINAFRE REFOGADO

Procedimentos:

1. Pesar 6 kg de catalonha.
2. Lavar e deixar escorrer a água. Retirar os talos e picar. Separar em amostras de 1kg.
3. Aquecer em fogo médio 5 colheres de sopa de óleo (40mL), 1 cebola (110g) e um dente de alho picado (2g) em uma panela anti-aderente. Colocar 1kg de espinafre e deixar refogar por aproximadamente 15 minutos mexendo sempre, até que o volume reduza até 1/3 do inicial.
4. Deixar esfriar.

QUIBEBE

Procedimentos:

1. Pesar 4 kg de abóbora kabotian.
2. Lavar bem e enxugar. Descascar e cortar em cubos de 3x3 cm. Separar em amostras de 1 kg.
3. Não adicionar nenhum ingrediente ao alimento.
4. Em uma panela grande, colocar 1 kg de abóbora e adicionar 1 litro de água. Deixar cozinhar, em fogo médio, por aproximadamente 20 minutos, ou até a abóbora ficar macia. Mexer sempre e vagorosamente. Se necessário, adicionar mais água.
5. Desprezar a água. Reservar.
6. Pesar 3 kg de carne seca.
7. Não adicionar nenhum ingrediente ao alimento.
8. Deixar a carne seca de molho por 12 horas.

9. Desprezar a água.
10. Cortar a carne em cubos de 3 x 3cm.
11. Aquecer 1 litro de água até fervura, para cada quilo de carne. Colocar a carne e esperar ferver. Deixar por 5 minutos.
12. Desprezar a água e reservar.
13. Em uma panela grande, aquecer 3 colheres de sopa de óleo (24 mL), em fogo médio. Acrescentar 2 cebolas picadas (220g) e deixar refogar por aproximadamente 2 minutos, ou até a cebola atingir a cor dourada. Colocar a carne seca na panela. Adicionar água fervente suficiente para cobrir a carne. Cozinhar por 1 hora e 30 minutos, ou até a carne ficar macia.
14. Adicionar a abóbora cozida e misturar. Deixar cozinhar por mais 20 minutos, até que fique um caldo bem grosso.
15. Deixar esfriar.

SALADA DE LEGUMES COM MOLHO DE MAIONESE (BATATA, CENOURA E VAGEM)

Procedimentos:

1. Pesar 2 kg de batata, 1 kg de cenoura e 500g de vagem tipo manteiga.
2. Lavar bem e deixar escorrer a água.
3. Descascar os legumes e cortar em pedaços de aproximadamente 1 cm.
4. Não adicionar nenhum ingrediente aos alimentos.
5. Em uma panela sem tampa, colocar os 2 kg de batata picada e adicionar 2 litros de água. Deixar cozinhar, em fogo médio, por aproximadamente 20 minutos, ou até que a batata fique macia.
6. Desprezar a água. Reservar.
7. Em uma panela sem tampa, colocar os 1 kg de cenoura picada e adicionar 2 litros de água. Deixar cozinhar, em fogo médio, por aproximadamente 30 minutos, ou até que a cenoura fique macia.
8. Desprezar a água. Reservar.
9. Retirar as extremidades da vagem e os fios de ambos os lados.
10. Em uma panela sem tampa, colocar 500g de vagem picada e adicionar 1 litro de água. Deixar cozinhar, em fogo médio, por aproximadamente 15 minutos, ou até que a vagem fique macia.
10. Desprezar a água. Reservar.
12. Em uma bacia, colocar a batata, a cenoura e a vagem cozidas. Adicionar 3 cebolas picadas (330g). Misturar. Acrescentar 1,5 kg de maionese tradicional industrializada e misturar novamente.

SALADA DE LEGUMES NO VAPOR

Procedimentos:

1. Pesar 1 kg de couve-flor (só as flores), 1 kg de cenoura, 1 kg de brócolis (só as flores), 1 kg de batata e 1 kg de vagem tipo manteiga
2. Lavar bem e deixar escorrer.
3. Descascar as cenouras e cortar em cubos de aproximadamente 1 cm.
4. Descascar as batatas e cortar em cubos de aproximadamente 1 cm.
5. Retirar as extremidades da vagem, os fios de ambos os lados e cortar em pedaços de aproximadamente 1 cm.
6. Não adicionar nenhum ingrediente aos alimentos.
7. Em uma panela para cozimento a vapor, colocar a cenoura por aproximadamente 30 minutos, ou até que fique macia. Colocar separadamente os demais alimentos: a couve-flor (20 minutos), os brócolis (20 minutos), as batatas (20 minutos) e a vagem (15 minutos), ou até que fiquem macios.
8. Retirar do vapor e deixar esfriar. Após a cocção, em separado, juntar todos os alimentos em um único recipiente.

SALPICÃO DE FRANGO

Procedimentos:

1. Pesar 4 kg de peito de frango desossado e sem pele.
2. Lavar bem, escorrer a água. Separar em amostras de 1 kg.
3. Não adicionar nenhum ingrediente ao alimento.
4. Em uma panela, colocar 1 kg de frango. Adicionar 2 litros de água. Deixar cozinhar por aproximadamente 45 minutos.
5. Desprezar a água.
6. Deixar esfriar. Desfiar o frango cozido com as mãos, em pedaços pequenos. Reservar.
7. Lavar 3 ramos de salsão (120g), 1 pimentão verde (84g) e 1 pimentão vermelho (84g). Deixar escorrer a água.
8. Cortar em tiras bem finas o salsão e os pimentões. Reservar.
9. Em uma tigela, colocar o frango desfiado, 1 cebola picada (110g), 1 maçã picada (150g), o salsão e os pimentões em tiras.
10. Adicionar 50g de passas e 500g de maionese tradicional industrializada. Misturar bem.
11. Repetir a operação para cada quilo de peito de frango.

TUCUPI (com pimenta)

Procedimentos:

1. Pesar 6 kg de mandioca sem casca. Lavar.
2. Separar em duas amostras de 3 kg cada.
3. Em um recipiente, deixar a mandioca de molho em 2 litros de água por 6 horas.
4. Ralar a mandioca e passar em uma peneira, espremendo bem para escorrer a água.
5. Deixar a água que escorreu descansar por 10 horas para decantar a goma. Reservar a água.
6. Colocar, em uma panela, a água reservada e acrescentar 2 dentes de alho amassados (4g). Deixar ferver por aproximadamente 1 hora e 30 minutos.
7. Acrescentar 4 pimentas-de-cheiro picadas.
8. Deixar esfriar.
9. Repetir a operação para cada amostra de mandioca.

OBS: A goma e o tucupi podem ser utilizados no protocolo do Tacacá.

YAKISSOBA DE LEGUMES

Procedimentos:

1. Pesar 250g de filé mignon (limpo) cortado em tiras e 250g de filé de peito de frango (sem pele) cortado em tiras.
2. Aquecer, em uma panela antiaderente, 3 colheres de óleo de soja (24 mL) em fogo médio. Refogar as tiras de carne e frango, até que fiquem macias. Reservar.
3. Separar 1 cenoura (80g), 10 unidades de vagem (100g), 3 ramos de couve-flor (75g) e 4 folhas de acelga (80g).
4. Lavar a cenoura. Cortar em tiras fininhas.
5. Lavar a vagem. Retirar as extremidades e cortar em tiras fininhas.
6. Lavar a couve-flor. Separar em flores pequenas.
7. Lavar a acelga. Cortar as folhas com os dedos.
8. Aquecer, em uma panela antiaderente, 3 colheres de sopa de óleo de gergelim (24 mL) em fogo médio. Refogar todos os legumes e verduras. Adicionar 500 mL de caldo de frango. Deixar cozinhar até que fiquem macios. Reservar.
9. Dissolver 3 colheres de sopa de amido de milho (50g) em 250 mL de molho de soja (shoyu). Reservar.
10. Aquecer, em uma panela com 30 cm de diâmetro, 1 litro de água. Colocar 500g de macarrão instantâneo e deixar cozinhar por aproximadamente por 3 minutos. Escorrer e reservar.
11. Aquecer, em uma panela antiaderente grande 3 colheres de sopa de óleo de gergelim (24 mL) em fogo médio. Fritar o macarrão cozido por aproximadamente 2 minutos. Acrescentar a carne, o

frango e os legumes e verduras. Misturar. Acrescentar o molho de soja e mexer por aproximadamente 5 minutos, até engrossar.

12. Deixar esfriar.

OBS: Caldo de frango: Em 2 litros de água ferver, em fogo baixo, durante 60 minutos, 500g de peito de frango com pele. Coar. Reservar. Utilizar 500 mL do caldo.