

**Composição dos Carotenóides na Polpa in
natura e em produtos de preparo caseiro e
Caracterização da Polpa e do Óleo em
Marolo (*Annona coriaceae*)**

09/93

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos

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

Composição dos Carotenóides na Polpa in
natura e em produtos de preparo caseiro e
Caracterização da Polpa e do Óleo em
Marolo (*Annona coriaceae*)

Bruce

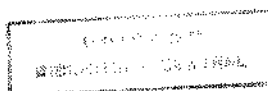
Este exemplar corresponde a edição final da
tese defendida por Tânia da Silveira Agostini
e aprovada pela Comissão Julgadora em
26/03/93.

Heloisa M. Cecchi

Tânia da Silveira Agostini ^{26/15}
Farmacêutico-Industrial

Dra. Heloisa Mascia Cecchi
Orientadora

Campinas - 1993



BANCA EXAMINADORA

Heloisa M. Cecchi

Profa. Dra. Heloisa Mascia Cecchi
(orientadora)

Marilene D. V. Penteado

Profa. Dra. Marilene D. V. Penteado
(membro)

[Signature]

Prof. Dr. Daniel B. Arellano
(membro)

Eidiomar Angelucci

Prof. Dr. Eidiomar Angelucci
(membro)

Campinas, 26 de março de 1993.

*À Deus pela vida e
pela esperança.*

Aos meus pais, Mauro e Miralda, pela
presença, pela força
nos momentos mais difíceis e pelo
carinho de sempre,

aos meus irmãos, Junior, Marco Antônio,
Rogério e Leonardo, pelo
companheirismo e pela amizade,

ao pessoal do Centro Universitário Poveda
pelo jeito amigo de cada um e pela
luta de todos os dias,

aos membros PU e COSPAL pelo
carinho que incentiva,

dedico.

AGRADECIMENTOS

À Heloisa pela orientação e amizade, pelo incentivo e pela atenção sempre dispensada,

ao Laboratório de Óleos e Gorduras e ao Prof. Daniel B. Arellano pela colaboração efetiva,

à profa. Helena T. Godoy pela intensa disponibilidade com que contribuiu neste trabalho,

à Regina e à Cristina pela paciência, boa vontade e amizade,

à D. Irma pelo seu trabalho diário que permite o desenvolvimento de todos os nossos projetos,

aos colegas de laboratório, Luiz, Luciane, Tereza, Valéria, Eduardo, Zé Eduardo, Neura, Adriana, Silvana, Marta e demais pela amizade, pelas colaborações e pelo incentivo,

à Jardete, à Cícera, à Franceli e ao Marquinho pelos auxílios prestados,

aos Profs. Marilene D. V. Penteado, Eidiomar Angelucci e Daniel B. Arellano, pelas sugestões apresentadas na redação final desta tese,

à todos do ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos, ponto de partida e estímulo para esta nova etapa,

ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, à FINEP - Financiadora de Estudos e Projetos e à Fundação ATLANTIC para Educação e Ciência, pelos auxílios concedidos,

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

e a todos mais que me acompanharam e colaboraram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho,

agradeço.

Índice

ÍNDICE DE TABELAS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
RESUMO.....	vii
SUMARY.....	ix
1.INTRODUÇÃO.....	1
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1.Constituição química de frutas e composição de algumas frutas tropicais.....	4
2.2.Carotenóides em alimentos.....	7
2.2.1.Alguns aspectos sobre a biossíntese e a composição química.....	7
2.2.2.Importância química dos carotenóides nos alimentos.	9
2.2.3.Carotenóides de algumas frutas tropicais.....	13
2.2.4.Estabilidade dos carotenóides durante o processamento e estocagem dos alimentos.....	17
2.3.Óleos em alimentos.....	21
2.3.1.O Papel dietético dos óleos e das gorduras.....	21
2.3.2.Composição de alguns óleos vegetais.....	22
3.MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1.Amostragem e preparo das amostras.....	25
3.2.Análises químicas da polpa do marolo (<i>Annona coriaceae</i>)..	29

3.3.Determinação de carotenóides.....	30
3.4.Caracterização do óleo.....	35
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1.Constituição química do marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	37
4.2.Composição dos carotenóides presentes na polpa do marolo (<i>Annona coriaceae</i>) in natura.....	44
4.3.Alteração dos carotenóides durante o processamento caseiro do marolo (<i>Annona coriaceae</i>): Obtenção da geléia e do licor.....	57
4.4.Isômeros do β -caroteno e teor de vitamina A no marolo (<i>Annona coriaceae</i>) in natura, na geléia e no licor.....	63
4.5.Composição do óleo da semente e da polpa do marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	69
5.CONCLUSÕES.....	76
6.REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

ÍNDICE DE TABELAS

1.Composição química de frutas tropicais.....	6
2.Análises físicas e químicas de alguns óleos.....	24
3.Valores de °Brix e pH nos 5 lotes de marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	38
4.Teores de umidade (g/100g) nos 5 lotes de marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	39
5.Teores de açúcares totais e redutores (g/100g) nos 5 lotes de marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	39
6.Teores de proteína bruta (g/100g) nos 5 lotes de marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	40
7.Teores de lipídios (g/100g, em base seca) nos 5 lotes de marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	40
8.Teores de fibra neutra (g/100g) nos 5 lotes de marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	41
9.Teores de cinzas (mg/100g) nos 5 lotes de marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	41
10.Teores de vitamina C (mg/100g) nos 5 lotes de marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	42
11.Teores (mg/100g) e perdas (%) nos 5 lotes de marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	42
12.Teores de tanino (mg/100g) nos 5 lotes de marolo (<i>Annona coriaceae</i>).....	43
13.Características dos carotenóides presentes no marolo in natura, na geléia e no licor.....	45
14.Teor de carotenóides totais (µg/g) nos 5 lotes de marolo in natura.....	54

15.Composição de carotenóides na polpa de marolo	
<i>in natura</i>	55
16.Efeito do processamento na composição de carotenóides.....	58
17.Variação na composição de carotenóides durante a	
estocagem da geléia de marolo	61
18.Variação na composição de carotenóides durante a	
estocagem do licor de marolo.....	62
19.Concentração do β -caroteno, antes e depois da separação	
dos isômeros <u>cis</u> , no marolo <i>in natura</i> e na geléia ($\mu\text{g/g}$)	
e no licor ($\mu\text{g/100mL}$).....	64
20.Valor de vitamina A na polpa de marolo <i>in natura</i>	
(RE/100g), e no licor (RE/100mL).....	66
21.Teores de umidade e de lipídios (base seca) na polpa e	
semente de marolo.....	70
22.Determinações físicas e químicas do óleo da semente de	
marolo.....	70
23.Composição química, em ácidos graxos, do óleo da polpa	
e da semente de marolo.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Esquema da biossíntese de carotenóides.....	8
2. Marolo proveniente da região de Alfenas, M. Gerais.....	25
3. Fluxograma do procesamento caseiro da polpa de marolo para produção de geléia e de licor.....	27
4. Fluxograma da obtenção do óleo da semente de marolo em escala semi-piloto.....	28
5. Composição química da polpa de marolo.....	43
6. Esquema da separação dos carotenóides de marolo.....	46
7. Espectro de absorção do α -caroteno e do β -caroteno, em éter de petróleo.....	47
8. Espectro de absorção dos isômeros do β -caroteno, em éter de petróleo.....	48
9. Espectro de absorção do ζ -caroteno e do β -zea-caroteno, em éter de petróleo.....	49
10. Espectro de absorção do ϵ -caroteno e da β -criptoxantina, em éter de petróleo.....	50
11. Espectro de absorção da violaxantina, da luteína e da mutatoxantina, em éter de petróleo.....	51
12. Estrutura dos carotenóides identificados na polpa de marolo <i>in natura</i>	52
13. Teores de carotenóides na polpa de marolo <i>in natura</i>	56
14. Variação nos teores dos principais carotenóides, em função do processamento do marolo.....	59
15. Superestimação dos valores de vitamina A calculados segundo biopotências propostas por DEUEL et alii (1944 e 1945) e por SWEENEY e MARSH (1973).....	67

16.Cromatogramas 1 e 2 referentes à separação dos ácidos graxos do óleo da semente e da polpa do marolo, respectivamente.....	73
17.Comparação entre os teores de ácidos graxos presentes no óleo da semente do marolo e no óleo de amendoim.....	74
18.Comparação entre os teores de ácidos graxos presentes no óleo da polpa do marolo e no óleo de oliva.....	75

RESUMO

O marolo, *Annona coriaceae*, é encontrado em áreas do cerrado brasileiro. Existem 3 variedades popularmente conhecidas como marolo vermelho, amarelo e branco. O amarelo, devido a sua maior disponibilidade e por ser o mais consumido na região, foi o utilizado neste trabalho.

Determinou-se a composição de carotenóides na polpa, licor e geléia caseiros. Devido à falta de dados na literatura, determinou-se a composição centesimal, o teor de vitamina C e de tanino na polpa, e estudou-se a composição e as características físicas e químicas do óleo da semente.

Foram encontrados teores elevados em carboidratos, proteínas, lípides, minerais e fibras, se comparados com a maioria das outras frutas.

Nove carotenóides foram identificados no marolo *in natura*: α -caroteno, β -caroteno, ζ -caroteno, β -zeacaroteno, ϵ -caroteno, β -criptoxantina, violaxantina, luteína e mutatoxantina. O conteúdo médio de carotenóides totais encontrado foi de 8,8 $\mu\text{g/g}$, sendo que o β -caroteno corresponde a 79 % do total.

O processamento da geléia levou a uma perda de 25 % dos carotenóides totais. Observou-se um aumento no teor de mutatoxantina e no teor de isômeros cis do β -caroteno. O processamento do licor comprometeu fortemente o conteúdo dos carotenóides, em função da extração parcial e da degradação destes pigmentos durante o período de infusão.

A estocagem da geléia, por 90 dias à 10°C, teve influência significativa sobre o teor de carotenóides, sendo que no licor exposto à luz, a estocagem por 60 dias à temperatura ambiente também exerceu um efeito significativo.

O valor de vitamina A foi maior na fruta *in natura* e menor na geléia. Os licores não apresentaram um valor significativo devido à diluição e perdas na produção e estocagem.

A semente apresentou 45 % de óleo em base seca. A composição e as características físicas e químicas mostram que é possível produzir um óleo de boa qualidade, com grande potencial para o mercado de óleos finos. Mas a presença de alcalóides precisa ser melhor estudada. A eliminação destes compostos poderia ser experimentada pelo refinamento ou extração por prensagem contínua.

SUMMARY

Marolo, *Annona coriaceae*, is a fruit found in the Brazilian bush. There are three varieties popularly designated as red, yellow and white. The yellow variety was chosen for the present research because of its greater availability and consumption in that region.

The carotenoid composition was determined in the pulp and in home-made liquour and jelly. Because of the lack of data in the literature, the proximate composition, vitamin C and tanin contents of the pulp, and the composition and physico-chemical characteristics of the seed oil were determined.

There were high levels of carbohydrates, protein, lipids, minerals and fiber, in comparison with others fruits.

Nine carotenoids were identified in marolo pulp: α -carotene, β -carotene, ζ -carotene, β -zeacarotene, ϵ -carotene, β -cryptoxanthin, violaxanthin, lutein and mutatoxanthin. The mean total carotenoid content was 8.8 $\mu\text{g/g}$, with β -carotene comprising 79 %.

The jelly processing resulted in a 25 % loss of total carotenoids and an increase in mutatoxanthin and cis-isomers of β -carotene. Liquour processing drastically reduces the carotenoid content, because of partial extration and degradation during the infusion period.

Storage for ninety days at 10°C had a significant influence on the jelly carotenoids, meanwhile in liquour exposed to light, storage for sixty days at roomtemperature, also had a significative effect.

The vitamin A value was higher in the fresh fruit than in the jelly. The liquours did not show a significant value because of dilution and losses during processing and storage.

The seed presented 45 % of oil on dry basis. The composition and phisico-chemical characteristics showed that it is possible to obtain an oil of good quality, with great potencial for the fine oil market. However, the presence of alkaloids needs to be further studied. The elimination of these compounds could be done by refining by extraction in continous press.

1-INTRODUÇÃO

Segundo FERREIRA (1973), o marolo é uma espécie pertencente à família *Annonaceae* que possui cerca de 56 gêneros, sendo 12 deles representados no Brasil. Sua distribuição acompanha a zona tropical. Entre os gêneros encontrados na América do Sul, a *Annona* é representada por algumas espécies frutíferas, como *A. reticulata*, *A. classiflora* (pinha, araticum liso), *A. coriacea* (marolo).

O fruto é de infrutescência baciforme, mágnio, édulo com muitas sementes obovóides, achatadas com 20 a 27mm de comprimento por 10 a 13 mm de largura, de cor parda. A polpa é amarelada, de cheiro forte, e de sabor muito acentuado. Floresce de dezembro a janeiro e frutifica de março a abril (FERREIRA, 1973).

Almeida et alii (1987) argumentam que, embora a planta apresente baixa produção de frutos, estes podem pesar em média até 2 kg com rendimento de polpa em torno de 50%.

O marolo ocorre em áreas do cerrado (Minas Gerais, Goiás e Distrito Federal). Existem três variedades popularmente conhecidas como marolo vermelho, amarelo e branco, que provavelmente estão relacionadas com a composição e o teor de carotenóides. O vermelho encontra-se em extinção no sul do Estado de Minas Gerais, apesar de ser conhecido como o mais saboroso.

Os frutos são consumidos ao natural pela população local e comercializados em feiras e beiras de estrada. É usado também no preparo de sorvetes, refrescos, doces, geléias e licores. No entanto, verifica-se uma queda acentuada na colheita e no consumo destes frutos devido à substituição dos pés da fruta, que são nativos, por grandes culturas que, muitas vezes, constituem latifúndio na região.

CASTRO (1948) avalia as grandes extensões de solo do país que se dedicam a poucos tipos de cultura e afirma que "não deveria ser

permitido que se constituísse em todo o território nacional um tipo uniforme de alimentação". O país é naturalmente constituído por uma enorme variedade de plantas nativas, muitas de excelente qualidade nutricional, que deveriam ser melhor estudadas e ter o cultivo incentivado. No entanto, várias espécies estão sendo destinadas à extinção em função das derrubadas e queimadas.

É verdade que estas plantas nativas geralmente ocupam enormes áreas e têm baixo rendimento. Entretanto o geógrafo BRUNHES (citado por CASTRO, 1948) já dizia que o "antigo poder de seleção e domesticação, que é, sem dúvida, uma das faculdades privilegiadas do engenho humano, parece ter-se esgotado porque, apesar de tantos métodos científicos modernos, o número de novas plantas cultivadas é extremamente pequeno". E uma agricultura que utiliza processos racionais geralmente eleva muito o rendimento e a produtividade com relação à mesma planta em estado selvagem.

Muitas vezes o estudo e cultivo é dirigido apenas para espécies de exportação que geralmente têm mercado certo. Outras vezes mudas e sementes são importadas do exterior. A própria política agrária do país geralmente financia e incentiva culturas que têm condições de garantir um retorno imediato. Quase nada se emprega na promoção e desenvolvimento de novas plantas e, principalmente, naquelas que são naturais do país (ANON, 1975).

Estas plantas nativas ainda são muito apreciadas no interior dos estados e no meio rural. Entretanto, a maior parte da população retrata de forma negativa o que é próprio do país, criando uma série de tabus e preconceitos que tendem a desvalorizar e rejeitar o que é fruto da própria terra. No entanto, um grande número de frutas e verduras nativas do Brasil, até então estudadas, apresentam enorme riqueza nutricional superando, muitas vezes, a qualidade do que vem de fora (ALMEIDA *et alii*, 1987).

Acreditamos que o meio científico pode e deve colaborar no sentido de determinar e avaliar a qualidade nutricional,

tecnológica, agrícola e econômica, estimulando a preservação e, quem sabe, até o cultivo destas espécies. Neste sentido, este trabalho pretendeu fazer alguns estudos preliminares para ajudar a esclarecer a composição e o potencial de utilização do marolo.

Aproximadamente 600 carotenóides são encontrados na natureza, constituindo o maior grupo de corantes naturais. Alguns são capazes de serem convertidos em vitamina A e, como tal, desempenham um importante papel nutricional. Outros, nos últimos anos, têm recebido grande atenção em função de experimentos que associam os pigmentos carotenóides com a redução do risco de câncer, sem que estes sejam primeiro convertidos em vitamina A.

A procura de óleos e gorduras com alta qualidade para fins alimentícios tem sido cada vez maior. Geralmente são muito aromáticos e de excelente paladar. Considerando a composição em ácidos graxos, os monoinsaturados despertam um interesse crescente no desenvolvimento de produtos onde a estabilidade oxidativa e o valor nutricional são preocupações constantes.

O objetivo deste trabalho é a determinação da composição de carotenóides na polpa, na geléia e nos licores caseiros do marolo (*Annona coriaceae*). Devido à falta de dados na literatura, foi feita a determinação da composição centesimal, do teor de vitamina C e de tanino na polpa e um estudo da composição e das características físicas e químicas do óleo da semente.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- Constituição Química de Frutas e Composição de Algumas Frutas Tropicais

As frutas, por estarem formadas por tecidos vivos metabolicamente ativos, mudam constantemente a sua composição com rapidez e intensidade que dependem do seu estado fisiológico e da sua maturação. Considerando-se os detalhes da composição desses alimentos não se deve duvidar da variabilidade inata das estruturas biológicas.

A água é o componente mais abundante das frutas, podendo chegar a representar até 96% do seu peso total. A susceptibilidade que as frutas apresentam para murcharem-se depois de cozidas depende das modificações estruturais que experimentam suas superfícies externas para reduzir as perdas de água (DUCKWORTH, 1968).

A maior parte do extrato seco das frutas é composto por carboidratos, juntamente com quantidades menores de proteínas e gorduras (WHITING, 1970). Existem também, ainda que em menores quantidades, outros compostos orgânicos e uma ampla gama de elementos minerais procedentes do solo. Muitos destes componentes minoritários podem desempenhar um papel de máxima importância sobre as propriedades das frutas - cor, sabor, valor nutritivo - e, em alguns casos, sobre a textura (DUCKWORTH, 1968).

Geralmente os monossacarídeos são mais abundantes nas frutas do que a sacarose, mas em algumas frutas maduras, como por exemplo a banana, o abacaxi e o melão, o teor de sacarose é mais elevado (DUCKWORTH, 1968).

O conteúdo protéico das frutas é muito baixo, sendo que raras vezes supera 1,5% e, em muitos casos, é bastante inferior a 1%. Entretanto estas, proteínas são muito importantes, não apenas como

componentes estruturais do núcleo e do citoplasma, mas também como complemento das enzimas envolvidas durante o crescimento, a maturação e fisiologia pós-colheita (HANSEN, 1970).

Frutas de algumas variedades de plantas (palma, oliva, abacate) acumulam grandes reservas oleaginosas durante o seu desenvolvimento. Portanto, essas frutas têm constituído importantes fontes de óleo para a alimentação. Entretanto, o conteúdo lipídico da maioria das outras frutas é inferior a 1% (MAZLIAK, 1970 e DUCKWORTH, 1968).

As vitaminas e os sais minerais constituem a principal contribuição das frutas à nutrição humana. Os conteúdos vitamínicos e minerais desses produtos apresentam notáveis diferenças não só entre as diversas espécies e variedades, mas também entre lotes diferentes, de uma mesma variedade, cultivados em condições diferentes de meio ambiente.

As frutas, junto com os vegetais, constituem as principais fontes de vitamina C disponíveis. Também várias frutas tais como manga, pitanga e melão são boas fontes de β -caroteno (pró-vitamina A). Muitas contêm quantidades consideráveis de ácido pantotênico e biotina. Ácido nicotínico, ácido fólico, tiamina e riboflavina estão presentes apenas em pequenas quantidades (MAPSON, 1970).

O potássio constitui o elemento mineral mais abundante das frutas, e seu conteúdo pode variar de 60 a 600 mg/100g no produto fresco. Os elementos minerais podem exercer uma influência notável sobre a qualidade das frutas durante o crescimento, podendo influir, também, sobre o comportamento posterior à colheita. O cálcio pode exercer uma influência marcante sobre a textura. Os componentes metálicos influem poderosamente sobre a cor, enquanto traços de metais formam parte de grupos prostéticos das enzimas tissulares que controlam a atividade metabólica de vegetais armazenados, e podem provocar alterações notáveis durante e após diversas manipulações (DUCKWORTH, 1968).

Para fins de comparação a Tabela 1 fornece dados da composição química de algumas frutas tropicais

TABELA 1- Composição química de frutas tropicais (g/100g)

FRUTA	GLÍCIDES	PROTEÍNA	LÍPIDES	FIBRA	*CINZA	**VIT C
Abacate	6,4	1,80	16,00	1,40	----	10
Abacaxi	13,7	0,40	0,20	0,95	0,31	10
Araticum	10,3	0,40	1,60	2,10	0,66	---
Banana maçã	26,4	1,44	0,25	0,60	1,20	13
Caju	8,4	0,80	0,20	----	----	220
Fruta do conde	14,2	2,80	0,00	*1,40	0,82	28
Goiaba branca	12,0	1,09	0,56	*6,10	0,54	80
Graviola	14,9	1,10	0,40	*1,20	0,85	26
Mamão	14,5	0,20	1,00	*1,60	0,65	21
Manga	0,4	0,40	0,30	*3,55	0,47	43
Melancia	6,9	0,50	0,20	*0,35	0,27	9

REF. FRANCO (1992)

*DUCKWORTH (1968)

**mg/100g

2.2- Carotenóides em Alimentos

2.2.1- Alguns Aspectos sobre a Biossíntese e a Composição Química

Aproximadamente 600 carotenóides são encontrados na natureza, constituindo o maior grupo de corantes naturais. Nas plantas superiores e em alguns protistas, são sintetizados a partir da acetil coenzima A por uma série de reações de condensação bem definidas, entretanto, os animais os ingerem na dieta e modificam as suas estruturas, de acordo com suas necessidades.

Os carotenóides são constituídos por uma classe de hidrocarbonetos (carotenos) e seus derivados (xantofilas). A estrutura básica reflete sua forma de biossíntese, cujo esquema proposto por BAUERNFEIND (1972) pode ser visto na Figura 1. Consiste de oito unidades isopreno unidas de tal modo que os dois grupos metil laterais mais próximos ao centro da molécula estão nas posições 1,6, enquanto os outros estão nas posições 1,5. Uma série de duplas ligações conjugadas constitui o cromóforo característico. O primeiro carotenóide C-40 é o fitoeno que pode ser desidrogenado para formar outros carotenóides acíclicos e depois ciclizado para formar os carotenos. Os carotenos cíclicos podem ser oxidados, originando os derivados hidroxilados e epóxidos, convertidos para os derivados alênicos e menos saturados, ou clivados oxidativamente para produtos de menor peso molecular (OLSON, 1988).

A vitamina A é formada a partir deste último procedimento. Nenhum outro percurso para se chegar à vitamina A é conhecido, exceto via clivagem oxidativa dos carotenóides (OLSON, 1988). A vitamina A é formada primariamente no reino animal, embora alguns microorganismos também possam produzi-la.

Os carotenóides que ocorrem naturalmente podem estar presentes na forma livre, dissolvidos em gotículas de lipídios ou como complexos, e esterificados com proteínas e lipoproteínas. Sabe-se que os carotenóides de frutas estão esterificados nos

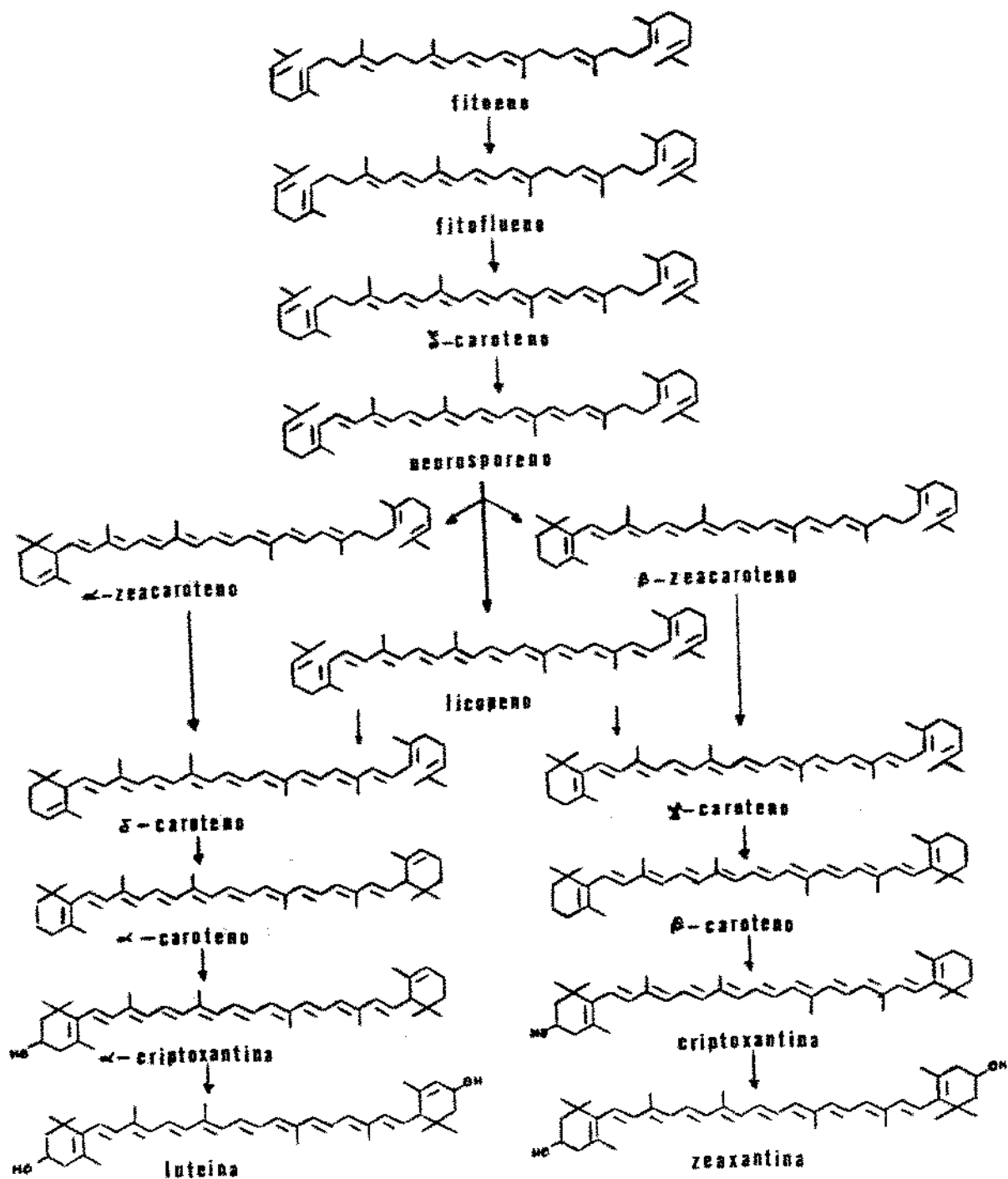


FIGURA 1- Esquema da biossíntese de carotenóides.

ácidos graxos (GOODWIN, 1976).

2.2.2- Importância Química dos Carotenóides nos Alimentos

• Capacidade de Conferir Cor aos Produtos Alimentícios

Os carotenóides são corantes naturais de frutas, verduras, raízes, aves, certos peixes, crustáceos e alguns microorganismos. Este efeito é resultado de pelo menos 7 duplas ligações conjugadas. O incremento destas insaturações está relacionado com o aumento da tonalidade e intensidade da cor. Assim, a coloração de um alimento pode variar desde o amarelo pálido, como no abacaxi, até o vermelho forte como no tomate, em consequência da presença natural ou intencionalmente adicionada destes pigmentos. No comércio são encontrados extratos naturais de carotenóides como bixina (urucum), capsantina e capsorubina (páprica) e crocina (açafrão) (GROSS, 1987, GOODWIN, 1976).

• Como Precursores de Compostos Aromáticos

Alguns compostos voláteis produzidos durante o tratamento térmico têm sido identificados após a degradação térmica de soluções de β -caroteno, ou após o aquecimento de produtos vegetais. Compostos tais como β -ionona, damascenona e diidroactinidiolida, presentes no chá, tabaco, uva e manga são considerados produtos de degradação do β -caroteno (KANASAWUD & CROUZET, 1990).

• Efeito Protetor na Oxidação de Lipídios

Segundo BURTON (1989), KRINSKY (1989a) e DI MASCIO *et alii* (1991) os carotenóides exercem um efeito protetor sobre os óleos e gorduras, embora sejam destruídos no processo. Essa ação se deve à oxidação preferencial dos carotenóides, ou seja, estes oxidam-se mais rapidamente que os ácidos graxos. A atividade antioxidante aumenta com o aumento do número de duplas ligações. O efeito antioxidante tem sido claramente demonstrado com 20%, sendo mais

pronunciado a 2% de oxigênio . Em pressões mais elevadas de oxigênio, o β -caroteno funciona como pró-oxidante.

• Função Nutricional como Precursores de Vitamina A

Alguns carotenóides são capazes de serem convertidos em vitamina A e, como tal, desempenham um importante papel nutricional. Esta função adquire maior importância nos países do terceiro mundo, onde a vitamina A pré-formada é raramente ingerida, principalmente por crianças, e os alimentos ricos em carotenóides constituem, assim, as principais fontes de vitamina A (OLSON, 1989).

RONCADA et alii (1981), num inquérito alimentar em comunidades do Estado de São Paulo, mostrou um consumo muito baixo de alimentos fontes de vitamina A, tanto de origem animal quanto vegetal.

Segundo MARIATH et alii (1989) o fruto do buriti, uma palma nativa em algumas regiões do Brasil, contém β -caroteno em sua fração oleosa em concentração 10 vezes maior que o óleo do dendê. Verificou-se que essa fonte natural de vitamina A pode reverter quadros clínicos de xerofthalmia e restaurar reservas da vitamina no fígado, sugerindo sua possível utilização em programas de intervenção no combate à deficiência de vitamina A, em países onde a fruta é disponível ou tem potencial para desenvolver o cultivo.

Embora existam aproximadamente 600 carotenóides na natureza, apenas 10% deste total é convertido para a forma vitamínica nos mamíferos. Para isto, é condição que o carotenóide possua pelo menos um anel β -ionona não substituído com uma cadeia lateral poliênica de pelo menos 11 átomos de carbono (RODRIGUEZ-AMAYA, 1985). Assim, modificações na molécula reduzem a atividade provitamínica. O β -caroteno, que possui 2 anéis β -ionona não substituídos e uma cadeia lateral de 22 átomos de carbono, possui atividade máxima. O α -caroteno, que possui uma dupla ligação não conjugada, e a β -criptoxantina, que contém uma hidroxila em um dos anéis, têm suas atividades reduzidas. Outros carotenóides como a

luteína e o licopeno não possuem nenhuma atividade vitamínica.

A isomeria também é um fator influente na conversão dos carotenóides. DEUEL et alii (1945) avaliaram a atividade biológica de isômeros, utilizando como critério o crescimento de ratos. No trabalho de Sweeney e Marsh (1973), o critério de avaliação utilizado foi o armazenamento da vitamina A no fígado de ratos. Embora tenham encontrado diferentes valores para as biopotências dos isômeros, ambos concluíram que os isômeros cis possuem menor atividade vitamínica em relação ao todo trans.

Dos dois caminhos sugeridos para a clivagem dos carotenóides, a clivagem oxidativa central do β -caroteno é catalizada pela β -carotenóide-15,15-dioxigenase encontrada na mucosa do intestino delgado e em outros órgãos de várias espécies, incluindo humanos. A atividade máxima da enzima intestinal é suficiente para suprir amplamente as necessidades nutricionais, mas não é rápida o suficiente para induzir a hipervitaminose A. A clivagem escalonada da pró-vitamina, a partir de um dos lados da molécula, inquestionavelmente ocorre em plantas e microorganismos, podendo também ocorrer em mamíferos (OLSON, 1988).

Desta forma, a maior parte dos carotenóides é convertida em retinal na mucosa intestinal. Alguns fatores como a presença de sais biliares, lipases e a digestibilidade inerente aos vários tipos de alimentos, vão influenciar na absorção.

Na corrente sangüínea, a vitamina A é transportada com os lipídios na forma de quilomicrons e de lipoproteínas na linfa. Aproximadamente 90% da vitamina A do corpo é armazenada no fígado. A mobilização do retinol do fígado depende das proteínas dietéticas adequadas, pois ele deve ligar-se à proteína transportadora de retinol (RBP) para ser transportado pelo sangue (KRAUSE & MAHAN, 1985).

A vitamina A como tal é essencial para a integridade da visão noturna, sendo um componente do pigmento visual (rodopsina) da retina, imprescindível para uma visão normal em presença de pouca

luminosidade. É necessária para o crescimento e o desenvolvimento do esqueleto e das partes moles, devido a seus efeitos na síntese protéica e na diferenciação das células ósseas. Também é essencial para a diferenciação das células basais em células epiteliais secretoras de muco.

A deficiência de vitamina A é acompanhada da queratinização das membranas mucosas que revestem o trato respiratório, o trato alimentar e o trato urinário, e pela queratinização da pele do corpo e do epitélio do olho, o que dificulta a função de barreira protetora executada por essas membranas na proteção contra infecções. A queratinização relacionada ao olho é conhecida como xeroftalmia, que é a principal causa de cegueira em países em desenvolvimento.

Apesar do papel da vitamina A não ser bem claro na reprodução, pode haver um envolvimento na síntese de hormônios esteróides ou um papel mais básico na diferenciação celular.

• Efeito Biológico como Agente Preventivo de Câncer

Nos últimos anos, grande atenção tem sido dirigida aos experimentos que associam os pigmentos carotenóides com a redução do risco de câncer, sem que estes sejam primeiramente convertidos em vitamina A. A ausência de toxicidade nos carotenóides (em contraste com a toxicidade do retinóide), que persiste mesmo em maiores dosagens, foram devidamente averiguadas (MATHEUS-ROTH *et alii*, 1977; SANTAMARIA & BIANCHI, 1989 e KRINSKY, 1991).

O β -caroteno em sua estrutura original funciona como antioxidante e tem capacidade de proteger membranas, DNA, e outros constituintes celulares contra danos oxidativos (ZIEGLER, 1991). Outros pigmentos sem atividade vitamínica mostraram-se eficazes em produzir um retardamento estatisticamente significativo no surgimento de tumores de pele induzido por radiação Ultra-violeta-B ou por uma combinação de carcinogênicos químicos e luz ultra violeta (SANTAMARIA & BIANCHI, 1989). A baixa ingestão

de vegetais, frutas e carotenóides são consistentemente associadas com o aumento do risco de câncer no pulmão (ZIEGLER, 1991), e com o aumento de vários outros tipos de câncer (STAHELIN et alii, 1991).

O mecanismo de ação parece refletir a habilidade destes compostos em inativar moléculas no estado excitado, de reagir com radical livre e de capturar oxigênio no estado singlete (KRINSKY, 1991 e KRINSKY, 1989b).

O licopeno mostrou ser o carotenóide com maior capacidade sequestrante, o dobro da capacidade em relação ao β -caroteno. Uma comparação entre as estruturas do licopeno, γ -caroteno e β -caroteno revelou que a abertura do anel β -ionona aumenta a habilidade sequestrante. A substituição dos dois anéis ionona por um carboxilato e por um grupo éster metílico (bixina), a redução das duplas ligações conjugadas (crocina), ou a adição de um grupo químico sobre o anel β -ionona (xantofilas) também modularam a capacidade sequestrante, sugerindo que as propriedades dos carotenóides residem não apenas sobre o comprimento do sistema conjugado de duplas ligações, mas também sobre os grupos funcionais (DI MASCIO et alii 1989 e 1991)

Estas associações dos vários tipos de pigmentos carotenóides com diferentes atividades biológicas, considerando ainda que nem todos possuem a mesma potência, torna cada vez mais interessante a determinação de todos os tipos de carotenóides nos alimentos, e não apenas daqueles que possuem atividade vitamínica.

2.2.3- Carotenóides de Algumas Frutas Tropicais

Dezesseis diferentes tipos de carotenóides foram identificados na polpa da manga, variedade Alfonso, na Índia. O β -caroteno perfaz 60% dos carotenóides totais (JUNGALAWLA & CAMA, 1963). JACOB et alii (1970) verificaram que a variedade Badami contém quase os mesmos tipos de carotenóides que a variedade Alfonso. Na manga parcialmente madura os carotenos constituem a maior parte (85%) dos carotenóides totais.

GODOY e RODRIGUEZ-AMAYA (1989) determinaram a composição de cinco cultivares de manga extensivamente comercializadas no Estado de São Paulo. Embora algumas variações qualitativas negligenciáveis tenham sido percebidas, a maior diferença entre cultivares residiu na composição quantitativa. O β -caroteno consistentemente foi o principal carotenóide respondendo por 48-84% do total de pigmentos. Os epóxi-carotenóides violaxantina, luteoxantina e mutatoxantina juntos, somaram 13-49%. Outros carotenóides detectados foram o ζ -caroteno, o mutatocromo, a α -criptoxantina e a auroxantina. O Cultivar Extrema teve o mais elevado conteúdo de β -caroteno e carotenóides totais (2545 e 3045 $\mu\text{g}/100\text{g}$, respectivamente). O cultivar Haden forneceu o menor teor (661 e 1387 $\mu\text{g}/100\text{g}$, respectivamente). Derivada quase exclusivamente do β -caroteno, o valor de vitamina A seguiu a tendência do β -caroteno. Assim, o valor médio de vitamina A variou entre 115,3 e 430,5 RE/100g, onde as mangas Haden e Extrema preservaram o menor e maior valor, respectivamente.

CAVALCANTE (1991) determinou os carotenóides de pitangas provenientes do Estado de Pernambuco, concluindo que esta figura entre as frutas que possuem maior teor de carotenóides totais (226 $\mu\text{g}/\text{g}$). O licopeno é o principal carotenóide (73,0 $\mu\text{g}/\text{g}$), representando 32% dos carotenóides totais. O γ -caroteno (52,7 $\mu\text{g}/\text{g}$), a β -criptoxantina (47,0 $\mu\text{g}/\text{g}$) e o β -caroteno (9,5 $\mu\text{g}/\text{g}$) aparecem em quantidades apreciáveis, elevando o valor de vitamina A desta fruta (991 RE/100g).

KIMURA et alii (1991) detectaram diferenças qualitativas e quantitativas na composição dos carotenóides dos quatro cultivares de mamão mais comercializados no Estado de São Paulo. A criptoxantina predominou no cultivar Comum (8,1 $\mu\text{g}/\text{g}$), e o licopeno foi o principal pigmento dos cultivares Solo, Formosa e Tailândia (21,0; 22,8 e 40,0 $\mu\text{g}/\text{g}$, respectivamente). Não foram observados efeitos geográficos qualitativos significativos entre as frutas Formosa originárias de dois estados de climas diferentes. Em comparação com as frutas de São Paulo, as provenientes da Bahia apresentaram maior teor de β -caroteno (1,4

vs 6,1 $\mu\text{g/g}$), β -criptoxantina (5,3 vs 8,6 $\mu\text{g/g}$) e licopeno (19,1 vs 26,5 $\mu\text{g/g}$). O valor de vitamina A não foi muito influenciado pelas diferenças no teor de carotenóides entre os cultivares visto que a principal variação quantitativa recaiu sobre o licopeno, que é inativo. Os efeitos geográficos foram mais acentuados visto que o valor mais baixo (98,8 RE/100g) e o mais alto (193,4 RE/100g) foram fornecidos pelos cultivares Formosa de São Paulo e Bahia, respectivamente.

PADULA e RODRIGUEZ-AMAYA (1986) determinaram os carotenóides da goiaba cultivar IAC-4 do Estado de São Paulo. O principal pigmento encontrado foi o licopeno, correspondendo a 86% do teor de carotenóides totais (62 $\mu\text{g/g}$). O β -caroteno esteve presente na concentração de 3,7 $\mu\text{g/g}$; conseqüentemente o valor de vitamina A foi relativamente baixo (617 UI/100g). Outros carotenóides identificados foram o ζ -caroteno, o γ -caroteno, a zeinoxantina, o 5,6,5',6'-diepóxi- β -caroteno e o 5,8-epóxi-3,3',4-trihidroxi- β -caroteno. Os mesmos carotenóides foram encontrados nas goiabas dos Estados de Ceará e Pernambuco. Enquanto o teor de licopeno das frutas do nordeste foi igual ou menor que o encontrado nas goiabas IAC-4, o teor de β -caroteno (5,5 $\mu\text{g/g}$) foi mais alto, conduzindo a um maior valor de vitamina A (917-1983 UI/100g).

Segundo CAVALCANTE (1991) o β -caroteno foi o principal carotenóide encontrado na acerola, ultrapassando 90% do teor de carotenóides totais. Os teores de β -caroteno encontrados nas frutas provenientes do Estado de Pernambuco (25,8 $\mu\text{g/g}$) e Ceará (21,5 $\mu\text{g/g}$) foram significativamente mais elevados em relação ao teor dos frutas provenientes do Estado de São Paulo (4,5 $\mu\text{g/g}$).

CECCHI e RODRIGUEZ-AMAYA (1981) determinaram a composição dos carotenóides dos cajus vermelho e amarelo. Apesar da cor viva das frutas, o teor de carotenóides foi baixo. α -caroteno, β -caroteno, ζ -caroteno, cis- β -caroteno, criptoxantina, aurocromo, criptocromo e auroxantina foram identificados em todas amostras. O β -caroteno foi o pigmento predominante, variando entre 0,1 e 0,6 $\mu\text{g/g}$ nos vários lotes. A composição quantitativa de frutas do mesmo tipo de diferentes Estados foram similares. O valor de

vitamina A variou entre 37,7 e 107,5 $\mu\text{g}/100\text{g}$.

RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA (1981) determinaram a composição de carotenóides e o valor de vitamina A de cajá proveniente do Estado de Pernambuco. A polpa com casca apresentou 25,8 $\mu\text{g}/\text{g}$ de carotenóides totais, sendo 64% constituído de β -criptoxantina. O teor total na polpa foi de 17,3 $\mu\text{g}/\text{g}$, sendo que as concentrações de α -caroteno, β -caroteno e luteína foram moderadamente mais altas e a concentração da β -criptoxantina foi aproximadamente 50% menor que a encontrada na casca e polpa juntas. A β -criptoxantina foi a que mais contribuiu no valor de vitamina A, perfazendo 74% do total na polpa e casca. Com a polpa fornecendo um valor de 135,0 RE/100g e a polpa com casca 187,3 RE/100g, o cajá situa-se entre as boas fontes de pró-vitamina A.

TAVARES (1991) encontrou 13,2 $\mu\text{g}/\text{g}$ de carotenóides totais em pêssegos adquiridos em feiras-livres e supermercados de Campinas. A β -criptoxantina (6,4 $\mu\text{g}/\text{g}$) constituiu o principal carotenóide. A luteína (3,8 $\mu\text{g}/\text{g}$), a zeaxantina (1,5 $\mu\text{g}/\text{g}$) e o β -caroteno (1,1 $\mu\text{g}/\text{g}$) também foram encontrados, além de outros em menores quantidades. O valor de vitamina A variou entre 67 e 125 RE/100g.

STEWART (1977) determinou o teor de carotenóides e pró-vitamina A em sucos cítricos da Flórida. O isômero β da criptoxantina foi a principal fonte de pró-vitamina A encontrada nos sucos. Os sucos de cultivares de laranjas doces apresentaram os menores teores de carotenóides pró-vitamina A. Os teores de α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina variaram, respectivamente, entre 2,4 e 11,0 $\mu\text{g}/100\text{mL}$; 5,7 e 237,5 $\mu\text{g}/100\text{mL}$ e 34,6 e 1466 $\mu\text{g}/100\text{g}$ para os sete cultivares analisados. O cultivar Hamlin apresentou o menor valor de vitamina A (80 UI) e o cultivar Murcott o maior valor (3195 UI).

GROSS (1982) observou as alterações dos carotenóides de tangerinas de Israel por um intervalo de duas semanas, durante o período de maturação. Os carotenóides foram qualitativamente semelhantes entre as frutas não maduras e maduras. O teor de carotenóides aumentou de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de suco para 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ na fruta

madura. O processo de amadurecimento envolveu um aumento da criptoxantina que acumulou até um teor de 40%, conferindo uma intensa coloração laranja à fruta fresca. Outros pigmentos presentes na fruta não madura tiveram as suas concentrações reduzidas pela maturação: a violaxantina de 38% para 7%, anteroxantina de 30% para 15%, a luteína e zeaxantina aumentaram no início de 8% para 16%, e reduziram para 10% na fruta madura.

PHILIP e TUNG-SAN (1988) encontraram 43 $\mu\text{g/g}$ de carotenóides totais em caquis na Califórnia. Os principais carotenóides foram a β -criptoxantina, a zeaxantina e o β -caroteno. BROSSARD e MACKINNEY (1963) também encontraram a criptoxantina como principal carotenóide, cuja concentração variou entre 30-35% do teor total. O licopeno também foi encontrado em quantidades significativas, variando de 0 a 30% do total. As variedades que apresentaram menor teor de licopeno tiveram um aumento significativo das frações mono- e di-epóxi diol.

MORGAN (1967), na Austrália, isolou 21 pigmentos da melancia em um teor total de carotenóides correspondente a 24,6 mg/kg. O licopeno e seus isômeros foram os principais constituintes (73,7 e 7,6%, respectivamente)

Os carotenóides totais do melão, determinados na Califórnia (CURL, 1961), consistiram predominantemente de β -caroteno (84,7% em um teor total de 20,2 mg/kg).

GROSS et alii (1973) identificaram os carotenóides da polpa do abacate em Israel. A luteína foi o principal constituinte correspondendo a 25% do teor total (10-14 $\mu\text{g/g}$). O β -caroteno apresentou um teor de 4,0%.

2.2.4- Estabilidade dos Carotenóides Durante o Processamento e estocagem dos Alimentos

A importância dos carotenóides como corantes, o seu potencial vitamínico e a possível associação destes compostos com o processo e o progresso de carcinogênese têm despertado grande interesse

na química e estabilidade dos carotenóides em alimentos. As condições de processamento e estocagem podem afetá-los, comprometendo a cor, o *flavour* e o valor nutritivo do produto (RAMAKRISHNAN & FRANCIS, 1979; PESEK & WARTHESEN, 1987 e 1988).

A maior razão de perda dos carotenóides é a oxidação. Embora o mecanismo não esteja completamente estabelecido, parece que ocorre de maneira similar à autooxidação dos lipídios (BURTON, 1989 e GOLDMAN *et alii*, 1983). Muitos fatores tais como estrutura dos carotenóides, disponibilidade de oxigênio, temperatura de processamento e estocagem, exposição à luz, tipo de matriz, disponibilidade de água e presença de antioxidantes e/ou pró-oxidantes podem influenciar neste processo.

GORTINEZ e SINGLETON (1966) observaram que a ruptura das estruturas celulares durante a manipulação, e o efeito da temperatura durante o enlatamento e congelamento, incrementam o teor de isômeros dos pigmentos do abacaxi.

A susceptibilidade dos diferentes carotenóides à degradação durante o processamento térmico e estocagem de dois cultivares de manga foi verificado por GODOY e RODRIGUEZ-AMAYA (1987). A composição dos carotenóides foi praticamente mantida após o processamento de manga em fatias (cultivar Tommy Atkins). Transformações mais evidentes ocorreram pelo processamento da manga tipo purê (cultivar Golden). O β -caroteno, principal pigmento, sofreu uma perda de 13%, resultando em uma correspondente redução do valor de vitamina A. Auroxantina, não encontrada na fruta fresca, apareceu no produto processado, enquanto a violaxantina e luteoxantina sofreram redução.

Durante a estocagem da manga em fatias enlatada, nenhuma perda apreciável de β -caroteno foi observada durante 10 meses. Entre o décimo e o décimo quarto mês houve uma redução de cerca de 50% de β -caroteno. A degradação continuou, resultando em uma perda de 84% após 24 meses. Foi observada tendência de acréscimo da auroxantina e redução da violaxantina durante a estocagem. O β -caroteno mostrou maior susceptibilidade de degradação para o

purê de manga em vidro (18% no décimo mês) que para o enlatado. Da mesma forma que a manga em fatias, todavia, os purês contidos em vidros e em latas acusaram perdas de 50% de β -caroteno após 10 meses, e perdas de 83% após 24 meses. A violaxantina e a luteoxantina, diminuíram enquanto a auroxantina manteve um nível comparativamente alto durante a estocagem. O valor de vitamina A refletiu a tendência de degradação do β -caroteno.

PADULA e RODRIGUEZ-AMAYA (1987) acompanharam a degradação dos diferentes carotenóides pelo processamento térmico do suco de goiaba. Um aumento significativo de 5 vezes no teor de cis-licopeno e um ligeiro decréscimo de trans-licopeno foi observado após o processamento. O baixo teor de β -caroteno (3,7 $\mu\text{g/g}$) permaneceu inalterado, portanto o valor de vitamina A também foi mantido. Nenhum isômero do β -caroteno e da zeinoxantina foram encontrados, mas seus epóxidos foram detectados.

CECCHI e RODRIGUEZ-AMAYA (1981) verificaram uma perda no teor de carotenóides de suco de caju em decorrência do processamento térmico. As concentrações médias de β -caroteno e criptoxantina foram menores, enquanto que o nível de epóxidos foi maior no suco pasteurizado.

Segundo CAVALCANTE (1991) houve uma redução substancial no teor dos principais carotenóides da pitanga após o processamento do suco. O teor de licopeno caiu de 57,4 para 22,1 $\mu\text{g/g}$. O γ -caroteno e a β -criptoxantina sofreram redução de 40,3-8,2 $\mu\text{g/g}$ e de 35,8-9,4 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. Os isômeros cis do γ -caroteno e da β -criptoxantina, cujas presenças não foram observadas na fruta *in natura*, foram encontrados no suco.

Durante a estocagem do suco de pitanga houve uma redução significativa do licopeno durante os três primeiros meses, e um aumento do cis licopeno entre o terceiro e quarto mês. A β -criptoxantina, o γ -caroteno e a rubixantina tiveram os teores reduzidos durante os dois primeiros meses de estocagem, mantendo, a partir de então, teores sem alteração significativa.

TAVARES (1991) verificou que, comparado com o pêssego *in natura*, as diferenças detectadas na composição qualitativa de carotenóides de suco de pêssego (em vidro) foram o aparecimento da auroxantina e o desaparecimento da violaxantina. Houve uma redução no teor total de 13,2 para 5,7 $\mu\text{g/g}$, sendo que a β -criptoxantina foi o carotenóide mais comprometido. Houve um aumento no teor do isômero *cis* de β -caroteno. No caso do pêssego em calda (enlatado) a violaxantina também foi afetada, porém a luteoxantina apareceu no lugar da auroxantina. As perdas quantitativas de carotenóides no doce foram um pouco menores, quando comparadas com o suco. Os valores de vitamina A foram de 34 RE/100g e 45 RE/100g para o suco e o doce, respectivamente.

ARIMA (1987) avaliou a perda de carotenóides durante o processamento caseiro de curcubitáceas brasileiras. Os tratamentos térmicos reduziram os teores de carotenóides totais e os valores de vitamina A das curcubitáceas. O cozimento em água apresentou a menor redução, seguido do refogar e finalmente do doce caseiro. A isomerização, a epoxidação e a hidroxilação foram as mudanças iniciais mais aparentes na degradação dos carotenóides com o tratamento térmico.

O doce caseiro da *Curcubita maxima* foi preparado em fogo reduzido com adição de açúcar, e concentração até formar uma pasta consistente. O β -caroteno sofreu altas reduções variando entre 30,9 e 66,0%, em 3 determinações pareadas. A luteína foi reduzida em duas amostras de 15,1 e 3,5 $\mu\text{g/g}$ para 7,2 $\mu\text{g/g}$ e quantidade não quantificável, respectivamente. Na terceira amostra, entretanto, passou de uma quantidade de traços para 3,3 $\mu\text{g/g}$. Nesta amostra, porém, a *cis* luteína estava presente em quantidade considerável. Houve desaparecimento da violaxantina e a flavoxantina, ausente nas amostras *in natura*, foi detectada em baixo teor.

2.3-Óleos em Alimentos

2.3.1- O Papel Dietético dos Óleos e das gorduras

A procura de óleos com alta qualidade para fins alimentícios tem sido cada vez maior. Geralmente são muito aromáticos e de excelente paladar. Possuem custo elevado que pode ser compensado pelo menor consumo, ou seja, se o óleo é de alta qualidade, pequenas quantidades serão suficientes para conferir aroma e sabor no preparo dos pratos (Anon, 1991).

As recentes pesquisas de óleos e gorduras têm sido centralizadas sobre a determinação do papel de ácidos graxos específicos na nutrição e saúde humana. Muito tem-se discutido sobre o valor nutricional do incremento de gorduras monoinsaturadas versus polinsaturadas na dieta.

Certas gorduras polinsaturadas funcionam como ácidos graxos essenciais, atuando como precursores na formação de moléculas biologicamente ativas tais como as prostaglandinas, tromboxanas e leucotrienos. Entretanto, historicamente, os monoinsaturados não têm sido associados com uma função fisiológica específica e têm sido considerados fisiologicamente neutros. Todavia, é conhecido o seu papel suplementar na via metabólica de ácidos graxos nos processos de algumas doenças (Anon, 1992).

Particularmente interessante é a evidência recente de que a oxidação pode ter um papel na iniciação de doenças coronárias. Óleos com altos teores de ácidos graxos polinsaturados oxidam-se mais rapidamente que aqueles com ácidos graxos predominantemente monoinsaturados ou saturados. Se apenas este critério fosse considerado, deveria ser oportuno consumir óleos altamente saturados tais como gordura de vaca ou óleo de coco. Entretanto as gorduras saturadas são conhecidas por elevar o nível sérico de colesterol e devem ser usadas escassamente. Portanto, nas várias aplicações, um equilíbrio exato entre estabilidade e valor nutricional é crítico.

Os monoinsaturados despertam, então, um interesse no desenvolvimento de produtos onde a estabilidade oxidativa e o valor nutricional são preocupações importantes (Anon, 1989).

2.3.2- Composição de Alguns Óleos Vegetais

A canola, cultivada principalmente no Canadá, tem sido muito solicitada devido ao seu baixo conteúdo em gorduras saturadas, e não em decorrência do teor de monoinsaturados em si, sendo que, com apenas 6% de saturados, possui o menor teor entre os óleos disponíveis. Com 58% de monoinsaturados o conteúdo do óleo de canola é consideravelmente mais alto em ácido oléico (60%) do que outros óleos vegetais comuns. Possui 10% de ácido linolênico e 20% de ácido linoléico (MAG, 1983)

Cultivada principalmente na Europa e Itália, a oliva produz um dos óleos mais antigos e de excelente qualidade. O principal ácido graxo que o compõe é o ácido oléico, representando 73% do óleo da Itália. Possui ainda ácido palmítico (12%), linoléico (9,3%), palmitoléico (7,0%), esteárico (2,8%) e linolênico (0,8%), (GUNSTONE et alii, 1986).

O óleo de amendoim, um dos cinco mais importantes óleos comestíveis vegetais, possui excelente estabilidade oxidativa e é preferido, em alguns casos, devido ao seu *flavour*. Possui 53,5% de ácido oléico, 29% de linoléico e 11% de palmítico, além de outros em menores quantidades (GUNSTONE et alii, 1986).

MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA (1986) avaliaram a composição do óleo de soja e milho, dentre outros, na região de Campinas. As médias de ácido linoléico, ácido graxo predominante no óleo de soja, variou entre 53,1 e 56,7% e de ácido oléico entre 19,8 e 21,2%. Foram encontrados ainda os ácidos palmítico, linolênico, esteárico e mirístico em menores quantidades.

O óleo de milho apresentou médias variando entre 46,4 e

46,5%, e 32,8 e 34,1% para os ácidos linoléico e oléico, respectivamente, e menores quantidades de palmítico, esteárico, linolênico, araquídico e palmitoléico.

A composição química do óleo de buriti, assim como outros óleos tropicais, exibe uma estreita correlação com o óleo de oliva, sobretudo quanto à riqueza em ácido oléico (79,2%). Possui ainda o ácido palmítico (16,3%) e outros em menores quantidades. Entretanto, o baixo rendimento oleífero do fruto, que não ultrapassa 4% sobre o peso da drupa fresca, e a excessiva umidade da polpa tornam muito pouco atrativa a sua exploração industrial (CETEC, citado por MIC-SIT, 1985).

A extração do óleo de piqui ainda é conduzida apenas de forma artesanal, principalmente nas regiões de maior concentração da espécie no norte do Estado de Minas Gerais (MIC-SIT, 1985). A presença acentuada de carotenóides confere cor amarelo forte ao óleo. A polpa do piqui contém 62% de óleo enquanto a amêndoa apresenta 54,8% (base seca). Os principais ácidos graxos encontrados na polpa e na amêndoa, respectivamente, são o oléico com 57% e 56% e o palmítico com 34% e 32%.

NGIEFU et alii (1976) fizeram um estudo do óleo de algumas plantas do Zaire. A semente de algumas variedades do gênero *Annona* foram incluídas e despertaram grande interesse do ponto de vista alimentar. Entretanto, foi observada a presença de certos compostos, provavelmente tóxicos que, segundo os autores, deveriam ser eliminados pelo refinamento.

A semente da *Annona mannii* apresentou apenas 8% de óleo, sendo os principais ácidos graxos representados pelo linoléico (61,7%) e oléico (28,5%).

O teor de óleo encontrado na semente da *Annona muricata* (graviola) foi de 25%. Deste total, os ácidos oléico (38,7%), linoléico (33,4%), palmítico (19,7%) e esteárico (4,8%) foram os principais representantes.

A semente da *Annona senegalensis* (araticum da arêa) apresentou 28% de óleo. Foram encontrados 45,2% de ácido oléico, 27,6% de linoléico, 17,4% de palmítico e 4,7% de esteárico.

Nenhum trabalho foi encontrado com respeito ao óleo da *Annona coriacea*.

A Tabela 2 mostra os resultados de análises físicas e químicas de alguns óleos.

TABELA 2- Análises físicas e químicas do óleo de oliva, amendoim, graviola e araticum da arêa.

TIPO DE ANÁLISE	OLIVA ¹	AMENDOIM ¹	SEMENTE DA	
			GRAVIOLA ²	ARAT. DA ARÊA ²
-Densidade (g/cm ³)	0,916	0,913	—	—
-Índice de refração (25°C)	1,463	1,467	—	—
-Índice de saponificação	192	190	193	192
-Índice de iodo	93	85	97	96
-Conteúdo (%)	44	—	25	28

1- Fonte: Valores médios segundo GUNSTONE, 1986.

2- Fonte: NGIEFU et alii (1976).

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Amostragem e Preparo das Amostras

As sementes (safra de 1991) e as frutas (safra de 1992, Figura 2) de marolo, *Annona coriacea*, são provenientes da região de Alfenas, sul de Minas Gerais . As frutas *in natura* foram obtidas em feiras livres e mercados locais. As sementes foram obtidas em confeitarias e sorveterias onde, após o aproveitamento da polpa, são descartadas. A amostragem foi feita de maneira aleatória nos pontos de venda, em quantidades variáveis.



FIGURA 2- Marolo proveniente da região de Alfenas, M.Gerais.

As amostras de polpa *in natura* foram analisadas em 5 lotes, sendo cada lote composto por quatro frutas maduras e bem formadas. A polpa foi separada manualmente da semente e da casca e, em seguida, homogeneizada em multiprocessador. Deste homogeneizado foram retiradas as quantidades necessárias para as várias análises

químicas. Para cada determinação de carotenóides foram usadas 60 g de amostra *in natura*.

O preparo, tipo caseiro, da geléia e do licor foi feito conforme costumes regionais característicos (ALMEIDA, 1987). O fluxograma, exposto na Figura 3, mostra o preparo de ambos em laboratório.

A geléia foi preparada pela adição de açúcar e de água na polpa, seguida de fervura em fogo brando durante 30 minutos. As determinações de carotenóides foram feitas logo após o processamento e em intervalos de 45 e 90 dias, após a estocagem da geléia a 10°C (a estocagem em baixa temperatura visou a conservação do produto, uma vez que este, reproduzindo o preparo caseiro, não sofreu adição de conservadores). Foram utilizadas 85g de amostra para cada determinação de carotenóides.

Os licores foram preparados após um período de infusão da polpa em álcool de cereais. Um dos infusos foi colocado em frasco transparente com exposição à luz, o outro em frasco âmbar ao abrigo da luz. Uma calda de açúcar foi adicionada em ambos extratos alcóolicos dando origem ao licor 1 (preparado sem proteção da luz) e licor 2 (com proteção da luz). A determinação de carotenóides foi feita após o processamento, e após a estocagem por 60 dias, à temperatura ambiente. Foram utilizados 750 mL de licor para cada determinação de carotenóides.

Aproximadamente 2 kg de sementes de marolo foram utilizadas na extração do óleo em escala semi-piloto (Figura 4). Após a separação manual da amêndoa foi feita uma secagem a vácuo, seguida de moagem. A extração do óleo foi feita com hexano e a remoção do solvente por concentração a vácuo.

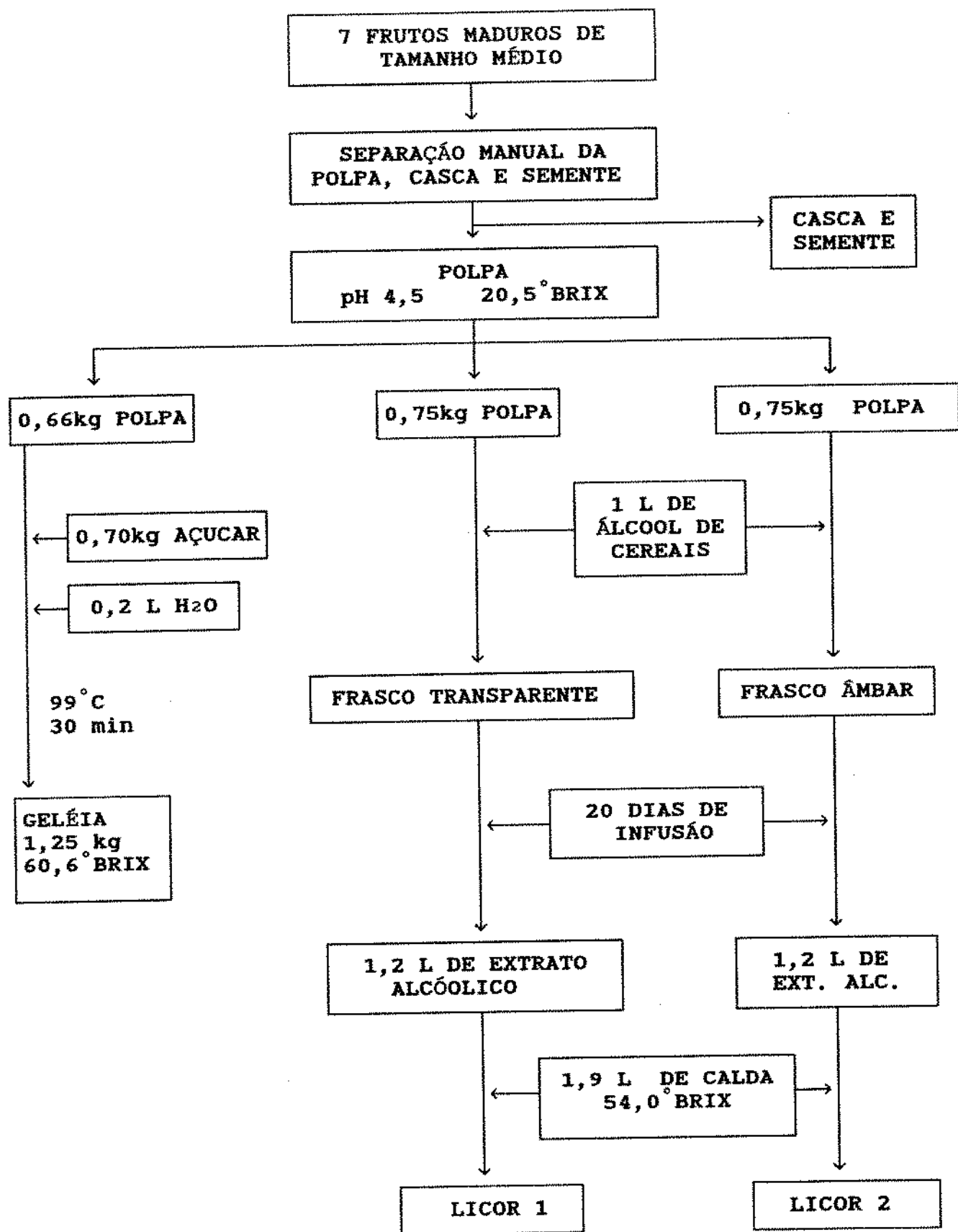


FIGURA 3 - Fluxograma do processamento caseiro da polpa do marolo para a produção de geléia e licor.

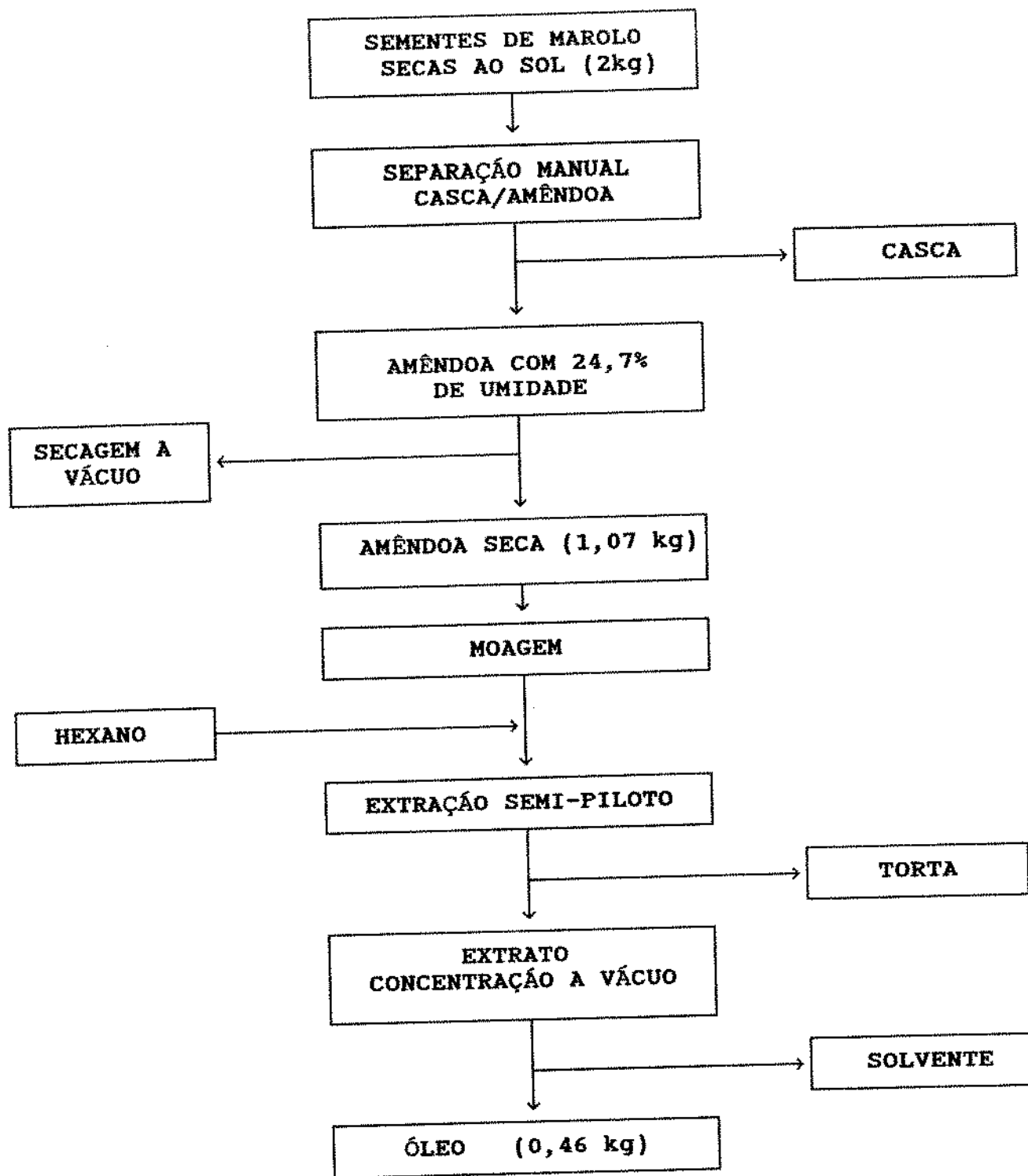


FIGURA 4- Fluxograma da obtenção do óleo da semente de marolo em escala semi-piloto.

3.2 - Análises Químicas da Polpa do Marolo (*Annona coriaceae*)

- pH

Determinação direta em pHmetro, segundo a A.O.A.C. 981.12 (HELRICH, 1990).

- °Brix

Método refratométrico segundo a A.O.A.C. 932.12 (HELRICH, 1990)

- Umidade

Determinação em estufa à 105°C até peso constante, segundo a A.O.A.C 920.151 (HELRICH, 1990).

- Açúcares Redutores e Totais

Método volumétrico geral de LANE-EYNON, segundo A.O.A.C. 31.035 (HORWITZ, 1980).

- Proteína Bruta

Determinação pelo método de KJELDHAL, segundo a A.O.A.C. 920.152 (HELRICH, 1990).

- Extrato Etéreo

Determinação pelo método de GOLD-FISH, segundo a A.O.A.C. 7.056 (HORWITZ, 1980).

- Fibra por Detergente Neutro (NDF)

Determinação pelo método de van SOEST e WINE (1967)

A amostra é colocada em refluxo em presença da solução detergente (Solução tampão de lauril sulfato de sódio contendo borato, fosfato, EDTA e 1-etoxietanol). Em seguida é feita uma filtração e lavagem com água e acetona. O resíduo seco corresponde à fibra insolúvel em detergente neutro (celulose, lignina e hemicelulose).

- Cinzas

Determinação direta em mufla a 525°C, segundo a A.O.A.C.

• Vitamina C

Determinação pelo método titulométrico com o 2,6-Diclorofenolindofenol, segundo a A.O.A.C. 967.21 (HELRICH, 1990).

• Tanino

Determinação pelo método espectrofotométrico com o reagente de FOLIN-DENIS, segundo a A.O.A.C. 952.03 (HELRICH, 1990).

3.3- Determinação de Carotenóides

Várias precauções foram tomadas com o objetivo de evitar a isomerização e oxidação dos carotenóides durante o processo analítico. As análises foram realizadas em local com pouca luminosidade, e a vidraria foi previamente protegida com papel alumínio. Para cada amostra, o processo foi concluído em um prazo máximo de 5 dias. A temperatura, durante as etapas de concentração, foi cuidadosamente controlada.

Utilizou-se a metodologia segundo RODRIGUEZ-AMAYA et alii (1976), com introdução de uma coluna de hidróxido de cálcio para a separação dos isômeros cis do β -caroteno.

• Extração

A extração dos carotenóides foi feita em liquidificador utilizando, como solvente, acetona gelada e um pouco de celite para facilitar a extração dos pigmentos. Em seguida foi feita uma filtração a vácuo. A extração e a filtração foram repetidas até que o resíduo se tornasse incolor.

Os pigmentos dissolvidos em acetona foram, então, transferidos para o éter de petróleo. Porções de água foram cuidadosamente adicionadas ao funil de separação, evitando-se,

assim, a formação de emulsão, até que a acetona fosse completamente removida pela fase aquosa.

A fração etérea foi recolhida em um erlemeyer onde foi adicionada quantidade suficiente de Na_2SO_4 anidro para remover possível resíduo de água.

• Saponificação

Quantidades equivalentes de solução metanólica de KOH a 10% foram adicionadas ao extrato etéreo. Após uma noite em repouso à temperatura ambiente, a solução alcalina foi completamente eliminada por sucessivas lavagens com água destilada. O Na_2SO_4 anidro foi novamente adicionado para a completa remoção do resíduo aquoso.

• Cromatografia em Coluna

A solução de pigmentos foi concentrada até o menor volume possível em evaporador rotatório, em temperatura inferior a 35°C para evitar a degradação dos pigmentos.

A separação dos carotenóides foi efetuada em coluna de vidro de 2,0 cm de diâmetro interno por 20 cm de altura, empacotada com 13 cm de Hiflosupercel: MgO (2:1). Uma pequena quantidade de Na_2SO_4 foi adicionada no topo da coluna para reter possível resíduo de água.

Passou-se éter de petróleo em quantidade suficiente para molhar toda a coluna. Após a aplicação da solução concentrada dos pigmentos no topo da coluna, o desenvolvimento foi realizado com concentrações crescentes de éter etílico ou acetona em éter de petróleo.

A separação dos carotenóides teve o seguinte perfil: o α - e o β -caroteno foram eluídos em uma mesma fração com éter de petróleo puro, o ζ -caroteno e o β -zeacaroteno foram eluídos com 2% de éter

etílico em éter de petróleo, o ϵ -caroteno foi eluído com 5% de acetona em éter de petróleo, a β -criptoxantina com 10% de acetona, a violaxantina e a luteína com 15% de acetona e a mutatoxantina com 20% de acetona em éter de petróleo.

Uma nova coluna, empacotada com 10 cm de hiflosupercel: MgO, foi utilizada para separar os dois carotenóides contidos na primeira fração da coluna anterior. Apenas metade do volume desta fração foi utilizado nesta nova coluna, após concentração prévia. O α - e o β -caroteno foram eluídos separadamente com 2% de éter etílico em éter de petróleo.

Uma coluna empacotada com 7 cm de hidróxido de cálcio foi utilizada para promover a separação dos isômeros cis do β -caroteno e todos foram eluídos com éter de petróleo puro.

As frações eluídas foram concentradas ou diluídas aos volumes adequados para leitura espectrofotométrica. As frações contendo acetona foram previamente transferidas para o éter de petróleo.

• Identificação

Na identificação dos carotenóides foram considerados os seguintes parâmetros: ordem de eluição na coluna, espectros de absorção na região do visível (350-550 nm), valores de R_F na camada de sílica gel e reações químicas específicas.

Na identificação das frações foi utilizado um espectrofotômetro ultra-violeta/visível Perkin Elmer, Lambda 6, acoplado a um computador. Como é característica dos carotenóides apresentarem 3 máximos de absorção, os comprimentos de onda máximos (λ_{max}) das frações obtidas foram comparados com valores já tabelados para os vários carotenóides (DAVIES, 1976).

Após a concentração até volume adequado, as frações foram aplicadas em camada delgada de sílica gel, com espessura de 0,25

mm e ativada por 2 h à 110°C. A fase móvel utilizada foi 3% de metanol em benzeno. Os carotenos foram eluídos com a frente do solvente, enquanto as xantofilas ficaram retidas em maior ou menor grau na fase estacionária, dependendo da natureza e do número de grupos substituintes.

Para confirmar a identidade e a posição de alguns substituintes no anel β -ionona foram utilizadas algumas reações químicas:

-Acetilação.

Com objetivo de constatar a presença de hidroxilas, adiciona-se 0,2 mL de anidrido acético no pigmento dissolvido em piridina. Após 21 h de repouso, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente, o pigmento é transferido para o éter de petróleo e recromatografado em camada delgada. Um aumento no valor de R_F , em relação ao valor obtido antes da reação, caracteriza reação positiva.

-Metilação.

Com objetivo de confirmar hidroxilas alílicas conjugadas ou isoladas, adiciona-se gotas de de HCl 0,1N no pigmento dissolvido em metanol. Após 3 h de repouso, à temperatura ambiente ao abrigo da luz, o pigmento é transferido para o éter de petróleo e recromatografado em camada delgada. A reação positiva caracteriza-se por um aumento no valor do R_F do carotenóide metilado em relação ao valor obtido antes da reação.

-Isomerização cis-trans.

Após o registro do espectro de cada fração na região do visível, adiciona-se algumas gotas de solução etérea de iodo ao pigmento, como catalizador de fotoisomerização. Após 3 min. de exposição à luz, o espectro é novamente registrado. Os carotenóides, originalmente trans, se caracterizam por um

deslocamento hipsocrômico e pelo aparecimento do pico cis no espectro, em função da isomerização para a forma cis. Para os cis carotenóides é observado um deslocamento batocrômico do espectro, ou não se observa mudança.

-Teste para epóxidos.

É investigado preliminarmente através da exposição da camada delgada a vapores de HCl. Se a reação é positiva a mancha do pigmento, originalmente amarela ou laranja, muda sua cor para azul ou verde. A localização do grupo epóxido é verificada adicionando-se HCl 0,1N à solução etanólica do pigmento e posterior registro de seu espectro. O 5,6-monoepóxido ou 5,6,5',6'-diepóxido transformam-se em 5,8-furanóide ou 5,8,5',8'-difuranóide, resultando num deslocamento dos máximos de absorção para comprimentos de onda aproximadamente 20 nm ou 40 nm menores.

• Quantificação

A quantificação de cada fração foi realizada a partir das respectivas absorbâncias máximas, aplicando-se a lei de Beer. Os valores das absorptividades foram obtidos da tabela apresentada por DAVIES (1976). Para o cálculo dos isômeros dos carotenóides com atividade provitamínica A, foram utilizadas as absorptividades apresentadas por SWEENEY e MARSH (1970).

• Cálculo do valor de vitamina A

O valor de vitamina A foi calculado a partir da atividade pró-vitamínica de cada carotenóide precursor, tabelada por BAUERNFEIND (1972). Para os isômeros cis do β -caroteno foram utilizados os valores de biopotência obtidos por DEUEL (1944 e 1945) e SWEENEY e MARSH (1973). Os valores foram expressos em Retinol Equivalente por 100 gramas (RE/100g).

3.4- Caracterização do Óleo

- Determinações na polpa e semente:

- Teor de umidade, segundo método da A.O.A.C. 920.151 (HELDRICH, 1990).

- Extrato etéreo, segundo método da A.O.A.C. 963.15 (HELDRICH, 1990).

- Determinação das Características físicas e químicas do óleo da semente, segundo métodos da A.O.C.S. (1988)

- Teor de ácidos graxos livres (como % de ácido oléico), método Ca 5a - 40 (81).

- Índice de peróxidos - método Cd 8 - 53 (86).

- Índice de iodo - método Cd 1 - 25 (88).

- Índice de saponificação - método Cd 3 - 25 (73).

- Fósforo - método Ca 12 - 55 (88).

- Índice de refração - método Cc 7 - 25 (73).

- Cor - método Cc 13b - 45 (87).

- Densidade - método Cc 10a - 25.

- Viscosidade - Determinação direta em viscosímetro HAAKE, segundo DGF Einheitsmethoden, parte C, Fette C IV 7 (52), (1984).

- Obtenção dos ésteres metílicos no óleo da polpa e da semente do marolo, segundo método de HARTMAN e LAGO (1973).

O óleo é saponificado com solução metanólica 0,5M de KOH ou NaOH, seguido de refluxo com solução de cloreto de amônio e ácido sulfúrico em metanol.

• Determinação da composição em ácidos graxos, método da A.O.C.S. Ce 1 - 62 (1988).

Na separação dos ácidos graxos foi utilizado um cromatógrafo gasoso Perkin-Elmer SIGMA 3B, acoplado a um integrador Perkin Elmer LCI - 100. As análises foram desenvolvidas nas seguintes condições:

- Temperatura da coluna (Silar 10C): 175°C.
- Temperatura do detector (FID): 225°C.
- Temperatura do injetor: 225°C.
- Fluxo de nitrogênio: 25 mL/min.
- Volume de injeção: 1 a 3 µL.

A identificação foi feita por comparação dos tempos de retenção dos compostos da amostra com padrões de ésteres de ácidos graxos (standard NU check - Prep. Inc.).

A quantificação foi feita por normalização interna obtendo-se a percentagem de cada composto pela relação da área individual e área total dos picos calculados pelo integrador.

• Determinação de alcalóides na torta, no óleo e na semente do marolo, segundo método de TYIHAK (1964).

O método consiste na determinação dos alcalóides por cromatografia em camada delgada, após a reação do alcalóide do extrato metanólico com o reagente de Dragendorff.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Constituição Química do Marolo (*Annona coriaceae*)

A Tabela 3 mostra os resultados das determinações de °Brix e de pH na polpa do marolo amarelo *in natura*. Com 77% de umidade, a água constitui o principal componente (Tabela 4). Os carboidratos (12,8 % de açúcares totais) constituem a maior parte do extrato seco (Tabela 5). Os monossacarídeos, assim como ocorre com a maioria das frutas, apresentam-se mais abundantes que os açúcares não redutores.

O conteúdo protéico médio é de 1,11 % (Tabela 6). A Tabela 7 mostra os resultados do teor de lipídios da polpa do marolo, sendo que o conteúdo lipídico médio de 2,8 % (base úmida) pode ser considerado alto, se comparado com a maioria das outras frutas (Tabela 1) que, geralmente, apresentam teor inferior a 1 %. O conteúdo em fibras também é elevado (5,2 %) e pode ser visto na Tabela 8. A Tabela 9 apresenta o conteúdo mineral (cinzas) com média de 0,73 %.

A Figura 5 relaciona os componentes centesimais médios do marolo *in natura*.

O teor de vitamina C (8,23 mg/100g) é relativamente baixo na fruta *in natura* (Tabela 10), sendo que 45 % deste teor é perdido no processamento da geléia, e quase totalmente perdido no processamento do licor (Tabela 11).

Um conteúdo médio de 0,25 % (Tabela 12) de tanino (compostos fenólicos) na polpa do marolo em bom estado de maturação, provavelmente é o responsável por um sabor adstringente residual. Outras frutas, como a banana e o caju (MENEZES & DRAETA, 1980), também apresentam compostos fenólicos que podem ser reduzidos antes do consumo ou no processamento. A maturação e a lavagem com água bem fria, assim como o armazenamento a 0°C durante 12 a 13 horas e o tratamento do purê com vapor de água ou concentração a

quente, além de outros procedimentos, podem ser utilizados para diminuir a adstringência do suco. A eliminação destes fenólicos é quase total quando se clarifica com a ajuda de gelatina, pectina ou mesmo caseína.

TABELA 3- Valores de °Brix e pH nos 5 lotes de marolo in natura.

LOTE	°BRIX	pH
1	22,0	4,68
2	17,0	4,70
3	19,0	4,70
4	17,5	4,68
5	19,0	4,70
Média	18,9	4,70

TABELA 4- Teores de umidade (g/100g) nos 5 lotes de marolo *in natura*¹.

LOTE	UMIDADE	DP	CV (%)
1	73,5	0,4	1,2
2	79,1	0,5	0,6
3	77,8	0,2	0,3
4	77,7	0,3	0,4
5	76,5	0,3	0,3
Média	76,9	2,1	2,8

1- Os resultados são médias de determinações em duplicata.

TABELA 5 - Teores de açúcares totais e redutores (g/100g) nos 5 lotes de marolo *in natura*¹.

LOTE	AÇÚCARES REDUTORES			AÇÚCARES TOTAIS		
	REDUTORES	DP	CV (%)	TOTAIS	DP	CV (%)
1	14,9	0,1	0,8	15,2	0,1	1,2
2	11,3	0,2	2,0	11,4	0,1	1,0
3	9,9	0,1	0,7	12,4	0,0	0,2
4	9,7	0,2	2,3	11,6	0,2	1,6
5	10,9	0,2	1,5	13,8	0,1	0,9
Média	11,3	2,1	18,5	12,8	1,6	12,3

1- Os resultados são médias de determinações em duplicata.

TABELA 6- Teores de proteína bruta (g/100g) nos 5 lotes de marolo *in natura*¹.

LOTE	PROTEÍNA	DP	CV (%)
1	1,27	0,01	0,79
2	0,89	0,03	2,81
3	1,20	0,02	1,25
4	1,16	0,00	0,00
5	1,03	0,02	1,94
Média	1,11	0,15	13,59

1- Os resultados são médias de determinações em duplicata.

TABELA 7- Teores de lipídios (g/100g, em base seca) dos 5 lotes de marolo *in natura*¹.

LOTE	LIPÍDIOS	DP	CV (%)
1	16,65	0,17	0,99
2	11,99	0,34	2,87
3	9,41	0,04	0,37
4	13,61	0,10	0,70
5	7,15	0,02	0,21
Média	11,76	3,68	31,29

1- Os resultados são médias de determinações em duplicata.

TABELA 8- Teores de fibra neutra (g/100g) nos 5 lotes de marolo *in natura*¹.

LOTE	FIBRA	DP	CV (%)
1	5,2	0,2	2,9
2	5,5	0,2	2,9
3	4,8	1,3	26,1
4	5,0	0,2	3,8
5	5,7	0,3	5,9
Média	5,2	0,4	7,4

1- Os resultados são médias de determinações em duplicata.

TABELA 9- Teores de cinzas (mg/100g) nos 5 lotes de marolo *in natura*¹.

LOTE	CINZAS	DP	CV (%)
1	647	8	1
2	756	7	1
3	685	3	0
4	791	24	3
5	762	16	2
Média	728	60	8

1- os resultados são médias de determinações em duplicata.

TABELA 10- Teores de vitamina C (mg/100g) nos 5 lotes de marolo *in natura*¹.

LOTE	VITAMINA C	DP	CV (%)
1	2,71	0,14	5,17
2	10,29	0,17	1,60
3	11,67	0,31	2,66
4	7,74	0,09	1,10
5	8,73	0,07	0,80
Média	8,23	3,43	41,66

1- Os resultados são médias de determinações em duplicata.

TABELA 11- Teores (mg/100g) e perdas (%) de vitamina C nos produtos de marolo recém processados¹.

PRODUTO	VITAMINA C	DP	CV (%)	PERDAS (%)
Geléia	3,37	0,00	0,00	45,42
Licor 1	0,10	0,01	10,00	96,02
Licor 2	0,11	0,01	9,00	95,89

1- Os resultados são médias de determinações em duplicata.

TABELA 12- Teores de tanino (mg/100g) nos 5 lotes de marolo in natura¹.

LOTE	TANINO	DP	CV (%)
1	200	3	2
2	246	5	2
3	298	6	2
4	198	1	1
5	283	25	9
Média	245	46	19

1- Os resultados são médias de determinações em duplicata.

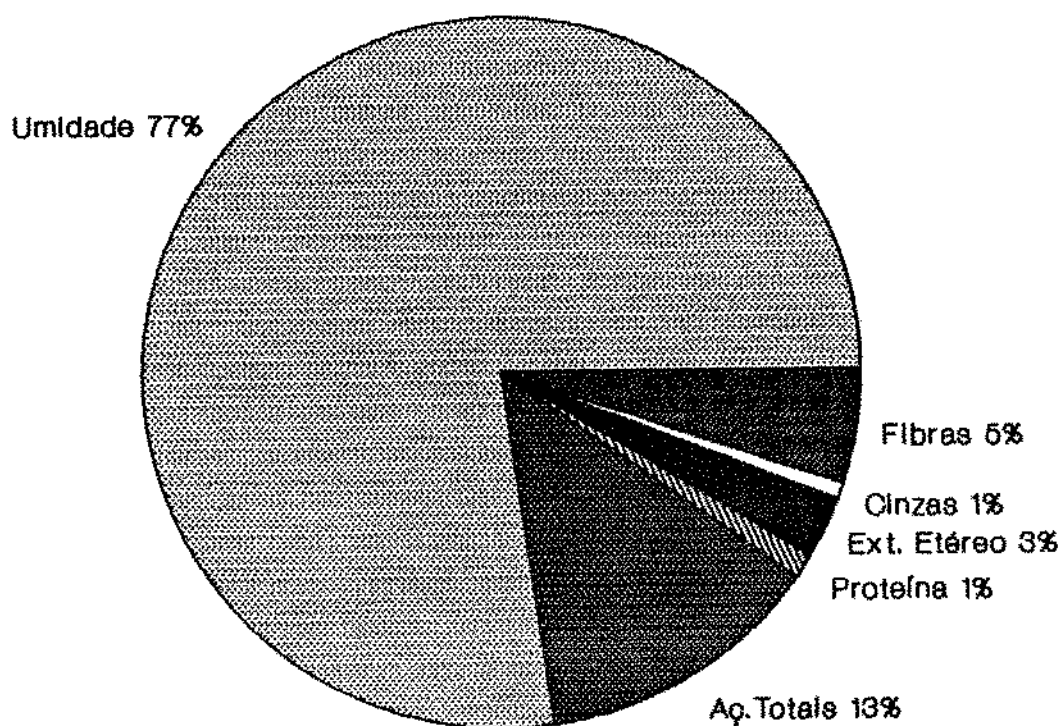


FIGURA 5- Composição química da polpa de marolo

4.2- Composição dos Carotenóides Presentes na Polpa do Marolo (*Annona coriaceae*) in natura.

Nove carotenóides foram identificados no marolo: α -caroteno, β -caroteno, ζ -caroteno, β -zeacaroteno, ϵ -caroteno, β -criptoxantina, violaxantina, luteína e mutatoxantina. As características químicas destes pigmentos estão apresentadas na Tabela 13 e o esquema da separação cromatográfica na Figura 6. Os espectros de absorção estão dispostos desde as figuras 7 até a 11, e as estruturas dos carotenóides na Figura 12.

Os carotenos detectados foram identificados pelos seguintes parâmetros: 1) ordem de eluição na coluna cromatográfica; 2) valores de Rf em camada delgada de sílica gel desenvolvida com 3% de metanol em benzeno, sendo que todos eluíram com a frente do solvente, confirmando a ausência de grupos substituintes.

As características seguintes permitiram a identificação da β -criptoxantina: 1) espectro de absorção indicativo de um cromóforo idêntico ao do β -caroteno; 2) ordem de eluição na coluna e valor de Rf na camada delgada compatível com um derivado mono-hidroxilado de β -caroteno; 3) reação positiva à acetilação e negativa à metilação, indicando um grupo hidroxila em posição não alílica.

A violaxantina foi identificada pelas seguintes propriedades: 1) espectro de absorção compatível com a presença de nove ligações conjugadas ; 2) incorporação de cor azul na camada delgada, após exposição aos vapores de HCl, com indicação da presença do grupo epóxi; 3) deslocamento hipsocrômico de aproximadamente 40 nm após a adição de HCl diluído refletindo a transformação de epóxidos nas posições 5,6 e 5',6' em epóxidos 5,8 e 5'8'.

TABELA 13 - Características dos carotenóides presentes na polpa de marolo *in natura*, na geléia e no licor.

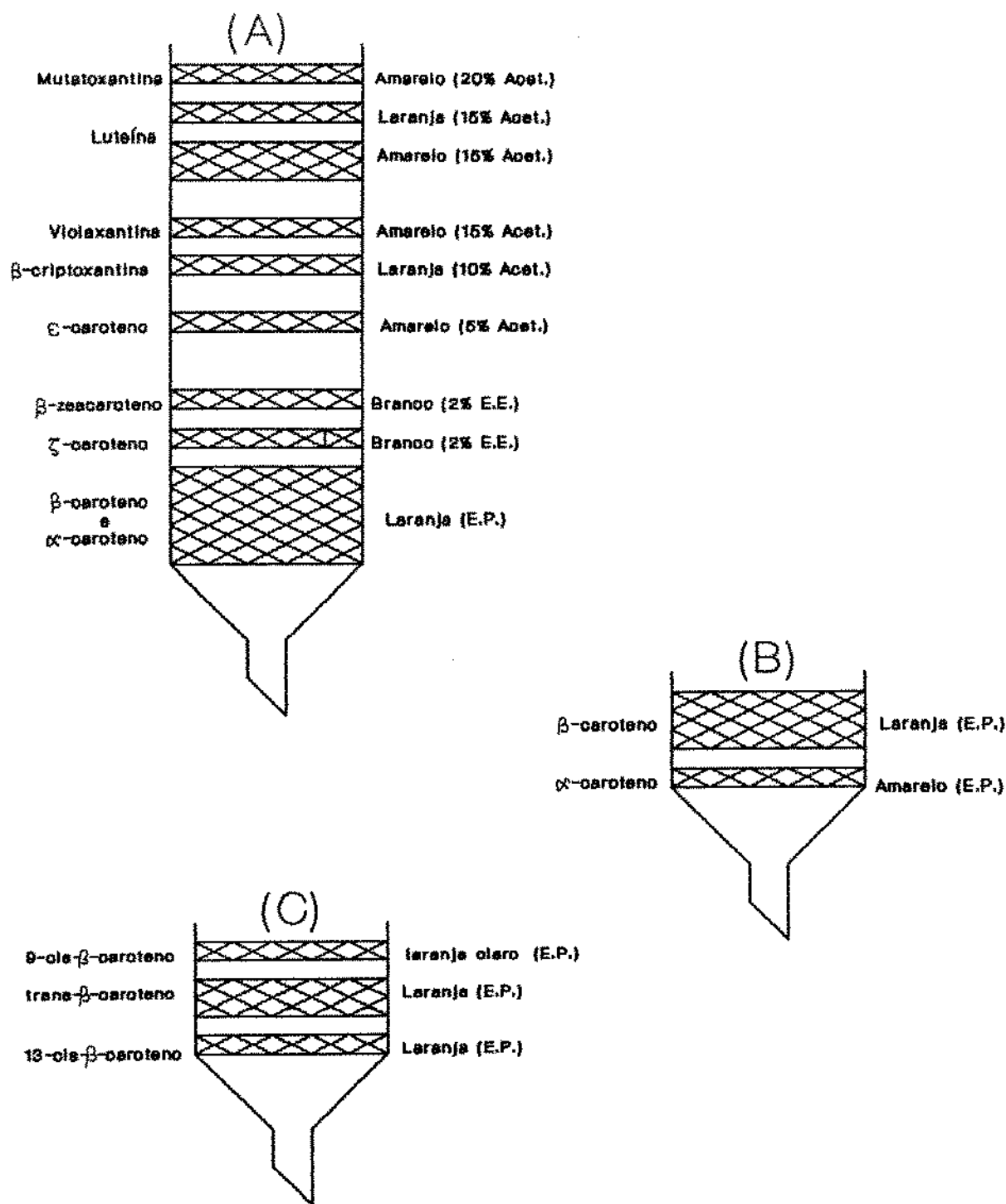
IDENTIFICAÇÃO	ABSORÇÃO EM ÉTER DE PETRÓLEO (nm)			VALOR DE Rf ²	REAÇÕES QUÍMICAS ³
<u>Trans</u> - α -Caroteno	419	443	472	0,99	Trans +
13- <u>cis</u> - β -caroteno	(419) ¹	442	470	0,99	Cis +
<u>Trans</u> - β -Caroteno	424	448	475	0,99	Trans +
9- <u>cis</u> - β -Caroteno	(419) ¹	444	470	0,99	Cis +
<u>Trans</u> - ζ -Caroteno	380	399	423	0,99	Trans +
<u>Trans</u> - β -Zeacaroteno	405	425	449	0,98	Trans +
<u>Trans</u> - ϵ -Caroteno	417	441	470	0,98	Trans +
<u>Trans</u> - β -Criptoxan- tina	425	447	474	0,46	Trans +, Acet + Met -
<u>Cis</u> -Violaxantina ⁴	415	437	465	0,07	Cis +, Epox + Acet +, Met +
<u>Trans</u> -Luteína	418	442	470	0,12	Trans +, Acet + Met +
<u>Trans</u> -Mutatoxantina	396	420	450	0,07	Trans +, Epox + Acet +, Met -

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

2- Valores obtidos em placas de sílica gel ativada por 2 horas a 110°C e desenvolvida com 3% de metanol em benzeno.

3- Met - metilação; Acet - acetilação; Epox - epoxidação.

4- Presente somente na polpa de marolo *in natura*.



Fase estacionária: (A) e (B) hyflosupercel-MgO (2:1); (C) Ca(OH)_2

Fase móvel: gradiente de éter etílico (E.E.) ou

Acetona (Acet.) em éter de petróleo (E.P.)

FIGURA 6 - Esquema da separação cromatográfica dos carotenóides de marolo.

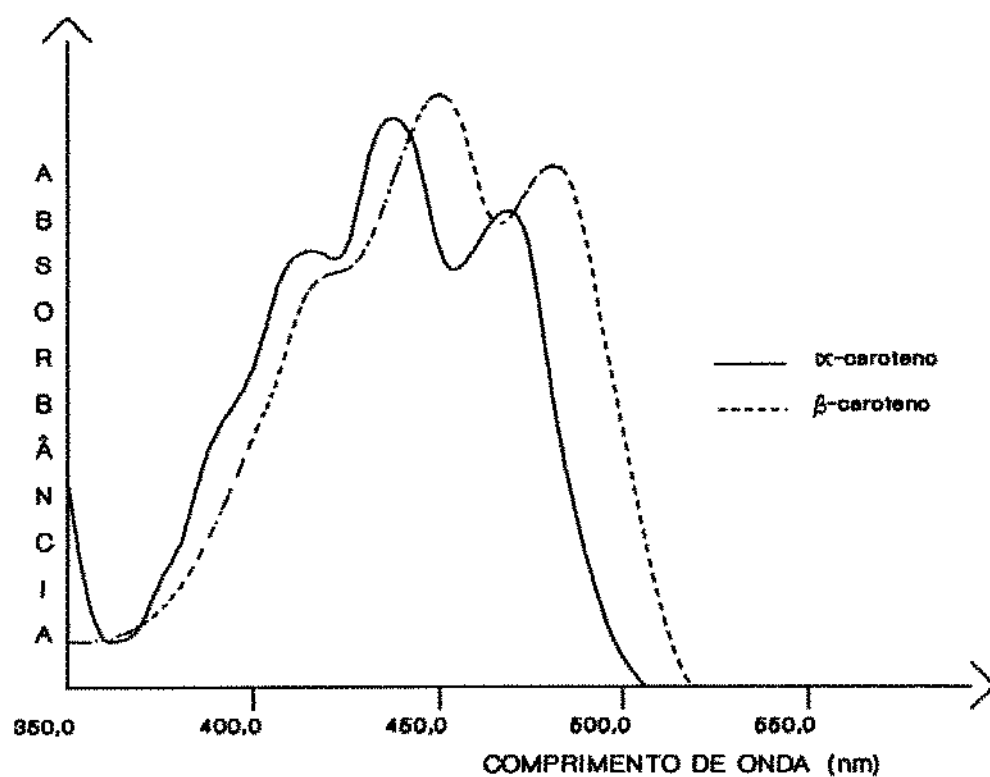


FIGURA 7 - Espectro de absorção do α -caroteno e do β -caroteno, em éter de petróleo.

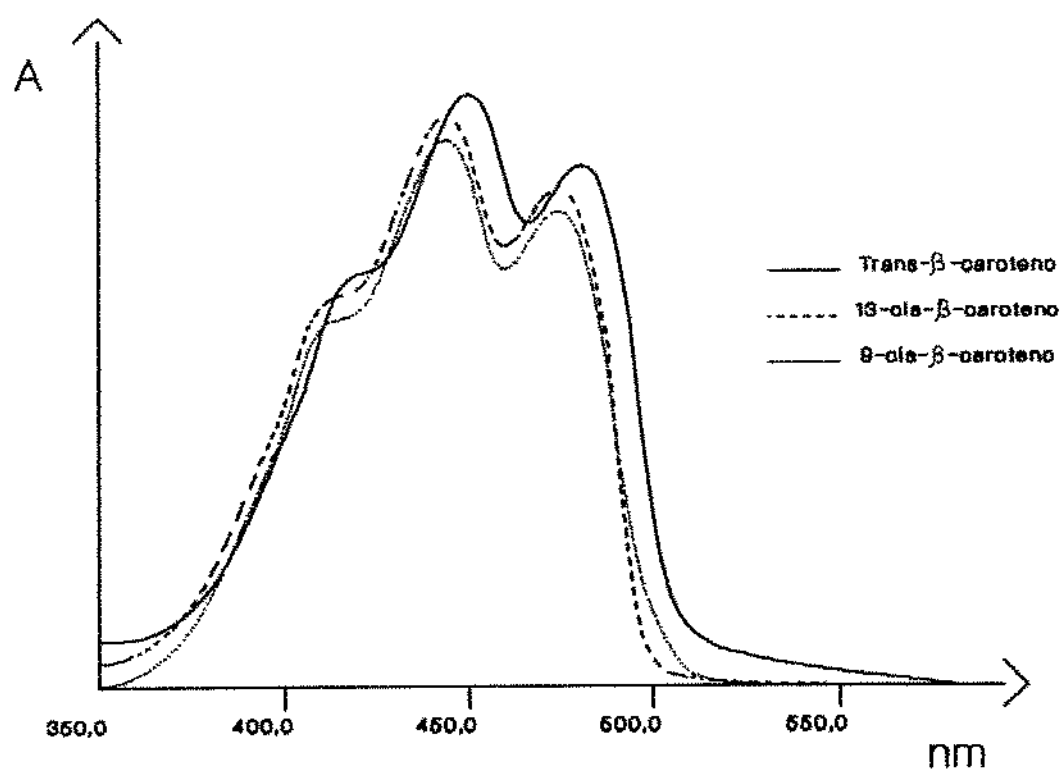


FIGURA 8 - Espectro de absorção dos isômeros do β -caroteno, em éter de petróleo.

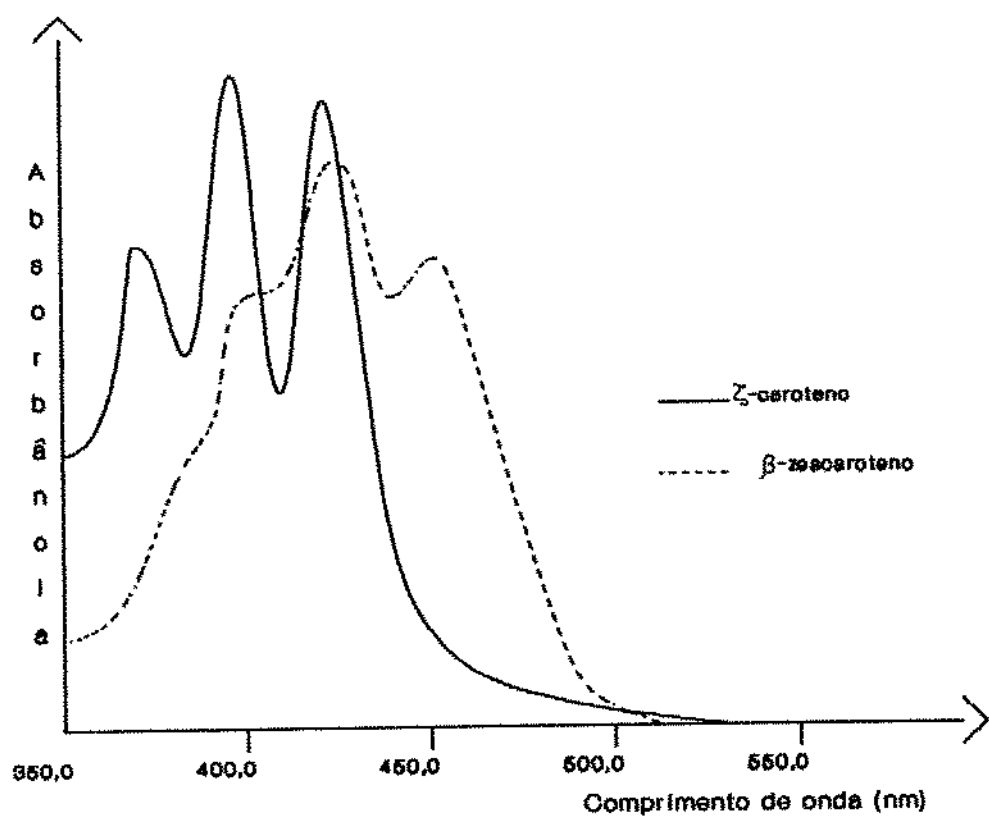


FIGURA 9 - Espectro de absorção do ζ -caroteno e do β -zeacaroteno, em éter de petróleo.

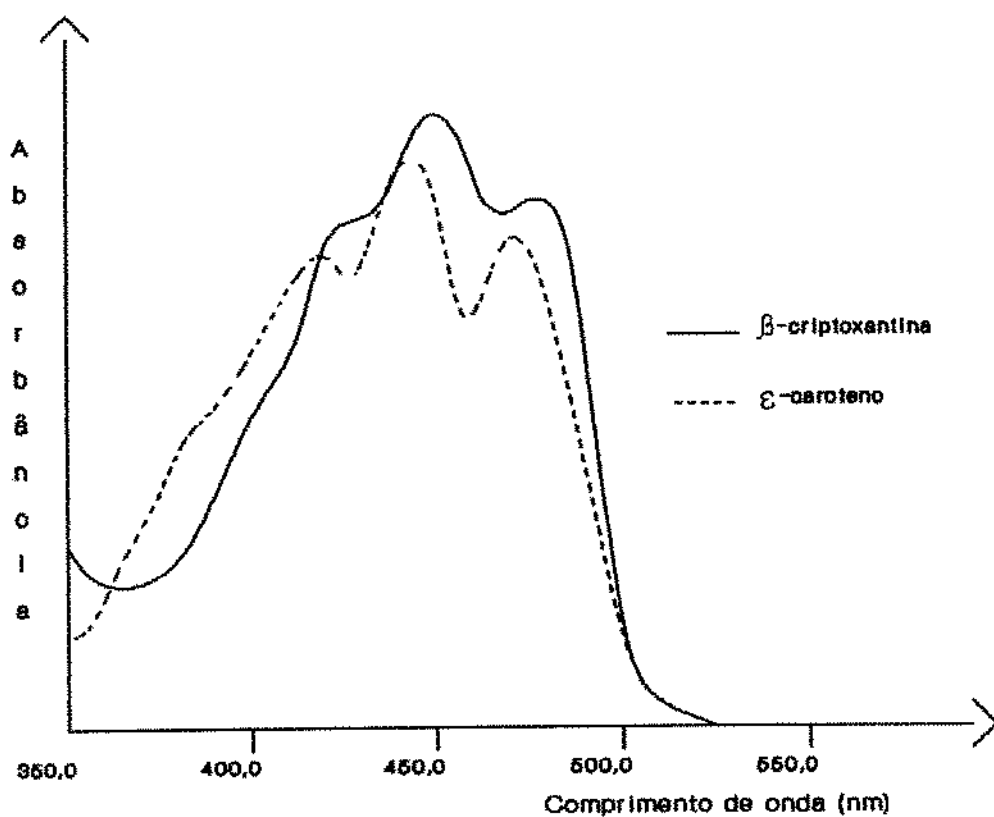


FIGURA 10 - Espectro de absorção do ϵ -caroteno e da β -criptoxantina, em éter de petróleo.

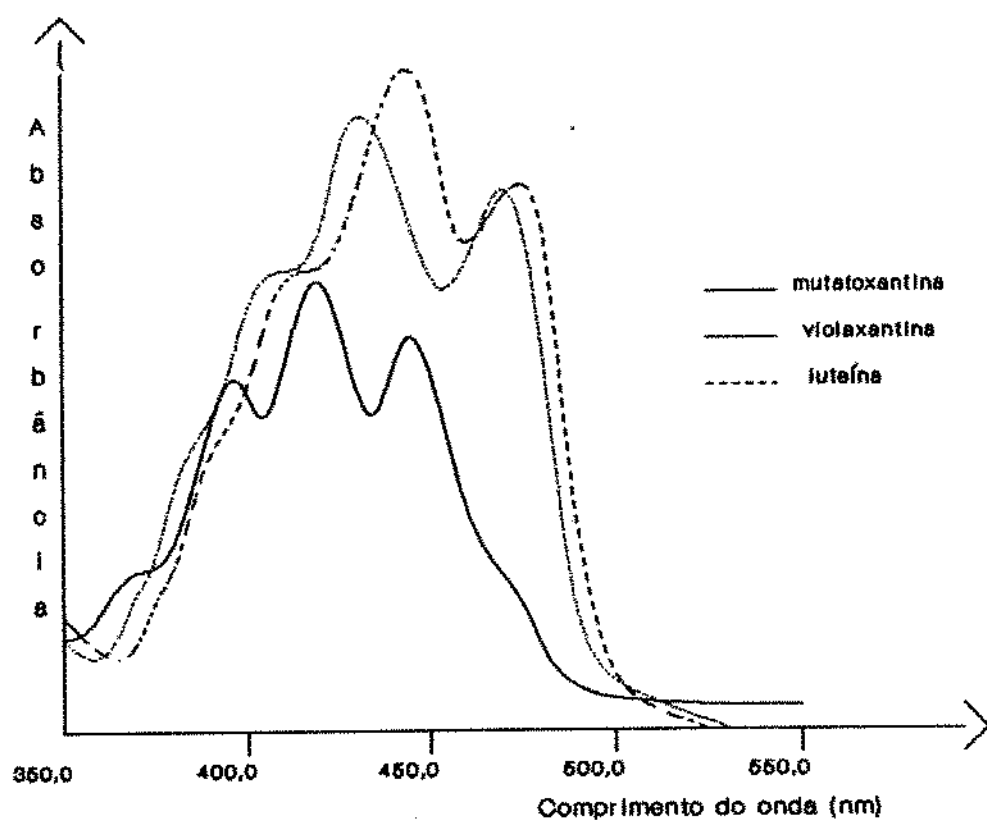


FIGURA 11 - Espectro de absorção da violaxantina, da luteína e da mutatoxantina, em éter de petróleo.

A avaliação dos parâmetros subseqüentes permitiram a identificação da luteína: 1) espectro de absorção indicativo de um grupo cromóforo idêntico ao do α -caroteno; 2) valor de R_f característico de um carotenóide di-hidroxilado; 3) reação positiva à acetilação e à metilação, tendo a última reproduzido um composto mono-hidroxilado confirmando, portanto, a posição alílica de uma das hidroxilas.

A identificação da mutatoxantina foi baseada nas características seguintes: 1) espectro de absorção compatível com a presença de nove ligações duplas conjugadas; 2) ordem de eluição e R_f na camada delgada compatível com um carotenóide di-hidroxilado; 3) mudança da cor original do pigmento para azul na camada delgada após exposição aos vapores de HCl, indicando presença do grupo epóxi; 4) reação positiva à acetilação; 5) reação negativa à metilação.

A polpa do marolo amarelo apresentou uma média de $8,44 \pm 3,68$ $\mu\text{g/g}$ de carotenóides totais (Tabela 14). Embora os coeficientes de variação entre as duplicatas não tenham sido elevados, o coeficiente de variação entre os lotes (43,60 %) mostra variações entre os teores de carotenóides nas frutas, cujas plantas são nativas e sujeitas a variações genéticas.

Embora sem dados suficientes para estabelecer com certeza uma relação entre as variações da composição centesimal e o conteúdo de carotenóides na polpa do marolo, foi observada uma tendência de aumento no teor dos carotenóides totais com o aumento do teor de óleo e redução do teor de tanino nas frutas analisadas.

O β -caroteno, com uma média de 8,44 %, é o pigmento predominante (Tabela 15), representando 79% dos carotenóides totais (Figura 13). Somando-se ao α -caroteno e à β -criptoxantina os carotenóides pró-vitâmicos representam, juntos, 87% dos pigmentos encontrados na polpa. A luteína constitui o segundo carotenóide, com aproximadamente 9% do conteúdo total. O α -caroteno é o seguinte, com 6% .

Apesar de um teor não muito alto em carotenóides totais nas frutas do marolo amarelo, vale lembrar que as árvores são nativas nos campos. Não se trata de uma planta geneticamente melhorada, e nem de um solo preparado para o cultivo. Além disso os frutos analisados são provenientes de uma única região. Vários trabalhos feitos com frutas tropicais mostram a forte influência dos efeitos geográficos sobre o teor dos carotenóides (KIMURA *et alii*, 1991; PADULA & RODRIGUEZ -AMAYA, 1986 e CAVALCANTE, 1991).

TABELA 14- Teor de carotenóides totais ($\mu\text{g/g}$) nos 5 lotes de polpa de marolo *in natura*.

LOTE	CAROTENÓIDES TOTAIS ¹	DP	CV (%)
1	15,48	0,02	0,13
2	6,81	0,42	6,17
3	5,60	0,21	3,73
4	8,57	0,05	0,58
5	5,72	0,56	9,36
MÉDIA	8,44	3,68	43,60

1- Os resultados são médias entre duplicatas.

TABELA 15- Composição de carotenóides na polpa de marolo in natura.

CAROTENÓIDE	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g/g}$) ¹			
	INTERVALO	MÉDIA	DP	CV (%)
α -Caroteno	0,38 - 0,82	0,55	0,17	30,91
β -Caroteno	4,34 - 13,15	6,70	3,69	55,07
ζ -Caroteno	0,05 - 0,11	0,07	0,02	28,57
β -Zeacaroteno	0,04 - 0,09	0,06	0,02	33,33
ϵ -Caroteno	0,03 - 0,12	0,07	0,04	57,14
β -Criptoxantina	0,04 - 0,15	0,11	0,05	45,45
Violaxantina	0,08 - 0,20	0,14	0,05	35,71
Luteína	0,50 - 0,96	0,70	0,17	24,29
Mutatoxantina	0,10 - 0,35	0,17	0,10	58,82
Carotenóides				
Totais	5,60 - 15,48	8,44	3.68	43,60

1- Cada resultado é média de 5 determinações, em duplicata.

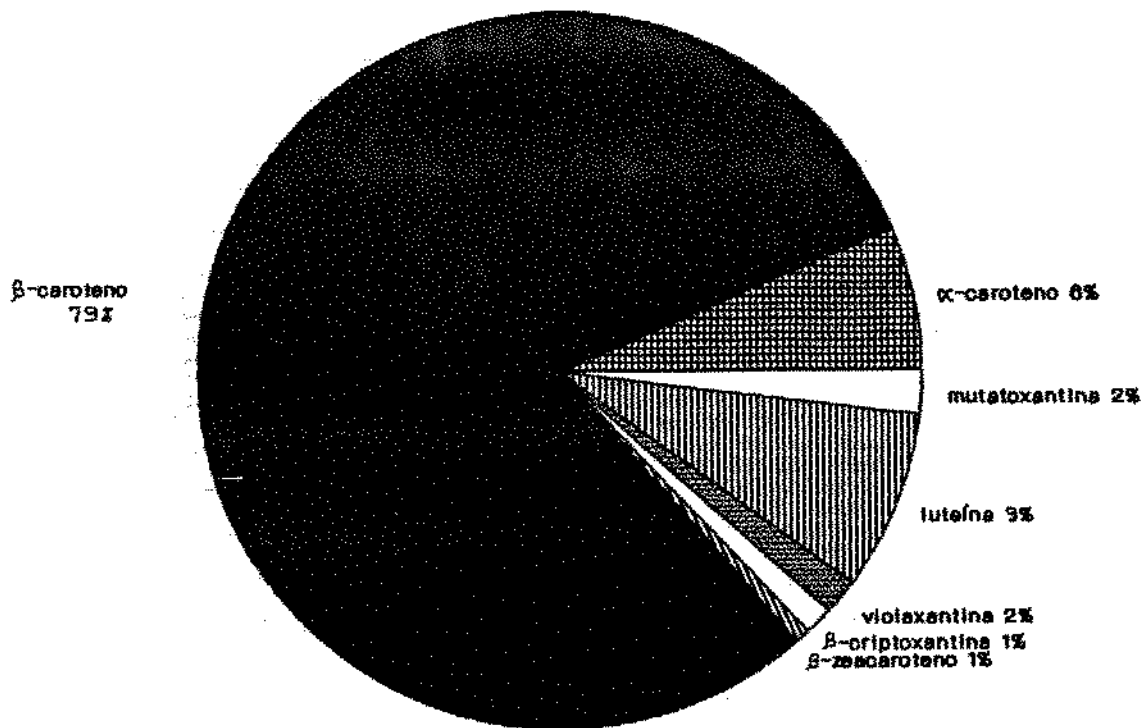


FIGURA 13- Teores de carotenóides na polpa de marolo *in natura*.

4.3- Alterações dos carotenóides durante o processamento caseiro do marolo (*Annona coriacea*): obtenção da geléia e do licor.

A Tabela 16 mostra as concentrações dos carotenóides presentes na polpa *in natura*, na geléia e no licor do marolo produzido sem proteção da luz (licor 1) e ao abrigo desta (licor 2).

Em relação à polpa de marolo *in natura*, a geléia apresentou uma perda de aproximadamente 25% dos pigmentos totais. Verificou-se uma redução de 27% no total de β -caroteno (Figura 14), além de um aumento no teor de isômeros para o produto processado. O α -caroteno teve perda semelhante ao β -caroteno. Os outros carotenos e a β -criptoxantina foram encontrados em quantidades muito pequenas.

A luteína, com perda de 17%, foi menos afetada pelo processamento térmico do que o β -caroteno. A mutatoxantina, por outro lado, teve um aumento de 40%, confirmando os dados da literatura que geralmente apresentam um aumento no teor dos epóxidos após o processamento. A violaxantina não foi detectada.

Em ambos os licores a presença dos carotenóides foi fortemente comprometida pelo processamento quando comparada com a polpa de marolo *in natura* e/ou com a geléia. Houve uma perda de 94 e 86% de carotenóides totais nos licores 1 e 2, respectivamente, com relação a fruta *in natura*.

Estes licores perderam, respectivamente, 92 e 73% de β -caroteno e 95 e 90% de α -caroteno e de luteína. Houve uma perda de 95% de mutatoxantina no licor 1, mas no licor 2 esta perda foi de 73%. O ζ -caroteno, o β -zeacaroteno e a β -criptoxantina foram encontrados apenas em traços. O ϵ -caroteno e a violaxantina não foram detectados.

Esta perda substancial provavelmente é consequência da forma

TABELA 16- Efeito do processamento na composição dos carotenóides

CAROTENÓIDES	CONCENTRAÇÃO ¹			
	POLPA <i>in natura</i>	GELÉIA	LICOR 1 (Ao abrigo da Luz)	LICOR 2 (Exposto à Luz)
α -Caroteno	0,51 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,02	0,50 $\pm$ 0,10	1,20 $\pm$ 0,20
β -Caroteno	4,34 $\pm$ 0,56	1,67 $\pm$ 0,09	7,00 $\pm$ 0,80	14,00 $\pm$ 0,30
ζ -Caroteno	0,11 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,00	traços	traços
β -Zeacaroteno	0,04 $\pm$ 0,00	0,03 $\pm$ 0,01	traços	traços
ϵ -Caroteno	0,03 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,00	nd	nd
β -Criptoxantina	0,08 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	traços	traços
Violaxantina	0,11 $\pm$ 0,01	nd	nd	nd
Luteína	0,64 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,03	0,70 $\pm$ 0,40	1,30 $\pm$ 0,30
Mutatoxantina	0,13 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01	0,21 $\pm$ 0,00	0,86 $\pm$ 0,20
Carotenóides Totais	5,60 $\pm$ 0,55	2,37 $\pm$ 0,12	8,04 $\pm$ 1,50	16,89 $\pm$ 3,25

1 - Os resultados são médias e desvios-padrão de determinações em duplicata da polpa de marolo *in natura* e da geléia ($\mu\text{g/g}$), e dos licores 1 e 2 ($\mu\text{g/100mL}$).

nd- Não detectado.

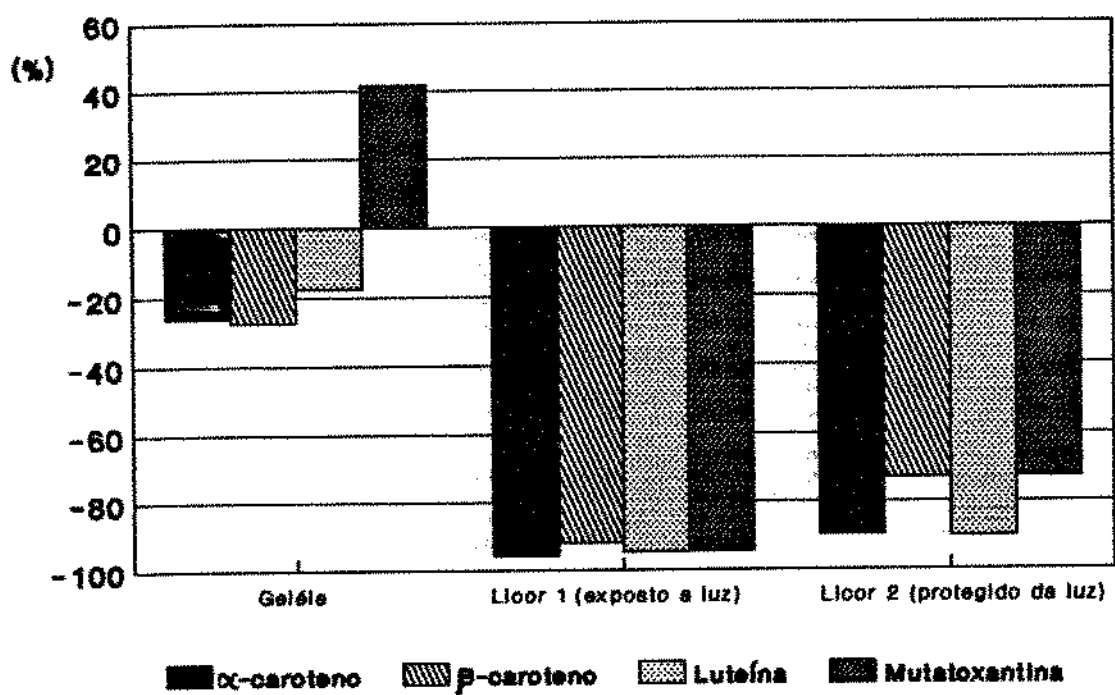


FIGURA 14 - Variação nos teores dos principais carotenóides, em função do processamento do marolo.

como o processamento é conduzido. A infusão alcóolica, apesar de originar um extrato final amarelo, não permite a extração quantitativa dos carotenóides, pois não há ruptura da matriz do alimento. Assim, a maioria destes pigmentos permanecem no resíduo da polpa que adquire, com o tempo, coloração acastanhada devido, principalmente, às reações de oxidação.

A Tabela 17 indica que a estocagem da geléia teve influência, estatisticamente significativa ao nível de 5%, sobre o teor de carotenóides, apenas após 90 dias de estocagem a 10°C. Houve uma perda no conteúdo de β -caroteno e de carotenóides totais após este período.

A Tabela 18 demonstra que o período de estocagem exerceu uma influência significativa, ao nível de 5%, apenas sobre o licor 1 (exposto à luz). Houve uma perda de β -caroteno e de carotenóides totais após 60 dias de estocagem. O licor 2 (produzido ao abrigo da luz) não apresentou alteração significativa no teor de carotenóides após o mesmo período de estocagem.

Embora não tenha sido observada diferença significativa entre os licores 1 e 2 recém preparados, o licor 1 (exposto à luz) sofreu maiores perdas de α -caroteno, mutatoxantina e carotenóides totais após a estocagem. A luteína não apresentou diferença significativa entre os licores durante o período determinado.

TABELA 17- Variação na composição de carotenóides durante a estocagem da geléia de marolo a 10°C.

CAROTENÓIDES	CONCENTRAÇÃO (µg/g) ¹		
	0 dia	45 dias	90 dias
α-Caroteno	0,20 ± 0,02a	0,16 ± 0,01a	0,22 ± 0,02a
β-Caroteno	1,67 ± 0,09a	1,57 ± 0,01a	1,18 ± 0,06b
ζ-Caroteno	0,04 ± 0,00a	0,04 ± 0,01a	0,03 ± 0,01a
β-Zeacaroteno	0,03 ± 0,01a	0,02 ± 0,01a	0,04 ± 0,01a
ε-Caroteno	0,02 ± 0,00a	0,03 ± 0,01a	0,03 ± 0,00a
β-Criptoxantina	0,05 ± 0,01a	0,05 ± 0,02a	0,08 ± 0,00a
Luteína	0,28 ± 0,03a	0,20 ± 0,02a	0,22 ± 0,01a
Mutatoxantina	0,10 ± 0,01a	0,12 ± 0,01a	0,09 ± 0,01a
Carotenóides			
Totais	2,37 ± 0,12a	2,18 ± 0,03a	1,87 ± 0,08b

1- Os resultados são médias e desvios-padrão de análise em duplicata.

Valores na mesma linha, com letras diferentes, apresentam diferença significativa ao nível de 5%.

TABELA 18- Variação na composição de carotenóides durante a estocagem do licor de marolo, à temperatura ambiente.

CAROTENÓIDES	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) ¹			
	LICOR 1 (0 dia)	LICOR 1 (60 dias)	LICOR 2 (0 dia)	LICOR 2 (60 dias)
α -Caroteno	0,50 $\pm$ 0,10ab	0,20 $\pm$ 0,03b	1,20 $\pm$ 0,20a	0,60 $\pm$ 0,07a
β -Caroteno	7,00 $\pm$ 0,80b	2,21 $\pm$ 0,05a	14,00 $\pm$ 3,00b	4,41 $\pm$ 1,11ab
ζ -Caroteno	traços	traços	traços	traços
β -Zeacaroteno	traços	traços	traços	traços
β -Criptoxantina	traços	traços	traços	traços
Luteína	0,70 $\pm$ 0,40a	0,29 $\pm$ 0,08a	1,30 $\pm$ 0,30a	1,36 $\pm$ 0,26a
Mutatoxantina	0,21 $\pm$ 0,00ab	0,14 $\pm$ 0,04b	0,86 $\pm$ 0,20ab	1,07 $\pm$ 0,04a
Carotenóides				
Totais	8,04 $\pm$ 1,50a	2,84 $\pm$ 0,14b	16,89 $\pm$ 3,25a	7,49 $\pm$ 0,93a

1- Os resultados são médias e desvios-padrão de análise em duplicata.

Valores na mesma horizontal com letras diferentes apresentam diferença significativa ao nível de 5%.

4.4- Isômeros do β -caroteno e teor de vitamina A na polpa de marolo (*Annona coriaceae*) *in natura*, na geléia e no licor.

A Tabela 19 mostra as concentrações de β -caroteno antes e após a separação dos isômeros. Determinações em duplicatas dos isômeros foram feitas para os 4 últimos lotes da fruta *in natura*. Antes da separação dos isômeros, o β -caroteno, pigmento predominante, foi encontrado em concentração média de $5,09 \pm 0,81$ $\mu\text{g/g}$ nestes lotes. A soma das médias dos isômeros, após a separação, foi de $4,62 \pm 0,89$ $\mu\text{g/g}$. O trans β -caroteno predominou com 93%. Os isômeros 13-cis- β -caroteno e 9-cis- β -caroteno ocorreram, em média, em 5,5 e 1,5% do total, confirmando os resultados da literatura que apontam ambos, respectivamente, como os principais isômeros do β -caroteno em frutas e legumes (QUACKENBUSH, 1987; CHANDLER & SCHWARTZ, 1987 e O'NEIL *et alii*, 1991).

A geléia processada a partir do lote 5 de polpa de marolo *in natura* foi analisada em duplicata logo após o processamento (geléia 1) e após um período de 45 dias (geléia 2) e 90 dias (geléia 3) de estocagem a 10°C . As concentrações dos isômeros podem ser observadas na Tabela 19. Em relação a polpa de marolo *in natura*, apenas 53% do trans β -caroteno foi encontrado na geléia 1. O processamento provocou um aumento percentual mais significativo no 9-cis- β -caroteno que no 13-cis- β -caroteno, confirmando outros resultados encontrados na literatura (CHANDLER & SHWARTZ, 1987).

Após o processamento da geléia, foi encontrada uma fração de β -caroteno não identificada. Embora o λ_{max} tenha sido o mesmo encontrado para o 15-cis- β -caroteno por TSUKIDA *et alii* (1982) e O'NEIL *et alii* (1991), esta fração mostrou-se bastante significativa quando comparada com o 13-cis- e o 9-cis- β -caroteno, o que contraria os dados da literatura que têm apontado uma relação inversa entre tais concentrações.

TABELA 19- Concentração de β -caroteno, antes e após a separação dos isômeros cis, na polpa de Marolo *in natura* e na Geléia ($\mu\text{g/g}$) e no Licor($\mu\text{g/100mL}$)

PRODUTO	ANTES DA SEPARAÇÃO DE ISÔMEROS		APÓS A SEPARAÇÃO DE ISÔMEROS*			
		FRAÇÃO DE β -CAROTENO	13-MONO-CIS β -CAROTENO	FRAÇÃO NÃO IDENTIFICADA	TRANS- β -CAROTENO	9-CIS-MON β -CAROTEN
Polpa	2	5,34 $\pm$ 0,29	0,41 $\pm$ 0,45	—	4,36 $\pm$ 0,33	0,12 $\pm$ 0,0
"in	3	4,37 $\pm$ 0,21	0,10 $\pm$ 0,03	—	3,75 $\pm$ 0,21	0,04 $\pm$ 0,0
natura"	4	6,30 $\pm$ 0,04	0,21 $\pm$ 0,01	—	5,56 $\pm$ 0,20	0,06 $\pm$ 0,0
	5	4,34 $\pm$ 0,56	0,29 $\pm$ 0,01	—	3,47 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,0
	1	1,67 $\pm$ 0,09	0,13 $\pm$ 0,02	0,38 $\pm$ 0,02	0,98 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,0
Geléia	2	1,57 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,06	0,99 $\pm$ 0,05	0,06 $\pm$ 0,0
	3	1,18 $\pm$ 0,06	0,14 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,01	0,75 $\pm$ 0,07	0,07 $\pm$ 0,0
	1	2,21 $\pm$ 0,05	0,16 $\pm$ 0,02	—	1,57 $\pm$ 0,20	nd
Licor	2	4,41 $\pm$ 1,11	0,23 $\pm$ 0,05	—	3,28 $\pm$ 0,82	0,25 $\pm$ 0,0

* Separação em duplicata dos isômeros, efetuada em coluna de Ca(OH)_2 desenvolvida com éter de petróleo.

Polpa *in natura*: lotes 2, 3, 4 e 5.

Geléia 1: analisada logo após o processamento caseiro; 2: estocada por 45 dias a 10°C; 3: estocada por 90 dias à 10°C.

Licor 1: produzido sem proteção da luz; 2: produzido ao abrigo d luz - ambos analisados após 60 dias de estocagem.

Embora, segundo DAVIES (1976), a não alteração do $\lambda_{\max}$ durante a reação de isomerização cis-trans indique um isômero cis, TSUKIDA (1981) constatou a presença de uma mistura de isômeros em equilíbrio em $\lambda_{\max}$ muito próximo ao encontrado para esta fração da geléia.

Assim, embora não tenha sido possível fazer uma identificação por espectrometria de massa, em consequência da baixa concentração, é possível que esta fração se trate de uma mistura de isômeros do β -caroteno.

Os isômeros dos licores foram separados apenas após 60 dias de estocagem. As concentrações estão relacionadas na Tabela 19. A fração não identificada, detectada na geléia, não foi detectada no licor.

A Tabela 20 mostra os valores de vitamina A encontrados para a polpa de marolo *in natura*, para a geléia e para o licor.

Considerando médias de β -caroteno de frutas *in natura* não incluídas na separação de isômeros, o valor médio correspondente de vitamina A é de 122,71 RE/100g. Considerando apenas os 4 últimos lotes de frutas antes da separação dos isômeros, o valor de vitamina A encontrado é de 89,96 $\pm$ 14 RE/100g. Após a separação dos isômeros, considerando as biopotências propostas por DEUEL et alii (1944, 1945) e 4% de perdas na coluna, foi encontrado um valor médio de 82,22 $\pm$ 14 RE/100g. Esta média representa uma superestimação de 8,88%. (Figura 15). Os valores calculados a partir das biopotências obtida por SWEENEY E MARSH (1973) refletem uma superestimação média de 7,57%.

A geléia recém-processada (1) apresentou 30,06 RE/100g de vitamina A antes da separação dos isômeros. Os valores calculados, segundo as biopotências propostas por DEUEL et alii (1944, 1945) e por SWENEY e MARSH (1973), apontam uma superestimação de 30,81 e 28,44%, respectivamente.

TABELA 20- Valor de Vitamina A na polpa de marolo *in natura* (RE/100g), na geléia (RE/100g) e no licor (RE/100ml).

VALOR DE VITAMINA A *					
PRODUTO		SEM SEPARAÇÃO DE ISÔMEROS	COM SEPARAÇÃO DE ISÔMEROS		
			A	B	C
Fruta "in natura"	2	95,58	83,63	86,71	88,68
	3	76,53	67,33	69,89	70,41
	4	110,17	100,08	103,88	104,87
	5	77,57	65,95	68,38	69,64
Geléia	1 (0 dia)	30,06	20,09	20,80	21,51
	2 (45 dias)	27,57	17,50	19,61	20,09
	3 (90 dias)	22,37	16,85	17,42	18,21
Licor	1 (0 dia)	1,22	—	—	—
	1 (60 dias)	0,40	0,30	0,31	0,32
	2 (0 dia)	2,44	—	—	—
	2 (60 dias)	0,78	0,62	0,64	0,67

* Resultados calculados a partir de médias de análise em duplicata (para a polpa de marolo *in natura* foram considerados os 4 últimos lotes).

Licor 1: produzido sem proteção da luz; 2: produzido ao abrigo da luz.

A - Valor de vitamina A calculado com os valores de biopotências propostos por DEUEL et alii (1944, 1945) et alii (1944, 1945)

B e C- Valor de vitamina A calculado com os valores de biopotências propostos por DEUEL et alii (1944, 1945) et alii (1944, 1945) e SWEENEY e MARSH (1973), respectivamente, corrigido com perda média de 4% nas colunas de Ca(OH)₂.

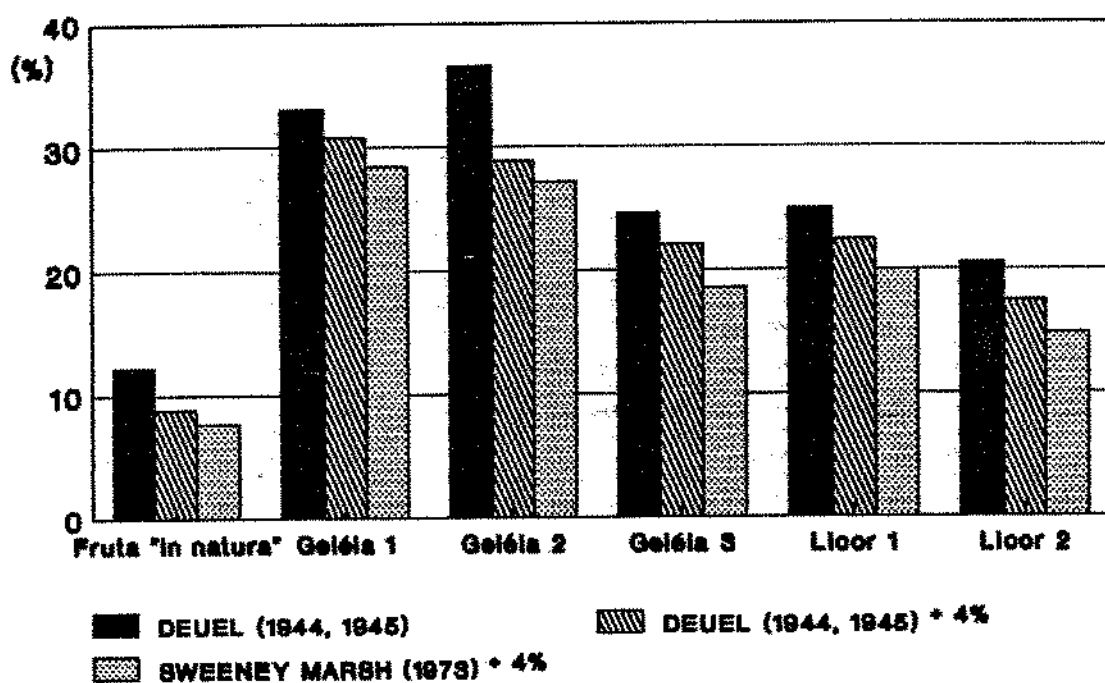


FIGURA 15- Superestimação dos valores de vitamina A calculados segundo biopotências propostas por DEUEL et alii (1944, 1945) e por SWEENEY e MARSH (1973).

Os licores processados com exposição à luz e ao abrigo desta apresentaram valores muito pouco significativos de vitamina A (1,22 e 2,44 RE/100mL, respectivamente).

Embora tenha sido observada uma redução discreta entre as médias dos valores de vitamina A durante os períodos de estocagem, nenhuma geléia apresentou diferença significativa entre os valores durante este período.

Houve diferença significativa nos valores médios de vitamina A apenas entre os os licores 2 (recém-processado ao abrigo da luz) e 1 (produzido e estocado por 60 dias sem proteção da luz).

4.5- Composição do Óleo da Semente e da Polpa do Marolo

A Tabela 21 mostra o teor de lipídios e umidade na polpa e na semente de marolo.

A semente possui um teor relativamente elevado de óleo (45 % do peso seco) o que permite, inclusive, extração por prensagem contínua (Expeller).

O processo de extração com solvente, em escala semi-piloto, apresentou um rendimento de 90 %. O aroma do óleo é característico e agradável, provavelmente devido à presença de terpenos (FERRARI & PELIZZONI, 1971 e MUSSINI *et alii*, 1973). Possui coloração amarelada atraente que provavelmente está relacionada com a presença de carotenóides.

A Tabela 22 mostra as características físicas e químicas do óleo da semente.

O baixo índice de acidez mostra um óleo de boa qualidade. O índice de peróxido, embora tenha apresentado resultados aceitáveis, pode ter sido influenciado por exposições relativamente longas do óleo em temperaturas ligeiramente elevadas, com o intuito de eliminar possível teor residual de água.

O índice de saponificação obtido mostra-se coerente com a composição dos ácidos graxos (Tabela 23). O índice de iodo apresenta um óleo com insaturação intermediária, em cuja composição predominam os glicerídeos derivados do ácido oléico e linoléico.

O teor de fósforo no óleo bruto revela a presença de quantidades razoáveis de fosfolipídeos que podem ser eliminados pela degomagem.

TABELA 21- Teores de umidade e de teor de lipídios (base seca) na polpa e na semente de marolo¹.

AMOSTRA	UMIDADE (%)	DP	CV (%)	TEOR DE LIPÍDIOS (%)	DP	CV (%)
Polpa	77,9	0,2	0,2	11,8	0,1	1,1
Semente	24,7	0,2	0,9	45,4	0,4	0,9

1- Os resultados são médias de determinações em duplicata.

TABELA 22- Determinações físicas e químicas do óleo da semente de marolo.

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS	ÓLEO DA SEMENTE	DP	CV (%)
Teor de ácidos graxos livres (como ácido oléico, %) ¹	0,17	0,01	5,58
Índice de peróxidos (mEq/1000g) ¹	2,70	0,04	1,48
Índice de iodo ¹	109,79	0,25	0,23
Índice de saponificação ¹	180,31	0,82	0,46
Fósforo (mg/kg) ¹	151,32	1,90	1,26
Viscosidade ² (mPa.s 40°C)	32,62	0,01	0,03
Densidade (40°C)	0,904	—	—
Índice de refração (39,5°C)	1,40298	—	—
Índice de iodo calculado	110,73	—	—
Cor	10Y 1,2R 0,3B	—	—

1- Os resultados são médias de determinações em duplicata.

2- O resultado é a média de 6 determinações.

A densidade, a viscosidade e o índice de refração correspondem às características naturais referentes à composição do óleo.

A Figura 16 mostra os cromatogramas 1 e 2 referentes aos ácidos graxos dos óleos da semente e da polpa do marolo, respectivamente. A Tabela 23 mostra a composição química, em ácidos graxos, destes dois óleos.

Com 50 % de ácido oléico e 34 % de ácido linoléico, o óleo da semente apresenta-se similar ao óleo de amendoim. A comparação entre a composição de ácidos graxos destes dois óleos pode ser vista na Figura 17. Foi observada, ainda, uma estreita semelhança do óleo da semente do marolo com os óleos da semente do araticum da arêa e da graviola, estudados por NGIEFU et alii (1976) no Zaire.

A composição e as características físicas e químicas obtidas mostram que é possível produzir um óleo de boa qualidade, com grande potencial no mercado de óleos finos. No entanto, a presença de alcalóides ainda precisa ser melhor estudada. A eliminação destes compostos poderia ser experimentada pelo refinamento ou extração por prensagem contínua.

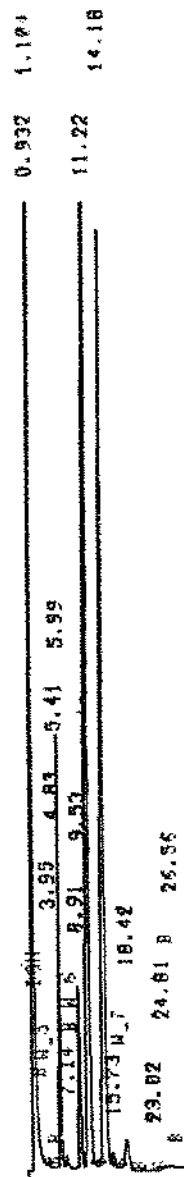
A torta resultante da extração do óleo com certeza não deverá ser utilizada no preparo de rações para alimentação animal. Isto se deve a presença de alcalóides, cuja eliminação provavelmente não resultaria em um produto economicamente competitivo no mercado. Entretanto o alto teor de minerais (4,8 % de cinzas - 360 mg/100g de fósforo) e de nitrogênio total (6 %) podem estimular a sua utilização como adubo orgânico.

A polpa apresenta um pequeno potencial oleífero comparado com a semente. O alto teor de umidade constitui um dos obstáculos à sua exploração industrial, pois favorece a hidrólise do óleo além de dificultar a sua extração.

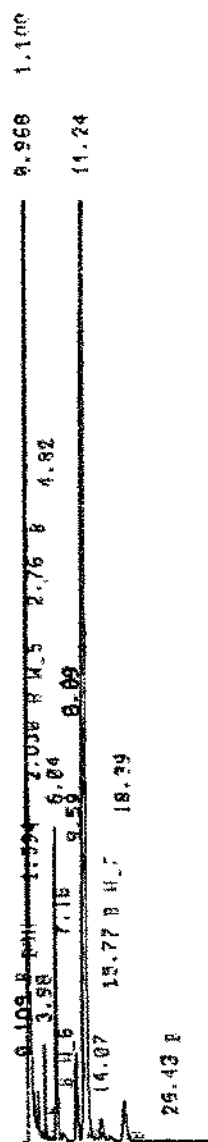
No entanto, a título de comparação, a Figura 18 insere dados referentes à composição química do óleo de oliva. Existe uma similaridade entre os óleos, sobretudo quanto ao teor de ácido oléico. Mas a presença de aproximadamente 3% de ácido linolênico no óleo da polpa de marolo representa uma diferença marcante do ponto de vista tecnológico e de conservação.

TABELA 23- Composição química, em ácidos graxos, do óleo da polpa e da semente de marolo.

ÁCIDOS GRAXOS	ÓLEO DA SEMENTE	ÓLEO DA POLPA
Láurico	—	2,9
Mirístico	0,1	1,9
Miristoléico	traços	0,1
Palmítico	8,1	9,5
Palmitoléico	0,3	0,2
Esteárico	5,6	4,2
Oléico	49,5	76,0
Linoléico	33,5	1,4
Linolênico	1,7	3,2
Araquidônico	0,8	—
Não identificado	0,2	—
Saturados	14,6	18,7
Insaturados	85,0	80,9

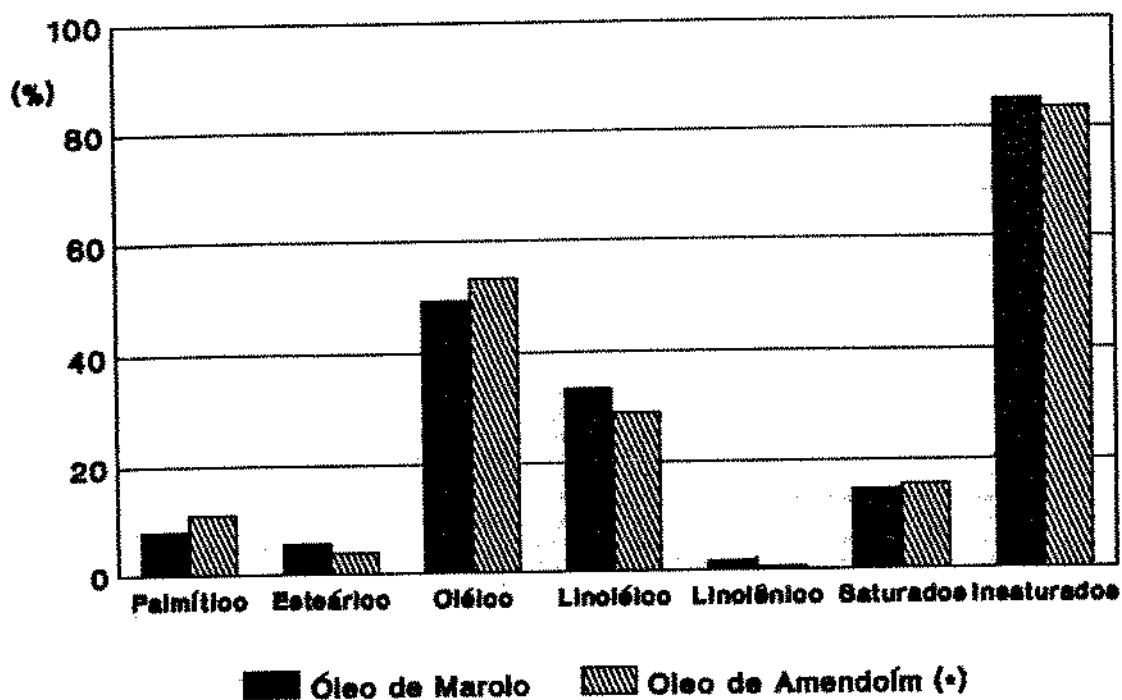


(1)



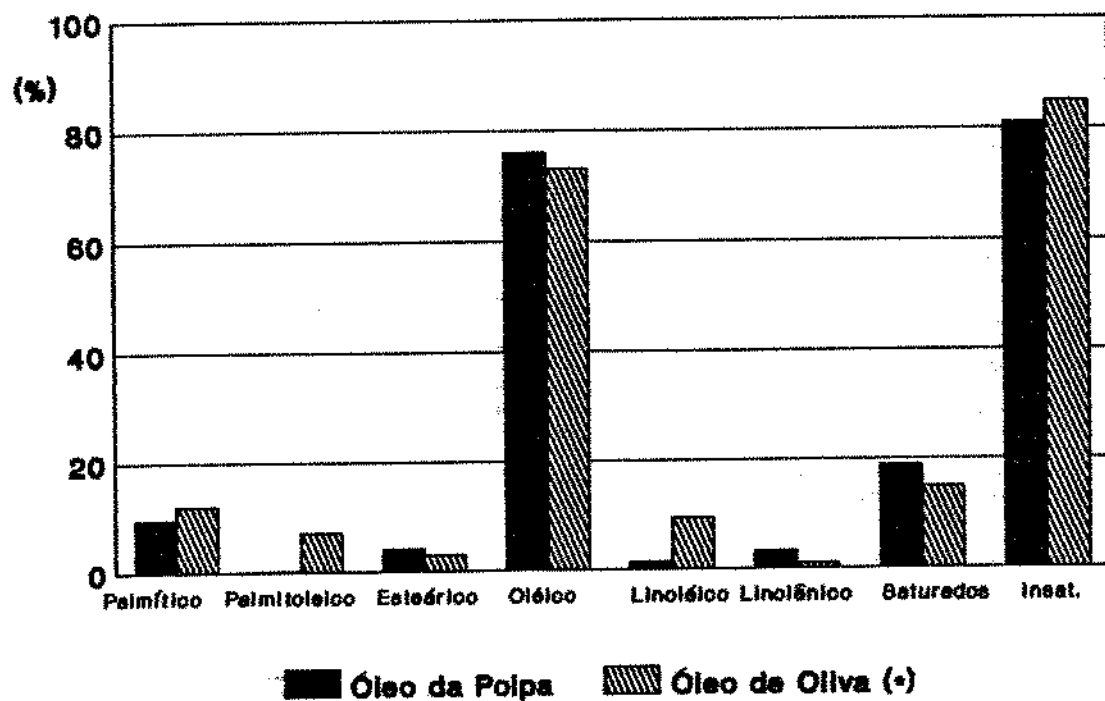
(2)

FIGURA 16- Cromatogramas 1 e 2 referentes à separação dos ácidos graxos dos óleos da semente e da polpa de marolo, respectivamente.



(*) Segundo GUNSTONE et alii (1986)

FIGURA 17- Comparação entre os teores de ácidos graxos presentes no óleo da semente de marolo e no óleo de amendoim.



(*) Segundo GUNSTONE et alii (1986)

FIGURA 18- Comparação entre os teores de ácidos graxos presentes no óleo da polpa de marolo e no óleo de oliva.

5- CONCLUSÕES

1- Teores proporcionalmente elevados em carboidratos (11,3 % de açúcares redutores e 12,8 % de açúcares totais), proteína (1,1 %), lipídios (2,8 %), minerais (0,7 %) e fibras (5,2 %), quando comparado com a maioria das outras frutas, foram encontrados na polpa do marolo *in natura*.

2- O teor de vitamina C, que é baixo na polpa *in natura*, praticamente é perdido no processamento.

3- Nove carotenóides foram identificados no marolo *in natura*: α -caroteno, β -caroteno, ζ -caroteno, β -zeacaroteno, ϵ -caroteno, β -criptoxantina, violaxantina, luteína e mutatoxantina, sendo que o β -caroteno constitui o principal carotenóide (79%).

4- O processamento da geléia levou a uma perda de 25 % dos pigmentos totais. O β -caroteno foi o principal carotenóide atingido com perda de 27 %. A mutatoxantina sofreu um aumento de 40 %.

5- Houve um aumento no teor de isômeros *cis* do β -caroteno, após o processamento da geléia. O 9-*cis*- β -caroteno sofreu um aumento percentual mais significativo que o 13-*cis*- β -caroteno.

6-A estocagem da geléia teve influência significativa sobre o teor de carotenóides, apenas após 90 dias de estocagem.

7- O conteúdo dos carotenóides foi fortemente comprometido na elaboração do licor, em função da extração apenas parcial e da degradação destes pigmentos durante o período de infusão.

8- Não houve diferença entre os licores 1 (exposto à luz) e 2 (ao abrigo da luz) logo após o processamento, entretanto, após 60 dias de estocagem, o conteúdo de carotenóides foi significativamente reduzido no licor exposto à luz.

9- O processamento da geléia resultou em uma perda de 41% no valor de vitamina A. Não houve influência significativa da estocagem sobre o valor de vitamina A.

10- A semente do marolo possui um teor relativamente elevado de óleo (45 % em peso seco) o que permite, inclusive, extração por prensagem contínua. Na polpa, este teor (11,8 % em peso seco) é insuficiente para permitir a extração.

11- A presença de alcalóides no óleo da semente precisa ser melhor estudada. A eliminação destes compostos poderia ser experimentada pelo refinamento ou extração por prensagem contínua.

5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, P. A., SILVA, J. A. & RIBEIRO, J. F. -
Aproveitamento Alimentar de Espécies Nativas dos Cerrados:
Araticum, baru, cagaita e jatobá. In: Planaltina.
Brasília, EMBRAPA - CPAC, 1987. p. 10-21.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. - Official and Tentative
Methods of the American Oil Chemists Society. Chicago.
3th ed., 1988.
- ANON. - Comercialização de Frutas Tropicais Brasileiras.
Fundação Getúlio Vargas, Rio de Janeiro, 1975. 142p..
- ANON - Fats, Oils, and Fat Substitutes. Food Tech.
43(7): 66-72, 1989.
- ANON. - Gourmet Oils in 1990s. INFORM (AOCS), 2(2): 93-112,
1991.
- ANON. - Monounsaturates Sales Grow. INFORM (AOCS), 3(6):
666-686, 1992.
- ARIMA, H. K. - Composição de Carotenóides de Curcubitáceas
Brasileiras. Campinas, 1987. Tese (Mestre em Ciências
de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos,
Universidade Estadual de Campinas.
- BAUERNFEIND, J. C. - Carotenoid Vitamin A Precursors and
Analogues in Foods and Feeds. J. Agr. Food Chem. 20(3):
456-473, 1972.
- BENDICH, A. - Symposium Conclusions: Biological Actions of
Carotenoids. J. Nutr., 119: 135-136, 1989.

- BROSSARD, J. & MACKINNEY, G. The Carotenoids of *Diospyros Kaki* (Japanese Persimmons). J. Agric. Food Chem. 11(6): 501-503, 1963.
- BURTON, G. W. - Antioxidant Action of Carotenoids. J. Nutr. 119: 109-111, 1989.
- CASTRO, J. - Geografia da Fome: a fome no Brasil. Rio de Janeiro, O Cruzeiro, 1948. 404p..
- CAVALCANTE, M. L. - Composição de Carotenóides e Valor de Vitamina A em Pitanga (*Eugênia uniflora*) e Acerola (*Malpighia glabra* L). Rio de Janeiro, 1991. 86p. Tese (Mestre em Nutrição Humana) - Instituto de Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- CECCHI, H. M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. - Carotenoid Composition and Vitamin A Value of Fresh and Pasteurized Cashew-Apple (*Anacardium occidentale* L.) Juice. J. Food Sci., 46(1): 147-149, 1981.
- CHANDLER, L. A. & SCHWARTZ, S. J. - HPLC Separation of cis-trans Carotene Isomers in Fresh and Processed Fruits and Vegetables. J. Food Sci., 52(3): 669-672, 1987.
- CORTNER, W. A. & SINGLETON, V. L. - Carotenoid Pigments of Pineapple Fruit. II. Influence of Fruit Ripeness, Handling and Processing on Pigment Isomerization. J. Food Sci., 31: 53-55, 1966.
- CURL, A. L. - The Carotenoids of Muskmelons. J. Food Sci. 26: 759-761, 1961.
- DAVIES, B. H. - Carotenoids. In: Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Academic Press, Londres, 2nd. ed., 1976.

- DEUTSCHE EINHEITSMETHODEN ZUR UNTERSUCHUNG VON FETTEN,
FETTPRODUKTEN, TENSIDEN UND VERWANDTEN STOFFEN. - DGF -
Einheitsmethoden. Parte C - Fette. Germany. 1984.
- DEUEL, H. J.; JOHNSTON, C.; MESERVE, E. R.; POLGAR, A. &
ZECHMEISTER, L. - Stereochemical Configuration and
Provitamin A Activity IV. Neo- α -carotene B and Neo- β -
-carotene B. Arch. Biochem., 7: 247-255, 1945.
- DEUEL, H. J.; JOHNSTON, C.; SUMMER, E.; POLGAR, A. &
ZECHMEISTER, L. - Stereochemical Configuration and
Provitamin A Activity I. All-trans- β -carotene and Neo- β -
-carotene U. Arch. Biochem., 5: 107, 1944.
- DI MASCIO, P.; KAISER, S. & SIES, H. - Lycopene as the Most
Efficient Biological Carotenoid Singlet Oxygen Quencher.
Arch. Bioch. Bioph., 274(2): 532-538, 1989.
- DI MASCIO, P.; MURPHY, M. E. & SIES H. - Antioxidant
Defense Systems: the Role of Carotenoids, Tocopherols,
and Thiols. Am. J. Clin. Nutr., 53: 194S-200S, 1991.
- DUCKWORTH, R. B. - Frutas y Verduras. Zaragoza, Editorial
Acribia, 1968. 304p.
- FERRARI, M.; PELIZZONI, F. & FERRARI, G. - New Diterpenoids
with Clerodane skeleton. Phytochemistry, 10: 3267-3269,
1971.
- FERREIRA, M. B. - Frutos Comestíveis do Distrito Federal -
III Piqui, Mangabá, Marolo e Mamãozinho. Cerrado, 5(20):
22-25, 1973.
- FRANCO, G. - Tabela de Composição Química dos Alimentos.
Rio de Janeiro, Atheneu, 1992. 230p..

- GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. - Changes in individual carotenoids on processing and storage of mango (*Mangifera indica*) slices and purée. *Int. J. Food Sci. Technol.* 22(5): 451-460, 1987.
- GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. - Carotenoid Composition of Commercial Mangoes from Brasil. *Lebensm. - Wiss. u. - Technol.*, 22(3): 100-103, 1989.
- GOLDMAN, M.; HOREV, B. & SAGUY I. - Decolorization of β -Carotene in Model Systems Simulating Dehydrated Foods. Mechanism and Kinetic Principles. *J. Food Sci.*, 48: 751-754, 1983.
- GOODWIN, T. W. - Distribution of carotenoids. In: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. 2nd ed. TW. Goodwin (Ed.), Londres, Academic Press, 1976.
- GROSS, J.; GABAI, M. & LIFSHITZ, A. - Carotenoids in Pulp, Peel and Leaves of *Persea americana*. *Phytochemistry*, 12: 2259-2263, 1973.
- GROSS, J. - Carotenoid Changes in the Juice of the ripening Dancy Tangerine (*Citrus reticulata*). *Lebensm. - Wiss. u. - Technol.*, 15: 36-38, 1982.
- GROSS, J. - *Pigments in Fruits*. Londres, Academic Press, 1987. 303p.
- GUNSTONE, F. P.; HARWOOD, J. L. & PADLEY, F. B. *The Lipid Handbook*. Londres, Chapman and Hall, 1986. 571p.
- HANSEN, H. - Constituents of Fruits - Proteins. In: HULME, A. C. *The Biochemistry of Fruits and their Products*. Londres, Academic Press, 1970. p. 147-157.

- HARTMAN, L. & LAGO, R. C. A. - Rapid Preparation of Fatty Acid Methyl Esters from Lipids. Lab. Pract., 22(8):475-476, 1973.
- HELDRICH, K. (ed). - Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOAC, Washington, D.C., U.S.A. 15th ed., 1990.
- HORWITZ, W (ed). - Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOAC, Washington, D.C., U.S.A. 13th ed., 1980, 1018p.
- HUNG-EN, C. & BREENE, W. M. - Oxidative decoloration of β -carotene in low-moisture model systems. J. Food Sci. 37: 66-68, 1972.
- JACOB, J.; SUBBARAYAN, C. & CAMA, H. R. - Carotenoids in 3 stages of ripening of mango. J. Food Sci. 35: 263-265, 1970.
- JUNGALWALA, F. B. & CAMA, H. R. - Carotenoids in Mango (*Mangifera indica*) Fruit. Indian J. Chem., 1: 36-40, 1963.
- KANASAWUD, p. & CROUZET, J. C. - Mechanism of Formation of volatile Compounds by Thermal Degradation of Carotenoids in Aqueous Medium. 1. β -Carotene Degradation. J. Agric. Food Chem., 38: 237-243, 1990.
- KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. & YOKOYAMA, S. M. - Cultivar Differences and Geographic Effects on the Carotenoid Composition and Vitamin A Value of Papaya. Lebensm. - Wiss. u. - Technol., 24(5): 415-418, 1991.
- KRAUSE, M. V. & MAHAN, L. K. - Alimentos, Nutrição & Dietoterapia. São Paulo, Roca, 1985.

- KRINSKY, N. I. - Antioxidants Functions of Carotenoids. *Free Rad. Biol. Med.* 7: 617-635, 1989 a.
- KRINSKY, N. I. - Carotenoids as Chemopreventive Agents. *Prev. Med.* 18:592-602, 1989 b.
- KRINSKY, N. I. - Effects of Carotenoids in Cellular and Animal Systems. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53: 238S-246S, 1991.
- MAG, T. K. - Canola Oil Processing in Canada. *JAACS*, 60(2): 332A-336A, 1983.
- MAPSON, L. W. - Constituents of Fruits - Vitamins in Fruits. In: HULME, A. C. *The Biochemistry of Fruits and their Products*. Londres, Academic Press, 1970. p. 369-383.
- MARIATH, J. G. R; LIMA.; M. C. C. & SANTOS, L. M. P. - Vitamin A activity of buriti (*Mauritia vinifera* Mart) and its effectiveness in the treatment and prevention of xerophthalmia. *Am. J. Clin. Nutr.*, 49: 849-853, 1989.
- MATHEUS-ROTH, M. M.; PATHAK, M. A.; FITZPATRICK, T. B.; HARBER, L. H. & KASS, E. H. - β -Carotene Therapy for Erythropoietic Protoporphyria and other Photosensitivity Diseases. *Arch. Dermatol.*, 113: 1229-1232, 1977.
- MAZLIAK, P. - Constituents of Fruits - Lipids. In: HULME, A. C. *The Biochemistry of Fruits and their Products*. Londres, Academic Press, 1970. p. 209-237.
- MENEZES, H. C. & DRAETTA, I. S. - Bioquímica das Frutas Tropicais. In: *Frutas Tropicais 10. Aspectos Tecnológicos*. Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1980. p. 9-64.

- MERCADANTE, A. Z. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. - Avaliação da Composição de Ácidos Graxos de Óleos Comestíveis. Bol. SBCTA, 20(1/2): 29-40, 1986.
- MIC-SIT. - Produção de Combustíveis Líquidos a partir de Óleos Vegetais. Brasília, Coord. de Inform. Tecnol. Serv. de Edit. 1985. 364p.
- MORGAN, R. C. - The Carotenoids of Queensland Fruits - Carotenes of the Watermelon (*Citrullus vulgaris*). J. Food Sci., 32: 275-278, 1967.
- MUSSINI, F. O. & FERRARI, G. - Constituents of *Annona coriacea*. The Structure of a New Diterpenoid. J. Chem. Soc., Perkin Trans., 1(21): 2551-2557, 1973.
- NGIEFU, C. K.; PAQUOT, C. & VIEUX, A. - Les Plantes à Huile du Zaïre II. - Familles Botaniques Fournissant des Huiles d'insaturation Moyenne. Oléagineux, 31(12):545-547, 1976.
- OLSON, J. A. - Provitamin A Function of Carotenoids: the Conversion of β -Carotene into Vitamin A. J. Nutr. 119: 105-108, 1988.
- OLSON, J. A. - Biological Actions of Carotenoids. J. Nutr. 119: 94-95, 1989.
- O'NEIL, C.; SCHWARTZ, J. S. & CATIGNANI, G. L. - Compararison of Liquid Chromatographic Methods for Determination of cis-trans Isomers of β -Carotene. J. AOAC, 74(1): 36-42, 1991.
- PADULA, M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. - Characterisation of the Carotenoids and Assessment of the Vitamin A Value of Brazilian Guavas (*Psidium guajava* L.). Food Chem., 20(1): 11-19, 1986.

- PADULA, M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. - Changes in Individual Carotenoids and Vitamin C on Processing and Storage of Guava Juice. *Acta. Aliment.*, 16(3): 209-216, 1987.
- PESEK, C. A. & WARTHESEN, J. J. - Photodegradation of Carotenoids in a Vegetable Juice System. *J. Food Sci.*, 52(3): 744-746, 1987.
- PESEK, C. A. & WARTHESEN, J. J. - Characterization of the Photodegradation of β -Carotene in Aqueous Model Systems. *J. Food Sci.* 53 (5): 1517-1520, 1988.
- PHILIP, T. & TUNG-SHAN, C. - Quantitative Analyses of Major Carotenoid Fatty Acid Esters in Fruit by Liquid Chromatography: Persimmon and Papaya. *J. Food Sci.* 53(6): 1720-1745, 1988.
- QUACKENBUSH, F. W., - Reverse Phase HPLC Separation of cis and trans-Carotenoids and its Application to β -carotenes in Food Materials. *J. Liq. Chrom.*, 10(4): 643-653, 1987.
- RAMAKRISHNAN, T. V. & FRANCIS, F. J. - Stability of Carotenoids in Model Aqueous Systems. *J. Food Qual.*, 2: 177-189, 1979.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; RAYMUNDO, L. C.; LEE, T. C.; SIMPSON, K. L. & CHICHESTER, C. O. - Carotenoids pigments changes in ripening *Momordica charantia*. *Ann. Bot.*, 40:615-624, 1976.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. - Os Carotenóides como Precursores de Vitamina A. *Bol. SBCTA*, 19(4): 227-242, 1985.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. & KIMURA, M. - Carotenóides e Valor de Vitamina A em Cajá (*Spondias lutea*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 9:(2): 148-162, 1989.

- RONCADA, M. J.; WILSON, D.; MAZZILLI, R. N. & GANDRA, Y. R.
- Hipovitaminose A em Comunidades do Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Saúde Públ., 15: 338-349, 1981.
- SANTAMARIA, L. & BIANCHI, A. - Cancer Chemoprevention by Supplemental Carotenoids in Animals and Humans. Prev. Med., 18: 603-623, 1989.
- STÄHELIN, H. B.; GEY, K. F.; EICHHOLZER, M. & ÜDIN, E.
- β -Carotene and Cancer Prevention: the Basel Study. Am. J. Clin. Nutr., 53: 265S-269S, 1991.
- STEWART, I. - Provitamin A and Carotenoid Content of Citrus Juices. J. Agric. Food Chem., 25(5): 1132-1137, 1977.
- SWEENEY, J. P. & MARSH, A. C. - Separation of Carotene stereoisomers in vegetables. J. A.O.A.C., 53:937, 1970.
- SWEENEY, J. P. & MARSH, A. C. - Liver Storage of Vitamin A in Rats Fed Carotene Stereoisomers. J. Nutr., 103: 20-25, 1973.
- TAVARES, C. A. - Composição de Carotenóides e Valor de Vitamina A em Tomate, Milho, Pêssego e seus Produtos Processados. Campinas, 1991. 126p. Tese (Mestre em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas.
- TSUKIDA, K.; SAIKI, K. & SUGIURA, M. - Strutural Elucidation of the Main cis- β -Carotenes. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 27: 551-561, 1981.
- TSUKIDA, K.; SAIKI, K.; TOMOKO, T. & YASUSHI, K. - Separation and determination of cis/trans- β -carotenes by high-performance liquid chromatography. J. Chrom. 14: 989-992, 1982.

TYIHAK, E. - Eine neue spezifische Farbreaktion zum papier- und dunnschichtchromatographischen Nachweis des Adenins. J. Chrom., 14: 125, 1964.

van SOEST, P. J. & WINE, R. H. - Use of detergents in the analysis of fibrous feeds IV determination of Plant Cell-wall constituents. J. AOAC, 50: 50-55, 1967.

ZIEGLER, R. G. - Vegetables, Fruits, and Carotenoids and the Risk of Cancer. Am. J. Clin. Nutr., 53: 251S-259S, 1991.

WHITING, G. C. - Constituents of Fruits - Sugars. In: HULME, A. C. The Biochemistry of Fruits and their Products. Londres, Academic Press, 1970. p. 1-27.