



**Universidade de Brasília  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Departamento de Nutrição  
Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana**

**JULIANA PEREIRA FARIA**

**COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES NO COQUINHO-AZEDO  
(*BUTIA CAPITATA* (MART.) BECC. VARIEDADE *CAPITATA*)**

BRASÍLIA  
2008

**JULIANA PEREIRA FARIA**

**COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES NO COQUINHO-AZEDO  
(*BUTIA CAPITATA* (MART.) BECC. VARIEDADE *CAPITATA*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito para obtenção do título de Mestre em Nutrição Humana.

**Orientadora:** Profa.Dra. Egle M. Almeida Siqueira  
**Coorientadora:** Dra. Tânia da Silveira Agostini-Costa

BRASÍLIA  
2008

**JULIANA PEREIRA FARIA**

**COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES NO COQUINHO-AZEDO  
(*BUTIA CAPITATA* (MART.) BECC. VARIEDADE *CAPITATA*)**

Dissertação defendida no Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, para obtenção do grau de Mestre. Foi defendida e aprovada em 08 de agosto de 2008, pela seguinte Banca Examinadora:

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Egle Machado de Almeida Siqueira**

Presidente – Departamento de Biologia Celular  
Instituto de Ciências Biológicas – Universidade de Brasília

---

**Dr<sup>ª</sup>. Tânia da Silveira Agostini-Costa**

Pesquisadora  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia -Brasília-DF

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sandra Fernandes Arruda**

Departamento de nutrição – Faculdade de Ciências da Saúde  
Universidade de Brasília

## **AGRADECIMENTOS**

Uma vez concluído este projeto, cabe destacar o apoio fundamental de pessoas que contribuíram, através de apoio direto ou simplesmente pela compreensão e colaboração em momentos importantes da sua execução.

À Doutora Tânia da Silveira Agostini-Costa, obrigada por me conduzir neste trabalho e também pelos estímulos e incentivos.

A minha orientadora, Egle Machado de Almeida Siqueira, obrigada por ter aceitado me orientar. Sua presteza e praticidade foram certamente fundamentais para a conclusão desta dissertação.

Aos meus pais, Jairo e Joyce, agradeço pelo apoio não somente nesta fase, mas durante toda a minha vida de dedicação aos estudos, por terem fornecido suporte completo e incondicional, e também por terem sido uma referência de bons exemplos e condutas.

Aos meus irmãos, Fausto e Rômulo, obrigada pela solicitude e colaboração direta em partes cruciais na elaboração desta dissertação.

Ao Raul, pela grande ajuda, além do carinho e compreensão.

Aos amigos, obrigada pelo incentivo e apoio.

À Universidade de Brasília e ao Programa Biodiversidade Brasil-Itália, os quais viabilizaram a concretização deste trabalho, obrigada pelo financiamento do projeto.

## RESUMO

O desconhecimento sobre as espécies frutíferas nativas do Brasil resulta na desvalorização de nosso patrimônio, representado pela biodiversidade. Modelos agrícolas que promovem o cultivo de espécies exóticas por meio de monoculturas tem efeitos ecológicos e econômicos, pouco sustentável, aumentando o risco de extinção das espécies nativas. A identificação e caracterização da biodiversidade encontrada em nossos biomas, bem como a determinação do seu potencial econômico é fundamental para o desenvolvimento sustentável do país. O coquinho-azedo (*Butia capitata*) é uma palmeira oriunda da América do Sul, cuja polpa amarela do fruto produz suco, geléia e licor apreciados e comercializados pela população. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição em carotenóides e o potencial valor pró-vitamina A na polpa do coquinho-azedo. A separação e quantificação foram realizadas por cromatografia em coluna de óxido de magnésio / hyflosupercell e espectrofotometria. A concentração média de carotenóides totais foi de 36,1 µg/g de polpa. O β-caroteno (16,1 µg/g) foi o carotenóide predominante na composição da polpa, seguido do fitoeno (5,7 µg/g), policis-γ-caroteno (4,7 µg/g), fitoflueno (4,4 µg/g), γ-caroteno (2,9µg/g), ζ-caroteno e α-criptoxantina (0,8 µg/g), γ-γ-caroteno (0,7 µg/g) e α-caroteno (0,1µg/g). Uma análise qualitativa, utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência, sem réplicas, também foi efetuada visando a confirmação da identidade dos respectivos carotenóides. Considerando a composição total de carotenóides provitamínicos A, a ingestão de 100g da polpa do coquinho-azedo (146 RAE) poderá suprir cerca de 40 % das necessidades diárias de vitamina A para crianças menores de oito anos. Os altos teores de carotenóides provitamínicos A encontrados na polpa do coquinho-azedo oferecem excelente perspectiva no sentido de combater a hipovitaminose em regiões com semelhantes condições climáticas no mundo, de forma sustentável.

**Palavras-chave:** Coquinho-azedo. *Butia capitata*. β-caroteno. Carotenóides. Vitamina A. Hipovitaminose A.

## ABSTRACT

The lack of knowledge about native fruit of Brazil results in the depreciation of our patrimony, represented by our biodiversity. Agriculture models, that promote the cultivation of exotic species through monoculture, has economic and ecologic effects, few sustainable, raising the risk of extinction of native species. The identification and characterization of biodiversity founded in our biomes, as well as the determination of its economic potential, are essential to the sustainable development of the country. The jelly palm (*Butia capitata*) is a palm that comes from South America. The yellow pulp of this fruit produces juice, jelly and liquor appreciated and traded by the population. The objective of this work was to determinate the carotenoids composition of jelly palm and its potential vitamin A value. The isolation and quantification of carotenoids were carried out by chromatography in magnesium oxide column / hyflosupercell and spectrophotometer. The total carotenoids mean concentration was 36.1 µg/g of pulp. The β-carotene (16.1 µg/g) was predominant in the jelly palm pulp composition, followed by the phytofluene (5.7 µg/g), polycis-γ-carotene (4,7 µg/g), phytoene (4.4 µg/g) , and ), γ-carotene (2.9µg/g), ζ-carotene and α-cryptoxantin (or zeinoxanthin) (0.8 µg/g), γ-γ-carotene (0.7 µg/g) e α-carotene (0.1µg/g). High pressure liquid chromatography (HPLC), without replica, was also utilized to confirm presence of all carotenoids in the jelly palm pulp. Considering the total composition of carotenoids found in the pulp of the jelly palm, the consumption of 100g of this pulp (146 RAE) will be able to supply around 40% of the daily needs of vitamin A for infants less than eight years. The high contents of pro vitamin A carotenoids found in this fruit pulp offer an excellent perspective in the sense of fight vitamin A deficiency in the regions with same climatic condition in the world.

**Key words:** Jelly palm. Brazilian cerrado fruit. Carotenoid. *Butia capitata*.. Vitamin A

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	8
PARTE I.....	9
1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	10
2.1 Coquinho-azedo .....	10
2.2 Hipovitaminose A.....	12
2.3 Função no organismo.....	13
2.4 Estrutura química dos carotenóides.....	13
2.5 Carotenóides no organismo .....	16
2.6 Fatores de conversão.....	17
2.7 Biodisponibilidade .....	18
2.8 Fontes ricas em carotenóides.....	20
3 OBJETIVO .....	23
3.1 Objetivos específicos .....	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS .....	24
Coleta e preparo das amostras .....	24
Extração de carotenóides .....	24
Saponificação .....	25
Separação dos carotenóides em coluna aberta .....	25
Identificação e quantificação dos carotenóides.....	26
Identificação de carotenóides hidroxilados .....	26
Reações Específicas .....	26
Identificação da configuração de cada carotenóide.....	26
Identificação de carotenóides com grupo epóxido .....	27
Identificação de cetocarotenóide ou apocarotenal.....	27
Separação dos carotenóides pela cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	27
Cálculo do valor de Pró-vitamina A.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
PARTE II.....	36
7 ARTIGO CIENTÍFICO.....	36
PARTE III.....	49
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
9 PERSPECTIVAS .....	50
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA .....	51
APÊNDICE - Espectros obtidos em CLAE.....	55

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Fruto do coquinho-azedo.....	10
Figura 02 - Palmeira do coquinho-azedo. ....	11
Figura 03 - Esquema da biossíntese de carotenóides .....	14
Figura 04 - Separação cromatográfica dos carotenóides do coquinho-azedo.....	25
Figura 05- Estrutura química do fitoeno .....	29
Figura 06 - Estrutura química do fitoflueno .....	29
Figura 07 - Estrutura química do $\alpha$ -caroteno.....	29
Figura 08 - Estrutura química do $\beta$ -caroteno.....	29
Figura 09 - Estrutura química do $\zeta$ -caroteno .....	29
Figura 10 - Estrutura química do $\gamma$ -caroteno .....	29
Figura 11 - Estrutura química do $\gamma\gamma$ - caroteno .....	30
Figura 12 - Estrutura química da $\alpha$ -criptoxantina .....	30
Figura 13 - Estrutura química da zeinoxantina .....	30
Figura 14 - Espectro de absorção do fitoeno .....	31
Figura 15 - Espectro de absorção do fitoflueno.....	32
Figura 16 - Espectro de absorção do $\alpha$ -car.....	32
Figura 17 - Espectro de absorção do $\beta$ -caroteno.....	33
Figura 18 - Espectro de absorção do $\zeta$ -caroteno .....	33
Figura 19 - Espectro de absorção do policis $\gamma$ -caroteno .....	34
Figura 20 - Espectro de absorção do $\gamma$ -caroteno .....	34
Figura 21 - Espectro de absorção do $\gamma\gamma$ -caroteno.....	35
Figura 22 - Espectro de absorção da $\alpha$ -criptoxantina ou zeinoxantina.....	35
Figura 23 - Espectro do arranjo de diodos do $\zeta$ -caroteno.....	55
Figura 24 - Espectro do arranjo de diodos do cis $\zeta$ -caroteno.....	55
Figura 25 - Espectro do arranjo de diodos do policis $\gamma$ -caroteno.....	56
Figura 26 - Espectro do arranjo de diodos do $\gamma$ -caroteno.....	56
Figura 27- Espectro do arranjo de diodos do $\gamma\gamma$ -caroteno .....	57
Figura 28 - Espectro do arranjo de diodos da $\alpha$ -criptoxantina ou zeinoxantina .....	57
Figura 29 - Espectro do arranjo de diodos da Luteína .....	58
Figura 30 - Espectros dos demais compostos, não identificados, obtidos do arranjo de diodos .....	60



## PARTE I

### 1 INTRODUÇÃO

O desconhecimento sobre as espécies frutíferas nativas do Brasil não é uma realidade isolada. A desvalorização de nosso patrimônio representado pela biodiversidade é algo cultural, resultado de visões imediatistas típicas de um país em desenvolvimento. Como resultado, o modelo agrícola promove, basicamente, o cultivo de espécies exóticas por meio de monoculturas com resultados ecológicos econômicos, geralmente, pouco sustentáveis. Ao mesmo tempo aumentam as ameaças de extinção sobre as espécies nativas e, paradoxalmente, estas são prospectadas de maneira exponencial por empresas e outras instituições estrangeiras que buscam avidamente o patenteamento de nossos recursos vegetais e seus subprodutos. Para que a biodiversidade seja incorporada em nosso modelo econômico, em especial na agricultura, temos que vencer algumas barreiras. Uma delas é a desinformação sobre a existência e a importância de nossas espécies vegetais nativas (BRACK ; KINUPP ; SOBRAL, 2007).

O coquinho-azedo, *Butia capitata* (Mart.) Becc, é uma palmeira nativa do cerrado (Brazilian savannas), cujo fruto amarelo, fortemente aromático, é muito apreciado pela população do Norte de Minas Gerais, principalmente para a produção de sucos. A cor amarela do coquinho-azedo indicativo da presença de compostos carotenogênicos, foi confirmada através de uma análise preliminar, realizada em nosso laboratório (FARIA et al., 2008).

A adequação na ingestão de vitamina A poderia evitar a cada ano a morte de até 2,5 milhões de crianças, salvar da cegueira irreversível, aproximadamente 500.000 crianças; e livrar da síndrome de deficiência imunológica nutricional quase 1 bilhão de pessoas (RAMALHO; FLORES; SAUNDERS, 2002). Uma das estratégias no combate à hipovitaminose A é o incentivo à diversificação da dieta que envolve uma série de intervenções de longo prazo, destinadas a aumentar a identificação, produção, disponibilidade, consumo e biodisponibilidade de alimentos ricos em vitamina A pré-formada e carotenóides pró-vitâmicos A (WHO, 1996; RUEL, 2001). Desta forma, a determinação da composição de carotenóides no coquinho-azedo é de fundamental importância para as populações das regiões onde a palmeira é nativa, pois esta poderá constituir uma rica fonte de vitamina A e uma aliada no combate a deficiência dessa vitamina.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Coquinho-azedo

O coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*) também conhecido como butiá (figura 01), pertence a família *Palmae*. Tem uma larga distribuição na América do Sul, abrangendo o Paraguai, Argentina, Uruguai até a Bahia e Goiás, no Brasil, em áreas de cerrado ou terrenos arenosos, como dunas e restingas. O coquinho-azedo (*Butia capitata*), é uma palmeira de até 7 m, também conhecida pelos nomes de butiá-açu, butiá-azedo, butiá-branco, butiá-da-praia, butiá-de-vinagre, butiá-do-campo, butiá-miúdo, butiá-roxo, butiazeiro, cabeçudo, coqueiro-azedo, guariroba-do-campo, palma-petiza e jervá. O fruto tem 26 mm de comprimento por 11mm de diâmetro, epicarpo liso mas fibroso, amarelo brilhante quando maduro, menor que 1mm de espessura. Mesocarpo carnoso, fibroso e amarelo ca. 2 mm espessura, endocarpo lenhoso, castanho-escuro com 1-2 lóculos, ca. 3 mm espessura; sementes 1-2 (MARCATO; PIRANI,2006).



Figura 01 - Fruto do coquinho-azedo. Elaboração própria.

A polpa fortemente aromática dos frutos é muito apreciada pela população do Norte de Minas Gerais, principalmente para a produção de sucos. A colheita dos frutos, que nesta região ocorre entre os meses de novembro e fevereiro, permite a produção da polpa congelada, que também é destinada à merenda escolar, favorecendo a geração de renda, enriquecendo a alimentação das comunidades locais e estimulando a preservação da espécie.

A palmeira do coquinho-azedo (figura 02) faz parte da paisagem do cerrado e, em certos locais, é elo importante da corrente econômica que mantém populações rurais isoladas ou marginalizadas pela sociedade de consumo. O manejo adequado representa a possibilidade de uso contínuo das diferentes partes da planta (MARTINS et al., 2006).



Figura 02 - Palmeira do coquinho-azedo.

Fonte: [www.jardimdeflores.com.br/paisagismo/a27arvorespiscinas.htm](http://www.jardimdeflores.com.br/paisagismo/a27arvorespiscinas.htm)

A polpa do coquinho-azedo possui concentrações elevadas de compostos fenólicos (163-259 mg de catequina equivalente por 100g de polpa), de potássio (462 mg/100g) de fibra detergente neutro (6,2 %), que determina celulose, hemicelulose e lignina e de vitamina C (53mg de ácido ascórbico/ 100g de polpa)(FARIA et al., 2008).

A presença de carotenóides provitamínicos A, somada ao alto teor de lipídeos totais (2,6%) (FARIA et al., 2008) sugere que a polpa do coquinho-azedo possa representar uma rica fonte de vitamina A, para a população do cerrado e, em alguns estados brasileiros, onde essa palmeira é abundante, constituindo um elo importante da corrente econômica que mantém populações rurais isoladas ou marginalizadas pela sociedade de consumo.

## **2.2 Hipovitaminose A**

A hipovitaminose A acarreta xerofthalmia, cegueira e morte em milhares de crianças no mundo e constitui um dos principais problemas nutricionais de populações de países em desenvolvimento (RAMALHO; FLORES; SAUNDERS, 2002).

No Brasil, a deficiência de vitamina A foi detectada em vários Estados e, em alguns, a hipovitaminose A foi reconhecida como um problema de saúde pública, além de estar associada a 23% das mortes por diarreia em crianças (GERALDO ET AL, 2003; DOLINSKY; RAMALHO, 2003; BRASIL, 2000). Porém ainda existe uma falta de informações sobre a carência de vitamina A em várias regiões do país (VILLAR; RONCADA, 2002).

Em decorrência do alto custo dos alimentos de origem animal, as provitaminas vegetais constituem a maior porção das vitaminas dietéticas, podendo chegar a 80% nos países em desenvolvimento. Na América do Sul esse valor seria de 60% (ACC/SCN, 1993). Embora haja grande disponibilidade de frutas e hortaliças fontes de carotenóides em todo o território brasileiro, elevada prevalência de crianças com hipovitaminose A tem sido descrito em estudos regionais (AMBRÓSIO;CAMPOS;FARO, 2006; GERMANO; CANNIATTI BRAZACA, 2004, WHO,1995). O consumo insuficiente de vitamina A se deve, sobretudo, a falta de conhecimento e a não preferência pelos alimentos ricos em vitamina A, seja pelo seu custo ou hábito alimentar (SOMMER; WEST, 1996). A utilização de carotenóides pelo organismo sofre influência de outros componentes dietéticos, tais como proteínas, lipídios, vitamina E, zinco e fibras. O processamento e cozimento do alimento, assim como a existência de certas doenças, como infestações por parasitas intestinais, também influenciam na biodisponibilidade dos carotenóides (SCOTT; RODRIGUEZ-AMAYA, 2000).

### **2.3 Função no organismo**

Alguns carotenóides como o  $\beta$ -caroteno, são fontes de vitamina A, que atua em diversos processos vitais, como na manutenção da visão, na integridade do sistema imunológico, na formação e manutenção do tecido epitelial, das estruturas ósseas e dentes, na diferenciação e proliferação celular, na reprodução e no crescimento. (GERMANO; CANNIATTI BRAZACA, 2004). Outras ações biológicas são atribuídas aos carotenóides como a prevenção do envelhecimento, de doenças crônicas como o câncer, acidentes cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, danos alcoólicos ao fígado e degeneração macular. Estas atividades parecem ser independentes da atividade provitamina A e são atribuídas à propriedade antioxidante dos carotenóides, que os permite seqüestrar o oxigênio singlete e remover outros radicais livres. O efeito protetor contra o câncer se deve também à indução e estimulação da comunicação intercelular, que contribuem para regular e controlar o crescimento, diferenciação e a apoptose da célula (OLIVER ; PALOU, 2000; OLSON,1999c ; TAPIERO; TOWNSEND; TEW, 2004).

Os carotenóides são um dos mais importantes grupos de corantes naturais, pois sua extraordinária e diversificada estrutura confere propriedades as quais proporcionam funções e ações variadas em todo tipo de organismo vivo. A maior produção de carotenóides ocorre nos tecidos fotossintéticos de plantas e algas e são essenciais para a proteção contra os estragos causados pela luz e oxigênio atmosférico. Em alguns casos, a sua presença está mascarada pelo verde da clorofila. Os animais são incapazes de produzir carotenóides e os ingerem na dieta, podendo convertê-los em vitamina A, conforme suas necessidades. Alguns animais apresentam coloração devido aos carotenóides, como a pena rosa avermelhada do flamingo, peixes avermelhados e a gema do ovo de galinha. Se ingerirmos grande quantidade de carotenóides, nossa pele se tornará amarelada (OLSON, 1988; BRITTON,1995).

### **2.4 Estrutura química dos carotenóides**

Mais de 600 diferentes carotenóides ocorrem naturalmente e todos derivados do mesmo esqueleto básico de tetraterpenos (C40) formado a partir da junção de oito unidades isoprenos (C5). Essa estrutura simétrica linear tem grupos metil separados por seis átomos de carbono no centro e cinco no resto da molécula e pode ser modificada pela ciclização, para

ciclopentano ou ciclohexano em uma extremidade ou nas duas, pela hidrogenação, desidrogenação, migração da dupla ligação, encurtamento ou extensão da cadeia por clivagem oxidativa, rearranjo, isomerização, introdução de funções com oxigênio, hidroxil, ceto ou epóxi grupos ou uma combinação desses processos. Carotenóides formados por apenas hidrocarbonetos são chamados de carotenos, como o  $\beta$ -caroteno e o  $\gamma$ -caroteno, e os que contêm oxigênio, xantofilas, como a luteína e a zeinoxantina. Acetato é considerado o composto inicial na biossíntese de carotenóides, o qual se condensa com outro para formar acetoacil-CoA. O esquema de formação dos carotenóides, proposto por Bauernfeind (1972) é apresentado na figura 03.

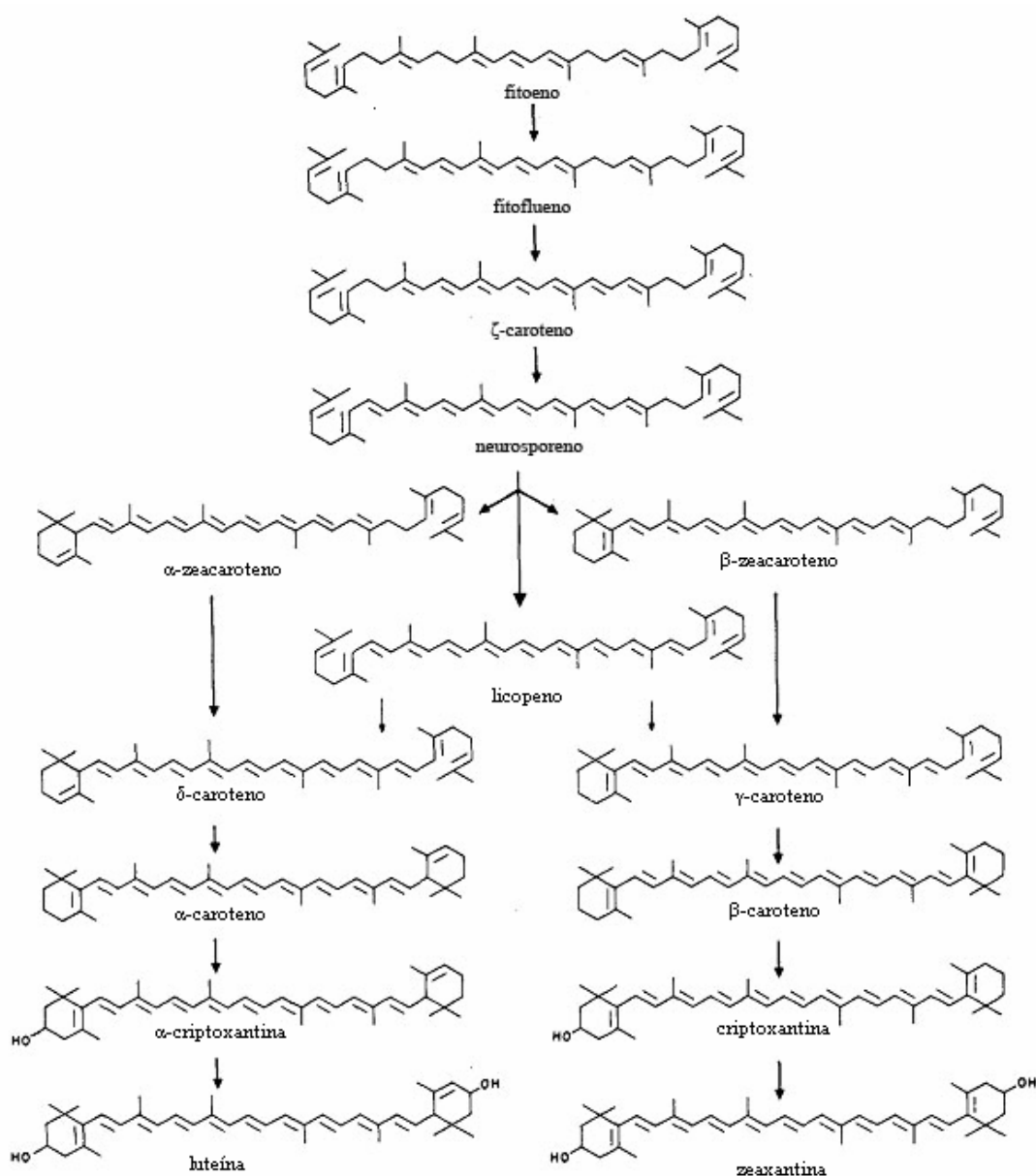


Figura 03 - Esquema da biossíntese de carotenóides.

A longa cadeia de duplas ligações constitui o cromóforo que proporciona as características espectrais que são utilizadas para sua identificação e quantificação. Esses pigmentos, na sua maioria, absorvem maximamente em três comprimentos de onda, resultando num espectro com três picos. Quanto maior o número de duplas ligações, maior é o comprimento de onda absorvido ( $\lambda_{\max}$ ) e mais intensa é a cor do carotenóide. O licopeno, por exemplo, com 11 duplas ligações, possui uma cor vermelha. Um mínimo de sete duplas ligações é necessário para que o carotenóide tenha uma cor perceptível. A presença de estruturas cíclicas altera o espectro de absorção dessas moléculas resultando na absorção dos  $\lambda_{\max}$  em comprimentos de ondas menores e picos menos definidos. O  $\beta$ -caroteno, por exemplo, com duas estruturas cíclicas, embora apresente o mesmo número de duplas ligações que o licopeno, tem uma cor alaranjada (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). A longa cadeia de duplas ligações também confere a propriedade antioxidante em que a estrutura sofre degradação oxidativa ocasionadas pela luz, calor e ácidos (BRITTON et al., 1995). Com poucas exceções, os carotenóides são moléculas hidrofóbicas pouco solúveis em água e solúveis em solventes orgânicos como, por exemplo, a acetona, o éter etílico e o clorofórmio. Já as xantofilas se dissolvem melhor em metanol e etanol (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Devido ao grande número de carotenóides naturalmente existentes nos alimentos e ao fato de serem moléculas extremamente insaturadas, o que os tornam propícios a sofrerem isomeração, oxidação e degradação durante sua análise, a identificação dos carotenóides é extremamente difícil. Outro obstáculo encontrado para avaliar as fontes de provitamina A é a ausência de definição das variedades das amostras, especialmente nos países em desenvolvimento (RODRIGUEZ-AMAYA, 1996).

A variabilidade na composição dos carotenóides se deve a fatores genéticos dos frutos e hortaliças, à influência do estágio de maturação, à presença de minerais no solo, à condições climáticas e à exposição à luz solar a qual esses vegetais sofrem amadurecimento (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001; BAURNFEIND, 1972).

Os carotenóides estão presentes na natureza em um grande número de possibilidades de isômeros geométricos, principalmente na forma *trans*. A presença de certos fatores como temperaturas elevadas, luz e ácidos pode provocar a isomeração da dupla ligação da forma *trans* para a forma *cis*. Essa isomeração causa uma perda de cor, uma diminuição do  $\lambda_{\max}$  e o aparecimento de um pico *cis* no espectro (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

## 2.5 Carotenóides no organismo

Aproximadamente 50 carotenóides podem ser convertidos em vitamina A na mucosa intestinal, fígado e em outros órgãos. A principal via de conversão é a clivagem central do carotenóide com função de provitamina A, apesar da clivagem excêntrica também contribuir para a formação de vitamina A (OLSON, 2003).

Os carotenóides parecem ser transportados no plasma humano exclusivamente por lipoproteínas. Aproximadamente 75% dos carotenóides de hidrocarbonos estão associados com as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e os 25% restantes com as lipoproteínas de alta densidade (HDL). O  $\beta$ -caroteno foi encontrado em 79% em LDL, 8% em HDL, e 12% nas lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL). Enquanto as xantofilas se encontram distribuídas igualmente entre as lipoproteínas de alta densidade (HDL) e as LDL (Parker, 1988). No organismo humano, os carotenóides encontram-se, principalmente, no tecido adiposo e no fígado (OLSON, 1999a)

A distribuição e as quantidades dos carotenóides diferem pronunciadamente nos indivíduos, provavelmente em função da dieta. Dos 30 ou mais carotenóides presentes no plasma, seis compreendem de 60 a 70% do total: luteína, licopeno, zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina,  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -caroteno (OLSON, 1999a).

Os carotenóides presentes nos quilomícrons remanescentes podem ser convertidos a retinóides no fígado ou serem incorporados em lipoproteínas e transportados para as células periféricas (SILVEIRA ; MORENO, 1998).

Atualmente, o termo vitamina A descreve uma família de compostos lipossolúveis, relacionados estruturalmente ao retinol e que compartilham suas atividades biológicas. Essas moléculas contêm uma estrutura de 20 carbonos com um anel cicloexenil substituído ( $\beta$ -ionona) e uma cadeia lateral tetraênica com um grupo hidroxila (retinol), aldeído (retinal), ácido carboxílico (ácido retinóico) ou éster (éster de retinila) no carbono 15 (ROSS, 1999).

A vitamina A pré-formada é encontrada exclusivamente nos alimentos de origem animal, principalmente na forma de ésteres de retinila, ou seja, o retinol está esterificado com ácidos graxos de cadeia longa, principalmente o palmitato e o estearato. À exceção do fígado, os tecidos animais contêm muito pouco retinal e ácido retinóico e, conseqüentemente, esses compostos contribuem muito pouco para a ingestão de vitamina A pré-formada (ROSS, 1999).



Quando o estado nutricional de vitamina A no organismo é adequado, aproximadamente 50 a 80% do retinol corporal estão armazenados no fígado. O excesso de retinol é armazenado nas células estreladas na forma de ésteres de retinila (YUYAMA et al., 2005). O mecanismo pelo qual o retinol é transportado dos hepatócitos para as células estreladas não é completamente entendido (SILVEIRA ; MORENO, 1998).

O fígado de animais e o óleo de fígado de peixes são as fontes mais concentradas de vitamina A pré-formada, encontradas na natureza. O leite integral e seus derivados e os ovos também são boas fontes dessa vitamina. No entanto, os demais tipos de carnes, geralmente, contêm quantidades insignificantes de vitamina A (NEPA, 2006).

## 2.6 Fatores de conversão

O  $\beta$ -caroteno pode originar duas moléculas de vitamina A, pois o requerimento mínimo para que um carotenóide seja considerado pró-vitamínico A é a presença de um anel  $\beta$ -ionona com uma cadeia poliênica de 11 carbonos como o  $\alpha$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina,  $\alpha$ -criptoxantina e o  $\beta$ -caroteno-5,6-epóxido, que apresentam a metade da atividade pró-vitamínica A do  $\beta$ -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA, 1996; HANDELMAN, 2001). Com exceção do *cis*  $\gamma$ -caroteno, os isômeros *cis* dos carotenóides têm uma menor atividade pró-vitamina A em relação ao todo *trans* carotenóide (BAURNFEIND, 1972).

Em 2001, o Institute of Medicine liberou as DRI's (Referência de ingestão dietética) para vitamina A com novos fatores de conversão de carotenóides provitamínicos A, avaliando dois parâmetros: a eficiência de conversão de  $\beta$ -caroteno em retinol e sua taxa de absorção. A taxa de conversão de  $\beta$ -caroteno em retinol foi mantida em 50%, isto é, cada 2 $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno em óleo absorvidos correspondem a 1 $\mu$ g de retinol. Entretanto, agora é considerado que apenas um sexto do  $\beta$ -caroteno ingerido em uma dieta mista de vegetais sofre absorção intestinal em relação à absorção de  $\beta$ -caroteno puro em óleo (aproximadamente 14%). Dessa forma, os novos fatores de conversão de carotenóides provitamínicos recomendados pelo IOM são o dobro dos fatores utilizados até a última recomendação. Cada Equivalente de Atividade de Retinol (RAE), que substituiu o antigo Equivalente de Retinol (RE), ou 1 $\mu$ g de retinol corresponde a 12 $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno ou 24 $\mu$ g de outros carotenóides provitamínicos. O fator de conversão de outros carotenóides provitamínicos foi estabelecido por extrapolação, com base no fato de que sua atividade pró-vitamínica A é considerada cerca de metade da

atividade do  $\beta$ -caroteno (CAMPOS; ROSADO, 2005). Entretanto, a bioeficácia pode ser maior em populações com deficiência de vitamina A, pois possuem maior eficiência na conversão. Ademais, os carotenóides somente são convertidos quando necessário ao organismo, evitando assim uma intoxicação por uma hipervitaminose A (RODRIGUEZ-AMAYA, 1989).

Por ser lipossolúvel e poder ser estocada no fígado, o consumo prolongado de grande quantidade de vitamina A pode resultar em intoxicação, que parece ser devido a uma sobrecarga do mecanismo de transporte no plasma, causando problemas hepáticos, anormalidades ósseas, alopecias, dores de cabeça, vômitos e descamação da pele. A menor suplementação diária associada com cirrose hepática relatada é de 7500  $\mu\text{g}$  por 6 anos. Raramente a toxicidade se deve a ingestão de alimentos fontes de vitamina A e quando ocorre é pela ingestão de derivados do fígado. Doses profiláticas diárias não devem exceder 900  $\mu\text{g}$  (FAO, 2002).

## **2.7 Biodisponibilidade**

A biodisponibilidade de um nutriente, no seu sentido amplo, pode ser definida como a quantidade relativa do nutriente ingerido capaz de realizar a sua função fisiológica no organismo, em outras palavras, biodisponibilidade é a quantidade de nutriente ingerida e realmente utilizada pelo organismo. Vários fatores interferem na biodisponibilidade dos carotenóides dietéticos, entre estes, a espécie e a quantidade de carotenóides ingerida, a presença de outro carotenóide, a matriz do alimento, na qual se encontram incorporados, os fatores genéticos, o estado de nutrição do indivíduo, os moduladores da absorção, a preparação culinária, o conteúdo de lipídios, a quantidade de fibras na refeição e as interações variadas, são alguns fatores que influenciam na biodisponibilidade de carotenóides e na bioconversão em retinol (GARRETT; FAILLA; SARAMA, 1999b; PÉREZ, 1999).

Khan et al. (2007) avaliaram a eficiência de frutas e hortaliças ricas em carotenóides pró-vitâmicos A na melhora do estado nutricional de vitamina A, em mulheres vietnamitas, no período de lactação. Os resultados demonstraram que a atividade de vitamina A dos carotenóides provenientes das frutas é duas vezes superior a das hortaliças. Outro estudo realizado em ratos deficientes de vitamina A revelou alta biodisponibilidade dos carotenóides pro-vitamina A,

presentes na polpa da bocaiúva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.)), palmeira encontrada no Cerrado Brasileiro, em relação à biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno sintético (RAMOS et al., 2007).

Esses estudos sugerem que o  $\beta$ -caroteno de frutas é mais eficientemente absorvido do que aquele de hortaliças, provavelmente, devido às diferenças nas matrizes alimentares. Nas hortaliças, os carotenóides estão localizados nos cloroplastos, complexados a proteínas, necessitando da quebra da estrutura celular para sua liberação. Nas frutas, os carotenóides podem ser encontrados nos cromoplastos, que são mais facilmente degradados (VAN HET HOF et al., 2000; NESTEL ; NALUBOLA, 2003; YONEKURA ; NAGAO, 2007).

O processamento e a homogeneização mecânica dos alimentos e a conseqüente redução do tamanho das partículas de alimento podem aumentar a biodisponibilidade dos carotenóides. Uma maior facilidade de extração dos carotenóides foi reportada após o processamento térmico em relação aos vegetais frescos. Isto se deve provavelmente a uma desnaturação mais eficiente dos complexos carotenóide-proteína ou à maior extratibilidade de carotenóides da matriz do vegetal submetida a tratamento térmico.

Mulheres que consumiram  $\beta$ -caroteno, diariamente, por quatro semanas, a partir de cenouras e espinafres cozidos, apresentaram concentração três vezes maior do que àquelas que consumiram a mesma quantidade de  $\beta$ -caroteno, a partir de cenouras e espinafres crus (ROCK et al., 1998).

Muitos fatores dietéticos influenciam a biodisponibilidade de carotenóides. A ingestão de uma quantidade razoável de lipídeos na dieta é considerada fundamental para promover a absorção eficiente dos carotenóides, uma vez que a gordura dietética é essencial na formação das micelas (VAN HET HOF et al., 2000). A deficiência de proteínas diminui a absorção de vitamina A e a capacidade de liberar retinol das reservas hepáticas. A vitamina E aumenta o armazenamento hepático de vitamina A e melhora os níveis plasmáticos em crianças. A suplementação de zinco melhora problemas de adaptação ao escuro (CABALLERO, 1988). As fibras alimentares são consideradas um fator que contribui para a baixa biodisponibilidade dos carotenóides de frutas e hortaliças. No entanto, as diferentes estruturas de fibras existentes e a presença de outros fitoquímicos nesses alimentos têm dificultado a elucidação da real influência das fibras na absorção dos carotenóides e o seu mecanismo (YONEKURA ; NAGAO, 2007).

Outros fatores individuais podem influenciar na biodisponibilidade de carotenóides, tais como: o estado nutricional do indivíduo, alcoolismo, tabagismo, idade, infecções

intestinais e doenças de má absorção de gordura (OLSON, 1999b; IVACG, 1999; YUYAMA et al., 2005). A eficiência de conversão de carotenóides pró-vitamínicos A em vitamina A está inversamente relacionada ao estado nutricional de vitamina A (RIBAYA-MERCADO et al., 2000). A eficiência de absorção dos carotenóides também diminui à medida que a quantidade ingerida aumenta (OLSON, 1999a).

As tabelas de composição química de alimentos trazem apenas os valores de vitamina A de alimentos de origem vegetal na forma de Retinol Equivalente (RE). Porém, a melhor opção seria que mostrassem também o conteúdo de carotenóides, pois os fatores que afetam a biodisponibilidade de carotenóides não estão bem definidos. Provavelmente, no futuro, haja fatores de conversão diferentes de acordo com a matriz em que o carotenóide se encontra. Enquanto isso, é necessário ter prudência ao utilizar o valor de vitamina A de alimentos de origem vegetal (ROSADO, 2005).

## 2.8 Fontes ricas em carotenóides

As frutas são divididas em dois grupos de carotenóides provitamínicos predominantes: as com  $\beta$ -caroteno (manga, buriti, maracujá, pupunha, tucumã e mamey) e as com  $\beta$ -criptoxantina (cajá, nectarina, pêssego, piqui, pitanga, tomate de árvore e mamão), as quais possuem valores menores de vitamina A já que a  $\beta$ -criptoxantina tem metade da atividade do  $\beta$ -caroteno.  $\gamma$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -zeacaroteno são observados em várias frutas, porém em baixa concentração. Apenas traços de  $\alpha$ -criptoxantina, criptofavina, 5,6-epoxy-  $\beta$  -caroteno, mutacromo, e 5,6-epoxy-  $\beta$  -criptoxantina são encontrados algumas vezes (RODRIGUEZ-AMAYA, 1996; OLSON, 1988).

De acordo com Rodriguez-Amaya (1997), pesquisas realizadas em diferentes países demonstraram que, em termos de conteúdo pró-vitamínico A, as fontes mais importantes de carotenóides são as hortaliças verde-escuras (apesar de menor biodisponibilidade), as frutas tropicais amarelo-alaranjadas, os óleos de palmeiras e algumas raízes. Os carotenóides nos óleos estão presentes na forma de soluções, enquanto que nas frutas e nas hortaliças estão localizados no interior das matrizes (OLSON, 1999b).

Nas hortaliças verde-escuras, a cor característica dos carotenóides está mascarada pela presença da clorofila (IVACG, 1999). As hortaliças têm uma composição de carotenóides qualitativamente mais constante do que as frutas. A luteína, que não possui atividade pró-

vitamínica A, é o carotenóide mais abundante, seguida pelo  $\beta$ -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; MERCADANTE; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

As frutas, geralmente, possuem níveis menores de carotenóides pró-vitamínicos A e uma composição mais complexa. Estudos revelam que as de clima tropical, normalmente, são mais ricas em carotenóides do que aquelas de clima temperado, pois uma maior exposição à luz solar e a temperatura elevada aumentam a biossíntese de carotenóides (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

Os óleos da palmeira *Elaeis guineensis*, conhecido no Brasil como óleo de dendê, é considerada a fonte mais rica de carotenóides pró-vitamínicos A. Embora os carotenóides não estejam amplamente distribuídos nas raízes, a cenoura, com elevado teor de  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -caroteno, e a batata-doce amarela, rica em  $\beta$ -caroteno, são consideradas importantes fontes de carotenóides pró-vitamínicos A em alguns países (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

O  $\zeta$ -caroteno é acíclico, portanto, não possui atividade provitamínica A. Apesar de geralmente estar presente em pequenas quantidades, é o principal pigmento do maracujá (MERCADANTE; BRITTON; RODRIGUEZ-AMAYA, 1998) e da carambola (GROSS; IKAN; ECKHARDT, 1983).

O  $\alpha$ -caroteno pode ser encontrado em cenoura e em algumas variedades de abobrinhas e abóboras (ARIMA; RODRIGUEZ-AMAYA, 1990). Já o  $\gamma$ -caroteno é o principal carotenóide da pitanga. Geralmente, ambos estão presentes em pequenas quantidades (CAVALCANTE; RODRIGUEZ-AMAYA, 1992).

Na identificação de carotenóides de Rodriguez-Amaya (1996) em várias frutas tropicais, o buriti foi a fonte mais rica de provitamina A (média de 3245 RE/100 g) seguido pelo tucumã com 920 RE/100 g, Bocaiuva (480 RE/100g) e pela pupunha (260 RE/100 g), que foi analisada na forma cozida, pois é assim consumida. Para fins de comparação, esses valores, publicados por Rodriguez-Amaya(1996), foram recalculados, tendo como base o novo fator de conversão para carotenóides.. Esses quatro frutos provêm de palmeiras silvestres, principalmente do nordeste do Brasil. Já que os lipídeos estimulam a absorção de provitaminas, os frutos de palmeiras têm uma possível vantagem adicional de maior biodisponibilidade. Os carotenóides da pupunha cozida possuem biodisponibilidade muito maior que a manga in natura (YUYAMA; FAVARO; YUYAMA; VANNUCCHI,1991) e o estudo de Ramos et al. (2007) verificou que a polpa da Bocaiuva, com alto teor de lipídeo, tem uma biodisponibilidade de  $\beta$ -caroteno maior que o composto puro. O coquinho-azedo

possui um teor de lipídeos totais de 2,6 %, elevado se comparado com frutas normalmente consumidas (FARIA et al., 2008).

### **3 OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi determinar o potencial vitamínico do coquinho-azedo (*butia capitata*).

#### **3.1 Objetivos específicos**

Determinar a composição de carotenóides coquinho-azedo;

Estimar o valor pró-vitamina A da polpa do coquinho-azedo.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Coleta e preparo das amostras**

Foram coletadas onze lotes de coquinho-azedo, sendo uma de epicarpo vermelho e as demais amarelas, em bom estado de maturação (prontos para consumo), constituídos de cachos ou em embalagens de 1 kg, provenientes de vários municípios do Norte de Minas Gerais, obtidas nas safras de 2005 e 2006 na Feira Municipal de Montes Claros - MG e no Centro de Agricultura Alternativa (CAA), Montes Claros - MG, onde os frutos são processados para a produção de polpa congelada. Os frutos foram transportados sob refrigeração, em caixas de isopor, até o Laboratório de Química de Produtos Naturais da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em Brasília e mantidos congelados até o momento da análise. Cerca de 100 gramas das polpas de cada lote, juntamente com a casca bem fina, foi separada manualmente das sementes com uma faca inoxidável e, em seguida, homogeneizada em multiprocessador com 0,1 % de butilato hidroxitolueno (BHT) para minimizar a oxidação dos carotenóides.

### **Extração de carotenóides**

Este processo foi baseado no procedimento descrito por Rodriguez-Amaya (2001). Brevemente, a 20 gramas de amostra adicionou-se 200 mL de acetona resfriada em almofariz e 1g de hyflosupercel (celite) e procedeu-se a maceração e posterior filtração em papel de filtro no funil de Büchner. Esta etapa foi repetida por 4 vezes (utilizando 50mL a cada extração), até a amostra perder a coloração. O extrato foi transferido para funil de separação, contendo éter de petróleo e lavado com água para retirar a acetona. Foi adicionado, então, sulfato de sódio anidro para eliminar resíduo de água. Foi adicionado 0,1 % de butilato hidroxitolueno (BHT) para minimizar a oxidação dos carotenóides.



## Saponificação

Ao extrato contendo os pigmentos foi adicionada uma quantidade igual de solução de KOH 10% em metanol. Após repouso de 16h, no escuro, lavou-se com água, em funil de separação, até atingir pH próximo da neutralidade.

## Separação dos carotenóides em coluna aberta

O extrato dissolvido em éter de petróleo foi concentrado em evaporador rotativo, à vácuo até 10-20mL, que foi aplicado em uma coluna aberta de óxido de magnésio (Vetec) : celite (hyflosupercel) (1:2) para isolamento dos carotenóides, utilizando-se como fase móvel um gradiente de acetona, de 0% a 100%, em éter de petróleo (Figura 04).

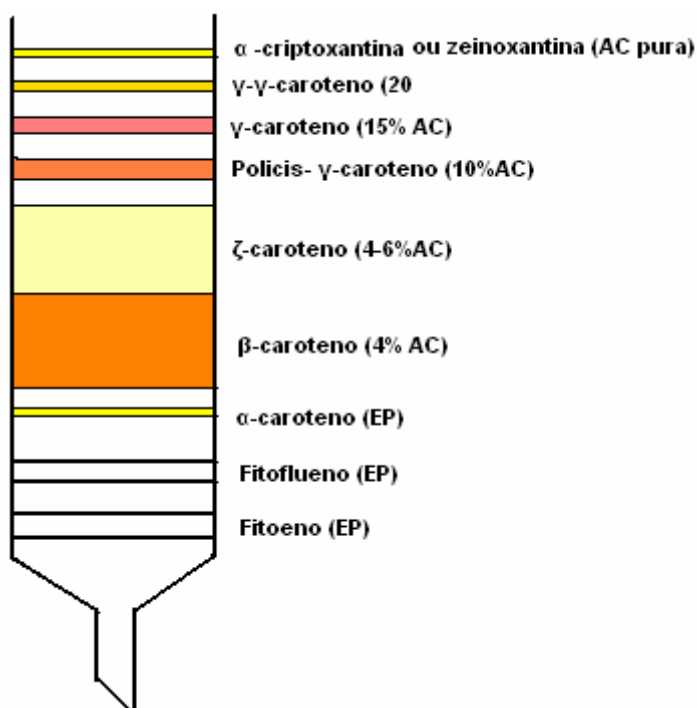


Figura 04 - Separação cromatográfica dos carotenóides do coquinho-azedo, com as respectivas cores observadas. Fase estacionária: óxido de magnésio (Vetec): celite (hyflosupercel) (1:2) Fase móvel: gradiente de acetona (AC) em éter de petróleo (EP).

## **Identificação e quantificação dos carotenóides**

Os carotenóides específicos foram identificados pela ordem de eluição da coluna, utilizando-se a referência da eluição de padrões de carotenóides nas mesmas condições cromatográficas; o espectro de absorção característico de cada carotenóide (estrutura fina (%III/II) e comprimento de onda absorvidos nos picos máximos), o valor do fator de retardamento (Rf) em cromatografia de camada delgada (sílica) e pelas reações químicas específicas. Os padrões de referência para caracterização do perfil qualitativo foram purificados a partir de fontes convencionais de cada carotenóide, como tomate (fonte de  $\gamma$ -caroteno e de  $\beta$ -caroteno), mamão (fonte de  $\beta$ -criptoxantina), couve (fonte de  $\beta$ -caroteno) e maracujá (fonte de  $\zeta$ -caroteno). A quantificação de cada carotenóide específico foi realizada a partir das respectivas absorbâncias máximas, utilizando-se os coeficientes de absorção específicos ( $A_{1cm}^{1\%}$ ) para cada carotenóide, conforme Davies (1976).

## **Identificação de carotenóides hidroxilados**

Após a leitura espectrofotométrica, as frações eluídas foram concentradas a vácuo, aplicadas em camada de sílica gel e desenvolvidas com hexano: acetato de etila 21:9 (BRITTON et al., 1995). Os carotenos não hidroxilados, caminham com a frente do solvente, apresentando rf em torno de 0,99, e os carotenóides hidroxilados apresentam maior retenção na fase estacionária, de acordo com o número de hidroxilas presentes. Além da confirmação da presença de hidroxilas, a placa foi exposta ao cloreto de hidrogênio para verificar a presença de carotenóide contendo grupo epóxido.

## **Reações Específicas**

### **Identificação da configuração de cada carotenóide**

Foram obtidos espectros de absorção molecular de cada fração (carotenóide) eluída da coluna aberta, antes e após a adição de uma gota de iodo dissolvido em éter de petróleo e posterior exposição à luz por 3 minutos. O deslocamento do pico máximo em 3-5 nm à

esquerda caracterizou a configuração trans e à direita, a configuração cis. Carotenos policíclicos apresentaram um deslocamento de até 50 nm abaixo da absorção do trans carotenóide, conforme comportamento previsto por Davies, 1976.

### **Identificação de carotenóides com grupo epóxido**

Os carotenóides, isolados na coluna, foram dissolvidos novamente em etanol para leitura da absorbância. A essa fração foi adicionada uma gota de HCl, 0,1 mol/l e, após três minutos, nova leitura foi realizada e comparada com a primeira leitura. Um deslocamento do pico máximo de 20-25 nm indica a conversão de 5,6 epóxido em 5,8 epóxido.

### **Identificação de cetocarotenóide ou apocarotenal**

As frações de carotenóide com apenas um único pico máximo de absorção foram dissolvidas novamente em etanol 95% e adicionados cristais de boridreto de sódio. Após 3h em refrigerador, o espectro deste cetocarotenóide ou apocarotenal, que sofre redução da carbonila conjugada, se transforma em três picos de um hidroxicarotenóide.

### **Separação dos carotenóides pela cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)**

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC) também foi utilizada para separação e confirmação dos carotenóides do coquinho conforme Azevedo-Meleiro & Rodriguez-Amaya (2004), porém este método só tem uma relevância complementar já que as amostras estavam congeladas há mais de um ano e somente foi possível fazer uma análise, sem réplicas e sem quantificação. Cerca de 3 mL de extrato saponificado do coquinho-azedo foi evaporado sob fluxo de nitrogênio e, em seguida, ressuspenso em acetona. Filtrou-se o extrato em unidade filtrante de 0,45 µm de porosidade e injetou-se 10 µL do extrato em uma coluna C18 ODS-2, 3 micras, 150 x 4,6 mm, no sistema HPLC marca Varian ProStar, equipado com bomba quaternária, injetor automático e detector de arranjo de diodos (DAD) controlado pelo software Galaxie. A amostra foi eluída em gradiente de acetonitrila (contendo 0,05% de trietilamina), metanol e acetato de etila 95:5:0 no início da corrida,

atingindo 60:20:20 em 20 minutos, condição mantida durante os 60 minutos de corrida. O tempo de equilíbrio da coluna foi de 20 minutos. Fluxo: 0,5 mL/minuto. Os padrões de referência para identificação dos carotenóides foram purificados a partir da couve para o  $\beta$ -caroteno e maracujá para o  $\zeta$ -caroteno. Os demais carotenóides tiveram uma identificação preliminar em CLAE pela comparação com os parâmetros obtidos na cromatografia de coluna aberta e referências da literatura (BRITTON, 1995; DAVIES, 1976).

### **Cálculo do valor de Pró-vitamina A**

O valor pró-vitamina A foi calculado através do novo fator de conversão (IOM, 2001) onde 12  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno e 24  $\mu\text{g}$  de  $\gamma$ -caroteno correspondem a 1 RAE, equivalente de atividade de retinol.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estruturas químicas dos carotenóides obtidos nesta análise estão representadas nas figuras 05 à 13.

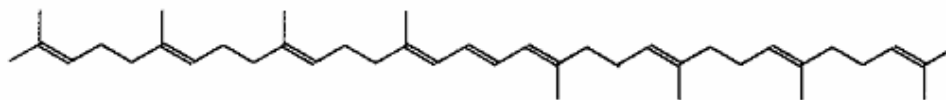


Figura 05 - Estrutura química do fitoeno

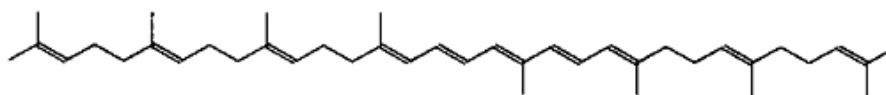


Figura 06 - Estrutura química do fitoflueno

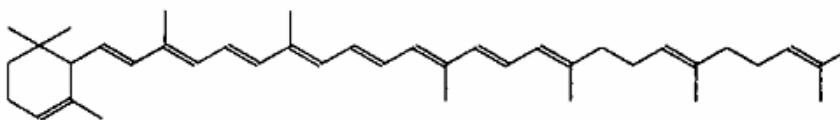


Figura 07 - Estrutura química do  $\alpha$ -caroteno

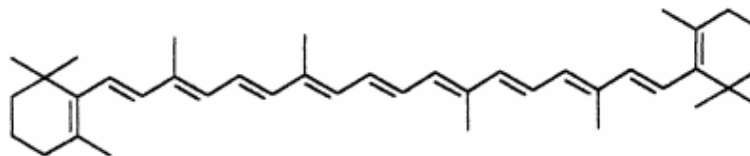


Figura 08 - Estrutura química do  $\beta$ -caroteno

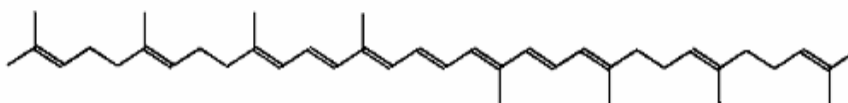


Figura 09 - Estrutura química do  $\zeta$ -caroteno

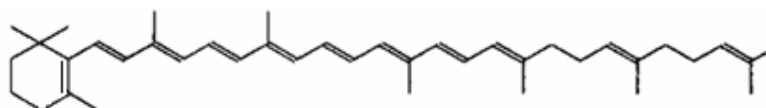


Figura 10 - Estrutura química do  $\gamma$ -caroteno

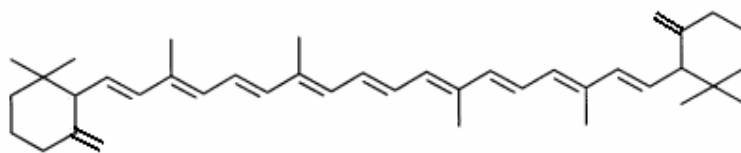


Figura 11 - Estrutura química do  $\gamma\gamma$  - caroteno

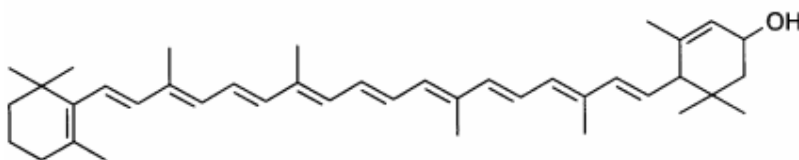


Figura 12 - Estrutura química da  $\alpha$ -criptoxantina

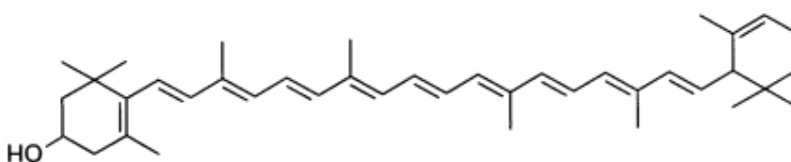


Figura 13 - Estrutura química da zeinoxantina

A ordem de eluição dos carotenóides na coluna cromatográfica aberta pode ser observada na figura 04. Os espectros de absorção de todos os carotenóides isolados foram obtidos em éter de petróleo e são apresentados nas figuras a seguir com os respectivos valores de comprimento de onda absorvidos nos seus picos máximos.

O fiteno possui apenas três ligações duplas conjugadas. Isso explica a ausência de cor e o fato de ser o primeiro carotenóide eluído. Seu espectro pode ser observado na figura 14 e obteve um  $\%III/II=6$ . O fitoflueno eluiu logo após o fiteno, ainda na região ultravioleta, e seu espectro está na figura 15, com os picos bem definidos ( $\%III/II = 89$ ). O espectro do trans  $\alpha$ -caroteno pode ser observado na figura 16 e possui um  $\%III/II = 38$ . A diferença de estrutura fina em relação ao valor tabelado ( $\%III/II = 55$ ) se deve à baixa definição do espectro deste composto, considerando que a quantidade detectada foi muito pequena, além da diferença pelo solvente utilizado. Assim como os demais carotenos (estrutura de apenas hidrocarbono) do coquinho-azedo, na cromatografia da camada delgada o trans  $\alpha$ -caroteno correu junto com a frente do solvente ( $R_f=0,99$ ). O espectro do trans  $\beta$ -caroteno está na figura 17 com um  $\%III/II=33$ . O trans  $\zeta$ -caroteno, de coloração amarela claríssima, tem seu espectro na figura 18 com picos bem definidos ( $\%III/II=113$ ). O espectro do policis  $\gamma$ -caroteno (figura 19), após a reação de isomerização com iodo, se transformou no espectro do  $\gamma$ -caroteno (figura 20,  $\%III/II = 36$ ). O  $\gamma$ -caroteno foi encontrado na configuração cis e na

trans. Os valores de absorção nos picos máximos do  $\gamma$ -caroteno são semelhantes aos de Cavalcanti, 1991. A figura 21 é o espectro do  $\gamma\gamma$ -caroteno, que só foi identificado com base nos valores de absorção dos picos máximos, pois na literatura não foram encontrados os outros parâmetros de referência. A  $\alpha$ -criptoxantina ou a zeinoxantina é o carotenóide do espectro da figura 22, que além de possuírem um espectro de absorção igual, possuem o mesmo comportamento cromatográfico. A reação química de metilação, único teste específico que os diferencia, não foi efetuada devido à pequena concentração em que este carotenóide foi encontrado na polpa do coquinho-azedo. O Rf de 0,5 indicou se tratar de um carotenóide monoidroxilado, descartando a possibilidade de ser uma luteína (diidroxilada).

Os picos obtidos no cromatograma, da análise em CLAE, foram identificados baseados nos espectros de cada carotenóide fornecido pelo arranjo de diodos, no seu tempo de retenção, comparado com padrões do beta-caroteno, zeta-caroteno e da luteína e na composição conhecida, da análise em coluna aberta. Os espectros da análise em CLAE estão ilustrados no apêndice (figura 23 à 30).

Além dos carotenóides encontrados em coluna aberta, outros carotenóides foram localizados no cromatograma, como os isômeros cis do  $\beta$ -caroteno e do  $\zeta$ -caroteno, que podem ter sido formados devido ao longo tempo de congelamento do coquinho-azedo antes desta análise em CLAE, e a luteína e outros picos, que podem ser de misturas de compostos ou outros compostos de degradação.

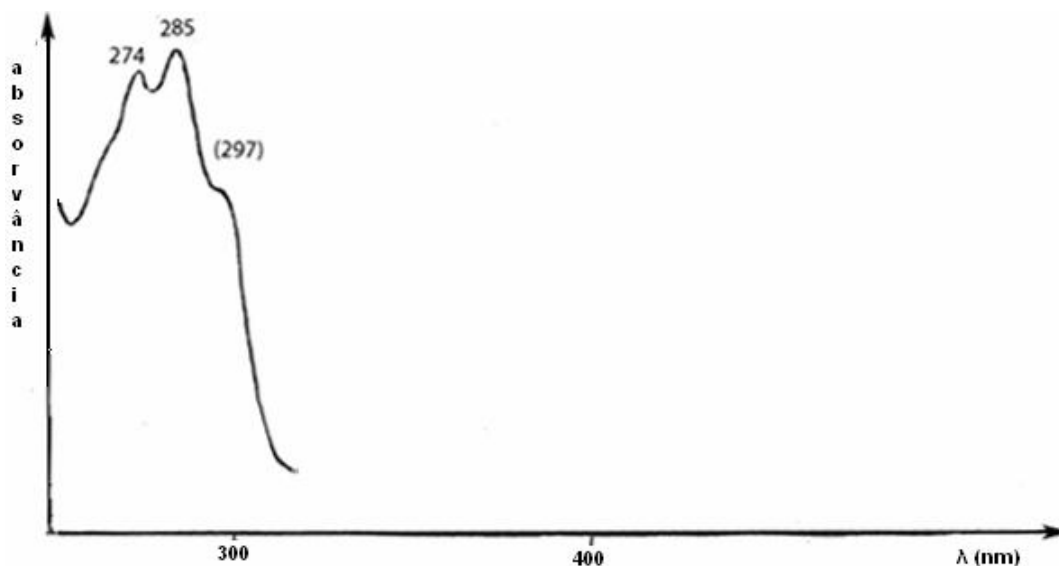


Figura 14 - Espectro de absorção do fitoeno em éter de petróleo, separado em coluna aberta

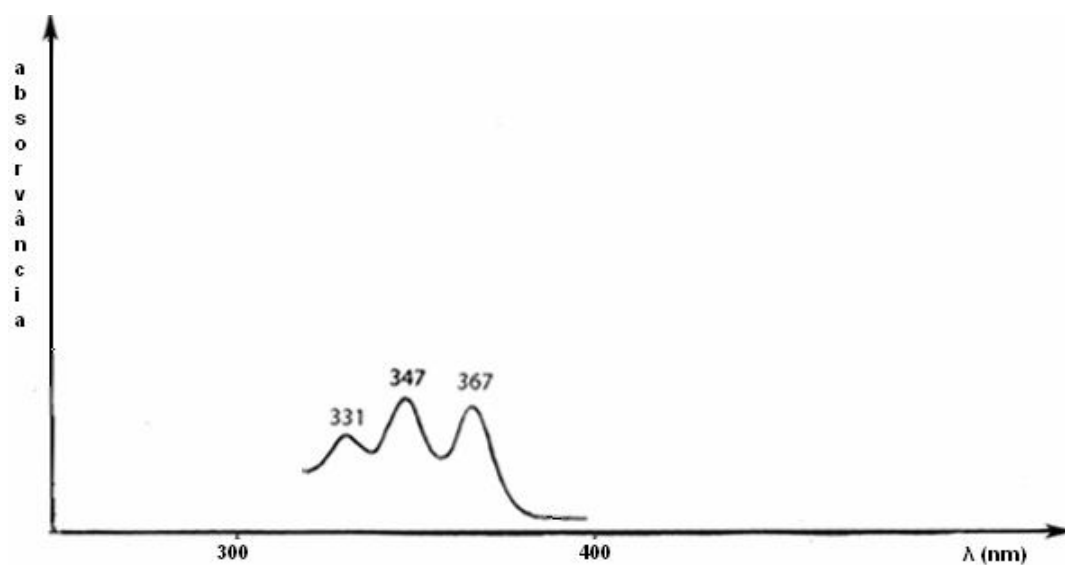


Figura 15 - Espectro de absorção do fitoflueno em éter de petróleo, separado em coluna aberta

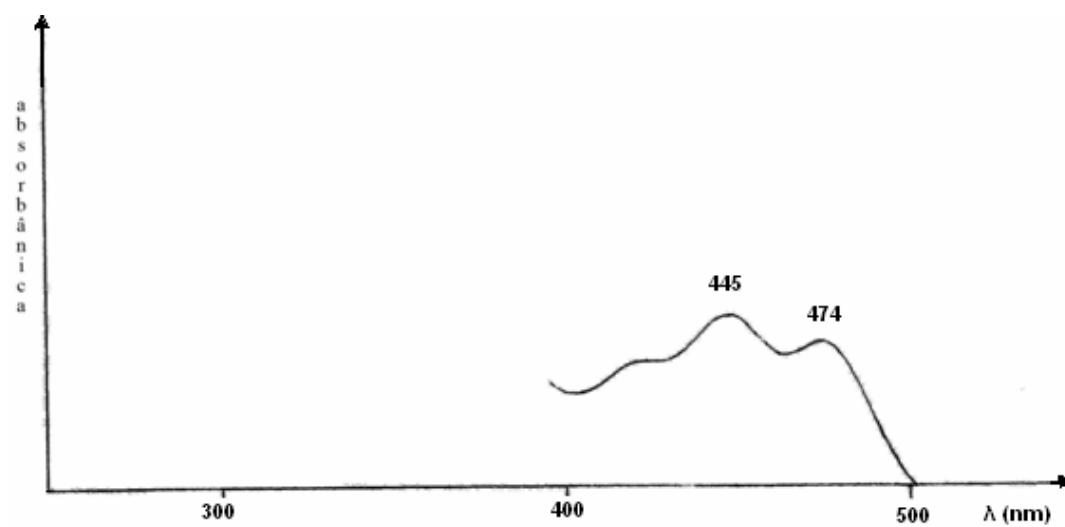


Figura 16 - Espectro de absorção do  $\alpha$ -caroteno em éter de petróleo, separado em coluna aberta



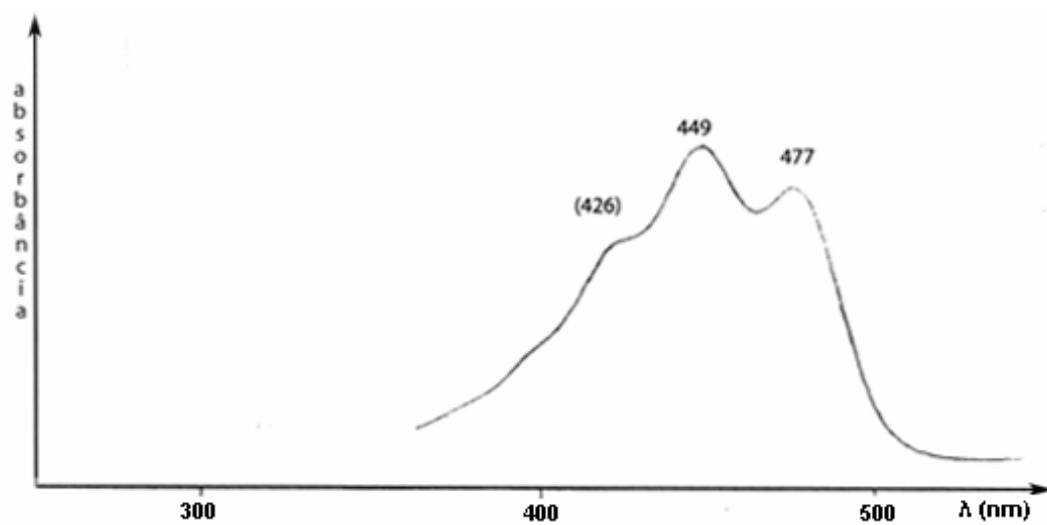


Figura 17 - Espectro de absorção do  $\beta$ -caroteno em éter de petróleo, separado em coluna aberta

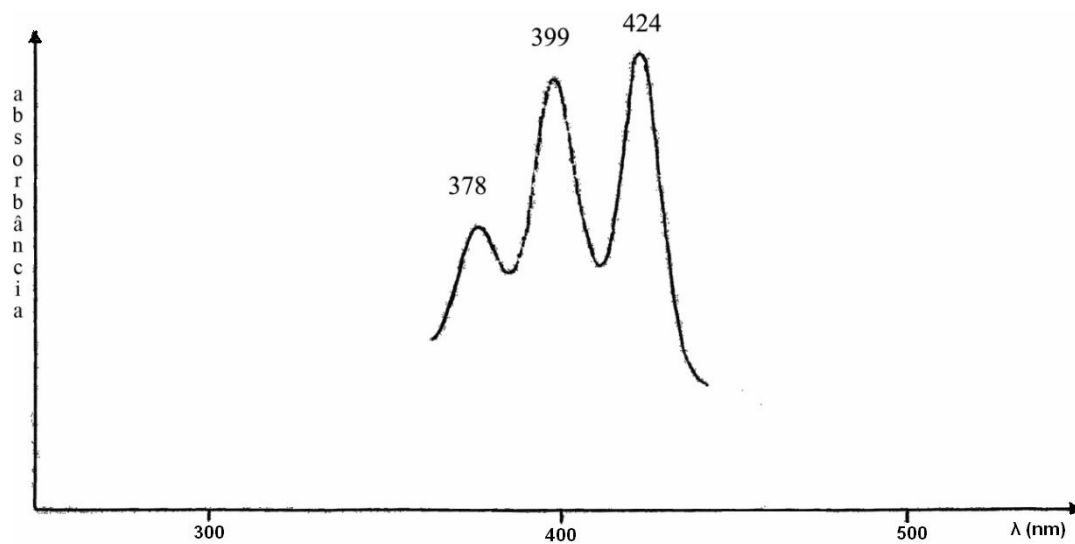


Figura 18 - Espectro de absorção do  $\zeta$ -caroteno em éter de petróleo, separado em coluna aberta.

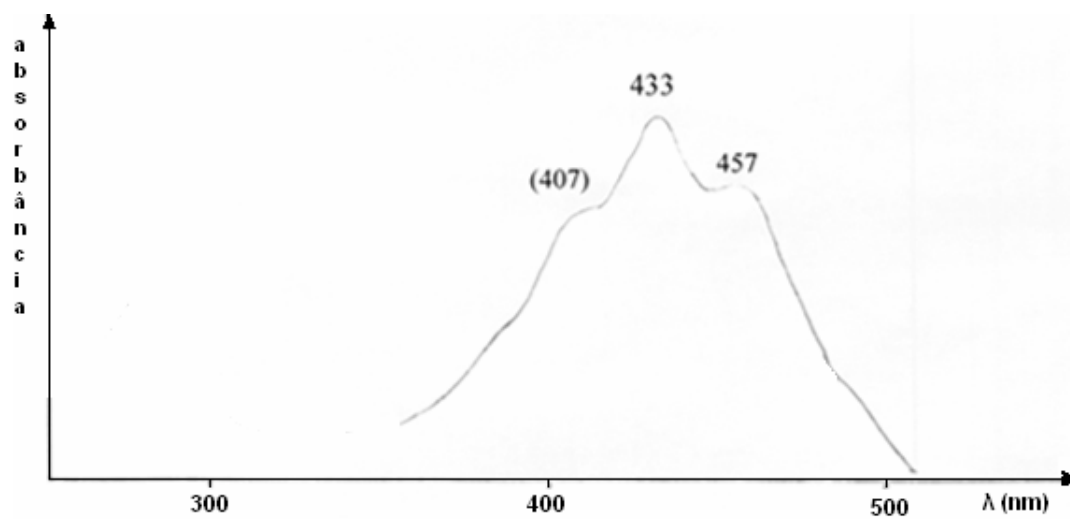


Figura 19 - Espectro de absorção do policis  $\gamma$ -caroteno em éter de petróleo, separado em coluna aberta.

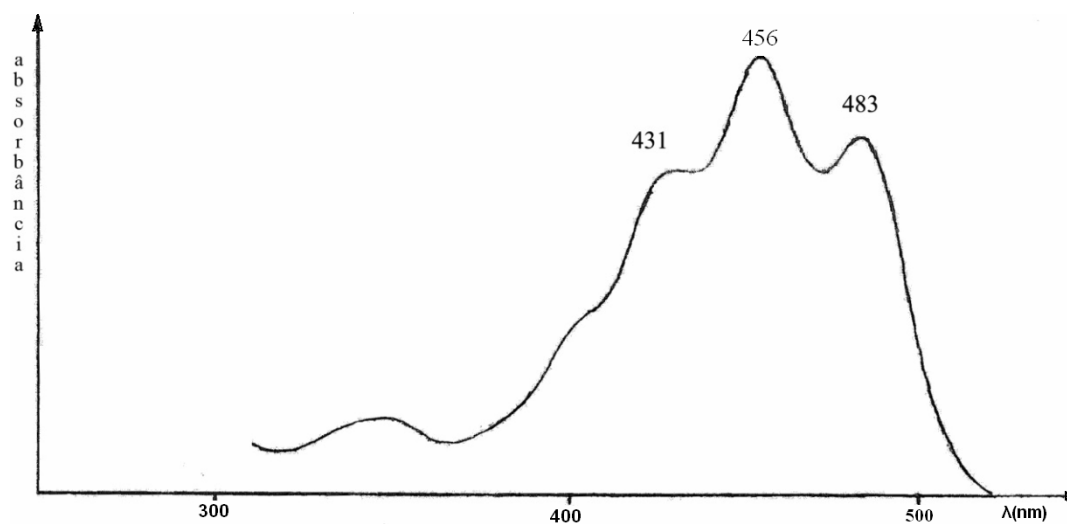


Figura 20 - Espectro de absorção do  $\gamma$ -caroteno em éter de petróleo, separado em coluna aberta.

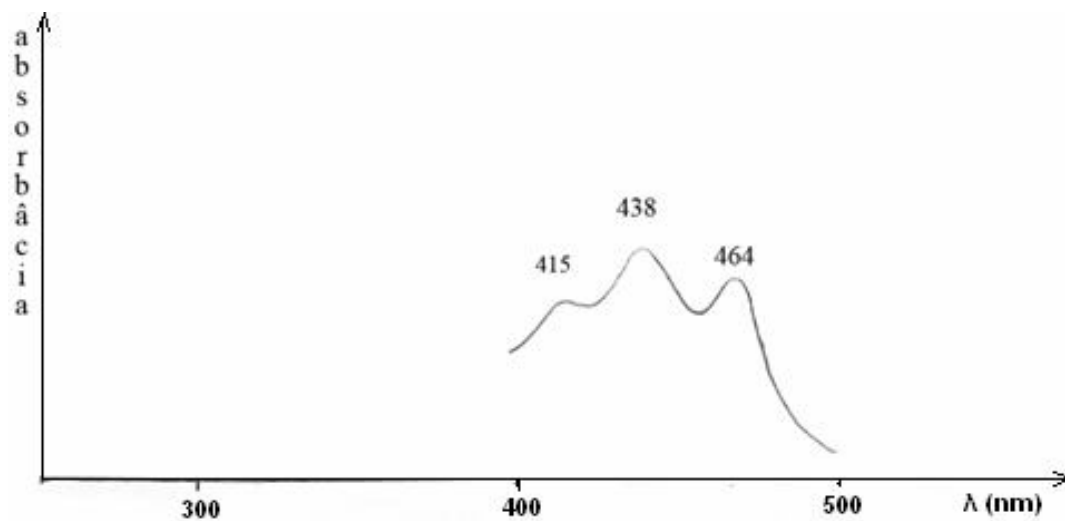


Figura 21 - Espectro de absorção do  $\gamma\gamma$ -caroteno em éter de petróleo, separado em coluna aberta.

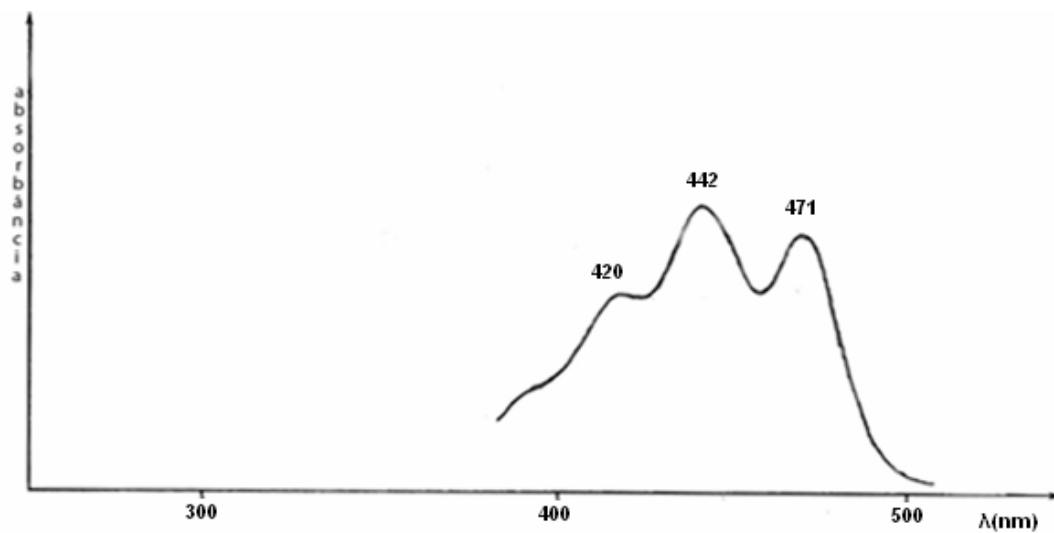


Figura 22 - Espectro de absorção da  $\alpha$ -criptoxantina ou zeinoxantina em éter de petróleo, separado em coluna aberta.

## PARTE II

### 7 ARTIGO CIENTÍFICO

O conteúdo que aborda esta dissertação será submetido para publicação (revista ainda não definida), com o título de Composição de carotenóides no coquinho-azedo (*Butia capitata*, variedade *capitata*), dos seguintes autores: Juliana Pereira Faria, Egle M. Almeida Siqueira, Roberto Fontes Vieira e Tânia da Silveira Agostini-Costa.

Situação: em fase de redação final.

#### COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES NO COQUINHO-AZEDO (*BUTIA CAPITATA* (MART.) BECC. VARIEDADE *CAPITATA*)

Juliana Pereira Faria<sup>1</sup> Egle M. Almeida Siqueira<sup>2</sup> Roberto Fontes Vieira<sup>3</sup> Tânia da Silveira Agostini-Costa<sup>3</sup>

#### RESUMO

O coquinho-azedo (*Butia capitata*) é uma palmeira oriunda da América do Sul, cuja polpa alaranjada do fruto produz suco, geléia e licor apreciados e comercializados pela população. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição em carotenóides e o potencial valor pró-vitamina A da polpa do coquinho-azedo. A separação e quantificação foram realizadas por cromatografia em coluna de óxido de magnésio / hyflosupercell e espectrofotometria. A concentração média de carotenóides totais foi de 36,1 µg/g de polpa. O β-caroteno (16,1 µg/g) foi o carotenóide predominante na composição da polpa, seguido do fitoeno (5,7 µg/g), policis-γ-caroteno (4,7 µg/g), fitoflueno (4,4 µg/g), γ-caroteno (2,9 µg/g), ζ-

---

1 Programa de Pós-graduação em Nutrição - colaboração Embrapa - UNB, Brasília, DF.

2 Departamento de Nutrição, Faculdade de Ciências da Saúde, UNB, Brasília, DF

3 Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica PqEB, W5 norte final, Brasília, DF. E-mail: tania@cenargen.embrapa.br. Autora para correspondência.

caroteno e  $\alpha$ -criptoxantina (0,8  $\mu\text{g/g}$ ),  $\gamma$ - $\gamma$ -caroteno (0,7  $\mu\text{g/g}$ ) e  $\alpha$ -caroteno (0,1 $\mu\text{g/g}$ ). Uma análise qualitativa, utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência, sem réplicas, também foi efetuada visando à confirmação da identidade dos respectivos carotenóides. Considerando a composição total de carotenóides provitamínicos A, a ingestão de 100g da polpa do coquinho-azedo (146 RAE) poderia suprir cerca de 40 % das necessidades diárias de vitamina A para crianças menores de oito anos. Os altos teores de carotenóides provitamínicos A encontrados na polpa do coquinho-azedo oferecem excelente perspectiva no sentido de combater a hipovitaminose em regiões com semelhantes condições climáticas no mundo, de forma sustentável.

**Palavras-chave:** coquinho-azedo, *Butia capitata*,  $\beta$ -caroteno, carotenóides, vitamina A, hipovitaminose A.

## ABSTRACT

The jelly Palm (*Butia capitata*) is a palm that comes from South America. The orange pulp of the fruit produces juice, jelly and liquor appreciated and traded by the population. The objective of this work was to determinate the carotenoids composition of jelly palm and its potential vitamin A value. The isolation and quantification of carotenoids were carried out by chromatography in magnesium oxide column / hyflosupercell and spectrophotometer. The total carotenoids mean concentration was 36.1  $\mu\text{g/g}$  of pulp. The  $\beta$ -carotene (16.1  $\mu\text{g/g}$ ) was predominant in the jelly palm pulp composition, followed by the phytofluene (5.7  $\mu\text{g/g}$ ), polycis- $\gamma$ -carotene (4,7  $\mu\text{g/g}$ ), phytoene (4.4  $\mu\text{g/g}$ ), and  $\gamma$ -carotene (2.9 $\mu\text{g/g}$ ),  $\zeta$ -carotene e  $\alpha$ -criptoxantin (or zeinoxanthin) (0.8  $\mu\text{g/g}$ ),  $\gamma$ - $\gamma$ -carotene (0.7  $\mu\text{g/g}$ ) e  $\alpha$ -carotene (0.1 $\mu\text{g/g}$ ). High pressure liquid chromatography (HPLC), without replica, was also utilized to confirm the identity of all carotenoids in the jelly palm pulp. Considering the total composition of pro vitamin A carotenoids found in the pulp of the jelly palm, the consumption of 100g of this pulp (146 RAE) will be able to supply around 40% of the daily needs of vitamin A for infants less than eight years. The high contents of pro vitamin A carotenoids found in this fruit pulp offer an excellent perspective in the sense of fight vitamin A deficiency in the regions with same climatic condition in the world.

**Key words:** jelly palm, Brazilian cerrado fruit, carotenoid, *Butia capitata*

## INTRODUÇÃO

A hipovitaminose A ainda constitui um problema endêmico de saúde pública em populações de países em desenvolvimento, incluindo o Brasil. Dependendo da gravidade, a deficiência de vitamina A pode causar xerofthalmia, cegueira, diarreia e morte. Em populações de baixa renda, a ingestão de vitamina A é predominantemente oriunda de fontes de origem vegetal, podendo representar 80% ou mais do total de vitamina A ingerida (AMBRÓSIO et al., 2006; GERMANO ; CANNIATTI BRAZACA, 2004). Alguns carotenóides, como o  $\beta$ -caroteno, são provitamínicos A, podendo exercer as diversas funções da vitamina A no organismo e, ainda, podem apresentar atividade antioxidante, podendo prevenir doenças associadas aos danos oxidativos como o envelhecimento, câncer, danos alcoólicos ao fígado e doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (OLIVER ; PALOU, 2000; OLSON,1999a; TAPIERO; TOWNSEND; TEW, 2004). Os carotenóides são abundantes em frutos e folhosos verdes escuros.

O coquinho-azedo (*Butia capitata*), é uma palmeira de até 7 m, também conhecida pelos nomes de butiá-açu, butiá-azedo, butiá-branco, butiá-da-praia, butiá-de-vinagre, butiá-do-campo, butiá-miúdo, butiá-roxo, butiazeiro, cabeçudo, coqueiro-azedo, guariroba-do-campo, palma-petiza e jervá, tem ampla distribuição na América do Sul, (MARCATO ; PIRANI, 2006). Essa palmeira faz parte da paisagem do cerrado e, em certos locais, é elo importante da corrente econômica que mantém populações rurais isoladas ou marginalizadas pela sociedade de consumo. A colheita dos frutos ocorre entre os meses de novembro e fevereiro, sendo possível o armazenamento da polpa congelada para comercialização, que, além de favorecer a geração de renda, estimula a preservação da espécie na região.

A semente do coquinho-azedo apresenta uma amêndoa rica em óleo, de composição semelhante ao coco-da-baía (FARIA et al., 2008a). O fruto apresenta uma polpa amarela, fortemente aromática apreciada pela população, principalmente para a produção de sucos, geléia e licor. Estudos prévios da polpa indicam uma composição rica em carotenóides e lipídeos. Possui concentrações elevadas de compostos fenólicos (163-259 mg de catequina equivalente por 100g de polpa), de potássio (462 mg/100g) de fibra detergente neutro (6,2 %), que determina celulose, hemicelulose e lignina e de vitamina C (53mg de ácido ascórbico/100g de polpa) (FARIA et al., 2008b).

O objetivo deste trabalho foi determinar a composição de carotenóides, seus teores e o valor pró-vitamina A na polpa do coquinho-azedo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta e preparo das amostras**

Foram coletados onze lotes (ou acessos) de coquinho-azedo, sendo um de epicarpo vermelho e os demais amarelos, em estado de maturação apropriado para o consumo, dispostos em cachos ou em embalagens de 1 kg, obtidos nas safras de 2005 e 2006. Os diferentes lotes, procedentes de comunidades conhecidas da região do norte de Minas, foram obtidos na Feira Municipal de Montes Claros-MG e no Centro de Agricultura Alternativa (CAA), Montes Claros-MG, onde os frutos são processados para a produção de polpa congelada. Os frutos foram transportados sob refrigeração, em caixas de isopor, até o Laboratório de Química de Produtos Naturais da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em Brasília e mantidos congelados até o momento da análise. A polpa, cerca de 50% da fruta, juntamente com a casca bem fina, foi separada manualmente das sementes com uma faca inoxidável e, em seguida, homogeneizada em multiprocessador.

### **Extração de carotenóides**

Este processo foi baseado no procedimento descrito por Rodriguez-Amaya (2001). Brevemente, a 20 gramas de amostra adicionou-se 200-250 mL de acetona resfriada em almofariz e 1g de hyflosupercel (celite) e procedeu-se a maceração e posterior filtração em papel de filtro no funil de Büchner. Esta etapa foi repetida por 4-5 vezes (utilizando 50mL a cada extração), até a amostra perder a coloração. O extrato foi transferido para funil de separação, contendo éter de petróleo e lavado com água para retirar a acetona. Foi adicionado, então, sulfato de sódio anidro para eliminar resíduo de água. Foi adicionado 0,1 % de butilato hidroxitolueno (BHT) para minimizar a oxidação dos carotenóides.

### **Saponificação**

Ao extrato contendo os pigmentos foi adicionada uma quantidade igual de solução de KOH 10% em metanol. Após repouso de 16h, no escuro, lavou-se com água, em funil de separação, até atingir pH próximo da neutralidade.

## **Análise cromatográfica**

### **Separação dos carotenóides em coluna aberta**

O extrato dissolvido em éter de petróleo foi concentrado até 10-20mL em evaporador rotativo e aplicado em uma coluna aberta de óxido de magnésio (Vetec) : celite (hyflosupercel) (1:2) para isolamento dos carotenóides, utilizando-se como fase móvel um gradiente de acetona em éter de petróleo. Os carotenóides específicos foram identificados pela ordem de eluição da coluna, utilizando-se a referência da eluição de padrões de carotenóides nas mesmas condições cromatográficas; o espectro de absorção característico de cada carotenóide [estrutura fina (%III/II) e comprimento de onda absorvidos nos picos máximos], o valor do fator de retardamento (Rf) em cromatografia de camada delgada (sílica) e pelas reações químicas específicas. Os padrões de referência para caracterização do perfil qualitativo foram purificados a partir de fontes convencionais de cada carotenóide, como tomate (fonte de  $\gamma$ -caroteno e de  $\beta$ -caroteno), mamão (fonte de  $\beta$ -criptoxantina), couve (fonte de  $\beta$ -caroteno) e maracujá (fonte de  $\zeta$ -caroteno). A quantificação de cada carotenóide específico foi realizada a partir das respectivas absorbâncias máximas, utilizando-se os coeficientes de absorção específicos ( $A_{1cm}^{1\%}$ ) para cada carotenóide, conforme Davies (1976).

### **Identificação dos carotenóides**

#### **Triagem para carotenóides hidroxilados e epóxidos**

Após a leitura espectrofotométrica, as frações eluídas foram concentradas a vácuo, aplicadas em camada de sílica gel e desenvolvidas com hexano: acetato de etila 21:9. A eluição com a frente do solvente indica a presença de carotenos não hidroxilados, sendo que a retenção dos carotenóides na fase estacionária é proporcional ao número de hidroxilas presentes na estrutura; a presença de epóxidos é verificada através da exposição da placa ao cloreto de hidrogênio (BRITTON et al., 1995).

#### **Configuração cis-trans**

Para verificar a configuração dos isômeros, foram obtidos espectros de absorção molecular de cada fração (carotenóide) eluída da coluna aberta, antes e após a adição de uma gota de iodo dissolvido em éter de petróleo e posterior exposição à luz por 3 minutos. O deslocamento do pico máximo em 3-5 nm à esquerda caracterizou a configuração trans e à



direita, a configuração cis. Carotenos policis apresentaram um deslocamento de até 50 nm abaixo da absorção do trans carotenóide, conforme comportamento previsto por Davies, 1976.

### **Grupamentos epóxido-furanóide**

Para confirmar a ausência de grupamentos epóxido-furanóide, os carotenóides isolados na coluna foram secos em nitrogênio e dissolvidos novamente em etanol para leitura da absorbância. A essa fração foi adicionada uma gota de HCl 0,1M e, após três minutos, nova leitura foi realizada e comparada com a primeira leitura (RODRIGUES-AMAYA, 2001). A ausência de carotenóides contendo grupamentos epóxido-furanóide foi confirmada pela ausência de um deslocamento do pico máximo de 20-25 nm no perfil do novo espectro obtido.

### **Cetocarotenóides e apocarotenais**

Para confirmar a ausência de cetocarotenóides e de apocarotenóides, as frações com perfil de espectro não definido, apresentando um único pico máximo de absorção, foram secas em nitrogênio e dissolvidas novamente em etanol 95% para novo monitoramento do espectro. Após a adição de cristais de boroidreto de sódio, as frações permaneceram durante 3h em refrigerador. A ausência de cetocarotenóides e/ou apocarotenais foi confirmada pela ausência de definição da estrutura fina no perfil do espectro após a reação específica.

### **CLAE**

No final do estudo, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC) foi utilizada como forma de separação e confirmação complementar dos carotenóides do coquinho-azedo conforme Azevedo-Meleiro & Rodriguez-Amaya, 2004. Cerca de 3 mL de extrato saponificado do coquinho-azedo foi evaporado sob fluxo de nitrogênio e, em seguida, dissolvido em acetona. Filtrou-se o extrato em unidade filtrante de 0,45 µm de porosidade e injetou-se 10 µL do extrato em uma coluna C18 ODS-2, 3 micras, 150 x 4,6 mm, no sistema HPLC marca Varian ProStar, equipado com bomba quaternária, injetor automático e detector de arranjo de diodos (PAD) controlado pelo software Galaxie. A amostra foi eluída em gradiente de acetonitrila (contendo 0,05% de trietilamina), metanol e acetato de etila 95:5:0 no início da corrida, atingindo 60:20:20 em 20 minutos, condição mantida durante os 60 minutos de corrida. O tempo de equilíbrio da coluna foi de 20 minutos. Fluxo: 0,5

mL/minuto. Os padrões de referência para identificação dos carotenóides foram purificados a partir da couve para o  $\beta$ -caroteno e maracujá para o  $\zeta$ -caroteno. Os demais carotenóides tiveram uma identificação preliminar em CLAE pela comparação com os parâmetros obtidos na cromatografia de coluna aberta e por algumas referências da literatura (BRITTON, 1995, DAVIES, 1976).

### **Cálculo do valor de Pró-vitamina A**

O valor pró-vitamina A foi calculado através do novo fator de conversão (IOM, 2001) onde 12  $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno e 24  $\mu$ g de  $\gamma$ -caroteno correspondem a 1 RAE, equivalente de atividade de retinol.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Na tabela 1 é apresentada a ordem de eluição dos carotenóides, a fase móvel na qual cada carotenóide foi eluído, os comprimentos de onda referentes aos picos máximos de absorção, a estrutura espectral fina, expressada pela razão entre a altura do pico de absorção do maior comprimento de onda (III) e o pico do meio (II), tomando-se o mínimo entre os dois picos como linha de base, multiplicada por 100 (%III/II), o fator de retardamento (Rf), e a configuração do isômero.

Na triagem por cromatografia de camada fina para detecção de carotenóides contendo grupamentos hidroxila e epóxidos, todas as frações eluídas da coluna aberta caminharam com a frente do solvente e apresentaram Rf de 0,99, ou seja, todos os carotenóides eram destituídos de hidroxila (conhecidos como carotenos), a exceção da última fração, que apresentou um Rf de 0,5, indicando ser um carotenóide hidroxilado (conhecido como xantofila, por apresentar oxigênio em sua estrutura).

As primeiras frações, fitoeno e fitoflueno, não foram submetidas à cromatografia de camada delgada, pois são incolores, entretanto, estes carotenóides são convencionalmente identificados pela ordem de eluição na coluna aberta (o reduzido número de insaturações conjugadas favorece a eluição do fitoeno e do fitoflueno na frente dos demais carotenóides) e pela típica estrutura fina do espectro destes carotenóides (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; BRITTON, 1995).

O  $\alpha$ -caroteno (terceira fração) não foi detectado em todos os acessos de coquinho-azedo analisados neste trabalho. Nas amostras em que foi encontrado, apresentou padrão

típico de eluição muito próximo do  $\beta$ -caroteno, sendo diferenciado pela ordem de eluição, pela tonalidade mais clara na coluna aberta, pelo comprimento de onda máximo (445nm) associado à configuração trans, que foi inferior ao do trans- $\beta$ -caroteno (449nm), e pela estrutura fina mais definida em relação à estrutura do  $\beta$ -caroteno no mesmo solvente, conforme preconizado por Rodriguez-Amaya, 1999 e Britton, 1995.

A quarta fração, predominante em todos os acessos de coquinho-azedo, correspondeu ao  $\beta$ -caroteno, que apresentou tonalidade alaranjada e ordem de eluição característica para a fase estacionária e gradiente de eluição empregados, perfil de estrutura fina menos definido do que para o  $\alpha$ -caroteno e comprimento de máxima absorção (449nm) típicos desse carotenóide na configuração trans, quando comparado com a literatura (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; BRITTON, 1995) e com o  $\beta$ -caroteno extraído de fontes convencionais (verduras folhosas e tomate) empregados como padrão de referência neste estudo.

A quinta fração, eluída após o  $\beta$ -caroteno, apresentou tonalidade bem clara e eluição típica de carotenóide não hidroxilado, com estrutura fina muito definida e máximos de absorção em 399 e 424 nm, típicos do  $\zeta$ -caroteno quando comparados com dados da literatura (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999 E BRITTON, 1995) e padrões de referência extraídos de fonte convencional (maracujá).

A sexta fração, que apresentou absorção máxima em 437nm e perfil de espectro pouco definido, apresentou reação negativa para ceto- e apo-carotenóides e deslocamento à direita de 24 nm (absorção máxima em 456nm) com definição da estrutura fina semelhante ao  $\gamma$ -caroteno após reação com o iodo, indicando, conforme Davies (1976), tratar-se de um policis- $\gamma$ -caroteno.

A sétima fração, que apresentou coloração rosada, também apresentou perfil de eluição típico de carotenóide não hidroxilado, sendo encontrada na configuração trans e na cis; seus picos máximos de absorção e estrutura fina do espectro, assim como as características de eluição, coincidiram com as características descritas por Cavalcante (1991) do principal carotenóide da pitanga, o  $\gamma$ -caroteno.

A oitava fração, que apresentou características de eluição de carotenóide não hidroxilado e perfil de espectro com estrutura fina pouco definida, apresentou reação negativa para ceto- apo-carotenóides, com máximo de absorção e estrutura fina condizente com dados da literatura para o  $\gamma$ - $\gamma$ -caroteno na configuração trans (BRITTON, 1995).

A nona fração apresentou características de eluição em coluna aberta e em camada fina típicas de um carotenóide monoidroxilado, com estrutura fina semelhante à da alfa-criptoxantina e da zeinoxantina (III/II=60), que também possuem o mesmo comportamento cromatográfico; porém, devido à reduzida quantidade, não foi possível fazer o teste da metilação para confirmar a posição da hidroxila.

Tabela 1 - Identificação dos carotenóides da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata*, variedade *capitata*)

Carotenóide	Fase móvel	Picos máximos			Rf	Isômeros <sup>1</sup>	%III/II <sup>2</sup>
		$\lambda$ (nm)					
Fitoeno	Éter de petróleo	274	285	297	nd	nd	6
Fitoflueno	Éter de petróleo	331	347	367	nd	nd	89
$\alpha$ -caroteno	Éter de petróleo		445	474	0,99	trans	38
$\beta$ -caroteno	Éter de petróleo (Acetona 4%)	(426)	449	477	0,99	trans	33
$\zeta$ -caroteno	Éter de petróleo (Acetona, 4-6%)	378	399	424	0,99	trans	113
Policis $\gamma$ -caroteno	Éter de petróleo (Acetona, 10%)	(407)	433	(457)	0,99	cis	6
$\gamma$ -caroteno	Éter de petróleo (Acetona, 15%)	433	456	483	0,99	cis e trans	31
$\gamma$ - $\gamma$ -caroteno	Éter de petróleo (Acetona, 20%)	415	438	464	0,99	trans	57
$\alpha$ -criptoxantina ou zeinoxantina	Acetona pura	420	442	471	0,5	trans	64

Separação de carotenóides em coluna de óxido de magnésio / hiflosupercel e fase móvel de éter de petróleo com gradiente de acetona (0 a 100%); <sup>1</sup> Reação específica para detectar configuração cis ou trans.; <sup>2</sup> Razão entre a altura dos picos de absorção do maior comprimento de onda (III) e o pico do meio (II), tomando o mínimo entre os dois picos como linha de base, multiplicada por 100; nd: não determinado.

A concentração média de carotenóides totais foi de 36,1  $\mu\text{g/g}$  (Tabela 2). O  $\beta$ -caroteno foi o carotenóide predominante na composição da polpa, seguido do fitoeno, policis- $\gamma$ -caroteno, fitoflueno,  $\gamma$ -caroteno. Foram detectados apenas traços dos carotenóides  $\gamma$ - $\gamma$ -caroteno,  $\alpha$ -criptoxantina (ou zeinoxantina) e  $\zeta$ -caroteno (Tabela 2). Alguns destes carotenóides não foram encontrados em algumas amostras, o que é natural já que as amostras analisadas são procedentes de diferentes acessos genéticos, que vegetam de forma silvestre no

Norte de Minas Gerais. Desta maneira, o valor da média e do desvio-padrão foi calculado com o respectivo número de amostras as quais possuíam o carotenóide.

Tabela 2. Composição de carotenóides da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata*, variedade *capitata*), comercializado em Montes Claros - MG, safra de 2005-2006.

Carotenóide	Concentração (µg/g) <sup>1</sup>	Composição %
Fitoeno	5,7 ± 4,8	16,3
Fitoflueno	4,4 ± 2,1	11,5
α-caroteno	0,1 ± 0,0	0
β-caroteno	16,1 ± 6,3	45,8
ζ-caroteno	0,8 ± 0,4	2,4
Policis-γ-caroteno	4,7 ± 3,1	13,5
γ-caroteno	2,9 ± 1,3	8,3
γ-γ-caroteno	0,7 ± 0,3	2,2
α-criptoxantina ou zeinoxantina	0,8 ± 0,5	0
Carotenóides totais (µg/g)	36,1	100
Pró-vitamina A (RAE/100g) <sup>2</sup>	146,2	54

<sup>1</sup> Média e desvio padrão (n=11, β-caroteno; n=9, γ-caroteno, policis-γ-caroteno e α-criptoxantina; n=8, γ-γ-caroteno; n=7, ζ-caroteno, n=6, fitoeno e fitoflueno e n=3, α-caroteno).

<sup>2</sup> Fator de conversão [12 µg de β-caroteno e 24 µg de γ-caroteno = 1 RAE] (IOM, 2001)

Na Figura 1 está apresentado o cromatograma obtido dos extratos da polpa do coquinho-azedo em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Pôde-se confirmar a presença predominante do β-caroteno, ( $t_R = 33,48$  min;  $\lambda_{max} = 453$  nm), e a presença do ζ-caroteno, ( $t_R = 31,40$  min;  $\lambda_{max} = 401$  nm), comparados com os respectivos carotenóides purificados a partir de fontes convencionais. O cis-β-caroteno e o cis-ζ-caroteno, detectados apenas por CLAE, provavelmente foram formados durante a estocagem do fruto por congelamento, já que não foram detectados nas amostras in natura analisadas por coluna aberta. Os outros carotenóides, identificados por coluna aberta, obtiveram uma identificação complementar por CLAE. Traços de luteína, que não foi detectada em coluna aberta, foram detectados por CLAE e confirmados por comparação com seu padrão purificado a partir de fontes convencionais deste carotenóide (verduras folhosas).

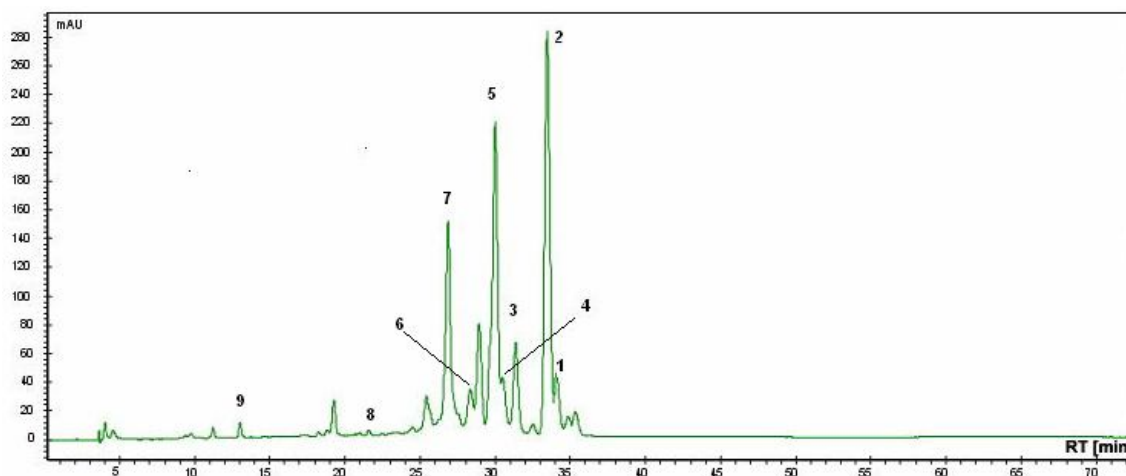


Fig. 1. Cromatograma dos carotenóides presentes no extrato da polpa congelada (12 meses) do coquinho-azedo, obtido em sistema CLAE. (Coluna: C18 ODS-2, 3 micras, 150 x 4,6 mm, 0,45  $\mu$ m; fase móvel: acetonitrila (contendo 0,05% de trietilamina), metanol e acetato de etila (95:5:0) (1) cis  $\beta$ -caroteno, (2)  $\beta$ -caroteno, (3)  $\zeta$ -caroteno, (4) cis  $\zeta$ -caroteno, (5) policis  $\gamma$ -caroteno, (6)  $\gamma$ -caroteno, (7)  $\gamma\gamma$ -caroteno, (8)  $\alpha$ -criptoxantina, (9) luteína. Os picos não numerados não obtiveram identificação por serem de misturas de compostos ou por desconhecimento de qual seja o composto.

As análises realizadas no presente estudo revelaram uma variação considerável no teor de carotenóides entre diferentes amostras. A variação na composição de carotenóides em frutos e hortaliças tem sido amplamente reportada na literatura sendo resultado do efeito de diversos fatores como o acesso genético, o grau de maturação, o tipo de solo, as condições climáticas e a exposição à luz solar (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

O  $\beta$ -caroteno contribuiu com 92% do valor pró-vitamina A do coquinho-azedo (50-200 RAE/100g). Este valor é semelhante aos valores encontrados para frutas convencionalmente consumidas e consideradas ricas em carotenóide pró-vitamina A, como a manga (60-215 RAE/100g) e a acerola (42-225 RAE/100g). [valores encontrados no estudo de Rodriguez-Amaya (1996) e recalculados, tendo como base o novo fator de conversão para carotenóides]. De acordo com as necessidades diárias de vitaminas recomendadas pelo Instituto Americano de Medicina (IOM, 2001) um copo de suco contendo 100g de polpa de coquinho-azedo poderia suprir cerca de 40% das necessidades diárias de vitamina A para crianças menores de 8 anos de idade. No norte de Minas Gerais, o suco de coquinho-azedo já está incorporado à merenda escolar.

## CONCLUSÃO

Considerando a importância socioeconômica e cultural do coquinho-azedo (*Butia capitata*) na grande região do Cerrado, que atinge 11 estados brasileiros, esta palmeira constitui um elo importante da corrente econômica que mantém populações rurais isoladas ou marginalizadas pela sociedade de consumo.

Os altos teores de carotenóides provitamínicos encontrados na polpa desse fruto oferecem excelente perspectiva do ponto de vista nutricional, no sentido de combater a hipovitaminose nesta região de forma sustentável. A presença de carotenóides provitamínicos A, somada ao alto teor de lipídeos (2,6%, segundo FARIA et al., 2008b), sugere que a polpa do coquinho-azedo possa representar uma rica fonte de pró-vitamina A para a população do cerrado, já que o maior conteúdo lipídico favorece a absorção dos carotenóides na dieta.

As semelhanças edafoclimáticas entre o Cerrado Brasileiro e a Savana Africana reforçam a necessidade de estudos complementares referentes à biodisponibilidade desses carotenóides no coquinho-azedo visando sua disseminação em países que possuem clima e solo semelhantes aos do Cerrado. Estes resultados também respaldam a relevância cultural da espécie e a importância da manutenção da variabilidade no cerrado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F.A.C.S.; FARO, Z.P. Carotenoids as an alternative against hypovitaminosis A. *Revista de Nutrição*. v.19,n.2, 233-243 , 2006.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Journal of Food Composition and Analysis*. v.17, p.385-39, 2004.
- BAUERNFEIND, J. C. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.20, n.3, p.456-473 , 1972.
- BRITTON,G; LIAAEN-JENSEN,S; PFANDER,H. Carotenoids, 1A:Isolation and Analysis. - Basel;Boston;Berlin: Birkhäuser, 1995, 328p.
- BRITTON,G.UV/Visible. In: Britton, G.; Liaaen-Jensen,S; Pfander,H. Carotenoids, 1B: Spectroscopy, Basel;Boston; Berlin:Birkhauser, p.13-63, 1995.
- CAVALCANTE, M. L. Composição de carotenóides e valor de vitamina A em pitanga (*Eugenia uniflora*) e acerola (*Malpighia glabra* L.) 87p, 1991. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- DAVIES, B. H. Carotenoids. In: Goodwin, T. W. (Ed.). *Chemistry and biochemistry of plant pigments*. London: Academic Press, 1976, 165p.
- FARIA, J. P.; ARELLANO, D. B.; GRIMALDI, R.; SILVA, L. CARVALHO R.; VIEIRA, R. F.; SILVA, D. B. ; AGOSTINI-COSTA, T. S., Caracterização química da amêndoa de coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). *Rev. Bras. Frutic.* , Jaboticabal, v.30,n.2, p.549-552, 2008a.
- FARIA, J.P.F., A.F. , SILVA, L.C.R., VIEIRA,R.F.V., AGOSTINI-COSTA, T.S. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var. *capitata*). *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v.30 ,n.3, p.820-822,2008b.
- GERMANO, R. M. A.; CANNIATTI BRAZACA, S. G. Vitamin A – significance for human nutrition. , *J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, v.27, p.55-68, 2004.
- IOM –U. S. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes: for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Washington, D.C., National Academy Press, 2001,797p.
- MARCATO, A. C.; PIRANI, J. R. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Palmae (Arecaceae). *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, v.24, p.1-8 , 2006.
- MARTINS, R. C.; SANTELLI, P.; FILGUEIRAS, T. S. Coco-cabeçudo. In: Vieira, R. F.; Agostini-Costa, T. S.; Ferreira, F.R., Sano, S. M.. (Org.). *Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.
- OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. *Journal of Chromatography*, Amsterdam, v.881, p.543-555 , 2000.
- OLSON, J. A., Carotenoids and Human Health. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Guatemala, v.49, p7-11,1999.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington: ILSI Press, 2001.64p.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Assessment of the provitamin A contents of foods: the Brazilian experience. *Journal of Food Composition and Analysis*. v.9, p.196-230, 1996.
- TAPIERO, H.; TOWNSEND, D.M.; TEW, K.D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*,v. 58, p.100-110 , 2004.



## PARTE III

### 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O clima tropical favorece a ocorrência de uma grande diversidade de frutas carotenogênicas no Brasil, tendo uma ampla variedade qualitativa e quantitativa (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). No entanto, grande parte da população rejeita e desvaloriza o que é próprio do país por uma série de tabus e preconceitos, além destas espécies estarem sendo ameaçadas em função das derrubadas e das queimadas.

A investigação científica do potencial econômico, nutricional, tecnológico e agrícola dos frutos do cerrado deve estimular tanto a preservação desse bioma quanto o cultivo destas espécies e o desenvolvimento sustentável da região.

Há necessidade da população ter acesso aos alimentos e, principalmente, à educação nutricional, a qual poderia esclarecer que é possível suprir as necessidades orgânicas de vitamina A através do consumo de fontes nativas da região, como de vegetais ricos em  $\beta$ -caroteno, os quais estão mais disponíveis do que as fontes de vitamina A pré-formada, presente nos alimentos de origem animal, que são economicamente menos acessíveis. O manejo adequado representa a possibilidade de uso contínuo das diferentes partes da planta (MARTINS; SANTELLI ;FILGUEIRAS, 2006).

O coquinho-azedo pode ser coletado entre os meses de novembro e fevereiro. A produção da polpa congelada, que também é destinada à merenda escolar, favorece a geração de renda, enriquecimento e alimentação das comunidades locais e estimula a preservação da espécie.

Além disso, o potencial nutritivo do coquinho-azedo poderia ser usado como um importante aliado ao combate ao problema de saúde pública no Brasil, a hipovitaminose A.

## **9 PERSPECTIVAS**

O potencial vitamínico A do coquinho-azedo deve ser avaliado por meio da determinação da biodisponibilidade dos carotenóides pró-vitamínicos presentes na polpa desse fruto. Estudos adicionais, *in vivo*, devem ser conduzidos visando a avaliação do potencial antioxidante da polpa do coquinho azedo.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ACC/SCN. United Nations Administrative Committee on Coordination/United Nations System Standing Committee on Nutrition, Second report on the world nutrition situation. Global and regional results, 1993.
- AMBRÓSIO, C.L.B.; CAMPOS, F.A.C.S.; FARO, Z.P. Carotenoids as an alternative against hypovitaminosis A. *Rev. Nutr*, v.19, p.233-243,2006.
- ARIMA, H.K.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from Northeastern Brasil. *Arch. Latinoam. Nut*,v.40, p.284-292 ,1990.
- BAUERNFEIND, J. C. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistr*, v. 20,n.3, p.456-473 , 1972.
- BRACK, P; KINUPP, V. F. ; SOBRAL, M.E.G.Levantamento preliminar de espécies frutíferas de árvores e arbustos nativos com uso atual ou potencial do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v.2,n.1, p.1769-1772 , 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Política nacional de alimentação e nutrição. Brasília: Ministério da Saúde. , 2000.
- BRITTON, G. UV/visible spectroscopy In: Britton,G; Liaaen-Jensen,S; Pfander,H. Carotenoids, vol. 1B *Spectroscopy*, Basel;Boston;Berlin: Birkhäuser, p.13-63 , 1995.
- BRITTON,G; LIAAEN-JENSEN,S; PFANDER,H. Carotenoids, 1A:Isolation and Analysis. - Basel;Boston;Berlin: Birkhäuser, 328p.CAMPOS, F. M., ROSADO, G.P., 2005 Novos fatores de conversão de carotenóides provitamínicos A. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. v.25,n.3p. 571-578, 1995.
- CAVALCANTE, M. L. *Composição de carotenóides e valor de vitamina A em pitanga (Eugenia uniflora) e acerola (Malpighia glabra L.)*. 1991.87p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- CAVALCANTE, M.L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. In Charalambous, G. *Food science and human nutrition*. Elsevier Science Publishers.p.643-650, 1992.
- DOLINSKY, M.; RAMALHO A. Deficiência de Vitamina A: Uma Revisão Atualizada. *Compacta Nutrição*, v.4,n.2),15p. ,2003.
- FAO/ WHO.Human vitamin and mineral requirements. Roma ,2002. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/nutrition/Vitrni/vitrni.html> Acesso em: 29 set.2008.
- FARIA, J.P.F., A.F. ; SILVA, L.C.R.; VIEIRA,R.F.V.; AGOSTINI-COSTA, T.S. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var. *capitata*). *Rev. Bras. Frutic*. V.30,n.3, p.820-822 ,2008.

- GERALDO, R.R.C.; PAIVA, S.A.R.; PITAS, A.M.C.S.; GODOY, I.; CAMPANA, A.O. Distribution of hipovitaminosis A in Brazil in the last four decades: dietary intake, clinical signs and biochemical data. *Rev. Nutr.*, v.16, p.443-460 , 2003.
- GERMANO, R. M. A.; CANNIATTI BRAZACA, S. G. Vitamin A – significance for human nutrition. *J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, v.27, p.55-68, 2004.
- GROSS, J.; IKAN, R.; ECKHARDT, G. Carotenoids of the fruit of *Overrhoa carambola*. *Phytochemistry*. v.22, p.1479-1481, 1983.
- HANDELMAN, G.J. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*. v.17, p.818-822 , 2001.
- IVACG, International Vitamin A Consultive Group. The bioavailability of dietary carotenoids: current concepts. *Sight and life* , 1999. Disponível em: <[http://inacg.ilsa.org/file/a4\\_carotenwaddendum.pdf](http://inacg.ilsa.org/file/a4_carotenwaddendum.pdf)> Acesso em 20 set. 2008.
- KHAN, N.C.; WEST, C.E.; DE PEE, S. BOSCH, D.; PHUONG, H.D.; HULSHOF, P.J.M.; KHOI, H.H.; VERHOEF, H.; HAUTVAST, J.G.A.J. The contribution of plant foods to the vitamin A supply of lactating women in Vietnam: a randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*. v.85, p.1112-1120 , 2007.
- MARCATO, A. C.; PIRANI, J. R. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Palmae (Arecaceae). *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, v.24, p.1-8, 2006.
- MARTINS, R. C.; SANTELLI, P.; FILGUEIRAS, T. S. Coco-cabeçudo. In: Vieira, R. F. *Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil* Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia ,2006.
- MERCADANTE, A.Z.; BRITTON, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoids from yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). *J. Agri. Food Chem.*, v.46, p.4102-4106 , 1998.
- MERCADANTE, A.Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.. Confirmação da identidade da  $\alpha$ -criptoxantina e da incidência de carotenóides minoritários pró-vitamínicos A em verduras folhosas verdes. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. v.21, p.216-222, 2001.
- NEPA, Núcleo de Estudos e Pesquisas em Nutrição, 2006. *Tabela brasileira de composição de alimentos*. 2ª Edição, 113p.
- NESTEL, P.; NALUBOLA, R.  $\beta$ -carotene in fruits is more bioavailable than that in vegetables. International Life Sciences Institute. 2003. Disponível em: <<http://www.ilsa.org/file/vitafruit.pdf>> Acesso em: 25 set. 2008.
- OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. *Journal of Chromatography*, Amsterdam, v.881, p.543-555 , 2000.
- OLSON, J. A. Provitamin A Function of Carotenoids: The Conversion of  $\beta$ -Carotene into Vitamin A. *American Institute of Nutrition* , 1989.
- OLSON, J.A.. Bioavailability of carotenoids. *Arch. Latinoam. Nutr*. v.49, p.21-25, 1999 a.

OLSON, J.A. Carotenoids. In: Shils, M.E., Olson, J.A., Shike, M., Ross, A.C. eds. *Modern nutrition in health and disease*, 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999 b.p.525-541 ,

OLSON, J. A., Carotenoids and Human Health. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Guatemala, .49, p.7-11 1999c.

OLSON, J.A. Carotenoids. In: SHILS, M.E., OLSON, J.A., SHIKE, M. ROSS, A.C. Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença. 9ª ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, p.561-577 , 2003.

RAMALHO, R.A.; FLORES, H.; SAUNDERS, C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. *Pan Am J Public Health*, v.12, p.117-123, 2002.

RAMOS, M.I.L.; SIQUEIRA, E.M.A.; ISOMURA, C.C.; BARBOSA, A.M.J.; ARRUDA, S.F. Bocaiuva (*Acrocomia auleata*(Jacq.)Lodd) Improved Vitamin A Status in Rats. *J. Agric. Food Chem.*, v.55, p.3186-3190 , 2007.

ROCK, C.L.; LOVALVO, H.; EMENTHISER, C. ;RUFFIN, M.T.; FLATT; SCHWARTZ, S.W. S.J. Bioavailability of  $\beta$ -carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. *Journal of Nutrition*, v.128, p.913-916 , 1998.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Critical review of provitamin A determination in plant foods. *Journal of Micronutrient Analysis*, v.5, p.191-225 , 1989.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Assessment of the provitamin A contents of foods: the Brazilian experience. *Journal of Food Composition and Analysis*. v.9,. p.196-230 , 1996.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed and stored foods. U.S. *Agency for International Development*, Washington, DC, p.93,1997.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Latin american food sources of carotenoids. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v. 49, p.74-84 , 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Some physicochemical properties of carotenoids. In: Rodriguez-Amaya, D.B. *A guide to carotenoid analysis in foods*. Campinas: ILSI Press , 2001, p.14-22.

ROSS, A.C. Vitamin A and retinoids. In: Shills, M.E., Olson, J.A., Shike, M., Ross, A.C. *Modern nutrition in health and disease*( 9th ed) Baltimore: Williams & Wilkins, p.305-327 , 1999.

RUEL, M.T. Can Food-Based Strategies Help Reduce Vitamin A and Iron Deficiencies? A Review of Recent Evidence. *International Food Policy Research Institute*. Washington, D.C., 2001,79p.

SCOTT, K.J.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.. Pro-vitamin A carotenoid conversion factors: retinol equivalents — fact or fiction? *Food Chemistry*, v.69, p.125–127 ,2000

SILVEIRA, E.R.; MORENO, F.S. Natural retinoids and  $\beta$ -carotene: From foods to their actions on gene expression. *J. Nutr. Biochem.*, v.9, p.446-456, 1998.

SOMMER, A.; WEST, K.P. Vitamin deficiency: health, survival, and vision. *New York: Oxford University Press.*, 1996.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D.M.; TEW, K.D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. v.58, p.100-110 , 2004.

VAN HET HOF, K.H.; WEST, C.E., WESTSTRATE, J.A., HAUTVAST J.G.A.J. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J. Nutr.*, v.130, p.503-506. , 2000.

VILLAR, B. S.; RONCADA, M. J. Determinação do consumo de alimentos fontes de vitamina A por gestantes, utilizando o formulário dietético simplificado (FDS). *Arch. Latinoam. Nutr.*, v.52, n.1, p.48-54 , 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global prevalence of vitamin A deficiency: micronutrient deficiencies information system. Working paper no. 2. Geneva, 1995,116p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva., 1996, 66p.

YONEKURA, L., NAGAO, A. Intestinal absorption of dietary carotenoids. *Mol. Nutr. Food Res.* v.51, p.107-115 , 2007.

YUYAMA, L.K.O.; ALENCAR, F.H.; MARINHO, H.A.; COZZOLINO, S.M.F. Vitamina A (retinol) e carotenóides. In: Cozzolino, S.M.F. *Biodisponibilidade de nutrientes*. Barueri, São Paulo: Manole, 2005, p.213-257.

YUYAMA, L.K.O.; FAVARO, R.M.D.; YUYAMA, K.; VANNUCCHI, H. Bioavailability of vitamin A from peach palm (*Bactris gasipaes* H. B. K.) and from mango (*Mangifera indica* L.) in rats. *Nutr.Res.* v.11, p.1167-1175, 1991.

## APÊNDICE - Espectros obtidos em CLAE

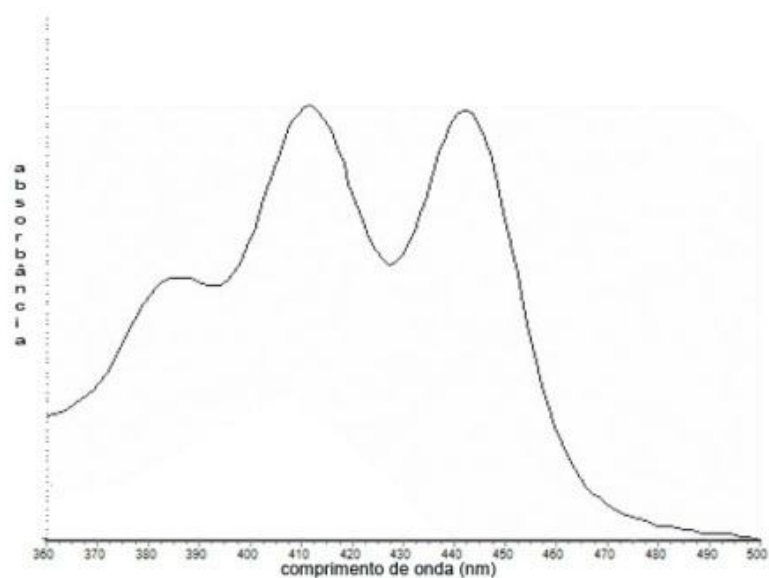


Figura 23 - Espectro do arranjo de diodos do  $\zeta$ -caroteno Fase móvel: acetonitrila, metanol e acetato de etila (95:5:0). Tempo de retenção: 31.40 min; pico máximo: 425 nm.

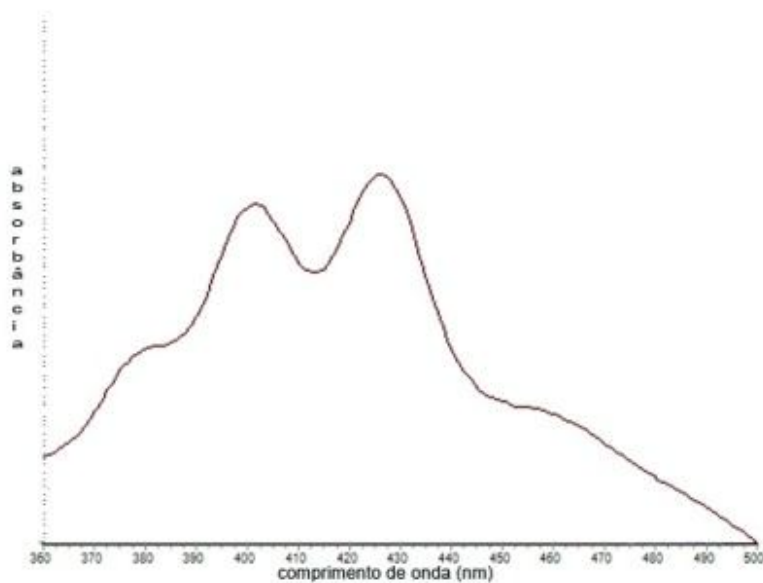


Figura 24 - Espectro do arranjo de diodos do cis  $\zeta$ -caroteno. Fase móvel: acetonitrila, metanol e acetato de etila (95:5:0). Tempo de retenção: 30.50 min; pico máximo: 424 nm.

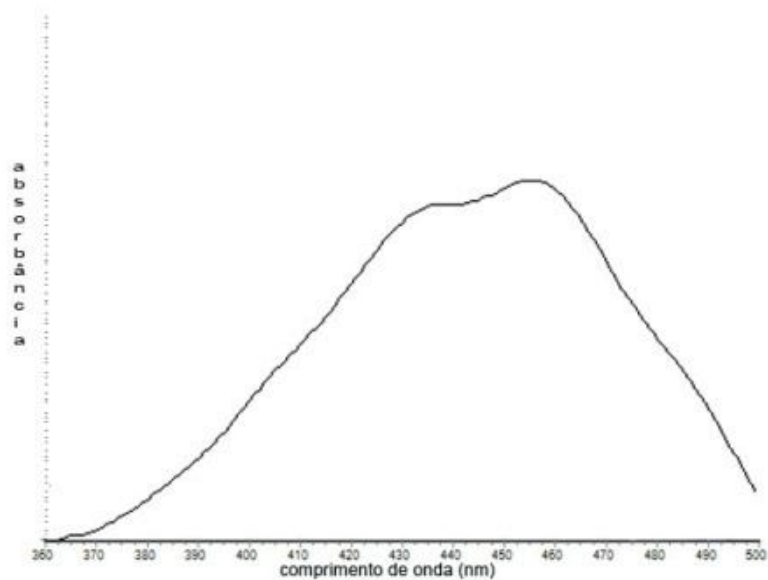


Figura 25 - Espectro do arranjo de diodos do policis  $\gamma$ -caroteno. Fase móvel: acetonitrila, metanol e acetato de etila (95:5:0). Tempo de retenção: 30.00 min; pico máximo:456 nm.

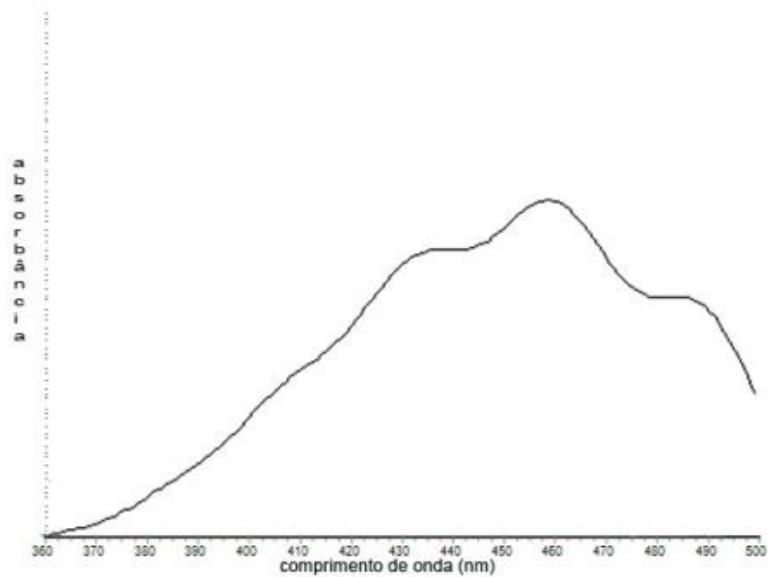


Figura 26 - Espectro do arranjo de diodos do  $\gamma$ -caroteno. Fase móvel: acetonitrila, metanol e acetato de etila (95:5:0). Tempo de retenção: 28.36 min; pico máximo:459 nm.



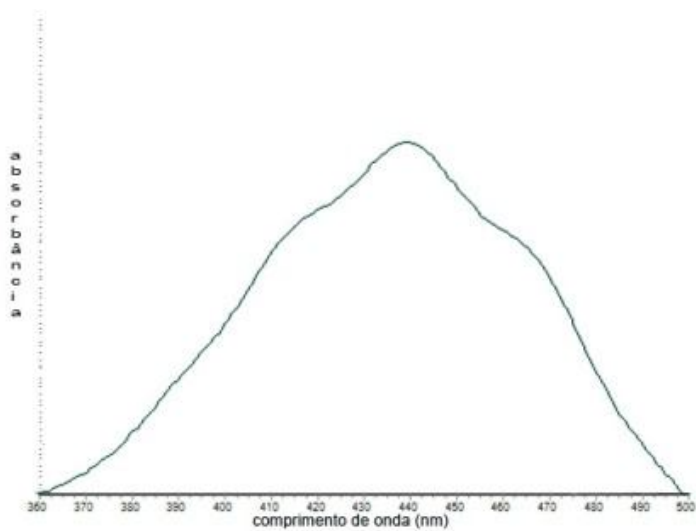


Figura 27- Espectro do arranjo de diodos do  $\gamma\gamma$ -caroteno. Fase móvel: acetonitrila, metanol e acetato de etila (95:5:0). Tempo de retenção: 26.89 min; pico máximo:439 nm

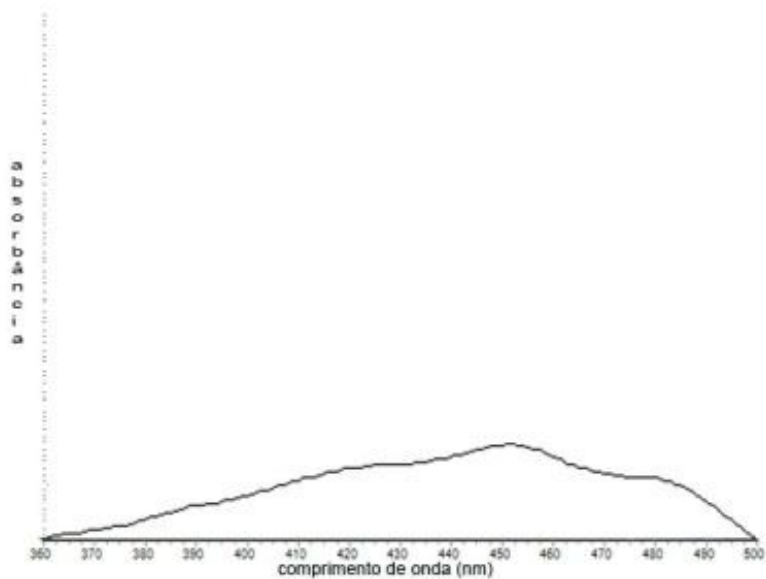


Figura 28 - Espectro do arranjo de diodos da  $\alpha$ -criptoxantina ou zeinoxantina. Fase móvel: acetonitrila, metanol e acetato de etila (95:5:0). Tempo de retenção: 21.51 min; pico máximo:452 nm

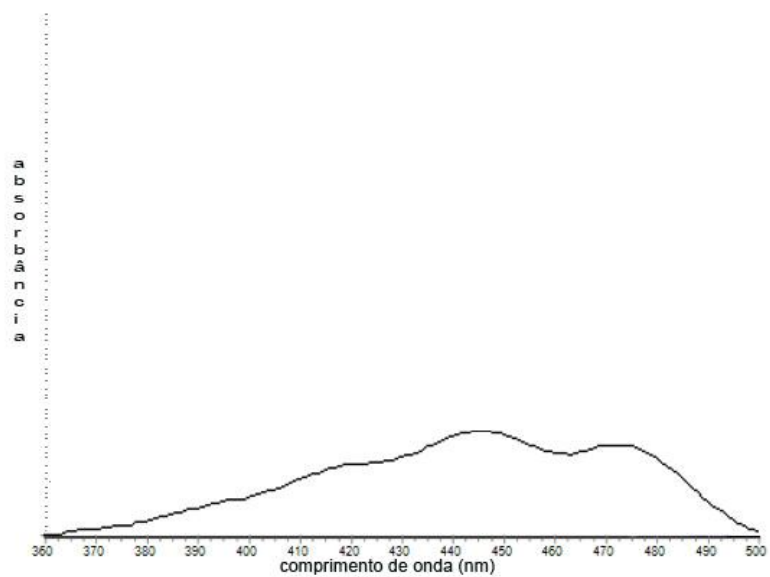


Figura 29 - Espectro do arranjo de diodos da Luteína. Fase móvel: acetonitrila, metanol e acetato de etila (95:5:0). Tempo de retenção: 13.17 min; pico máximo:446 nm

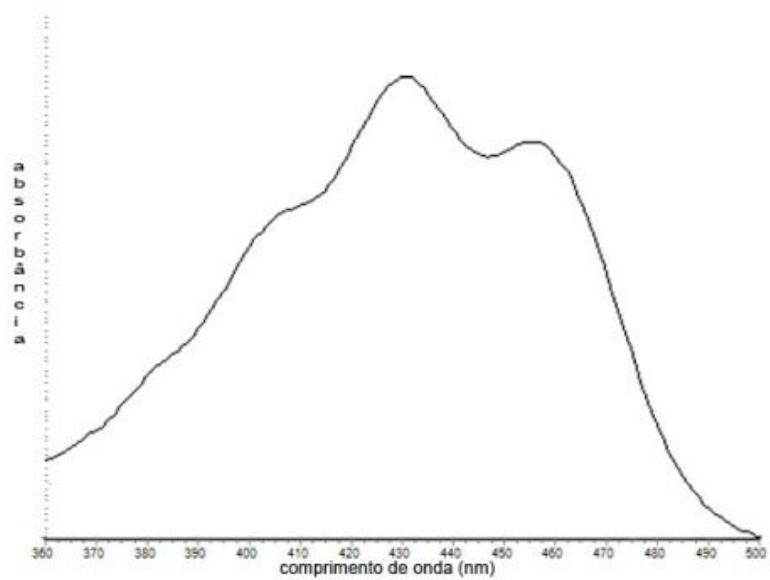


Figura 30a - Tempo de retenção: 32.52min; pico máximo:429 nm

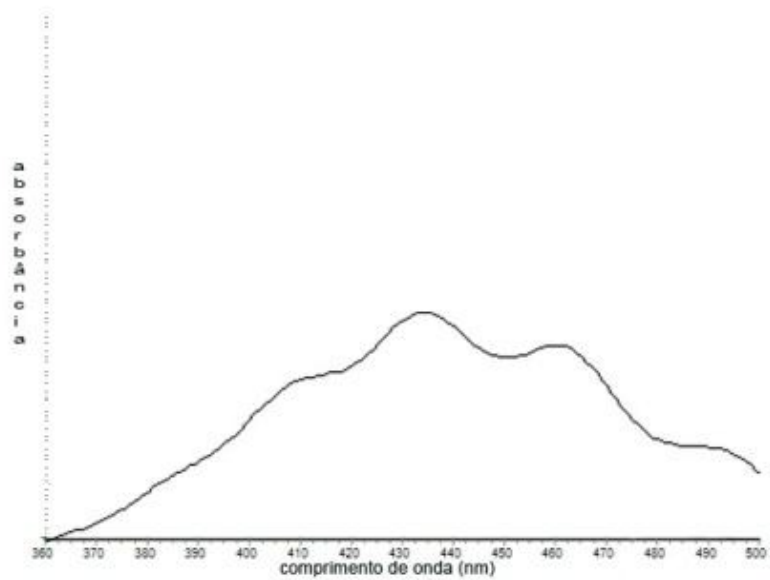


Figura 30b - Tempo de retenção: 29.20 min; pico máximo:434 nm

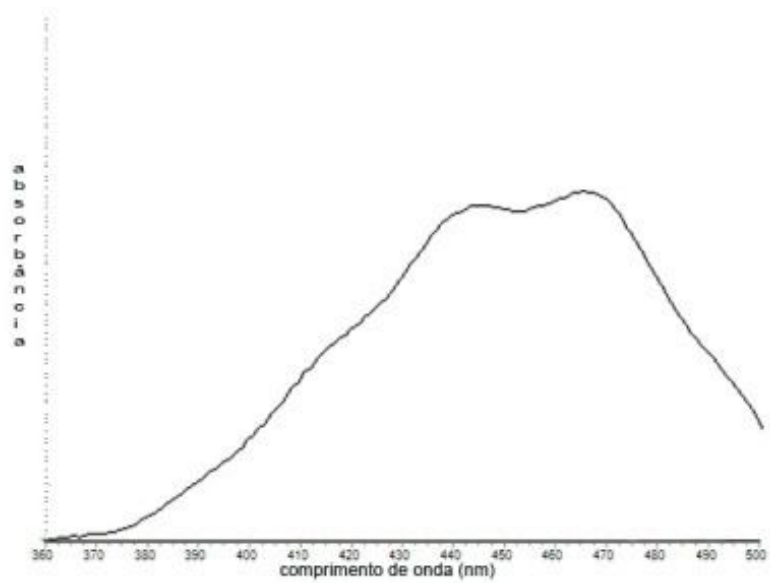


Figura 30c - Tempo de retenção: 25.60 min; pico máximo:465 nm

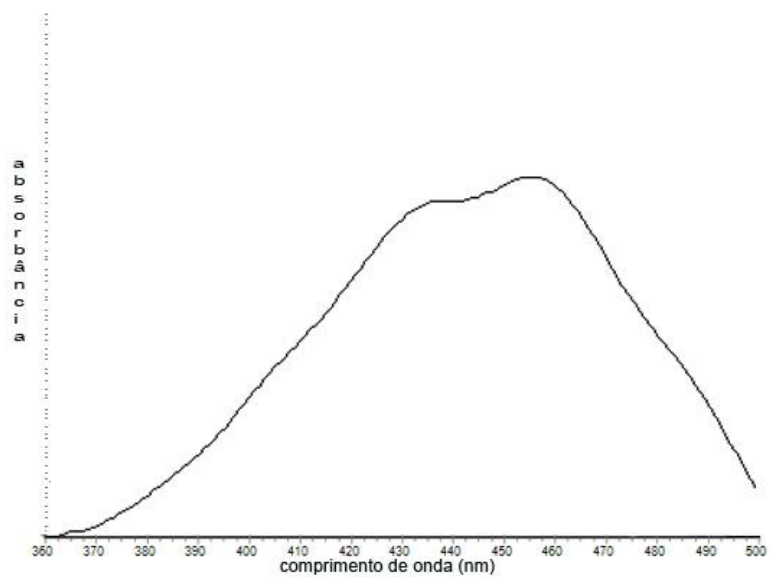


Figura 30d - Tempo de retenção: 19.28 min; pico máximo:456 nm

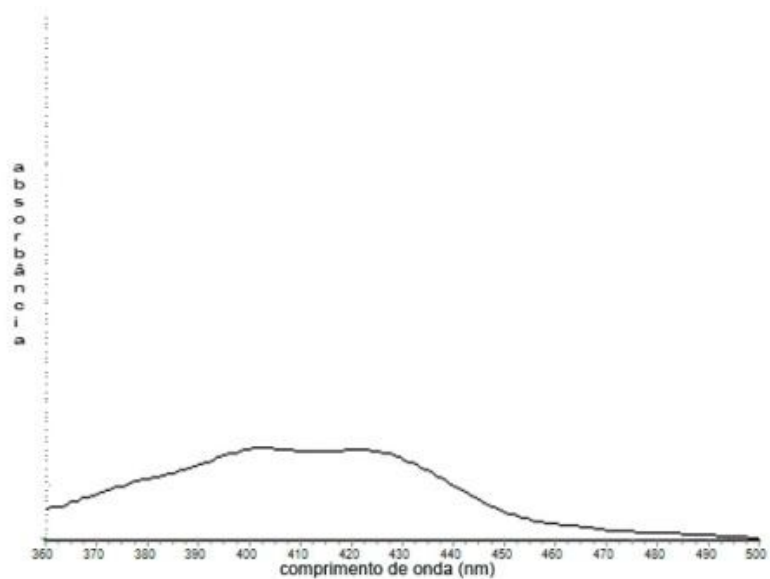


Figura 30e - Tempo de retenção: 11.35 min; pico máximo: 403 nm

Figura 30 - Espectros dos demais compostos não identificados, obtidos do arranjo de diodos. Fase móvel: acetonitrila, metanol e acetato de etila (95:5:0).

