



Universidade de Brasília
CET – Centro de Excelência em Turismo

Pós-graduação Lato Sensu

Curso de Especialização em Qualidade em Alimentos

“CAROTENÓIDES: CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E QUÍMICAS”

FLÁVIA LUISA DE MORAIS

Brasília – DF
Março / 2006

**Universidade de Brasília
CET – Centro de Excelência em Turismo**

Curso de Especialização em Qualidade em Alimentos

“CAROTENÓIDES: CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E QUÍMICAS”

FLÁVIA LUISA DE MORAIS

Wilma Araújo,
Doutora
Professor Coordenador

Sandra Fernandes Arruda,
Doutora
Professor Orientador

Luiz Antônio Borgo,
Mestre
Professor Examinador

“Trabalho apresentado em cumprimento às exigências acadêmicas parciais do curso de pós-graduação lato sensu em Qualidade em Alimentos para a obtenção do grau de Especialista”

Morais, Flávia Luisa de

Carotenóides: Características Biológicas e Químicas /
Flávia Luisa de Moraes.

Monografia – Curso de Qualidade em Alimentos IV
Brasília – DF, março de 2006.

Área de Concentração: Nutrição

Orientador: Prof^a Dr^a Sandra Fernandes Arruda

- | | | |
|------------------|-----------------------|------------------|
| 1. Carotenóides | 2. Corantes | 3. Antioxidantes |
| 4. Biotecnologia | 5. Biodisponibilidade | |

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu amigo, eterno namorado e amoroso esposo, Ivair Gonçalves da Silva, que incentivou e financiou meu estudo. E ao meu pequeno filho, Samuel Morais Silva, minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus Pai pelo dom que me deste, o dom da vida. Aos meus pais, Lourival Garcia de Moraes e Iraci Luisa de Moraes, pelo esforço de me educar. As minhas amigas do curso de especialização: Juliana de Moraes Guedes, Marina França de Vasconcelos, Sandra Maria dos Santos Ferreira, Simone Torres Palmeira e Renata Vieira Duarte, que me incentivaram, durante os estudos, a não desistir dos meus ideais. A minha professora orientadora Dr^a Sandra Fernandes Arruda, pela transmissão de conhecimentos. E ao meu afilhado Georgellis Martins da Costa, por seus conhecimentos de informática.

RESUMO

Os carotenóides são pigmentos que possuem atividade pró-vitamina A, antioxidante e de grande interesse para o setor alimentício, pois cresce a demanda por alimentos que contenham ingredientes naturais, que se destacam principalmente pela coloração e o valor nutricional. Os carotenóides são lipossolúveis e instáveis, sendo restrita sua utilização em diversos gêneros alimentícios. Analisando estas informações, este trabalho teve por objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre as características biológicas e químicas das moléculas de carotenóides, guardando dados para um futuro trabalho em biotecnologia em carotenóides hidrossolúveis. A principal característica biológica e química dessas moléculas é o sistema de duplas ligações conjugadas que são responsáveis pela pigmentação, ações antioxidante e anticancerígena, mas também pela instabilidade, pois os carotenóides são susceptíveis a isomerização e degradação oxidativa.

- | | | |
|------------------|-----------------------|-----------------|
| 1. Carotenóide | 2. Corante | 3. Antioxidante |
| 4. Biotecnologia | 5. Biodisponibilidade | |

ABSTRACT

The carotenoids are pigments that possess activity pro-vitamin A, antioxidant and of great interest for the nourishing sector, therefore the demand for foods grows that contain natural ingredients, that if mainly detach for the coloration and the nutritional value. The carotenoids are liposoluble and unstable, being restricted its use in diverse foodstuffs. Analyzing these information, this work had for objective to carry through a bibliographical revision on the biological and chemical characteristics of molecules of carotenoids, keeping given for a future work in biotechnology in hydrosoluble carotenoids. The main biological and chemical characteristic of these molecules is the system of double conjugated linkings that are responsible for the pigments, antioxidant and anticancirogen action, but also for the instability, therefore the carotenoids are susceptible the isomerization and oxidizing degradation.

- | | | |
|------------------|-------------|--------------------|
| 1. Carotenoid | 2. Coloring | 3. Antioxidant |
| 4. Biotechnology | | 5. Bioavailability |

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	03
2.1 Estrutura dos Carotenóides.....	03
2.2 Classificação dos Carotenóides.....	05
2.3 Propriedades dos Carotenóides.....	09
2.3.1 Solubilidade.....	09
2.3.2 Antioxidante.....	10
2.3.3 Cromóforo.....	11
2.3.4 Isomerização.....	13
2.3.5 Oxidação.....	14
2.3.6 pH.....	14
2.4 Caracterização de alguns Carotenóides.....	15
2.4.1 Caroteno e seus derivados.....	15
2.4.1.1 Vitamina A.....	18
2.4.2 Licopeno.....	23
2.4.3 Bixina.....	25
2.5 Fontes de Carotenóides.....	26
2.6 Mercado consumidor.....	33
2.7 Digestão, Absorção, Transporte e Metabolismo de Carotenóides.....	33
2.8 Biodisponibilidade de Carotenóides.....	36
2.9 Extração e Separação de Carotenóides.....	38
2.10 Biotecnologia de Carotenóides.....	39
2.10.1 Biotecnologia de Carotenóides Hidrossolúveis.....	40
3. METODOLOGIA.....	44
4. CONCLUSÃO.....	45
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Representação das estruturas do isopreno, da β -ionona e do licopeno.....	04
Figura 2.	Estrutura do todo- β -caroteno e 9-cis- β -caroteno representando as formas cis e trans dos carotenóides.....	05
Figura 3.	Estrutura simplificada de alguns carotenóides: hidrocarbonetos, ésteres e ácidos.....	06
Figura 4.	Estrutura simplificada de alguns carotenóides: álcoois.....	07
Figura 5.	Estrutura simplificada de alguns carotenóides: cetonas e epóxidos.....	08
Figura 6.	Estrutura simplificada de alguns carotenóides: epóxidos, éteres e cetonas.....	09
Figura 7.	Reações de carotenóides e radicais livres.....	11
Tabela 1.	Pontos de fusão e espectro de absorção de alguns carotenóides.....	12
Figura 8.	Estrutura dos carotenos α , β , γ e da vitamina A.....	16
Figura 9.	Biossíntese de carotenóides.....	17
Figura 10.	Bioconversão de carotenóides e retinil ésteres em diferentes formas ativas de vitamina A.....	19
Tabela 2.	Atividade em % de alguns carotenóides pró-vitamina A.....	20
Figura 11.	Estrutura das duas vias de conversão do β -caroteno a éster de retinil .	21
Tabela 3.	Conteúdo de licopeno nos alimentos.....	24
Figura 12.	Estrutura da bixina e norbixina	25
Tabela 4.	Valores médios de carotenóides identificados em frutos da Amazônia..	28
Figura 13.	Estrutura do carotenóide isolado e as estruturas dos produtos resultantes das derivatizações químicas.....	30
Tabela 5.	Valores médios de β -caroteno e vitamina A das hortaliças comercializadas nos mercados formal e informal de Viçosa, Minas Gerais.....	32

Figura 14. Absorção, metabolismo e transporte de carotenóides.....	34
Figura 15. Esquema da absorção, metabolismo e transporte de ésteres de retinil.	35
Figura 16. Esquema da complexação entre γ -ciclodextrina e éter etílico do ácido apocarotenóico.....	42
Figura 17. Hidrossolubilidade do éter etílico do ácido apocarotenóico induzida pela complexação com γ -ciclodextrina.....	43

1. INTRODUÇÃO

O consumo de frutas e hortaliças, com alto teor de carotenóides, vem ganhando atenção do consumidor mundial com o intuito de melhorar sua alimentação e, conseqüentemente, prevenir o desenvolvimento de algumas doenças crônicas não transmissíveis, tais como o câncer e doenças cardiovasculares. Na indústria de alimentos, os carotenóides são usados como corantes alimentares naturais substituintes dos corantes sintéticos, que possuem maior potencial alergênico e cancerígeno, e ainda como compostos antioxidantes que combatem os radicais livres (MATIOLI & RADRIGUEZ-AMAYA, 2003).

Os carotenóides, no organismo humano, são parcialmente convertidos a vitamina A (retinol), desempenhando um importante papel nutricional, além de exercerem, também, outras ações: diminuição do risco de doenças crônicas não transmissíveis, prevenção da formação de catarata e redução da degeneração macular relacionada ao envelhecimento. Além disso, nas plantas, os carotenóides desempenham um papel fundamental como pigmento acessório na fotossíntese, agindo como captador de energia e protetor contra foto-oxidação (KRINSKY, 1994).

Entre as características químicas e biológicas dos carotenóides, encontra-se um sistema de duplas ligações conjugadas responsáveis pelo poder corante e, também, pela ação antioxidante, apesar de ser, esse mesmo sistema, responsável pela instabilidade e conseqüente isomerização e oxidação das moléculas de carotenóides durante o processamento e a estocagem (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999^a). Embora as moléculas de carotenóides sejam suscetíveis à oxidação durante o processamento de alimentos, a biodisponibilidade pode ser melhorada, resultado da dissociação ou enfraquecimento da complexidade da ligação entre os carotenóides e a matriz das células de vegetais (SAUNDERS *et al.*, 2000).

Em muitas das aplicações dos carotenóides na indústria de alimentos, anseia-se que estejam na forma hidrossolúvel, para que possam ser amplamente utilizados na coloração de diversos gêneros alimentícios, o que aumentaria o consumo de alimentos com pouca ou nenhuma pigmentação (PSZCZOLA, 1998).

Este trabalho tem por objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre as características biológicas e químicas das moléculas de carotenóides, recolhendo,

assim, dados para um futuro trabalho em produção de carotenóides hidrossolúveis comercialmente interessantes para os setores farmacológico, cosmético e culinário.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Os carotenóides constituem um dos mais importantes grupos de pigmentos naturais devido à larga distribuição, diversidade estrutural e inúmeras funções. São responsáveis pelas cores laranja, amarela e vermelha das frutas, hortaliças, flores, algas, bactérias, fungos, leveduras e animais, que apesar de não sintetizarem tais moléculas, podem obtê-las a partir do consumo de alimentos de origem vegetal (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

O nome carotenóides é derivado do nome científico da cenoura - *Daucus carote*, reconhecido por Wackenroder em 1831 como a primeira fonte de caroteno (GOODWIN, 1952). Atualmente, já foram identificados mais de 600 exemplares de carotenóides, classificados estruturalmente em sete tipos diferentes e distribuídos em várias formas isoméricas (VILLELA *et al.*, 1966).

2.1 Estrutura dos Carotenóides

Os carotenóides são quimicamente definidos como tetraterpenóides C_{40} (hidrocarbonetos de ocorrência natural e seus derivados), ou seja, união de oito unidades isoprenóides (C_5) de cinco átomos de carbono, formando uma cadeia carbônica de quarenta átomos de carbono, exceto a crocetina e a bixina, que possuem menos de quarenta átomos de carbono na cadeia carbônica (Figura 1). A cadeia carbônica de alguns carotenóides apresenta um ou dois anéis β -ionona nas extremidades (Figura 1) (VILLELA, 1976).

A maioria dos carotenóides tem substituições no anel ciclo-hexenil por três metilas, ao final da cadeia poliênica similar à configuração cíclica da β -ionona. Por exemplos, o γ -caroteno e a capxantina, fazem exceção, pois só têm um anel numa extremidade da cadeia e o licopeno é acíclico de cadeia aberta (Figura 1) (VILLELA, 1976).

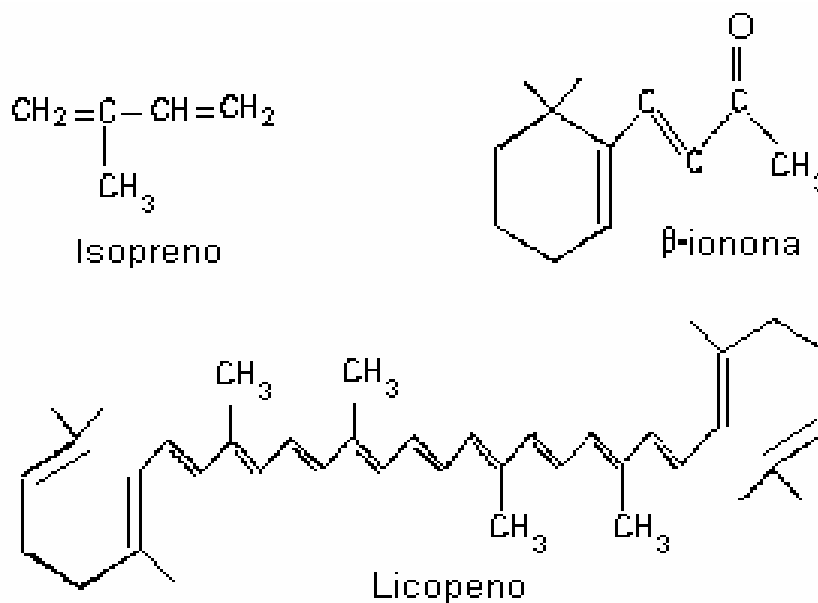


Figura 1. Representação das estruturas do isopreno, da β -ionona e do licopeno.

Fonte: RIBEIRO & SERAVALLI, 2004.

As moléculas de carotenóides possuem um sistema de duplas ligações que constitui o grupo cromóforo responsável pela cor que proporcionam aos alimentos. São ligações interatômicas, entre os átomos de carbono, denominadas de conjugadas (VILLELA, 1976). Para que a cor amarela apareça, são necessárias, no mínimo sete ligações conjugadas. O aumento no número de ligações conjugadas resulta em maiores bandas de absorção em maiores comprimentos de onda, e, neste caso, os carotenóides tornam-se mais vermelhos (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

As duplas ligações podem ocorrer na forma cis ou trans (Figura 2), sendo a forma trans mais freqüentemente encontrada na natureza. O processamento e a estocagem de alimentos podem provocar isomerização das moléculas de carotenóides e alterar sua cor. Os compostos com todas as ligações na forma trans apresentam uma cor mais escura, conseqüentemente, o aumento de ligações cis resulta em um enfraquecimento gradual da cor (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

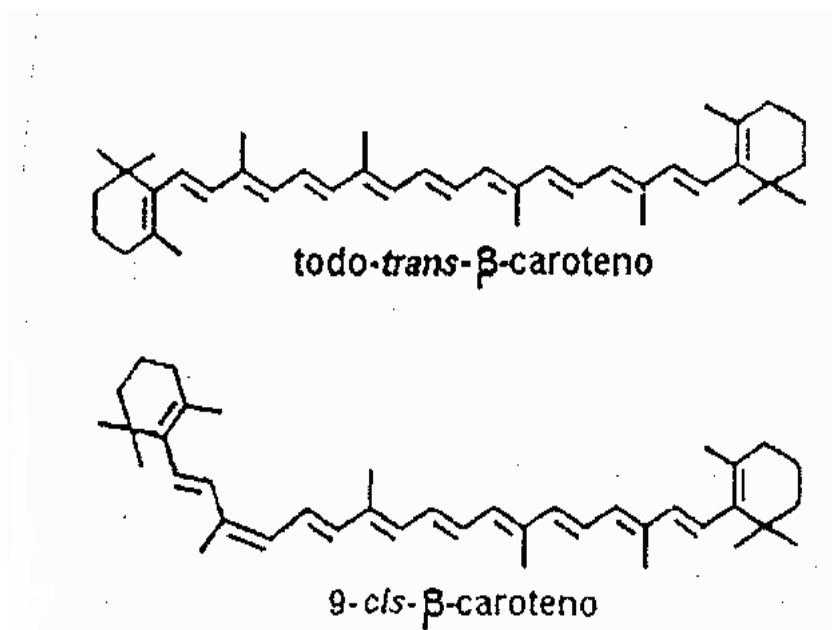


Figura 2. Estrutura do todo trans- β -caroteno e 9-cis- β -caroteno representando as formas cis e trans dos carotenóides. Fonte: OSLON, 1999^a (modificada).

2.2 Classificação dos Carotenóides

Nutricionalmente, os carotenóides podem ser classificados como pró-vitamínicos (aqueles com atividade pró-vitamina A) ou carotenóides inativos (aqueles que apresentam apenas atividade antioxidante ou corante) (OLSON, 1999^b).

Quimicamente, os carotenóides se dividem em dois grupos: carotenóides hidrocarbonados, denominados carotenos, e carotenóides oxigenados, denominados xantofilas (GOODWIN, 1965). Estes dois grupos principais podem ser estruturalmente subdivididos em sete grupos:

1. Hidrocarbonetos – São carotenóides que apresentam em sua estrutura somente átomos de carbono e hidrogênio. Este grupo é representado pelos carotenos (α , β , γ e ζ) e pelo licopeno. Ao lado destes, encontram-se na natureza derivados super-hidrogenados (com até 76 átomos de hidrogênio), incolores, denominados fitoenos e fitofluenos (Figura 3).

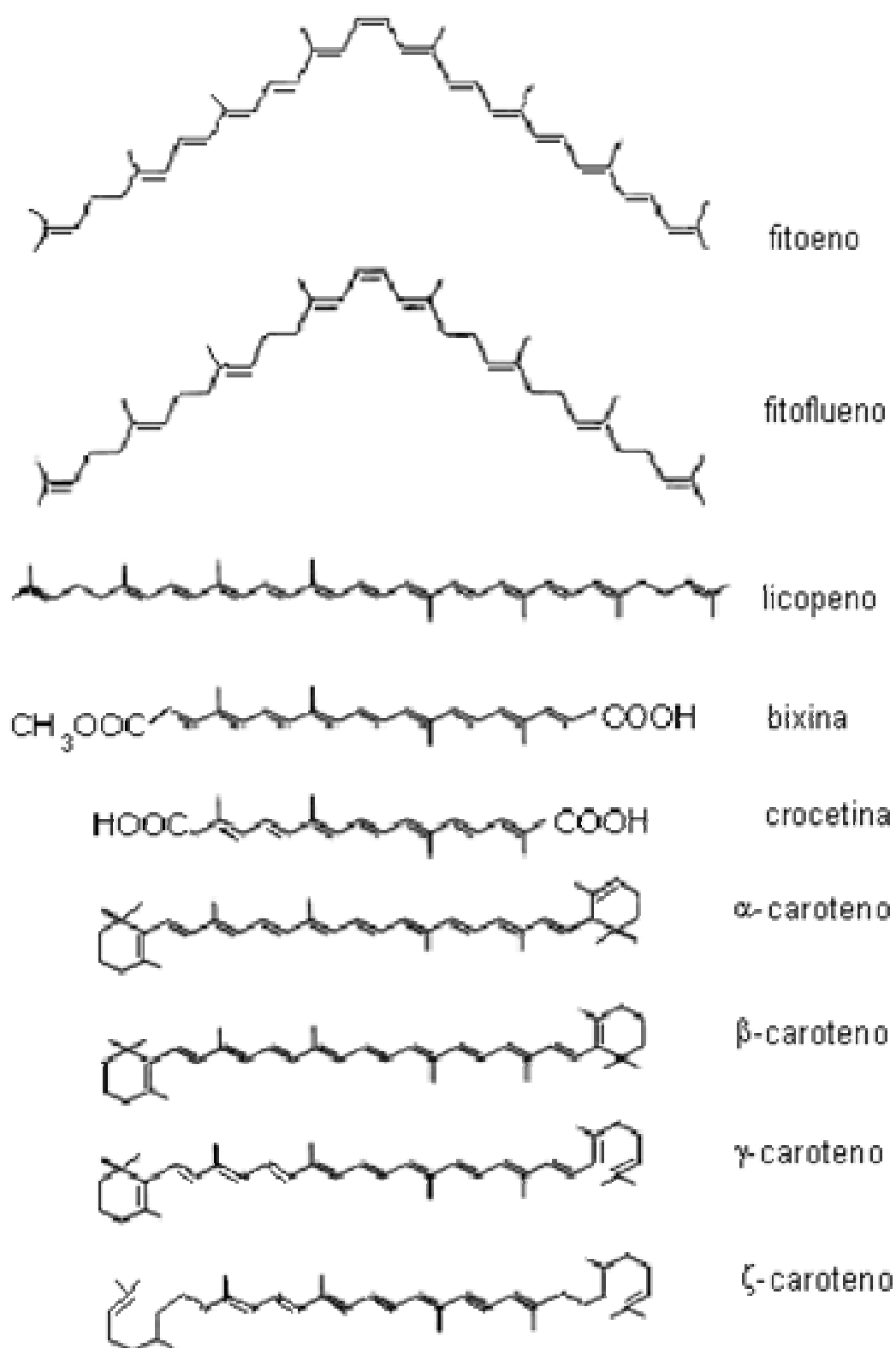


Figura 3. Estrutura simplificada de alguns carotenóides: hidrocarbonetos, ésteres e ácidos. Fontes: GOODWIN, 1952; VILLELA *et al.*, 1966; BENDICH & OLSON, 1989 (modificados).

2) Álcoois – São carotenóides que possuem um grupo hidroxila (OH-) ligado aos anéis iononas da cadeia. Abrangem as verdadeiras xantofilas, como a criptoxantina (3-hidroxi- β -caroteno), encontrada em frutas e no milho amarelo; a zeaxantina (3,3'-diidroxi- β -caroteno), também encontrada no milho amarelo; a xantofila propriamente dita (3,3'-diidroxi- α -caroteno), também chamada luteína, que se encontra nas folhas verdes, nas flores, nos frutos, no corpo lúteo e na gema do ovo (Figura 4).

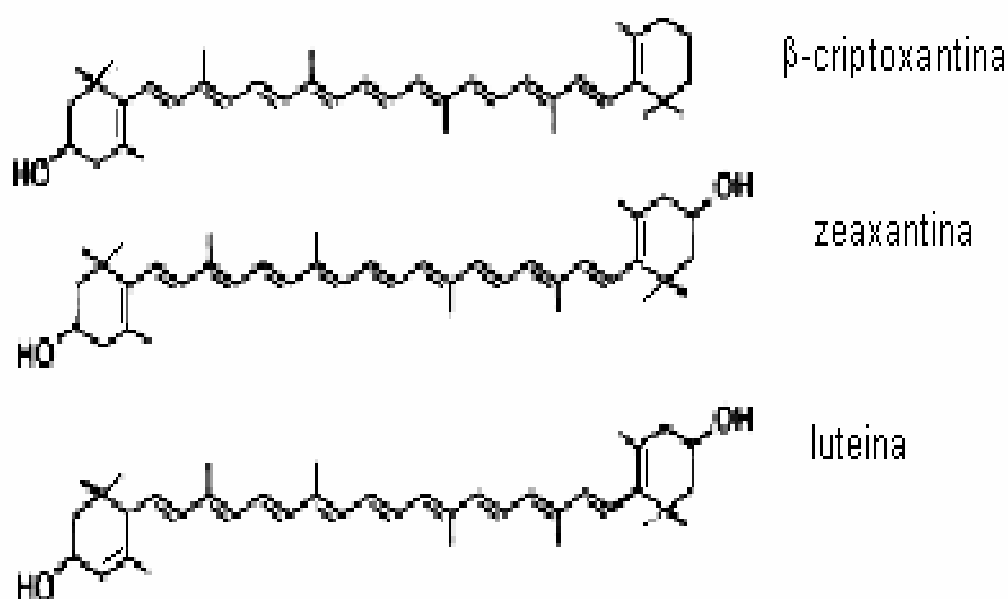


Figura 4. Estrutura simplificada de alguns carotenóides: álcoois. Fontes: BENDICH & OLSON, 1989 (modificados).

3) Cetonas – São carotenóides que possuem grupos carbonilas ligados aos anéis iononas. São exemplos: a equinenona (4-ceto- β -caroteno), encontrada em invertebrados marinhos; a cantaxantina (4,4'-diceto- β -caroteno), presente em cogumelos; a astacina (3,3',4,4'-tetraceto- β -caroteno) responsável pela cor da carcaça de crustáceos (Figura 5).

4) Epóxidos – São carotenóides que apresentam oxigênio entre carbonos formando ciclos. Pertence a este grupo a flavoxantina (5,6,5,6'-di-epoxi-zeaxantina) (Figura 6).

5) Éteres – São carotenóides que apresentam oxigênio entre carbonos. Exemplo: a espiriloxantina (dimetoxil-licopeno) (Figura 6).

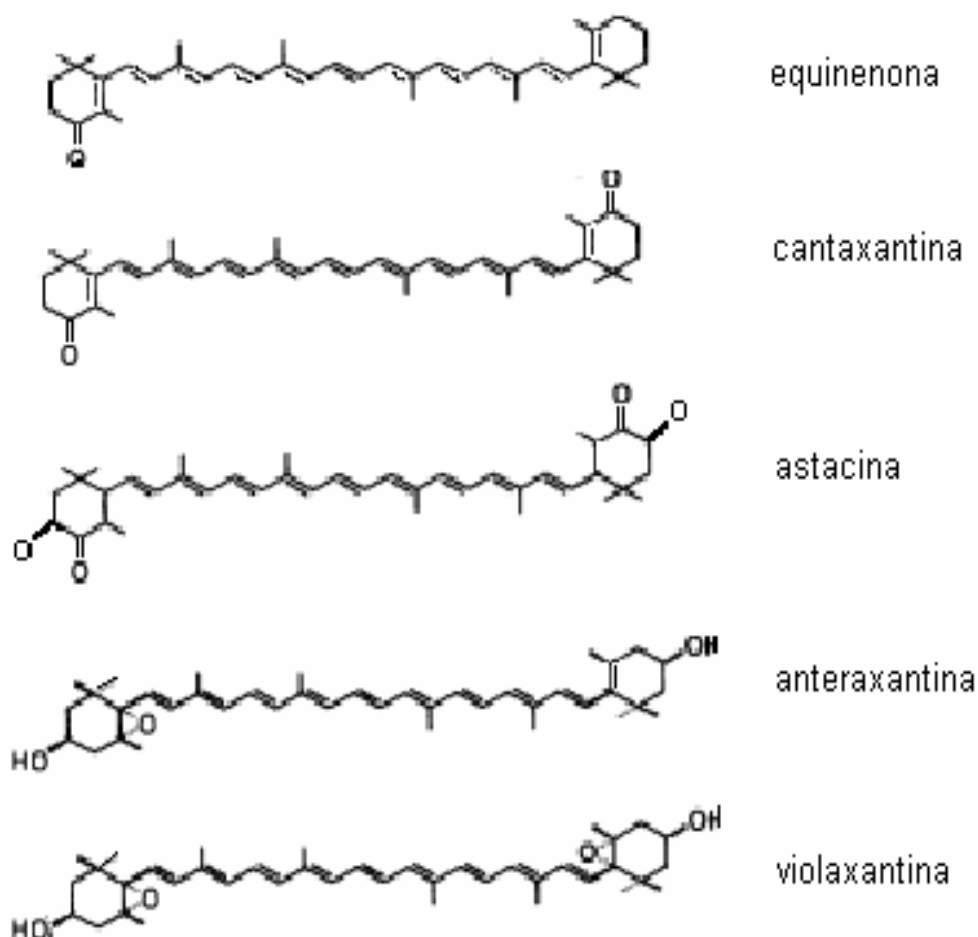


Figura 5. Estrutura simplificada de alguns carotenóides: cetonas e epóxidos. Fontes: VILLELA *et al.*, 1966; BENDICH & OLSON, 1989 (modificados).

6) Ácidos – São carotenóides que possuem grupos carboxila ligados na extremidade da cadeia carbônica, pois não possuem anéis ionona. Cognominaram-se ácidos carotênicos, cujo exemplo principal é a crocetina, pigmento do açafrão (*Crocus sativus*). Trata-se, todavia, de derivado diterpênico; tem 20 átomos de carbono, formando cadeia poli-insaturada, tetrametilada e dicarboxilica (Figura 3).

7) Ésteres – São carotenóides que apresentam o grupo carboxil entre carbonos. Englobam: a) ésteres dos ácidos carotênicos, como a bixina (Figura 3), pigmento

vermelho do urucum (*Bixa orellana*); a crocina, diéster da crocetina com duas unidades de gentiobiose; b) ésteres das xantofilas com ácidos graxos comuns (VILLELA *et al.*, 1966).

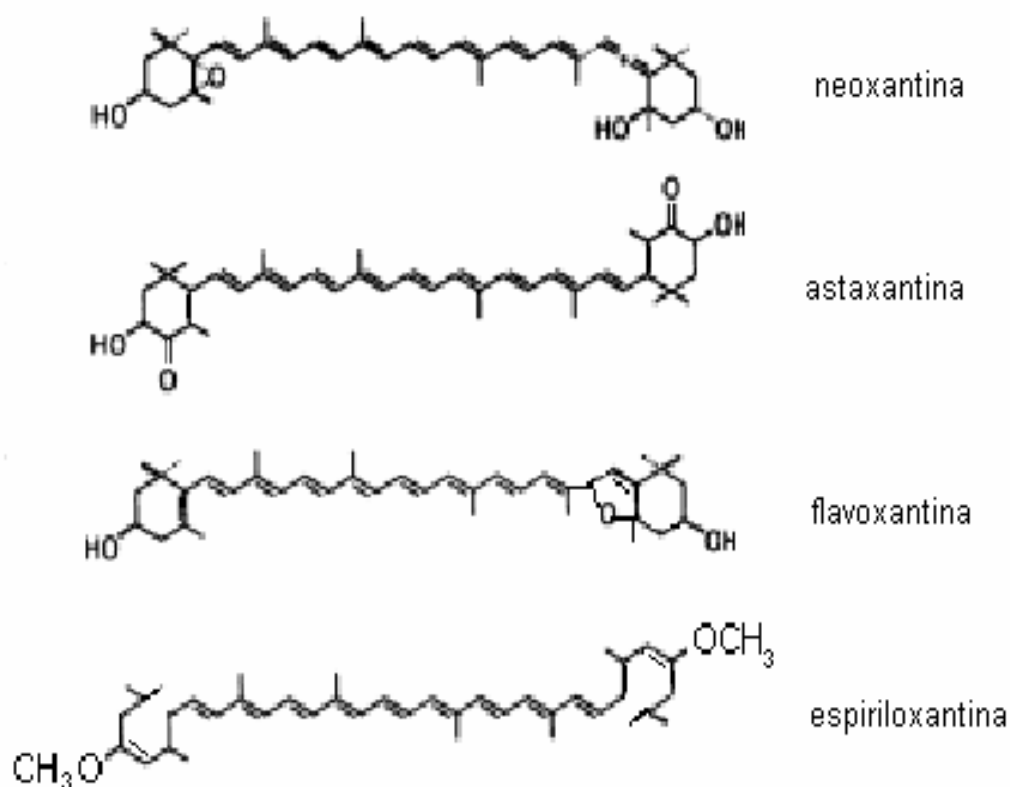


Figura 6. Estrutura simplificada de alguns carotenóides: epóxidos, éteres e cetonas.
Fontes: GOODWIN, 1952; BENDICH & OLSON, 1989 (modificados).

2.3 Propriedades dos Carotenóides

2.3.1 Solubilidade

Os carotenóides são moléculas lipossolúveis e, portanto, solúveis em solventes orgânicos clássicos como éter de petróleo, metanol, sulfeto de carbono, acetona. São insolúveis na água, exceto quando formando complexos com proteínas

(carotenoproteínas). Os carotenóides aparecem dissolvidos nos lipídios e, em alguns casos, formando soluções coloidais (WILEY, 1960; VILLELA, 1976).

2.3.2 Antioxidante

Os carotenóides apresentam propriedades antioxidantes, sendo conhecidos por reagirem com o oxigênio singlete, que constitui uma forma altamente reativa do oxigênio molecular, o qual apresenta dois elétrons de spins opostos ocupando orbitais diferentes ou não. Os carotenóides protegem as células de danos oxidativos provocados por radicais livres (são átomos ou moléculas altamente reativos, contendo um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais externos, que formam um campo magnético e atraem qualquer composto situado próximo à sua órbita externa) e por espécies reativas de oxigênio (EROs) (constituem moléculas não radiculares derivadas do oxigênio, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2)) que podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana, atacando lipídios, proteínas, carboidratos e DNA (SHAMI & MOREIRA, 2004). Os carotenóides desempenham um papel importante na prevenção de doenças associadas ao processo de estresse oxidativo como o câncer, catarata, arteriosclerose e retardo do processo do envelhecimento (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

A proteção antioxidante é fornecida pelos carotenóides acíclicos, que possuem nove ou mais duplas ligações conjugadas; por exemplo, o licopeno é mais eficaz que o β -caroteno, pois o licopeno possui onze duplas ligações conjugadas e cadeia acíclica, enquanto o β -caroteno possui nove duplas ligações conjugadas e cadeia cíclica nas extremidades (DI MASCIO *et al.*, 1989; MCBRIDE, 1996). Esses carotenóides são capazes de seqüestrar espécies reativas de oxigênio, como o radical peroxil (ROO^*) e o oxigênio singlete (1O_2) (FOOTE *et al.*, 1970), estabilizando o elétron desemparelhado do radical por ressonância. Os carotenóides são, por conseguinte, capazes de retirar do meio espécies altamente reativas (BURTON & INGOLD, 1984). A ordem crescente de capacidade de seqüestrar o oxigênio singlete por parte dos carotenos e xantofilas é: licopeno, astaxantina ou cantaxantina, β -caroteno ou bixina, luteína e crocina (FONTANA *et al.*, 2000).

Por serem apolares, os carotenóides ficam mergulhados nas membranas seqüestrando radicais gerados neste ambiente (TRUSCOTT, 1996).

Os carotenóides ao combaterem as espécies reativas de oxigênio, podem interagir de três maneiras diferentes: transferência de elétrons; remoção de íons de hidrogênio ou adição de espécies radicalares, respectivamente, reações 1, 2 e 3 da Figura 7:

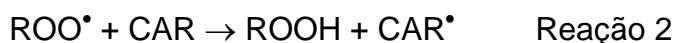
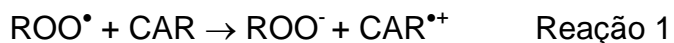


Figura 7. Reações de carotenóides e radicais livres.

Legenda: ROO[•] radical; CAR carotenóide. Fonte: YOUNG & LOWE, 2001.

ARRUDA (2004), investigou o potencial antioxidante de folhas de taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) e beldroega (*Portulaca oleracea*) em ratos deficientes em vitamina A. O resultado propôs que a ingestão de folhas de taioba e beldroega tem efeito protetor contra o stresse oxidativo causado por deficiência de vitamina A.

SOUTHON (2000) sugere uma dieta com frutas e verduras ricas em carotenóides equivalente a 20 mg - 30 mg de carotenóides por dia, durante duas semanas, para proteger as lipoproteínas LDL de danos oxidativos.

2.3.3 Cromóforo

Para que haja a produção de cor, um carotenóide precisa ter pelo menos sete duplas ligações conjugadas. O fitoeno e o fitoflueno possuem, respectivamente, três e cinco duplas ligações conjugadas (Figura 3), por isso são considerados carotenóides incolores. Nos carotenos, a cor pode variar do incolor até o vermelho (FRANCIS, 1986). Os carotenóides incolores absorvem na região ultra-violeta, abaixo de 350 nm a 400 nm (VILLELA, 1976).

A mudança de cor nos carotenóides ocorre à medida que os números de duplas ligações aumentam, pois há um deslocamento no espectro de absorção da molécula (FRANCIS, 1986), ou seja, a capacidade de absorver a luz visível depende da estrutura da molécula (VILLELA, 1976). Os comprimentos de onda máximos de absorção variam na faixa de 410 nm a 510 nm (FONTANA *et al.*, 2000).

Os carotenóides podem ser identificados pelo espectro de absorção. A Tabela 1 a seguir mostra os máximos de absorção e o ponto de fusão dos cristais de alguns carotenóides:

Carotenóide	Pontos de fusão	Espectros de Absorção (Máximos) nm	
		Em CS ₂	Em éter de petróleo
α -caroteno	187-188	509,477	478,477
β -caroteno	184	520,485,450	497,466
γ -caroteno	178	533,496,463	508,475
Licopeno	175	547,507	506,474
Luteína	193	508,475,445	477,447
Criptoxantina	169	518,483,453	485,452,420
Equinenona	178	488,494	458-460
Astaxantina	215-266	502	-
Astacina	240-243	500	498
Actinoeritrina	75-83	574,533,495	534,497,470

Tabela 1. Pontos de fusão e espectro de absorção de alguns carotenóides.

Fonte: VILLELA, 1976.

Os carotenóides são identificados por reação com ácidos fortes (ácido sulfúrico, ácido clorídrico e perclórico) e com o tricloreto de antimônio e fornecem, conforme a concentração, forte coloração azul (VILLELA, 1976).

2.3.4 Isomerização

Os isômeros cis são menos estáveis termodinamicamente que a forma trans. A maior parte dos carotenóides, portanto, ocorrem na natureza predominantemente e completamente na forma todo-trans (BRITTON, 1995).

Agentes como calor, ácidos, luz, oxigênio e enzimas como lipoxigenase, provocam a alteração nos carotenóides, resultando em formação de isômeros cis, epóxidos, diminuição da cor, perda da atividade pró-vitamina A e quebra da cadeia com formação de apocarotenóides (carotenóides de menos de 40 átomos de carbono) (COSTA *et al.*, 2002; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2004^b).

Os trans carotenos podem converter-se em cis carotenos pelo processamento de alimentos como: cocção, desidratação e trituração (OTT, 1987; RODRIGUEZ-AMAYA & AMAYA-FARFAN, 1992).

O isômero cis é mais polar, portanto menos solúvel em óleo e solventes hidrocarbonados, e também cristaliza-se menos. No alimento, o isômero cis aumenta com o processamento térmico, mas ao ser consumido, na dieta, o intestino converte a forma cis para a forma todo-trans, sendo mais absorvida (ROCK *et al.*, 1998).

O isômero cis tem menor atividade pró-vitamina A que a forma trans, sendo, portanto, muito importante evitar a formação do isômero cis durante o processamento de alimentos ricos em carotenóides (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2004^a).

Os carotenóides com maior atividade biológica são aqueles que contêm todas as duplas ligações na forma de isômero trans, que se transformam parcialmente na forma cis durante tratamentos térmicos e esterilização de produtos enlatados. É necessária à adição de antioxidantes e a exclusão do oxigênio (vácuo, envases impermeabilizantes de oxigênio, atmosfera inerte) para diminuir as perdas dos

carotenóides por isomerização durante o processamento e a estocagem dos alimentos (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2004^b).

2.3.5 Oxidação

A oxidação é a principal causa da degradação de carotenóides em alimentos. Estes compostos são facilmente oxidados em função do grande número de duplas ligações conjugadas. No tecido intacto, os pigmentos estão protegidos da oxidação; entretanto, danos físicos ao tecido ou sua extração aumentam sua suscetibilidade à oxidação. Os carotenóides podem sofrer oxidação na presença de luz, calor e compostos pró-oxidantes. Em função de sua estrutura insaturada e conjugada, os produtos de sua degradação são muito complexos. Uma autooxidação intensa irá resultar na quebra dos pigmentos e descoloração (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2004^b).

A principal causa de perdas de carotenóides durante a análise é a degradação oxidativa. A oxidação natural de carotenóides depende da sua estrutura, sendo os mais facilmente oxidáveis o ζ -caroteno, luteína e violaxantina. Ao final da oxidação, ocorre a perda total da cor e da atividade biológica, pois podem ser formados apocarotenóides; por exemplo, na degradação do β -caroteno são formados β -apo-12'-carotenal, β -apo-10'-carotenal e β -apo-8'-carotenal (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999^c).

2.3.6 pH

Os carotenóides são estáveis na faixa de pH da maioria dos alimentos (pH 3,0 a 7,0) (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

No entanto, alguns carotenóides não são relativamente resistentes a valores extremos de pH (ácidos e álcalis), podendo sofrer isomerização *cis/trans* de certas duplas ligações. Isto ocorre principalmente na manipulação em laboratórios com fins analíticos. Por exemplo, algumas xantofilas são instáveis em meio alcalino e os

epóxi-carotenóides são instáveis em meio ácido (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2004^b).

2.4 Caracterização de alguns Carotenóides

2.4.1 Caroteno e seus derivados

Os carotenos são cristais de cor vermelha acobreada, insolúveis na água e no álcool; dissolvem-se nos solventes orgânicos não polares. O α -caroteno possui um anel β -ionona e outro α -ionona; seu poder rotatório é $[\alpha] = + 385^\circ$, e funde a 159°C - $162,8^\circ\text{C}$. O β -caroteno possui dois anéis β -ionona; é opticamente inativo e funde a 180°C . O γ -caroteno possui apenas um anel β -ionona, é opticamente inativo, e funde a 187°C (Figura 8) (VILLELA *et al.*, 1966).

Naturalmente, a configuração do β -caroteno é todo-trans, sendo teoricamente possíveis 272 isômeros, porém apenas 12 têm sido detectados (COSTA *et al.*, 2002).

COSTA *et al.*, (2002) verificaram as alterações estruturais *in vivo* dos isômeros todo-trans, 9-cis e 13-cis do β -caroteno e concluíram que o isômero todo-trans do β -caroteno foi a principal forma isômerica encontrada no fígado de ratos que receberam carotenóides como fonte de vitamina A e que os isômeros sofreram alterações estruturais durante o seu metabolismo.

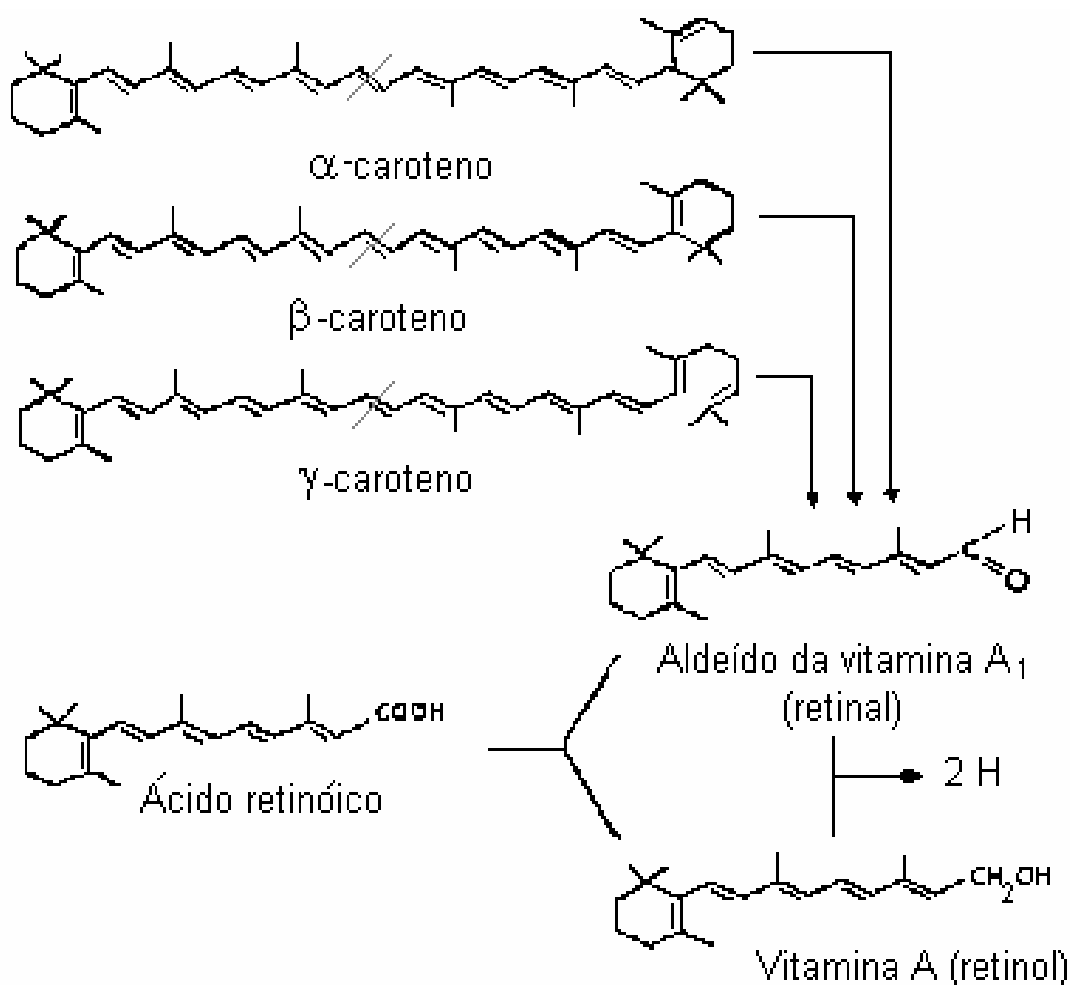


Figura 8. Estrutura dos carotenos α , β e γ e da vitamina A.

Fonte: WEIL, 2000.

As estruturas α e β -caroteno são ciclizados nas duas extremidades da cadeia e diferem apenas na posição de uma dupla ligação de um anel, enquanto o γ -caroteno é ciclizado apenas numa extremidade da cadeia (Figura 8) (WEIL, 2000).

A biossíntese dos carotenos inicia-se com um precursor primário, representado pelo acetato, que segue o processo da biogênese de esteróis até as unidades isoprenóides ativas: isopentenil-pirofosfato (C₅), geranyl-pirofosfato (C₁₀) e farnesil-pirofosfato (C₁₅); a partir daí diversificam-se os carotenos produzidos (Figura 9) (VILLELA *et al.*, 1966).

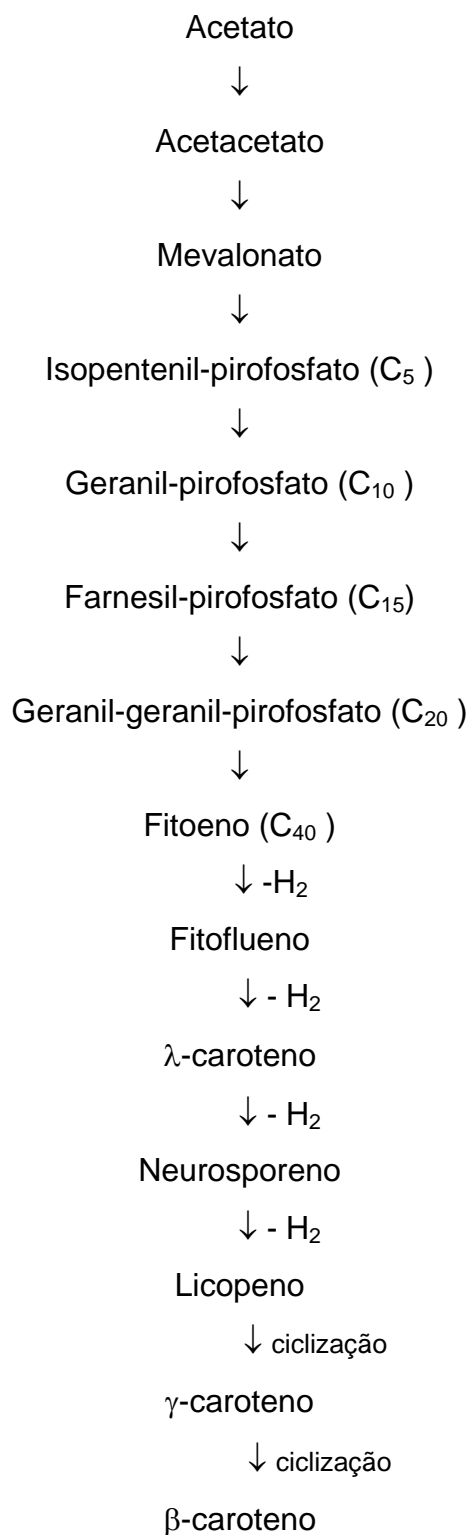


Figura 9. Biossíntese de carotenos. Fonte: VILLELA *et al.*, 1966.

2.4.1.1 Vitamina A

Os alimentos de origem vegetal são fontes indiretas de vitamina A, pois contêm carotenóides pró-vitamina A (α , β e γ -caroteno) que são consumidos através de frutos e vegetais, como goiaba, nectarina, cenoura, couve e pimentões; são convertidos em vitamina A no organismo humano. Além de alimentos de origem vegetal, alguns alimentos de origem animal são fontes diretas de vitamina A, como por exemplo, o fígado, a carne bovina, peixes, manteiga, leite e óleo de fígado de bacalhau (SACKHEIM & LEHMAN, 2001).

McCollum *et al.* publicaram, em 1913, a primeira pesquisa sobre a vitamina A como componente essencial na dieta, onde foi mostrado que extratos de manteiga, ovos ou óleo de fígado de bacalhau eram essenciais para o desenvolvimento de ratos jovens (LEHNINGER, 1984).

No organismo, a vitamina A possui várias funções, como formação de pigmentos fotossensíveis da retina (rodopsina), crescimento, reprodução, proliferação celular, diferenciação celular e integridade do sistema imune (WEIL, 2000).

A vitamina A é um sólido amarelo claro que contém em sua estrutura um anel β -ionona; possui um sistema de cinco duplas ligações conjugadas (Figura 8) que confere propriedades espectrais (próximo de 325 nm) usadas para sua determinação, identificação e qualificação (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2004^a).

Quimicamente é classificada como um álcool de alta massa molecular (286,46 mol), lipossolúvel, conhecida como retinol, uma estrutura totalmente trans (“todo-trans-retinol”) (SACKHEIM & LEHMAN, 2001).

Pela ação da luz, do oxigênio e de altas temperaturas a vitamina A degrada-se sofrendo isomerização, oxidação e degradação (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2004^a).

A atividade biológica da vitamina A depende da presença dos anéis β -ionona e da configuração isomérica. Alterando-se a estrutura do ciclo (desnaturação, saturação, transposição ou oxidação) ou da cadeia carbônica (configuração cis ou

Carotenóides	Atividade%
β -caroteno	100
α -caroteno	50-54
γ -caroteno	42-50
3,4-deshidro- β -caroteno	75
β -caroteno-5,6-epóxido	21
α -caroteno-5,6-epóxido	25
3-oxo- β -caroteno	52
3-hidroxi- β -caroteno (criptoxantina)	50-60
4-hidroxi- β -caroteno	48
β -2'-apo-carotenal	Ativo
β -8'-apo-carotenal	72
Licopeno	Inativo
Luteína	Inativa
3,3'-dihidroxi- β -caroteno (zeaxantina)	Inativo

Tabela 2: Atividade em % de alguns carotenóides pró-vitamina A.

Fonte: SAUNDERS *et al.*, 2000.

Em 1960, John Glover sugeriu dois mecanismos de formação do retinal a partir do β -caroteno; nomeou-os de fissão central e clivagem assimétrica (GLOVER, 1960 apud OLSON, 1994).

As duas vias de clivagem de carotenóides para formação da vitamina A são:

- Clivagem central: gera duas moléculas de retinal, exemplo: o β -caroteno é catalisado pela enzima β,β -caroteno 15,15' monooxigenase (antigamente dioxigenase) (BACHMANN *et al.*, 2002) produzindo duas moléculas de retinal (Figura 11);
- Clivagem assimétrica ou excêntrica: forma uma molécula maior e outra menor que sofrerá remoção de alguns fragmentos para formar uma molécula de retinal (Figura 11) (OLSON, 1999^a; KRISNKY, 1994; PARKER, 1996).

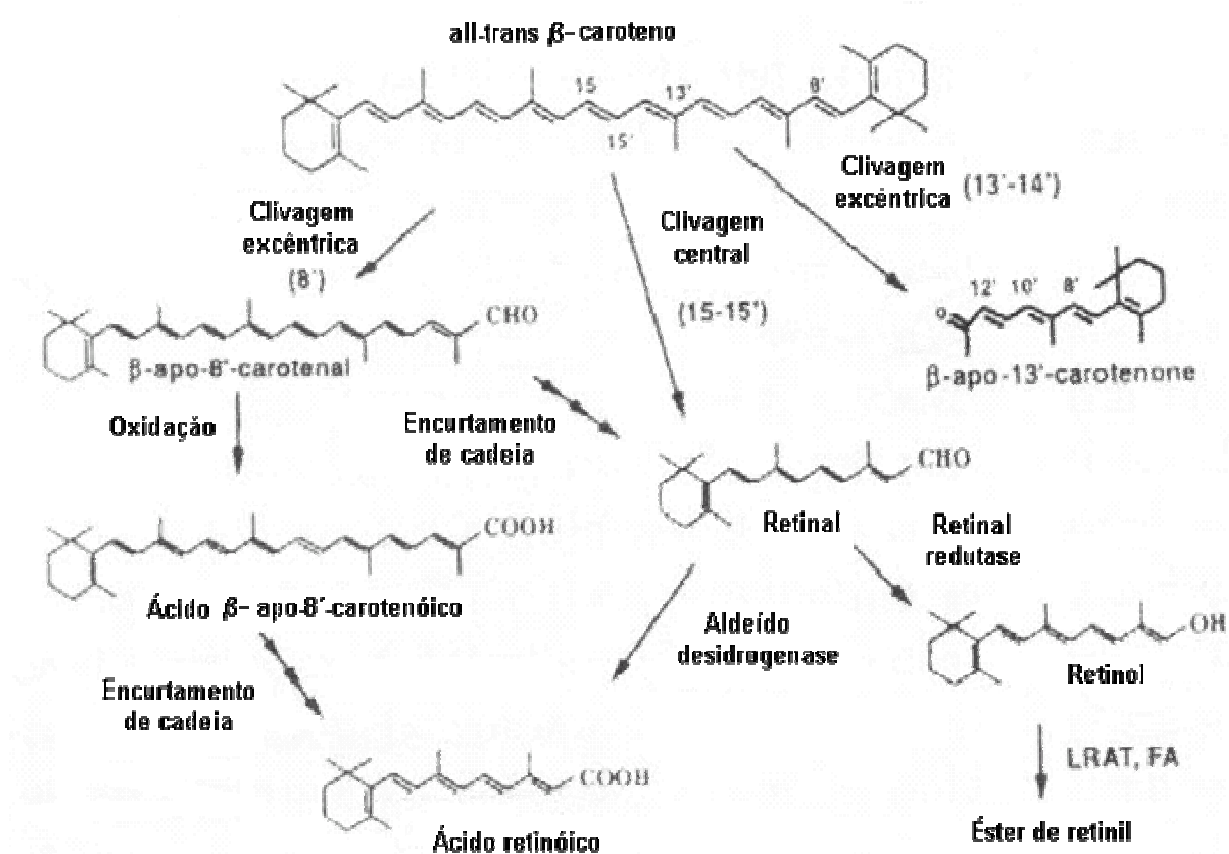


Figura 11. Estrutura das duas vias de conversão do β -caroteno a éster de retinil.

Fonte: PARKER, 1996.

Vários fatores interferem reduzindo a biodisponibilidade da vitamina A, tais como: tipo da matriz na qual a molécula de carotenóide está inserida, pois, em vegetais de folha verde-escura, os carotenóides estão inseridos em proteínas nos cloroplastos, dificultando sua extração durante a digestão; interferência de fibras, como, por exemplo, a pectina, que aumenta a quantidade de ácidos biliares e gordura total excretadas nas fezes; competição entre diferentes carotenóides; digestibilidade; estado nutricional do organismo; acidez estomacal; absorção ineficiente de lipídios; infecção; parasitas intestinais; e fatores genéticos. Outros fatores, porém, podem aumentar a biodisponibilidade, tais como: presença de proteínas e gorduras, que são essenciais na formação de micelas; digestão de carotenóides isomericamente trans; processamento do alimento, que diminui o tamanho da partícula e, conseqüentemente, aumenta o grau de ruptura celular; e frutas, pois os carotenóides encontram-se em corpúsculos oleosos, nos cromoplastos, facilitando sua extração durante a digestão (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2004^a; MOURÃO *et al.*, 2005).

Na antiga recomendação de nutrientes do Instituto Americano de Medicina (IOM), os fatores de conversão utilizados para o cálculo do valor de vitamina A de um alimento de origem vegetal eram definidos como 1 µg de retinol ou 6 µg de β-caroteno ou 12 µg de outros carotenóides pró-vitamínicos A correspondendo a 1 retinol equivalente (RE) (OLSON, 1987; CAMPOS & ROSADO, 2005). No entanto, em 2001, o IOM liberou novas DRI's (Dietary Reference Intake) para a vitamina A, considerando novos fatores de conversão de carotenóides pró-vitamínicos A, pela avaliação de dois parâmetros: a eficiência de conversão (50%) do β-caroteno em retinol e sua taxa de absorção. O IOM introduziu um novo conceito, o de Equivalente de Atividade de Retinol (RAE), que corresponde a 1 µg de retinol ou 12 µg de β-caroteno ou 24 µg de outros carotenóides pró-vitamínicos A (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2004^a; CAMPOS & ROSADO, 2005).

2.4.2 Licopeno

O licopeno tem recebido grande atenção devido ao seu possível potencial de prevenção do câncer de próstata e das doenças cardiovasculares (ARAB & STECK, 2000; MATIOLI & RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

Trata-se de um pigmento carotenóide hidrocarbonado, acíclico, lipossolúvel, funde a 172 °C – 173 °C, tem molécula simétrica, é opticamente inativo (VILLELA *et al.*, 1966), capaz de conferir a cor vermelha aos tomates, melancia, mamão, goiaba vermelha, pitanga e outros alimentos (KRINSKY, 1998; MATIOLI & RODRIGUEZ-AMAYA, 2003). É um potente antioxidante (MATIOLI & RODRIGUEZ-AMAYA, 2003) que interage com espécies reativas de oxigênio (HADLEY *et al.*, 2002). Estudos têm demonstrado potencial de prevenção de danos oxidativos a lipoproteínas e ao DNA, além da possível habilidade de inibir a síntese do colesterol e aumentar a degradação do LDL-colesterol, prevenindo, assim, o câncer de próstata e doenças cardiovasculares (ARAB & STECK, 2000).

O licopeno é sujeito à degradação oxidativa e à isomerização cis-trans, devido a sua estrutura altamente conjugada (Figura 3). A configuração trans é mais estável termodinamicamente, porém é pobremente absorvida. Acredita-se que o processamento pelo calor induza a isomerização do licopeno para a forma cis, aumentando a sua biodisponibilidade e absorção após liberação do licopeno do cromoplasto (RAO & AGARWAL, 2000).

As principais fontes de licopeno são goiaba, melancia, tomates e derivados - incluindo a catchup, suco de tomate e molho de tomate, dentre outros (Tabela 3). O licopeno possui maior absorção pós-cozimento e, principalmente, quando veiculado em meios oleosos, como o molho de tomate (SANTOS *et al.*, 2003).

Verificou-se, em experiências realizadas com culturas de tecidos, que o licopeno inibe o crescimento de células cancerosas humanas endometriais, mamárias e pulmonares com maior eficiência comparado ao α ou β -caroteno, ou seja, o licopeno reduz o risco de desenvolvimento de doenças crônicas como o câncer (LEVY *et al.*, 1995). O estresse oxidativo envolvido no dano de importantes biomoléculas como lipídios, proteínas, lipoproteínas de baixa densidade (LDL), DNA, além de membranas celulares, é responsável por processos de carcinogênese e

aterogênese. A excelente capacidade antioxidante do licopeno deve-se às numerosas insaturações conjugadas presentes na sua estrutura química, o que permite maior habilidade para neutralizar os radicais livres (RAO & AGARWAL, 2000).

Acredita-se que o licopeno atue no aumento da comunicação intercelular, além de promover a diferenciação celular e alterar os processos de fosforilação de proteínas regulatórias (GANN *et al.*, 1999).

Alimento	Conteúdo de licopeno (mg/100gramas)
Melancia	2,3-7,2
Mamão	2,0-5,3
Goiaba vermelha	5,4
Tomate in natura	3,1-7,74
Molho de pizza	12,71
Catchup	16,60
Molho de macarrão	17,50
Molho de tomate enlatado	30,07

Tabela 3. Conteúdo de licopeno nos alimentos. Fonte: Santos *et al.*, 2003.

Alguns estudos com animais demonstraram a importância do licopeno na prevenção de certos tipos de câncer. O consumo de uma dieta enriquecida com licopeno retardou o surgimento e reduziu o crescimento e desenvolvimento de tumores mamários numa linhagem de camundongos (NAGASAWA *et al.*, 1995). Cabe destacar que KIM *et al.* (1997) realizaram um estudo utilizando licopeno dissolvido em água, no qual constatou-se um efeito protetor deste em relação ao câncer de pulmão induzido apenas entre camundongos machos.

NUNES & MERCADANTE (2004), desenvolveram e otimizaram um método para extração de licopeno a partir do descarte do tomate, no qual obtiveram o teor médio de $59,2 \mu\text{g/g} \pm 21,8 \mu\text{g/g}$. E também obtiveram cristais de licopeno puro 98% (formas irregulares alongadas e prismáticas) através da cristalização. Nestes cristais foram detectadas presenças de traços dos isômeros 5-cis, 5-cis,5'-cis- e 13-cis-licopeno através da cromatografia líquida de alta eficiência em coluna C₃₀.

2.4.3 Bixina

O urucum (*Bixa orellana*) possui sementes que se destacam por fornecer corantes naturais de diversas tonalidades, que vão desde o amarelo ao castanho, utilizados por sua maior estabilidade e coloração atrativa. O corante do urucum é extraído da semente, sendo a bixina o principal carotenóide deste fruto. A bixina pode sofrer saponificação formando um corante hidromiscível, a norbixina (COSTA & CHAVES, 2005). Tanto a bixina como a norbixina (Figura 12) podem existir na forma cis e trans. O pigmento laranja do urucum é constituído pela cis-bixina, insolúvel em óleos. Na extração, o tratamento térmico converte a cis-bixina em trans-bixina, de cor vermelha e solúvel em óleo (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

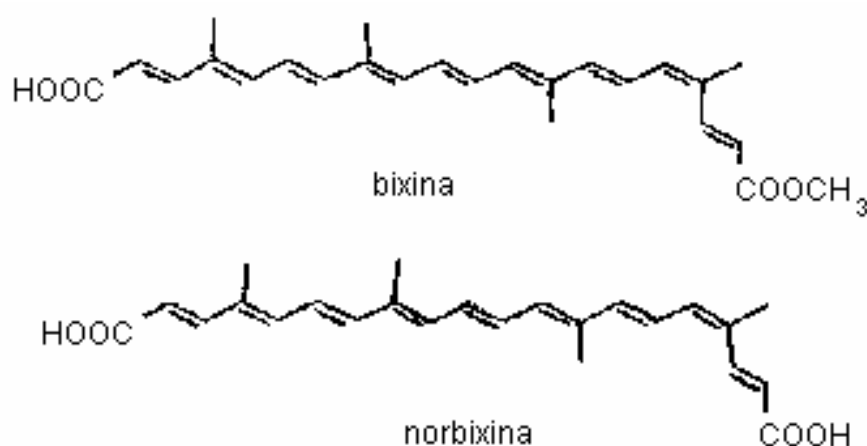


Figura 12. Estrutura da bixina e norbixina.

Fonte: TOCCHINI & MERCADANTE, 2001.

A bixina possui uma cadeia isoprênica de 24 carbonos, contendo um ácido carboxílico e um éster metílico nas extremidades (COSTA & CHAVES, 2005). Como corante natural, intensifica suas vantagens sobre os corantes sintéticos, pois não é tóxico.

COSTA & CHAVES (2005) salientam que, para extração de bixina das sementes do urucum, obtiveram melhor rendimento com solução de hidróxido de sódio comparado à extração com acetona.

TOCCHINI & MERCADANTE (2001), determinaram o teor de bixina e norbixina nos coloríficos de urucum utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência. Os teores encontrados nas diferentes marcas de colorífico foram: bixina (majoritário) 154 mg/100g a 354 mg/100g e a norbixina (traços) 2 mg/100g a 9 mg/100g de colorífico.

SOUZA et al (2000), estudaram o efeito de três doses de bixina sobre os níveis plasmáticos de triacilgliceróis e colesterol em ratos (machos e fêmeas) alimentados com corante utilizado na indústria de alimentos que contém 28% de bixina. Os animais foram distribuídos em quatro grupos. O grupo 1 recebeu ração; o grupo 2, 70 mg de bixina; o grupo 3, 350 mg e o grupo 4, 700 mg. Foram feitas dosagens dos níveis séricos de triacilgliceróis e colesterol no tempo zero, após três e seis meses. Concluiu-se que a bixina, nas doses consumidas, apresenta efeito hipolipidêmico, pois os resultados percentuais em relação ao grupo controle variou muito.

2.5 Fontes de Carotenóides

Estima-se que nas folhas os carotenóides estejam nos cloroplastos, mascarados pela clorofila, ou seja, os carotenóides acompanham as clorofilas numa relação de três a quatro partes de clorofila por uma parte de carotenóide; e nas frutas, os carotenóides encontram-se nos cromoplastos, sendo que a quantidade de carotenóides aumenta durante a maturação, porque parte da clorofila se perde com a intensificação da cor (GOODWIN, 1952; PARKER, 1996; SAUNDERS *et al.*, 2000; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2004^a). Nos seres vivos, a maior concentração está

no tecido adiposo e no fígado, sendo encontrados também no plasma, coração, músculo, rins, pulmão, pele e cérebro (BENDICH & OLSON, 1989).

Segundo RODRIGUEZ-AMAYA (1999^b), as frutas dividem-se em dois grupos, de acordo com os carotenóides predominantes: β -caroteno (Ex.: bocaiúva, buriti, manga, goiaba, tucumã) e β -criptoxantina (Ex.: cajá, nectarina, mamão papaia, pequi, pitanga). No entanto, podem apresentar predominância de outros carotenóides, dependendo da fruta; por exemplo, no pequi, predomina a zeaxantina; na goiaba, no mamão papaia e na pitanga, predomina o licopeno.

Cenouras são fontes de carotenos. PINHEIRO-SANTA'ANA *et al.* (1998) analisaram a influência da desidratação e de diferentes métodos de preparo doméstico (como à cocção a vapor, cocção em água com e sem pressão, cocção úmida/seca e a desidratação convencional) sobre a estabilidade de α -caroteno, β -caroteno e carotenóides totais em cenouras. Após o tratamento, foram analisados os teores de vitamina A, ou seja, cálculo da atividade pró-vitamina A de cada carotenóide precursor: α e β -carotenos, expressos em equivalente retinol (RE) (MOREIRA *et al.*, 2005). Para determinar o α -caroteno e o β -caroteno utilizou-se a cromatografia líquida de alta eficiência; os carotenóides totais foram quantificados por espectrofotometria. Na cocção em água sem pressão, foram obtidos maiores níveis de retenção de α -caroteno, β -caroteno e teores de vitamina A. Já os carotenóides totais foram melhor preservados quando utilizada a cocção em água com pressão. A desidratação provocou as maiores perdas nos três carotenóides analisados.

SILVA & MERCADANTE (2002), encontraram, em amostras de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*), através da cromatografia líquida de alta eficiência, os seguintes carotenóides: β -criptoxantina, prolicopeno, cis- ζ -caroteno, ζ -caroteno, β -caroteno, 13-cis- β -caroteno, neurosporeno, e γ -caroteno. Verificaram-se que ocorreu variação no teor de carotenóides, dependendo do lote analisado. Em geral, o teor total de carotenóides encontrados foi de 15,36 mg/g a 17,14 mg/g.

Na abóbora, no pêssego e nas laranjas, encontra-se a luteína, mas suas fontes mais ricas são: a couve e o espinafre (MCBRIDE, 1996).

Em frutos da Amazônia, MARINHO & CASTRO (2000) identificaram no pajurá (*Couepia bracteosa Benth*), piquiá (*Caryocar villosum*), tucumã (*Astrocaryum*

aculeatum) e umari (*Poraqueiba sericea* Tul) os seguintes carotenóides: α -caroteno, β -caroteno, γ -caroteno e criptoxantina. Os valores médios da concentração dos carotenóides estão representados na Tabela 4:

Carotenóides ($\mu\text{g/g}$)	Pajurá	Piquiá	Tucumã	Umari ou mari
α -caroteno	0,8	-	2,5	2,7
β -caroteno	16,5	19,8	92,0	98,7
γ -caroteno	-	0,6	2,1	1,5
Criptoxantina	0,5	0,6	-	-

Tabela 4. Valores médios de carotenóides identificados em frutos da Amazônia.

Fonte: MARINHO & CASTRO, 2000.

A EMBRAPA desenvolveu variedades de melancias menores (de 2 kg a 4 kg), com alto teor de açúcares e carotenóides. Uma com polpa amarela, rica em caroteno; outra de polpa vermelha, rica em licopeno; e outra, com polpa alaranjada, que contém ambos carotenóides (BRASIL, 2005).

CAVALCANTE (1991), pesquisou os principais carotenóides da pitanga e da acerola *in natura*. Na pitanga (*Eugenia uniflora*) o majoritário é o licopeno; encontrou-se também γ -caroteno, β -caroteno, criptoxantina, fitoflueno, ζ -caroteno e rubixantina. Na acerola (*Malpighia glabra* L.), somente quatro carotenóides foram identificados: fitoflueno, α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina. A autora analisou a polpa congelada e observou que ocorreram perdas consideráveis, decorrentes da retirada da pele. AGOSTINI-COSTA *et al.* (2003), avaliaram o efeito do processo industrial de congelamento da polpa de acerola, determinando os carotenóides da polpa recém-processada não congelada (controle) e das polpas congeladas em álcool ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), estocadas por onze meses. Foram detectados 9-cis-, 13-cis- e trans-

β -caroteno no terceiro mês de estocagem da polpa congelada; além de reduzir o caroteno, reduziu significativamente o teor de β -criptoxantina.

O pimentão amarelo (*Capsicum annuum*, L.) apresenta, segundo (BIANCHINI & PENTEADO, 1998), nove carotenóides: fitoflueno, α -caroteno, β -caroteno, cis- ζ -caroteno, 5,6,5',6'-diepóxi- β -caroteno, 5,6,5',6'-diepóxi-criptoxantina, luteína, β -criptoxantina e violanxantina. Os teores de vitamina A, expressos em equivalentes de retinol/100g, variaram entre 23,17 e 48,70 para os pimentões crus e, após o cozimento de 10 minutos, reduziram, variando entre 18,22 e 36,27.

Os frutos buriti, tucumã, dendê, macaúba e pupunha são fontes de carotenóides pró-vitamina A. O araticum e o pequi, também são importantes fontes de carotenóides (AGOSTINI-COSTA & VIEIRA, 2004).

HIANE *et al.* (2003), com o intuito de estudar a composição de óleos e caracterizar pigmentos naturais com atividade pró-vitamina A de frutos nativos do Estado de Mato Grosso do Sul (MS), analisaram o óleo, a polpa *in natura* e a farinha do bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.), verificando mudanças de teor após o processamento na fabricação da farinha. Os principais carotenóides pró-vitâmicos A e os teores encontrados na polpa e na farinha do bacuri foram, respectivamente: β -caroteno 17,28 $\mu\text{g/g}$ e 5,38 $\mu\text{g/g}$ e β -zeacaroteno, 23,51 $\mu\text{g/g}$ e 7,42 $\mu\text{g/g}$. Com o processamento para a obtenção da farinha, houve perda de aproximadamente 37% do total de carotenóides encontrados (β -caroteno, ζ -caroteno e β -zeacaroteno).

MERCADANTE & PFANDER (2001), realizaram estudo que isolou, de sementes de urucum, um novo carotenóide: o (9'Z)-apo-6'-licopenóico. Sua estrutura foi explicada através das informações combinadas dos espectros no UV/visível, de massas e de ressonância magnética nuclear de próton, incluindo as técnicas bidimensionais. Foi o primeiro relato de um álcool de alto peso molecular ligado ao radical ácido (9'Z)-apo-6'-licopenóico. Possui configuração cis no carbono 9' e clivagem da dupla ligação entre os carbonos 5' e 6' (Figura 13).

Em vegetais folhosos, os principais carotenóides são: luteína, β -caroteno, violaxantina e neoxantina. E, em pequenas quantidades, α -caroteno, β -criptoxantina e α -criptoxantina. A maturidade das folhas interfere na concentração de carotenóides, pois RAMOS & RODRIGUES-AMAYA (1987) encontraram, numa mesma planta, concentrações maiores em vegetais de folhas maduras em relação

às folhas jovens. O teor também pode variar de acordo com as diferenças no cultivar, sazão e solo (MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA, 1991).

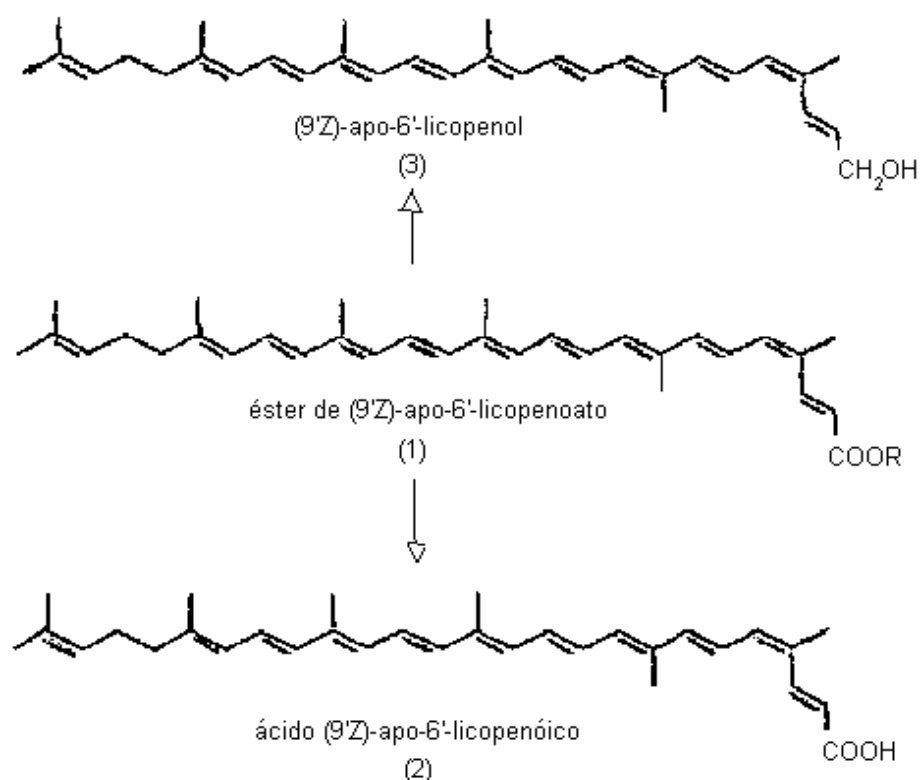


Figura 13. Estrutura do carotenóide isolado (1) e as estruturas dos produtos (2 e 3) resultantes das derivatizações químicas. Fonte: MERCADANTE & PFANDER, 2001.

Doze hortaliças comercializadas nos mercados formal e informal de Viçosa (Minas Gerais) - abobrinha (*Curcubita pepo*), brócolis (*Brassica oleracea*), cebolinha (*Allium schoenoprasum*), chicória (*Cichorium endivia*), couve-chinesa (*Brassica pekinensis*), hortelã (*Mentha piperita*), mostarda (*Brassica juncea*), salsa (*Petroselinum hortense*), salsão (*Apium graveolens*) serralha (*Sonchus oleraceas*), rúcula (*Eruca sativa*) e taioba (*Xanthosoma sagittifolium*), foram analisadas por MOREIRA *et al.* (2005) que identificaram conteúdos de α -caroteno não quantificados em algumas amostras de salsa e serralha, e determinaram, em todas as amostras, os teores de β -caroteno e vitamina A (ou seja, atividade pró-vitamina A; a partir do

teor de β -caroteno, estimou-se o teor de vitamina A utilizando um fator de conversão). A Tabela 5 mostra os valores médios de β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) e vitamina A, expresso em equivalentes de retinol/100g (RE/100g).

Em outro trabalho sobre verduras folhosas verdes, MERCADANTE & RODRIGUEZ-AMAYA (2001) confirmaram as identidades dos carotenóides minoritários pró-vitaminícos. Foram encontrados α -criptoxantina, 13-cis- β -caroteno e 9-cis- β -caroteno em agrião (*Nastrutium officinale*), alface crespa e lisa (*Lactuca sativva*), almeirão (*Chicorium intybus*), caruru (*Amaranthus viridis*), chicória (*Chicorium endivia*), couve (*Brassica oleracea*), espinafre (*Spinacea oleracea*), rúcula (*Eruca sativa*), salsinha (*Petroselinum hortense*) e taioba (*Xanthosoma spp.*); α -caroteno foi encontrado apenas em caruru, couve, salsinha e taioba.

A flor capuchinha (*Tropaeolum majus*), também conhecida por nastúrcio, usada para enfeitar saladas, embora comestível, é rica em luteína (apresenta às cores amarelo, laranja e vermelho) (ALVES-FILHO, 2003).

A coloração vermelha encontrada em peixes marinhos e crustáceos se deve ao carotenóide astaxantina, o qual é responsável pela cor rosada da carne do salmão. Nos oceanos, a astaxantina se une a proteínas formando compostos denominados carotenoproteínas. As carotenoproteínas conferem aos animais cores verdes ou azuis, no entanto, quando estes complexos se desnaturam durante o cozimento podem manifestar a cor vermelha deste carotenóide (GOODWIN, 1952; VILLELA, 1976; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, 2004^a).

A coloração da gema do ovo depende da quantidade de xantofilas, principalmente cantaxantina, absorvidas pelas aves que se alimentam de milho ou ração (GARCIA *et al.*, 2002).

Hortaliça	Teores de β-caroteno ($\mu\text{g/g}$)	Valor de Vitamina A (RE/100g)
Abobrinha	1,53	25,59
Brócolis	21,13	352,16
Cebolinha	29,44	490,72
Chicória	41,79	696,54
Couve-chinasa	24,32	405,30
Hortelã	49,97	832,88
Mostarda	37,86	631,07
Rúcula	48,65	810,86
Salsa	63,57	1059,54
Salsão	19,99	333,22
Serralha	68,72	1145,35
Taioba	72,61	1210,23

Tabela 5. Valores médios de β -caroteno e vitamina A das hortaliças comercializadas nos mercados formal e informal de Viçosa, Minas Gerais.

Fonte: MOREIRA *et al.*, 2005.

2.6 Mercado Consumidor

O consumo de carotenóides no mercado está aumentando. No novo relatório do Mercado Global de Carotenóides, a Companhia de Comunicações Empresarial Inc. (BCC), projeta que o valor de mercado mundial de carotenóides, todo comercialmente usado, subirá para mais de \$ 1 bilhão antes de 2009, a uma taxa de crescimento anual de 3%. Atualmente, o mercado é calculado a \$ 887 milhões (GUZMAN, 2005).

Por muitos anos, o representante mais proeminente de carotenóides, o β -caroteno, foi usado como corante de alimentos. O mercado de β -caroteno foi calculado em mais de \$ 242 milhões em 2004, um aumento de \$ 30 milhões comparado a 1999 (GUZMAN, 2005).

PADOVANI (2003), em sua tese de mestrado intitulada de “A disponibilidade de carotenóides na alimentação da família brasileira”, avaliou que a maioria dos alimentos em que os carotenóides estão presentes, frutos e legumes, acabam em um segundo plano nas compras de famílias das regiões metropolitanas brasileiras. Ela ressaltou que “quanto maior a renda familiar, maior a disponibilidade de carotenóides”, sugerindo que as deficiências na alimentação estão presentes nas famílias de baixa renda.

2.7 Digestão, Absorção, Transporte e Metabolismo de Carotenóides

Cada carotenóide possui um padrão individual de absorção, transporte no plasma e metabolismo. Os alimentos que possuem carotenóides, ao serem ingeridos, liberam-nos no estômago através da ação mecânica do trato digestivo na forma de gotículas de gordura (PARKER, 1996; SAUNDERS *et al.*, 2000). Posteriormente, são emulsificados em gotas menores através de sais biliares. Então, os carotenóides são incorporados em micelas compostas de ácidos biliares, ácidos graxos livres, monoglicerídeos e fosfolipídeos que serão absorvidos pelas células da

mucosa duodenal por um mecanismo envolvendo a difusão passiva, mecanismo similar ao do colesterol (PARKER, 1996; OLSON, 1994).

Os carotenóides com atividade pró-vitamina A são clivados, na mucosa intestinal, a retinal, em seguida a retinol e, depois, transformados em éster de retinil (PARKER, 1996).

Ésteres de retinil (vitamina A) ingeridos são convertidos, no lúmen intestinal, a retinol, e absorvidos pelos enterócitos, onde se associam à proteína celular ligante de retinol (CBRP II), sendo então esterificado a éster de retinil (RE) pelas enzimas lecitina retinol acil transferase (LRAT) e acil coenzima A retinol acil transferase (ARAT) (ROSS, 2003).

Todos os carotenóides, pró-vitamínicos ou não, são incorporados aos quilomícrons e transportados da mucosa intestinal para a corrente sanguínea através do sistema linfático. Os carotenóides também podem ser transportados por outras lipoproteínas, como a lipoproteína de alta densidade (HDL), a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) (Figura 14) (PARKER, 1996).

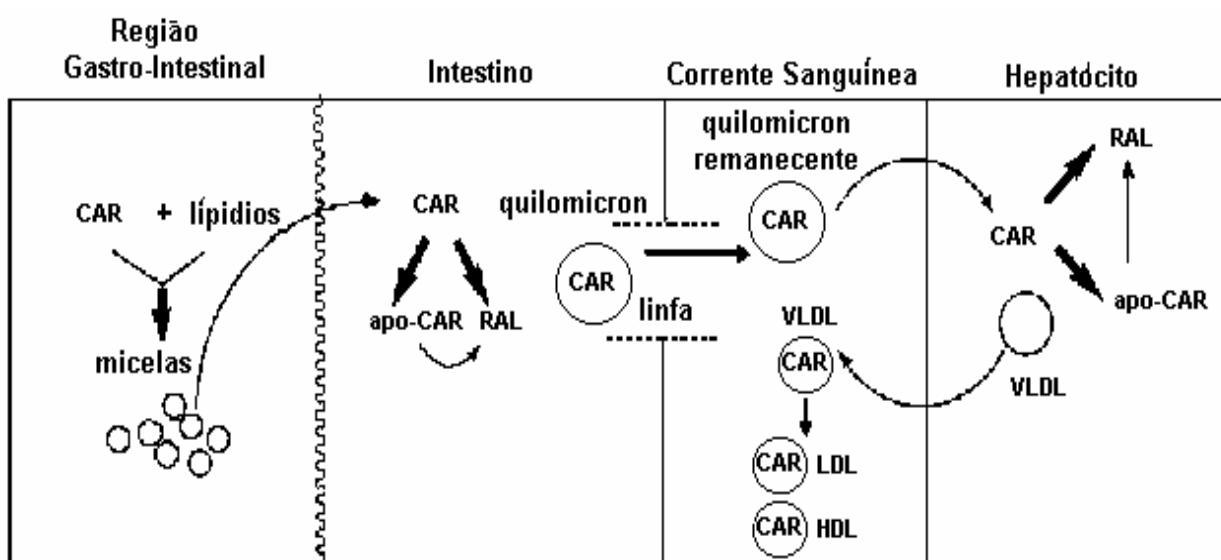


Figura 14. Absorção, metabolismo, e transporte de carotenóides: apo-CAR, apo-carotenóide; RAL, retinal; VLDL, lipoproteína de muito baixa densidade; LDL, lipoproteína de baixa densidade; HDL, lipoproteína de alta densidade.

Fonte: PARKER, 1996 (modificado).

Os ésteres de retinil, em quilomicrons remanecentes, são absorvidos e armazenados nas células “estellate” do fígado, e os carotenóides transportados principalmente para o tecido adiposo (PARKER, 1996).

No fígado, o éster de retinil é convertido a retinol e se liga à proteína ligante do retinol (RBP), os quais circulam, no plasma, associados à outra proteína transportadora, a transtiretina (TTR), que direciona o retinol para os tecidos. Estando nos tecidos, o retinol pode ser oxidado a retinal e, posteriormente, a ácido retinóico. Algumas concentrações de ácidos retinóicos, representados pelo todo-trans-ácido-retinóico (todo-trans-RA) e ácido-9-cis-retinóico (9-cis-RA), são capazes de regular a transcrição de alguns genes no núcleo celular através da ativação de seus receptores nucleares, denominados receptor de ácido retinóico (RAR) e receptor de retinóico X (RXR) (Figura 15) (ROSS, 2003).

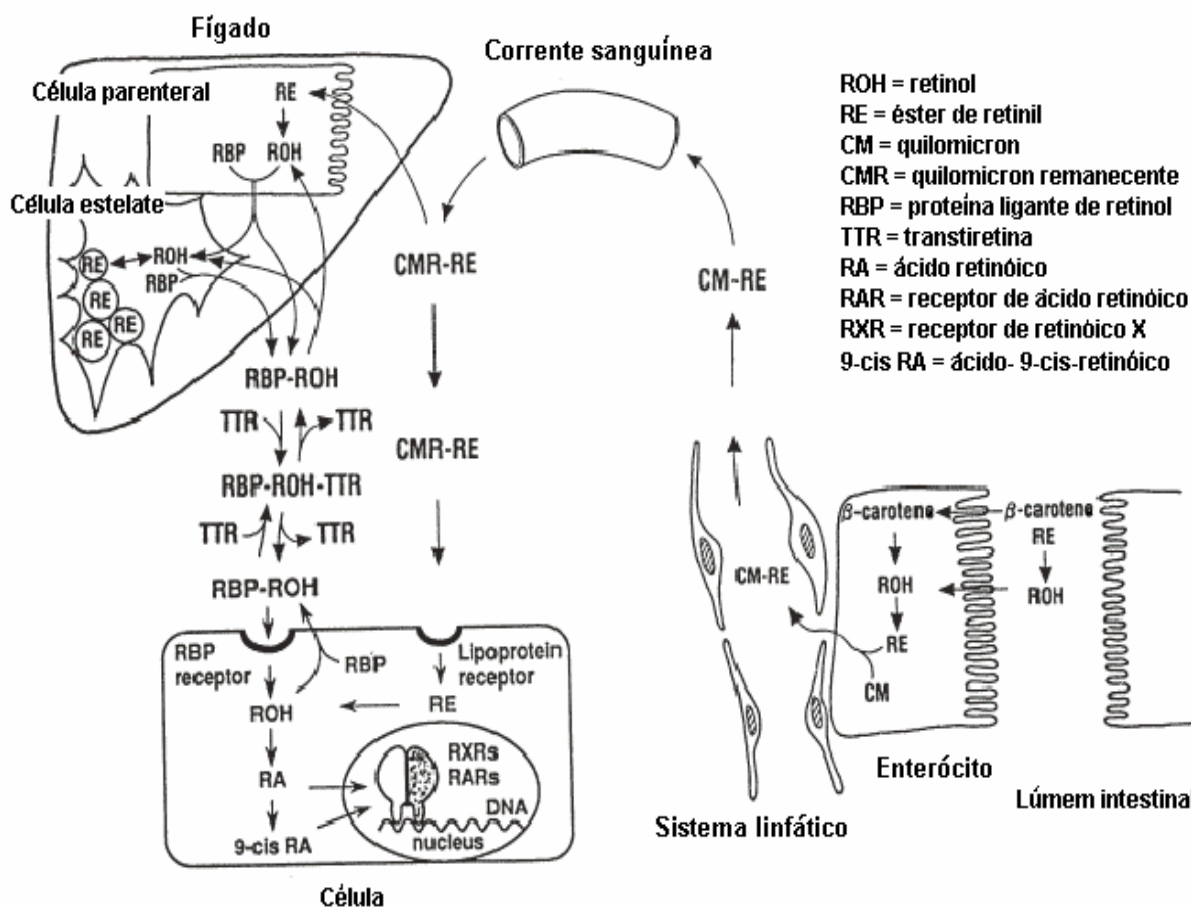


Figura 15. Esquema da absorção, metabolismo e transporte de ésteres de retinil.

Fonte: DLONHOFF *et al.*, 1990 (modificado).

2.8 Biodisponibilidade de Carotenóides

Segundo OLSON (1999^a), a biodisponibilidade de carotenóides representa a medida quantitativa de sua absorção no organismo, disponível para exercer suas funções biológicas.

A biodisponibilidade de carotenóides é afetada pelo tipo de matriz do alimento no qual os carotenóides estão presentes (SAUNDERS *et al.*, 2000). Outros fatores, além da matriz do alimento, podem reduzir a biodisponibilidade dos carotenóides. Esses fatores estão relacionados ao alimento ou ao organismo: digestibilidade, antioxidantes, outros nutrientes, processamento do alimento, acidez estomacal, absorção ineficiente de lipídios, tipo de carotenóide, fibras dietéticas solúveis, infecções, ineficiência de enzimas e fatores genéticos (PARKER, 1996).

Se o alimento for processado, por exemplo, pelo aquecimento, pode aumentar até seis vezes a biodisponibilidade dos carotenóides (VAN HET HOF *et al.*, 2000). A homogeneização e o aquecimento dissociam ou enfraquecem os complexos proteínas-carotenóides, mas o calor prolongado provoca a isomerização dos carotenóides da forma trans para cis, sendo a forma cis menos disponível (PARKER, 1996; VAN HET HOF *et al.*, 2000).

Os carotenóides são poucos absorvidos na presença de fibras, principalmente a pectina. Por ser um polímero de alta massa molecular, impede a formação de micelas diminuindo o movimento de carotenóides para as células de absorção (ERDMANN *et al.*, 1986). Os carotenóides são absorvidos e transportados da mucosa intestinal por quilomícrons e lipoproteínas através da linfa para o sangue e armazenados no fígado e no tecido adiposo. Sua distribuição depende da hidrofobicidade do carotenóide e da lipoproteína envolvida (OLSON, 1994).

Fielding *et al.*, da Universidade de Deakin, na Austrália, mostraram que a adição de azeite de oliva em tomates, durante o cozimento, aumenta a absorção de licopeno. Foi observado um aumento de 82% e 40% na concentração plasmática de trans-licopeno e cis-licopeno, respectivamente, o que demonstra o aumento na disponibilidade do licopeno (UNIVERSIDADE DE DEAKIN, 2005).

Em vegetais folhosos verde-escuros ocorre baixa disponibilidade devido à complexidade da matriz das células vegetais. A baixa disponibilidade depende também da lipofilicidade, pois o β -caroteno possui a biodisponibilidade de 14% em relação a luteína (67%), provavelmente porque a liberação da luteína no meio aquoso é maior do que a do β -caroteno, devido a menor lipofilicidade da luteína. O consumo de vegetais folhosos verde-escuros com gordura é capaz de aumentar a concentração sérica de retinol (VAN HET HOF *et al.*, 2000).

ORTEGA-FLORES *et al.* (2003), verificaram a biodisponibilidade do β -caroteno da folha de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) usando o modelo de esgotamento das reservas hepáticas de vitamina A em ratos. Um grupo de ratos deficientes de vitamina A recebeu folha desidratada de mandioca como fonte β -caroteno durante 25 dias, e foram comparados com um grupo que recebeu ração com vitamina A, outro com ração sem vitamina A e um último grupo com β -caroteno. As análises de retinol e β -caroteno no fígado, plasma e fezes dos ratos, mostraram os seguintes resultados: o conteúdo de retinol encontrado no fígado do grupo “folha de mandioca” foi quatro vezes menor em relação ao grupo “ β -caroteno” (explica-se pelo fato que o β -caroteno na folha de mandioca está dentro de uma matriz complexa, apesar de que as folhas de mandioca passaram por desidratação e trituração e, também, pelo elevado teor de fibra das folhas da mandioca) e não foram detectados teores de β -caroteno em nenhum fígado analisado; com relação ao plasma, o teor de retinol do grupo “folha de mandioca” foi maior que o grupo “ β -caroteno”. O grupo “vitamina A” apresentou teores duas vezes maiores que os grupos “folha de mandioca” e “ β -caroteno”. O grupo “sem vitamina A” apresentou valores mínimos de retinol no fígado e no plasma; e somente o grupo “folha de mandioca” apresentou pequenos teores de β -caroteno nas fezes, indicando que parte do β -caroteno não foi absorvida.

MENDONÇA (2002) investigou a biodisponibilidade do β -caroteno presente em multimisturas utilizando, como critério de avaliação, o fator de acúmulo de retinol (RAF) para a medida da biodisponibilidade em ratos. Ratos deficientes de vitamina A foram tratados com dietas contendo, como única fonte de vitamina A, o pó da folha de mandioca, constituinte da multimistura. Observou-se aumento da reserva hepática de retinol no final do tratamento.

CAMARGO (2002) analisou a composição de carotenóides de folhas verde-escuras – beldroega (*Portulaca oleracea*), caruru (*Amaranthus viridis*), serralha (*Sonchus oleraceus*) e taioba (*Xanthosoma spp*) - como fontes alimentares de baixo custo. Identificou tanto carotenóides pró-vitamina A como outros carotenóides e comparou o teor de carotenóides dos vegetais folhosos durante duas estações do ano. Os carotenóides encontrados foram: neoxantina, luteína, β -caroteno e cis- β -caroteno, sendo que a concentração de carotenóides total foi maior no verão do que no inverno.

GRAEBNER (2003) avaliou a biodisponibilidade dos carotenóides pró-vitamina A presentes nos vegetais folhosos verde-escuros não-convencionais: serralha (*Sonchus oleraceus*), caruru (*Amaranthus viridis*) e taioba (*Xanthosoma sagittifolium*), em ratos. Os ratos foram tratados com folhas não-convencionais durante 30 dias. A biodisponibilidade do β -caroteno dos vegetais foi de 36%, 16% e 9% para serralha, caruru e taioba, respectivamente, evidenciando que os carotenóides foram absorvidos, convertidos em retinol e armazenados no fígado dos ratos.

2.9 Extração e Separação de Carotenóides

A extração de carotenóides depende do solvente, pois varia com o tipo de amostra a ser analisada. MERCADANTE (1999), afirma que a acetona é eficiente na extração de carotenóides em alimentos *in natura*; o acetato de etila ou dietil éter em alimentos liofilizados ou secos, sendo que alimentos desidratados requerem inicialmente a rehidratação.

Os métodos utilizados para separação de carotenóides são: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (utilizam-se colunas de sílica gel, C₁₈, e recentemente, C₃₀), Cromatografia de Coluna Aberta (CCA) (usa-se, de acordo com a polaridade, sílica gel e óxido de alumínio) e Cromatografia de Camada Delgada (CCD) (usam-se diferentes solventes como fase móvel, podendo analisar várias amostras simultaneamente; mas, devido a maior superfície de contato dos

carotenóides, aumentam as perdas por oxidação e isomerização) (MERCADANTE *et al.*, 1997; SANDER *et al.*, 1994).

A primeira separação de carotenóides por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi relatada em 1971 por Stewart & Wheaton. A publicação “Continuons flow separation of carotenoids by liquid chromatography” descreveu a separação da complexa mistura de carotenóides do extrato de frutos, usando ZnCO_3 e MgO na coluna cromatográfica (STEWART & WHEATON, 1971 apud PFANDER *et al.*, 1994).

Outro método utilizado para separação de carotenóides é a partição, que separa dois grupos de carotenóides por solventes não miscíveis. O carotenóide é dissolvido em éter de petróleo ou benzeno, acrescentando-se metanol a 90% e agitado num funil de separação. Os carotenóides que ficam na parte superior do funil de separação são os epifásicos (solúvel em éter de petróleo) e os da parte inferior são os hipofásicos (solúvel em metanol). Os epifásicos são os carotenos sem grupos hidroxila e os hipofásicos são os que possuem grupos hidroxilas. Os principais carotenóides destes grupos são:

- Epifásicos: α , β e γ -caroteno; equinenona; actinioeritrina; astaceno.
- Hipofásicos: astaxantina e xantofilas (VILLELA, 1976).

2.10 Biotecnologia de Carotenóides

O grupo de E. Cerdá-Omedo, em Sevilha, na Espanha obteve β -caroteno a partir de cepas geneticamente melhoradas dos fungos filamentosos *Blakeslea trispora* e *Phycomyces blaskeleeanus* (FONTANA *et al.*, 2000).

Dentre os carotenóides mais intensamente oxigenados destacam-se a astaxantina (3,3'-dihidroxi-4,4'-diceto- β -caroteno), presente na levedura basidiomiceta róseo-alaranjada *Xanthophyllomyces dendrorhous* (antes *Phaffia rhodozyma*) e a cantaxantina (4,4'-diceto- β -caroteno), pigmento das plumas do flamingo, do guará maranhense e do “champignon” *Cantharellus cinnabarinus*. O

consumo de astaxantina está crescendo devido às atividades industriais de aquicultura (“fish farming”) e avicultura. Através do Laboratório Químo/Biotecnologia de Biomassa (LQBB), da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Bonfim (1999), demonstrou que a levedura *Xanthophyllomyces* pode produzir astaxantina em caldo de cana bruto e uréia ou em bagaço de cana hidrolisado com ajuda de duas enzimas abundantes na levedura, a invertase e a uréase. O motivo da produção da astaxantina é a presença de mevalonato no vinhoto, um precursor natural de carotenóides. Outros microrganismos factíveis de exploração da astaxantina são a alga clorofícea unicelular *Haematococcus pluvialis* e a bactéria marinha *Agrobacterium aurantiacum* (BONFIM, 1999 apud FONTANA *et al.*, 2000).

Uma importante conquista da biotecnologia foi o arroz-dourado (Golden rice), que possui níveis de β -caroteno de 2 mg/kg. Este arroz foi desenvolvido em 1990 por pesquisadores alemães e suíços, que retiraram três genes do narciso-silvestre e da bactéria *Erwinia sp* e introduziram no endosperma de arroz imaturo, sintetizando, assim, o geranilgeranil difosfato (molécula isoprenóide de 20 átomos de carbono). A condensação de duas de suas moléculas produz o fitoeno (o primeiro carotenóide precursor na biossíntese de β -caroteno) (Figura 6) pela expressão da enzima fitoeno sintase. A síntese do β -caroteno a partir do fitoeno exige complementação com três enzimas: a dessaturase fitoeno, dessaturase β -caroteno e a licopeno β -ciclase. O Golden rice tem sido indicado como importante alternativa no combate a deficiência de vitamina A, principalmente nos países da África, Ásia e América do Sul (COSTA, 2004).

2.10.1 Biotecnologia em derivados hidrossolúveis

Como regra geral, os carotenóides são lipossolúveis, sendo transportados no plasma de mamíferos em associação às lipoproteínas. Excepcionalmente, adquirem alguma hidrossolubilidade como resultado de processos oxidativos ou derivatizações naturais. A obtenção biotecnológica de derivados hidrossolúveis de carotenóides constitui uma perspectiva comercial interessante, uma vez que permitirá que estes possam ser utilizados na coloração de diversos alimentos. Os carotenóides hidrossolúveis foram obtidos por meio do encapsulamento de carotenóides em α , β e

γ -ciclodextrinas (Figura 16). As ciclodextrinas são formadas por hexa-, hepta- e octa-maltossacarídeos cíclicos derivados do amido, ou seja, respectivamente, por 6, 7 e 8 unidades de glucose unidas entre si por ligações α -1,4 (FONTANA *et al.*, 2000; MATIOLI & ROGRIGUEZ-AMAYA, 2003).

As ciclodextrinas são extremamente hidrofílicas, ou seja, solúveis em água (Figura 17). A consequência da hidrossolubilidade é liberar o pigmento, lenta e progressivamente, a partir da dieta, dentro do organismo do consumidor (FONTANA *et al.*, 2000).

O encapsulamento, além da liberação do carotenóide retido na cavidade funcional da ciclodextrina, propicia mecanismo protetor de alta eficiência contra os fatores ambientais que são altamente destrutíveis à estrutura dos carotenos: vapores ácidos ou oxidantes, luz, calor e oxigênio, que levam as alterações estruturais nos carotenóides (FONTANA *et al.*, 2000).

MATIOLI & RADRIGUEZ-AMAYA (2003), realizaram estudos com microencapsulamento do licopeno (extraído de goiaba vermelha *in natura*) utilizando α , β e γ ciclodextrinas na proporção de 1:50. O microencapsulamento é um processo físico no qual uma membrana envolve pequenas partículas, protegendo-as da luz, da umidade e do oxigênio. Este processo foi obtido com maior eficiência para as β e γ -ciclodextrinas, pois, em solução aquosa, as moléculas de água no interior do anel da ciclodextrina são facilmente substituídas por moléculas apolares (licopeno), formando estruturas que são energeticamente estáveis. Entre todas as ciclodextrinas (α , β e γ), a γ -ciclodextrina foi a melhor substância microencapsulante devido ao grande diâmetro interno da cavidade da molécula. Pelo mesmo fato, mas com versão contrária, o encapsulamento utilizando a α -ciclodextrina não ocorreu; o licopeno ficou na superfície da solução. Avaliou-se, também, após 40 dias de monitoramento, em temperatura ambiente, a exposição da γ -ciclodextrina à luz. O licopeno complexado com γ -ciclodextrina manteve-se estável à luz, não apresentando degradação. O processo possui a vantagem de ser realizado em temperatura ambiente sem a necessidade de aparelhos específicos; a desvantagem é o alto custo das ciclodextrinas.

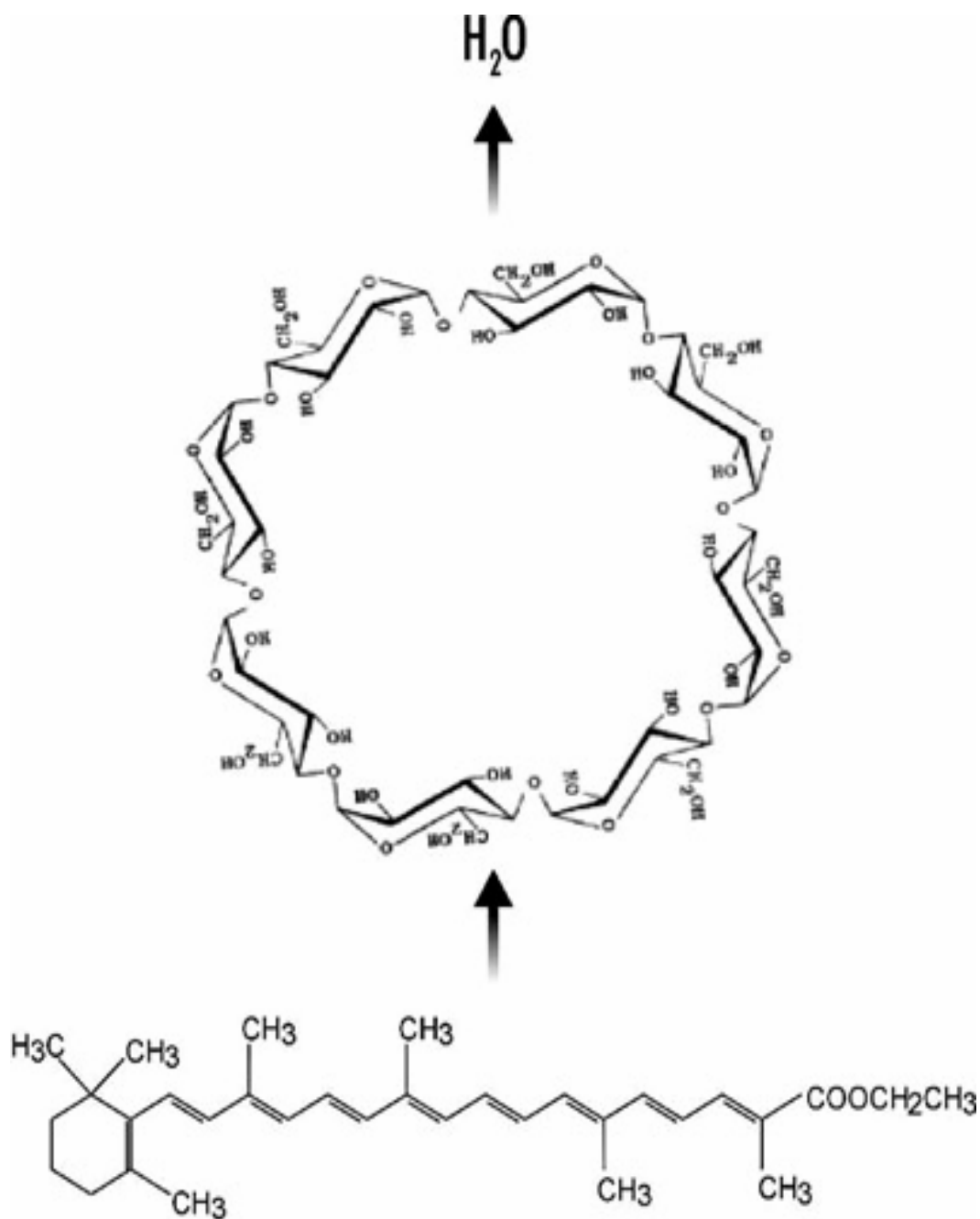


Figura 16. Esquema da complexação entre γ -ciclodextrina e éter etílico do ácido apocarotenóico, um aditivo para rações destinadas à alimentação de frangos e ao reforço da pigmentação da carne e ovos. Fonte: FONTANA *et al.*, 2000.

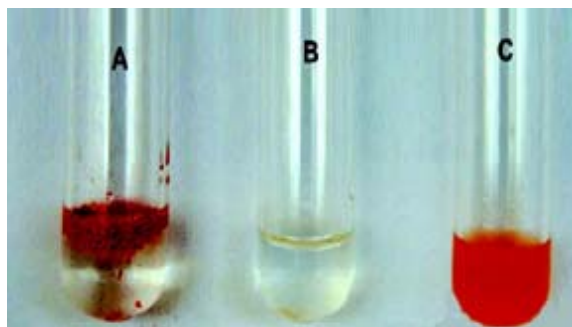


Figura 17. Hidrossolubilidade do éster etílico do ácido apocarotenóico induzida pela complexação com γ -ciclodextrina. (A) o carotenóide insolúvel em água; (B) solução de γ -ciclodextrina; (C) complexo hidrossolúvel de carotenóide / ciclodextrina.

Fonte: FONTANA *et al.*, 2000.

FÁVORO-TRINDADE *et al.* (2005) microencapsularam oleoresina de páprica (*Capsicum annuum L.*), corante à base de carotenóides, utilizando como agentes encapsulantes goma arábica e grânulos porosos de amido/gelatina, com o objetivo de avaliar a morfologia das microcápsulas, a distribuição e tamanho das partículas e a solubilidade. A microencapsulação realizada por atomização foi bem sucedida, gerando pós de fácil solubilidade e de grande importância para a indústria alimentícia, pois é uma alternativa para proteger os carotenóides contra os fatores que provocam a oxidação.

3. METODOLOGIA

O método de abordagem utilizado, segundo o procedimento técnico, foi a pesquisa bibliográfica, sendo um estudo qualitativo desenvolvido a partir de material já elaborado e disponível na forma de livros, artigos científicos, periódicos, revistas, anuários, disponíveis na Biblioteca Central da Universidade de Brasília e nas bases de dados: Bireme, Scielo, ProQuest, acessível via Internet nas línguas portuguesa, inglesa e espanhola.

O período de realização da pesquisa compreendeu os meses de julho/2005 a fevereiro/2006, até a realização completa da digitação, que, quando necessário para complementação de dados, recorreu-se à literatura.

4. CONCLUSÃO

Os carotenóides são pigmentos de estrutura isoprenóide amplamente distribuídos na natureza (folhas, flores, frutos, bactérias) que possuem características biológicas e químicas definidas. Entre essas, destaca-se a estrutura química, que determina praticamente sua classificação e função biológica. Como exemplo, os carotenóides que possuem pelo menos um anel β -ionona na sua estrutura, são indicados como precursores de vitamina A, os chamados de pró-vitamínicos A, que biologicamente se clivam, dando origem a moléculas de vitamina A, que os animais não sintetizam, mas podem acumular.

O número de ligações duplas conjugadas confere as cores (amarelo, laranja e vermelho) e define características biológicas e químicas, como absorção de luz, oxidação, isomerismo, atividade antioxidante.

Os carotenóides acíclicos, ricos em duplas ligações conjugadas, atuam como antioxidantes combatendo radicais livres, que são capazes de oxidar lipídios insaturados, proteínas e ácidos nucleicos; ou seja, podem ser responsáveis pelo envelhecimento e morte celular.

As duplas ligações ocorrem na forma cis e trans, sendo esta última a mais encontrada na natureza, que auxilia na coloração dos carotenóides. O aumento de ligações cis e a oxidação, causada por ação da luz, calor e oxigênio, enfraquecem a coloração, diminuem a atividade pró-vitamina A e formam fragmentos.

Em suma, dentro das características biológicas e químicas dos carotenóides, destaca-se o sistema de ligações insaturadas, que faz com que o consumo de alimentos ricos em carotenóides resulte tanto em menor risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis como também tornam os alimentos atraentes e apetitosos.

Os carotenóides da dieta são ingeridos e liberados no estômago, na forma de gotículas de gordura, que incorporam em micelas. As micelas, absorvidas na mucosa intestinal, associam-se a quilomícrons, que os transportam para a corrente sanguínea, onde se armazenam no fígado e no tecido adiposo.

A biodisponibilidade dos carotenóides, pró-vitamínicos ou não, depende de uma série de fatores, tais como: o tipo de carotenóide, a matriz que se encontra no alimento, interação com outros carotenóides, processamento do alimento, deficiência na absorção de lipídios, presença de fibras, lipofilicidade. A literatura ressalta que o processamento de alimentos, quando não muito prolongado, pode biodisponibilizar os carotenóides, ou então, quando ingeridos com gordura.

Os carotenóides têm sido alvo da biotecnologia com a finalidade de melhorar a coloração, as características organolépticas e o valor nutricional dos alimentos. Duas inconveniências dos carotenóides para a indústria alimentícia são a instabilidade durante o processamento do alimento e o fato de serem lipossolúveis. Pesquisas de microencapsulamento de carotenóides com agentes encapsulantes tornam estas moléculas hidrossolúveis e protegidas contra fatores que provocam instabilidade (luz, temperatura e oxigênio).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGOSTINI-COSTA, T. S.; ABREU, L. N.; ROSSETTI, A.G.. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, vol. 25, nº 1, abril 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 07/10/05.
2. AGOSTINI-COSTA, T. S.; VIEIRA, R. F.. Frutas nativas do cerrado: qualidade nutricional e sabor peculiar. **Toda Fruta**, data da edição: 28/10/2004. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br>. Acesso em: 21/05/05.
3. ARAB, L.; STECK, S.. Lycopene and cardiovascular disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, vol.71, supplement 1, p.1691-1695, 2000.
4. ARRUDA, S. F.. **Potencial antioxidante de vegetais folhosos in vivo**. 2004. 52f. Dissertação de Doutorado em Biologia Molecular – Instituto de Ciências Biológicas – Universidade de Brasília, 2004.
5. ALVES-FILHO, M.. Flor que enfeita salada previne doenças. **Jornal da Unicamp**. Edição 230, 22 a 28 de setembro de 2003. Disponível em: www.unicamp.br . Acesso em: 04/09/05.
6. BACHMANN, H.; DESBARATS, A.; PATTISON, P.; SEDGEWICK, M.; RISS, G.; WYSS, A.; CARDINAULT, N.; DUSZKA, C.; GORALCZYK, R.; GROLIER, P.. Feedback regulation of β,β -carotene 15,15'-monooxygenase by retinoic acid in rats and chickens. **American Society for Nutritional Sciences**, J. Nutr., vol.132, p.3616-3622, set. 2002.

7. BENDICH, A.; OLSON, J. A.. Biological actions of carotenoids. **Fed. Am. Soc. Exp. Biol. (FASEB) Journal**, Bethesda, vol.3, p.1927-1932, 1989. Disponível em: www.fasebj.org. Acesso em: 15/02/06.
8. BIANCHINI, R.; PENTEADO, M. V. C.. Carotenóides de pimentões amarelos (*Capsicum annuum*, L.). Caracterização e verificação de mudanças com o cozimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.18, nº3, ago./out., 1998. Disponível em: <http://www.scielo.com.br>. Acesso em: 02/10/05.
9. BRODY, T.. **Nutritional Biochemistry**. Academic Press, San Diego, cap.08, p.400-409, 1994.
10. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Embrapa pesquisa variedades de melancia mais doces e com diferentes cores de polpa**. Fonte: EMBRAPA. Notícia: 07/06/2005. Disponível em: [http://www21.sede.embrapa.br/noticias/banco de notícias/2005](http://www21.sede.embrapa.br/noticias/banco_de_noticias/2005). Acesso em: 04/09/05.
11. BRITTON, G.. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **Fed. Am. Soc. Exp. Biol. (FASEB) Journal**, Bethesda, vol.9, nº15, p.1551-1558, 1995. Disponível em: www.fasebj.org. Acesso em 16/02/06.
12. BURTON, G. W.; INGOLD, K. U.. β -caroteno: an unusual type of lipid antioxidant. **Science**, vol.244, p. 569-573, 1984.
13. CAMARGO, E.B.. **Composição de carotenóides em vegetais folhosos não convencionais – Análise em Sistema CLAE**. 2002. 65f. Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde – Faculdade de ciências da Saúde – Universidade de Brasília, 2002.

14. CAMPOS, F. M.; ROSADO, G. P.. Novos fatores de conversão de carotenóides provitamínicos A. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.25, nº3, p.571-578, jul./set. 2005. Disponível em: www.scielo.br. Acesso em: 16/02/06.

15. CAVALCANTE, M. L.. **Composição de carotenóides e valor de vitamina A em pitanga (*Eugenia uniflora*) e acerola (*Malpighia glabra* L.)**. 1991. 87p. Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos - Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas - Campinas, 1991.

16. COSTA, N. M. B.. Biotecnologia aplicada ao valor nutricional dos alimentos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, nº32, p.47-54, jan./jul. 2004.

17. COSTA, M. A. L.; ORTEGA-FLORES, C. I.; PENTEADO, M. D. V. C.. Alterações estruturais in vivo dos isômeros todo-trans, 9-cis e 13-cis do β -caroteno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.22, nº3, p.224-228, set./dez. 2002. Disponível em: www.scielo.br. Acesso em: 16/02/06.

18. COSTA, C. L. S.; CHAVES, M. H.. Extração de pigmentos das sementes de *Bixa orellana* L.: uma alternativa para disciplinas experimentais de química orgânica. **Química Nova**, vol. 28, nº1, p. 149-152, 2005.

19. DI MASCIO, P.; KAISER, S.; SIES, H.. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, vol.274, p.532-538, 1989.

20. DLONHOFF, R.; GREEN, M.; BERG, T.; NORUN, C. T.. Transport, and storage of the vitamin A. **Science**, vol.250, p.399-403, 1990.

21. ERDMANN, J. W. JR.; FAHEY, G. C. JR.; WHITE, C. B.. Effects of purified dietary fiber sources on β -carotene utilization by the chick. **Journal of Nutrition**, vol. 116, p. 2415-2423, 1986.
22. FÁVARO-TRINDADE, C. S.; SANTOS, A. B.; GROSSO, C. R. F.. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 25, nº2, p.322-326, abr./jun. 2005. Disponível em: www.scielo.br . Acesso em: 16/02/06
23. FONTANA, J.D. ; MENDES, S. V.; PERSIKE, D.S.; PERACETTA, L.; PASSOS, M.. Carotenóides Cores Atraentes e Ação Biológica. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, nº13, p.40-45, março/abril 2000. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio13/caroteno.pdf>. Acesso em 10/05/05.
24. FOOTE, C. S.; CHANG, Y. C.; DENNY, R. W.. Chemistry of singlet oxygen X carotenoid quenching parallels biological protection. **Journal of the American Oil Chemists Society**, vol.92, p.5216-5218, 1970.
25. FRANCIS, F. J.. Handbook of food colorant patents. **Food and Nutrition Press Inc.**, USA, 1986.
26. GANN, P. H.; MA, J.; GIOVANNUCCI, E.; WILLETT, W.; SACKS, F. M.; HENNEKENS, C.H.. Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels:results of a prospective analysis. **Cancer research**, vol. 59, p. 1225-1230, 1999.

27. GARCIA, E. A.; MENDES, A. A.; PIZZOLANTE, C. C.; GONÇALVES, H. C.; OLIVEIRA, R. P.; SILVA, M. A.. Efeito dos níveis de cantaxantina na dieta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, vol.4, nº1, jan/2002. Disponível em: www.scielo.br. Acesso em: 04/09/05.
28. GLOVER, J.. Vitam. Horm., 18, 371-386, 1960. In: OLSON, J A. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. **Pure & Applied Chemistry** (IUPAC), vol.66, nº5, p.1011-1016, 1994. Disponível em: www.iupac.org. Acesso em: 10/02/06.
29. GOODWIN, T. W.. **The compative biochemistry of carotenoids**. Chapmn & Hall LTD., 1ª edition, London, 1952.
30. GOODWIN, T. W.. **Chemistry and biochemistry of plant pigments**. Academic Press. 1965.
31. GRAEBNER, I. T.. **Biodisponibilidade de β -caroteno de vegetais não-convencionais – ensaios em ratos**. 2003. 86f. Dissertação de Mestrado em Nutrição Humana – Programa de Pós-graduação em Nutrição Humana – Universidade de Brasília, 2003.
32. GUZMAN, D.. Value of carotenoids sector to cross billion dollar mark. **Chemical Market Reporter**, New York, vol.268, nº.1, p.33, jul. 2005. Disponível em: <http://www.proquest.com>. Acesso em 13/08/05.
33. HADLEY,C. W.; MILLER, E.C.; SCWATZ, S. J.; CLINTON, S. K.. Tomatoes, Lycopene, and Prostate Cancer: Progress and Promise. **Experimental Biology and Medicine**, vol.227, nº10, p.869-880, 2002.

34. HIANE, P. A.; BOGO, D.; RAMOS, M. I. L.; RAMOS-FILHO, M. M.. Carotenóides pró-vitamínicos A e composição em ácidos graxos do fruto e da farinha do bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.23, nº2, maio/ago., 2003. Disponível em: <http://www.scielo.com.br>. Acesso em: 02/10/05.
35. KIM, D. J.; TAKASUKA, N.; KIM, J. M.; OTA, T.; ASAMOTO, M.. Chemoprevention by lycopene of mouse lung neoplasia after combined initiation treatment with DEN, MNU and DMH. **Cancer Lett**, vol.120, p.15-22, 1997.
36. KRINSKY, N.I.. The biological properties of carotenoids. **Pure & Applied Chemistry** (IUPAC), Great Britain, vol.66, nº5, p.1003-1010, 1994. Disponível em: www.iupac.org . Acesso em: 04/09/05.
37. KRINSKY, N.I.. Overview of Lycopene, Carotenoids, and Disease Prevention. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, vol.215, nº2, p.95-97, 1998.
38. LEHNINGER, A. L.. **Princípios de Bioquímica**. Sarvier Editora de Livros Médicos, São Paulo, p.196, 1984.
39. LEVY, J.; BOSIN, E.; FELDMAN, B.; GIAT, Y.; MIINSTER, A.; DANIILENKO, M.. Lycopene is a more potent inhibitor of human cancer cell proliferation than either α -carotene or β -carotene. **Nutr Cancer**, vol.24, p. 257-266, 1995.
40. MARINHO, H. A.; CASTRO, J. S.. **Carotenóides e valor de pró-vitamina A em frutos da região Amazônica: pajurá, piquiá, tucumã e umari**. 2000. Disponível em: http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/tecnologia_de_alimentos/301.htm. Acesso em: 10/06/05.

41. MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.. Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.23, supl. dez. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 02/10/05.
42. MCBRIDE, J.. It plants pigments paint an antioxidants substance rainbow. **Agricultural Research**, Washington, vol.44, Iss. 11, p.4-8, nov. 1996.
43. MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J.. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, vol.54, nº2, p.149-155, jun. 2004^a. Disponível em: <http://www.scielo.org.ve/>. Acesso em: 18/02/05.
44. MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J.. Estabilidad de los pigmentos carotenóides em los alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, vol.54, nº2, p.209-215, jun. 2004^b. Disponível em: <http://www.scielo.org.ve/>. Acesso em: 18/02/05.
45. MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUES-AMAYA, D. B.; BRITTON, G.. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol.45, p.120-123, 1997.
46. MERCADANTE, A. Z.. Chromatografic separation of carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, vol.49, p. 529-575, 1999.
47. MERCADANTE, A. Z.; PFANDER, H.. Caracterização de um novo carotenóide minoritário de urucum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.2, nº2, maio/ago. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 02/10/05.

48. MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUES-AMAYA, D.. Carotenoid composition of a leafy vegetable in relation to some agricultural variables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol.39, p.1094-1097, 1991.
49. MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUES-AMAYA, D.. Confirmação da identidade da α -criptoxantina e incidência de carotenóides minoritários pró-vitamínicos A em verduras folhosas verdes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.21, nº2, maio/ago. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 02/10/05.
50. MENDONÇA, S. S.. **Biodisponibilidade do β -caroteno da folha de mandioca em ratos**. 2002. 92f. Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde – Faculdade de Ciências da Saúde – Universidade de Brasília – Brasil, p. 15 – 41, 2002.
51. MOURÃO, D. M.; SALES, N. S.; COELHO, S. B.; PINHEIRO-SANTANA, H. M.. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Revista de Nutrição**, Campinas, vol.18, nº4, p.529-239, jul./ago. 2005.
52. MOREIRA, A. P. B.; SANT'ANA, H. M. P.; SOUZA, S. L.; ALENCAR, E.R.. Atividade pró-vitáminica A de hortaliças comercializadas nos mercados formal e informal de Viçosa, Minas Gerais. **Revista Ceres**, vol.52, p.177-189, 2005.
53. NAGASAWA, H.; MITAMURA, T.; SAKAMOTO, K.. Effects of lycopene on spontaneous mammary tumour development in SHN virgin mice. **Anticancer Research**, vol.15, p.1173-4478, 1995.
54. NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z.. Obtenção de cristais de licopeno a partir de descarte de tomate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.24, nº3, jul./set. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 02/10/05.

55. OLSON, J. A.. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin A in humans. **American Journal Clinical Nutrition**, vol.45, p.704-716, 1987. Disponível em: www.ajcn.org. Acesso em 15/02/06.
56. OLSON, J. A. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. **Pure & Applied Chemistry** (IUPAC), Great Britain, vol.66, nº5, p.1011-1016, 1994. Disponível em: www.iupac.org . Acesso em: 04/09/05.
57. OLSON, J. A. Bioavailability of carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, vol.49, nº1, supl. 1, p.21-25, set. 1999^a.
58. OLSON, J. A. Carotenoids and human health. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, vol.49, nº1, supl.1, p.7-11, 1999^b.
59. ORTEGA-FLORES, C. I.; COSTA, M. A. L.; CEREDA, M. P.; PENTEADO, M. V. C.. Biodisponibilidade do β -caroteno da folha desidratada de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.23, nº3, set./dez. 2003. Disponível em: www.scielo.com.br. Acesso em: 02/10/05.
60. OTT, D. B.. **Manual de laboratorio de ciencia de los alimentos**. Editorial Acribia, S.A., p. 161-164, 1987.
61. PADOVANI, R. M.. **Disponibilidade de carotenóides em relação à energia e proteínas nos domicílios de famílias das regiões metropolitanas brasileiras**. 2003. Resenha da Dissertação de Mestrado em Nutrição – Faculdade São Camilo. Disponível em www.universia.com.br/materia . Acesso em 04/09/05.
62. PARKER, R. S.. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. **FASEB J.**, vol.10, nº5, p.542-551, 1996. Disponível em: www.fasebj.org. Acesso em 16/02/06.

63. PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; STRINGHETA, P. C.; BRANDÃO, S. C. C.. Avaliação de carotenóides totais, α e β -caroteno em cenoura (*Daucus carota* L.) durante processamento a nível doméstico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol.18, nº1, p.39-44, jan./abr. 1998. Disponível em: www.scielo.br. Acesso em: 02/10/05.
64. PSZCZOLA, D. E.. Natural colors: pigments of imagination. **Food Technol.**, vol.52, nº6, p. 70-82, 1998.
65. RAMOS, D. M. R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.. Determination of the vitamin A of common Brazilian leafy vegetables. **Journal Micronutrition Anal.**, vol.3, p.147-155, 1987.
66. RAO, A. V.; AGARWAL, S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. **Journal of the American College of Nutrition**, vol.19, nº5, p.563-569, 2000.
67. RIBEIRO, E. P. & SERAVALLI, E. A. G.. **Química de Alimentos**. Instituto Mauá de Tecnologia. Editora Edgard Blücher Ltda, 1ª edição, São Paulo, p.155-157, 2004.
68. ROCK, C.; LOVALVO, H.; EMENTHISER, C.; RUFFIN, M. T.; FLATT, S. W.; SCHWARTZ, S. J.. Bioavailability of β -carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. **Journal of Nutrition**, vol.128, p.913-916, 1998.
69. RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.. Critical review of provitamin A determination in plant foods. **Journal Micronutrition Anal.**, vol.5, p.191-225, 1989.

70. RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.. **A guide to carotenoid analysis in food**. ILSI Press, Washington, p.37-51, 1999^a.
71. RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.. Latin American food sources of carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, vol.49, p. 745-845, 1999^b.
72. RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, vol. 49, nº 1, supl.1, p. 38-47, set. 1999^c.
73. RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; AMAYA-FARFAN, J.. Estado actual de los métodos analíticos para determinar provitamina A. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, vol.42, p. 180-199,1992.
74. ROSS, A. C.. Retinoid production and catabolism: role of diet in regulating retinal esterification and retinoic acid oxidation. **Journal of Nutrition**, vol.133, p.291-296, 2003.
75. SACKHEIM, G. I.; LEHMAN, D.. **Química e Bioquímica para ciências Biomédicas**. Editora Manole Ltda, 8ª edição, p. 553-554, 2001.
76. SANDER, L. C.; SHARPLESS, K. E.; CARFT, N. E.; WISE, A. S.. Development of engineered stationary phases for the separation of carotenoid isomers. **Anal. Chem.**, vol.66, p.1667-1674, 1994.
77. SANTOS, L. C.; BERTOLIN, M. N. T.; GIANELLO, M.. Licopeno e câncer de próstata. **Nutrição**, p.27-30, jul./ago. 2003.

78. SAUNDERS, C.; RAMALHO, A.; ACCIOLY, E.; PAIVA, F.. Utilização de tabelas de composição de alimentos na avaliação do risco de hipovitaminose A. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, vol.50, nº3, set. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.org.ve/> . Acesso em: 27/01/06.
79. SHAMI, N. J. I. E. & MOREIRA, E. A. M.. Licopeno como agente antioxidante. **Revista Nutrição**, Campinas, vol.17, nº2, p.227-236, abr./jun. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 16/02/06.
80. SILVIA, S. R.; MERCADANTE, A. Z.. Composição de carotenóides de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) in natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.22, nº3, set./dez. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 04/09/05.
81. SOUTHON, S.. Increased fruit and vegetable consumption within the EU: potential health benefits. **Food Res. Inter.**, vol.33, p.211-227, 2000.
82. SOUZA, E. C. G.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; STRINGHETA, P. C.; LEÃO, M. A.; PINTO, A. S.; SILVA, J. F.. Efeitos de bixina sobre o metabolismo lipídico. In: 23ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2000, Poços de Caldas, MG. Proceedings: **Sociedade Brasileira de Química**. Disponível em www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/1281-2/ . Acesso em: 04/05/05.
83. STEWART, I.; WHEATON, T. A.. J. Chrom. 55, 325-336, 1971. In: PFANDER, H.; RIESEN, R.; NIGGLI, U.. HPLC and SFC of carotenoids – scope and limitations. **Pure & Applied Chemistry** (IUPAC), Great Britain, vol.66, nº5, p.947-954, 1994. Disponível em: www.iupac.org . Acesso em: 04/09/05.

84. TOCCHINI, L. & MERCADANTE, A. Z. Extração e determinação, por CLAE, de bixina e norbixina em caloríficos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol.21, nº3, set./dez. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.com.br>. Acesso em: 02/11/05.
85. TRUSCOTT, T. G.. β -carotene and disease: a suggested pro-oxidant and anti-oxidat mechanism and speculations concerning its role in cigarette smoking. **J.Photochem Photobiol B.**, vol.35, p.233-235, 1996.
86. UNIVERSIDADE DE DEAKIN, MALVERN; Results highlight importance of cuisine in bioavailability of carotenoids. **Cardiovascular Device Liability Week**, Atlanta, p.58, 24 jul., 2005.
87. VAN HET HOF, K. H.; WEST, C. E.; WESTSTRATE, J. A.; HAUTVAST, J. G. A. J.. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. **Journal of Nutrition**, vol.130, p. 503-506, 2000.
88. VILLELA, G. G.; BACILA, M.; TASTALDI, H.. **Bioquímica**. Editora Guanabara Koogon S. A., 2ª edição, p. 785-790, 1966.
89. VILLELA, GILBERTO G.. **Pigmentos Animais: Zocromos**. Editado pela Academia Brasileira de Ciências, p.5-31, 1976.
90. WEIL, J. H.. **Bioquímica Geral**. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa. 2ª edição, p. 316, 2000.
91. WILEY, J.; SONS, I.. **Experimental biochemistry a laboratory manual**. New York, p.127-133, 1960.

92. YOUNG, A. J.; LOWE, G. M.. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, vol.385, nº1, p. 20-27, 2001.