



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANA CRISTINA LIMA NEVES

**CAROTENOIDES EM ABÓBORA AMARELA (*Cucurbita moschata*  
Duchesne) CREOULA CRUA E RETENÇÃO REAL DE  $\alpha$  E  $\beta$ -  
CAROTENO APÓS DIFERENTES TIPOS DE COZIMENTO**

**Rio de Janeiro**

**2011**

**ANA CRISTINA LIMA NEVES**

Carotenoides em Abóbora Amarela (*Cucurbita moschata* Duchesne) Creoula Crua e Retenção Real de  $\alpha$   
e  $\beta$ -caroteno após Diferentes Tipos de Cozimento

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Maria Jaeger de Carvalho

Rio de Janeiro  
2011

Neves, Ana Cristina Lima

Carotenoides em Abóbora Amarela (*Cucurbita moschata* Duchesne) Creoula Crua e Retenção Real de  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno após Diferentes Tipos de Cozimento/ Ana Cristina Lima Neves -- Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Farmácia, 2011. xi, 43 f. : il. ; 31 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Maria Jaeger de Carvalho.

Dissertação (mestrado) – UFRJ / Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2011.

Referências bibliográficas: f. 48-54.

1. Cucurbita - química. 2. Carotenoides - análise. 3. Beta Caroteno – análise. 4. Deficiência de Vitamina A - prevenção e controle. 5. Biotecnologia Farmacêutica - Tese. I. Carvalho, Lucia Maria Jaeger de II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas III. Título.

Ana Cristina Lima Neves

Carotenoides em Abóbora Amarela (*Cucurbita moschata* Duchesne) Creoula Crua e Retenção Real de  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno após Diferentes Tipos de Cozimento

**Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.**

**Aprovada em 17/11/2011**

**Orientadora**

---

Professora Dr<sup>a</sup>. Lucia Maria Jaeger de Carvalho  
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

**Banca Examinadora**

---

Profa. Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes

---

---

Profa. Dra. Mirian Ribeiro Leite Moura

---

---

Profa. Dra. Mônica Freiman Souza Ramos

---

## AGRADECIMENTOS

A Deus que me deu a força necessária para perseverar em tudo ao longo da minha vida.

A grande amiga Patrícia que muito me ajudou nesta jornada.

A minha família, meu filho e meus pais, em especial meu esposo Cosme, que soube compreender e me apoiar nos momentos difíceis.

A Profa. Dra. Marina Silva Paez, do Departamento de Métodos Estatísticos do Instituto de Matemática, que me auxiliou na parte estatística da presente dissertação.

A toda equipe do Laboratório de Tecnologia e Análise Instrumental de Alimentos da Faculdade de Farmácia, da UFRJ, coordenado pela Profa. Lucia Maria Jaeger de Carvalho.

A toda equipe do Laboratório de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência da Embrapa Agroindústria de Alimentos-CTAA.

A toda equipe do LabCBrom pelo auxílio nas análises de Composição Proximal.

Ao Instituto de Nutrição Josué de Castro pela utilização do Laboratório de Técnica Dietética e Culinária da UFRJ para a elaboração das preparações culinárias.

Ao Programa de Biofortificação do Brasil – Embrapa-Monsanto BioFORT pelo apoio financeiro à execução da presente dissertação e, e especial, aos pesquisadores José Luiz Viana de Carvalho e Marília Regini Nutti.

A Embrapa -Tabuleros Costeiros e, à pesquisadora Semiramis Rabelo R. Ramos pela cessão e remessa das amostras de abóbora.

A Profa. Dra. Lucia Maria Jaeger de Carvalho, que me fez crescer profissionalmente, teve paciência e carinho para me orientar e por ter sido amiga para me compreender.

Muito Obrigada!!!!

## RESUMO

O interesse por matérias primas de origem vegetal que contenham carotenoides com atividade provitamina A tem aumentado, sensivelmente, nos últimos anos tendo em vista que estes micronutrientes podem suprir deficiências nutricionais das populações de países subdesenvolvidos e em desenvolvimento. No Brasil existe uma grande variabilidade de espécies de abóbora para cultivo e consumo. Em relação a sua composição nutricional, algumas variedades de abóbora se destacam por seu conteúdo em provitamina A ( $\beta$  e  $\alpha$ -caroteno), vitaminas do complexo B e C e outros nutrientes. A deficiência de vitamina A é ainda hoje um problema de saúde pública mundial sendo sua ingestão insuficiente, por um longo período de tempo, provoca alterações no revestimento ocular levando a um quadro de cegueira irreversível, denominada xerofthalmia. Estudos recentes relacionam a deficiência subclínica, com o agravamento de enfermidades como diarreia e outros processos infecciosos, resultando em um quadro de imunodeficiência de origem unicamente nutricional. O objetivo da presente dissertação foi determinar os teores de carotenoides totais,  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno e isômeros *trans* e *cis* do  $\beta$ -caroteno nas amostras creoulas cruas e após o cozimento por imersão em água e no vapor e indicar o método de cozimento mais eficiente na preservação desses carotenoides nas amostras, adequadas aos hábitos alimentares das populações do Norte e Nordeste brasileiro. Os resultados revelaram que as amostras de abóbora creoula são bastante promissoras, com valores para carotenoides totais e *trans*- $\beta$ -caroteno superiores aos encontrados na literatura pesquisada, bem como aqueles de  $\alpha$ -caroteno. Por outro lado, os isômeros *cis* do  $\beta$ -caroteno foram pouco elevados, o que era esperado de uma fonte rica em carotenoides pró-vitamina A. O cozimento no vapor foi o que melhor preservou os teores de carotenoides totais (116,58%) e de  $\beta$ -caroteno (98,02%). Mais estudos estão sendo realizados de forma a selecionar e recomendar as cultivares mais promissoras para crianças em idade escolar.

Palavras chave: Abóbora, Retenção,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno, *cis* – isômeros.

## ABSTRACT

Interest in plant materials, containing carotenoids with provitamin A activity has increased significantly in recent years in order to minimize micronutrients nutritional deficiencies of populations of underdeveloped and developing countries. In Brazil, there is great variability of species of pumpkin for cultivation and consumption. In relation to their nutritional composition, some pumpkin varieties stand out for their content in provitamin A ( $\beta$  and  $\alpha$ -carotene), vitamin B complex and C and other nutrients. The vitamin A deficiency is still a public health concern worldwide and their insufficient intake over a long period of time causes irreversible blindness, called xerophthalmia. Recent studies show a correlation to subclinical deficiency with other diseases aggravation of such as diarrhea and other infectious processes, resulting in immunodeficiency of exclusive nutritional source. The objective of this dissertation was to determine the total carotenoids,  $\alpha$  and  $\beta$ -carotene contents and the *cis*- $\beta$ -carotene isomers in landrace samples raw and after cooking by immersion in water and steam cooked as well as to indicate the most efficient method of cooking in preservation of these carotenoids in the samples. The results revealed that samples of landrace pumpkins evaluated are promising, with total carotenoids and  $\beta$ -carotene contents higher than ones reported in literature, as well as those of  $\alpha$ -carotene. On the other hand, the *cis*- $\beta$ -carotene isomers were negligible, which was expected of a rich source of provitamin A carotenoids. Between the cooking methods employed, the steaming cooking best preserved the total carotenoids (116,58%), and the higher  $\beta$ -carotene (98,02%) retention percentages. More studies with other pumpkin landraces are being carried out in order to select the best promising one to recommend for schoolage children.

Keywords: Pumpkin, Retention,  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -carotene, *Cis* – isomers.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Codificação das amostras de abóbora, segundo o sistema de quarteirização empregado para amostragem e o método de cozimento.....	23
Tabela 2. Codificação das amostras 62(A) e 72(B), segundo o processo de cozimento empregado.....	23
Tabela 3. Massa das duas amostras de abóbora após o processo de quarteirização.....	29
Tabela 4. Tempos do cozimento das amostras de abóbora cozidas por imersão em água e no vapor.....	30
Tabela 5. Massas e rendimento das amostras de abóbora após os cozimentos por imersão em água e no vapor.....	30
Tabela 6. Composição proximal das amostras de <i>C. moschata</i> cruas (g/100g).....	31
Tabela 7. Composição proximal das amostras de <i>C. moschata</i> cozidas por imersão (g/100g).....	32
Tabela 8. Composição proximal das amostras de <i>C. moschata</i> cozidas no vapor (g/100g).....	33
Tabela 9. Teor de carotenoides totais das amostras de <i>C. moschata</i> cruas e após os cozimentos por imersão em água e no vapor.....	35
Tabela 10. Teores de $\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ ) das amostras de <i>C. moschata</i> cruas, cozidas por imersão em água e no vapor.....	36
Tabela 11. Teores de <i>trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ ) das amostras de <i>C. moschata</i> cruas, cozidas por imersão e no vapor.....	40
Tabela 12. Teores de 9 e 13 <i>cis(Z)</i> - $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ ) da amostra 62(A) de <i>C. moschata</i> crua, cozida por imersão em água e no vapor.....	42
Tabela 13. Percentual de retenção real de carotenoides totais ( $\mu\text{g/g}$ ) das amostras de <i>C. moschata</i> , cozidas por imersão em água e no vapor.....	44
Tabela 14. Percentual de retenção real de $\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ ) das amostras 62(A) e 72(B) de <i>C. moschata</i> , cozidas por imersão em água e cozidas no vapor.....	45
Tabela 15. Percentual de retenção real de <i>trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ ) das amostras 62(A) e 72(B) de <i>C. moschata</i> , cozidas por imersão em água e cozidas no vapor.....	46

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Formação da vitamina A (Retinol) a partir do <i>trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno.....	17
Figura 2: Isômeros geométricos mais comuns do <i>trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno.....	18
Figura 3: Fotos da quarteirização das amostras de abóbora ceroula <i>C. moschata</i> segundo Rodriguez-Amaya, 2001.....	23
Figura 4: Cromatograma contendo o $\alpha$ e o $\beta$ -caroteno e os isômeros 9 e 13- <i>cis(Z)</i> - $\beta$ -caroteno presentes na amostra de abóbora ceroula 62(A) crua.....	38
Figura 5: Cromatograma contendo o $\alpha$ e o $\beta$ -caroteno e os isômeros 9 e 13- <i>cis(Z)</i> - $\beta$ -caroteno presentes na amostra de abóbora ceroula 72(B) crua.....	39
Figura 6: Cromatograma contendo o $\alpha$ e o $\beta$ -caroteno e os isômeros 9 e 13- <i>cis(Z)</i> - $\beta$ -caroteno presentes na amostra de abóbora ceroula 62(A) cozida por imersão em água.....	39
Figura 7: Cromatograma contendo o $\alpha$ e o $\beta$ -caroteno e os isômeros 9 e 13- <i>cis(Z)</i> - $\beta$ -caroteno presentes na amostra de abóbora ceroula 72(B) cozida por imersão em água.....	39
Figura 8: Cromatograma contendo o $\alpha$ e o $\beta$ -caroteno e os isômeros 9 e 13- <i>cis(Z)</i> - $\beta$ -caroteno presentes na amostra de abóbora ceroula 62(A) cozida no vapor.....	41
Figura 9: Cromatograma contendo o $\alpha$ e o $\beta$ -caroteno e os isômeros 9 e 13- <i>cis(Z)</i> - $\beta$ -caroteno presentes na amostra de abóbora ceroula 72(b) cozida no vapor.....	41

# SUMÁRIO

## LISTA DE TABELAS

## LISTA DE FIGURAS

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. Revisão bibliográfica.....	13
2.1. Influência do cozimento nos carotenoides provitamina A.....	20
3. OBJETIVOS.....	22
3.1. Geral.....	22
3.2. Específicos.....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1. Matéria-prima.....	22
4.2. Preparo das abóboras.....	24
4.2.1. Abóboras cruas.....	24
4.2.2. Abóboras cozidas por imersão em água.....	24
4.2.3. Abóboras cozidas no vapor.....	24
4.3. Determinação dos teores de carotenoides totais, $\alpha$ e <i>trans(e)</i> - $\beta$ -caroteno e isômeros <i>cis(z)</i> do $\beta$ -caroteno.....	24
4.3.1. Determinação dos carotenoides totais.....	24
4.3.2. Extração do padrão de $\alpha$ e de <i>trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno da cenoura ( <i>Daucus carota L.</i> ).....	25
4.3.3. Determinação do $\alpha$ e do <i>trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno e isômeros 9 e 13- <i>cis(Z)</i> do $\beta$ -caroteno na abóbora ( <i>C. moschata</i> ).....	27
4.4. Determinação do percentual da retenção real de $\alpha$ e <i>trans(e)</i> - $\beta$ -caroteno (%RR).....	28
4.5. Determinação composição proximal.....	29
4.6. Análise estatística.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1. Matéria-prima.....	29

5.2. Tempos de cozimento das amostras cozidas por imersão em água e no vapor.....	30
5.3. Rendimento, em massa, das amostras cozidas.....	30
5.4. Composição proximal das abóboras.....	31
5.5. Carotenoides totais, $\alpha$ e <i>trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno e isômeros <i>cis(Z)</i> do $\beta$ -caroteno.....	34
5.5.1. Carotenoides totais.....	34
5.5.2. Teores de $\alpha$ -caroteno e <i>trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno.....	36
5.5.3. <i>Trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno.....	39
5.5.4. Isômeros 9 e 13 <i>cis(Z)</i> - $\beta$ -caroteno.....	42
5.6. Percentual de retenção real de carotenoides totais, $\alpha$ e <i>trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno.....	43
5.6.1. Percentual de retenção real de carotenoides totais.....	43
5.6.2. Percentual de retenção real de $\alpha$ -caroteno nas amostras cozidas.....	44
5.6.3. Percentual de retenção real de <i>trans(E)</i> - $\beta$ -caroteno nas amostras cozidas.....	45
<b>6. CONCLUSÕES e CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>47</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>48</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A abóboreira é uma planta tropical e subtropical, sendo explorada desde a antiguidade pelos povos indígenas: Astecas, Maias e Incas. Pertence à Família Cucurbitaceae e ao gênero *Cucurbita*, sendo originária da região central do México, disseminando-se até a Colômbia e a Venezuela. Com o descobrimento da América, tornou-se cosmopolita sendo a espécie mais importante na América Tropical, devido a grande área de expansão e pela variedade de espécies (CASALI, SATURNINO, PEDROSA, 1982; FILGUEIRA, 2000).

A abóbora se destaca por sua riqueza em micronutrientes como a pró-vitamina A e minerais como o potássio, cálcio, ferro, zinco e fósforo. Sua produção elevada, associada ao seu baixo custo, viabiliza o beneficiamento e utilização desse fruto na entre safra.

O interesse por matérias primas de origem vegetal, que contenham carotenoides com atividade pró-vitamina A tem aumentado sensivelmente nos últimos anos, tendo em vista que estes micronutrientes podem suprir deficiências nutricionais das populações de países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (AMBRÓSIO, CAMPOS & FARO, 2006).

Campos *et al* (2003) em seu estudo sobre a quantidade de carotenoides em vegetais concluíram que 100 g de cenoura crua pode fornecer, em média, 627 µg RAE<sup>1</sup>, correspondendo a aproximadamente 70 % da recomendação diária de vitamina A para indivíduos adultos do sexo masculino entre 19 e 50 anos (900 µg RAE). Comparando-se este valor a produtos como o leite fortificado que, segundo o fabricante, possui 240 µg de RAE/100 g, seria necessário consumir 375 mL para atingir a recomendação de vitamina A. Considerando-se que o leite é uma fonte pouco acessível às camadas mais pobres da população pelo seu valor de mercado e pela deficiência de distribuição em regiões de difícil acesso de produtos industrializados, as fontes vegetais são a forma mais acessível de suprir as deficiências nutricionais destas populações.

No Brasil existe uma grande variabilidade de espécies de abóbora para cultivo e consumo e, entre elas, a *Cucurbita moschata* é abundante principalmente nos estados do Sergipe, Maranhão, Pernambuco e Bahia, porém todos os outros estados brasileiros a cultivam e a utilizam para consumo

---

<sup>1</sup> RAE (Equivalente de atividade de retinol). 1 RAE= µg retinol; 12µg β-caroteno, 24µg α-caroteno ou 24µg-criptoxantina. A RAE dietética para carotenoides provitamina A é duas vezes maior do que o equivalente de retinol (RE). Contudo, a RAE de vitamina A pré-formada é a mesma para RE.

humano. Sua polpa alaranjada pode conter teores promissores de carotenoides, principalmente, o  $\beta$ -caroteno, micronutriente essencial no metabolismo humano.

Tendo em vista a perspectiva de minimizar deficiências nutricionais, principalmente, de vitamina A em crianças e mulheres das populações carentes no Brasil, a Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, em parceria com outros centros de pesquisa da Embrapa e pesquisadores de universidades brasileiras e internacionais, iniciou, recentemente, trabalhos de melhoramento convencional utilizando como base espécies locais de abóbora creoula (selvagem).

Desta forma, uma alternativa para que essas populações possam ter alimentação adequada e disponível encontra-se na agricultura familiar, onde pequenos cultivos podem ser implantados em pequenas áreas e com baixo custo.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Mais de um bilhão de pessoas não consomem alimentos em quantidades suficientes para suprir suas necessidades diárias básicas de energia (FAO, 2003), o que corresponde a aproximadamente 20 % da população dos países em desenvolvimento.

Por outro lado, uma população estimada em três milhões de pessoas sofre os efeitos da deficiência de vitamina A, como a xeroftalmia, o que, a cada ano, corresponde a 500 milhões de pessoas ficam cegas devido a esta deficiência (FAO, 2003).

A deficiência deste micronutriente constitui um problema grave em mais de 60 países (WHO, 1995). Sua prevalência é particularmente alta em regiões como a Ásia, África e América Latina, ainda que os inquéritos nacionais sejam escassos.

O Brasil foi classificado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) como área de carência subclínica grave, tendo como principal população atingida àquelas do Norte e Nordeste. Verificando-se que existe uma subestimação do número de casos de carência subclínica de vitamina A, inclusive em países desenvolvidos, como os Estados Unidos, onde a ingestão inadequada de retinol e carotenoides provitamina A são o principal fator etiológico da deficiência.

No Brasil, as informações disponíveis não são suficientes para que possa diagnosticar a magnitude e a gravidade da hipovitaminose A em nível nacional, especialmente porque todos os estudos

se apoiam em amostras pequenas, e os inquéritos clínicos e bioquímicos são escassos. (SOUZA & BOAS, 2002).

Segundo Martins *et al* (2007) a deficiência de vitamina A, ainda hoje assume graves proporções no contexto de saúde pública em todo o mundo. A deficiência prolongada desta vitamina causa alterações no revestimento ocular, levando a um quadro de cegueira irreversível (xerofthalmia e ceratomalácia).

Estudos recentes reportam que a deficiência da vitamina A subclínica (quando estão ausentes os sinais de xerofthalmia) intensifica a gravidade de enfermidades como diarreia e outros processos infecciosos, podendo provocar quadros de imunodeficiência de origem exclusivamente nutricional (RAMALHO, PADILHA & SAUNDERS, 2008).

Estima-se que os carotenoides provenientes de vegetais contribuem aproximadamente com 68% da vitamina A da dieta em termos mundiais, e 82 % nos países desenvolvidos. Um benefício das substâncias pro vitamínicas, é que somente são convertidas em vitamina A quando o organismo necessita, evitando, portanto, seu acúmulo. Por outro lado, vários fatores influenciam sua absorção e utilização das provitaminas, como o tipo e a forma física dos carotenoides na dieta, a ingestão de gorduras, vitamina E, fibras bem como a existência de certas doenças e infecção por parasitas (SOUZA & BOAS, 2002).

A abóbora com sua cor amarelo-alaranjada é uma fonte de provitamina A ( $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno), podendo atender de 60 a 70 % das exigências desta vitamina quando servidas em duas refeições diárias, sem mencionar os conteúdos expressivos de luteína e zeaxantina com atividade antioxidante, especificamente, a capacidade de sequestrar o oxigênio singlete e interagir com os radicais livres (PALOZZA & KRINSKY, 1992). Adicionalmente, a abóbora por seu colorido e variedade de sabor, melhora as características sensoriais do cardápio, favorecendo a sua aceitação (ORNELLAS, 2001).

Bakó, Deli e Tóth, (2002) estudando os benefícios dos carotenoides à saúde afirmam que além de precursores da vitamina A, estes pigmentos apresentam outras funções fisiológicas, tais como prevenção de determinados tipos de câncer, ação inibidora nas mucosas contra úlceras gástricas, capacidade de prevenir a fotossensibilização em certas doenças de pele, aumento da resposta imunológica a determinados tipos de infecção e propriedades antienvhecimento.

A *Cucurbita moschata* Duch, é amplamente cultivada e consumida em vários países do mundo (JUNA *et al*, 2006). Algumas variedades como *C. moschata*, *C. maxima* e *C. pepo*, com coloração

variando do amarelo intenso ao alaranjado, têm revelado teores elevados de carotenoides, principalmente  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno (precursores da vitamina A) e a  $\beta$ -criptoxantina, a luteína e a zeaxantina com atividade antioxidante, porém não provitamínica (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA & AMAYA-FARFAN, 2008).

Outros carotenoides, como a  $\beta$ -criptoxantina, a fucoxantina, a crocetina, a capsantina e o fitoeno, têm sido pouco explorados, contudo, apontam para um potencial promissor, e merecem maiores investigações. Isso porque têm se tornado cada vez mais evidente que respostas de proteção não estão exclusivamente associadas a um único fator, mas à presença de múltiplos fatores, atuando de forma articulada e/ou sinérgica, o que reforça a importância da variedade na composição das refeições, e expõe as limitações de proposições que valorizam mais exclusiva e isoladamente um ou outro componente específico da alimentação (KOTSOPOULOS & NAROD, 2005).

A luteína, carotenoide di-hidroxiado pertencente à classe das xantofilas de coloração amarela, atua como antioxidante protegendo as células dos danos oxidativos e, conseqüentemente, reduz o risco de desenvolvimento de algumas doenças crônicas degenerativas uma vez que o stress oxidativo e a atuação dos radicais livres são os maiores fatores associados à iniciação e propagação do desenvolvimento destas doenças (STRINGHETA *et al.*, 2006).

A atividade antioxidante da luteína consiste na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidro peróxidos. Por exercer funções antioxidantes em fases lipídicas, bloqueia os radicais livres que danificam as membranas lipoprotéicas (EL-AGAMEY *et al.*, 2004).

A luteína e a zeaxantina constituem o pigmento de cor amarela da mácula da retina e são tidos como responsáveis pelo efeito protetor oftalmológico dos carotenoides, atuando tanto como antioxidantes quanto como filtros da luz azul de alta energia, prejudicial à mácula, reduzindo em 40% a incidência da luz danosa à retina (LANDRUM & BONE, 2001; DAGNELIE, ZORGE & MCDONALD, 2000). Foi demonstrado, inclusive, que altas concentrações de luteína e zeaxantina, medidas na região central da retina conferiam a seus portadores 82 % menos probabilidade de desenvolver a degeneração macular (BONE *et al.*, 2001).

Segundo Alves-Rodriguez e Shao, (2004) a quantidade insuficiente de luteína no organismo, tem sido associada ao maior risco de catarata. A extração de cataratas é uma das cirurgias mais frequentemente realizadas em idosos.

A capacidade de proteção dos carotenoides é atribuída à habilidade destes pigmentos de agirem como antioxidantes. Eles atuam na prevenção da peroxidação e são classificados em duas categorias: antioxidantes de quebra de cadeia, que interferem na etapa de propagação e os antioxidantes preventivos, que interferem na etapa de iniciação do processo (CARDOSO, 1997).

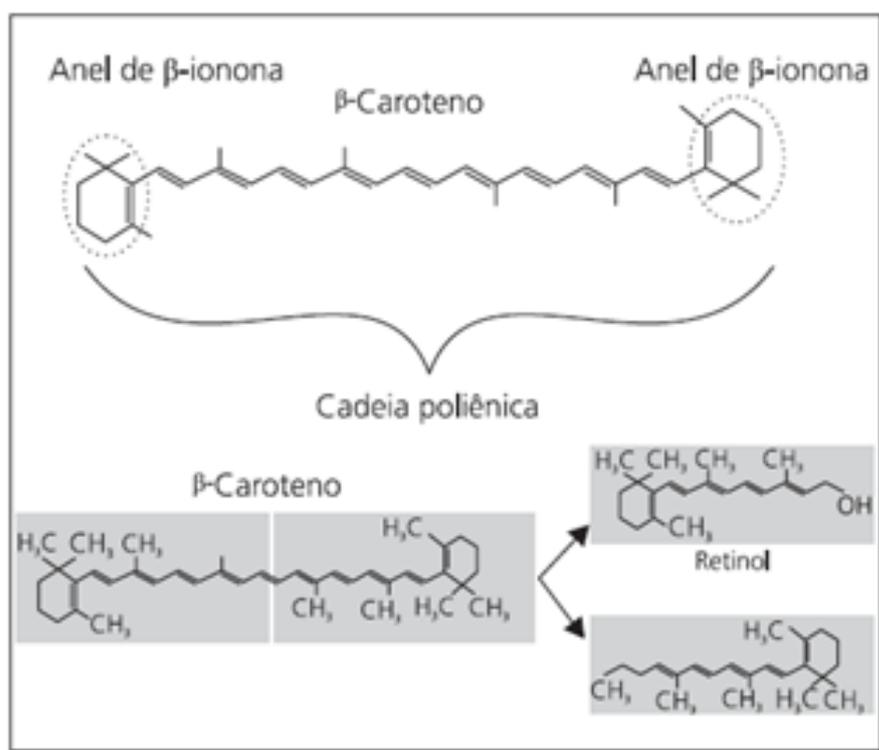
Em concentrações elevadas de O<sub>2</sub> verifica-se a redução da atividade antioxidante do β-caroteno, o que foi observado em estudos realizados em tecidos pulmonares uma vez que nos tecidos periféricos, a eficácia dos carotenoides pode ser maior devido ao fato de que a pressão de oxigênio é menor (CERQUEIRA, MEDEIROS & AUGUSTO, 2007).

Segundo Cardoso (1997), o β-caroteno exibe uma boa capacidade de captura de radicais livres a pressões normais de oxigênio, comumente encontrada na maior parte dos tecidos, sob condições fisiológicas. Cada molécula de β-caroteno pode reagir com certo número de moléculas formadoras de radicais livres, levando à formação de produtos estáveis por períodos longos, acima de uma hora, inclusive após exposição ao ar em condições *in vitro*.

Os processos de absorção e transporte dos carotenoides são similares aos que ocorrem com lipídios. Após sua ingestão são incorporados em micelas mistas constituídas de ácidos biliares, ácidos graxos livres, monoglicerídeos e fosfolipídios. A absorção ocorre sem clivagem e, nos carotenoides como o β-caroteno e a criptoxantina, que são parcialmente convertidos a retinal, a hidrólise acontece no interior da célula intestinal. Posteriormente, o retinal é convertido a retinol e transportado por meio dos vasos linfáticos ao fígado pelos quilomícrons, na forma de ésteres de retinol, sendo então armazenados no fígado, que armazena 90% da vitamina A do organismo (AMBRÓSIO, CAMPOS & FARO, 2006).

Entre os carotenoides, o β-caroteno exibe a maior atividade pró-vitáminica A que, em ensaios biológicos com ratos, atingiu 100 % (ZEMPLEI, BOWMAN & RUSSELL, 2001).

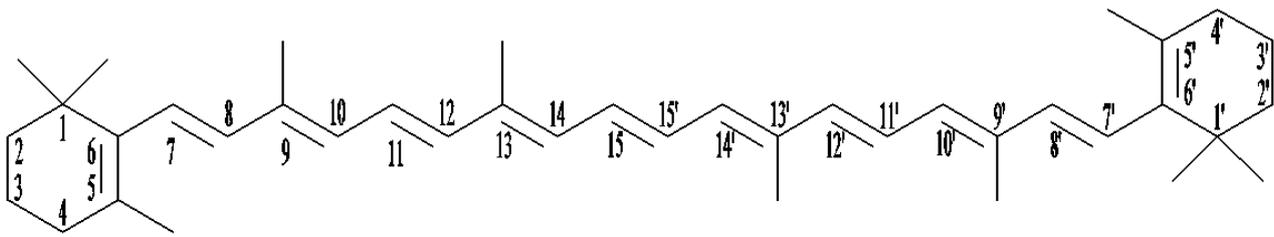
Os carotenoides com atividade de vitamina A, como o β-caroteno, são considerados pró-vitamínicos até que passem por clivagem enzimática oxidativa da ligação central C15 – C15' na mucosa intestinal, para liberação de duas moléculas ativas de retinol (Figura1) (AMBRÓSIO, CAMPOS & FARO, 2006).



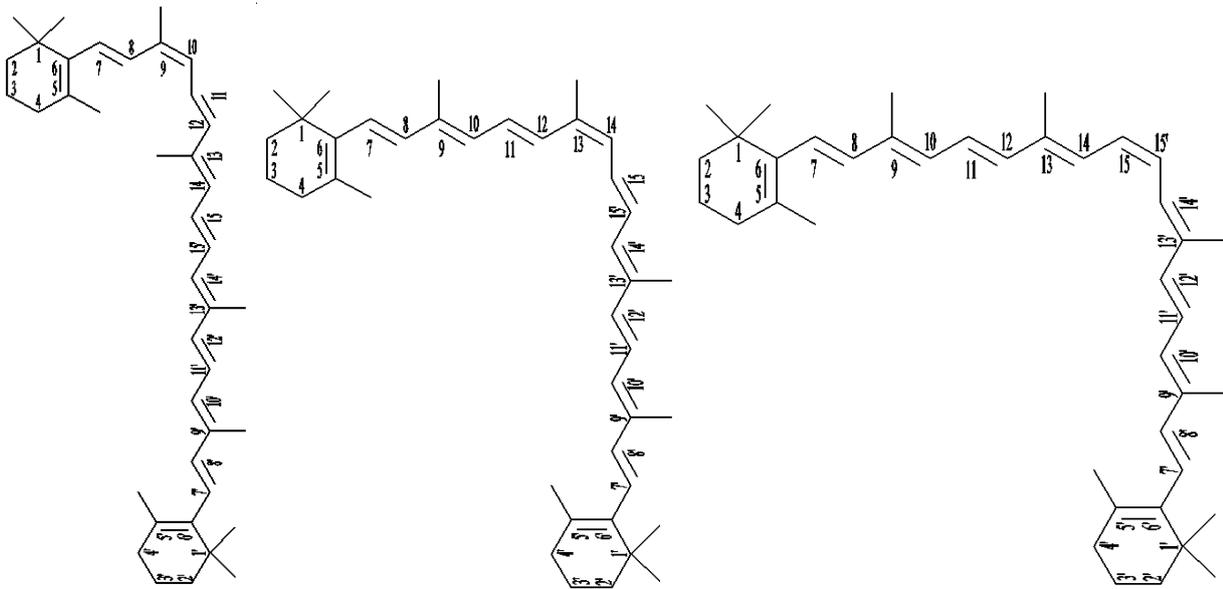
**Figura 1:** Formação da vitamina A (Retinol) a partir do *trans(E)*- $\beta$ -caroteno.  
 Fonte: AMBRÓSIO, CAMPOS & FARO, 2006.

Segundo Fennema, Damodaram e Parkin (2010), os retinoides e os carotenoides pró-vitâmicos A são compostos muito lipofílicos, em decorrência de suas estruturas apolares, se associando a componentes lipídicos, organelas específicas ou proteínas transportadoras nos alimentos e nas células nos organismos. Os isômeros *all-trans* apresentam grande atividade de vitamina A, sendo as formas de ocorrência natural predominante nos retinoides e nos carotenos nos alimentos. Sua conversão em isômero *cis(Z)*, que pode ocorrer durante o tratamento térmico, causa perda de atividade de vitamina A.

A transformação dos carotenoides *trans*, sua forma natural, para isômeros *cis(Z)* é um fenômeno cientificamente bem documentado. A transformação é promovida por ácidos, calor e luz. A liberação de ácidos orgânicos provocada pelo corte, fatiamento, ralagem ou trituração, pode ser suficiente para provocar a isomerização *trans-cis*, embora esta transformação ocorra em maior extensão durante o tratamento térmico. Os principais isômeros *cis* do  $\beta$ -caroteno podem ser observados na (Figura 2) (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA & AMAYA-FARFAN, 2008).



**Todo - *Trans* -  $\beta$ -caroteno**



**9-*cis*- $\beta$ -caroteno**

**13-*cis*- $\beta$ -caroteno**

**15-*cis*- $\beta$ -caroteno**

**Figura 2:** Isômeros geométricos mais comuns do *trans*(*E*)- $\beta$ -caroteno

Fonte: RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA & AMAYA-FARFAN, 2008; FENNEMA, DAMODARAM & PARKIN, 2010.

O  $\alpha$ -caroteno possui um anel  $\beta$ -ionona e outro  $\alpha$ -ionona. O  $\beta$ -caroteno possui dois anéis  $\beta$ -ionona (VILLELA, BACILA & TASTALDI, 1966). As estruturas  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno são ciclizadas nas duas extremidades da cadeia e diferem apenas na posição de uma dupla ligação de um anel (WEIL, 2000).

A atividade biológica da vitamina A depende da presença dos anéis  $\beta$ -ionona e da configuração isomérica. Alterando-se a estrutura do ciclo (desnaturação, saturação, transposição ou oxidação) ou da cadeia carbônica (configuração *cis*(*Z*) ou oxidação) ocorre redução da atividade biológica (VILLELA, BACILA & TASTALDI, 1966; RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

Os carotenoides são absorvidos com eficiência pelo organismo, exceto em condições em que há má absorção de gordura (FENNEMA, DAMODARAM & PARKIN, 2010). Outros fatores que influenciam absorção e a biodisponibilidade dos carotenoides são o estado nutricional do indivíduo, infecções e infestações parasitárias (VAN HET HOF *et al.*, 2000; YEUM & RUSSELL, 2002).

Como os carotenoides são hidrofóbicos, não são solúveis no ambiente aquoso do trato gastrointestinal. Precisam ser dissolvidos/transportados em lipídios e sistemas de lipídios com sais biliares para serem absorvidos na borda em escova do enterócito. Essa transferência de massa do alimento em massa aquosa para estruturas lipídicas é um processo complexo, o qual é dificultado pela presença da estrutura alimentar, como também depende da presença dos carotenoides nos cloroplastos como complexos lipoprotéicos, ou se é cristalino em cromoplastos, como no caso da cenoura e do tomate (VAN HET HOF *et al.*, 2000; PARKER, 1996).

As frutas apresentam carotenoides mais biodisponíveis que as verduras, e os legumes se mantêm intermediários (BOILEAU, MOORE & ERDMAN, 1999). Os ácidos graxos presentes nos óleos vegetais potencializam a biodisponibilidade dos carotenoides dos alimentos (YEUM & RUSSELL, 2002; VAN HET HOF *et al.*, 2000).

A absorção parece ser assistida pela presença de lipídios da dieta e enzimas digestivas, em particular, a presença de lipases. As lipases produzem ácidos graxos livres que são incorporados às micelas mistas (sais biliares, lecitina, acil gliceróis, ácidos graxos livres, e componentes lipofílicos menores). O processamento de alimentos contendo carotenoides na presença de gorduras melhora a disponibilidade dos carotenoides para a absorção, em parte porque os carotenoides têm assim a oportunidade de transferir-se para a fase lipídica antes da ingestão (PARKER, 1996; SIMPSON & CHICHERTER, 1981).

Os carotenoides são absorvidos passivamente no enterócito, da fase micelar da digestão. No entanto, não se sabe se todos os carotenoides presentes em uma micela mista são absorvidos, ou se algum (talvez seletivamente) é deixado para trás, em associação com sais biliares não absorvidos e colesterol, sendo então excretado. A concorrência entre os carotenoides para a absorção tem sido notada, como o  $\beta$ -caroteno suprimindo a absorção de luteína (PARKER, 1996).

Segundo Olson (1999) fatores que podem aumentar a espessura da camada de água não agitada na superfície do intestino, como por exemplo, as fibras alimentares solúveis, agem como uma barreira

para a absorção das gorduras da dieta e pode, portanto, também limitar a quantidade, ou reduzir a taxa de absorção de carotenoides.

Segundo Ross (2002), estados patológicos que comprometem a absorção de lipídios, como por exemplo, fibrose cística, doença celíaca, deficiência de vitamina A, também prejudicam a absorção de carotenoides e resultam na redução dos níveis plasmáticos.

### 2.1. Influência do cozimento nos carotenoides provitamina A

Na literatura encontram-se trabalhos científicos reportando perdas de carotenoides, quando alimentos são submetidos a diferentes métodos culinários de cocção (GRANADO, OLMEDILHA & ROJAS-HIDALGO, 1992). Sabe-se que o tempo e a temperatura de cocção podem causar degradação dos carotenoides (PINHEIRO *et al.*, 1998).

Alguns estudos reportam maior facilidade de extração dos carotenoides, após o processamento térmico, produzindo aumento na quantidade total de carotenoides pro vitamínicos A em relação aos vegetais frescos (KHACHIK *et al.*, 1992). Van Het Hof *et al.* (2000) relataram que esta melhor liberação dos carotenoides pode estar associada também à maior biodisponibilidade de carotenoides provenientes de matriz vegetal submetida a tratamento térmico.

Lucia *et al.* (2007) avaliaram o efeito do processamento térmico em alguns vegetais sobre a biodisponibilidade de carotenoides, concluindo que a aplicação de calor pode aumentá-la, sendo possível que, mesmo havendo perdas significativas após o processamento, os carotenoides remanescentes sejam melhor absorvidos.

Sultana, Anwar e Iqbal (2008) relataram que o cozimento em calor úmido (água em ebulição) e em calor seco (fritura), salvo poucas exceções, aumentou a ação antioxidante de hortaliças quando comparada àquelas submetidas ao cozimento em forno de micro-ondas. Ressaltaram, ainda, que o método de cozimento empregado, além de propiciar a formação de novos compostos com ação antioxidante, pode também favorecer a extração ou destruição de compostos bioativos.

Campos *et al.* (2003) após avaliarem preparações de vegetais cozidos concluíram que, de uma forma geral, o cozimento em água melhor preservou o  $\beta$ -caroteno em vegetais folhosos, ainda que tenham sido observadas perdas próximas a 30 %.

As duplas ligações podem ocorrer na forma *cis(Z)* ou *trans(E)*, sendo a forma *trans(E)* mais frequentemente encontrada na natureza. O processamento e a estocagem de alimentos podem provocar isomerização das moléculas de carotenoides e alterar sua cor. Os compostos com todas as ligações na forma *trans (E)* apresentam, geralmente, cor mais escura, conseqüentemente, o aumento de ligações *cis(Z)* resulta em um esmorecimento gradual da cor (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

Quanto aos tipos de carotenoides, sabe-se que a configuração natural dos carotenoides nas plantas é o *trans* isômero. Como são compostos altamente insaturados, são susceptíveis a isomerização e oxidação durante o processamento e armazenamento dos alimentos. A isomerização dos *trans*-carotenoides a *cis*-carotenoides, promovida pela acidez do meio, aquecimento e exposição à luz, diminui tanto sua coloração como sua atividade de vitamina A (AMBRÓSIO, CAMPOS & FARO, 2006).

Na comparação da atividade antioxidante entre hortaliças cruas e cozidas deve-se levar em consideração que o teor de compostos bioativos em vegetais, varia em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de maturação) e extrínsecos (condições edafoclimáticas). Sendo assim, a retenção destes constituintes, em hortaliças cozidas, pode estar relacionada com o conteúdo presente no vegetal in natura (BRAVO, 1998).

Melo *et al.* (2009) concluíram que hortaliças submetidas ao cozimento no vapor exibiram propriedades antioxidantes diferenciadas tendo o brócolis e o jerimum (abóbora) exibido ação antioxidante superior a 70 %, enquanto que a capacidade de sequestro do radical DPPH mais elevada foi verificada na couve-flor, cenoura e espinafre, não diferindo da ação do antioxidante sintético BHT. Portanto, o calor aplicado não afetou de forma drástica a propriedade antioxidante das hortaliças nestes sistemas e modelos.

No entanto, deve-se ressaltar que o processamento térmico promove a isomerização dos carotenoides nos alimentos, da forma isomérica *trans(E)* para *cis(Z)*, e o grau de isomerização está diretamente relacionado com a intensidade e a duração do tratamento térmico (ROCK *et al.*, 1998). Rodriguez-Amaya (1989) concluíram que, nutricionalmente, a diferenciação entre os isômeros *cis* e *trans* das provitaminas é importante, porque a forma *cis(Z)* exibe menor atividade.

Tendo em vista a necessidade de que as populações brasileiras de baixa renda, principalmente aquelas do Norte e Nordeste, tenham acesso a alimentos com elevado teor de micronutrientes, necessários a uma boa saúde, sem modificar seus hábitos alimentares e que, além disso, possuam baixo custo. A avaliação do conteúdo de carotenoides totais, do  $\alpha$  e do  $\beta$ -caroteno e seus isômeros *cis(Z)* após

o cozimento em espécies de abóbora selvagem, permitirá ampliar o conhecimento de seu valor nutricional para que possam ser introduzidos na dieta destas populações.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Geral

O objetivo da presente dissertação foi determinar os teores de carotenoides totais,  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno e seus isômeros *trans*(*E*) e *cis*(*Z*), em espécies creoulas de abóbora de polpa amarela (*C. moschata*), antes e após o cozimento, adequadas aos hábitos alimentares do público alvo do projeto (populações do Norte e Nordeste brasileiro).

#### 3.2. Específicos

- Determinar os teores de carotenoides totais,  $\alpha$  e *trans*(*E*)- $\beta$ -caroteno e isômeros e *cis*(*Z*) nas abóboras cruas;
- Elaborar as seguintes preparações: a) - abóbora cozida em água e, b) - abóbora cozida no vapor.
- Determinar os teores de carotenoides totais,  $\beta$ -caroteno e seus isômeros *cis* (*Z*) após a elaboração das preparações culinárias por análises por espectrofotometria UV/visível e por Cromatografia de Alta Eficiência (CLAE), respectivamente e avaliar a retenção destes micronutrientes após os métodos de cozimento utilizados.

### 4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1. Matéria-prima

As amostras de abóbora creoula, foram cultivadas na Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE sendo, a seguir enviadas, por via aérea, ao Laboratório de Tecnologia e Análise Instrumental de Alimentos da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro e à Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, para os experimentos e análises.

Foram recebidas duas amostras de *C. moschata* (espécie mais comum na região do Norte e nordeste brasileiro), identificadas pelos números 62 (A) e 72 (B), respectivamente (Tabela 1). Ambas foram pesadas inteiras e lavadas em água clorada para limpeza superficial, rinsadas, ao final, com água filtrada e água destilada e secas com papel toalha.

As amostras foram subdivididas em quatro partes (quarterização segundo Rodriguez-Amaya, 2001), (Figura 3) que se caracteriza pela divisão em quatro partes através de dois cortes longitudinais, de uma extremidade a oposta, gerando estes quatro secções. Destas quatro secções duas opostas entre si, foram descartadas e aquelas duas remanescentes foram utilizadas para análises. As partes que não foram descartadas foram identificadas. Todos os experimentos realizados em triplicata.



**Figura 3.** Fotos da quarterização das amostras de abóbora *C. moschata* creoula segundo RODRIGUEZ-AMAYA, 2001.

**Tabela 1.** Codificação das amostras de abóbora, segundo o método de quarterização empregado para amostragem e o método de cozimento.

Abóbora 62 (A)	Abóbora 72 (B)
A1	B1
A2	B2
A3	B3
A4	B4

As partes identificadas como A1 e B1 foram armazenadas sob congelamento como controle. As partes A2;B2, A3;B3 e A4;B4 foram utilizadas nos experimentos, recebendo os subcódigos c (cruas), a (cozidas em imersão) e b (cozidas no vapor) segundo especificado na tabela 2.

Na Tabela 2, encontram-se os códigos das amostras quarterizadas de acordo o método de cozimento: por imersão em água e no vapor.

**Tabela 2.** Codificação das amostras 62 (A) e 72 (B), segundo o método de cozimento empregado.

Amostras	Controle	Tipo de cozimento		
		Crua		
		Imersão	Vapor	
62 (A)	A1	A2c	A2a	A2b

		A3c	A3a	A3b
		A4c	A4a	A4b
		<b>Crua</b>	<b>Imersão</b>	<b>Vapor</b>
<b>72 (B)</b>	<b>B1</b>	B2c	B2a	B2b
		B3c	B3a	B3b
		B4c	B4a	B4b

## 4.2. Preparo das abóboras

### 4.2.1. Abóboras cruas

As abóboras cruas foram lavadas com solução de hipoclorito a 200 ppm, descascadas, cortadas e congeladas até o momento da execução dos experimentos e análises.

### 4.2.2. Abóboras cozidas por imersão em água

Cerca de 200 g de cada amostra descascada foram cozidos (até apresentar consistência macia) em panela com revestimento de teflon, (marca Tramontina, linha Solar), contendo 250 mL de água filtrada em ebulição. Após o cozimento, a água utilizada foi escoada com o uso de uma peneira por, aproximadamente, 5 minutos e a amostra resfriada pesada e congelada até o momento da execução das análises.

### 4.2.3. Abóboras cozidas no vapor

Cerca de 200 g de cada amostra descascada foram cozidos (até apresentar consistência macia) em panela de aço inox com revestimento de teflon da marca Tramontina, linha Solar, contendo 250 mL de água, provida de peneira para colocação das amostras em contato com o vapor. Após o cozimento, a amostra foi resfriada, pesada e congelada até o momento da execução das análises.

## 4.3. Determinação dos teores de carotenoides totais, $\alpha$ e $\beta$ -caroteno e isômeros *cis(z)* do $\beta$ -caroteno

### 4.3.1. Determinação dos carotenoides totais

As amostras cruas foram retiradas do acondicionamento sob congelamento, colocadas por aproximadamente 16 horas sob refrigeração para descongelamento e trituradas.

Para a determinação dos carotenoides totais, do  $\alpha$  e do *trans(E)*- $\beta$ -caroteno e seus isômeros *cis(Z)* foram pesadas massas que variaram de 0,2 a 1,2 g, em balança digital analítica (marca Kern, modelo ALS). As amostras de abóbora triturada foram pesadas em bécher de 50 mL, e transferidas para graal contendo 3 g de celite (454 - Tedia).

Para a extração dos carotenoides foram adicionados a cada amostra 25 mL de acetona (grau HPLC – Tedia). O material foi macerado com o solvente até a formação de uma pasta homogênea que foi transferida para funil com placa sinterizada (5  $\mu$ m) acoplado a um kitasato de 250 mL e filtrada à vácuo. Este procedimento foi repetido por 3 vezes até total esgotamento da amostra ou até que se tornasse incolor. O extrato obtido foi transferido para funil de separação de 500 mL, contendo 40 mL de éter de petróleo.

A remoção da acetona do extrato foi realizada com água-ultrapura (Milli-Q) adicionada, lentamente, para evitar a formação de emulsão. A fase inferior (aquosa) foi descartada, sendo este procedimento repetido quatro vezes, isto é, até que não mais houvesse resíduo de acetona na fase aquosa.

O extrato etéreo foi transferido para balão volumétrico de 50 mL, utilizando-se funil contendo lã de vidro e 15 gramas de sulfato de sódio anidro e o volume completado com éter de petróleo. Em seguida, foi realizada a leitura da absorvância da amostra em espectrofotômetro (UV-1800 spectrophotometer Shimadzu), no comprimento de onda de 450nm. O valor absorvância foi aplicado à fórmula abaixo para determinação do teor de carotenoides.

$$\text{Teor de carotenoides totais: } \frac{A \times V \times 10^4}{A_{1\text{cm}}^{\%} \times P}$$

Onde,

A= Absorvância;

V= Volume total do extrato presente no balão volumétrico utilizado em mL;

P= Peso da amostra em gramas(g);

$A_{1\text{cm}}^{\%}=2592$  (coeficiente de absorção do  $\beta$ -caroteno em éter de petróleo (%)).

4.3.2. Extração do padrão de  $\alpha$  e do *trans(E)*- $\beta$ -carotenoda cenoura (*Daucus carota L.*)

Foram utilizados como padrões, o  $\alpha$  e o  $\beta$ -caroteno extraídos da cenoura *Daucus carota L.* para a construção da curva padrão (quantificação).

A cenoura foi descascada e fatiada com faca de aço inox, visando facilitar a homogeneização em triturador *mixer* (marca Black & Decker, mod. Kmvsb40t), tipo vertical.

Foram pesados, em becker de 250 mL, 50 g da massa homogeneizada de cenoura, sendo a ela adicionados 15 g de celite 454 (Tedia).

A extração dos carotenoides foi realizada em graal com a adição 25 mL de acetona (grau HPLC – Tedia), macerando-a até que uma pasta homogênea fosse formada. A seguir, esta pasta foi transferida para funil de placa sinterizada acoplado a um kitassato de 250 mL e filtrada sob vácuo. O procedimento desde a adição de acetona até a filtração foi repetido três vezes.

Todo o extrato obtido foi transferido para funil de separação de 500 mL, contendo 40 mL de éter de petróleo (grau HPLC – Tedia) sendo adicionado e deixando escorrer lentamente pela parede do balão de separação água ultra-pura (Milli-Q) para evitar a formação de emulsão. O procedimento foi repetido quatro vezes até que não mais houvesse resíduo de acetona.

O extrato foi, então, transferido para o balão de fundo redondo de 250 mL com auxílio de funil contendo 15 g de sulfato de sódio anidro. A solução foi evaporada, em evaporador rotatório acoplado a banho-maria, a temperatura de 36°C, até volume final de 3 mL.

Para a separação dos carotenoides contidos no extrato, foi utilizada uma coluna aberta para cromatografia (CCA) (25mmx300mm) foi preparada misturando-se partes iguais (1:1) de óxido de magnésio (Across Organics) e celite 454 (Tedia), sendo esta mistura previamente colocada por quatro horas em estufa a 110°C para promover sua ativação. Em seguida, foi realizado o empacotamento da coluna com a colocação da lã de vidro antes da adição da mistura. Neste processo transferiu-se a mistura para a coluna, com auxílio do funil para sólidos, até que se completasse 2/3 de sua altura. Em seguida, foi adaptado um kitassato sob vácuo por uma hora. Ao final do empacotamento foi adicionado sulfato de sódio anidro até completar 1 cm de altura.

O extrato concentrado de carotenoides, contido no balão de fundo redondo, foi transferido quantitativamente à coluna e, a seguir, éter de petróleo foi adicionado lentamente sob vácuo até que o  $\beta$ -caroteno (laranja) fosse separado do  $\alpha$ -caroteno (amarelo alaranjado).

Após a retirada da fração inicial (cabeça) e final (cauda) da coluna, as frações do  $\alpha$  e do  $\beta$ -caroteno foram retiradas da coluna, recolhidas em funil com placa sinterizada de 5  $\mu\text{m}$  acoplado ao kitasato, sob vácuo, para separação da celite/óxido de magnésio e o  $\alpha$  e o  $\beta$ -caroteno, sendo extraídos com acetona, até que não apresentassem coloração.

As frações de  $\alpha$  e de  $\beta$ -caroteno foram transferidas de cada kitasato para funil de separação contendo 40 mL de éter de petróleo, procedendo três lavagens com água.

O extrato etéreo foi transferido para balão volumétrico âmbar de 50 mL, com funil contendo 15 g de sulfato de sódio anidro.

Adicionou-se 0,5 g de BHT (0,1%) para evitar a oxidação do extrato de  $\beta$ -caroteno.

A leitura da absorvância, em espectrofotômetro, foi realizada a 450 nm e calculou-se a concentração conforme fórmula abaixo:

$$C(\mu\text{g/g}) = \frac{A \times 10^4}{A_{1\text{cm}}^{\%}}$$

Onde,

A= Absorvância;

$A_{1\text{cm}}^{\%} = 2592$  (coeficiente de absorção do  $\beta$ -caroteno em éter de petróleo).

Para a identificação e quantificação do  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno e os isômeros *cis*(Z) do  $\beta$ -caroteno, retirou-se uma alíquota de 2 mL do extrato etéreo, esta alíquota foi transferida para um frasco âmbar de 2 mL que foi seca sob fluxo de nitrogênio. E após este procedimento ressuspendida para 100 $\mu\text{L}$  com acetona, sob agitação, para as análises por CLAE.

#### 4.3.3. Determinação do $\alpha$ e do *trans*(E)- $\beta$ -caroteno e isômeros 9 e 13-*cis*(Z) do $\beta$ -caroteno (*C. moschata*)

As análises para a determinação do  $\alpha$  e do *trans*(E)- $\beta$ -caroteno e seus isômeros *cis*(Z), nas amostras de abóbora, foram realizadas por CLAE, em cromatógrafo Waters 2695 - Modelo Alliance (Waters 996 Fluorescence), rede de Diodo UV/Vísivel de 350 nm a 600 nm operado pelo software Empower. A coluna utilizada para as análises foi a C30 YCM Carotenoid S-3 (4,6 mm x 250 mm) fase reversa da Waters. A fase móvel foi composta de 80% metanol (Tedia, grau CLAE) e 20% de éter metil

tercbutílico (Tedia, grau CLAE). As condições de análise dos carotenoides das abóboras foram: fluxo 0,8 mL/min; injeção automática de 25 µL do extrato obtido da amostra; temperatura 30°C e tempo total de análise de 60 minutos.

De acordo com os resultados obtidos, os teores dos carotenoides foram calculados utilizando-se a fórmula abaixo:

$$C \text{ (g/g)}: \frac{A_x \times C_s \text{ (g/mL)} \times V \text{ (mL)}}{A_s \times P \text{ (g)}}$$

$A_x$  = Área do pico do carotenóide

$C_s$  = Concentração do padrão

$A_s$  = Área do pico de padrão

$V$  = Volume total de extrato

$P$  = Peso da amostra

#### 4.4. Determinação de percentual de retenção real de carotenoides totais, $\alpha$ e *trans(E)*- $\beta$ -caroteno (%RR)

Os percentuais de retenção real (%RR) foram calculados segundo Murphy, Criner, Gray, (1975), conforme fórmula, a seguir:

$$\%RR = \frac{\text{Teor de carotenoides por grama de matéria-prima cozida} \times \text{peso (g) da matéria-prima cozida} \times 100}{\text{Teor de carotenoides por grama de matéria-prima crua} \times \text{peso (g) da matéria-prima crua}}$$

#### 4.5. Determinação composição proximal

A determinação da composição proximal das amostras de abóbora cruas e cozidas foi realizada segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005).

#### 4.6. Análise estatística

Cada uma das amostras das duas abóboras creoulas foram extraídas em triplicata. Todos os dados foram reportados, em média e desvio padrão, das determinações, em triplicata, analisadas utilizando-se a análise de variância ANOVA com diferença significativa entre as médias de  $P < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Matéria-prima

Após a quarteirização das amostras das abóboras 62 (A) e 72 (B) obteve-se as massas apresentadas na Tabela 3, para utilização nos experimentos.

**Tabela 3. Massa das duas amostras de abóbora após a quarteirização**

<b>Abóbora 62 (A)</b>							
Massa total: 6,720kg							
<b>Codificação</b>	<b>Massas da quarteirização</b>	<b>Cozida por imersão</b>		<b>Cozida no vapor</b>		<b>Cruas</b>	
		<b>Código</b>	<b>Massa</b>	<b>Código</b>	<b>Massa</b>	<b>Código</b>	<b>Massa</b>
A1	1,620 g	A2a	199,4 g	A2b	199,4 g	A2c	200,0 g
A2	1,820 g	A3a	199,0 g	A3b	195,2 g	A3c	200,2 g
A3	1,730 g	A4a	197,7 g	A4b	197,4 g	A4c	200,0 g
A4	1,530 g						

<b>Abóbora 72 (B)</b>							
Massa Total: 6,870kg							
<b>Codificação</b>	<b>Massas da quarteirização</b>	<b>Cozida por imersão</b>		<b>Cozida no vapor</b>		<b>Cruas</b>	
		<b>Código</b>	<b>Massa</b>	<b>Código</b>	<b>Massa</b>	<b>Código</b>	<b>Massa</b>
B1	1,720 g	B2a	195,7 g	B2b	189,7 g	B2c	197,7 g
B2	1,670 g	B3a	194,5 g	B3b	197,6 g	B3c	199,6 g
B3	1,820 g	B4a	194,6 g	B4b	199,5 g	B4c	198,9 g
B4	1,640 g						

### 5.2. Tempos de cozimento das amostras cozidas por imersão em água e no vapor

Os tempos médios de cozimento, com respectivos desvios-padrão das amostras de *C. moschata* cozidas por imersão em água e, no vapor encontram-se na Tabela 4.

Os tempos de cozimento por imersão em água variaram de 5 a 12 minutos enquanto que nas amostras cozidas no vapor variaram de 14 a 15 minutos.

O tempo de cocção varia de acordo com método empregado e a consistência do alimento usado. Daí a necessidade de se observar e controlar a cocção de cada vegetal a fim de que não ultrapasse o ponto desejado (ORNELLAS, 2001).

Observou-se tempos de cozimento diferentes entre as duas amostras de abóbora, possivelmente devido sua estrutura diversa, sendo a amostra 72 (B) mais fibrosa.

**Tabela 4. Tempos do cozimento das amostras de abóbora cozidas por imersão em água e no vapor.**

<b>Amostra 62 (A)</b>			
<b>Cozimento por imersão em</b>	<b>Tempo</b>	<b>Cozimento no vapor</b>	<b>Tempo</b>
<b>água (Aa)</b>	5,00 min ± 0,00	<b>(Ab)</b>	14,67 min ± 2,08
<b>Amostra 72 (B)</b>			
<b>Cozimento por imersão em</b>	<b>Tempo</b>	<b>Cozimento no vapor</b>	<b>Tempo</b>
<b>água (Ba)</b>	12 min ± 1,00	<b>(Bb)</b>	15,67 min ± 1,15

### 5.3. Rendimento, em massa, das amostras cozidas

As massas das abóboras e respectivos rendimentos, após o cozimento por imersão em água e no vapor, podem ser observados na Tabela 5.

**Tabela 5. Massas e rendimento das amostras de abóbora após os cozimentos por imersão em água e no vapor**

<b>Cozidas por imersão em água (massa final)</b>				<b>Cozidas no vapor (massa final)</b>			
<b>Amostra 62 (A)</b>		<b>Amostra 72 (B)</b>		<b>Amostra 62 (A)</b>		<b>Amostra 72 (B)</b>	
A2a	276,8 g	B2a	268,1 g	A2b	251,1 g	B2b	268,3 g
A3a	279,3 g	B3a	265,4 g	A3b	236,9 g	B3b	252,4 g
A4a	284,1 g	B4a	263,9 g	A4b	256,3 g	B4b	260,0 g

Percentual de rendimento após o cozimento por imersão em água e no vapor			
Cozida por imersão em água Aa	Cozida por imersão em água Ba	Cozida no vapor Ab	Cozida no vapor Bb
139,55 % ± 1,06	136,30 % ± 0,66	127,85 % ± 2,76	129,00 % ± 1,84

O rendimento foi elevado, como esperado, devido à absorção de água pelas amostras resultando em massa final maior que a inicial.

Observou-se na água de cozimento por imersão da amostra 62 (A), coloração amarela, o que não foi verificado na água proveniente da amostra 72 (B), cozida por imersão em água, embora bastante tênue. Isto ocorreu provavelmente devido a diferenças entre as matrizes de cada amostra de abóbora. Segundo Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan (2008) independentemente do método de processamento, a retenção dos carotenoides diminui, em função do tempo e da temperatura de processamento/cozimento, assim como a desintegração dos tecidos. Um processo rápido a temperaturas elevadas, como um cozimento com a chama alta, seria uma boa alternativa para minimizar estas perdas.

#### 5.4. Composição proximal das abóboras

Na Tabela 6 encontram-se os resultados da composição proximal das amostras de *C. moschata* 62(A) e 72(B) cruas, não tendo sido encontrada diferença significativa entre as amostras ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 6: Composição proximal das amostras de *C. moschata* cruas (g/100g)**

Amostras	Abóbora 62 (A) g/100g	Abóbora 72 (B) g/100g	TACO, 2006 g/100g	USDA, 2010 g/100g
Umidade	84,60 ± 0,32 <sup>a</sup>	85,84 ± 0,32 <sup>a</sup>	95,90	91,60
Lipídios	0,20 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,10	0,10
Proteínas	1,47 ± 0,05 <sup>c</sup>	1,10 ± 0,05 <sup>c</sup>	1,00	1,00
Cinzas	0,87 ± 0,105 <sup>d</sup>	0,65 ± 0,105 <sup>d</sup>	0,40	0,80
Carboidratos por diferença	13,84	12,10	2,70	6,50

Letras diferentes em uma mesma linha diferem significativamente ( $P < 0,05$ )  
± média e desvio – padrão das análises realizadas em triplicata

Comparando-se os valores encontrados nas análises da composição proximal das abóboras

(Tabela 6) com aqueles na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2006) e na *National Nutrient Database for Standard Reference* (USDA, 2010) para a abóbora moranga (*C. moschata*) crua, verifica-se que os teores de umidade das duas amostras 62(A) e 72(B) encontram-se abaixo dos valores reportados nas Tabelas citadas, que são de 95,90g/100g e de 91,60g/100g, respectivamente.

O conteúdo proteico das amostras analisadas 62(A) e 72(B) (Tabela 6) foi mais elevado que o reportado nas tabelas TACO (2006) e USDA (2010) que é de 1,00g/100g para ambas as tabelas. Similarmente, os teores de lipídios e carboidratos expressos na Tabela 6 foram maiores àqueles das tabelas TACO (2006) e USDA (2010) que são respectivamente 0,1g/100g; 0,10g/100g, 2,7g/100g; 6,50g/100g. O conteúdo de cinzas foi superior ao se comparar a tabela TACO (2006) (0,4g/100g) e, inferior quando comparado com a tabela USDA (2010) (0,80g/100g).

Na Tabela 7 encontram-se os resultados da composição proximal das amostras de *C. moschata* 62(A) e 72(B) cozidas por imersão, não tendo sido encontrada diferença significativa entre as amostras ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 7: Composição proximal das amostras de *C. moschata* cozidas por imersão (g/100g)**

<b>Amostras</b>	<b>Abóbora 62 (A) g /100g</b>	<b>Abóbora 72 (B) g/100g</b>	<b>TACO, 2006 g/100g</b>	<b>USDA, 2010 g/100g</b>
Umidade	88,26 ± 0,74 <sup>a</sup>	88,04 ± 0,74 <sup>a</sup>	86,00	89,57
Lipídeos	0,27 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,25 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,10	0,28
Proteínas	1,61 ± 0,06 <sup>c</sup>	1,63 ± 0,06 <sup>c</sup>	1,00	0,70
Cinzas	0,76 ± 0,02 <sup>d</sup>	0,77 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,10	0,56
Carboidratos por diferença	9,30	9,35	11,00	8,09

Letras diferentes em uma mesma linha diferem significativamente ( $P < 0,05$ )  
± média e desvio – padrão das análises realizadas em triplicata

Foram obtidos intervalos de confiança de 95% baseando-se na hipótese de normalidade das observações e, supondo variâncias iguais para as medições feitas nas duas amostras de abóbora creoula. Por esses intervalos, não existe evidência de que os valores encontrados sejam diferentes.

Na Tabela 8 encontram-se os resultados da composição proximal das amostras de *C. moschata* 62 (A) e 72 (B) cozidas no vapor, não tendo sido encontrada diferença significativa entre as amostras ( $P$

< 0,05).

**Tabela 8: Composição proximal das amostras cozidas no vapor em g/100g**

Amostras	Abóbora 62 (A)	Abóbora 72 (B)	TACO, 2006	USDA, 2010
	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g
Umidade	84,84 ± 0,34 <sup>a</sup>	85,16 ± 0,34 <sup>a</sup>	86,00	89,57
Lipídeos	0,24 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,25 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,10	0,28
Proteínas	1,71 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,69 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,00	0,70
Cinzas	0,76 ± 0,06 <sup>d</sup>	0,62 ± 0,06 <sup>d</sup>	1,10	0,56
Carboidratos por diferença	12,43	12,36	11,00	8,09

Letras diferentes em uma mesma linha diferem significativamente ( $P < 0,05$ )  
± média e desvio – padrão das análises realizadas em triplicata

Comparando-se os valores com os encontrados nas amostras das abóboras cozidas por imersão e no vapor (*C. moschata*) expresso nas Tabelas 7 e 8, verifica-se que os teores de umidade encontram-se abaixo das tabelas TACO (2006) e USDA (2010) que é de 89,57g/100g.

O conteúdo proteico e de cinzas das amostras cozidas por imersão e no vapor, se encontram acima dos valores encontrados na tabela TACO (2006) (1,0g/100g); (0,70g/100g) e na tabela USDA (2010) (1,10g/100g); (0,56g/100g).

Os teores de lipídios foram superiores quando comparados aos valores expressos na tabela TACO (2006) (0,10g/100g) nas amostras cozidas por imersão e no vapor (Tabela 7 e 8) e inferiores quando comparado ao valor expresso na tabela USDA (2010) (0,28g/100g). Os carboidratos calculados por diferença apresentaram-se superiores para ambos os cozimentos, por imersão e no vapor (Tabelas 7 e 8), na comparação com a tabela do USDA (2010) que é de 8,09g/100g. Entretanto, o mesmo não foi observado quando comparado com o expresso na tabela TACO (2006) que é de 11,0g/100g, cujos valores obtidos são menores no cozimento por imersão e maiores no cozimento a vapor.

Comparando-se o valor com os encontrado na amostra da abóbora cozida no vapor (*C. moschata*) expresso na Tabela 8 verifica-se que o teor de umidade encontra-se abaixo das tabelas (86g/100g) TACO (2006) e USDA (2010) que é de 89,57g/100g.

O conteúdo proteico e de cinzas das amostras cozidas por imersão e no vapor se encontram

acima dos valores encontrados na tabela TACO (2006) (1,0g/100g); (0,70g/100g) e USDA (2010) (1,10g/100g); (0,56g/100g).

Os teores de lipídios foram superiores nas amostras cozida por imersão e no vapor (Tabela 7 e 8) quando comparados aos valores expressos na tabela TACO (2006) (0,1g/100g) e inferiores quando comparados aos valores encontrados na tabela USDA (2010) (0,28g/100g).

Os carboidratos por diferença apresentam-se superiores para ambos os cozimentos, por imersão e no vapor, (Tabelas 7 e 8) na comparação com a tabela USDA (2010) que é de 8,09g/100g. Entretanto, o mesmo não foi observado quando comparado com o expresso na tabela TACO (2006) que é de 11,0g/100g, cujos valores obtidos são menores no cozimento por imersão e maiores no cozimento a vapor.

Os maiores valores encontrados para umidade, proteínas e carboidratos nas amostras cozidas no vapor se justificam devido ao não contato direto com a água e, como consequência, a concentração de nutrientes. De forma geral, hortaliças quando submetidas ao calor poderão sofrer perdas de água e amido o que conduzirá à alteração no seu rendimento (SOUZA, 1991). Sendo assim, a retenção de nutrientes é fator importante para a indicação de um método de cocção.

#### 5.5. Carotenoides totais, *α* e *trans(E)*-β-caroteno e isômeros *cis(Z)* do β-caroteno:

##### 5.5.1. Carotenoides totais

Na Tabela 9 encontram-se os teores médios (μg/g) e respectivos desvios-padrão (DP) dos carotenoides totais nas amostras de abóbora (*C. moschata*) 62 (A) e 72 (B) cruas, cozidas por imersão em água e no vapor e, nas Figuras 4 e 5, podem ser observados os cromatogramas das amostras de *C. moschata* 62 (A) e 72 (B) cruas.

Os teores de carotenoides totais variaram de 234,21 μg a 344,70 μg/g, revelando 67,95 % de variação entre as amostra de abóbora cruas 62 (A) e 72 (B); de 205,73 μg a 358,47 μg/g, 57,39 % de variação entre as amostras 62 (A) e 72 (B) submetidas a cozimento por imersão em água e de 227,06 μg a 401,68 μg, 56,53 % entre as amostras cozidas no vapor.

**Tabela 9: Teor de carotenoides totais nas amostras de abóbora (*C. moschata*) cruas e após os cozimentos por imersão em água e no vapor**

<b>Carotenoides Totais</b>		
<b>Amostra 62 (A) µg/g</b>		
<b>Crua</b>	<b>Cozida por imersão em água</b>	<b>Cozida no vapor</b>
A= 344,70 ±17,37	Aa= 358,47 ±36,31 <sup>a</sup>	Ab= 401,68 ±31,91 <sup>a</sup>
<b>Amostra 72 (B) µg/g</b>		
<b>Crua</b>	<b>Cozida por imersão em água</b>	<b>Cozida no vapor</b>
B=234,21 ±1,01	Ba= 205,73 ±18,49 <sup>b</sup>	Bb= 227,06 ±18,64 <sup>b</sup>

Letras diferentes em uma mesma coluna diferem significativamente ( $P < 0,05$ )  
 ± média e desvio – padrão das análises realizadas em triplicata

Os cálculos estatísticos apresentaram evidências de que os resultados obtidos para amostra 62(A) encontram-se acima dos obtidos para amostra 72(B), provavelmente pela diferença entre os constituintes de matrizes analisadas. Entre os dois métodos empregados dentro da mesma amostra a diferença não foi significativa ( $P < 0,05$ ) (Tabela 9).

Os cálculos estatísticos feitos para as amostras analisadas apresentaram evidências de que a amostra 62(A) apresenta-se com teores de  $\beta$ -caroteno maiores que a amostra 72(B)

Pinheiro-Sant’Ana *et al* (1998) encontraram teores de carotenoides totais 100,41 µg/g ± 14,18 em cenouras cozidas por imersão e, de 105,86 µg/g ± 10,74, em amostras cozidas no vapor, observando que não houve diferença destes micronutrientes entre os métodos de cozimento empregados.

Em um trabalho para avaliação de acessos de abóbora do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Cucurbitáceas da Embrapa Semiárido, cujo objetivo era orientar futuros trabalho de melhoramento genético direcionado para qualidade nutricional desses frutos, foi encontrado no acesso 545 in natura um teor de carotenoides totais de 105,90 µg/g (NUNES *et al.*, 2011).

Moura *et al* (2002) encontraram teor mais elevado de carotenoides totais de 251,30 µg/g no acesso BAG-117 in natura, após avaliarem teores de carotenoides totais em dezesseis amostras de abóbora: seis acessos provenientes do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa-BGH – UFV, sete do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Semi-Árido – PE e três híbridos comerciais.

A estabilidade dos carotenoides depende da matriz do alimento e pode diferir de alimento para alimento, mesmo em se tratando das mesmas condições de processamento e estocagem. Por isso, as condições de máxima retenção variam de um alimento para outro (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA &

AMAYA-FARFAN, 2008).

Porém, alguns estudos avaliando o conteúdo de carotenoides em alimentos reportaram que há uma maior facilidade de extração dos carotenoides após o processamento térmico, produzindo aumento irreal na quantidade total de carotenoides pró-vitamínicos A em relação aos vegetais frescos. Provavelmente, devendo-se a uma desnaturação (desagregação) mais eficiente do complexo carotenoide-proteína pós-cozimento (CAMPOS & ROSADO, 2005; KHACHIK *et al.*, 1992; GRANADO *et al.*, 1992; RODRIGUEZ-AMAYA, 1989).

Relatos de aumento nos teores de carotenoides atribuídos ao cozimento ou ao processamento térmico são, mais provavelmente, devidos à análise ou forma de cálculo do que a aumentos reais (RODRIGUEZ-AMAYA, 1989).

#### 5.5.2. Teores de $\alpha$ -caroteno e *trans*(E)- $\beta$ -caroteno

Na Tabela 10 encontram-se os teores médios e desvios padrão (DP) do  $\alpha$ -caroteno nas amostras de abóbora (*C. moschata*) 62 (A) e 72 (B) cruas, cozidas por imersão em água e no vapor.

**Tabela 10: Teores de  $\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ ) nas amostras de abóbora (*C. moschata*) cruas, cozidas por imersão em água e no vapor.**

<b>Abóbora 62 (A) <math>\alpha</math>-caroteno (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>		
<b>Crua</b>	<b>Cozida por imersão</b>	<b>Cozida no vapor</b>
A1= 66,23 $\pm$ 0,33	Aa= 54,44 $\pm$ 1,49 <sup>a</sup>	Ab= 64,88 $\pm$ 3,23 <sup>b</sup>
<b>Abóbora 72 (B) <math>\alpha</math>-caroteno (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>		
<b>Crua</b>	<b>Cozida por imersão</b>	<b>Cozida no vapor</b>
B1= 71,24 $\pm$ 0,11	Ba= 57,64 $\pm$ 1,66 <sup>a</sup>	Bb= 68,98 $\pm$ 5,57 <sup>b</sup>

Letras diferentes em uma mesma coluna e linha diferem significativamente ( $P < 0,05$ )  
 $\pm$  média e desvio – padrão das análises realizadas em triplicata

Entre os dois métodos empregados em uma mesma amostra houve diferença significativa, apresentando os cozimentos no vapor valores superiores. Porém, entre amostras diferentes e mesmo tipo de cozimento não foi observada diferença significativa ( $P < 0,05$ ).

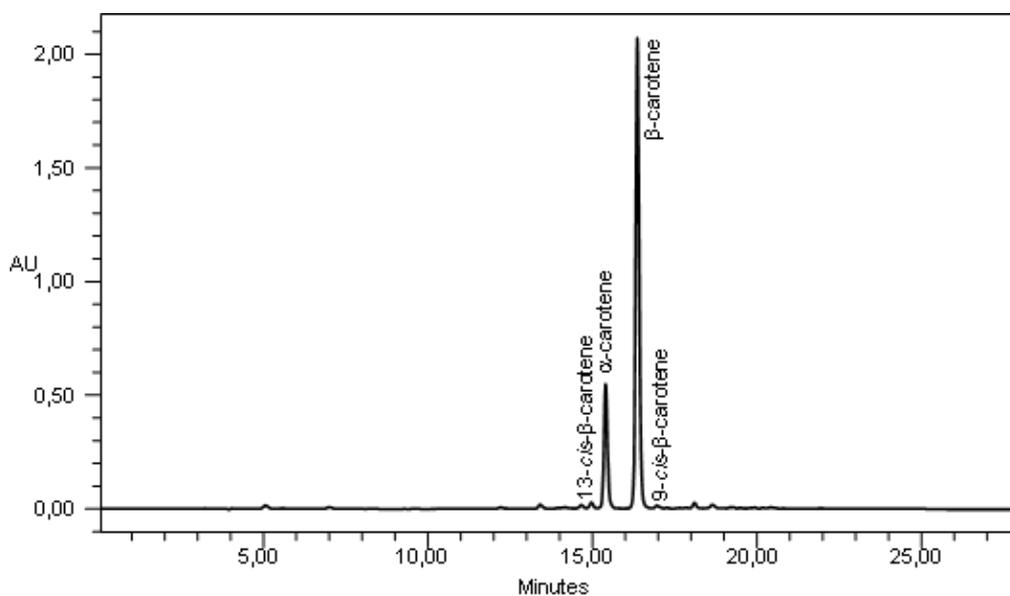
Os teores de  $\alpha$ -caroteno foram inferiores aqueles encontrados para *trans*(E)- $\beta$ -caroteno tanto nas amostras de abóbora cruas quanto nas cozidas em ambos os métodos de cozimento (Tabela 10).

Nas abóboras cozidas no vapor a perda foi menor. Cinquenta carotenoides possuem atividade pró-vitamina A, sendo o mais importante precursor o  $\beta$ -caroteno (OLSON, 1987). Os outros são o  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina, pois apresentam pelo menos um anel ionona no final de sua estrutura (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, VICARIO & HEREDIA, 2004).

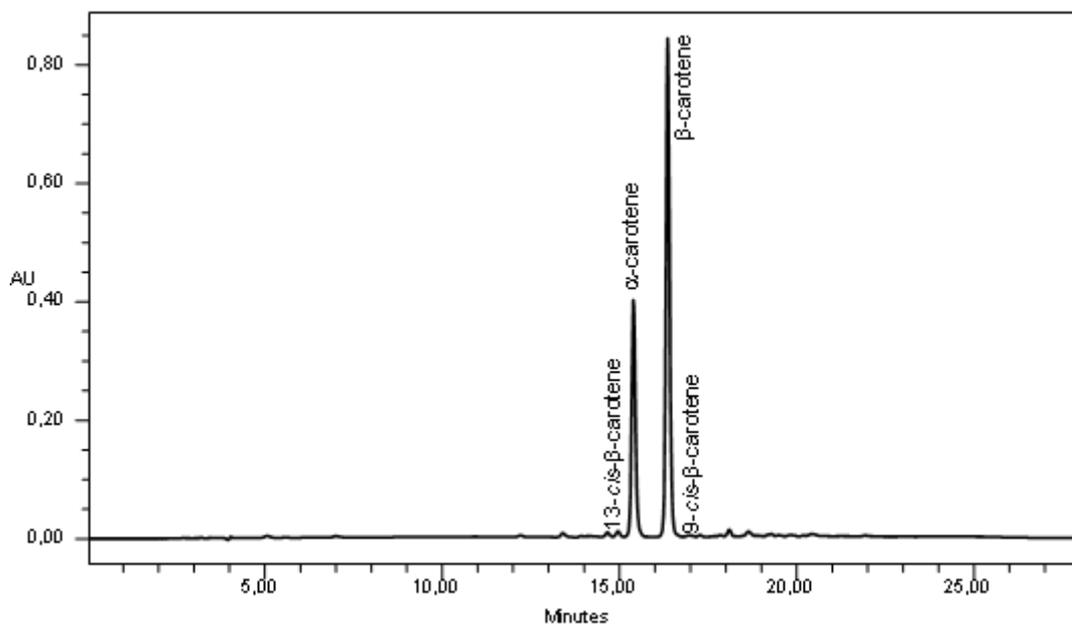
Murkovic, Mulleder e Neunteufl (2002) avaliando cultivares de *Cucurbita*, cultivadas na Áustria, encontraram teores elevados de  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno e de luteína + zeaxantina de 75  $\mu\text{g}$ ; 62  $\mu\text{g}$  e 75  $\mu\text{g/g}$ , em *C. maxima* (cultivar *Flat White Boer*), em *C. moschata* (cultivar *Long Island Cheese*) de 59  $\mu\text{g}$ ; 70  $\mu\text{g}$  e 1,4  $\mu\text{g/g}$  e, em um cruzamento de *C. maxima* x *C. moschata* (cultivar *Tetsuka Buto*) de 24  $\mu\text{g}$ ; 35  $\mu\text{g}$  e 12  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente. As condições de análise foram as mesmas da presente dissertação.

A cultivar *C. maxima*, de coloração amarela apresentou teores de carotenoides totais de 21,2  $\mu\text{g/g}$  e de  $\beta$ -caroteno de 11,8  $\mu\text{g/g}$ , em estudo de avaliação destes micronutrientes em cereais, vegetais, especiarias e condimentos (KANDLAKUNTA, RAJENDRAN & THINGNGANING, 2008).

Nas Figuras 4 e 5 encontram-se os cromatogramas nas abóboras creoula 62(A) e 72 (B) cruas, onde podem ser mais bem visualizados os picos do  $\alpha$  e do *trans(E)*- $\beta$ -caroteno.

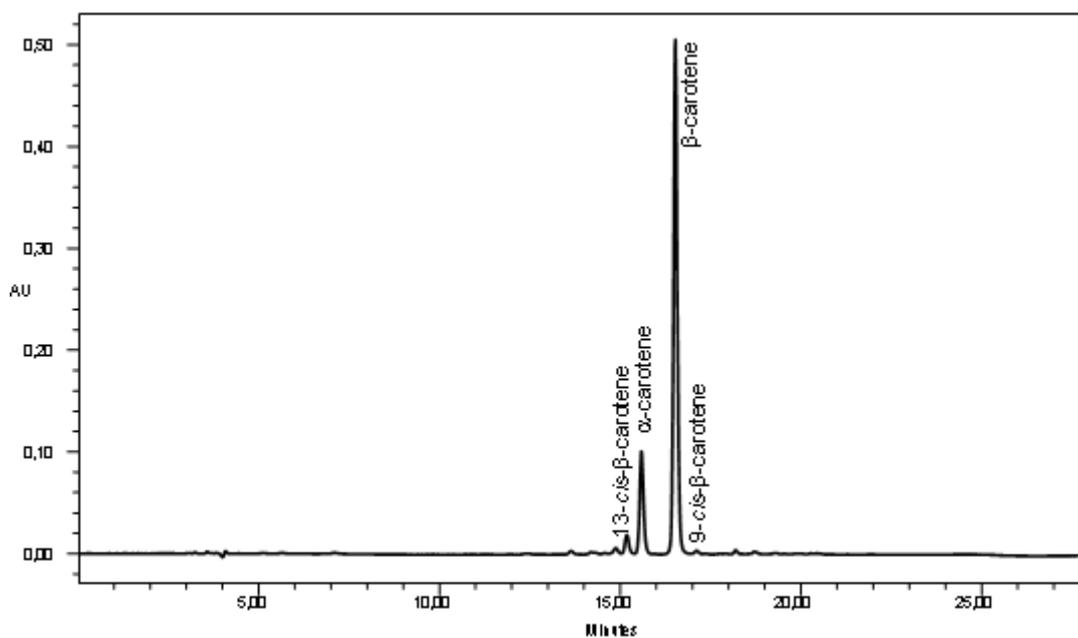


**Figura 4: Cromatograma contendo o  $\alpha$  e o  $\beta$  – caroteno e os isômeros 9 e 13 –*cis(Z)* -  $\beta$  – caroteno presentes na amostra de abóbora creoula 62 (A) crua**

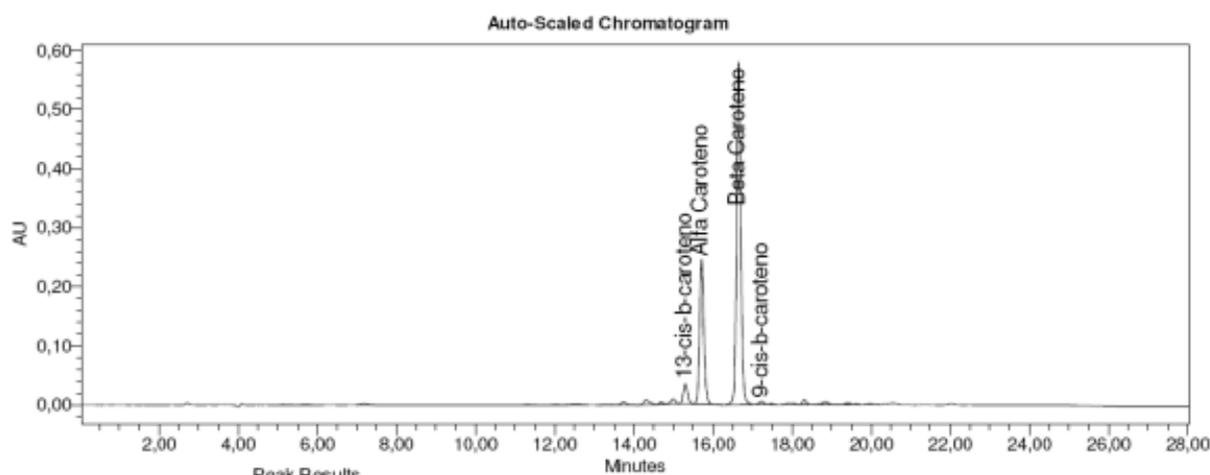


**Figura 5: Cromatograma contendo o  $\alpha$  e o  $\beta$  – caroteno e os isômeros 9 e 13 – *cis*(Z) -  $\beta$  – caroteno presentes na amostra de abóbora creoula 72 (B) crua**

Nas Figuras 6 e 7 podem ser observados os cromatogramas nas amostras de abóbora creoula 62 (A) e 72 (B) cozidas por imersão em água.



**Figura 6: Cromatograma contendo o  $\alpha$  e o  $\beta$  – caroteno e os isômeros 9 e 13 – *cis*(Z) -  $\beta$  – caroteno presentes na amostra de abóbora creoula 62 (A) cozida por imersão em água.**



**Figura 7:** Cromatograma contendo o  $\alpha$  e o  $\beta$  – caroteno e os isômeros 9 e 13 – *cis(Z)* -  $\beta$  – caroteno presentes na amostra de abóbora creoula 72 (B) cozida por imersão em água

### 5.5.3. *Trans (E)*- $\beta$ -caroteno

Na Tabela 11 encontram-se os teores médios e respectivos desvios padrão (DP) do *trans(E)*- $\beta$ -caroteno nas amostras de abóbora (*C. moschata*) 62 (A) e 72 (B) cruas, cozidas em água e no vapor.

**Tabela 11.** Teores de *trans (E)*- $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ ) nas amostras de abóbora (*C. moschata*) cruas, cozidas por imersão em água e no vapor:

<b>Amostra 62 (A) <i>trans(E)</i>-<math>\beta</math>-caroteno <math>\mu\text{g/g}</math></b>		
<b>Crua</b>	<b>Cozida por imersão</b>	<b>Cozida no vapor</b>
A1= 244,22 $\pm$ 9,63	Aa = 274,79 $\pm$ 4,06 <sup>a</sup>	Ab= 304,88 $\pm$ 22,77 <sup>a</sup>
<b>Amostra 72 (B) <i>trans(E)</i>-<math>\beta</math>-caroteno <math>\mu\text{g/g}</math></b>		
<b>Crua</b>	<b>Cozida por imersão</b>	<b>Cozida no vapor</b>
B1= 141,25 $\pm$ 0,39	Ba= 117,35 $\pm$ 13,39 <sup>b</sup>	Bb= 126,89 $\pm$ 6,85 <sup>b</sup>

Letras diferentes em uma mesma linha diferem significativamente ( $P < 0,05$ )

$\pm$  média e desvio – padrão das análises realizadas em triplicata

Os cálculos estatísticos feitos para as amostras analisadas apresentaram evidências de que a amostra 62 (A) apresenta-se com teores de  $\beta$ -caroteno maiores que a amostra 72 (B). Entre os dois métodos empregados dentro da mesma amostra a diferença não foi significativa.

Como esperado, os sólidos da matéria-prima foram concentrados devido ao cozimento no vapor, em comparação ao outro método empregado, revelando teores de  $\beta$ -caroteno mais elevados do

que aqueles do cozimento por imersão. As diferenças nos teores carotenoides totais entre as duas matrizes, deve-se ao fato de possuírem constituição bem diferenciada mesmo sendo ambas da mesma espécie e colhidas na mesma safra.

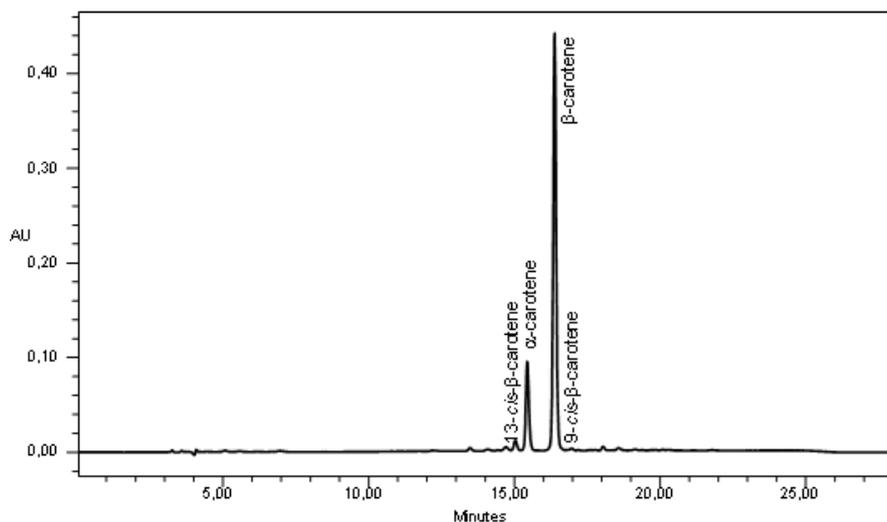
Adicionalmente, diferenças visuais entre as matrizes foram observadas quanto à textura menos fibrosa na abóbora 62 (A). O aumento nos teores de *trans(E)*- $\beta$ - em relação a amostra crua se deve a maior facilidade de extração após sofrer algum tipo de processamento térmico, devido ao fato de que a matriz do vegetal fica mais exposta, facilitando assim sua extração.

A perda de carotenoides na amostra fresca, catalisada por enzimas liberadas durante o preparo para a análise, a maior extratibilidade do analito na amostra processada, as perdas de água não contabilizadas e a lixiviação de sólidos da matriz para a água de cocção são fatores que podem levar aos supostos aumentos (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA & AMAYA-FARFAN, 2008).

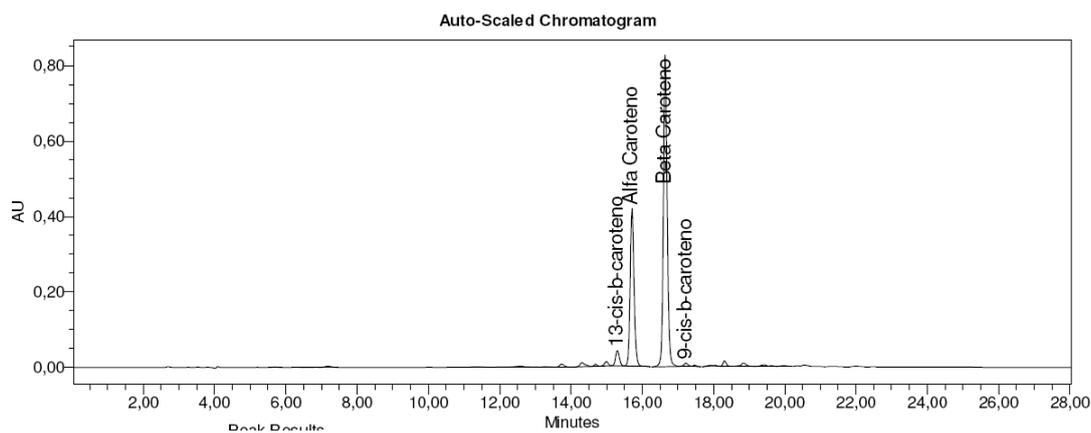
Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan, (2008) avaliaram os teores de  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno em cultivares de *C. maxima* e *C. moschata* cruas, entre outras matérias-primas de origem vegetal. Os maiores teores foram encontrados na polpa de *C. moschata*, cultivar Baianinha, crua descascada (47  $\mu\text{g/g}$  de *trans(E)*- $\alpha$ -caroteno e 235  $\mu\text{g/g}$  de *trans(E)*- $\beta$ -caroteno) sendo que, em relação ao  $\alpha$ -caroteno, os teores encontrados nas abóboras utilizadas na presente dissertação foram mais elevados em ambas as amostras cruas e após os dois tipos de cozimento. Por outro lado, a amostra 62(A) apresentou teores mais elevados de *trans(E)* $\beta$ -caroteno, tanto crua quanto cozida.

Azevedo-Meleiro e Rodriguez-Amaya (2007) avaliando os principais tipos de carotenoides encontrados em três cultivares de abóboras para posterior seleção das melhores, encontraram valores médios de  $\beta$ -caroteno de 66,70  $\mu\text{g/g} \pm 9,10$  na cultivar *C. moschata* 'Menina Brasileira' crua.

Nas Figuras 8 e 9 podem ser observados os cromatogramas nas amostras de abóbora creoula 62 (A) e 72 (B) cozidas por imersão em água.



**Figura 8: Cromatograma contendo o  $\alpha$  e o  $\beta$  – caroteno e os isômeros 9 e 13 – *cis*(Z) -  $\beta$  – caroteno presentes na amostra de abóbora creoula 62 (A) cozida no vapor.**



**Figura 9: Cromatograma contendo o  $\alpha$  e o  $\beta$  – caroteno e os isômeros 9 e 13 – *cis*(Z) -  $\beta$  – caroteno presentes na amostra de abóbora creoula 72 (B) cozida no vapor**

#### 5.5.4. Isômeros 9 e 13 *cis*(Z) do $\beta$ -caroteno:

Na Tabela 12, encontram-se os teores médios e respectivos desvios padrão (DP) dos isômeros 9 e 13-*cis* do  $\beta$ -caroteno das amostras de *C. moschata* 62 (A) cruas, cozidas por imersão em água e no vapor.

**Tabela 12. Teores de 9 e 13-*cis*(Z)- $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ ) das amostras 62 (A) e 72 (B) de *C. moschata* crua, cozida por imersão em água e no vapor:**

	9- <i>cis</i> (Z)- $\beta$ -caroteno	13 <i>cis</i> (Z)- $\beta$ -caroteno
--	--------------------------------------	--------------------------------------

	<b>62 (A)</b>	<b>72 (B)</b>	<b>62 (A)</b>	<b>72 (B)</b>
<b>Crua</b>	1,62 ± 0,35	0,61 ± 0,07	3,05 ± 0,32	1,49 ± 0,07
<b>Cozida imersão</b>	8,55 ± 0,96 <sup>a</sup>	1,42 ± 0,04 <sup>a</sup>	16,38 ± 1,05 <sup>a</sup>	9,08 ± 0,66 <sup>a</sup>
<b>Cozida vapor</b>	1,85 ± 0,68 <sup>b</sup>	1,68 ± 0,13 <sup>b</sup>	9,13 ± 0,10 <sup>b</sup>	7,49 ± 0,13 <sup>b</sup>

Letras diferentes em uma mesma coluna diferem significativamente ( $P < 0,05$ )  
± média e desvio – padrão das análises realizadas em triplicata

A amostra 62 (A) cozida no vapor (Tabela 12) apresentou menores teores de 9 e 13-*cis*(Z)-β-caroteno que a amostra cozida por imersão em água e maiores que os encontrados amostra 72 (B), em ambos cozimentos. A amostra 72 (B) cozida no vapor apresentou menor teor somente para o 13-*cis*(Z)-β-caroteno comparado a mesma amostra cozida por imersão em água. Portanto, existe evidência estatística de que o método de cocção no vapor promoveu menor isomerização quanto a formação do 13-*cis*(Z)-β-caroteno.

Os teores de 9-*cis*(Z)-β-caroteno na amostra 72 (B) cozida no vapor foi mais elevado do que quando cozida por imersão. Concluindo-se que, neste caso, o tempo de cozimento no vapor, sendo mais elevado do que no cozimento por imersão, promoveu uma maior isomerização do *trans*(E)-β-caroteno para sua forma *cis*(Z).

Estes valores foram bem reduzidos comparados aos valores obtidos para *trans*(E)-β-caroteno nas amostras pesquisadas, o que é desejado, tendo em vista que baixos teores de isômeros *cis*(Z) revelam que os métodos de cozimento empregados foram eficientes quanto a isomerização do *trans/cis* do β-caroteno. Portanto, que não ocorreram grandes perdas de *trans*(E)-β-caroteno. Nutricionalmente, a diferenciação entre os isômeros *cis*(Z) e *trans*(E) das provitaminas é importante, devido ao fato de que as formas *cis*(Z) exibem menor atividade pro-vitamínica (CAMPOS & ROSADO, 2005).

Rodriguez-Amaya (1999) pesquisando mudanças ocorridas durante o processamento e armazenamento de vegetais encontraram valores 39 μg de 9-*cis*(Z)-β-caroteno, 24 μg de 13-*cis*(Z)-β-caroteno em espinafre cru e 97 μg de 9-*cis*(Z)-β-caroteno e de 29 μg de 13-*cis*(Z)-β-caroteno em espinafre após ser enlatado, e 4,8μg 9-*cis*(Z)-β-caroteno e 5,8μg de 13-*cis*(Z)-β-caroteno em tomates crus e 5,5μg 9-*cis*(Z)-β-caroteno e 12μg de 13-*cis*(Z)-β-caroteno em tomates após sofrer o mesmo processo de armazenagem em lata.

Oliveira *et al* (2007) avaliando os principais tipos de carotenoides encontrados em amostras de mandioca amarela brava *in natura* encontraram valores para as variedades 878 – Cachimbo I 991 de

0,28 µg de 9-*cis*(Z)-β-caroteno e de 0,81 µg de 13-*cis*(Z)-β-caroteno e na 991 – IM 222 – Juba 1,32 µg de 9-*cis*(Z)-β-caroteno e de 1,24 µg de 13-*cis*(Z)-β-caroteno.

Costa, Flores e Penteadó (2001) avaliaram a interação desses isômeros na bioconversão do isômero *trans* em vitamina A, em ratos albinos, observando que a mistura do isômero *trans*(E) com o 13-*cis*(Z)-β-caroteno revelou leve tendência ao favorecimento da bioconversão do *trans*(E)-β-caroteno em retinol, comparada à mistura do isômero 9-*cis* com o *trans*(E)-β-caroteno. Possivelmente, devido ao fato de que o isômero 13-*cis*(Z)-β-caroteno, influenciaria na incorporação mais adequada da forma *trans* pelas micelas lipídicas dos ratos e, portanto, seria mais prontamente absorvida.

No entanto, deve-se ressaltar que o tratamento térmico promove a isomerização dos carotenoides nos alimentos, da forma isomérica *trans*(E) para *cis*(Z), e o grau de isomerização está diretamente relacionado com a intensidade e a duração do tratamento térmico (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA & AMAYA-FARFAN, 2008).

Cardoso *et al* (2009) não encontraram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os teores de β-caroteno e o valor de vitamina A presentes em amostras de cenouras cruas e cozidas utilizadas em Unidades Produtoras de Refeições comerciais. Porém, verificaram que as amostras cozidas na forma de bastão apresentaram teores de β-caroteno superiores quando comparadas ao vegetal preparado de outras formas. Propuseram que a forma bastão apresenta menor superfície de contato com o ar e o oxigênio durante as operações de corte, preservando melhor sua degradação e, conseqüentemente, reduzindo perdas do micronutriente.

## 5.6. Percentual de retenção real de carotenoides totais, α e *trans*(E)-β-caroteno

### 5.6.1. Percentual de retenção real de carotenoides totais

Na Tabela 13 encontram-se os percentuais de retenção real de carotenoides totais das amostras 62 (A) e 72 (B) de *C. moschata* cozidas por imersão em água e no vapor.

Os percentuais de retenção mais elevados foram observados na amostra 62 (A) de *C. moschata* cozidas por imersão em água (103,97 %) e cozidas no vapor (116,58 %).

**Tabela 13. Percentual de retenção real de carotenoides totais (%/g) das amostras de *C. moschata*, cozidas por imersão em água e no vapor:**

% de Retenção Real de Carotenoides Totais da Abóbora 62 (A) e 72 (B)		
	%RR	
	62	72
<b>Cozida imersão</b>	103,97 <sup>a</sup>	87,81 <sup>b</sup>
<b>Cozida vapor</b>	116,58 <sup>a</sup>	96,90 <sup>b</sup>

Letras diferentes em uma mesma linha diferem significativamente ( $P < 0,05$ )  
 $\pm$  média e desvio – padrão das análises realizadas em triplicata

A análise estatística dos dados obtidos para a retenção de carotenóides totais mostrou que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as amostras cozidas por imersão e no vapor tendo a amostra 62 (A) apresentado percentuais mais elevados para ambos os cozimentos.

Como relatado, anteriormente, a diferença entre as matrizes influenciou no teor de carotenoides totais.

Nascimento, Kimura, Mauro (2006) encontraram um percentual de retenção real de carotenoides totais de 94% em abóbora branqueada, desidratada osmoticamente e seca.

Percentual de retenção real de carotenoides totais de 93,73% foi reportado por OLIVEIRA *et al.* (2007) em mandioca amarela mansa cozida por imersão em água.

### 5.6.2. Percentual de retenção real de $\alpha$ -caroteno nas amostras cozidas

Na Tabela 14 encontram-se os percentuais de retenção real de  $\alpha$ -caroteno das amostras de *C. moschata* cozidas por imersão em água e no vapor.

Os percentuais de retenção mais elevados foram observados na amostra A de *C. moschata* (82,20 %) cozidas por imersão em água e no vapor (98,02 %).

**Tabela 14. Percentual de retenção real de  $\alpha$ -caroteno (%/g) das amostras 62 (A) e 72 (B) de *C. moschata*, cozidas por imersão em água e cozidas no vapor:**

% de Retenção Real de $\alpha$ -caroteno da Abóbora 62 (A) e 72 (B)		
	%RR	
	62	72
Cozida imersão	82,20 <sup>a</sup>	80,89 <sup>a</sup>
Cozida vapor	98,02 <sup>b</sup>	96,86 <sup>b</sup>

Letras diferentes em uma mesma coluna diferem significativamente ( $P < 0,05$ )  
 $\pm$  média e desvio – padrão das análises realizadas em triplicata

O percentual de retenção de  $\alpha$ -caroteno foi mais elevado em ambas as amostras cozidas no vapor. Provavelmente, devido ao fato de que os sólidos da matéria prima foram concentrados pela forma de cozimento.

Kalluf, Waszczyński e Silva (2006) encontraram percentuais de retenção de  $\alpha$ -caroteno de 99%, em abóboras (*C. moschata*) branqueadas, termicamente, antes da desidratação a 70°C. Por outro lado, percentuais de retenção de  $\alpha$ -caroteno de 83% foram encontrados por Mauro, Garcia, Kimura (2005) em fatias de abóboras desidratadas a 50°C submetidas a tratamento osmótico prévio, em solução de sacarose 60% por uma hora.

Em um estudo com abóbora branqueada e seca a 80°C foi encontrado um percentual de retenção real de  $\alpha$ -caroteno de 104% (NASCIMENTO, KIMURA & MAURO 2006).

A biodisponibilidade de micronutrientes em alimentos, principalmente os ricos em licopeno, submetidos a temperatura de até 100°C por até uma hora foi superior quando comparada a esses alimentos *in natura*, em alguns casos. Por outro lado, valores mais elevados de tempo ou temperatura podem resultar em resposta inversa, reduzindo a biodisponibilidade dos carotenoides do alimento; a configuração molecular do carotenoide é modificada pelo excesso de temperatura, gerando isômeros menos biodisponíveis (YEUM & RUSSELL 2002).

### 5.6.3. Percentual de retenção real de *trans(E)*- $\beta$ -caroteno nas amostras cozidas

Na Tabela 15 encontram-se os percentuais de retenção real de *trans(E)*- $\beta$ -caroteno das amostras de *C. moschata* 62 (A) e 72 (B) cozidas por imersão em água e no vapor.

O percentual de retenção foi 112,50% nas amostras submetidas a cozimento por imersão em

água e de 124,04% nas amostras cozidas no vapor na amostra 62(A) e na amostra 72(B) o percentual de retenção foi 82,64% nas amostras submetidas a cozimento por imersão em água e de 89,38% nas amostras cozidas no vapor.

**Tabela 15. Percentual de retenção real de *trans(E)*- $\beta$ -caroteno (%/g) das amostras 62 (A) e 72 (B) de *C. moschata*, cozidas por imersão em água e cozidas no vapor:**

% de Retenção Real de $\beta$ -caroteno da Abóbora 62 (A) e 72 (B)		
	%RR	
	62	72
Cozida imersão	112,50 <sup>a</sup>	82,64 <sup>b</sup>
Cozida vapor	124,04 <sup>a</sup>	89,38 <sup>b</sup>

Letras diferentes em uma mesma linha diferem significativamente ( $P < 0,05$ )  
 $\pm$  média e desvio – padrão das análises realizadas em triplicata

Os percentuais de retenção de  $\beta$ -caroteno foram mais elevados na amostra 62 (A) cozida por imersão em água e no vapor, provavelmente, pela estrutura diferenciada entre as duas amostras de *C. moschata*.

Lucia, Campos e Mata (2008) obtiveram percentual de retenção de  $\beta$ -caroteno, de 68,2%, em couve refogada, após a exposição das bandejas por 60 minutos destinadas à distribuição em Unidades de Alimentação e Nutrição.

Nascimento, Kimura e Mauro (2006) encontraram percentuais de retenção de  $\beta$ -caroteno que variaram de 103% a 107%, em amostras de batata doce amarela, cozidas por imersão em água e, nas amostras fritas de 77% a 79%. Nas amostras fritas o percentual foi menor devido à temperatura de preparo ser mais elevada do que a utilizada no cozimento por imersão em água. Adicionalmente, houve aumento dos isômeros *cis* após o processo de fritura e, conseqüente redução no percentual de retenção do  $\beta$ -caroteno total.

Em preparações domésticas, as perdas de carotenoides aumentam, geralmente, na seguinte ordem, segundo o tipo de cocção: micro-ondas < ao vapor < fervura < refogado. Fritura por imersão, fervura prolongada, combinação de vários tipos de cocção, assamento e marinados, todos provocam perdas consideráveis de carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA & AMAYA-FARFAN, 2008).

A maior biodisponibilidade de carotenoides dos alimentos é alcançada quando o calor úmido (cozimento em água, vapor) é empregado. O calor seco (forno convencional, frituras) não promove esse efeito (LESSIN, CATIGANI & SCHWARTZ, 1997; CHANDLER & SCHWARTZ, 1987).

Os carotenoides, de uma forma geral, são bem conservados com a maioria dos métodos de cozimento (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

Burri (2011) em seu estudo com batata doce (*Ipomoea batatas*) biofortificada sugeriu que sua utilização pode prevenir a hipovitaminose A, o que se justifica pelo grande consumo desta matéria-prima no mundo, podendo ser substituída a batata doce comum promovendo melhoria no *status* nutricional de populações susceptíveis a hipovitaminose A, como as crianças e gestantes.

Oliveira *et al.* (2007) analisando mandioca amarela mansa cozida por imersão em água, encontraram percentual de retenção de  $\beta$ -caroteno de 79,80%. Dentre os métodos utilizados pelos autores, foi o que melhor preservou o teor de  $\beta$ -caroteno.

Nascimento, Kimura, Mauro (2006) encontraram um percentual de retenção real de  $\beta$ -caroteno de 102% em abóbora branqueada e seca a 80°C.

Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan (2008) relatam que a principal causa de perdas ou destruição de carotenoides durante o processamento ou a estocagem é a oxidação, seja ela enzimática ou não. A isomerização dos *trans*-carotenoides para isômeros *cis*(Z) altera a sua atividade biológica e a cor, mas não na mesma extensão que a oxidação. Em muitos alimentos, a degradação enzimática dos carotenoides pode ser mais comprometidora do que a decomposição térmica ou oxidação não enzimática.

## 6. CONCLUSÕES e CONSIDERAÇÕES FINAIS

O teor de carotenoides totais,  $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos totais e isômeros *trans*(E) e *cis*(Z) encontrados nas duas amostras de abóbora cruas foram bastante satisfatórios e mais elevados que os encontrados em abóboras (*C. moschata*) reportadas na literatura.

Dentre as preparações realizadas, o cozimento no vapor se mostrou mais eficiente na preservação do teor de carotenoides totais e  $\beta$ -caroteno, valores menores  $\alpha$ -caroteno e quantidade de isômeros *cis*(Z) irrelevantes, o que era esperado.

Dentre os métodos de cozimento empregados, o que apresentou percentuais mais elevados de retenção foi o cozimento no vapor, tendo a amostra 62 (A) apresentado os melhores percentuais.

As amostras de aboboras 62 (A) e 72 (B), apesar de serem da mesma espécie e da mesma safra apresentaram diferenças com relação ao seu conteúdo, tanto nutricionalmente quanto a textura da polpa.

Os teores de carotenoides encontrados nas amostras estudadas são bastante promissores para utilização como fonte de provitamina A podendo suprir as deficiências nutricionais da população do Norte e Nordeste brasileiro principalmente gestantes e crianças em idade escolar.

A presente dissertação é parte do Projeto BioFORT, coordenado pela Embrapa Agroindústria de Alimentos e se tratou de um estudo preliminar de algumas espécies creoulas (selvagens) de *C. moschata*. Estudos com mais amostras estão em andamento visando, otimizar a extração dos carotenoides nas amostras cruas e, entre outros objetivos, determinar a bioacessibilidade e a biodisponibilidade dos carotenoides pró-vitamina A presentes na *C. moschata*.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves-Rodrigues, A., Shao, A. The Science behind lutein. *Toxicology Letters*, 2004. v. 150, p. 57-83.

Ambrósio, C. L. B., Campos, F. A. C. S. & Faro, Z. P. Carotenoides como alternativa contra a hipovitaminose A. *Rev. Nutr.*, Campinas, 2006. v. 19, n. 2, p. 233-243, mar./abr.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Método 990.08, item 9.2.39, p. 46 – ICP. Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC International, Gaithersburg, MD. 1997. 16<sup>a</sup> ed. 3<sup>a</sup> rev.

Azevedo-Meleiro, C. H. & Rodriguez-Amaya, D. B. Quantitative and qualitative differences in carotenoid composition among *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima* and *Cucurbita pepo*. *J. Agric. Food Chem.*, 2007. v. 55, p. 4027-4033.

Bakó, E., Deli, J., Tóth, G. HPLC study on the carotenoid composition of calendula products. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2002. v. 53, p. 242-250.

Boileau, T., W., M., Moore, A., C., Erdman J., W. Jr. Carotenoids and vitamin A. In: *Papas AM. Antioxidant status, diet, nutrition and health*. Boca Raton: CRC Press, 1999. p. 133-58.

Bone, R. A., Landrum, J. T., Mayne, S. T., Gomes, C. M., Tibor, S. E., Twaroska, E. E. Macular pigment in donor eyes with and without AMD: A case-control study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2001. v. 7, p. 235-240.

Brasil. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo) Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. São Paulo, 2005. 3<sup>a</sup> ed. v.1.

Bravo, L. Polyphenols: chemistry dietary source metabolism and nutritional significance. *Nutr. Rev.*, 1998. v. 56, n. 11, p. 317-333.

- Burri, B., J. Evaluating Sweet Potato as an Intervention Food to Prevent Vitamin A Deficiency. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2011. v.10, n.2, p.118–130. Disponível em :<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2010.00146.x/abstract>>. Acesso em 20 jul. 2011.
- Campos, M. F., Sant'Ana, H. M. P., Stringheta, P., C. & Chaves, J. B. P. Teores de Beta-caroteno em vegetais folhosos preparados em restaurantes comerciais de Viçosa-MG. *Braz. J. Food Technol*, 2003. v. 6, n. 2, p. 163-169.
- Campos, F. M., Rosado, G. P. Novos fatores de conversão de carotenoides provitamínicos A. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2005. v. 25, n.3, p.571-578, jul-set.
- Cardoso, L. S. Fotofísica de carotenoides e o papel antioxidante de B-caroteno. *Química Nova*, 1997. v. 20, n. 5, p. 535-540.
- Cardoso, P. C., Stringheta, P. C., Chaves, J. B. P., Lucia, D. M. C., Pinheiro-Sant'Ana, H. M. P. Carotenos provitamínicos A em hortaliças preparadas em unidades produtoras de refeições comerciais. *B. CEPPA, Curitiba*, 2009. v. 27, n. 1, p. 71-82, jan-jun.
- Casali, V.W.D., Saturnino, H.M., Pedrosa, J.F. Botânica e origem das cucurbitáceas. *Informe agropecuário*, 1982. v. 8, n. 85, p. 22-23, jan.
- Cerqueira, M. F., Medeiros, M. H. G. & Augusto, O. Antioxidantes dietéticos: Controvérsias e perspectivas. *Química Nova*, 2007. v.30, n. 2, p. 441-449.
- Costa, M. A. L. da; Flores, C. I. O.; Penteado, M. DE V. C. Interação dos isômeros todo-trans, 9-cis e 13-cis do  $\beta$ -caroteno na bioconversão desses em vitamina A. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2001. v. 37, n. 1, jan-abr.
- Chandler, L., A., Schwartz, S., J. HPLC separation of cis-trans carotene isomers in fresh and processed fruits and vegetables. *J Food Sci.*, 1987. v. 52, n. 3, p. 669-72.
- Dagnelie, G., Zorge, I., McDonald, T. M. Lutein improves visual function in some patients with retinal degeneration: a pilot study via the internet. *Optometry*, 2000. v. 71, p. 147-164.
- El-Agamey, A., Lowe, G., M., McGarvey, D., J., Mortensen, A., Phillip, D. M., Truscott, T., G., & Youngb, A. J. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2004. v. 430, p.37-48.
- Dutta, D., Raychaudhuri, U. & Chahraborty, R. *African J. Biotechnology*, 2005. v. 4, n. 1, p. 103.
- FAO- Food and agriculture organization of the united nations, Statistical Database –FAOSTAT, 2003. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em 14 de jul. 2011.
- Fennema, O. R., Damodaran, S., Parkin, K. L. Química de Alimentos de Fennema 4<sup>a</sup> ed., Porto Alegre: Artmed, 2010.
- Filgueira, F. A. R. Novo manual de olericultura agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças, 402. Viçosa, 2000.
- Gayathri, G. N., Platel, K. Prakash, J. & Srinivasan, K. Influence of antioxidant spices on the retention of  $\beta$ -carotene in vegetables during domestic cooking processes. *Food Chemistry*, 2004. v. 84, p. 35-43.

- Granado, F., Olmedilla, B. B. I. & Rojas-Hidalgo, E. Carotenoid composition in raw and cooked Spanish vegetables. J. Agric. Food Chem, 1992. v. 40, p. 2135-2140.
- Ihl, M., Monslaves, M. & Bifani, V. Lebensm Wiss Technol, 1998. v. 31, p.56.
- Jaarsveld, P. J. V., Marais, D. W., Nestel, P. & Rodriguez-Amaya, D. B. Retention of  $\beta$ -carotene in boiled, mashed orange-fleshed sweet potato. J. Food Composition and Analysis, 2006. v. 4, n. 19, p. 321-329.
- Juna, H., Leeb, C. H., Songc, G. S. & Kima, Y. S. Characterization of the pectic polysaccharides from pumpkin peel. LWT, 2006. v. 39, p. 554-561.
- Kandlakunta, B., Rajendran, A. & Thingnganing, L. Carotene content of some common (cereals, pulses, vegetables, spices and condiments) and unconventional sources of plant origin. Food Chemistry, 2008. v. 106, p. 85-89.
- Khachik, F., Goli, M., Beecher, G. R., Holden, J., Lusby, W. R., Tenorio, M. D., Barrera, M. R. Effect of food Preparation on Qualitative and Constituents of Tomatoes and Several Green Vegetables. J. Agric. Food Chem, 1992. v. 40, p. 390-398.
- Kalluf, V. H.; Waszczynskyj, N.; Silva, N. C. C. da Desidratação da polpa de Abóbora (*Cucurbita moschata*) e seus teores em beta-caroteno. 2006. Dissertação de mestrado no programa de pós-graduação em tecnologia de Alimentos- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- Kotsopoulos. J., Narod, S., A. Towards a dietary prevention of hereditary breast cancer. Cancer Causes Control, 2005. v.16, n.2, p. 125-38.
- Kurz, C., Carle, R. & Schieber, A. HPLC-DAD-MSn characterization of carotenoids from apricots and pumpkins for the evaluation of fruit product authenticity. Food Chemistry, 2008. v.110, p. 522-530.
- Landrum, J. T., Bone, R. A. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2001. v. 385, p. 28-40.
- Lessin, W., J., Catigani, G., L., Schwartz, S., J. Quantification of cis-trans isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. J Agric Food Chem., 1997. v. 45, n.10, p. 3728-32.
- Lucia, C. M. D., Campos, F. M., Mata, G. M. S. C. & Sant'Ana, H. M. P. Controle de perdas de carotenoides em hortaliças preparadas em unidades de alimentação e nutrição hospitalar. Ciência & Saúde Coletiva, 2008. v.13, n.5, p. 1627-1636.
- Martins, M.C., Oliveira, Y.P., Coitinho, D.C. & Santos, L.M.P. Panorama das ações de controle da deficiência de vitamina A no Brasil. Revista Nutr., Campinas , 2007. V. 20, n.1, p. 5-18 Jan/Feb.
- Meléndez-Martínez, A., J., Vicario, I., M., Heredia, F., J. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Caracas , 2004. v. 54, n.2, p. 149-155, jun.
- Mauro, M.A.; Garcia, C.C.; Kimura, M. Effects of osmotic dehydration on air-drying and on characteristics of dried pumpkin (*Cucurbita moschata*) In: Anais Enpromer -2nd Mercosur Congresso on Chemical Engineering/ 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering, Rio de Janeiro, Brazil, 2005.

- Melo, E. A, Maciel, M. I. S., Arroxelas, G. L. & Santana, A. P. M. Capacidade antioxidante de hortaliças submetidas a tratamento térmico. Rev. Soc. Bras. Nutr., São Paulo, SP, 2009. V. 34, n.1, p. 85-95.
- Moura, M. da C. C. L., Silva, D. J. H. da, Queiroz, M. A., Puiatti, M., Caliman, F. R. B., Lopes, J. F. Divergência genética entre acessos e híbridos comerciais de abóbora com base em marcadores morfoagronômicos e nutricional. Disponível em: <[http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/44\\_011.pdf](http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/44_011.pdf)>. Acesso em 09 de fev. 2012.
- Murkovic, M., Mulleder, U. & Neunteufl, H. Carotenoid Content in Different Varieties of Pumpkins. J. Food Composition and Analysis, 2002. v.15, p. 633–638.
- Murphy, E. W., Criner, P. E. & Gray, B. C. J. Agric. Food Chem., 1975. v. 23, p. 1153.
- Nascimento, P., Kimura M., Mauro, M. A. Avaliação da retenção de carotenoides de abóbora, mandioca e batata doce. Dissertação (mestrado) Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. Universidade Estadual Paulista- São José do Rio Preto, SP, 2006.
- Nicoli, M. C., Anese, M., Parpinel, M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. Trends food Sci. Technol.,1999. v. 10, n. 3, p. 94-100.
- Nunes, E. D., Lima, M. A.C. de, Rosatti, S. R., Trindade, D. C. G. da, Borges, R. M. E. Avaliação do teor de carotenoides totais em acessos de abóbora procedentes de estados da região Nordeste. IV Reunião de BIOFORTIFICAÇÃO- Teresina-Piauí-Brasil-2011.
- Oliveira, A. R. G., Carvalho, L. M. J. de, Nutti, M. R., Carvalho, J. L.V. de., Estudo da retenção real de carotenoides totais e  $\beta$ -caroteno em variedades de mandioca amarela mansa. IX ERSCTA – IX Encontro Regional Sul de Ciências e Tecnologia de Alimentos- Curitiba-PR-ANAIS, 2007. p. 634-638.
- Olson, J. A. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin A in humans. American Journal Clinical Nutrition, 1987. v. 45, p. 704-716.
- Ornellas, L. H. Técnica Dietética, Seleção e Preparo de Alimentos, Editora Atheneu- São Paulo, 2001. p. 183.
- Palozza, P., Krinsky N., I. Astaxanthin and canthaxanthin are potent antioxidants in a membrane model. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1992. v. 297, n.2, p. 291-295 September.
- Parker, R. S. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. FASEB J, 1996. v.10, p. 542-551.
- Pinheiro, S. H M., Stringheta. P. C., Brandão, S. C. C. & Azeredo, R. M. C. Carotenoid retention and vitamin A value in carrot (*Daucus carota L.*) prepared by food service. Food Chem, 1998. v. 61, n.1, p. 45-51.
- Ramalho, A. & Padilha, P.; Saunders. Análise crítica de estudos brasileiros sobre deficiência de vitamina A no grupo materno-infantil. Revista Paulista Pediatria, São Paulo, 2008. v. 26, n.4.
- Ramos, S. R. R., Carvalho, H. W. L., Oliveira, I. R., Anjos, J. L., Queiróz, M. A, Lima, M. A. C., Nutti, M. R., Kimura, M., Dias, R. C. S. & Borges, R. M. E. Identificação de acessos locais de abóbora com elevados teores de carotenoides totais e características agrônômicas e comerciais. 3ª Reunião Anual de Biofortificação no Brasil. Aracaju – Sergipe. 31 de maio a 05 de junho de 2009.

- Ramos, M. I. L., Umaki, M. C., Hiane, S. P. A. & Ramos Filho, M. M. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenoides próvitamínicos “A” da polpa do piqui (*Caryocar brasiliense*, Camb). Boletim CEPPA, Curitiba, 2001. v. 19, n.1, p. 2332, jan./jun.
- Ramos, S. R. R., Carvalho, H. W. L., Queiroz, M. A.; Santos, E. D., Silva, H. M., Trindade, B. C., Passos, R. S., Santos, J. S., Nutti, M. R.; Brito, K. M., Kimura, M. & Oliveira, I. R. Avaliação preliminar de acessos locais de abóbora para teores de carotenoides totais e sólidos solúveis. 3ª Reunião Anual de Biofortificação no Brasil. Aracaju – Sergipe. 31 de maio a 05 de junho de 2009.
- Ribeiro, E. P., & Seravalli, E., A., G. Química de Alimentos. Instituto Mauá de Tecnologia. Editora Edgard Blücher Ltda, 1ª edição, São Paulo, 2004. p. 155-157.
- Rock, C. L., Lovaldo, J. L., Emenhiser, C., Ruffin, M. T., Flatt, S. W. & Schwartz, S.J. Bioavailability of  $\beta$ -Carotene Is Lower In Raw than in processed carrots and Spinach in Women. J. Nutr., 1998. v. 128, p. 913-916.
- Rodriguez-Amaya D., B. Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored food. USAID, OMNI Project. Arlington Va. John Snow Inc., 1997. p. 88.
- Rodriguez-Amaya, D. B. Critical review of provitamin A determination in plant foods. J. Micronutr. Anal, 1989. v.5, p. 191-225.
- Rodriguez-Amaya, D. B. Change in carotenoid during processing and storage of foods. Arch Latinoamer Nutr , 1999. v.49, p. 385-475.
- Rodriguez-Amaya, D. B. A Guide to carotenoid analysis in foods. Departamento de Ciências de Alimentos, Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, 2001.
- Rodriguez-Amaya, D. B., Kimura, M., Amaya-Farfan, J. Fontes Brasileiras de carotenoides: Tabela Brasileira de composição de carotenoides em alimentos. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2008.
- Rodriguez-Amaya, D. B. & Kimura, M. HarvestPlus handbook for carotenoid analysis. Washington, DC and Cali: IFPRI and CIAT, 58p. HarvestPlus Technical Monograph, 2004. v. 2.
- Ross, D. A. Recommendations for vitamin A supplementation. J Nutr., 2002. v.132, n. 9, p. 2902-6.
- Santos, M. A. T. dos, Abreu, C. M. P. de, Carvalho, V. D. de Efeito de diferentes tempos de cozimento nos teores de minerais em folhas de brócolis, couve-flor e couve (*Brassica oleracea* L.). Ciênc. agrotec, Lavras., 2003. v. 27, n. 3, p. 597-604. maio/jun.
- Pinheiro-Sant’Ana, H. M., Stringheta, P. C., Brandão, S. C. C., Páez, H. H., Queiróz, V. M. V. de, Evaluation of total carotenoids,  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene in carrots (*Daucus carota* L.) during home processing. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, 1998. v. 18, n. 1. Jan/Apr.
- Seppanen, C. M., Csallany, A. S. O efeito de carotenoides no colorau na peroxidação lipídica in vivo por urinária excreção de produtos de oxidação secundária. Nutrition Research, 2002. v. 22, p. 1055-1065.
- Simpson, K. L., Chichester, C. O. Metabolism and Nutritional Significance of carotenoids. Ann. Rev. Nutr., 1981. v.1, p. 351-74.
- Souza, T., C. de. Alimentos: propriedades físico-químicas. Ed. Cultura Médica, Rio de Janeiro, 1991.

- Souza, W. A., Boas, O. M. G. da C. V. A deficiência de vitamina A no Brasil: Um panorama. Revista Panamericana de Salud Pública, Washington, 2002. v. 12, n. 3, p. 173-179.
- Stringheta, P., C.; Nachtigall, A., M., Oliveira, T., T., Ramos, A., M.; Santana, H., M., P., Gonçalves, M., P., J., C. Lutein: antioxidant properties and health benefits. Alim. Nutr., Araraquara, 2006. v.17, n. 2, p. 229-238, abr./jun.
- Sultana, B., Anwar, F. & Iqbal, S. Effect of different cooking methods on the antioxidant activity of some vegetables from Pakistan. Inter. J. Food Sci. Technol., 2006. v. 43, n. 3, p. 560-567.
- TACO- Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA- UNICAMP- Campinas, 2006. v. 22.
- USDA- National Nutrient Database for Standard Reference, Release, 2010. v.23.
- Van het Hof, K. H., West, C. E., Weatstrate, J. A., Hautvast, J. G. A. J. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoides. J. Nutr., 2000. v.130, p. 503-506.
- World Health Organization WHO. Physical status: The use and interpretation of anthropometry. Geneva, Series, 1995. v. 854.
- Villela, G. G.; Bacila, M.; Tastaldi, H. Bioquímica. Editora Guanabara Koogon S. A., 2ª edição, 1966, p. 785-790.
- Weil, J. H. (2000) Bioquímica Geral. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa. 2ª edição : 316.
- Yeum, K. J., Russel, R. M. Carotenoid bioavailability and bioconversion. Annual Review of Nutrition, 2002. v.22, p. 483-504.
- Zempleni, J., Browman, B. B., Russell, R. M. Biotin, in Present Knowledge in Nutrition, International Life Sciences Institute, ILSI Press, Washington, D.C., 2001. p. 241-252.