

ELLEN SILVA LAGO

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DE ANÁLISE
E EFEITO DA APLICAÇÃO DE COBERTURAS COMESTÍVEIS NOS
CAROTENÓIDES DE ABÓBORAS DESIDRATADAS**

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2007

ELLEN SILVA LAGO

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DE ANÁLISE
E EFEITO DA APLICAÇÃO DE COBERTURAS COMESTÍVEIS NOS
CAROTENÓIDES DE ABÓBORAS DESIDRATADAS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mieke Kimura

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria A. Mauro

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2007

Lago, Ellen Silva.

Avaliação das condições cromatográficas de análise e efeito da aplicação de coberturas comestíveis nos carotenóides de abóbora desidratadas / Ellen Silva Lago. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2007. 72 f.; il. ; 30 cm.

Orientador: Mieko Kimura

Co-orientador: Maria Aparecida Mauro

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Alimentos - Secagem. 3. Carotenóides. 4. Cromatografia líquida de alta eficiência. 4. HPLC. 5. Abóbora - Secagem. I. Kimura, Mieko. II. Mauro, Maria Aparecida. III. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

ELLEN SILVA LAGO

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DE ANÁLISE
E EFEITO DA APLICAÇÃO DE COBERTURAS COMESTÍVEIS NOS
CAROTENÓIDES DE ABÓBORAS DESIDRATADAS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Mieko Kimura

Prof^a. Dr^a. Helena Teixeira Godoy

Prof. Dr. José Antônio Gomes Vieira

Prof. Dr. Joel Fernando Nicoleti

Prof^a. Dr^a. Célia Maria Landi Franco

São José do Rio Preto, 28 de março de 2007.

**A minha querida avó Silvia, que não
entendia o motivo de tantos anos de estudo,
mas apoiava e vibrava com cada conquista
alcançada. “Infelizmente não deu tempo de
participar de mais esta”.**

Dedico (in memorian)

AGRADECIMENTOS

À Deus, luz de minha vida, presença constante em todos os momentos de dificuldades e de vitórias em minha vida.

À Nossa Senhora, que sempre intercedeu junto ao Pai por todas minhas preces.

Aos meus pais, José Antônio e Yara, pelo GRANDE AMOR e APOIO INCONDICIONAL.

Às minhas irmãs, Cintia e Thais, e aos meus cunhados, Carlos e Adenis, vocês foram FUNDAMENTAIS para que eu pudesse chegar até aqui.

À toda minha família, pelo apoio e compreensão.

Ao meu noivo José Paulo, pelo APOIO, AMOR E COMPREENSÃO.

Às AMIGAS, Carolina e Thais, pela amizade, pelo incentivo e pelos bons momentos compartilhados.

Às amigas Natália, Teresa e Fernanda pelo constante estímulo e apoio.

À Prof^a. Dr^a. Mieko Kimura pela orientação e oportunidade de compartilhar de seu conhecimento.

À Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Mauro pela co-orientação deste trabalho, por disponibilizar o laboratório.

À Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Barreto Penna, por disponibilizar utensílios necessários para a execução do projeto.

À Prof^a. Dr^a. Neusa Jorge pela participação na banca de qualificação.

Ao Prof. Dr. José Antônio Gomes Vieira, pela participação na banca de qualificação e examinadora, mas principalmente pelo respeito e apoio durante tantos anos de Unesp.

À Prof^a. Helena Teixeira Godoy pelas sugestões e correções.

À Ana Pontes, gerente de assistência técnica da Cargill, pelo fornecimento dos amidos utilizados no trabalho e pela colaboração técnica.

Aos técnicos do Departamento de Engenharia de Alimentos, Luiz Carlos Camolezi e Newton Mayer Filho, pela disposição em ajudar.

Às amigas de laboratório, Priscila e Naiara, pela ajuda no desenvolvimento do trabalho e pela grande transferência de experiências diárias.

A todos os amigos e funcionários da Unesp, bem como aos amigos de longa data, que me apoiaram no decorrer da vida, pelo carinho e amizade.

À UNESP, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À FAPESP/PRONEX processo 03/10151-4 pelo auxílio pesquisa e a CAPES pela bolsa de mestrado.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO GERAL

A atraente coloração da abóbora ‘Rajada Seca’ se deve a presença de carotenóides; compostos bioativos que estão associados ao adequado desenvolvimento e manutenção da saúde humana, bem como à redução de riscos de doenças degenerativas. As ações e funções biológicas desses compostos se devem ao sistema de duplas ligações conjugadas de sua estrutura, que os tornam altamente susceptíveis a degradações (isomerização e oxidação) durante o processamento. Dentre as técnicas de conservação de alimentos, a secagem apresenta vantagens por possibilitar a obtenção de produtos com baixos peso e volume, maior vida de prateleira a temperatura ambiente, diminuindo os custos de armazenamento e distribuição. No entanto, pode provocar alterações de cor e sabor e perda de nutrientes, decorrentes da exposição ao oxigênio e a temperaturas relativamente elevadas, principalmente quando realizada de forma convencional com ar aquecido. Assim, aplicação de tratamentos prévios a secagem, com o objetivo de melhorar a aparência, sabor, textura e retenção dos nutrientes, tem despertado o interesse de pesquisadores nos últimos anos. No presente trabalho, avaliou-se o efeito da aplicação de coberturas a base de amido no teor de carotenóides de abóbora desidratada com ar aquecido a 70 °C, verificando o efeito do tipo de amido (nativo ou modificado de milho, mandioca e batata), da concentração dos géis formadores das coberturas (1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5 %) e temperatura de aplicação (quente ou frio). Para análise dos carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), condições cromatográficas foram avaliadas e otimizadas. Fase móvel constituída de metanol e acetato de etila na proporção de 70:30 (v/v) com adição de 0,1 % de TEA mostrou boa separação e resolução de α -caroteno e β -caroteno e seus isômeros, em 35 minutos de corrida. O teor de *trans*- α -caroteno e de *trans*- β -caroteno de amostras de cenoura e abóbora *in natura* obtidos com coluna C₁₈ e C₃₀ não apresentaram diferenças significativas. No entanto, o uso de coluna C₁₈ superestimou o teor de *trans*- β -caroteno das amostras processadas devido à co-eluição dos *cis*-isômeros de α -caroteno, mostrando a necessidade da utilização de coluna C₃₀. Coberturas a base de amidos nativos de milho, mandioca e batata e de amido modificado de mandioca, nas concentrações testadas e aplicadas a frio, não exerceram efeito protetor contra degradação de carotenóides de abóbora durante secagem com ar aquecido a 70 °C. Aplicação a quente de coberturas de amido nativo de milho e de amido modificado de mandioca resultou em produtos desidratados com melhor coloração e com teor de *trans*- α -caroteno e de *trans*- β -caroteno significativamente maiores que aqueles sem pré-tratamento ou com cobertura aplicada a frio. Amostra com cobertura de amido modificado de milho, aplicada a frio, apresentou maior retenção de carotenóides durante a secagem que as amostras sem cobertura ou com cobertura aplicada a quente.

Palavras-chave: Carotenóides. CLAE. Coluna C₃₀. Abóbora. Coberturas Comestíveis. Secagem.

ABSTRACT

The attractive colour of the Rajada Seca variety pumpkin is due to the presence of carotenoids; bioactive compounds which are associated to adequate development and maintenance of human's health, and also to a reduction of risks of degenerative diseases. Biological actions and functions of carotenoids are due to the conjugated double bond system which makes them highly susceptible to degradation (isomerization and oxidation) during processing. Among the food preservation techniques, drying is advantageous because it results in lighter and smaller products with a longer shelf-life at room temperature, thus reducing the storage and distribution costs. However, it may cause flavor and colour alterations as well as the loss of nutrients due to exposure to oxygen and relatively high temperatures, principally when conventional drying with hot air is used. Thus, application of drying pretreatments aiming to improve the appearance, flavor, texture and nutrients retention, has awakened researchers' interest over the last years. In this study, the effect of starch edible coats on the carotenoid contents of dried pumpkin using hot air at 70 °C was evaluated, verifying the effects of the coating gel concentration (1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5 %) and temperature (hot and cold). For carotenoid analysis by high performance liquid chromatography (HPLC) using polymeric C₃₀ column, chromatographic conditions were assessed and optimized. Mobile phase constituted of methanol and ethyl acetate (70:30, v/v) with 0.1 % of TEA provided good separation and resolution of the isomers of α -carotene and β -carotene in a 35 minutes run. *Trans*- α -carotene and *trans*- β -carotene content of fresh carrot and pumpkin obtained with C₁₈ and C₃₀ columns did not present significant differences. However, C₁₈ column overestimated the *trans*- β -carotene content of processed samples due to α -carotene *cis* isomers coelution, which showed the necessity of C₃₀ column for these kinds of samples. Edible coats of native starch of corn, cassava and potato and modified starch of cassava did not protect the pumpkin carotenoids against degradation during the drying using hot air at 70 °C. Hot coating of native corn starch and modified cassava starch provided dried products with a better colour and statistically higher *trans*- α -carotene e *trans*- β -carotene content than the ones obtained without pretreatment or cold coating. Samples coated with modified corn starch, applied cold, presented better carotenoid retention during the drying when compared to those without pretreatment or hot coating.

Keywords: Carotenoids. HPLC. C₃₀ Column. Pumpkin. Edible coatings. Drying.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Formação dos principais carotenóides em plantas. Reações: 1. dehidrogenação, 2. ciclização, 3. hidroxilação, 4. epoxidação.....	17
Figura 2 -	Clivagem simétrica e assimétrica do β -caroteno.....	19
Figura 3 -	Principais isômeros geométricos do α -caroteno.....	22
Figura 4 -	Principais isômeros geométricos do β -caroteno.....	22
Figura 5 -	Separação de padrões de carotenóides por coluna polimérica C ₃₀ . Identificação dos picos: 1. astaxantina, 2. capsantina, 3. luteína, 4. zeaxantina, 5. cantaxantina, 6. β -criptoxantina, 7. equinenona, 8. 15- <i>cis</i> - β -caroteno, 9. 13- <i>cis</i> - β -caroteno, 10. α -caroteno, 11. <i>trans</i> - β -caroteno, 12. 9- <i>cis</i> - β -caroteno, 13. δ -caroteno, 14. licopeno.....	23
Figura 6 -	Comparação da espessura das fases estacionárias C ₁₈ e C ₃₀ com o tamanho molecular do β -caroteno.....	24
Figura 7 -	Aparência externa da abóbora ‘Rajada Seca’.....	36
Figura 8 -	Ilustração dos cortes (a) transversal e (b) longitudinal e fatiamento da abóbora (c).....	37
Figura 9 -	Ilustração das etapas de aplicação de cobertura: (a) imersão das fatias na cobertura, (b) drenagem das fatias e (c) secagem preliminar das fatias cobertas a temperatura ambiente.....	39
Figura 10 -	Cromatogramas dos carotenóides de abóbora seca obtidos com coluna C ₃₀ , 3 μ m, 4,6 x 150 mm e fase móvel metanol:acetato de etila (80:20) em diferentes vazões. Identificação dos picos: 1. 13- <i>cis</i> - α -caroteno, 2. 13- <i>cis</i> - β -caroteno, 3. <i>trans</i> - α -caroteno, 4. 9- <i>cis</i> - α -caroteno, 5. <i>trans</i> - β -caroteno, 6. 9- <i>cis</i> - β -caroteno. Detecção a 450 nm.....	43
Figura 11 -	Espectros de absorção dos isômeros geométricos de α -caroteno e β -caroteno de abóbora seca, obtidos pelo detector por conjunto de diodos: a) <i>trans</i> - α -caroteno, b) 9- <i>cis</i> - α -caroteno, c) 13- <i>cis</i> - α -caroteno, d) <i>trans</i> - β -caroteno, e) 9- <i>cis</i> - β -caroteno, f) 13- <i>cis</i> - β -caroteno.....	45
Figura 12 -	Efeito da proporção de metanol:acetato de etila da fase móvel na separação e recuperação dos carotenóides de abóbora seca em coluna C ₃₀ , 3 μ m, 4,6 x 150 mm. Identificação dos picos: 1. 13- <i>cis</i> - α -caroteno, 2. 13- <i>cis</i> - β -caroteno, 3. <i>trans</i> - α -caroteno, 4. 9- <i>cis</i> - α -caroteno, 5. <i>trans</i> - β -caroteno, 6. 9- <i>cis</i> - β -caroteno. Detecção a 450 nm.....	46

Figura 13 -	Efeito da adição de 0,05 % de TEA na fase móvel na separação e recuperação dos carotenóides de abóbora seca em coluna C ₃₀ , 3 µm, 4,6 x 150 mm. Identificação dos picos: 1. 13- <i>cis</i> -α-caroteno, 2. 13- <i>cis</i> -β-caroteno, 3. <i>trans</i> -α-caroteno, 4. 9- <i>cis</i> -α-caroteno, 5. <i>trans</i> -β-caroteno, 6. 9- <i>cis</i> -β-caroteno. Detecção a 450 nm.....	49
Figura 14 -	Efeito da adição de 0,1 % de TEA na fase móvel na separação e recuperação dos carotenóides de abóbora seca em coluna C ₃₀ , 3 µm, 4,6 x 150 mm. Identificação dos picos: 1. 13- <i>cis</i> -α-caroteno, 2. 13- <i>cis</i> -β-caroteno, 3. <i>trans</i> -α-caroteno, 4. 9- <i>cis</i> -α-caroteno, 5. <i>trans</i> -β-caroteno, 6. 9- <i>cis</i> -β-caroteno. Detecção a 450 nm.....	50
Figura 15 -	Cromatogramas dos carotenóides de cenoura <i>in natura</i> e cozida obtidos com coluna C ₃₀ e fase móvel metanol:acetato de etila (70:30) (0,1 % de TEA) e com coluna C ₁₈ e fase móvel acetonitrila:metanol:acetato de etila (60:20:20) (0,05 % TEA). Detecção a 450 nm. Identificação dos picos: 1. 13- <i>cis</i> -α, 2. 13- <i>cis</i> -β, 3. <i>trans</i> -α, 4. 9- <i>cis</i> -α, 5. <i>trans</i> -β e 6. 9- <i>cis</i> -β.....	52
Figura 16 -	Cromatogramas dos carotenóides de abóbora <i>in natura</i> e desidratada obtidos com coluna C ₃₀ e fase móvel metanol:acetato de etila (70:30) (0,1 % de TEA) e com coluna C ₁₈ e fase móvel acetonitrila:metanol:acetato de etila (60:20:20) (0,05 % de TEA). Detecção a 450 nm. Identificação dos picos: 1. 13- <i>cis</i> -α, 2. 13- <i>cis</i> -β, 3. <i>trans</i> -α, 4. 9- <i>cis</i> -α, 5. <i>trans</i> -β e 6. 9- <i>cis</i> -β.....	53
Figura 17 -	Cromatogramas dos carotenóides de abóbora <i>in natura</i> e seca. Fase móvel: metanol:acetato de etila (70:30) com adição de 0,1 % de TEA. Identificação dos picos: 1. 13- <i>cis</i> -α, 2. 13- <i>cis</i> -β, 3. <i>trans</i> -α, 4. 9- <i>cis</i> -α, 5. <i>trans</i> -β e 6. 9- <i>cis</i> -β. Coluna C ₃₀ polimérica, 3 µm, 4,6 x 150 mm. Fluxo: 0,5 mL/min. Detecção a 450 nm.....	55
Figura 18 -	Aspecto visual das fatias desidratadas sem e com coberturas de amido de mandioca modificado.....	61

LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	Teor de α -caroteno e de β -caroteno de diferentes variedades de abóboras ($\mu\text{g/g}$).....	27
TABELA 2:	Identificação dos picos e características espectrais dos carotenóides de abóbora seca.....	46
TABELA 3:	Teor de carotenóides ($\mu\text{g/g}$) de cenoura <i>in natura</i> e cozida obtido com coluna C ₁₈ e C ₃₀	54
TABELA 4:	Teor de carotenóides ($\mu\text{g/g}$) de abóbora <i>in natura</i> e seca obtido com coluna C ₁₈ e C ₃₀	54
TABELA 5:	Efeito da aplicação de coberturas de amidos nativos de milho, mandioca e batata, a 30 °C, em diferentes concentrações, no teor de <i>trans</i> - α -caroteno e de <i>trans</i> - β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) de abóboras secas.....	57
TABELA 6:	Efeito da aplicação a frio e a quente de coberturas de amidos nativos e modificado de milho a 2,5 % no teor de <i>trans</i> - α -caroteno e de <i>trans</i> - β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) de abóboras.....	59
TABELA 7:	Efeito da temperatura de aplicação de coberturas de amidos nativos e modificado (estabilizado e acetilado) de mandioca a 1,5 % no teor de <i>trans</i> - α -caroteno e de <i>trans</i> - β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) ^a de abóboras secas.....	60

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1	Estrutura de carotenóides.....	16
3.2	Propriedades e funções.....	16
3.3	Análise de carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência.....	21
3.4	Composição de carotenóides de abóboras.....	25
3.5	Efeito do processamento no teor de carotenóides de alimentos.....	26
3.5.1	Efeito da secagem.....	28
3.5.1.1	Efeito do branqueamento no teor de carotenóides durante a secagem de vegetais.....	30
3.5.1.2	Efeito da desidratação osmótica na retenção de carotenóides durante a secagem de vegetais.....	31
3.5.1.3	Efeito da aplicação de coberturas comestíveis na retenção de carotenóides durante a secagem de vegetais.....	33
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	35
4.1	Avaliação das condições cromatográficas para análise de carotenóides de amostras processadas utilizando coluna C₃₀ e acetato de etila na fase móvel.....	35
4.2	Avaliação do efeito da aplicação de coberturas comestíveis no teor de carotenóides de abóbora desidratada com ar aquecido.....	36
4.2.1	Materiais.....	36
4.2.2	Processamento.....	37
4.2.3	Aplicação das coberturas comestíveis.....	37

4.2.3.1	Estabelecimento da concentração mínima de amido, temperatura e tempo de aquecimento para formação de gel.....	38
4.2.3.2	Avaliação do efeito da concentração de amido e temperatura de aplicação da cobertura no teor de carotenóides de fatias de abóbora secas.....	39
4.2.4	Secagem.....	40
4.2.5	Métodos Analíticos.....	41
4.2.5.1	Determinação de umidade.....	41
4.2.5.2	Análise de carotenóides.....	41
4.3	Análise de dados.....	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1	Avaliação do uso de acetato de etila como modificador de fase móvel constituída de metanol para análise de amostras processadas utilizando coluna C ₃₀	43
5.1.1	Otimização da fase móvel utilizando acetato de etila como modificador....	46
5.1.2	Comparação do teor de carotenóides de abóbora e de cenoura, <i>in natura</i> e processadas, obtidos com coluna monomérica C ₁₈ e polimérica C ₃₀	51
5.2	Avaliação do efeito da aplicação de coberturas comestíveis de amido no teor de carotenóides de abóbora desidratada com ar aquecido.....	55
5.2.1	Avaliação do efeito da aplicação a frio de coberturas de amidos nativos de milho, mandioca e batata no teor de carotenóides de fatias de abóboras secas a 70 °C.....	56
5.2.2	Avaliação do efeito da temperatura de aplicação de coberturas de amidos nativos e modificados de milho e mandioca no teor de carotenóides de fatias de abóbora seca a 70 °C.....	58
6	CONCLUSÕES.....	62
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

Frutas e hortaliças são as mais importantes fontes de carotenóides e devem ser consumidas regularmente. Dentre as hortaliças, algumas variedades de abóboras destacam-se não só pelo valor nutricional devido ao elevado teor de carotenóides pró-vitamínicos A, mas também pelo seu papel sócio-econômico, fazendo parte da alimentação básica de várias regiões do País. A variedade Rajada Seca apresenta alto rendimento de polpa e cor alaranjada intensa, características desejáveis para obtenção de produtos processados. A atrativa coloração dessa variedade se deve à presença de α -caroteno e β -caroteno em altas concentrações.

A secagem ou desidratação é uma técnica simples e muitas vezes menos dispendiosa que outras técnicas de conservação de alimentos, sendo, portanto, muito utilizada por apresentar vantagens adicionais como maior vida de prateleira, facilidade no transporte e comercialização dos produtos. No entanto, pode provocar alterações de cor e sabor e perda de nutrientes, decorrentes da exposição ao oxigênio e a temperaturas relativamente elevadas, principalmente quando realizada de forma convencional com ar aquecido. Assim, aplicação de tratamentos prévios a secagem, com o objetivo de melhorar a aparência, sabor, textura e retenção dos nutrientes, tem despertado o interesse de pesquisadores nos últimos anos.

O branqueamento e a desidratação osmótica têm recebido grande atenção, já que, quando realizados anteriormente à secagem convencional, resultam em produtos finais com melhores características sensoriais e nutricionais. No entanto, a desidratação osmótica pode apresentar o inconveniente de incorporação excessiva de solutos (sal ou açúcar) dependendo das condições em que é realizada. Assim a aplicação de coberturas comestíveis associada ou não a desidratação osmótica começou a ser estudada. Coberturas comestíveis são finas camadas de material digerível adicionadas sobre um alimento e sua aplicação antes da desidratação, pode reduzir a perda de aroma, cor e nutrientes pela redução da difusão de oxigênio para o interior do alimento, minimizar a incorporação de solutos e manter a integridade física do alimento desidratado.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivos avaliar o efeito da aplicação de coberturas a base de amido no teor de carotenóides de abóbora desidratada com ar aquecido a 70 °C e avaliar as melhores condições cromatográficas para análise de carotenóides de produtos processados.

2 OBJETIVOS

- estabelecer as melhores condições cromatográficas para análise de carotenóides de abóboras processadas utilizando coluna C₃₀ e fase móvel constituída de metanol e acetato de etila;
- avaliar as melhores condições de preparo e de aplicação de coberturas comestíveis a base de amido de milho, mandioca e batata em fatias de abóbora;
- avaliar o efeito da aplicação de coberturas a base de amido no teor de carotenóides de abóbora desidratada com ar aquecido a 70 °C.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Estrutura de carotenóides

Presente em todos os organismos fotossintéticos, os carotenóides são importantes pigmentos naturais responsáveis pela cor do amarelo ao vermelho de muitas frutas, flores, legumes, hortaliças, tubérculos e de alguns animais (pássaros, insetos, peixes e crustáceos) e microrganismos (leveduras).

Os animais não sintetizam carotenóides, mas os adquirem através da dieta absorvendo-os, seletivamente ou não, e acumulando-os sem ou com ligeira modificação, diferentemente de plantas superiores e alguns microrganismos, que por serem bioquimicamente capazes de sintetizar carotenóides, apresentam composição complexa enriquecida por precursores biossintéticos e derivados dos principais carotenóides (RODRIGUEZ AMAYA, 1999).

A estrutura básica dos carotenóides é de um tetraterpeno (C_{40}) formado por oito unidades isoprenóides (C_5H_8) unidas por ligações tipo “cabeça-cauda”, com exceção da posição central onde a ligação é do tipo “cauda-cauda” (DAVIES, 1976).

Essa estrutura pode ser modificada de várias maneiras através de hidrogenação, dehidrogenação, ciclização, migração de dupla ligação, encurtamento ou extensão da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de substituintes ou combinações de processos (Figura 1), resultando nos mais de 600 carotenóides naturais até hoje isolados e identificados (RODRIGUEZ AMAYA, 1993).

3.2 Propriedades e funções

Em tecidos fotossintéticos, os carotenóides desempenham a função de absorver luz nos comprimentos de onda onde a clorofila absorve pouco, proporcionando um recolhimento de luz numa faixa mais extensa de comprimento de onda. Estes pigmentos também exercem um papel essencial de fotoproteção. Quando a energia armazenada nas

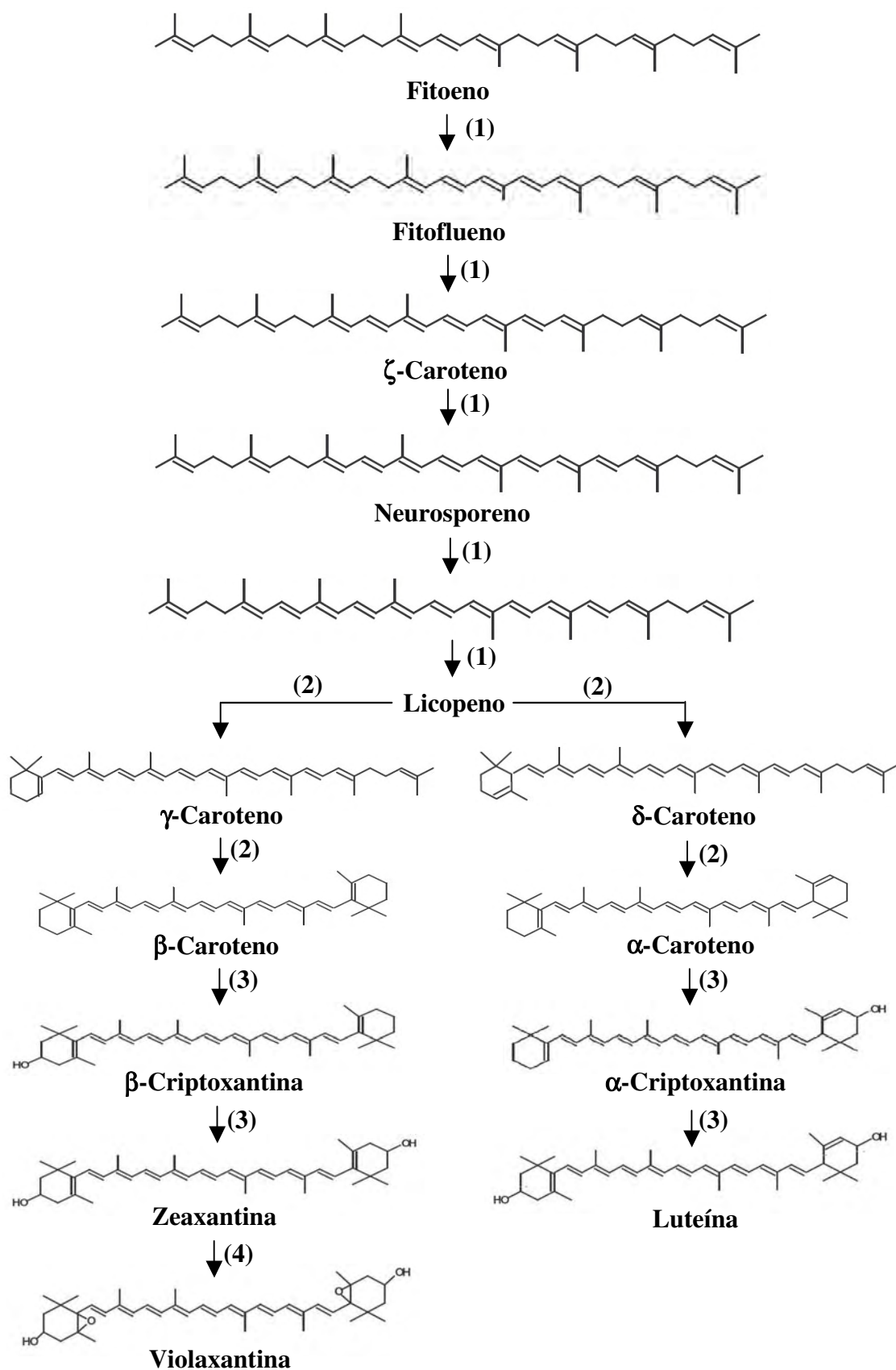


Figura 1 - Formação dos principais carotenóides em plantas. Reações: 1. dehidrogenação, 2. ciclização, 3. hidroxilação, 4. epoxidação.

clorofilas em estado excitado não é rapidamente extinta por transferência de excitação, estas podem reagir com oxigênio molecular para formar oxigênio singlete, que é extremamente reativo e pode danificar muitos componentes celulares, especialmente lipídeos (DEMMING ADAMS; GILMORE; ADAMS, 1996; McLAREN, 2002).

Nos alimentos, a função dos carotenóides é principalmente promover a cor. A estrutura característica de duplas ligações conjugadas gera um sistema de elétrons π que se desloca sobre toda a cadeia poliênica. Este sistema constitui o cromóforo de absorção de luz que confere aos carotenóides sua coloração atrativa e fornece o espectro de absorção visível de 400-500 nm que serve como base para sua identificação e quantificação. Pelo menos sete duplas ligações conjugadas são necessárias para que um carotenóide seja colorido e à medida que o comprimento do cromóforo é estendido, maior é a ressonância da molécula, ou seja, maior é o número de transições eletrônicas possíveis que ajudam a diminuir a energia do orbital molecular do composto, provocando a estabilização. Conseqüentemente, maior será o comprimento de onda no qual a molécula irá absorver energia. A ciclização coloca as duplas ligações conjugadas, que se encontram dentro dos anéis, fora do plano com aquelas da cadeia poliênica, causando um deslocamento hipsocrômico (deslocamento do comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\text{máx}}$) para um comprimento menor), efeito hipocrômico (decréscimo na absorvância) e perda da estrutura fina (BRITTON, 1995).

Desta maneira, o ζ -caroteno com sete duplas ligações confere uma coloração amarela, o licopeno com onze duplas ligações conjugadas apresenta coloração vermelha e o monocíclico γ -caroteno e o dicíclico β -caroteno, embora tenham onze duplas ligações conjugadas como o licopeno, apresentam coloração laranja-avermelhada e laranja, respectivamente (RODRIGUEZ AMAYA, 1999).

Além do poder corante, funções e ações biológicas são atribuídas aos carotenóides, sendo a atividade pró-vitáminica A a função fisiológica mais conhecida. A ingestão insuficiente de vitamina A ou de seus precursores, durante um período expressivo, leva a cegueira e tem resultado em taxas muito altas de mortalidade (60 %), principalmente em crianças (RODRIGUEZ AMAYA, 2004).

Em países em desenvolvimento, onde os produtos de origem animal (fontes de vitamina A pré-formada) não são economicamente acessíveis a grande parte da população, a vitamina A da dieta é proveniente principalmente de carotenóides pró-vitamínicos tais como α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina.

A transformação dos carotenóides pró-vitâmicos em vitamina A ocorre por clivagem simétrica (mecanismo principal), onde o carotenóide é dividido ao meio formando duas moléculas de retinal no caso do β -caroteno ou uma molécula no caso dos demais carotenóides pró-vitâmicos A, que são posteriormente transformadas em retinol (Figura 2). Alternativamente, pode ocorrer clivagem assimétrica em que segmentos são retirados de uma das extremidades da molécula do carotenóide, formando apocarotenóides e eventualmente retinal (OLSON, 1999, apud NIIZU, 2003, p. 5).

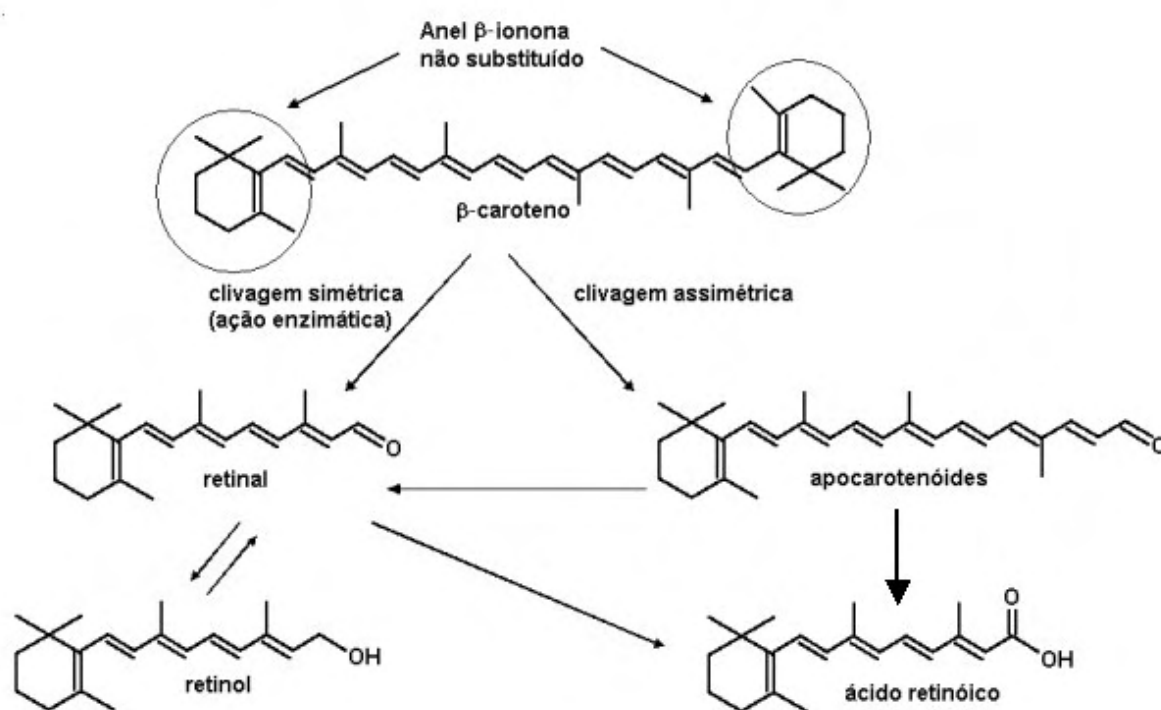


Figura 2 - Clivagem simétrica e assimétrica do β -caroteno. Fonte: Adaptado de Ambrósio; Campos; Faro (2006).

A biodisponibilidade e bioconversão de carotenóides são influenciadas pela quantidade e estrutura do carotenóide ingerido, bem como da matriz do alimento em que ele se encontra (CASTENMILLER; WEST, 1998). Também são afetadas por fatores intrínsecos ao indivíduo como estado nutricional e presença de doenças que podem interferir na absorção dos carotenóides (OLSON, 1999, apud NIIZU, 2003, p. 5).

Até o ano de 2001, o valor de vitamina A dos alimentos era expresso em RE (equivalente de retinol) considerando a equivalência, recomendada pela FAO/WHO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação/Organização Mundial da Saúde), entre 1 µg de retinol e 6 µg de β-caroteno ou 12 µg de outros carotenóides pró-vitamínicos (WEST; EILANDER; VAN LIESHOUT, 2002).

Em 2001, o conceito de RAE (equivalente de atividade de retinol) foi introduzido, utilizando fator de conversão de vitamina A de 12 µg de β-caroteno ou 24 µg de outros carotenóides pró-vitamínicos A equivalendo a 1 µg de retinol (TRUMBO et al., 2001).

No entanto, este novo fator tem sido visto com cautela e apresentação paralela dos teores de carotenóides tem sido recomendada, visto que o conceito de RAE foi baseado nos resultados de avaliação de bioeficácia dos carotenóides de uma dieta mista consumida por pessoas em bom estado nutricional de países desenvolvidos e de acordo com Nestel; Trumbo (1999), a bioconversão de carotenóides é maior em populações que apresentam deficiência de vitamina A.

A partir da década de 90, outras funções biológicas como diminuição do risco de doenças cardiovasculares e de certos tipos de câncer, fortalecimento do sistema imunológico, prevenção de degeneração macular e formação de catarata têm sido atribuídas aos carotenóides e independem da atividade pró-vitâmica A.

Tais efeitos benéficos à saúde humana têm sido atribuídos à propriedade antioxidante dos carotenóides, através da desativação de radicais livres e seqüestro de oxigênio singlete (KRINSKY, 1994). Como a capacidade de seqüestrar oxigênio singlete está associada ao número de duplas ligações conjugadas, o licopeno é considerado o mais eficiente antioxidante (CLINTON, 1998 apud NIIZU, 2003, p. 7).

Uma associação positiva entre ingestão ou nível plasmático dos carotenóides e proteção contra doenças cardiovasculares foi relatada em inúmeros trabalhos revisados por Kaliora; Dedoussis; Schmidt (2006), Kohlmeier; Hastings (1995), Palace et al. (1999) e Rissanen et al. (2002). Licopeno foi o carotenóide mais correlacionado, mas outros micronutrientes da dieta com capacidade antioxidante tais como α-tocoferol, ascorbato e flavonóides também podem ter contribuído para a menor susceptibilidade de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) aos danos oxidativos.

Chen et al. (2001) mostraram que uma dieta rica em produtos derivados de tomate, que contém licopeno e outros fitoquímicos, pode reduzir danos oxidativos do DNA do

leucócito e danos oxidativos nos tecidos da próstata em pacientes já diagnosticados com câncer.

O sistema imunológico é particularmente vulnerável a danos oxidativos, pois muitas células desse sistema produzem moléculas reativas de oxigênio como parte do mecanismo de defesa do corpo (HUGHES, 2001). Estudos indicaram que a administração de carotenóides em animais e a suplementação de β -caroteno em humanos mostrou efeito estimulador variável sobre a resposta imune frente a diferentes tipos de infecções (CHEW; PARK, 2004; HUGHES, 2001; SEMBA, 1999).

Além da atividade antioxidante, outros mecanismos são propostos para justificar a ação protetora dos carotenóides, contra o câncer: modulação do metabolismo de carcinógenos (CHEN et al., 2001), inibição da proliferação celular (COLLINS, 2001) e aumento dos canais de comunicação intercelular, que parece estabilizar as células iniciadas (células com material genético alterado, podendo ou não resultar em mutação), e conseqüentemente, evitar a transformação em células malignas (TROSKO; CHANG, 2001).

De acordo com Ahmed; Lott; Marcus (2005), Nolan et al. (2007), Schalch et al. (2000) e Semba; Dagnelie (2003), diversos estudos sugerem associação direta entre elevada ingestão de luteína e zeaxantina e diminuição no risco de degeneração macular relacionada à idade e formação de catarata. A proteção exercida por estes dois pigmentos encontradas na retina é atribuída à ação antioxidante e filtragem de luz azul, considerada a mais energética e, portanto, a que produz maiores danos aos nervos óticos.

3.3 Análise de carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência

Pelo fato das funções e ações biológicas dos carotenóides apresentarem relação direta com a sua estrutura, aprimoramento das metodologias de análise, para obtenção de separação completa e, conseqüentemente, quantificação individual e confiável desses compostos, tem sido objeto de intenso estudo nas últimas décadas.

A utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para análise de carotenóides representou um grande avanço devido ao seu maior poder de resolução, maior reprodutibilidade, uso de colunas reutilizáveis, além de separações rápidas com menos exposição dos carotenóides à degradação (uso sob condições controladas, sem exposição indevida ao ar e à luz).

A modalidade de CLAE mais utilizada pelos pesquisadores é a fase reversa com coluna monomérica C_{18} . Este tipo de coluna apresenta larga diversidade e grande disponibilidade comercial, menor custo, possibilita o uso de solventes comuns, são reprodutíveis e podem proporcionar boa separação dos principais carotenóides naturalmente encontrados em alimentos, com ordem de eluição lógica que facilita a identificação dos compostos (KIMURA; RODRIGUEZ AMAYA, 2003). Contudo, em amostras processadas, onde isômeros geométricos estão presentes em número e concentrações mais elevadas, a quantificação de carotenóides pode ser dificultada por possíveis co-eluições de compostos *cis* e *trans*, principalmente quando carotenóides estruturalmente similares como os pares α -caroteno e β -caroteno (Figuras 3 e 4, respectivamente) e luteína e zeaxantina, estão presentes.

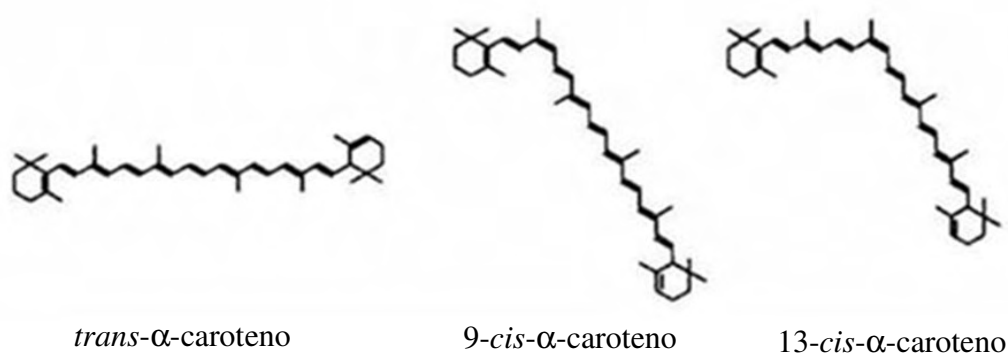


Figura 3 – Principais isômeros geométricos do α -caroteno.

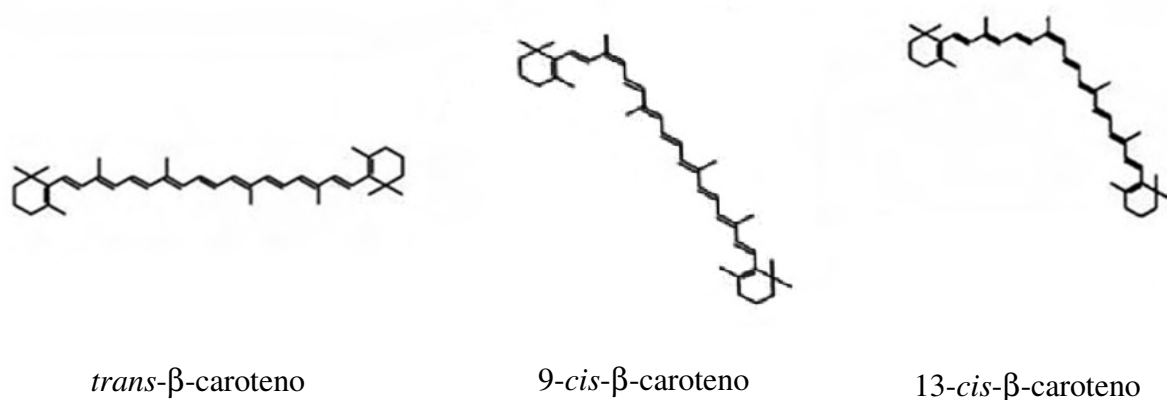


Figura 4 – Principais isômeros geométricos do β -caroteno.

Embora a eficiência de separação destas colunas tenha sido melhorada devido ao desenvolvimento de fases estacionárias poliméricas, diminuição do tamanho das partículas e diâmetro das colunas, tais avanços não superaram a elevada seletividade apresentada pela coluna com fase estacionária polimérica C₃₀ desenvolvida por Sander et al. (1994).

O potencial oferecido pela coluna polimérica C₃₀, com fase estacionária de 5 µm, foi primeiramente demonstrado na separação de uma mistura de padrões de carotenóides polares (astaxantina, capsantina, cantaxantina, equinenona, luteína, zeaxantina e β-criptoxantina) e apolares (*trans*-α-caroteno, *trans*-β-caroteno e os isômeros 15-*cis*-, 13-*cis*- e 9-*cis*-β-caroteno, δ-caroteno e licopeno) utilizando fase móvel composta de metanol:éter metil terc-butil:água e gradiente linear de 81:15:4 para 6:90:4 em 90 min, com uma vazão de 1 mL/min) (Figura 5).

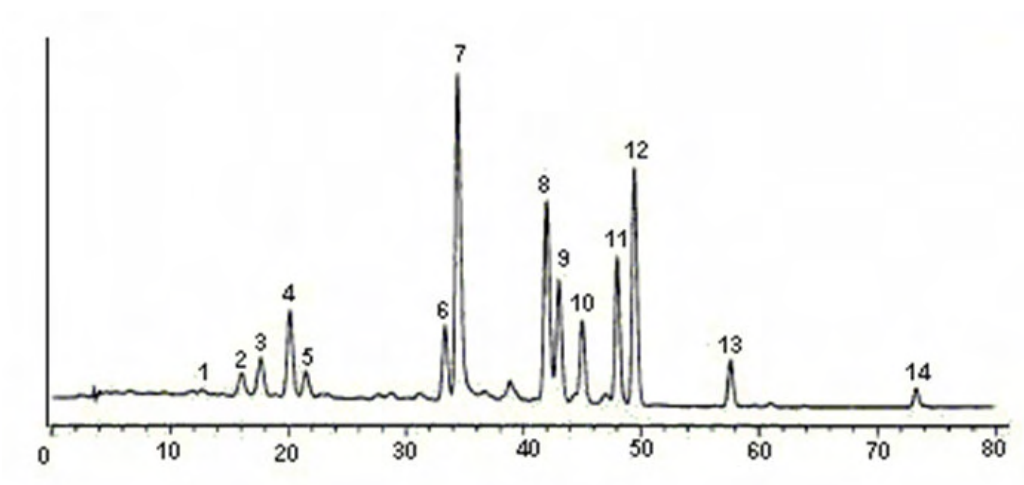


Figura 5 - Separação de padrões de carotenóides por coluna polimérica C₃₀. Identificação dos picos: 1. astaxantina, 2. capsantina, 3. luteína, 4. zeaxantina, 5. cantaxantina, 6. β-criptoxantina, 7. equinenona, 8. 15-*cis*-β-caroteno, 9. 13-*cis*-β-caroteno, 10. α-caroteno, 11. *trans*-β-caroteno, 12. 9-*cis*-β-caroteno, 13. δ-caroteno, 14. licopeno. Fonte: Adaptado de Sander et al. (1994).

A alta seletividade voltada para carotenóides polares e apolares, bem como para seus isômeros geométricos *cis*, tem sido atribuída em grande parte às dimensões da fase estacionária (25-30 Å) que são comparáveis às dimensões de alguns carotenóides como, por exemplo, o *trans*- β -caroteno (Figura 6) proporcionando uma interação mais completa entre as moléculas (EMENHISER et al., 1996; SANDER et al., 1994; SHARPLESS et al., 1996).

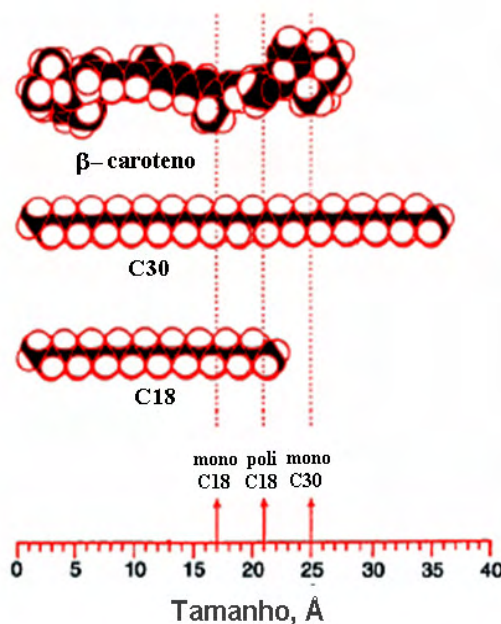


Figura 6 - Comparação da espessura das fases estacionárias C₁₈ e C₃₀ com o tamanho molecular do β -caroteno. Fonte: Adaptado de Sander et al. (1994).

Longo tempo de análise (90 min) foi necessário para a separação cromatográfica devido a maior interação dos analitos, principalmente dos polares, com os grupos silanóis livres da fase estacionária não capeada (SANDER et al., 1994). Os autores ressaltaram, no entanto, que as condições cromatográficas empregadas no referido estudo foram selecionadas apenas para facilitar a comparação dos resultados obtidos por coluna C₃₀ com os obtidos pelas colunas C₁₈, e podem ser modificadas de acordo com os compostos de interesse para reduzir os tempos de análise.

A escolha da combinação coluna-fase móvel é o principal fator limitante para o sucesso da separação cromatográfica e recuperação dos carotenóides (CHEN; CHEN, 1994; CRAFT; SANDER; PIERSON, 1990; CRAFT; WISE; SOARES JR, 1992; EMENHISER; SANDER; SCHWARTZ, 1995; EPLER; ZIEGLER; CRAFT, 1993; EPLER,

et al., 1992; HART; SCOTT, 1995; KIMURA; RODRIGUEZ AMAYA, 2003; LEE; CHEN, 2001; NELIS; DE LEENHEER, 1983; SANDER; SHARPLESS; PURSCH, 2000).

As propriedades mais importantes a serem consideradas para a escolha da fase móvel são o custo, polaridade, seletividade, viscosidade, volatilidade e toxicidade. As fases móveis normalmente utilizadas são constituídas de metanol e/ou acetonitrila com adição de pequenas quantidades de outros solventes como modificadores e aditivos.

O metanol possui a vantagem de ser mais barato, menos tóxico e apresenta maior recuperação dos carotenóides. No entanto, sua viscosidade é mais alta, o que aumenta a pressão do sistema. Acetonitrila apresenta melhor eficiência para separação de xantofilas, e é menos viscoso, mas apresenta menor recuperação, que pode ser melhorada pela adição de trietilamina (EPLER; ZIEGLER; CRAFT, 1993; HART; SCOTT, 1995).

Como modificador, podem ser utilizados solventes como: tetrahydrofurano (THF), diclorometano, propanol, acetato de etila, éter metil terc-butil e outros éteres. A eficiência de cada um depende dos carotenóides a serem separados e da fase estacionária utilizada (KIMURA; RODRIGUEZ AMAYA, 2003).

Para a coluna C₃₀, o modificador mais usado é o éter metil terc-butil. Este modificador apresenta boa seletividade e recuperação de carotenóides da coluna, porém alto custo e atualmente baixa disponibilidade comercial, o que representa um fator limitante para o uso desta modalidade de coluna.

Outra variável que influencia na seletividade e recuperação dos carotenóides em coluna com fase estacionária C₃₀ é a temperatura (ALBERT, 1998; BELL; SANDER; WISE, 1997; BÖHM, 2001). Quando a separação de apenas uma classe de carotenóides é requerida, as temperaturas mais baixas são recomendadas. Por outro lado, temperaturas mais altas devem ser empregadas quando uma melhor seletividade para diferentes classes de carotenóides com diferentes comportamentos é necessária (BELL; SANDER; WISE, 1997).

3.4 Composição de carotenóides de abóboras

A abóbora pertence à família das Cucurbitaceae que engloba mais de 800 espécies de plantas, agrupadas em cerca de 80 gêneros (BALDIN; CAETANO; LARA, 2002), sendo que muitas variedades de abóboras têm grande importância na horticultura mundial (RAMOS et al., 2007).

Muito apreciadas pela diversidade de coloração, textura e formato, as abóboras podem ser consumidas em vários estádios de desenvolvimento dos frutos, desde imaturo a completamente maduro e, quando maduros, podem ser armazenados durante meses. Uma comparação entre quatro pesquisas do IBGE (ENDEF 1974/75 e POF 1987/1988, 1995/1996 e 2002/2003) que investigaram o consumo das famílias brasileiras revelou que, ao longo de quase 30 anos, o consumo per capita de abóbora apresentou um expressivo aumento de 1,6 kg para 4,2 kg (IBGE, 2004), e na Ceagesp (Centro de Abastecimento Geral do Estado de São Paulo), maior entreposto da América Latina, existe um pavilhão exclusivo para a comercialização desse produto, que somente em 2004 vendeu 31 mil toneladas (ABÓBORA, 2005).

A atrativa coloração das abóboras se deve a presença de carotenóides, cuja composição já foi investigada por pesquisadores de vários países, demonstrando diferenças quali e quantitativa dependendo da variedade, região de cultivo e provavelmente tempo de estocagem (Tabela 1).

3.5 Efeito do processamento no teor de carotenóides de alimentos

Os carotenóides presentes nos alimentos *in natura* encontram-se naturalmente protegidos pela complexa estrutura do tecido vegetal. Entretanto, o rompimento da estrutura celular dos alimentos, inevitável para realização de diversas operações como descascamento, corte e/ou desintegração que antecedem o processamento térmico dos alimentos, aumentam a área superficial e, por conseguinte, à exposição dos carotenóides ao oxigênio, bem como os colocam em contato com enzimas oxidativas e à luz, dando início a uma série de reações de degradação (isomerização, oxidação e epoxidação).

A isomerização dos compostos *trans*-carotenóides, configuração mais abundante na natureza, aos isômeros *cis* é promovida pelo contato com ácidos, calor e exposição à luz, resultando em ligeira perda de cor e atividade biológica.

TABELA 1: Teor de α -caroteno e de β -caroteno de diferentes variedades de abóboras ($\mu\text{g/g}$).

Variedade	estádio	Origem	α -caroteno	β -caroteno	referência
Rajada Seca	madura	Brasil	20	29	6
Menina verde	imatura	Brasil	0,1	1,5	1
	madura	Brasil	23	39	1
			27	67	3
			17	24	4
Baianinha	madura	Brasil	47	235	2
Goianinha	madura	Brasil	-	5,4	3
Burpee Butterbush	madura	Áustria	1,0	3,1	5
Long Island Cheese			5,9	7,0	5
Mousqueé de Provence			2,8	4,9	5
Martinica			1,6	5,4	5
Jerimum Caboclo	madura	Brasil	0,4	21	2
Exposição	madura	Brasil	0,1	17	1
			-	15	3
Uchiki Kuri	madura	Áustria	1,4	2,5	5
Flat White Boer			7,5	6,2	5
Umber Cup			0,8	3,7	5
Hyvita			1,0	2,5	5
Buen Gusto			1,0	3,3	5
Gelber Zentner			-	2,2	5
Mini Green Hubbard			0,4	1,4	5
Autumn Cup			0,8	5,2	5
Imperial Elite			1,1	7,4	5
Snow Delite			1,5	6,4	5
Walfish			0,9	4,3	5
Japan 117			1,0	7,2	5
Híbrido Tetsukabuto	madura	Brasil	0,2	13	1
			traços	31	3
	madura	Áustria	2,4	3,5	5
Mogango	madura	Brasil		5,4	3
Acorn Table	madura	Áustria	0,2	2,1	5
Acorn Tay Bell			0,2	0,9	5
Tonda Padana			0,1	2,3	5
(Americano)					
Carneval di Venezia			traços	0,1	5
Melonette Jaspée Vende			0,1	1,3	5
Não especificada	madura	Coréia	10	79	7

1. ARIMA; RODRIGUEZ AMAYA, 1988; 2. ARIMA; RODRIGUEZ AMAYA, 1990; 3. AZEVEDO MELEIRO, 2003; 4. GODOY; RODRIGUEZ AMAYA, 1998; 5. MURKOVIC; MÜLLEDER; NEUNTEUFL, 2002; 6. NASCIMENTO, 2006; 7. SEO et al., 2005.

A oxidação, principal causa da degradação de carotenóides, ocorre sob contato com oxigênio, exposição à luz, calor, presença de enzimas, metais e peróxidos e pode ser inibida por antioxidantes. Geralmente é aceito que os estágios iniciais da oxidação envolvem a epoxidação e clivagem para apocarotenóides e, para compostos de baixo peso molecular, similares àqueles produzidos na oxidação dos lipídeos. Além de perda de cor e atividade biológica, estes compostos são responsáveis pelo desenvolvimento de *off-flavour* em alguns alimentos como cenoura e batata doce (RODRIGUEZ AMAYA, 2002).

3.5.1 Efeito da secagem

A secagem é uma das técnicas de conservação mais utilizada pela indústria de alimentos, pois promove diminuição da disponibilidade de água para reações químicas e bioquímicas deteriorativas, bem como para o crescimento microbiano, aumenta a vida de prateleira e permite estocagem e transporte a temperatura ambiente. Além disso, o peso e volume de alimentos desidratados são menores, o que facilita e diminui os custos de transporte e armazenamento. No entanto, pode comprometer a qualidade sensorial e nutricional dos produtos devido às alterações de cor e sabor, compactação e principalmente, perda de nutrientes.

Devido a grande importância dos carotenóides, avaliação da sua retenção durante o processo de secagem tem sido bastante estudada.

Perdas de α -caroteno, β -caroteno e carotenóides totais de 36, 35 e 38 %, respectivamente, foram relatados por Pinheiro Sant'Ana et al. (1998) durante a secagem de cubos de cenouras em estufa com circulação de ar a 65 °C.

Suvarnakut; Devahastin; Mujumdar (2005) estudaram a cinética de degradação de β -caroteno de cubos de cenoura verificando o efeito da secagem com ar aquecido, secagem a vácuo e secagem a baixa pressão com injeção de vapor na câmara do secador (LPSSD) a 60, 70 e 80 °C. Nos três tipos de secadores, o aumento da temperatura de secagem acarretou menores retenções do β -caroteno por acelerar o processo de oxidação. As cenouras secas em secador a LPSSD apresentaram as menores perdas (17, 24 e 26 %, respectivamente) quando comparado com as secas nos secadores a vácuo (26, 29 e 32 %, respectivamente) e com ar aquecido (38, 38 e 42 %, respectivamente), devido ao baixo nível de oxigênio livre no ambiente da câmara do secador e menor temperatura do produto.

Prakash; Jha; Datta (2004) também observaram perda de β -caroteno em fatias de cenouras, com teor inicial de 158 $\mu\text{g/g}$, submetidas à secagem em três tipos de secadores: secador solar com temperatura máxima de 55 °C, secador de leito fluidizado com temperaturas de 50 °C, 60 °C e 70 °C e secador por microondas (650 W) em três diferentes potências (2, 3 e 4). Os teores remanescentes nas amostras secas em secador de leito fluidizado, secador por microondas e secador solar foram de 146-147 $\mu\text{g/g}$, de 126-129 $\mu\text{g/g}$ e 93 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. As retenções de β -caroteno não foram influenciadas pelas diferentes temperaturas utilizadas no leito fluidizado, nem pela diferença de potência no secador de microondas.

Ndawula; Kabasa; Byaruhanga (2004) compararam o efeito da secagem por exposição direta ao sol e por dois secadores solares com diferentes coberturas (“visqueen” e polietileno) no teor de β -caroteno de fatias de manga. A maior perda (94 %) foi observada na secagem direta ao sol, devido à exposição direta à radiação solar, particularmente aos raios ultravioleta (UV) que catalisaram a oxidação do β -caroteno, bem como ao maior tempo de secagem (6 dias) quando comparado aos outros secadores (3 e 4 dias). Embora as amostras secas em secador coberto com “visqueen” tenham apresentado menor perda de β -caroteno quando comparadas com as secas em secador coberto com polietileno (73 versus 84 %), nenhuma diferença significativa foi observada no teor de β -caroteno.

Pott et al. (2003) avaliaram o efeito da secagem, com ar aquecido e por secador solar, no teor de β -caroteno de fatias de quatro variedades de manga. As variedades ‘Kent’ e ‘Tommy Atkins’ apresentaram teor inicial de *trans*- β -caroteno de 45,80 e de 36,50 $\mu\text{g/g}$, respectivamente, e após secagem com ar aquecido a 75 °C, perda de 7 e de 31 %, respectivamente. Os autores observaram aumento significativo na quantidade relativa de isômeros *cis* para mangas das variedades Kent e Tommy Atkins de 24,4 para 36,8 % e de 25,8 para 37,1 %, respectivamente, com formação predominante do isômero 13-*cis*- β -caroteno, provavelmente devido à alta temperatura de secagem. As mangas ‘Namdok Mai’ e ‘Kaew’, com teor inicial de 36,5 e de 116,80 $\mu\text{g/g}$, respectivamente, quando desidratadas em secador solar (60 a 62 °C) apresentaram perdas de 34 e de 42 % no teor de *trans*- β -caroteno, respectivamente. De acordo com os autores, a exposição à luz durante o período de secagem (7,5 horas) acarretou formação de elevado teor de 9-*cis*- β -caroteno, e conseqüente aumento na quantidade relativa dos isômeros *cis* de 27,1 para 64,2 % em ‘Namdok Mai’ e de 19,1 para 51,0 % em ‘Kaew’.

Durante a secagem de purê de manga com ar aquecido a 40, 50, 60, 70, 80 e 90 °C, perdas diferenciadas em função da temperatura foram observadas por Guarte; Pott; Muhlbauer (2005), sendo que a maior retenção (75 %) foi conseguida a 80 °C. À temperatura de 90 °C, a taxa de retenção foi menor que 35 %, o que indicou prevalência da degradação oxidativa. Entretanto, temperaturas médias de 70 a 40 °C mostraram um aumento linear na degradação do *trans*- β -caroteno. Na faixa de temperatura de 50 a 60 °C e na temperatura de 40 °C, somente 55 e 42 % de retenção foi observado, respectivamente. De acordo com os autores, a elevada temperatura do ar durante a secagem pode ter sido responsável pela mais rápida inativação térmica da polifenol oxidase (PPO) e da lipoxigenase que apresentam atividade nas temperaturas entre 25 e 40 °C.

Negi; Roy (2000) verificaram o efeito de diferentes métodos de secagem na retenção de β -caroteno de vegetais folhosos, consumidos na Índia, previamente branqueados e imersos em solução de metabissulfito de potássio (0,5 %). As condições de secagem afetaram significativamente as retenções de β -caroteno nas amostras secas branqueadas que variaram de 18 a 41 % na secagem direta ao sol, de 21 a 49 % na secagem em secador solar e de 35 a 73 % na secagem em secador de cabine (65 ± 5 °C).

Devido aos problemas apresentados pela secagem convencional, muitos pesquisadores têm investido em tratamentos prévios à secagem, como branqueamento, desidratação osmótica e coberturas comestíveis combinadas ou não aos dois outros pré-tratamentos visando melhorar e/ou incrementar a qualidade sensorial e nutricional de vegetais desidratados.

3.5.1.1 Efeito do branqueamento no teor de carotenóides durante a secagem de vegetais

O branqueamento é um pré-tratamento requerido para muitas frutas e hortaliças para inativação de enzimas, visto que as temperaturas empregadas nos processos de secagem nem sempre são suficientemente altas para inativar enzimas, como peroxidase e lipoxigenase, que podem oxidar os carotenóides e, por conseguinte, reduzir o valor nutricional dos alimentos desidratados (BALOCH; BUCKLE; EDWARDS, 1977 apud BALOCH; BUCKLE; EDWARDS, 1986).

O efeito do branqueamento na retenção de β -caroteno de folhas de feijão caupi submetidas à secagem por exposição direta ao sol e em dois secadores solares com diferentes tipos de coberturas foi avaliado por Ndawula; Kabasa; Byaruhanga (2004). O emprego do pré-tratamento resultou em menores perdas de β -caroteno nas três condições de secagem (63 %, 51 % e 44 % para amostras não branqueadas versus 53 %, 34 % e 24 % para amostras branqueadas).

Koca; Burdurlu; Karadeniz (2005) estudaram o efeito do branqueamento (7 minutos em água a 90 °C) na degradação de carotenóides de cenouras em fatias, desidratadas em secador com ar aquecido a 60 °C. O teor de β -caroteno na amostra seca branqueada foi 28 % maior quando comparada à amostra levada à secagem sem branqueamento prévio.

Nascimento (2006) mostrou que o branqueamento (98 °C/2 minutos) realizado previamente à secagem apresentou efeitos diferentes dependendo da temperatura empregada durante a secagem de fatias de abóboras. À temperatura de 60 °C, o branqueamento prévio a secagem melhorou a retenção de α -caroteno e β -caroteno em 8 e 10 %, respectivamente, em comparação a secagem sem branqueamento. A 70 °C, o branqueamento também apresentou efeito positivo, mas em menor nível, principalmente na retenção de β -caroteno (10 e 6 %, respectivamente). A 80 °C, as retenções das amostras sem e com pré-tratamento não apresentaram diferença significativa. Estes resultados levaram o autor a crer que os carotenóides de abóboras sofreram degradação por processo enzimático e não enzimático, sendo que a degradação enzimática prevaleceu durante a secagem a 60 °C enquanto a degradação oxidativa não enzimática foi a principal causadora da baixa retenção durante a secagem a 80 °C.

3.5.1.2 Efeito da desidratação osmótica na retenção de carotenóides durante a secagem de vegetais

A desidratação osmótica é um processo de remoção de água do material celular dos vegetais que envolve a imersão do produto em soluções aquosas hipertônicas contendo um ou mais solutos. Devido à permeabilidade seletiva das membranas celulares que envolvem o conteúdo celular (BILDWEEL, 1979), que não são barreira para a transferência das moléculas de água, mas bloqueiam a passagem de solutos de elevado peso molecular,

geralmente se observa grande perda de água do tecido vegetal para a solução e menor transferência de solutos da solução para o sólido (MARCOTTE; LE MAGUER, 1991).

A escolha do soluto utilizado nas soluções é um fator fundamental por estar relacionado com as alterações nas propriedades organolépticas e no valor nutritivo do produto final, bem como de seu custo (LENART, 1996).

Dixon et al. (1976), Ponting (1973), Ponting et al. (1966) já destacavam as vantagens de submeter frutas a tratamentos prévios em soluções de açúcares antes da secagem, tendo como resultado a manutenção da cor e dos aromas, assim como redução da acidez.

Tomates pré-tratados com solução de sacarose 65 °Brix por 4 horas a 25 °C, seguidos de secagem a vácuo (55 °C) durante 4 a 8 horas, mostraram perda de apenas 2,4 % do teor inicial de licopeno, enquanto tomates não tratados apresentaram perdas de 3,2 %. Durante a secagem convencional a 95 °C, por 6 a 10 horas, tomates sem tratamento apresentaram perdas de 3,9 % (SHI et al., 1999). De acordo com os autores, o açúcar minimizou a exposição do tecido do tomate ao oxigênio reduzindo assim a degradação oxidativa.

Mauro; Garcia; Kimura (2005) constataram que a imersão de fatias de abóbora em solução de sacarose (60 %, p/p por 1 hora, a 27 °C), previamente a secagem com ar aquecido a 50 °C, resultou em aumento da retenção de 74 para 83 % de α -caroteno e de 77 para 88 % de β -caroteno, quando comparadas às fatias secas sem tratamento. Similarmente, as retenções foram maiores quando a amostra pré-tratada osmoticamente foi submetida à secagem com 70 °C (de 60 para 72 % de α -caroteno e de 66 para 76 % de β -caroteno, respectivamente). Além disso, o pré-tratamento contribuiu para obtenção de produtos desidratados com maior brilho e cor mais intensa.

Estudos avaliando o efeito de tratamento osmótico previamente a secagem de fatias de abóbora também foi realizado por Nascimento (2006). As fatias foram imersas em solução de 40 % de sacarose por 1 hora a temperatura ambiente e, posteriormente, desidratadas em secador com ar aquecido a 60, 70 e 80 °C. O pré-tratamento osmótico demonstrou efeito protetor durante a secagem nas três temperaturas avaliadas. Para temperatura de 60 °C, a amostra tratada osmoticamente apresentou aumento nas retenções de α -caroteno e β -caroteno em 4 e 10 %, respectivamente, quando comparada a amostra sem tratamento. A temperaturas mais elevadas de secagem, o pré-tratamento também demonstrou

efeito protetor, resultando em aumento de 8 e 5 % (70 °C) na retenção de α -caroteno e de 5 e 6 % (80 °C) na retenção de β -caroteno.

3.5.1.3 Efeito da aplicação de coberturas comestíveis na retenção de carotenóides durante a secagem de vegetais

Nas últimas décadas, a aplicação de coberturas comestíveis tem sido bastante estudada, com o objetivo de melhorar a textura e aumentar a vida de prateleira de alimentos *in natura* (AYRANCI; TUNC, 2004; BALDWIN et al., 1999; MACIEL et al., 2004; DAMASCENO et al., 2003; JAGANNATH et al. 2006; OLIVEIRA; CEREDA, 2003; VINCENTINI; CEREDA; CÂMARA, 1999; ZHANG; QUANTICK, 1997) e minimamente processados (BALDWIN et al., 1996; CHIEN; SHEU; YANG, 2007; HOWARD; DEWI, 1995, 1996; LI; BARTH, 1998; LEE et al., 2003).

Coberturas comestíveis também têm sido empregadas como pré-tratamento para melhorar a eficiência de desidratação e diminuir a incorporação de solutos durante o processo de desidratação osmótica (BRANDELERO et al., 2005; CAMIRAND et al., 1968; CAMIRAND et al., 1992; EMAM DJOMEH; DEHGHANNYA; GHARABAGH, 2006; MATUSKA; LENART; LAZARIDES, 2006; LENART; PIOTROWSKI, 2001; SHIGEMATSU, 2004).

Há indicativos que durante o processo de secagem, coberturas comestíveis exerçam efeito protetor em relação à oxidação de nutrientes, bem como contribuam para melhoria das características sensoriais do produto (BALOCH; BUCKLE; EDWARDS, 1981 apud BALOCH; BUCKLE; EDWARDS, 1986; BALOCH; BUCKLE; EDWARDS, 1986; ZHAO; CHANG, 1995).

As formulações dos filmes e coberturas devem incluir pelo menos um componente básico capaz de formar uma matriz adequada, contínua e coesa, que pode ser classificado em três categorias: polissacarídeos, lipídeos e proteínas (OLIVEIRA; CEREDA, 2003). Coberturas compostas por polissacarídeos geralmente apresentam boas propriedades de barreira ao oxigênio, particularmente sob condições de baixa umidade (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1995). Portanto, podem ser utilizados como componente básico para a formulação de coberturas comestíveis aplicadas como tratamento prévio à secagem.

Na busca por produtos desidratados de maior valor nutricional, Zhao; Chang (1995) avaliaram o efeito da aplicação de solução de amido de milho em cubos de cenoura previamente a secagem com ar aquecido a 90 °C por 2 horas e a 70 °C por 4 horas. Os cubos foram imersos na solução de amido a 2,5 % sob fervura por 3 minutos. O efeito combinado de branqueamento e aplicação de cobertura comestível resultou em produto desidratado com teor significativamente maior de α -caroteno (20 %), de β -caroteno (15 %) e de carotenóides totais (17 %), quando comparado à amostra controle (cubos de cenoura imersos em água destilada a 65 °C por 8 minutos). Os autores sugeriram que a cobertura adequadamente formada sobre a superfície das cenouras, impediu o contato dos pigmentos dos tecidos com o oxigênio do ar, o que minimizou a degradação dos carotenóides precursores de vitamina A presentes na cenoura.

Baloch; Buckle; Edwards (1986) avaliaram o efeito da aplicação a quente de cobertura a base de amido (2,5 %) sobre os carotenóides de cenouras desidratadas. As cenouras foram previamente branqueadas por 5 minutos para inativação de peroxidases e imediatamente imersas em solução de amido a 77 °C por 1 minuto. Como base para comparação, fatias foram imersas em água destilada também a 77 °C por 1 minuto (controle) previamente a secagem. As cenouras desidratadas submetidas ao pré-tratamento com cobertura apresentaram teor de carotenóides totais maior (836 $\mu\text{g/g}$) do que o controle (792 $\mu\text{g/g}$). De acordo com os autores, a aplicação da cobertura a quente possibilitou a formação de um revestimento uniforme que protegeu os carotenóides contra os danos causados pela exposição ao oxigênio durante o processo de secagem. Esse efeito protetor não foi observado quando a mesma cobertura foi aplicada a 25 °C, num estudo anterior realizado pelos mesmos autores.

Estes resultados evidenciaram a importância do método de aplicação sobre a eficácia das coberturas contra a degradação oxidativa dos carotenóides.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Avaliação das condições cromatográficas para análise de carotenóides de amostras processadas utilizando coluna C₃₀ e acetato de etila na fase móvel

Apesar de coluna polimérica C₃₀ ser a mais recomendada na análise de carotenóides de alimentos processados por CLAE, devido a maior eficiência de separação, principalmente de isômeros *cis* que normalmente estão presentes em concentrações mais elevadas em amostras processadas, o modificador éter metil terc-butil, normalmente empregado, apresenta custo elevado e atualmente, baixa disponibilidade comercial. Assim, fase móvel alternativa utilizando acetato de etila em substituição ao éter metil terc-butil foi avaliada e otimizada.

Alíquotas de mesmo volume de extratos de carotenóides de abóbora e de cenoura, *in natura* e processadas, foram transferidas para tubos com tampas, secas sob N₂ e mantidas sob congelamento até o início dos testes. No momento da injeção, o resíduo foi completamente redissolvido com acetona grau cromatográfico e filtrado em filtro PTFE 0,22 µm (Millipore) diretamente no ‘vial’ de amostra do cromatógrafo.

Os experimentos foram conduzidos em um cromatógrafo líquido (Waters modelo 2695), equipado com bomba quaternária, injetor automático, degaseificador a vácuo e detector UV-Visível de arranjo de diodos (Waters modelo 2996), ambos controlados pelo software Empower. A separação dos carotenóides foi realizada em uma coluna de fase reversa C₃₀ polimérica (YMC Carotenoid, 4,6 x 150 mm, 3 µm, não capeada), mantida em temperatura entre 25 e 25,5 °C.

Inicialmente, foi avaliada a eficiência de fase móvel constituída de metanol:acetato de etila na proporção de 80:20 e vazões de 0,5 e 0,8 mL/min para separação de *trans*-α-caroteno e de *trans*-β-caroteno de extrato de abóbora seca.

Verificada a necessidade de aumento da concentração do modificador e emprego de aditivos à fase móvel para melhoria da separação e recuperação dos carotenóides, diferentes proporções (80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40) de metanol:acetato de etila, sem e com adição de trietilamina (TEA), nas proporções de 0,05 % e 0,1 %, foram testadas com vazão de 0,5 mL/min.

Empregando-se a melhor condição cromatográfica (metanol:acetato de etila 70:30, com adição de 0,1 % TEA), o teor de *trans*- α e de *trans*- β -caroteno de amostras cruas e processadas de abóbora e cenoura obtidos em coluna C₃₀, foram comparados com aqueles obtidos em coluna de fase reversa C₁₈ monomérica (Spherisorb ODS₂, 4,6 x 150 mm, 3 μ m) utilizando fase móvel constituída de acetonitrila:metanol:acetato de etila (60:20:20) com 0,05 % de TEA e vazão de 0,5 mL/min (NIIZU; RODRIGUEZ AMAYA, 2005).

4.2 Avaliação do efeito da aplicação de coberturas comestíveis no teor de carotenóides de abóbora desidratada com ar aquecido

4.2.1 Materiais

Foram utilizadas abóboras maduras da variedade Rajada Seca (Figura 7) adquiridas no CEASA de São José do Rio Preto, SP. Os amidos nativos de milho, mandioca e batata foram adquiridos no mercado local. O amido modificado (estabilizado e acetilado) de mandioca, nome comercial Amidomax 5800, e o amido ácido modificado de milho, nome comercial Gomagill 50, foram fornecidos pela Cargill Agrícola S/A.



Figura 7 - Aparência externa da abóbora ‘Rajada Seca’.

4.2.2 Processamento

Para facilitar o manuseio, as abóboras foram cortadas transversalmente em três ou quatro peças (Figura 8 a) e em seguida, longitudinalmente em 6 ou 8 partes (Figura 8 b). Após o descascamento e remoção das sementes, as peças foram fatiadas (4,5 mm de espessura) utilizando um cortador elétrico (Figura 8 c). As fatias foram misturadas e porções de aproximadamente 45 unidades foram separadas em béqueres, sendo uma porção levada para secagem sem tratamento e as outras à aplicação de coberturas.

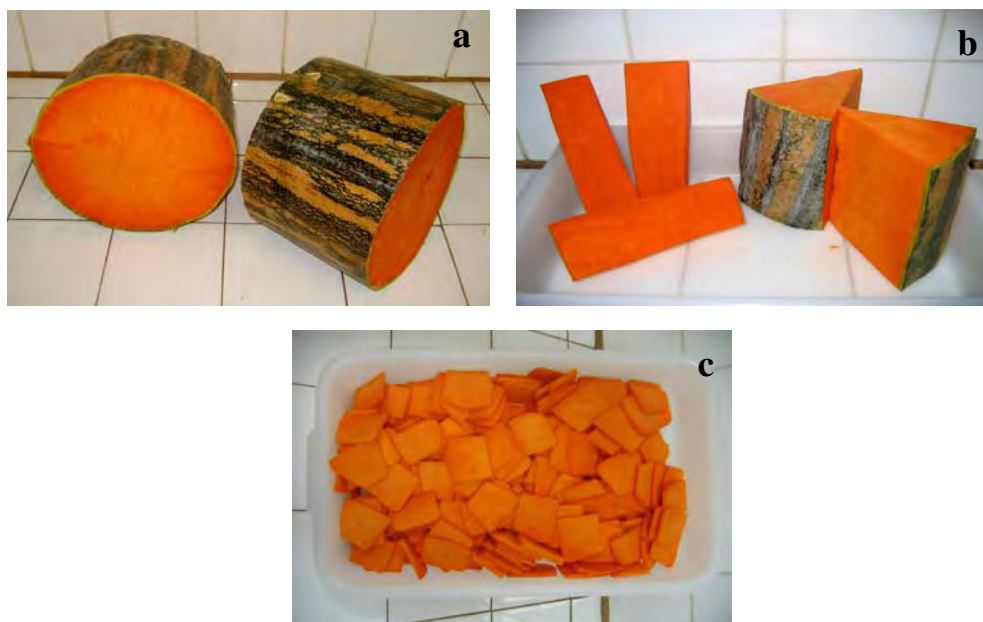


Figura 8 – Ilustração dos cortes (a) transversal e (b) longitudinal e fatiamento da abóbora (c).

4.2.3 Aplicação das coberturas comestíveis

Amidos de diferentes fontes botânicas apresentam faixas diferentes de temperatura de gelatinização, sendo menores para amidos de raízes e tubérculos que para amidos de cereais. Desta forma, testes foram realizados para avaliar a melhor forma de preparo de coberturas comestíveis a base de amidos nativos e modificados.

4.2.3.1 Estabelecimento da concentração mínima de amido, temperatura e tempo de aquecimento para formação de gel

Para estabelecer as condições de preparo das coberturas à base de amidos nativos de milho, mandioca e batata, um primeiro ensaio foi realizado com suspensões aquosas de 1,5 % (p/p) para determinar a melhor temperatura de formação do gel. Durante o aquecimento na faixa de 50 a 95 °C, amostras foram coletadas em intervalos de 5 °C, e colocadas em béqueres de 50 mL, para comparação dos géis após resfriamento.

Estabelecida a melhor temperatura para formação dos géis (90 °C para o amido de milho e 80 °C para os amidos de mandioca e batata), um segundo ensaio foi realizado para estabelecer o tempo de aquecimento necessário para formação de gel estável. Amostras foram coletadas a 2, 4, 6, 8 e 10 minutos após cada suspensão ter atingido a temperatura pré-estabelecida. Para todos os amidos, o melhor tempo de aquecimento foi 10 minutos e observou-se que suspensões aquosas com concentrações maiores de amido de milho e batata seriam necessárias para obtenção de gel estável.

Num terceiro ensaio, suspensões com diferentes concentrações (p/p) de amido de mandioca (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 %) e de milho e batata (1,5, 2,0, 2,5, 3,0 e 3,5 %) foram preparadas, amostras foram coletadas e colocadas em béqueres de 50 mL. Posteriormente, foram avaliadas visualmente quanto à consistência e uniformidade, após resfriamento, para determinação das concentrações mínimas necessárias para obtenção de gel capaz de formar um revestimento uniforme (cobertura) sobre toda a fatia.

Fatias de abóbora foram imersas, por 1 minuto, nos géis formadores de coberturas a 30 °C, drenadas e também avaliadas visualmente após secagem natural por 30 minutos. As concentrações mínimas estabelecidas foram de 2,5 % (p/p) para as suspensões aquosas de amido de milho e batata e de 1,5 % (p/p) para a suspensão aquosa de amido de mandioca.

Os géis de amidos modificados de milho e mandioca foram preparados de acordo com as instruções do fabricante: aquecimento da suspensão (p/p) de amido de mandioca (1,5 %) a 95 °C, sendo mantido nesta temperatura por 10 min; e aquecimento da suspensão (p/p) de amido de milho (2,5 %) a 90 °C, por 2 minutos.

4.2.3.2 Avaliação do efeito da concentração de amido e temperatura de aplicação da cobertura no teor de carotenóides de fatias de abóbora secas

Para avaliar o efeito da concentração da cobertura de amido no teor de carotenóides de fatias de abóbora secas, suspensões aquosas em três concentrações: 2,5, 3,0 e 3,5 % (p/p) para amidos nativos de milho e batata, e 1,5, 2,0 e 2,5 % (p/p) para amido nativo de mandioca foram preparadas e resfriadas a 30 °C e as fatias de abóbora foram imersas por 1 minuto.

Para avaliar o efeito da temperatura de aplicação no teor de carotenóides de fatias de abóbora secas, coberturas de amido nativos e modificados de milho e mandioca foram aplicadas (Figura 9) na temperatura de formação do gel (80, 90 e 95 °C) e na solução previamente resfriada (30 °C).

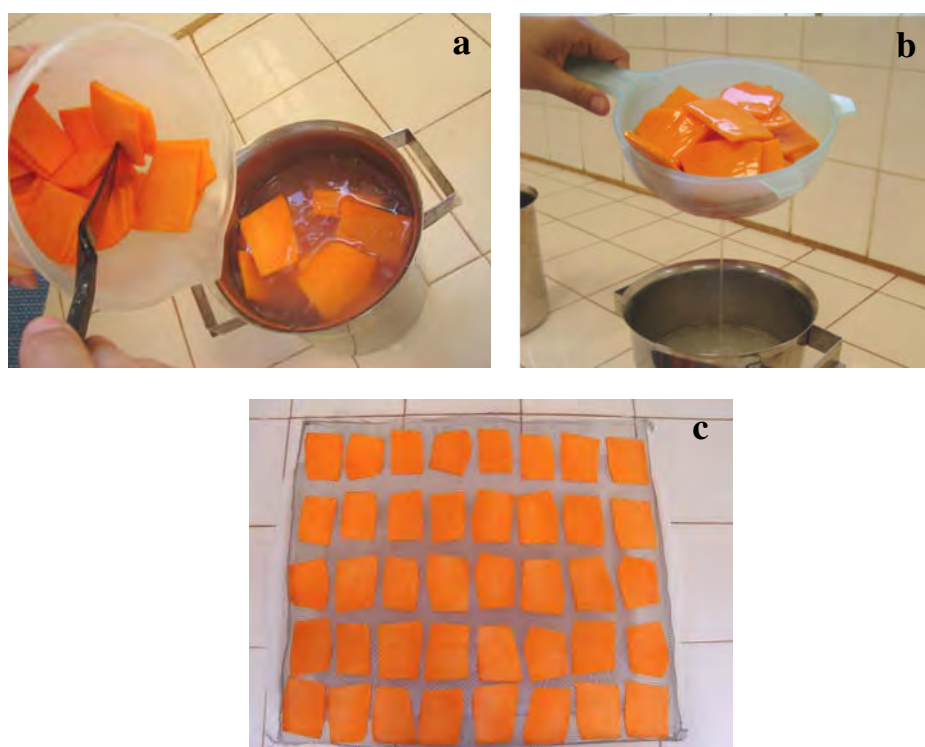


Figura 9 – Ilustração das etapas de aplicação de cobertura: (a) imersão das fatias na cobertura, (b) drenagem das fatias e (c) secagem preliminar das fatias cobertas a temperatura ambiente.

Durante a aplicação a quente, a temperatura da cobertura de amido nativo de milho diminuiu de 90 °C para 85 °C logo após a imersão das fatias e, para 76 °C no final do período de imersão (1 minuto). Similarmente, as temperaturas das outras coberturas diminuíram de 90 para 80 e para 75 °C (amido modificado de milho), de 80 para 74 e para 66 °C (amido nativo de mandioca) e de 95 para 90 e para 78 °C (amido modificado de mandioca).

Em seguida, as fatias foram drenadas e dispostas em bandejas de metal perfuradas. Para obter coberturas mais uniformes, as fatias foram secas naturalmente à temperatura ambiente, em local escuro, por 50 minutos, sendo giradas 180°, no sentido vertical, após 25 minutos.

4.2.4 Secagem

A secagem das fatias sem e com cobertura foram conduzidas até umidade de equilíbrio (entre 5 e 12 %) em estufa com circulação de ar a 70 °C, permanecendo as três primeiras horas com renovação de ar. Após a primeira hora de secagem, as fatias foram giradas verticalmente em 180°, para obtenção de secagem mais homogênea.

4.2.5 Métodos Analíticos

Para determinação de umidade e de carotenóides (*trans*- α -caroteno e *trans*- β -caroteno), amostras representativas de fatias de abóbora *in natura* e secas foram homogeneizadas em multiprocessador.

4.2.5.1 Determinação de umidade

O teor de umidade foi determinado em triplicata, através de secagem em estufa a 100 °C até peso constante, utilizando 4,0 g de amostra *in natura* e 2,0 g de amostras secas.

4.2.5.2 Análise de carotenóides

A análise de carotenóides foi realizada em duplicata no menor tempo possível e evitando ao máximo a exposição ao oxigênio, luz e temperaturas elevadas a fim de evitar degradação dos carotenóides.

Para facilitar a extração, as amostras *in natura* permaneceram por 20 minutos no solvente de extração e as amostras secas foram hidratadas em água destilada por 30 minutos, exceto para as amostras com cobertura aplicada a quente (60 minutos). Os carotenóides foram extraídos com metanol:tetrahidrofurano (1:1) utilizando homogeneizador Polytron (Kinematica AG, Suíça) seguido de filtração a vácuo em funil com placa de vidro sinterizado, repetindo-se o procedimento até que o resíduo se apresentasse destituído de cor (2 a 5 extrações de 1 minuto).

Em seguida os carotenóides foram transferidos em pequenas porções para aproximadamente 40 mL de éter de petróleo em um funil de separação com adição de água destilada. Após remoção completa do metanol e tetrahidrofurano, o extrato etéreo foi recolhido em frasco erlenmeyer e saponificado com igual volume de solução de metanol 10 % de KOH durante 14 horas, no escuro e a temperatura ambiente.

A lavagem do extrato saponificado foi feita de acordo com metodologia de De Sá; Rodriguez Amaya (2003). A fase de éter de petróleo foi lavada separadamente da fase metanólica. Acetona foi misturada à fase metanólica e os carotenóides foram transferidos gradualmente para éter etílico:éter de petróleo (10:90). Completada a transferência, o extrato foi lavado com mais cinco porções de água destilada e coletado em frasco fazendo-o passar por um funil de vidro contendo uma pequena porção de sulfato de sódio anidro para remoção da água residual.

Após remoção completa do éter, o resíduo foi completamente redissolvido com acetona grau cromatográfico e filtrado em filtro PTFE 0,22 µm (Millipore) diretamente no 'vial' de amostra do cromatógrafo.

A separação dos carotenóides foi realizada em coluna C₃₀ polimérica (YMC Carotenoid, 4,6 x 150 mm, 3 µm) mantida em temperatura entre 25 e 25,5 °C, utilizando fase móvel constituída de metanol:acetato de etila na proporção de 70:30 (0,1 % de TEA) a uma vazão de 0,5 mL/min.

A identificação dos picos foi realizada pela análise conjunta dos tempos de retenção, espectros de absorção obtidos pelo detector de arranjo de diodos e co-cromatografia com padrões que foram isolados de extrato de cenoura de acordo com metodologia de

Rodriguez Amaya (1999) e identificados a partir da análise conjunta do comportamento cromatográfico em coluna aberta, camada delgada e CLAE de acordo com metodologia descrita por Nascimento (2006).

A quantificação de cada carotenóide foi realizada por padronização externa a partir das áreas obtidas nos comprimentos de absorção máxima de cada carotenóide (446,4 nm para o *trans*- α -caroteno e 452,5 nm para o *trans*- β -caroteno).

4.3 Análise de dados

Para comparar o teor de *trans*- α -caroteno e *trans*- β -caroteno de abóbora e cenoura, *in natura* e processadas, obtidos com coluna C₁₈ e C₃₀, assim como avaliar o efeito da aplicação das coberturas comestíveis de amido nos teores de *trans*- α -caroteno e *trans*- β -caroteno de abóbora desidratada com ar aquecido, os dados foram submetidos à análise de variância e teste de médias Tukey com o auxílio do programa computacional ESTAT versão 2.0 (KRONKA; BANZATTO, 2004).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação do uso de acetato de etila como modificador de fase móvel constituída de metanol para análise de amostras processadas utilizando coluna C₃₀

O perfil de carotenóides de amostra de abóbora seca obtida com coluna C₃₀ e fase móvel constituída de metanol e acetato de etila é apresentado na Figura 10.

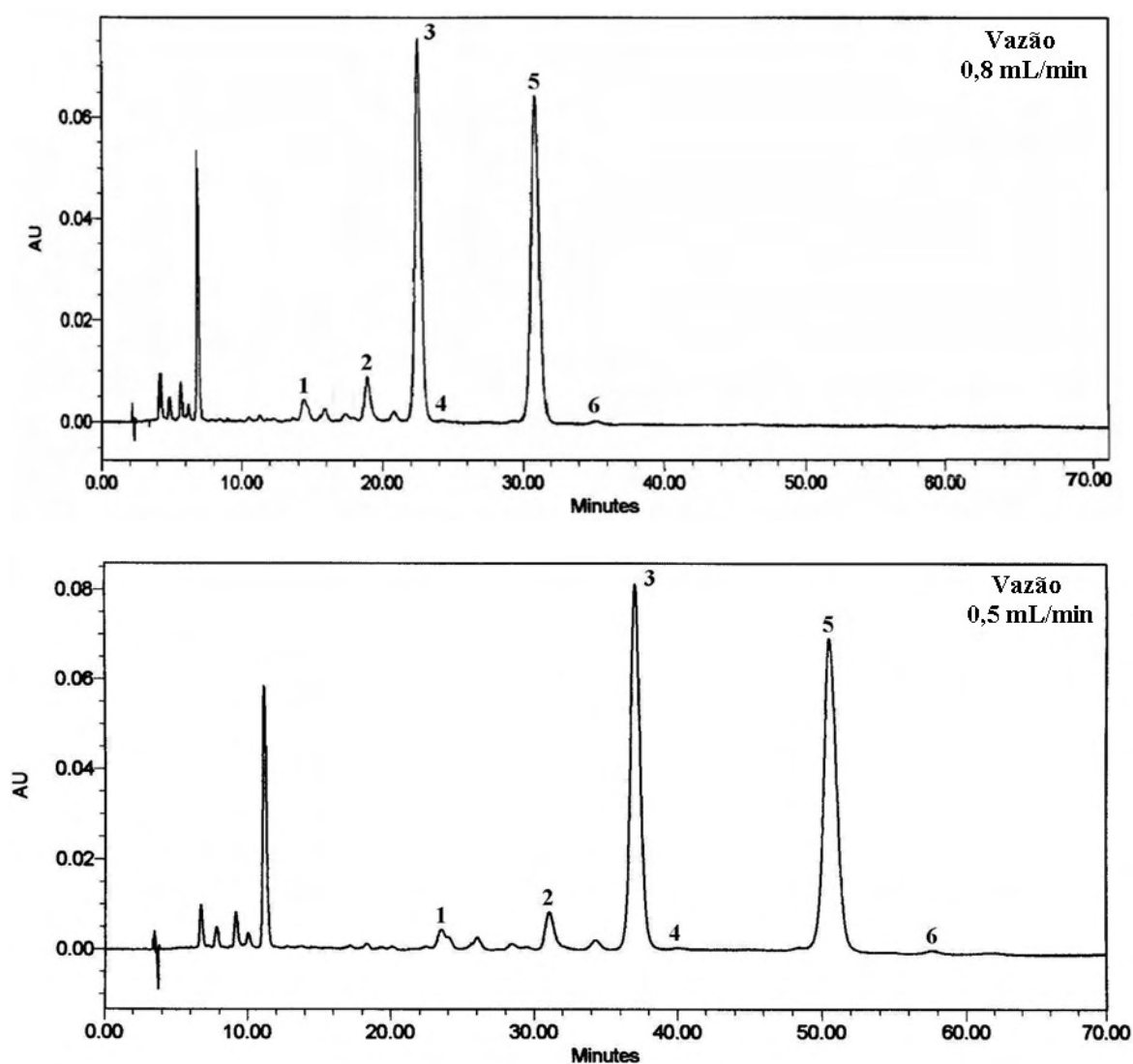


Figura 10 - Cromatogramas dos carotenóides de abóbora seca obtidos com coluna C₃₀, 3 μm, 4,6 x 150 mm e fase móvel metanol:acetato de etila (80:20) em diferentes vazões. Identificação dos picos: 1. 13-cis-α-caroteno, 2. 13-cis-β-caroteno, 3. trans-α-caroteno, 4. 9-cis-α-caroteno, 5. trans-β-caroteno, 6. 9-cis-β-caroteno. Detecção a 450 nm.

Trans-α-caroteno e *trans-β*-caroteno foram identificados pela análise conjunta dos tempos de retenção, espectros de absorção ($\lambda_{\text{máx}}$ e estrutura fina) e co-cromatografia com padrões.

Trans-α-caroteno apresentou espectro (Figura 11 a) com máximos de absorção e estrutura fina (Tabela 2) típicos de um carotenóide com nove duplas ligações conjugadas na cadeia poliênica e uma dupla em um anel β . A ausência de grupos substituintes indicada pela baixa retenção em coluna aberta e alto tempo de retenção em CLAE, foi confirmada pela cromatografia em camada delgada, na qual o pigmento eluiu com a frente do solvente.

Trans-β-caroteno mostrou espectro de absorção (Figura 11 d) com máximos à (425), 448, 475 em éter de petróleo e à (430), 453, 479 nm na fase móvel, com uma inflexão no lugar do pico a 430 nm, e estrutura fina de $\% \text{ III/II} = 25$ refletindo um cromóforo com onze duplas ligações, sendo duas duplas terminais em anéis. Além disso, tal como para o α -caroteno, o tempo de retenção em CLAE e comportamento cromatográfico na coluna aberta e camada delgada indicaram ausência de grupo funcional.

Os isômeros *cis* foram tentativamente identificados com base na ordem de eluição em coluna C_{30} e comparação das características espectrais no UV-Visível, considerando os comprimentos de onda de absorção máxima, estrutura fina e intensidade do pico *cis*, fornecidos pelo detector de arranjo de diodos, com dados da literatura.

Espectro de absorção (Figura 11 b) com estrutura fina parecida com a obtida pelo isômero *trans-α*-caroteno (Tabela 2), mas com um pequeno deslocamento hipsocrômico de 2 nm e aparecimento de um pico *cis* de baixa intensidade ($\% A_B/A_{II} = 5,5$) revelaram a transformação da forma *trans* para a forma *cis* e levaram à identificação tentativa do pico 4 como 9-*cis-α*-caroteno. Comparativamente ao espectro do 9-*cis-α*-caroteno, o 13-*cis-α*-caroteno apresentou espectro (Figura 11 c) com maior perda da estrutura fina ($\% \text{ III/II} = 32$) e um aumento da intensidade do pico *cis* ($\% A_B/A_{II} = 47$).

Comportamento semelhante foi observado para os isômeros *cis* do β -caroteno. O pico 6 tentativamente identificado como 9-*cis-β*-caroteno apresentou espectro de absorção (Figura 11 e) deslocado para um comprimento de onda ($\lambda_{\text{máx}}$) 7 nm menor com relação ao isômero *trans* e com presença de pico *cis* de baixa intensidade ($\% A_B/A_{II} = 4,4$). Já um espectro apresentando perda mais acentuada da estrutura fina ($\% \text{ III/II} = 12$), com deslocamento hipsocrômico de 8 nm associado ao aumento da intensidade do pico *cis* ($\% A_B/A_{II} = 42$) levou a identificação do pico 2 como 13-*cis-β*-caroteno.

Boa separação dos principais carotenóides (*trans*- α e *trans*- β -caroteno), bem como de seus respectivos isômeros, foi obtida utilizando fase móvel constituída de metanol:acetato de etila na proporção de 80:20 (v/v), utilizando vazões de 0,5 ou 0,8 mL/min.

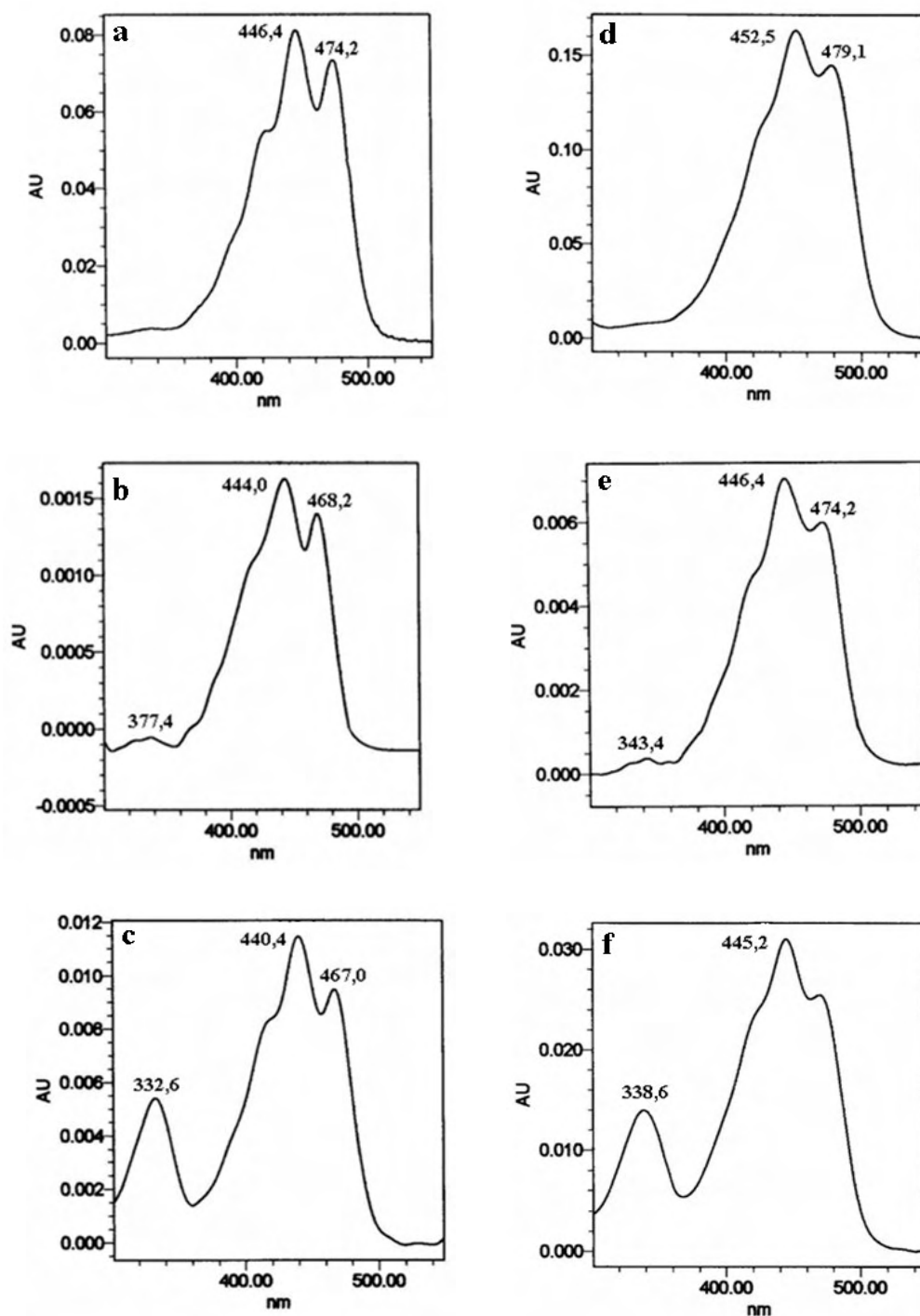


Figura 11 - Espectros de absorção dos isômeros geométricos de α -caroteno e β -caroteno de abóbora seca, obtidos pelo detector por conjunto de diodos: a) *trans*- α -caroteno, b) 9-*cis*- α -caroteno, c) 13-*cis*- α -caroteno, d) *trans*- β -caroteno, e) 9-*cis*- β -caroteno, f) 13-*cis*- β -caroteno.

TABELA 2: Identificação dos picos e características espectrais dos carotenóides de abóbora seca.

pico	Carotenóide	λ máx (nm)		% III/II	% A_B/A_{II}
		éter de petróleo	fase móvel ^a		
1	13- <i>cis</i> - α -caroteno	-	333*, (416), 440, 467	32	47
2	13- <i>cis</i> - β -caroteno	-	339*, (420), 445, 470	12	42
3	<i>trans</i> - α -caroteno	(421), 441, 470	(423), 446, 474	55	-
4	9- <i>cis</i> - α -caroteno	-	377*, (416), 444, 468	50	5,5
5	<i>trans</i> - β -caroteno	(425), 448, 475	(430), 453, 479	25	-
6	9- <i>cis</i> - β -caroteno	-	343*, (420), 446, 474	14	4,4

% III/II = razão entre a altura do pico de absorção no comprimento de onda mais longo (III) e a do pico do meio (II), tomando o mínimo entre os dois picos como linha de base, multiplicada por 100;

% A_B/A_{II} = razão entre a altura do pico *cis* (A_B) e a do pico de principal absorção no comprimento de onda mediano (A_{II}), multiplicada por 100;

^a = fase móvel constituída de metanol:acetato de etila (70:30) com 0,1 % de TEA;

parêntese = indica uma inflexão no lugar do pico (ombro);

* = pico *cis*.

Cromatograma obtido empregando vazão de 0,5 mL/min (Figura 10) mostrou picos alargados e alta retenção do último componente (58 min), o que representaria um fator limitante em estudos que envolvem um grande número de análises. Menor tempo de corrida foi conseguido com vazão de 0,8 mL/min (35 min). No entanto, baixa recuperação, principalmente de *trans*- β -caroteno, foi observada através da comparação da proporção entre os picos de *trans*- α e *trans*- β -caroteno obtidos com coluna C₁₈.

5.1.1 Otimização da fase móvel utilizando acetato de etila como modificador

Na tentativa de diminuir o tempo de corrida e aumentar a recuperação dos carotenóides, diferentes proporções (75:25, 70:30, 65:35, 60:40, v/v) de metanol:acetato de etila (Figura 12) foram testadas utilizando vazão de 0,05 mL/min.

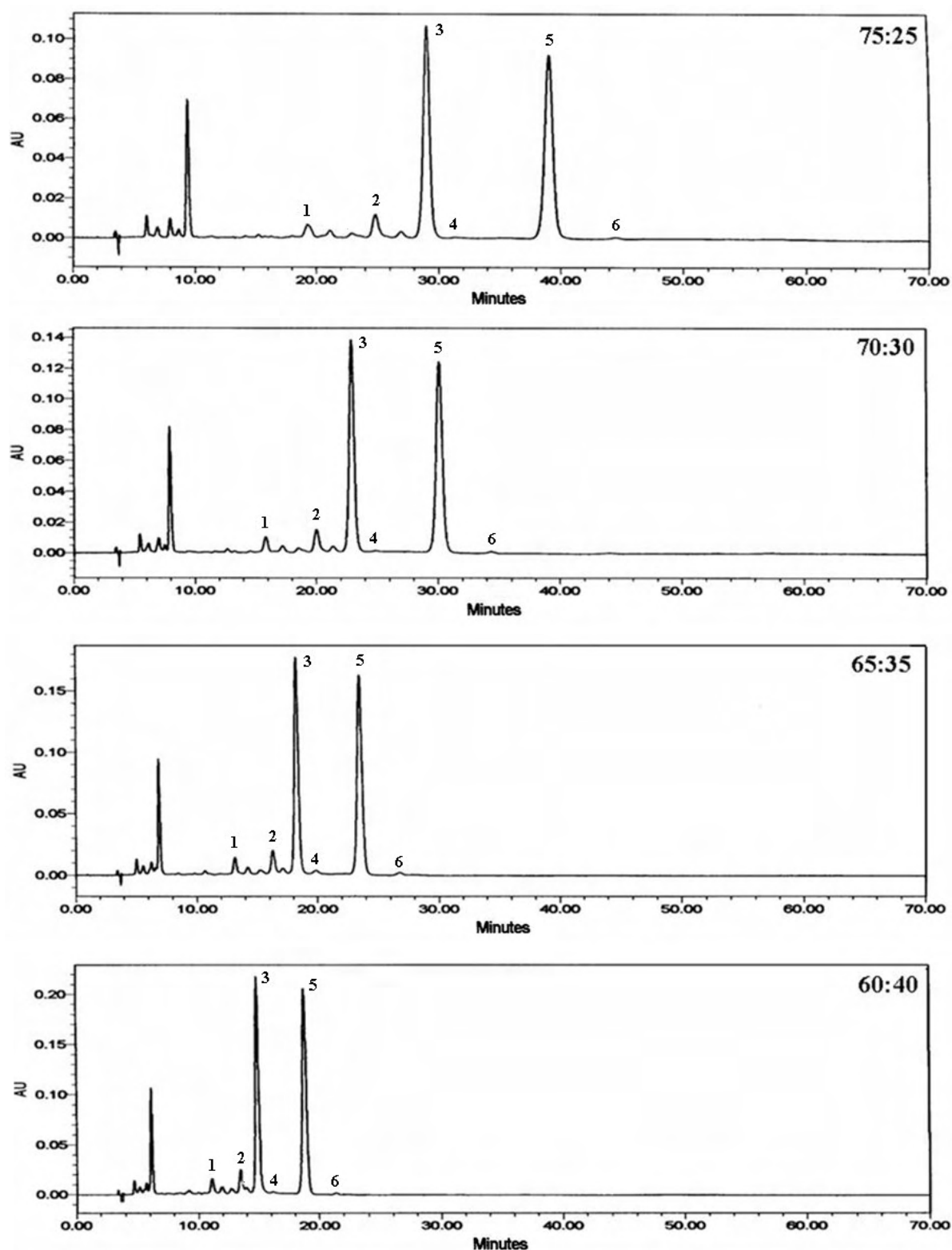


Figura 12 - Efeito da proporção de metanol:acetato de etila da fase móvel na separação e recuperação dos carotenóides de abóbora seca em coluna C₃₀, 3 μ m, 4,6 x 150 mm. Identificação dos picos: 1. 13-*cis*- α -caroteno, 2. 13-*cis*- β -caroteno, 3. *trans*- α -caroteno, 4. 9-*cis*- α -caroteno, 5. *trans*- β -caroteno, 6. 9-*cis*- β -caroteno. Detecção a 450 nm.

Nas proporções de 75:25 e 70:30 (v/v) o tempo de retenção do 9-*cis*- β -caroteno (último composto a eluir) diminuiu para 44 e 34 minutos, respectivamente, com boa separação e aumento percentual da recuperação dos carotenóides de interesse. Aumento de 2 % na área dos picos de *trans*- α e *trans*- β -caroteno foi observado quando fase móvel na proporção de 75:25 (v/v) foi empregada, e aumento de 2 e 5 % foi obtido área dos picos de *trans*- α e *trans*- β -caroteno, respectivamente, empregando-se proporção de 70:30 (v/v).

O aumento de acetato de etila para 35 % diminuiu o tempo de retenção para 27 minutos e resultou em um aumento de 3 e 7 % na área dos picos de *trans*- α - e de *trans*- β -caroteno, respectivamente.

O uso de 40 % de acetato de etila causou grande aumento na força da fase móvel, proporcionando um aumento percentual na recuperação (4 e 9 % para *trans*- α - e *trans*- β -caroteno, respectivamente) e diminuição no tempo de retenção (25 min). Porém, pequena sobreposição dos isômeros *cis* foi observada, indicando que esta concentração deveria ser evitada.

Assim, a adição de TEA na fase móvel nas proporções de 80:20, 75:25, 70:30, 65:35 (v/v) foi avaliada.

A adição de 0,05 % de TEA melhorou a recuperação dos carotenóides, principalmente, do *trans*- β -caroteno, mantendo boa resolução com pouca alteração nos tempos de retenção (Figura 13). Aumento de 8, 9, 7 e de 6 % na área dos picos de *trans*- α -caroteno foi observado para as proporções de 80:20, 75:25, 70:30, 65:35 e de 60:40 (v/v), respectivamente, enquanto o aumento da área dos picos de *trans*- β -caroteno foi respectivamente de 22, 24, 20 e de 16 %.

Resultados um pouco mais expressivos com relação à recuperação (aumento percentual de 1 a 5 %) foi observado com o emprego de 0,1 % de TEA. Nas proporções de 75:25, 70:30 e 65:35 (metanol:acetato de etila, v/v) com adição de 0,1 % de TEA a área dos picos de *trans*- α -caroteno foi 9, 8 e 8 % maior que a área dos picos sem adição de TEA, respectivamente, enquanto a área dos picos de *trans*- β -caroteno foi 25, 23 e 21 % maior, respectivamente. Embora a proporção de 65:35 (v/v) tenha apresentado o maior aumento percentual na recuperação (11 e 29 % para *trans*- α - e *trans*- β -caroteno, respectivamente) quando comparado com a fase móvel na proporção de 80:20 (v/v) sem adição de TEA, optou-se por utilizar a condição de 70:30 (v/v) (10 e 28 % para *trans*- α - e *trans*- β -caroteno, respectivamente) devido a melhor separação entre os picos 13-*cis*- β -caroteno, *trans*- α -caroteno e 9-*cis*- β -caroteno (picos 2, 3 e 4 da Figura 14, respectivamente).

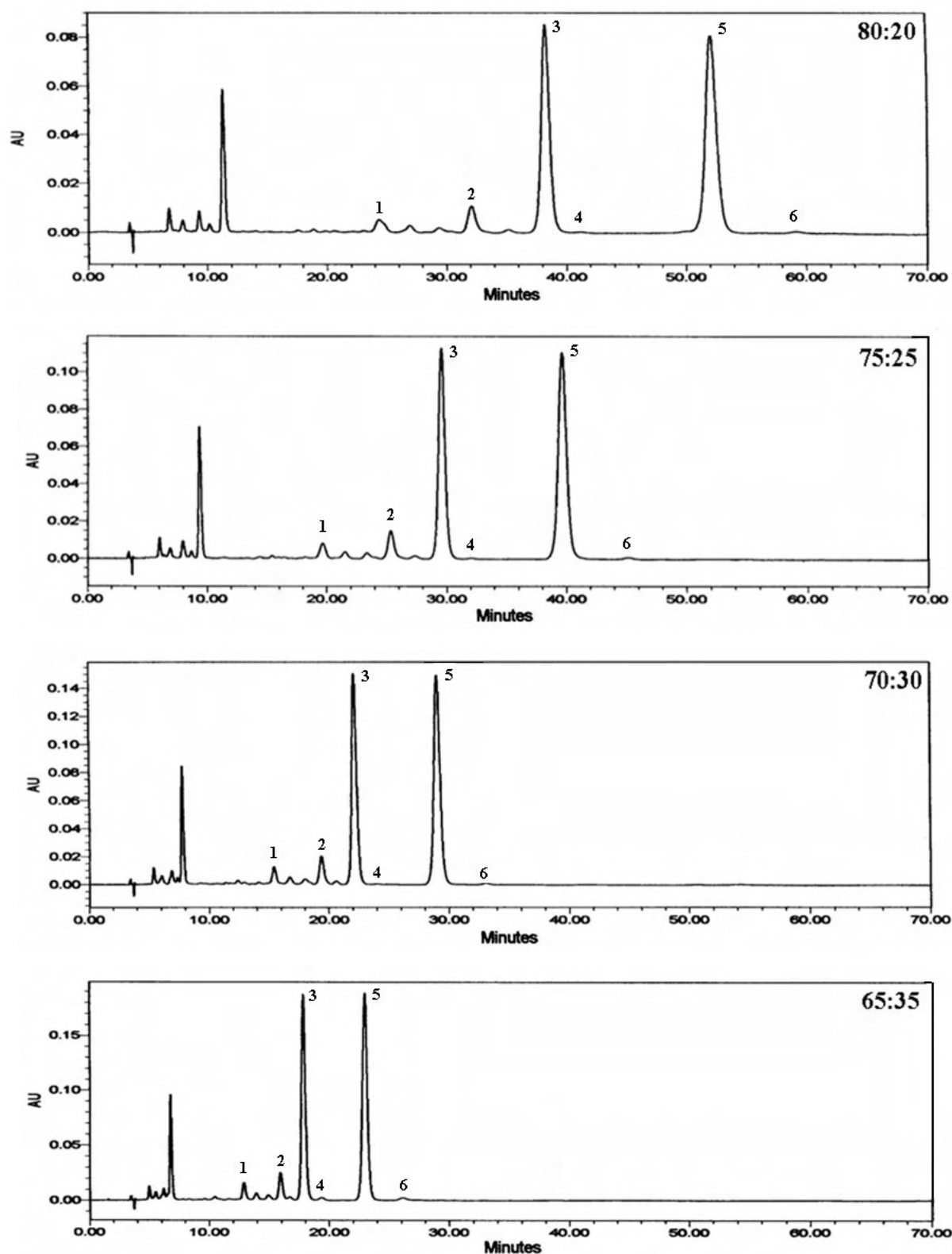


Figura 13 - Efeito da adição de 0,05 % de TEA na fase móvel na separação e recuperação dos carotenóides de abóbora seca em coluna C₃₀, 3 μm, 4,6 x 150 mm. Identificação dos picos: 1. 13-*cis*-α-caroteno, 2. 13-*cis*-β-caroteno, 3. *trans*-α-caroteno, 4. 9-*cis*-α-caroteno, 5. *trans*-β-caroteno, 6. 9-*cis*-β-caroteno. Detecção a 450 nm.

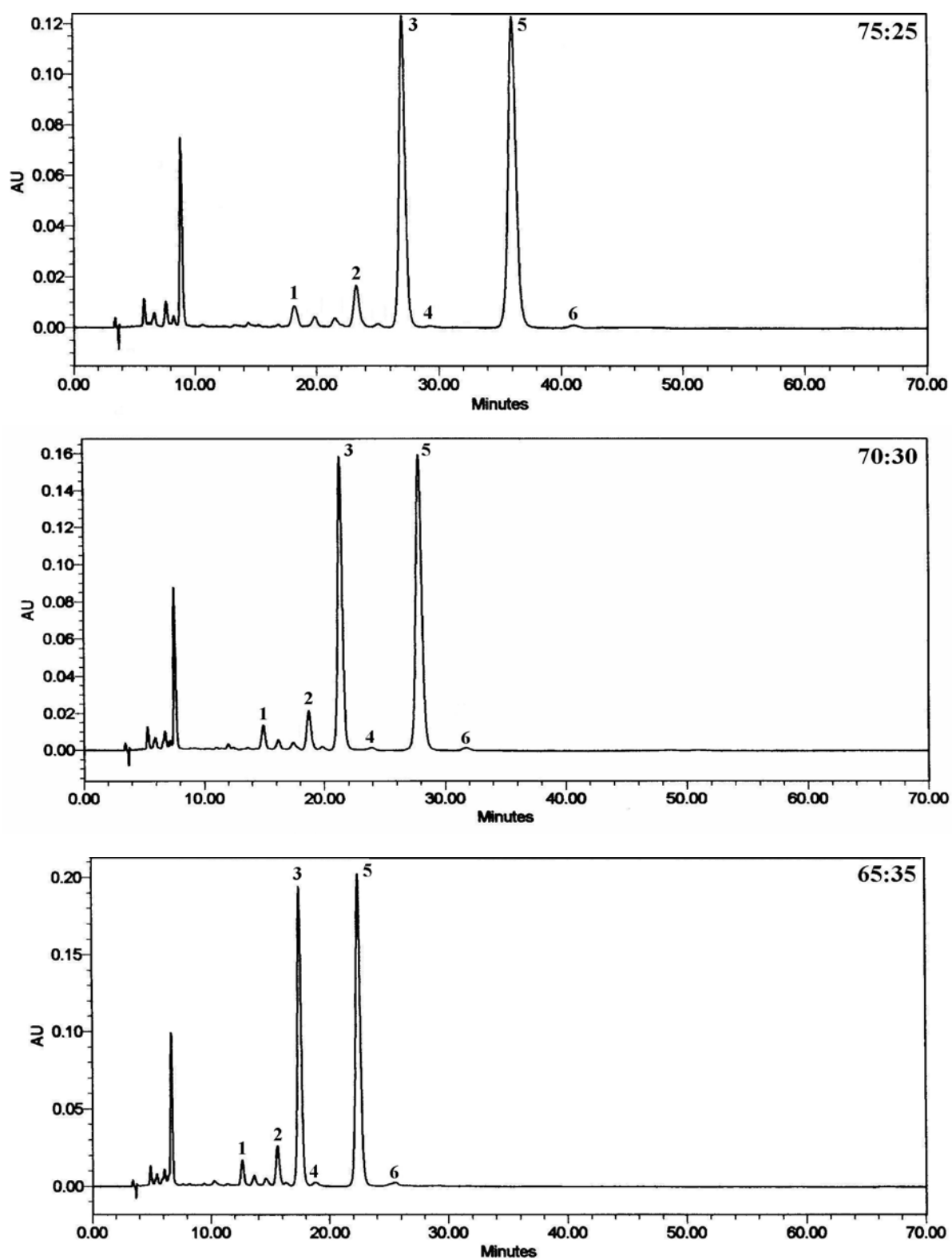


Figura 14 - Efeito da adição de 0,1 % de TEA na fase móvel na separação e recuperação dos carotenóides de abóbora seca em coluna C₃₀, 3 μ m, 4,6 x 150 mm. Identificação dos picos: 1. 13-*cis*- α -caroteno, 2. 13-*cis*- β -caroteno, 3. *trans*- α -caroteno, 4. 9-*cis*- α -caroteno, 5. *trans*- β -caroteno, 6. 9-*cis*- β -caroteno. Detecção a 450 nm.

Aumento percentual na recuperação dos carotenóides pela adição de TEA também foi observado por Hart; Scott (1995) e Emenhiser et al. (1996). Utilizando coluna C_{18} polimérica e fase móvel constituída de acetonitrila:metanol:diclorometano (75:20:5), Hart; Scott (1995) encontraram aumento de 30 e 42 % de *trans*- α - e de *trans*- β -caroteno, respectivamente. Aumento percentual maior foi observado por Emenhiser et al. (1996) em coluna C_{30} com fase móvel metanol:éter metil terc-butil (11:89): 47 % para *trans*- α -caroteno e 64 % para *trans*- β -caroteno.

5.1.2 Comparação do teor de carotenóides de abóbora e cenoura, *in natura* e processadas, obtidos com coluna monomérica C_{18} e polimérica C_{30}

Determinada a melhor fase móvel para utilização com coluna C_{30} (metanol:acetato de etila na proporção de 70:30 com adição de 0,1 % TEA e vazão de 0,5 mL/min), curvas de calibração para *trans*- α -caroteno e para *trans*- β -caroteno foram construídas (cinco diferentes concentrações injetadas em triplicata) e o teor de carotenóides de abóbora e de cenoura, *in natura* e processadas, foi determinado e comparado com o teor obtido em coluna C_{18} utilizando fase móvel acetonitrila:metanol:acetato de etila (60:20:20) com 0,05 % de TEA e vazão de 0,5 mL/min.

A condição cromatográfica mostrou boa reprodutibilidade com coeficiente de variação na faixa de 0 a 3 % para o *trans*- α -caroteno e de 0 a 2 % para o *trans*- β -caroteno e, linearidade na faixa de 0,026 a 0,049 μ g (coeficiente de correlação de 0,9958) para o *trans*- α -caroteno, assim como para o *trans*- β -caroteno na faixa de 0,128 a 0,247 μ g (coeficiente de correlação de 0,9950).

Na amostra de cenoura *in natura*, não foi observado presença de *cis*- α -caroteno e traços de 13-*cis*- β -caroteno foram detectados utilizando coluna C_{30} , onde os isômeros podem ser bem resolvidos (Figura 15). Já na abóbora *in natura*, 13-*cis*- α -caroteno foi encontrado em maior proporção que o 13-*cis*- β -caroteno (Figura 16).

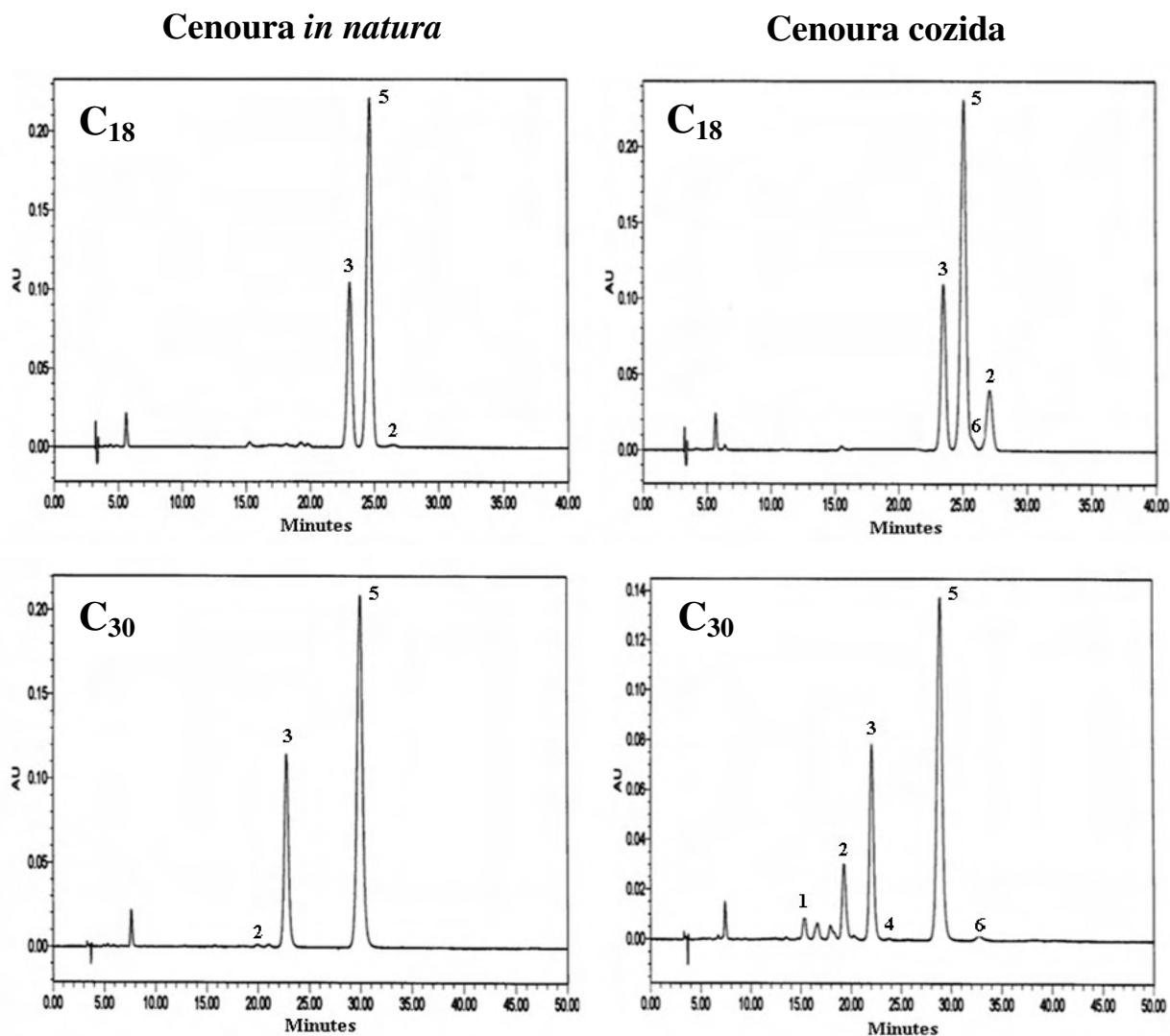


Figura 15 - Cromatogramas dos carotenóides de cenoura *in natura* e cozida obtidos com coluna C₃₀ e fase móvel metanol:acetato de etila (70:30) (0,1 % de TEA) e com coluna C₁₈ e fase móvel acetonitrila:metanol:acetato de etila (60:20:20) (0,05 % TEA). Detecção a 450 nm. Identificação dos picos: 1. 13-*cis*-α, 2. 13-*cis*-β, 3. *trans*-α, 4. 9-*cis*-α, 5. *trans*-β e 6. 9-*cis*-β.

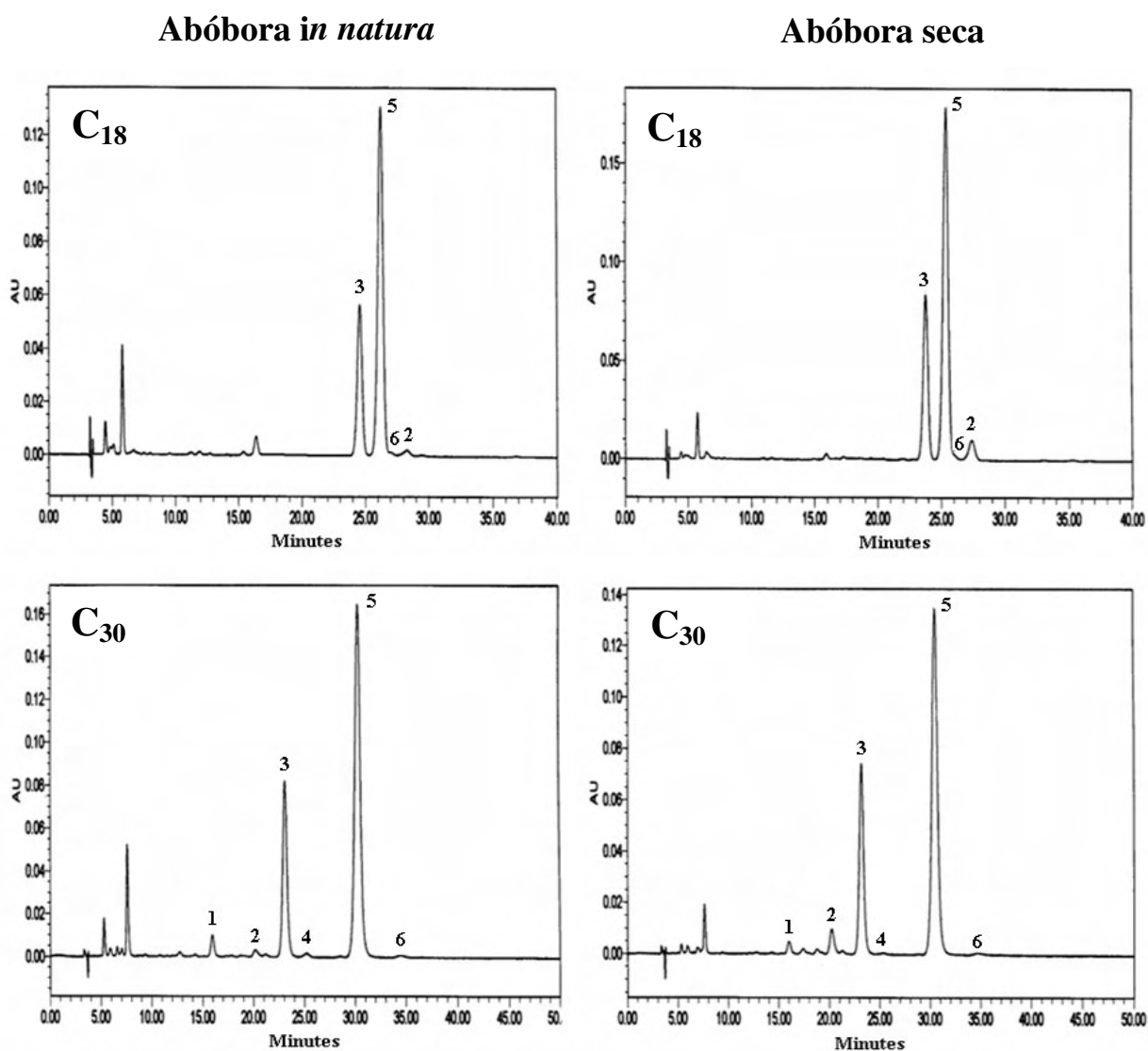


Figura 16 - Cromatogramas dos carotenóides de abóbora *in natura* e desidratada obtidos com coluna C₃₀ e fase móvel metanol:acetato de etila (70:30) (0,1 % de TEA) e com coluna C₁₈ e fase móvel acetonitrila:metanol:acetato de etila (60:20:20) (0,05 % de TEA). Detecção a 450 nm. Identificação dos picos: 1. 13-*cis*- α , 2. 13-*cis*- β , 3. *trans*- α , 4. 9-*cis*- α , 5. *trans*- β e 6. 9-*cis*- β .

No entanto, nenhuma diferença significativa foi observada entre os teores de *trans*- α -caroteno e de *trans*- β -caroteno determinados por coluna C₁₈ e C₃₀ para ambas as amostras (Tabelas 3 e Tabela 4, respectivamente).

Para as amostras de cenoura cozida e abóbora seca, nas quais os *cis*-isômeros do α -caroteno estão presentes em concentrações mais elevadas, a quantificação utilizando coluna monomérica C₁₈ superestimou o teor de *trans*- β -caroteno de cenoura e de abóbora (14 e 7 %, respectivamente) quando comparado ao teor determinado pela coluna C₃₀. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os teores de *trans*- α -caroteno, para ambas as amostras, determinados pelas colunas C₁₈ e C₃₀.

TABELA 3: Teor de carotenóides ($\mu\text{g/g}$) de cenoura *in natura* e cozida obtido com coluna C₁₈ e C₃₀.

amostra	coluna	<i>trans</i> - α -caroteno	<i>trans</i> - β -caroteno
<i>in natura</i>	C ₁₈	27 $\pm$ 1a	70 $\pm$ 2a
	C ₃₀	29 $\pm$ 1a	74 $\pm$ 2a
cozida	C ₁₈	26 $\pm$ 0a	70 $\pm$ 1a
	C ₃₀	25 $\pm$ 0a	60 $\pm$ 2b

Para cada amostra, valores seguidos por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

TABELA 4: Teor de carotenóides ($\mu\text{g/g}$) de abóbora *in natura* e seca obtido com coluna C₁₈ e C₃₀.

amostra	coluna	<i>trans</i> - α -caroteno	<i>trans</i> - β -caroteno
<i>in natura</i>	C ₁₈	10 $\pm$ 0a	28 $\pm$ 0a
	C ₃₀	10 $\pm$ 0a	28 $\pm$ 0a
Seca	C ₁₈	228 $\pm$ 2a	613 $\pm$ 4a
	C ₃₀	224 $\pm$ 1a	571 $\pm$ 0b

Para cada amostra, valores seguidos por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

5.2 Avaliação do efeito da aplicação de coberturas comestíveis de amido no teor de carotenóides de abóbora desidratada com ar aquecido

O perfil de carotenóides apresentado pelas fatias de abóbora seca (Figura 17) mostraram degradação de *trans*- α -caroteno e de *trans*- β -caroteno, com conseqüente aumento dos isômeros *cis* durante o processo de secagem a 70 °C.

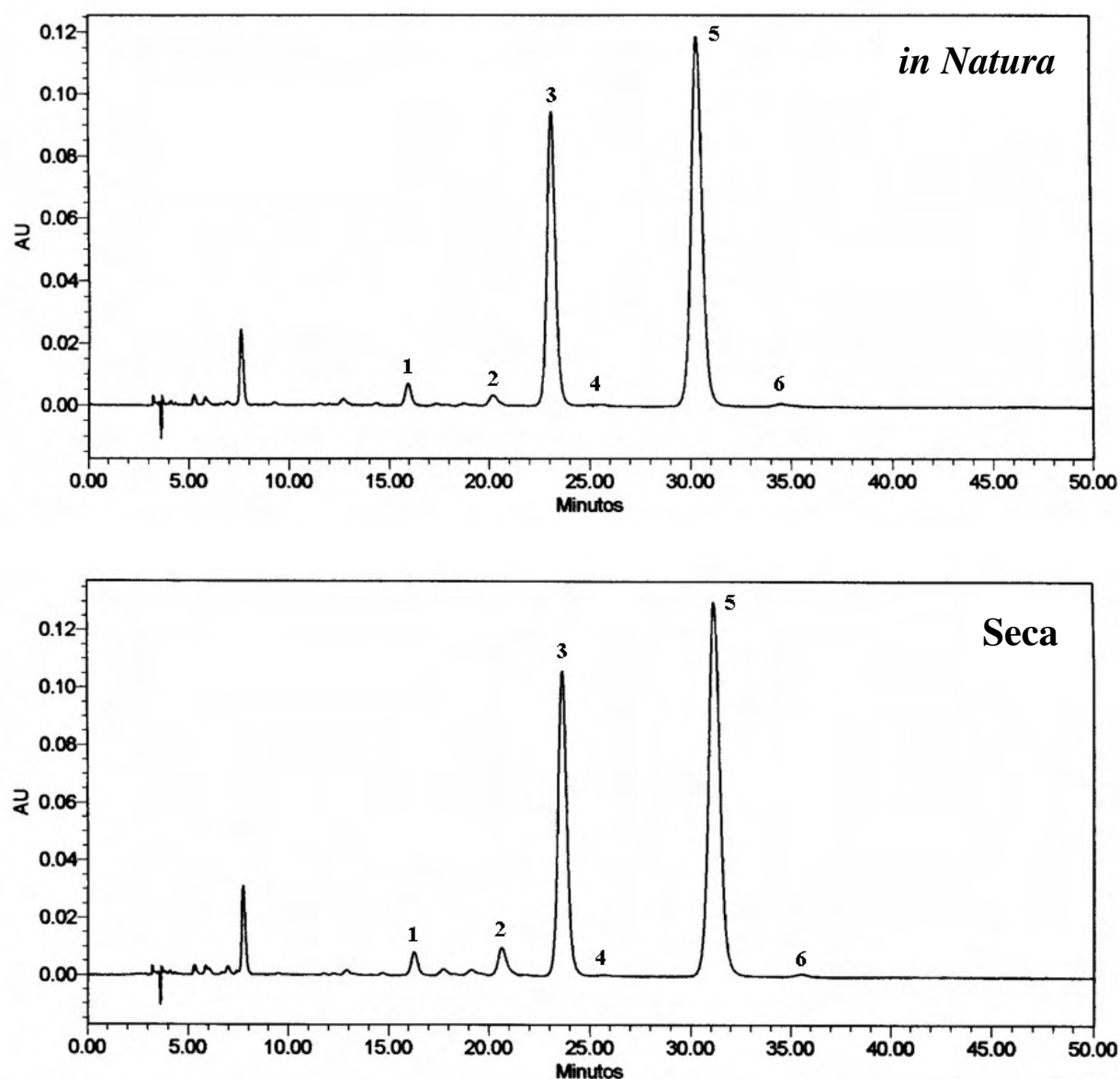


Figura 17 - Cromatogramas dos carotenóides de abóbora *in natura* e seca. Fase móvel: metanol:acetato de etila (70:30) com adição de 0,1 % de TEA. Identificação dos picos: 1. 13-*cis*- α , 2. 13-*cis*- β , 3. *trans*- α , 4. 9-*cis*- α , 5. *trans*- β e 6. 9-*cis*- β . Coluna C₃₀ polimérica, 3 μ m, 4,6 x 150 mm. Fluxo: 0,5 mL/min. Detecção a 450 nm.

Cis isômeros foram encontrados em pequenas quantidades na abóbora *in natura*, sendo mais evidentes para as formas 13-*cis* do que para as formas 9-*cis*. Nas amostras desidratadas, observou-se aumento acentuado da intensidade do pico 13-*cis*- β -caroteno. Esses resultados são similares aos observados por Pott et al. (2003) em mangas das variedades Kent e Tommy Atkins desidratadas a 75 °C.

5.2.1 Avaliação do efeito da aplicação a frio de coberturas de amidos nativos de milho, mandioca e batata no teor de carotenóides de fatias de abóbora secas a 70 °C

O teor de *trans*- α -caroteno e de *trans*- β -caroteno e de umidade final dos produtos secos, sem e com coberturas de amidos nativos de milho, mandioca e batata, em diferentes concentrações, aplicadas a 30 °C, são apresentados na Tabela 5.

Para efeito de comparação, o teor de carotenóides foi calculado considerando todas as amostras com 10 % de umidade. Em virtude do processo de aplicação de coberturas por imersão poder ocasionar ao produto perda ou ganho de sólidos, os teores não foram expressos em base seca.

As coberturas comestíveis, nas diferentes concentrações, aplicadas a 30 °C por 1 minuto, não afetaram significativamente o teor de carotenóides dos produtos desidratados, exceto pelo teor de *trans*- α -caroteno da amostra com cobertura comestível de amido de milho a 2,5 %.

Para verificar se os resultados se deviam ao fato das coberturas de amido não formarem uma barreira eficiente ao oxigênio ou eram consequência da aplicação das soluções depois de resfriadas que poderia dificultar a aderência dos géis mais viscosos à superfície úmida das fatias de abóbora, a aplicação das coberturas a quente foi avaliada apenas com amidos nativos de milho e mandioca, que são mais disponíveis comercialmente, e com amidos modificados que apresentam características diferentes dos nativos com relação à viscosidade e estabilidade dos géis.

TABELA 5: Efeito da aplicação de coberturas de amidos nativos de milho, mandioca e batata, a 30 °C, em diferentes concentrações, no teor de *trans*- α -caroteno e de *trans*- β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) de abóboras secas.

cobertura	amostra	C (%)	U (%)	determinado		calculado a U 10 %	
				<i>trans</i> - α	<i>trans</i> - β	<i>trans</i> - α	<i>trans</i> - β
milho	<i>in natura</i>	-	94,73	30 $\pm$ 0	45 $\pm$ 1	-	-
	seca s/ cob.	-	7,46	444 $\pm$ 6	669 $\pm$ 16	431 $\pm$ 6a	650 $\pm$ 16a
	seca c/ cob.	2,5	6,62	418 $\pm$ 9	636 $\pm$ 14	403 $\pm$ 9b	613 $\pm$ 13a
		3,0	6,42	440 $\pm$ 5	649 $\pm$ 11	423 $\pm$ 5ab	625 $\pm$ 11a
		3,5	6,17	436 $\pm$ 5	648 $\pm$ 12	418 $\pm$ 5ab	622 $\pm$ 12a
mandioca	<i>in natura</i>	-	94,46	10 $\pm$ 0	22 $\pm$ 0	-	-
	seca s/ cob.	-	10,01	145 $\pm$ 1	312 $\pm$ 5	145 $\pm$ 1ab	312 $\pm$ 5ab
	seca c/ cob.	1,5	9,92	151 $\pm$ 2	338 $\pm$ 3	151 $\pm$ 2a	337 $\pm$ 3a
		2,0	9,48	141 $\pm$ 4	309 $\pm$ 8	140 $\pm$ 4b	308 $\pm$ 8b
		2,5	9,57	137 $\pm$ 3	295 $\pm$ 9	136 $\pm$ 3b	294 $\pm$ 9b
batata	<i>in natura</i>	-	93,84	16 $\pm$ 0	40 $\pm$ 0	-	-
	seca s/ cob.	-	10,94	217 $\pm$ 4	550 $\pm$ 16	219 $\pm$ 4a	556 $\pm$ 16a
	seca c/ cob.	2,5	10,16	222 $\pm$ 2	579 $\pm$ 1	222 $\pm$ 2a	580 $\pm$ 1a
		3,0	12,20	224 $\pm$ 6	558 $\pm$ 14	230 $\pm$ 6a	572 $\pm$ 14a
		3,5	11,76	217 $\pm$ 5	549 $\pm$ 11	222 $\pm$ 5a	560 $\pm$ 11a

Para cada tipo de cobertura, valores seguidos por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$);

C % = concentração da solução formadora de cobertura (p/p);

U % = umidade final do produto;

determinado = teor encontrado na amostra;

calculado = teor determinado transformado considerando umidade de 10 %;

cob. = cobertura

5.2.2 Avaliação do efeito da temperatura de aplicação de coberturas de amidos nativos e modificados de milho e mandioca no teor de carotenóides de fatias de abóbora secas a 70 °C

O teor de *trans*- α -caroteno e de *trans*- β -caroteno e de umidade final dos produtos secos, sem e com coberturas de amido nativo e modificado de milho, aplicadas a quente e a frio, são apresentados na Tabela 6.

As amostras com cobertura de amido nativo de milho, aplicada a quente, apresentaram teor significativamente maior de carotenóides quando comparadas às amostras seca sem cobertura e às pré-tratadas com cobertura aplicada a frio. Aparentemente, a aplicação a quente proporcionou à formação de um revestimento mais uniformemente aderido as fatias de abóbora devido a menor viscosidade do gel quente, o que minimizou a degradação dos carotenóides durante a secagem.

Resultados opostos foram encontrados com amido ácido modificado de milho. Amostra coberta a frio apresentou teor significativamente maior de carotenóides que os encontrados na amostra seca com cobertura aplicada a quente ou na amostra seca sem cobertura.

Isto pode ser explicado pelo fato do amido ácido modificado formar géis com menor viscosidade a quente quando comparado ao obtido de amido nativo, que pode não ter se fixado em quantidade suficiente às fatias de abóbora durante o tempo de imersão, formando um revestimento muito fino insuficiente para agir como barreira ao oxigênio.

Os teores de *trans*- α -caroteno e *trans*- β -caroteno das amostras secas com cobertura de amido nativo de mandioca, aplicadas a frio ou a quente, não apresentaram diferença significativa quando comparados com os das amostras sem cobertura (Ensaio I e II - Tabela 7). Pelo fato do amido nativo de mandioca ser mais frágil, o gel pode não ter formado um revestimento devido a um colapso da sua estrutura ocasionado pela força exercida pelas fatias de abóbora durante o procedimento de imersão.

Devido à aplicação de coberturas a base de amido de milho e mandioca terem resultado em efeitos diferentes sobre os carotenóides durante a secagem das fatias de abóbora, os experimentos utilizando ambos os amidos foram repetidos para confirmação dos resultados.

No entanto, quando amido de mandioca estabilizado e acetilado foi utilizado, o teor de carotenóides das fatias com cobertura, aplicada a quente, foi significativamente maior quando comparado com os obtidos das fatias sem cobertura ou cobertas a frio. A obtenção de um gel mais estável e coeso, aplicado a quente, pode ter proporcionado uma adequada formação da

cobertura e, por conseguinte, minimizado a degradação dos carotenóides devido a menor exposição da superfície da fatia ao oxigênio.

TABELA 6: Efeito da aplicação a frio e a quente de coberturas de amidos nativos e modificado de milho a 2,5 % no teor de *trans*- α -caroteno e de *trans*- β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) de abóboras.

cobertura	amostra	T (°C)	U (%)	Determinado		calculado a U 10 %	
				<i>trans</i> - α	<i>trans</i> - β	<i>trans</i> - α	<i>trans</i> - β
nativo (ensaio I)	<i>In natura</i>	-	94,76	20 $\pm$ 0	23 $\pm$ 0	-	-
	seca s/ cob.	-	7,39	241 $\pm$ 6	279 $\pm$ 6	234 $\pm$ 5a	272 $\pm$ 6a
	seca c/ cob.	30	6,95	241 $\pm$ 1	282 $\pm$ 5	233 $\pm$ 1a	273 $\pm$ 5a
		90	9,07	370 $\pm$ 5	437 $\pm$ 1	366 $\pm$ 5b	433 $\pm$ 1b
nativo (ensaio II)	<i>In natura</i>	-	91,33	28 $\pm$ 0	42 $\pm$ 0	-	-
	seca s/ cob.	-	6,95	265 $\pm$ 0	413 $\pm$ 1	256 $\pm$ 0 a	400 $\pm$ 1 a
	seca c/ cob.	30	5,85	263 $\pm$ 2	417 $\pm$ 9	251 $\pm$ 2a	399 $\pm$ 9a
		90	8,70	319 $\pm$ 1	497 $\pm$ 7	315 $\pm$ 1b	490 $\pm$ 7b
modificado	<i>In natura</i>	-	93,81	33 $\pm$ 0	60 $\pm$ 0	-	-
	seca s/ cob.	-	9,83	462 $\pm$ 3	806 $\pm$ 18	461 $\pm$ 3a	805 $\pm$ 18a
	seca c/ cob.	30	9,90	519 $\pm$ 9	964 $\pm$ 23	519 $\pm$ 9b	963 $\pm$ 23b
		90	10,48	450 $\pm$ 14	809 $\pm$ 42	452 $\pm$ 14a	813 $\pm$ 42a

Para cada tipo de cobertura, valores seguidos por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$);

T (°C) = temperatura de aplicação da cobertura;

U (%) = umidade final do produto;

determinado = teor encontrado na amostra;

calculado = teor determinado calculado para umidade de 10 %;

cob. = cobertura.

TABELA 7: Efeito da temperatura de aplicação de coberturas de amidos nativos e modificado (estabilizado e acetilado) de mandioca a 1,5 % no teor de *trans*- α -caroteno e de *trans*- β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) de abóboras secas.

cob.	amostra	T (°C)	U (%)	determinado		calculado a U 10 %	
				<i>trans</i> - α	<i>trans</i> - β	<i>trans</i> - α	<i>trans</i> - β
nativo (ensaio I)	<i>in natura</i>	-	94,96	19 $\pm$ 0	20 $\pm$ 0	-	-
	seca s/ cob.	-	7,55	243 $\pm$ 6	263 $\pm$ 8	236 $\pm$ 6a	256 $\pm$ 8a
	seca c/ cob.	30	5,92	235 $\pm$ 2	258 $\pm$ 3	225 $\pm$ 2a	247 $\pm$ 3a
		80	7,82	245 $\pm$ 4	274 $\pm$ 3	239 $\pm$ 4a	268 $\pm$ 3a
nativo (ensaio II)	<i>in natura</i>	-	93,63	31 $\pm$ 0	56 $\pm$ 1	-	-
	seca s/ cob.	-	10,32	486 $\pm$ 3	838 $\pm$ 1	487 $\pm$ 3 a	841 $\pm$ 1 a
	seca c/ cob.	30	9,22	450 $\pm$ 15	806 $\pm$ 23	446 $\pm$ 15a	799 $\pm$ 23 a
		80	10,87	462 $\pm$ 11	811 $\pm$ 24	467 $\pm$ 11a	819 $\pm$ 24a
mod.	<i>in natura</i>	-	94,22	40 $\pm$ 1	63 $\pm$ 3	-	-
	seca s/ cob.	-	12,80	654 $\pm$ 10	1062 $\pm$ 42	675 $\pm$ 10a	1096 $\pm$ 43a
	seca c/ cob.	30	11,83	585 $\pm$ 1	922 $\pm$ 43	597 $\pm$ 1a	941 $\pm$ 44a
		95	12,27	747 $\pm$ 0	1175 $\pm$ 5	766 $\pm$ 0b	1204 $\pm$ 5b

Para cada tipo de cobertura, valores seguidos por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$);

T (°C) = temperatura de aplicação da cobertura;

U (%) = umidade final do produto;

determinado = teor encontrado na amostra;

calculado = teor determinado calculado para umidade de 10 %;

cob. = cobertura;

mod. = modificado.

O efeito protetor das coberturas de amido nativo de milho e modificado (estabilizado e acetilado) de mandioca, aplicadas a quente, sobre os carotenóides dos produtos desidratados pôde ser observado mesmo visualmente (Figura 18) .

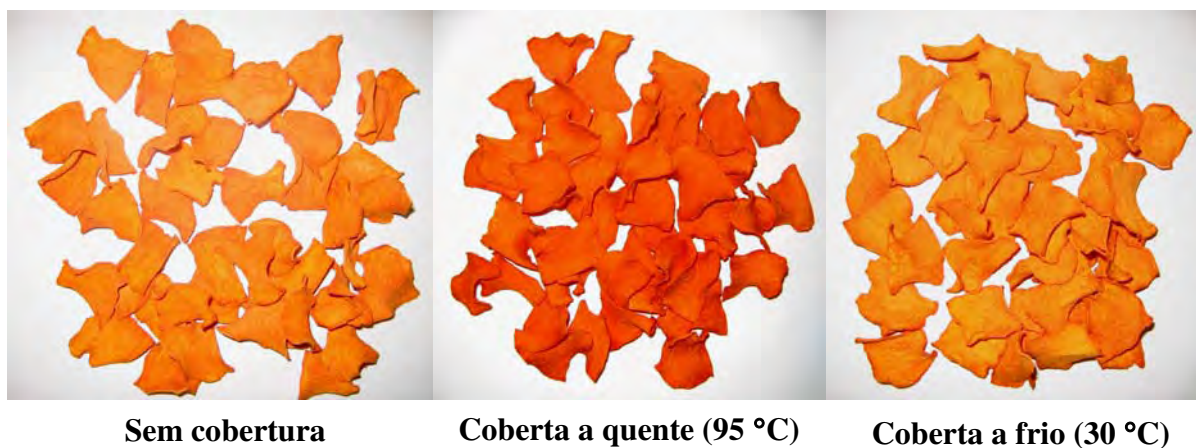


Figura 18 - Aspecto visual das fatias desidratadas sem e com coberturas de amido de mandioca modificado.

Resultados similares foram obtidos por Baloch; Buckle; Edwards (1986). Estes autores já haviam ressaltado a importância da temperatura da solução de amido no momento da aplicação para obtenção de cobertura uniforme sobre a fatia do alimento. Produto desidratado de cenoura com maior teor de carotenóides foi obtido quando previamente branqueado e coberto com solução de amido a quente (77 °C). Além disso, fatias tratadas apenas com água nas mesmas condições efetuadas para a aplicação das coberturas mostraram que, independente do efeito do branqueamento, as coberturas exercem proteção adicional contra a degradação dos carotenóides durante o processo de secagem.

6 CONCLUSÕES

- Fase móvel constituída de metanol e acetato de etila na proporção de 70:30 com adição de 0,1 % de TEA mostrou boa separação e resolução de α -caroteno e β -caroteno e seus isômeros, em tempos de corrida satisfatório;
- O uso de coluna C_{18} para análise de amostras processadas contendo α -caroteno e β -caroteno superestimou os teores de *trans*- β -caroteno devido à co-eluição dos *cis*-isômeros de α -caroteno;
- Coberturas a base de amidos nativos de milho, mandioca e batata e de amido estabilizado e acetilado de mandioca, nas concentrações testadas, não exerceram efeito protetor contra degradação de carotenóides de abóbora durante secagem com ar aquecido a 70 °C, quando aplicadas a frio;
- Aplicação a quente de coberturas de amido nativo de milho e de amido estabilizado e acetilado de mandioca resultou em produto desidratado com melhor coloração e com teor de *trans*- α -caroteno e de *trans*- β -caroteno significativamente maiores quando comparado ao obtido sem pré-tratamento;
- Cobertura a base de amido ácido modificado de milho proporcionou maior retenção de carotenóides de abóbora durante a secagem, quando aplicada a frio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABÓBORAS. Jornal Entrepasto, São Paulo, dez. 2005. Disponível em: <http://www.jornalentrepasto.com.br/antiores/dezembro_2005/noticiasdaterra.htm>. Acesso em: 30 jan. 2007.

AHMED, S. S.; LOTT, M. N.; MARCUS, D. M. The macular xanthophylls. **Survey of Ophthalmology**, Brookline, v. 50, n. 2, Mar./Apr. 2005.

ALBERT, K. Correlation between chromatographic and physicochemical properties of stationary phases in HPLC: C₃₀ bonded reversed-phase silica. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 17, n. 10, p. 648-658, Nov./Dec. 1998.

AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. F.; FARO, Z. P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 2, Mar./Abr. 2006.

ARIMA, H. K.; RODRIGUEZ AMAYA, D. B. Carotenoid composition and vitamin A value of commercial brazilian squashes and pumpkins. **Journal of Micronutrient Analysis**, Essex, v. 4, n. 3, p. 177-191, 1988.

_____. Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from northeastern Brazil. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 40, n. 2, p. 284-292, June 1990.

AYRANCI, E.; TUNC, S. The effect of edible coatings on water and vitamin C loss of apricots (*Armeniaca vulgaris* Lam.) and green peppers (*Capsicum annuum* L.). **Food Chemistry**, London, v. 87, n. 3, p. 339-342, Sept. 2004.

AZEVEDO MELEIRO, C. H. **Análise de carotenóides em alimentos brasileiros por cromatografia líquida de alta eficiência – espectrometria de massa**. 2003. 246 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2003.

BALDIN, E. L. L.; CAETANO, A. C.; LARA, F. M. Atração e desenvolvimento de *Leptoglossus gonagra* (Fabr.) (*Hemiptera coreidae*) em cultivares de abóbora e moranga. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 191-196, jan./mar. 2002.

BALDWIN, E. A. et al. Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*Mangifera indica*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 17, n. 3, p. 215-226, Nov. 1999.

BALDWIN, E. A. et al. Improving storage life of cut apple and potato with edible coating. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 151-163, Nov. 1996.

BALOGH, A. K.; BUCKLE, K. A.; EDWARDS, R. A. Effect of coating with starch and nordihydroguaiaretic acid on the stability of carotenoids of dehydrated carrot. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 8, n. 1, p. 59-62, Mar. 1986.

BELL, C. M.; SANDER, L. C.; WISE, S. A. Temperature dependence of carotenoids on C₁₈, C₃₀ and C₃₄ bonded stationary phases. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 757, n. 1/2, p. 29-39, Jan. 1997.

BILDWEEL, R. G. S. **Plant Physiology**. 2 ed. New York: Macmillan Publishing, p. 726, 1979.

BÖHM, V. Use of column temperature to optimize carotenoid isomer separation by C₃₀ high performance liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, Berlin, v. 24, n. 12, p. 955-959, Dec. 2001.

BRANDELERO, R. P. H. et al. Aplicação de revestimento comestível em abacaxis processados por métodos combinados: isoterma de sorção e cinética de desidratação osmótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 285-290, abr./jun. 2005.

BRITTON, G. UV-visible Spectroscopy. In: BRITTON, G; LIAAEN JENSEN, S.; PFANDER, H. (Ed.). **Carotenoids: spectroscopy**. Basel: Birkhauser, 1995. p. 13-43.

CAMIRAND, W. M. et al. Dehydration of membrane-coated foods by osmosis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 19, n. 8, p. 472-474, Aug. 1968.

CAMIRAND, W. et al. Properties of some edible carbohydrate polymer coatings for potential use in osmotic dehydration. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 17, n. 1, p. 39-49, Jan./Feb. 1992.

CASTENMILLER, J. J. M.; WEST, C. E. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 18, p. 19-38, July 1998.

CHEN, T. M.; CHEN, B. H. Optimization of mobile phases for HPLC of *cis-trans* carotene isomers. **Chromatographia**, New York, v. 39, n. 5/6, p. 346-354, Sept. 1994.

CHEN, L. et al. Oxidative DNA damage in prostate cancer patients consuming tomato sauce-based entrees as a whole-food intervention. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v. 93, n. 94, p. 1872-1879, Dec. 2001.

CHEW, B. P.; PARK, J. S. Carotenoid action on the immune response. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, n. 1, p. 257-261, Jan. 2004. Supplement.

CHIEN, P.; SHEU, F. YANG, F. Effect of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 78, p. 225-229, 2007.

COLLINS, A. R. Carotenoids and genomic stability. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 475, n. 1/2, p. 21-28, Apr. 2001.

CRAFT, N. E.; SANDER, L. C.; PIERSON, H. F. Separation and relative distribution of all-*trans*- β -carotene and its *cis* isomers in β -carotene preparations. **Journal of Micronutrient Analysis**, Essex, v. 8, n. 3, p. 209-221, July/Sept. 1990.

CRAFT, N. E.; WISE, S. A.; SOARES JR, J. H. Optimization of an isocratic high-performance liquid chromatographic separation of carotenoids. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 589, n. 1/2, p. 171-176, Jan. 1992.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In: ROONEY, M. L. **Active food packaging**. Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 111-142.

DAMASCENO et al. Efeito da aplicação de película de fécula de mandioca na conservação pós-colheita de tomate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 377-380, set./dez. 2003.

DAVIES, H. B. Carotenoids. In: GOODWIN, W. T. **Chemistry and biochemistry of plant pigments**. 2. ed. London: Academic Press, 1976. cap. 19.

DE SÁ, M. C.; RODRIGUEZ AMAYA, D. B. Carotenoid composition of cooked green vegetables from restaurants. **Food Chemistry**, London, v. 83, n. 4, p. 595-600, Dec. 2003.

DEMMIG ADAMS, B.; GILMORE, A. M.; ADAMS, W. W. In vivo functions of carotenoids in higher plants. **FASEB Journal**, Bethesda, v. 10, n. 4, p. 403-412, Mar. 1996.

DIXON, G. M. et al. Tasty apple slices result from combined osmotic-dehydration and vacuum-drying process. **Food Product Development**, Chicago, v. 10, n. 7, p. 60-65, Oct. 1976.

EMAM DJOMEH, Z.; DEHGHANNYA, J.; GHARABAGH, R. S. Assessment of osmotic process in combination with coating on effective diffusivities during drying of apple slices. **Drying Technology**, New York, v. 24, n. 9, p. 1159-1164, 2006.

EMENHISER, C.; SANDER, L. C.; SCHWARTZ, S. J. Capability of a polymeric C₃₀ stationary-phase to resolve *cis-trans* carotenoid isomers in reversed-phase liquid-chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 707, n. 2, p. 205-216, July 1995.

EMENHISER, C. et al. Separation of geometrical carotenoid isomers in biological extracts using a polymeric C₃₀ column in reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 44, n. 12, p. 3887-3893, Dec. 1996.

EPLER, K. S.; ZIEGLER, R. G.; CRAFT, N. E. Liquid-chromatographic method for the determination of carotenoids, retinoids and tocopherols in human serum and in food. **Journal of Chromatography: Biomedical Applications**, Amsterdam, v. 619, n. 1, p. 37-48, Sept. 1993.

EPLER, K. S. et al. Evaluation of reversed-phase liquid chromatographic columns for recovery and selectivity of selected carotenoids. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 595, n. 1/2, p. 89-101, Mar. 1992.

GODOY, H. T.; RODRIGUEZ AMAYA, D. B. Occurrence of *cis* isomers of provitamins A in brazilian vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 8, p. 3081-3086, Aug. 1998.

GUARTE, R. C.; POTT, I.; MÜHLBAUER, W. Influence of drying parameters on β -carotene retention in mango leather. **Fruits**, Paris, v. 60, n. 4, p. 255-265, July/Aug. 2005.

HART, D. J.; SCOTT, K. J. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. **Food Chemistry**, London, v. 54, n. 1, p. 101-111, 1995.

HOWARD, L. R.; DEWI, T. Minimal processing and edible coating effects on composition and sensory quality of mini-peeled carrots. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, n. 3, p. 643-645, May/Jun. 1996.

_____. Sensory, microbiological and chemical quality of mini-peeled carrots as affected by edible coating treatment. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 1, p. 142-144, Jan./Feb. 1995.

HUGHES, D. A. Dietary carotenoids and human immune function. **Nutrition**, New York, v. 17, n. 10, p. 823-827, Oct. 2001.

IBGE. **Em 30 anos, importantes mudanças nos hábitos de consumo dos brasileiros**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/19052004pof2002html.htm>>. Acesso em: 29 jan. 2007.

JAGANNATH, J. H. et al. Studies on the stability of an edible film and its use for the preservation of carrot (*Daucus carota*). **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 41, p. 498-506, 2006.

KALIORA, A. C.; DEDOUSSIS, G. V. Z.; SCHMIDT, H. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. **Atherosclerosis**, Limerick, v. 187, n. 1, p. 1-17, July 2006.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ AMAYA, D. B. Estabelecimento das condições cromatográficas para análise de carotenóides em alimentos por CLAE: uma ciência ou uma arte? **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 37, n. 2, p. 74-81, 2003.

KOCA, N.; BURDURLU, H. S.; KARADENIZ, F. Kinetics of colour changes in dehydrated carrots. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 78, n. 2, p. 449-455, Jan. 2007.

KOHLMEIER, L.; HASTINGS, S. B. Epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular-disease prevention. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 62, n. 6, p. 1370-1376, Dec. 1995. Supplement.

KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 66, n. 5, p. 1003-1010, May 1994.

KRONKA, S. N.; BANZATTO, D. A. **Estatística aplicada à engenharia de alimentos**. Jaboticabal: UNESP, FCAV, 2004.

LEE M. T.; CHEN, B. H. Separation of lycopene and its *cis* isomers by liquid chromatography. **Chromatographia**, New York, v. 54, n. 9/10, p. 613-617, Nov. 2001.

LEE, J. Y. et al. Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 36, p. 323-329, 2003.

LENART, A. Osmo-convective drying of fruits and vegetables: technology and application. **Drying Technology**, New York, v. 14, n. 2, p. 391-413, 1996.

LENART, A.; PIOTROWSKI, D. Drying characteristics of osmotically dehydrated fruits coated with semipermeable edible films. **Drying Technology**, New York, v. 19, n. 5, p. 849-877, 2001.

LI, P.; BARTH, M. M. Impact of edible coatings on nutritional and physiological changes in lightly-processed carrots. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 14, p. 51-60, Sept. 1998.

MACIEL, M. I. S. et al. Effects of biofilm and refrigeration on acerola postharvest conservation. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 168-170, Abr. 2004.

MARCOTTE, M.; LE MAGUER, M. Repartition of water in plant tissues subjected to osmotic process. **Journal of Food Process Engineering**, Westport, v. 13, p. 297-320, 1991.

MATUSKA, M.; LENART, A.; LAZARIDES, H. N. On the use of edible coatings to monitor osmotic dehydration kinetics for minimal solids uptake. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 72, n. 1, p. 85-91, Jan. 2006.

MAURO, M. A.; GARCIA, C. C.; KIMURA, M. Effects of osmotic dehydration on air-drying and on characteristics of dried pumpkin (*Cucurbita moschata*) In: Mercosur Congress on Chemical Engineering, 2., Rio de Janeiro, 2005, **Anais ...** Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2005. p. 1-10.

McLAREN, D. S. Vitamin A and its relatives: marvelous molecules in key life processes. **Sight Life Newsletter**, Suíça, v. 3, p. 3-17, 2002.

MURKOVIC, M.; MÜLLEDER, U.; NEUNTEUFL, H. Carotenoid content in different varieties of pumpkins. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 15, n. 6, p. 633-638, Dec. 2002.

NASCIMENTO, P. do. **Avaliação da retenção de carotenóides de abóbora, mandioca e batata doce**. 2006. 67 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2006.

NDAWULA, J.; KABASA, J. D.; BYARUHANGA, Y. B. Alterations in fruit and vegetable β -carotene and vitamin C content caused by open-sun drying, vesqueen-covered and polyethylene-covered solar dryers. **African Health Sciences**, v. 4, n. 2, p. 125-130, Aug. 2004.

NEGI, P. S.; ROY, S. K. Effect of blanching and drying methods on β -carotene, ascorbic acid and chlorophyll retention of leafy vegetables. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 33, n. 4, p. 295-298, June 2000.

NELIS, H. J. C. F.; DE LEENHEER, A. P. Isocratic non-aqueous reversed-phase liquid chromatography of carotenoids. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 55, n. 2, p. 270-275, 1983.

NESTEL, P.; TRUMBO, P. The role of provitamin A carotenoids in the prevention and control of vitamin A deficiency. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 49, n. 3, p. 26-33, Sept. 1999. Supplement.

NIIZU, P. Y. **Fontes de carotenóides importantes para a saúde humana**. 2003. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

NIIZU, P. Y.; RODRIGUEZ AMAYA, D. B. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 18, n. 8, p. 739-749, Dec. 2005.

NOLAN, J. M. et al. Risk factors for age-related maculopathy are associated with a relative lack of macular pigment. **Experimental Eye Research**, London, v. 84, n. 1, p. 61-74, Jan. 2007.

OLIVEIRA, M. A.; CEREDA, M. P. Pós-colheita de pêssegos (*Prunus pérsica* L. Bastsch) revestidos com filmes a base de amido como alternativa à cera comercial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 28-33, dez. 2003. Suplemento.

PALACE, V. P. et al. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 36, n. 5/6, p. 746-761, Mar. 1999.

PINHEIRO SANT'ANA, H. M. et al. Evaluation of total carotenoid, α - and β -carotene in carrots (*Daucus carota* L.) during home processing. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 39-44, Jan./Apr. 1998.

PONTING, J. D. Osmotic dehydration of fruit: recent modifications and applications. **Process Biochemistry**, London, v. 8, n. 12, p. 18-20, Dec. 1973.

PONTING, J. D. et al. Osmotic dehydration of fruit. **Food Technology**, Chicago, v. 20, n. 10, p. 1365-1368, Oct. 1966.

POTT, I. et al. Quantitative determination of β -carotene stereoisomers in fresh, dried and solar-dried mangoes (*Mangifera indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 16, p. 4527-4531, July 2003.

PRAKASH, S.; JHA, S.K.; DATTA, N. Performance evaluation of blanched carrots dried by three different driers. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 62, p. 305-313, 2004.

RAMOS, S. R. R. et al. Recursos genéticos de *Cucurbita moschata*: caracterização morfológica de populações locais coletadas no Nordeste brasileiro. *Herbário*, 2007. Disponível em: <http://www.herbario.com.br/dataherb13/2312recgeneabobora.htm>. Acesso em: 13 jan. 2006.

RISSANEN, T. et al. Lycopene, atherosclerosis, and coronary heart disease. **Experimental Biology and Medicine**, Maywood, v. 227, n. 10, p. 900-907, Nov. 2002.

RODRIGUEZ AMAYA, D. B. Avanços na pesquisa de carotenóides em alimentos: contribuições de um laboratório brasileiro. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 63, n. 2, p. 129-138, 2004.

_____. Effect of processing and storage on food carotenoid. **Sight Life Newsletter**, Suíça, v. 3, p. 25-35, 2002. Special issue

_____. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: CHARALAMBOUS, F. (Ed.). **Shelf life studies of foods and beverages: Chemical, Biological, Physical and Nutritional Aspects**, Amsterdam: Elsevier Science, 1993. p. 547-589.

_____. Nature of carotenoids in foods. In: _____. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington DC: ILSI Press, 1999. p. 1-5.

SANDER, L. C.; SHARPLESS, K. E.; PURSCH, M. C₃₀ stationary phases for the analysis of food by liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 880, n. 1/2, p. 189-202, June 2000.

SANDER, L. C. et al. Development of engineered stationary phases for the separation of carotenoid isomers. **Analytical Chemistry**, London, v. 66, n. 10, p. 1667-1674, May 1994.

SCHALCH, W. et al. Lutein and zeaxanthin, the carotenoids of the human macula. **Sight and Life Newsletter**, v. 2, p. 3-10, 2000.

SEMBA, R. D. Vitamin A and immunity to viral, bacterial and protozoan infections. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 28, n. 3, p. 719-727, Aug. 1999.

SEMBA, R. D.; DAGNELIE, G. Are lutein and zeaxanthin conditionally essential nutrients for eye health? **Medical Hypothesis**, Penrith, v. 61, n. 4, p. 465-472, Oct. 2003.

SEO, J. S. et al. Extraction and chromatography of carotenoids from pumpkin. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1073, n. 1/2, p. 371-375, May 2005.

SHARPLESS et al. Liquid chromatographic determination of carotenoids in human serum using an engineered C₃₀ and a C₁₈ stationary phase. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 678, n. 2, p. 187-195, Apr. 1996.

SHI, J. et al. Lycopene degradation and isomerization in tomato dehydration. **Food Research International**, Barking, v. 32, n. 1, p. 15-21, 1999.

SHIGEMATSU, E. **Influência de pré-tratamentos sobre a desidratação osmótica e a secagem de carambolas**. 2004. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2004.

SUARNAKUTA, P.; DEVAHASTIN, S.; MUJUMDAR, A. S. Drying kinetics and α -carotene degradation in carrot undergoing different drying processes. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, n. 8, p. 520-526, 2005.

TROSKO, J. E.; CHANG, C. C. Mechanism of up-regulated gap junctional intercellular communication during chemoprevention and chemotherapy of cancer. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 480/481, p. 219-229, Sept. 2001.

TRUMBO, P. et al. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 101, n. 3, p. 294-301, Mar. 2001.

VICENTINI, N. M.; CEREDA, M. P.; CÂMARA, F. L. A. Revestimentos de fécula de mandioca, perda de massa e alteração da cor de frutos de pimentão. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 3, p. 713-716, jul. 1999.

WEST, C. E.; EILANDER, A.; VAN LIESHOUT, M. Consequences of revised estimates of carotenoid bioefficacy for dietary control of vitamin A deficiency in developing countries. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 132, n. 9, p. 2920-2926, Sept. 2002. Supplement.

ZHANG, D. L.; QUANTICK, P. C. Effect of chitosan coating on enzymatic browning and decay during post-harvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 12, n. 2, p. 195-202, 1997.

ZHAO, Y. P.; CHANG, K. C. Sulfite and starch affect color and carotenoids of dehydrated carrots (*Daucus carota*) during storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 2, p. 324-347, Mar./Apr. 1995.