

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

AVALIAÇÃO E ESTUDO DA RETENÇÃO DE
CAROTENÓIDES TOTAIS E β -CAROTENO
EM MANDIOCA AMARELA MANSA E BRAVA

ALCIDES RICARDO GOMES DE OLIVEIRA

2006



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS GRADUÇÃO EM
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO E ESTUDO DA RETENÇÃO DE
CAROTENÓIDES TOTAIS E β -CAROTENO
EM MANDIOCA AMARELA MANSA E BRAVA**

ALCIDES RICARDO GOMES DE OLIVEIRA

Sob a orientação da Professora
Lucia Maria Jaeger de Carvalho

e Co-orientação do Professor
Ronoel Luiz de Oliveira Godoy

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Processamento de Alimentos de Origem Vegetal.

Seropédica, RJ.
Setembro de 2006

664.23

O48a

T

Oliveira, Alcides Ricardo Gomes de, 1980-
Avaliação e estudo da retenção de
carotenóides totais e β -caroteno em
mandioca amarela mansa e brava / Alcides
Ricardo Gomes de Oliveira. - 2006.

62 f. : il.

Orientador: Lucia Maria Jaeger de
Carvalho.

Dissertação (mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto
de Tecnologia.

Bibliografia: 45-51.

1. Mandioca - Composição - Teses. 2.
Mandioca - Processamento - Teses. 3.
Alimentos - Teor vitamínico - Teses. 4.
Carotenóides - Teses. 5. Caroteno - Teses.
6. Vitamina A na nutrição humana - Teses.
I. Carvalho, Lucia Maria Jaeger de, 1954-
II. Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Instituto de Tecnologia. III.
Título.

Bibliotecário: _____ **Data:** ___/___/___

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

ALCIDES RICARDO GOMES DE OLIVEIRA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Processamento de Alimentos de Origem vegetal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM ___/___/_____.

Lucia Maria Jaeger de Carvalho, (Dra.) UFRJ (Orientador)

Antônio Tavares da Silva, (Dr.) UFRRJ

Antonio Gomes Soares, (Dr.) Embrapa/CTAA

AGRADECIMENTOS

Ao *HarvestPlus* pela bolsa de mestrado e suporte integral da presente dissertação.

Aos pesquisadores José Luiz Viana de Carvalho e Marília Nutti, coordenadores do *HarvestPlus* no Brasil e América Latina, pela atenção despendida, pelos muitos ensinamentos de ética e profissionalismo, tão necessários não só para a execução dessa dissertação, mas para vida inteira.

Ao Sidney Pacheco e outros colaboradores pela atenção e força despendida neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio Tavares pela confiança em mim depositada na indicação, pela amizade e solicitude.

A minha Família (em especial minha mãe Elisabete Monteiro de Oliveira, meu Pai Alcides Gomes de Oliveira, meus irmãos André Luiz Gomes de Oliveira e Marcelo José Gomes de Oliveira, meus tios e primos) que tanto precisaram entender minhas ausências e promessas não cumpridas. Saibam que essa vitória é nossa!!!

À Profa Dra. Lucia M. Jaeger de Carvalho

Que me fez crescer;

Que não só compareceu,

Caminhou ao lado;

Dedico meu carinho e minha eterna gratidão,

por ter sido verdadeiramente,

Orientadora, Professora e Amiga.

Muitíssimo Obrigado!!!

A DEUS, por tudo! Pelas portas abertas, pelas pessoas ao meu redor, pela força nas horas difíceis, pela inspiração e pelos problemas que tive, pois todos eles foram vencidos com a sua força.

RESUMO

OLIVEIRA, Alcides Ricardo Gomes. **Avaliação e Estudo da Retenção de Carotenóides Totais e β -caroteno em Mandioca Amarela Mansa e Brava.** 2006. 51p Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Processamento de Alimentos de Origem Vegetal). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

Nos últimos dez anos vêm sendo realizados esforços, no sentido de se identificar novas variedades de mandioca amarela capazes de contribuir na melhoria da qualidade nutricional da alimentação de populações com problemas de desnutrição, situadas nos trópicos e, particularmente no nordeste brasileiro, onde a mandioca constitui um dos principais cultivos e quase a única fonte de nutrientes. A cultura da mandioca de coloração amarela pode ser uma excelente fonte de carotenóides precursores da vitamina A. O objetivo da presente dissertação foi avaliar os teores de carotenóides totais e β -caroteno em variedades de mandioca amarela mansa e brava e sua retenção após processamento. As raízes foram analisadas na Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro-RJ., onde realizou-se as análises de carotenóides totais, por espectrofotometria e de β -caroteno por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. A análise do β -caroteno contido nas raízes foi realizada após a obtenção de um de padrão de β -caroteno a partir da cenoura (*Daucus carota*, L.). Foram determinados também os isômeros *trans*, 13 e 9-*cis*- β -caroteno. Foram utilizadas 28 amostras, sendo elas, doze de mandioca amarela brava e onze de mansa utilizadas no estudo da variabilidade (23) e cinco outras variedades de mandioca amarela brava e todas as 11 mansas foram avaliadas para o estudo da retenção. O estudo de retenção das raízes de mandioca brava iniciou após a obtenção da farinha e para as mansas foram realizados três processos de cocção caseira, sendo: a) cozimento da raiz completamente coberta com água em panela sem tampa; b) cozimento da raiz completamente coberta com água em panela tampada; c) cozimento da raiz parcialmente coberta com água em panela tampada; e a realização de um teste de fritura na raiz que apresentasse maior % de retenção real de β -caroteno. A variabilidade encontrada nas variedades de mandioca amarela brava revelou teores de carotenóides totais mais elevados quando comparados àqueles de mandioca amarela mansa. Porém, a verificação da proporção de β -caroteno em relação aos teores de carotenóides totais, foi maior nas variedades de mandioca amarela mansa. Dentre os isômeros *trans*, 13 e 9-*cis* do β -caroteno, o isômero *trans* foi predominante, porém isômeros 13 e 9-*cis* apresentaram-se em quantidades significativas em relação ao teor de carotenóides totais. Quanto à retenção dos carotenóides na farinha, observou-se que os carotenóides foram degradados durante o processo de fabricação (50% em média) e durante o armazenamento, em condições do ambiente, extinguindo-se com menos de trinta dias. A retenção dos carotenóides totais quanto aos processos de cocção apresentou percentuais de retenção elevados em algumas variedades, porém, não houve uma condição de cozimento que se destacasse quanto à retenção dos carotenóides estudados. O mesmo foi observado na retenção do β -caroteno. Prevalendo o comportamento individual do processo de cocção por espécie de mandioca amarela mansa. Quanto à fritura a retenção dos carotenóides estudados também diminuiu com o processamento. A variabilidade de carotenóides apresentou o potencial individual das variedades, na retenção prevaleceu o efeito do calor em cada processo aplicado com degradação total dos carotenóides na farinha diferentes efeitos nas mandiocas mansas.

Palavras-chave: Mandioca amarela, Retenção, β -caroteno.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Alcides Ricardo Gomes. **Total Carotenoids and β -carotene Evaluation and Retention Study in Sweet and Bitter Yellow Cassava.** 2006. 51p. Dissertation (Master Science in Food Technology, Vegetable of Food Processing). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

In the last ten years were accomplished efforts, in the way of identify new varieties of able yellow cassava of contribute in the quality nutritional improvement in the populations with malnutrition problems, situated in the tropics and, particularly in the Brazilian northeast, where the cassava constitutes one of the main cultivations and almost the only nutrients source. The cassava culture of yellow coloration can be a carotenoids excellent source precursory of the vitamin A. The present dissertation objectived was to evaluate carotenoids total and β -carotene contents in varieties of bitter and sweet yellow cassava and its retention after processing. The roots were analyzed in Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro., Where it accomplished itself carotenoids analyses total, for spectrophotometer and of β -carotene for High Performance Chromatography Liquid. The analysis of the β -carotene contained in the roots was evaluated after obtainment standard of β -carotene from the carrot (*Daucus carota*, L.). Also were determined isomers *trans*, 13 and 9-*cis*- β -carotene. Were used 28 samples, being, twelve of bitter yellow cassava and eleven of sweet used in the variability study (23) and five other varieties of bitter yellow cassava and all the 11 sweet were evaluated for the retention study. The roots retention study of bitter cassava initiated after the flour obtainment and for the sweet were accomplished three cooking process home, being: a) cooking Root completely covered with water in pan without lid; b) cooking Root completely covered with water in pan with lid; c) Root cooking partially covered with water in pan with lid; And the accomplishment of a fry test in the root that presented larger % of real retention of β -carotene. The variability found in the varieties of bitter yellow cassava revealed total carotenoids contents more elevated total when compared to that of sweet yellow cassava. However, the proportion verification of β -carotene regarding the total carotenoids contents, it was larger in the varieties of sweet yellow cassava. Among isomers *trans*, 13 and 9-*cis* of the β -carotene, isomer *trans* was predominant, however isomers 13 and 9-*cis* they presented in significant quantities regarding the total carotenoids content. Regarding carotenoids retention in the flour, that carotenoids was observed were degraded during the production process (50% on an average) and during the storage, in environment terms, total degradation with less than thirty days. Total Carotenoids retention regarding cooking process presented percentile of retention elevated in some varieties, however, there was not a cooking condition that stood out regarding carotenoids retention studied. The same was observed in the retention of the β -carotene. Prevailing cooking process individual behavior for varieties of sweet yellow cassava. Regarding the fryer carotenoids retention studied also decreased with the processing. Carotenoids variability presented the individual potential of the varieties, in the retention prevailed the heat effect in each process applied with total degradation of carotenoids in the flour different effects in the sweet cassavas.

Key words: Yellow Cassava. Retention. β -carotene. *Manihot esculenta*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais continentes produtores de mandioca	01
Tabela 2. Principais exportadores e importadores de mandioca	01
Tabela 3. Composição centesimal (base seca) de mandioca mansa e brava	04
Tabela 4. Código das amostras de mandioca amarela brava	19
Tabela 5. Código das amostras de mandioca amarela mansa	21
Tabela 6. Experimentos de cozimento caseiro das amostras de mandioca amarela mansa	21
Tabela 7. Construção da curva padrão de calibração	24
Tabela 8. Identificação das cores das amostras pela <i>Colour strips HarvestPlus</i>	28
Tabela 9. Curva de calibração do β -caroteno	29
Tabela 10. Teor ($\mu\text{g/g}$) Carotenóides totais, β -caroteno total e percentual de β -caroteno total nas amostras de mandioca amarela brava <i>in natura</i> e respectivos desvios-padrão	30
Tabela 11. Teores ($\mu\text{g/g}$) de β -caroteno total e seus isômeros <i>trans</i> , 13 e 9- <i>cis</i> - β -caroteno nas amostras de mandioca amarela brava <i>in natura</i> e respectivos desvios-padrão	31
Tabela 12. Percentual de isômeros 13 e 9- <i>cis</i> - β -caroteno nas raízes de mandioca amarela brava em relação ao teor de carotenóides totais	32
Tabela 13. Teores de Carotenóides totais ($\mu\text{g/g}$) e o percentual (%) de degradação nas raízes mandioca amarela brava <i>in natura</i> , nas farinhas após o processamento e durante o armazenamento	32
Tabela 14. Teores em ($\mu\text{g/g}$) de carotenóides totais, β -caroteno total e o percentual de β -caroteno total encontrado nas amostras de mandioca amarela mansa e respectivos desvios-padrão	33
Tabela 15. Teores em ($\mu\text{g/g}$) de β -caroteno total e seus isômeros <i>trans</i> , 13 e 9- <i>cis</i> - β -caroteno nas amostras de mandioca amarela mansa <i>in natura</i> e respectivos desvios-padrão	34
Tabela 16. Percentual de isômeros 13 e 9- <i>cis</i> - β -caroteno nas raízes de mandioca amarela mansa em relação ao teor de carotenóides totais das amostras	35
Tabela 17. Teor de carotenóides totais, β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) e os seus respectivos percentuais de retenção real de mandioca amarela mansa em cada Experimento de cozimento	36

Tabela 18. Teor de isômeros *trans*, 13 e 9-*cis*- β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) na raiz *in natura* e processada de mandioca amarela mansa e respectivos desvios-padrão 39

Tabela 19. Teores de carotenóides totais e β -caroteno na amostra 1722 após a fritura ($\mu\text{g/g}$) 40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Produção brasileira de mandioca de 2002	02
Figura 2. Principais processos aplicados à raiz de mandioca	08
Figura 3. Processamento de fécula	09
Figura 4. Estruturas do β -caroteno e da vitamina A (retinol)	13
Figura 5. Esquema visual de análises das variedades de mandioca mansa e brava	19
Figura 6. Mini-casa de farinha 1) Ralador Rotativo. 2) Prensa manual. 3) Forno com Paleta Rotatória. Foto cedida pela Embrapa CNMFT – Cruz das Almas-Ba	20
Figura 7. Escala de cores “Carotenoid colour strips” do <i>HarvesPlus</i>	22
Figura 8. Raízes de mandioca preparadas para análise etapa corte longitudinal	25
Figura 9. Ilustração do procedimento de análise de extração de carotenóides	26
Figura 10. Intensificação da cor da raiz de mandioca mansa após cozimento, sendo a) Raiz 456 - Cenoura rosada e b) Raiz 1668 - Cacau amarelo	27
Figura 11. Cromatograma obtido por CLAE do padrão de β -caroteno e espectro de absorção no visível do <i>trans</i> - β -caroteno	29
Figura 12. Curva de Calibração de β -caroteno	29
Figura 13. Cromatograma mandioca amarela mansa – Híbrido 2003 14 08	35
Figura 14. Cromatograma mandioca amarela mansa – Híbrido 2003 14 11	35
Figura 15. Cromatograma mandioca amarela mansa – Híbrido 2003 14 17	36
Figura 16. Cromatograma mandioca amarela brava – 1138 – IM 147	42
Figura 17. Cromatograma mandioca amarela mansa – 1692 - Dendê	43

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1. % médio de retenção dos carotenóides totais entre os cozimentos. As análises foram realizadas em duplicata, e as barras de erro correspondem aos desvios-padrão e a identificação da diferença significativa ($p < 0,001$) entre os cozimentos. 38
- Gráfico 2. % médio de retenção do β -caroteno entre os cozimentos. As análises foram realizadas em duplicata, e as barras de erro correspondem aos desvios-padrão e a identificação da diferença significativa ($p < 0,001$) entre os cozimentos. 38
- Gráfico 3. Comparação do teor de carotenóides totais da mandioca amarela mansa x mandioca brava (colunas) e do % de β -caroteno de mandioca amarela mansa x mandioca amarela brava (linhas) 41
- Gráfico 4. Teores médios de carotenóides totais e de β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) das variedades mansas e bravas e as barras de erro correspondem aos desvios-padrão e a identificação da diferença significativa ($p < 0,001$) 41
- Gráfico 5. Teores médios dos isômeros 13, 9-*cis* e *trans*- β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) das variedades mansas e bravas e as barras de erro correspondem aos desvios-padrão e a identificação da diferença significativa ($p < 0,001$) entre os cozimentos onde n.s. = não significativo. 41

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DA LITERATURA	04
2.1 Histórico	04
2.2 Características e Cultura da Raiz	04
2.3 Colheita e Pós-colheita	06
2.4 Consumo da Mandioca e Derivados	06
2.5 Produção Nacional e Comércio de Mandioca e seus Derivados	07
2.6 Processamento de Mandioca	07
2.7 Fortificação de Alimentos e Vitamina A	09
2.8 Biofortificação de Alimentos	10
2.9 Transgenia e Melhoramento Vegetal	11
2.10 Carotenóides	12
2.11 Carotenóides em Mandioca	14
2.12 Cocção de Mandioca	15
2.13 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	15
2.14 Estudos de Retenção de Carotenóides em Alimentos	16
2.15 Biodisponibilidade de Carotenóides e suas Aplicações	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Material	19
3.1.1 Mandioca Amarela Brava <i>In natura</i>	19
3.1.2 Processamento da Farinha de Mandioca Amarela Brava	20
3.1.2.1 Avaliação da Cinética de Degradação	20
3.1.3 Mandioca Amarela Mansa <i>In natura</i>	21
3.1.4 Processamento da Mandioca Amarela Mansa	21
3.1.5 Avaliação Qualitativa com Escala de Cores <i>HarvestPlus</i>	22
3.1.6 Padrão de β -Caroteno	22
3.2 Metodologia	23
3.2.1 Extração do Padrão de β -Caroteno	23
3.2.2 Determinação do Teor de Carotenóides Totais e β -Caroteno	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Matéria-Prima	27
4.2 Padrão de β -caroteno e Curva de calibração	29
4.3 Mandioca Amarela Brava <i>in natura</i>	30
4.4 Avaliação da Degradação de Carotenóides Totais em Mandioca Amarela Brava	31
4.5 Avaliação da Cinética de Degradação de Carotenóides Totais na Farinha de Mandioca Amarela brava	33
4.6 Mandioca Amarela Mansa <i>In natura</i> e Processada	33
4.7 Avaliação Comparativa das Mandiocas Amarela Mansa e Brava	40
5 CONCLUSÕES	44
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1 INTRODUÇÃO

Originária da América do Sul, a mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz), presente na cultura indígena e de outras populações antigas, tem a sua importância histórica por ter sido a principal fonte energética para várias gerações desses povos. Constitui-se, ainda nos dias de hoje, um dos principais alimentos energéticos nos continentes Africano, Latino Americano e Asiático, para cerca de 500 milhões de pessoas, sobretudo nos países em desenvolvimento (MADUAGWU *et al.*, 2002).

A mandioca é de fácil adaptação a diferentes tipos de solo e clima, normalmente cultivada em pequena escala com pouca ou nenhuma adoção de tecnologia, utilizando basicamente mão de obra familiar.

No caso do Brasil, foi difundida por toda região limitada pelos trópicos geográficos.

A produção mundial aumentou ao longo das últimas décadas, como pode ser observado na Tabela 1, devido a fatores como melhoramento genético, emprego da tecnologia no plantio e expansão das áreas cultivadas. Entretanto, a expansão das áreas permanece centralizada nos países que tem tradição no plantio desta cultura.

Tabela 1. Principais continentes produtores de mandioca

	África ^(*)	Ásia ^(*)	América Latina ^(*)
1975	40	30	30
1985	55	40	28
1995	80	42	30
Projeção 2005	120	60	40

Fonte: FAO (2005).

(*) Dados em 10⁶ toneladas

A economia dos países africanos, o maior continente produtor, e da América Latina são baseadas pela exploração do setor primário. Portanto, os países buscam elevar a produção das culturas que são estratégicas para a manutenção da economia e atendimento do mercado interno, elevando a produção mais do que nos outros continentes (África) ou mantendo a produção (América Latina), nas últimas décadas (Tabela 1).

Por outro lado, a Tailândia, localizada no segundo maior continente produtor de mandioca (Asiático) é o maior país exportador de raízes de mandioca (Tabela 2).

Tabela 2. Principais exportadores e importadores de mandioca

	Exportadores ^(*)			Importadores ^(*)	
	2002	2003		2002	2003
Tailândia	4,4	5,6	U. E. (**)	1,5	2,0
Indonésia	0,1	0,1	China	2,1	2,5
Outros	0,2	0,2	Outros	0,7	0,8

Fonte: FAO (2005).

(*) Dados em 10⁶ toneladas

(**) Por peso de produto na forma de *chips* e *pellets*; Excluído o comércio entre membros da União Européia (U. E.)

O continente africano, maior produtor mundial de raízes de mandioca, não possui países que se destaquem no comércio exportador do produto, prevalecendo o atendimento no mercado interno, indicando que a cultura é produzida, principalmente, por produtores de pequeno porte, em sistemas de produção precário, com pouca ou nenhuma aplicação de tecnologia moderna de manejo e adubação.

A produção brasileira se destacou, dentre os 80 países produtores de mandioca, tendo atingido cerca de 13% da produção mundial (IBGE, 2006), demonstrando que, ainda, há espaço para crescimento da produção brasileira se uma modernização do plantio empregando tecnologia e melhoramento genético, for implementada.

Os dez principais estados produziram cerca de 80% da produção brasileira, sendo que o Pará e a Bahia concentraram 36% deste total; Paraná, Rio Grande do Sul e Maranhão, 26%. Os outros cinco: Amazonas, Minas Gerais, Ceará, São Paulo e Mato Grosso do Sul, contribuíram com 18% desta produção (IBGE, 2006). Observa-se na Figura 1, que 62% da produção nacional é proveniente nas regiões Norte e Nordeste.

O Brasil tem incentivado a produção e comercialização dos produtos agrícolas no Brasil, através de programas de financiamento do governo como o Programa Nacional de Agricultura Familiar (PRONAF). Este programa baseia-se no apoio ao desenvolvimento rural, a partir do fortalecimento da agricultura familiar e suas organizações, por exemplo cooperativas, como segmento gerador de postos de trabalho, renda e aumento da qualidade nutricional dessas populações (PRONAF, 2005).

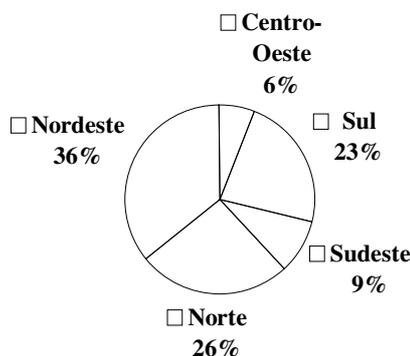


Figura 1. Produção brasileira de mandioca de 2002
Fonte: IBGE (2006).

A raiz de mandioca pode ter sua importância na alimentação ampliada com a inserção de variedades que, por características naturais ou não, forneçam micronutrientes, como por exemplo, a pró-vitamina A ou β -caroteno. Além de aumentar a qualidade do valor nutricional na dieta de populações carentes, agregaria valor aos produtos da cadeia industrial da raiz.

Essa inserção de micronutrientes na dieta, através de matérias-primas não consideradas ricas em sua composição, vem sendo pesquisada e aplicada a vários tipos de alimentos, como: inserção do ferro no trigo, iodo no sal, arroz com altos teores de zinco e ferro (prevenção da anemia), feijão com menos fatores antinutricionais (polifenóis, fitatos e maior biodisponibilidade do ferro), tomate com mais licopeno (prevenção do câncer), soja e canola com mais vitamina E, mandioca e milho com pró-vitamina A ou β -caroteno, entre outros estudos (HARVESTPLUS, 2004; MARGIS, 2000; BRUNORO, 2005).

Os carotenóides provenientes dos vegetais são responsáveis por 80-85% do fornecimento de vitamina A na dieta (ZAKARIA-RUNGKAT *et al.*, 2000) e seu papel como fonte de pró-vitamina A tem atraído grande interesse devido, também, ao potencial efeito antioxidante.

Estudos que avaliem a variabilidade e a retenção de carotenóides em vegetais que participam da dieta alimentar e o impacto que causam na alimentação humana, fazem-se necessários até que a esses produtos atinjam as populações carentes e estejam estabelecidos na cadeia produtiva.

Os objetivos da presente dissertação foram avaliar a variabilidade do teor de carotenóides totais e de β -caroteno em 23 variedades de raízes de mandioca amarela mansa e brava na forma *in natura*, bem como os isômeros *trans* (E), 13 e 9-*cis* (Z) do β -caroteno; determinar o percentual de retenção real de carotenóides totais e β -caroteno nas raízes de mandioca amarela mansa após processamento, sob condições caseiras de cocção e fritura e, determinar a degradação de carotenóides totais em cinco variedades de mandioca amarela brava após processamento da farinha torrada e o efeito do tratamento térmico na degradação dos carotenóides totais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Histórico

A planta da mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) pertence à Família *Euphorbiaceae* sendo originária da América do Sul, cultivada pelos índios os responsáveis pela sua disseminação. Os portugueses a difundiram por outros continentes, especialmente África e Ásia (EMBRAPA, 2005).

A planta é um arbusto de raízes volumosas, folhas pecioladas e flores de cálice amarelado, dispostas em panículas. Seu tubérculo também é conhecido como aipim, aipi, castelinha, macaxeira, mandioca doce e mandioca de acordo com as regiões onde é cultivado (EMBRAPA, 2005).

2.2 Características e Cultura da Raiz

Existem cerca de 1.200 variedades no Brasil, classificadas em duas categorias: brava e mansa de acordo com o teor de ácido cianídrico.

A composição centesimal da mandioca varia de acordo com a espécie, idade, local e condições de cultivo. Na Tabela 3, pode ser observada a composição média da mandioca utilizada como matéria-prima para produção farinha (brava) e consumo cozida ou frita (mansa).

Tabela 3. Composição centesimal (base seca) de mandioca mansa e brava

<i>Nutriente</i>	<i>Mansa</i>	<i>Brava</i>
Amido (%)	80.1 ± 0,3b	86,3 ± 0,4a
Proteína (%)	1,3 ± 0,5b	1,2 ± 0,3a
Fibra (%)	3,5 ± 0,5b	1,5 ± 0,2a
Lipídios (%)	0,2 ± 0,2b	0,3 ± 0,6a
Umidade (%)	12,3 ± 0,2b	9,6 ± 0,4a
Cinzas (%)	2,8 ± 0,4b	1,3 ± 0,2a

Fonte: CHARLES *et al.* (2005).

CHARLES *et al.* (2005) observaram diferenças significativas ($p < 0,05$) quanto a composição centesimal de duas espécies de mandioca mansa e brava (Rayong 2 e Kasetsart 50), respectivamente, comumente encontradas no norte da Tailândia. Diferenças, também foram observadas quanto ao teor de ácido cianídrico.

O ácido cianídrico (HCN), substância tóxica, encontrada na raiz que, em contato com outros compostos e com enzimas da polpa, forma o princípio ativo do veneno na planta. A planta possui compostos cianogênicos que são depositados em células próprias. A concentração de HCN nas espécies permite classificá-las em grupos: mandioca brava e mansa. Segundo normas estabelecidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), a toxicidade é avaliada de acordo com o teor de ácido cianídrico: se for menor que 100 ppm, a mandioca é considerada mansa e acima de 200 ppm possui elevada toxicidade e é considerada brava.

DIAS *et al.* (1997), analisaram a cultura da mandioca e concluíram que a toxicidade é uma forma de proteção da planta contra insetos.

O ácido cianídrico é eliminado por altas temperaturas em processos de torrefação ou secagem ao sol da polpa, por prensagem e lavagem da massa durante a industrialização para produção da fécula e farinha (EMBRAPA, 2005).

Apesar de se adaptar aos mais diferentes ecossistemas, a cultura da raiz de mandioca apresenta uma alta interação do genótipo com o ambiente, ou seja, as cultivares apresentam adaptações específicas a determinadas regiões e, dificilmente, uma mesma cultivar se comporta de forma semelhante em todos os ecossistemas (EMBRAPA, 2005).

O ciclo da cultura da mandioca para indústria é de 16 a 24 meses com produção média de 25 a 35 toneladas por hectare. A mandioca de mesa tem ciclo entre 7 e 14 meses e a produtividade média fica entre 15 e 20 toneladas.

Para que a planta produza satisfatoriamente o solo deve ser friável (solto), porque o principal produto da planta de mandioca é a raiz, sendo ideal o solo arenoso, por possibilitar o fácil crescimento das raízes, uma boa drenagem e a facilidade no momento da colheita (EMBRAPA, 2005).

O preparo de área utilizado na agricultura familiar, normalmente, utiliza a técnica de derrubada de mata, do tipo corte-queima, com vistas ao cultivo de culturas alimentares, apresentando inconvenientes como poluição ambiental, erosão, perda de nutrientes do solo, além de tratar-se de um trabalho penoso com grande desgaste físico do agricultor. Esse sistema só permite bom rendimento no primeiro ano, pois no segundo, a produtividade das culturas diminui, aumenta a infestação de ervas daninhas e o número de capinas. Sendo necessário nos anos seguintes realizar uma reconstituição das terras através de componentes químicos para enriquecimento do solo.

O plantio é normalmente feito no início da estação chuvosa, quando a umidade e o calor tornam-se elementos essenciais para a brotação e enraizamento. A falta de umidade durante os primeiros meses após o plantio pode ocasionar sérias perdas na brotação e na produção, enquanto que o excesso, em solos mal drenados, favorece a podridão de raízes.

De maneira geral, os espaçamentos de 1,00 x 1,00 m, em fileiras simples e 2,00 x 0,60 x 0,60 m, em fileiras duplas são recomendados. O sistema de plantio em fileiras duplas oferece as seguintes vantagens: aumenta a produtividade; facilita a mecanização; facilita a consorciação; reduz o consumo de manivas e de adubos; permite a rotação de culturas na mesma área, pela alternância das fileiras; reduz a pressão de cultivo sobre o solo; e facilita a inspeção fitossanitária e a aplicação de defensivos. As principais doenças que afetam a produção da planta de mandioca no Brasil são identificadas como: a podridão radicular, bacteriose e superalongamento. A podridão radicular é um fator limitante da produção de mandioca em algumas áreas com ecossistemas de várzea da Região Norte. Estima-se que na Região Amazônica as perdas chegam a ser superiores a 50% na Várzea, podendo atingir até 30% na Terra Firme (EMBRAPA, 2005).

A bacteriose, causada por *Xanthomonas campestris* pv. *Manihotis*, caracteriza-se por manchas, de aparência aquosa, nos folíolos, murcha as folhas e pecíolos, provocando a exsudação de goma nas hastes, além de necrose dos feixes vasculares e morte da planta.

O superalongamento, causado por *Sphaceloma manihoticola*, é uma das doenças de origem fúngica. Os principais sintomas da doença caracterizam-se pelo alongamento exagerado das hastes, provocado pelo ácido giberélico induzido pelo fungo, formando ramas finas com longos entrenós. Principais pragas que afetam a produção de mandioca são: mandarová, ácaros, cupins e formigas. O mandarová (*Erinnys ello*) causa problemas devido à sua alta capacidade de consumo foliar, especialmente nas últimas transformações larvais podendo reduzir o rendimento e até mesmo, ocasionar a morte de plantas jovens (EMBRAPA, 2005).

Os ácaros são as pragas encontradas em grande número na face inferior das folhas. Alimentam-se penetrando no tecido foliar e succionando a seiva das plantas. Os sintomas típicos são deformações e queda das folhas. Em consequência, a área foliar e a taxa fotossintética são reduzidas. As formigas podem desfolhar rapidamente as plantas quando ocorrem em altas populações não controladas. Fazem um corte semicircular na folha, podendo

também atingir as gemas quando os ataques são severos. Em geral os ataques ocorrem durante os primeiros meses de desenvolvimento da cultura (EMBRAPA, 2005).

2.3 Colheita e Pós-colheita

O início da colheita da mandioca depende de fatores como: ciclo das cultivares (precoces 10-12 meses; semi-precoces 14-16 meses; e tardias 18-20 meses); ataque de pragas ou doenças que podem antecipar ou retardar a colheita; infestação de plantas daninhas; infestações de insetos; condições de solo, umidade e clima; situação do mercado e preço do produto (EMBRAPA, 2005).

As épocas mais indicadas para promover a colheita da mandioca são aquelas em que as plantas se encontram em período de repouso, ou seja, quando, pelas condições de clima (temperaturas mais baixas e pouca chuva), as plantas diminuíram o número e o tamanho das folhas e dos lobos foliares, condição em que atinge o máximo de produção de raízes com elevado teor de amido. Embora já existam implementos mecanizados de fabricação nacional, a colheita da mandioca é primordialmente manual e/ou com auxílio de implementos, tendo duas etapas: a) poda das ramas, efetuada a uma altura de 20 a 30 cm acima do nível do solo; e b) arranquio das raízes, com a ajuda de ferramentas, dependendo das condições de umidade e/ou características do solo. Após o arranquio ou colheita das raízes, estas devem ser amontoadas em pontos na área a fim de facilitar o recolhimento pelo veículo transportador, devendo-se evitar que permaneçam no campo por mais de 24 horas, para que não ocorra a deterioração fisiológica e/ou bacteriológica. O carregamento das raízes no campo é feito em cestos, caixas, sacos, grades de madeira e transportado para o local de beneficiamento por meio de animais, carroças e caminhões (EMBRAPA, 2005).

Após a colheita, em termos tecnológicos, o escurecimento enzimático é um fator importante a ser considerado no processamento e após o descascamento, de forma mais intensa, inicia-se esse processo de deterioração, que pode ser evitado com a aplicação de tratamentos antioxidantes (por exemplo, por imersão em solução diluída de ácidos orgânicos) e/ou branqueamento (tratamento térmico brando) (EMBRAPA, 2005).

2.4 Consumo da Mandioca e Derivados

O consumo per capita mundial de mandioca e derivados reduziu durante o período de 1996 a 2003. O consumo caiu de 17,40 Kg/hab em 1999 para 16,4 Kg/hab em 2003. (FAO, 2003 *apud* FENIMAN, 2004), enquanto o Brasil apresentou o mesmo comportamento no período de 1999 a 2003. O consumo de 50,60 Kg/hab em 1999 caiu para 42,9 Kg/hab em 2003.

Alguns países da África, o maior continente produtor da cultura, têm o consumo per capita de mandioca elevado quando comparado a países como Brasil. O consumo de mandioca e derivados, na República Democrática do Congo, República do Congo e Gana apresentaram, respectivamente, valores de 333,2, 281,1 e 247,2 kg/hab/ano. (EMBRAPA, 2005).

Comparando-se o consumo em domicílio entre 1987 e 1996, as regiões metropolitanas do Nordeste e do Sudeste diminuíram em média 24,6% a quantidade consumida de farinha de mandioca. Os autores atribuem essa diminuição à concorrência com outros amiláceos na forma de farinha ou cereais processados como o macarrão e o arroz. (CARDOSO & HENRY, 2004).

2.5 Produção Nacional e Comércio da Mandioca e seus Derivados

A produção nacional da cultura estimada pela CONAB em 2002 foi de 22,6 milhões de toneladas numa área plantada de 1,7 milhões de hectares, com rendimento médio de 13,3 toneladas de raízes por hectare. (IBGE, 2006).

A agricultura familiar está presente em 86% dos estabelecimentos agrícolas brasileiros, ocupando 30,5% da área total. Sua força econômica é traduzida por representar 38% do valor bruto da produção nacional, sendo responsável pela produção de 84% da mandioca; 67% do feijão; 49% do milho; 31% do arroz e quantidades expressivas de soja, suínos, leite e outros produtos importantes para o abastecimento interno e para as exportações. (IBGE, 2006).

As três principais regiões metropolitanas do Nordeste (Salvador, Recife e Fortaleza), em conjunto com a região metropolitana de São Paulo, formam um mercado que, pelo seu tamanho, torna-se uma variável relevante na formação do preço da farinha no Brasil. Essas quatro regiões metropolitanas apresentam um consumo de 14,4; 9,04; 7,4 e 1,23 kg/hab/ano, respectivamente (CARDOSO & HENRY, 2004).

Segundo CARDOSO & HENRY (2004), a maior quantidade de mandioca nacional é direcionada à indústria para produção de farinha e outros derivados, enquanto que o mercado de raiz para consumo humano e animal *in natura* é menor e regional. A cadeia da mandioca para mesa equivale à cerca de 15% do total de raiz consumida para alimentação humana ou animal. O mercado regional atende os grandes centros pelos mesmos canais de distribuição dos produtos olerícolas, ou seja, centrais de abastecimento onde é comercializado por atacado.

O amido, subproduto da mandioca, tradicionalmente, tem amplo emprego na indústria alimentícia, farmacêutica, metalúrgica, têxtil, mineração, cosmética, construção, papel e papelão, entre outras aplicações. A farinha é a principal forma de utilização da mandioca no Brasil, atingindo índices superiores a 90% entre o produzido e o comercializado.

É um produto importante na geração de emprego e de renda, notadamente nas áreas pobres da Região Nordeste. Considerando-se a fase de produção primária e o processamento de farinha e fécula, estima-se que são gerados, no Brasil, um milhão de empregos diretos. Estima-se que a atividade mandioqueira proporcione uma receita bruta anual equivalente a 2,5 bilhões de dólares e uma contribuição tributária de 150 milhões de dólares, (EMBRAPA, 2005). A produção de mandioca que é transformada em farinha e fécula gera, respectivamente, uma receita equivalente a 600 milhões e 150 milhões de dólares, respectivamente.

O mercado internacional de mandioca, sem considerar o comércio interno na União Européia, movimentou, em média/ano, cerca de 10 milhões de toneladas de produtos derivados ("*pellets*" e farinha de soja/mandioca), sendo equivalente a mais de 1 bilhão de dólares até 1993. A produção brasileira de mandioca é praticamente consumida no mercado interno; nos últimos 10 anos a média da participação nas exportações não chegou a 0,5% da produção nacional. (EMBRAPA, 2005).

2.6 Processamento de Mandioca

A escala de operação das indústrias de processamento de farinha vai desde pequenas unidades artesanais de processamento (comunitárias ou privadas) existentes no Brasil como um todo, até unidades de grande porte que processam, em média, 300 sacas de farinha por dia, passando pelas unidades de médio porte (100 sacas por dia). Na cadeia da mandioca existem ainda outros produtos de importância econômica regional que são comercializados de forma informal, como é o caso da raspa de mandioca e da parte aérea (EMBRAPA, 2005).

Os principais produtos derivados da mandioca brava são a farinha seca, d'água e farinha mista ou do Pará, a fécula ou polvilho doce e polvilho azedo. Na Figura 2, são apresentadas as formas mais comuns de processamento da mandioca. As farinhas de mandioca que passam por torrefação tais como: farinha seca, farinha d'água ou farinha do Pará são, geralmente, utilizadas no consumo direto à mesa, enquanto que a farinha proveniente da raiz seca: farinha de raspa destina-se a fins mais diversificados, como farinha alimentícia panificável utilizada na elaboração de massas (biscoitos, macarrões e similares) em misturas com a farinha de trigo, na composição de rações, de lama aquosa na mineração do petróleo, na produção de álcool, indústria de papel (preparo da massa e recobrimento da superfície), na indústria têxtil (para evitar encolhimento de tecido), na produção de adesivos e de agentes ligantes, na indústria de fundições, entre outras aplicações (GAMEIRO, 2002).

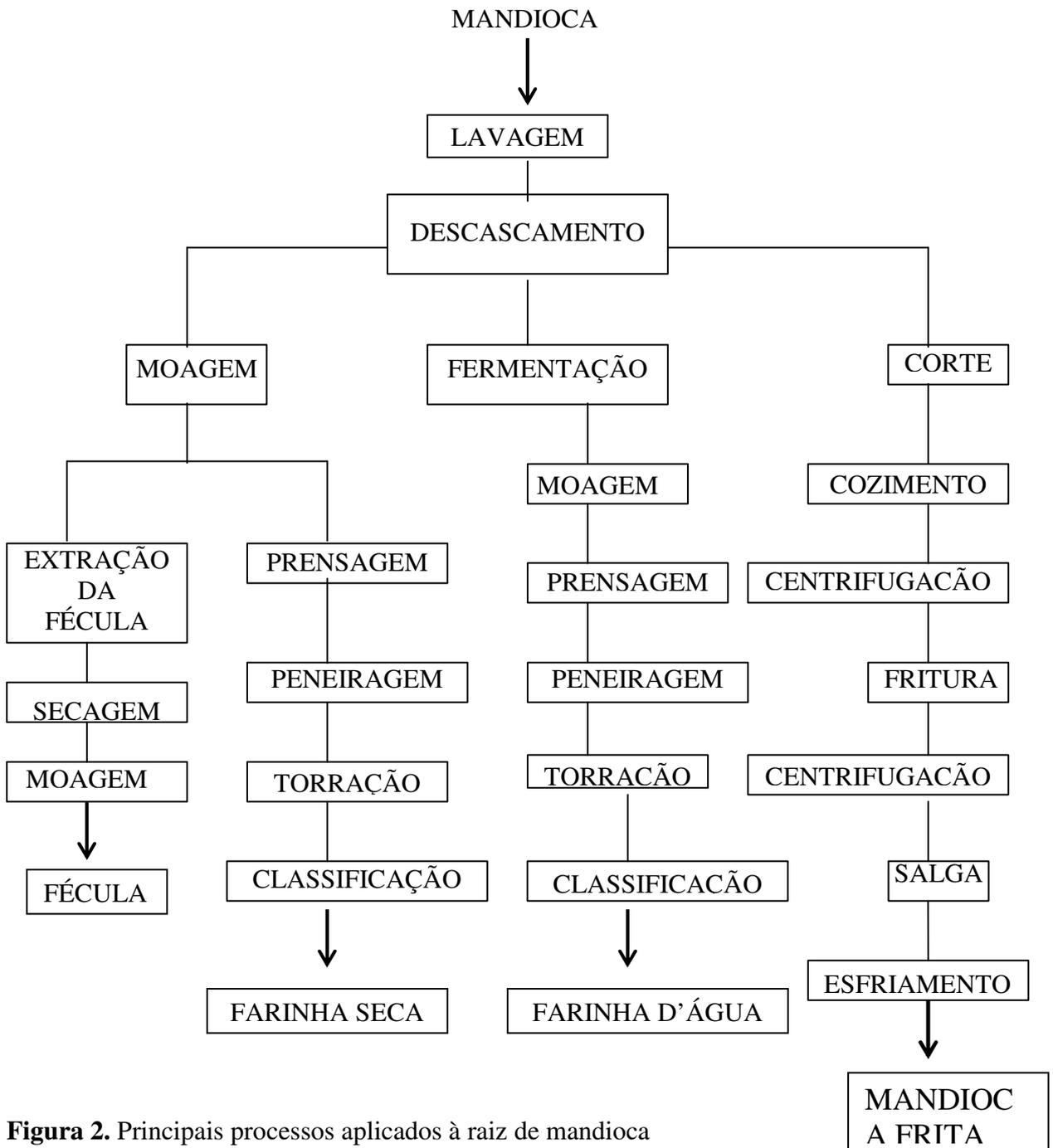


Figura 2. Principais processos aplicados à raiz de mandioca
 Fontes: Embrapa (2005); Cereda (2000).

O amido de mandioca (fécula) possui um sabor suave e produz pasta clara. Seja nativo ou modificado, pode ser utilizado para diversos fins industriais: 1) na indústria de alimentos, como espessante, em cremes gelatinizados, tortas, pudins, sopas, alimentos infantis, molhos, caldos; como recheio, para o aumento do teor de sólidos em sopas enlatadas, sorvetes, conservas de frutas, preparados farmacêuticos; 2) como ligante, impedindo a perda de água durante o cozimento de salsichas, carne enlatada e, 3) como estabilizante, promovendo capacidade de retenção de água em sorvetes, fermento em pó sendo utilizado, também, em produtos de panificação na elaboração de pães, biscoitos e extrusados. (CEREDA, 2000a). Um esquema dos subprodutos da fécula pode ser observado na figura 3.

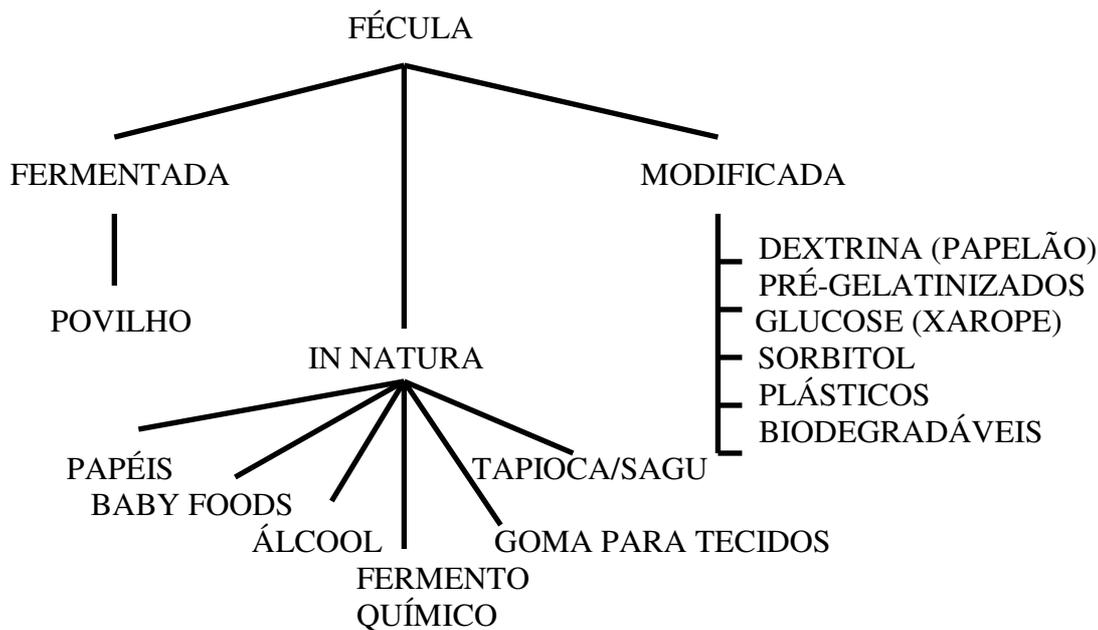


Figura 3. Processamento de fécula

Fonte: EMBRAPA (2005).

2.7 Fortificação dos Alimentos e Vitamina A

A fortificação é uma forma de adição de micronutrientes, visando garantir a ingestão destes em doses adequadas, utilizando comumente os alimentos de uso massivo.

A deficiência de vitaminas e minerais são um grave problema de saúde pública em todo o mundo, principalmente, em países em desenvolvimento, tornando a fortificação dos alimentos uma alternativa de intervenção para este problema (ZANCUL, 2004).

A vitamina A é uma vitamina lipossolúvel, constituinte do grupo de substâncias orgânicas, sem valor energético, que o organismo não sintetiza sendo fornecida pela ingestão de alimentos que possuem em sua constituição pró-vitamina A ou pela ingestão da vitamina pré-formada no fígado de animais (MICRONUTRIENT, 2002).

A vitamina A é essencial para o crescimento e desenvolvimento do ser humano atuando na manutenção da visão, no funcionamento adequado do sistema imunológico e mantendo saudáveis as mucosas bem como barreira para infecções (ZANCUL, 2004).

A deficiência é geralmente, resultado da falta de ingestão prolongada de alimentos que contenham vitamina A, e agravada pelo aparecimento de infecções, sendo reconhecida como uma das maiores causadoras de mortalidade em crianças. Hoje, se reconhece, mundialmente,

que a deficiência de vitamina A é um dos problemas nutricionais mais importantes, causando impacto negativo na saúde pública, principalmente, nos países em desenvolvimento (ZANCUL, 2004).

Na maioria dos produtos, a fortificação é feita com a utilização de carotenóides pelo fato de possuírem menor toxicidade do que a vitamina A (RONCADA, 1998). A margarina é um ótimo veículo para ser fortificado com pró-vitamina A, além de ser utilizada como conservante do produto, pode ser adicionada com a função de suplemento vitamínico.

A fortificação do açúcar, por exemplo, com vitaminas, provocaria um impacto muito grande na alimentação, pois, além de ser consumido diretamente, é ingrediente para várias formulações como: biscoitos, bebidas fortificadas, preparados prontos para bolos, entre outros alimentos (DARY & MORA, 2002).

Em regiões com infra-estrutura comercial adequada e que dispõem de mercados bem estabelecidos para a distribuição de alimentos processados, a fortificação de alimentos torna-se uma forma eficaz de suplementação alimentar. Por outro lado, é possível que alimentos fortificados não alcancem uma grande parte da população, carente de suplementação alimentar, pela ausência de uma infra-estrutura de mercado. Do mesmo modo, a suplementação depende de um sistema de saúde com infra-estrutura altamente funcional, raramente encontrada em países em desenvolvimento (HARVESTPLUS, 2004).

Alimentos de baixo valor nutricional e de elevado consumo, já foram utilizados como veículos de nutrientes essenciais à extensão da vida. O sal iodado é um bom exemplo, sabendo-se que a única função do iodo é sua participação na síntese dos hormônios tireoidianos (BRASIL, 2003).

Outro exemplo, é o impacto da farinha de mandioca fortificada com ferro aminoácido quelato, sobre o nível de hemoglobina de pré-escolares. TUMA *et al.* (2003) observaram recuperação em crianças com desnutrição crônica e aumento significativo ($p < 0,05$) dos valores de hemoglobina de todos os pré-escolares. As crianças anêmicas que receberam a farinha de mandioca fortificada com 2 mg de Fe/dia foram plenamente recuperadas ao final do estudo, demonstrando um bom desempenho desse grupo em relação aos demais.

No Brasil, a partir da publicação da Resolução RDC Nº 344, em 13 de dezembro de 2002, que regula a adição de ferro em alimentos, torna-se obrigatória a fortificação das farinhas, devendo cada 100 g de farinha de trigo e de farinha de milho fornecerem no mínimo 4,2 mg de ferro e 150 mg de ácido fólico, devido à necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de prevenção e controle sanitário na área de alimentos visando à saúde da população. Seguindo-se as recomendações da Organização Mundial da Saúde-OMS e Organização Panamericana da Saúde - OPAS de fortificação de produtos alimentícios com ferro e ácido fólico (BRASIL, 2002).

2.8 Biofortificação de Alimentos

A introdução de produtos agrícolas biofortificados, como variedades melhoradas que apresentam um conteúdo maior de minerais e vitaminas, complementar as intervenções em nutrição existentes e proporcionará uma maneira sustentável e de baixo custo para alcançar as populações com limitado acesso aos sistemas formais de mercado de saúde (CARVALHO, 2005).

O desenvolvimento de variedades adaptadas às condições de crescimento de inúmeros países, demandam investimentos em instituições de pesquisas, para a produção de sementes biofortificadas que apresentam o potencial de fornecer benefícios contínuos, ano após ano, nos países, a um custo inferior ao da suplementação e da fortificação pós-colheita. Portanto, são soluções definitivas para a erradicação da desnutrição nos países em desenvolvimento (CARVALHO, 2005).

A biofortificação é uma estratégia cientificamente possível, efetiva e complementar a outros métodos para a erradicação de deficiências de micronutrientes; sua maior vantagem é que não requer mudanças no comportamento dos produtores e consumidores.

Pesquisadores da Universidade de Freiburg, na Alemanha, que estudam a biofortificação, introduziram β -caroteno no endosperma do arroz para a produção do chamado “*Golden Rice*”. Estudos estão sendo realizados para que o arroz enriquecido com β -caroteno seja usado para combater a deficiência de vitamina A (BEYER *et al.*, 2002).

Esforços mundiais podem ser traduzidos a exemplo do *HarvestPlus* que é uma coalizão mundial de pesquisa de entidades como o Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Instituto Internacional de Pesquisa sobre Políticas Alimentares (IFPRI) que coordenam as atividades de fitomelhoramento, nutrição humana, difusão, análise de políticas e avaliação de impacto, as quais serão realizadas em centros internacionais de pesquisa e de extensão agrícola e em departamentos de ciência vegetal e nutrição humana em universidades de países desenvolvidos e em desenvolvimento (HARVESTPLUS, 2004).

O *HarvestPlus*, que promove a aliança mundial de instituições de pesquisa e de entidades executoras, se uniu para melhorar e disseminar produtos agrícolas que contribuam para uma melhor nutrição. Atualmente, trabalha, entre outras frentes, na biofortificação da mandioca, milho e bata-doce melhorando o teor de pró-vitamina A ou os níveis de carotenóides como o β -caroteno presente naturalmente nas raízes e em arroz, trigo e, no caso do feijão, melhorando os níveis de ferro e zinco (HARVESTPLUS, 2004).

2.9 Transgenia e Melhoramento Vegetal

A transgenia é uma técnica que pode contribuir de forma significativa para o melhoramento genético de plantas, visando à produção de alimentos, fibras e óleos, com atributos desejáveis como a fabricação de fármacos e outros produtos industriais (NODARI & GUERRA, 2000). A ciência que promove o uso dessa técnica é Biotecnologia e desenvolveu-se ao longo das últimas décadas, que pode ser dividida em três fases.

A primeira fase consiste na introdução de características agronômicas. Desde 1995, alguns produtos com características melhores têm sido lançados no mercado, com a soja *Roundup Ready*, tolerante ao glifosato, um ingrediente ativo do herbicida *Roundup*. Outro exemplo, é o milho *YieldGard* que possui uma proteína inseticida que confere resistência à broca no milho, inseto que infesta a cultura e reduz sua produção em 6% a 20% (BRUNORO, 2005).

A segunda fase visa à produção de culturas de melhor qualidade. O melhoramento genético clássico produziu alimentos diferenciados como a canola com alto teor de ácido erúico e glicosinolato, o milho ceroso com alto teor de amilose, o arroz com grão longo e o trigo *durum*. Vários produtos para ração animal estão sendo desenvolvidos, dentre os quais aqueles com grãos com alta densidade calórica, devido ao elevado conteúdo de óleo e grãos com alta densidade de nutrientes, principalmente aminoácidos essenciais e outros micronutrientes. O milho com alto teor de óleo (6% ou mais) e/ou alto teor de proteína é resultado do melhoramento molecular. Outro exemplo da biotecnologia, introduzindo genes que alteram vias metabólicas, é a produção de gordura sólida ou semi-sólida sem ácidos graxos *trans* nas sementes oleaginosas, isso é possível inibindo-se a conversão de ácido esteárico para oléico na soja e na canola (BRUNORO, 2005).

A terceira fase objetiva o uso de plantas como “biofábricas”, produzindo alimentos fortificados e substituindo a adição de constituintes sintéticos aos alimentos. Desse modo, a biotecnologia pode ser utilizada para suprir as deficiências nutricionais, como a vitamina A. Os fatores anti-nutricionais também podem ser reduzidos, bem como o fornecimento de novos nutrientes nos grãos, como os fitoesteróis, os quais têm o potencial de reduzir de 10% a

15% os níveis de colesterol em humanos. Outras aplicações da biotecnologia para um futuro próximo incluem a modulação de doenças pela manipulação de compostos antioxidantes, antiinflamatórios e estimulantes do sistema imune nos alimentos (BRUNORO, 2005).

Os teores de β -caroteno (pró-vitamina A) nas raízes de mandioca, é governado por poucos genes e de fácil manipulação pelos métodos convencionais de melhoramento genético.

Segundo CEBALLOS (2005), em apenas um ano de pesquisa, os teores de carotenóides em raízes de mandioca foram aumentados de 10,7 μ g/g para 16 μ g/g, em base seca. Com isso, estima-se que é fácil obter-se variedades de mandioca com teores mais elevados de carotenóides nas raízes, superiores àqueles já encontrados no germoplasma nativo (variedades crioulas).

2.10 Carotenóides

Carotenóides são sintetizados pelas plantas e outros organismos fotossintéticos, bactérias não-fotossintéticas, leveduras e mofo (STAHL, 2005). Nos animais, a acumulação em certos tecidos como plumas de flamingos, gema de ovo e exoesqueletos de invertebrados é atribuída a ingestão via alimentos. Nas plantas, estão localizados em organelas sub-celulares: os cloroplastos e os cromoplastos. Nos cloroplastos são associados com proteínas e atuam na fotossíntese, como pigmentos foto-protetores e estabilizadores de membrana (SCHIEBER, 2005).

São componentes de um sistema coletor de luz nos cloroplastos e forma uma importante via de proteção das plantas contra danos foto-oxidativos (DEMMING-ADAMS, 2002).

As cores amarelo, laranja e vermelho de muitas frutas e flores, são obtidas pelo conteúdo de carotenóides presentes nos cloroplastos. Consideráveis quantidades de carotenóides estão presentes nas partes verdes das plantas incluindo folha, onde a clorofila mascara sua presença (STAHL, 2005).

Pigmentos vermelhos em frutas e vegetais contem, principalmente, licopeno. Outro pigmento vermelho que é brilhante encontrado na pimenta (*Capsicum annuum*) é devido a capsantina. A cor laranja da cenoura (*Daucus carota*) é promovida pela presença de β -caroteno dentre outros carotenóides (STAHL, 2005).

A astaxantina é comumente encontrada em animais marinhos e é responsável pela coloração rósea avermelhada dos crustáceos. Alguns peixes, como o salmão, são incapazes de sintetizar carotenóides, mas a astaxantina é produzida pela modificação de carotenóides provenientes de plantas obtidas na dieta.

Os Carotenóides são geralmente constituídos de uma estrutura carbônica de quarenta átomos de carbono (C_{40}), compostos usualmente de oito unidades de isoprenos (C_5). Formando um sistema de duplas ligações conjugadas, na qual constituem um grupo cromóforo que propicia ao carotenóide cor e absorção da luz no espectro visível que serve como base para identificação e quantificação do carotenóide (BAUERNFEIND, 1972, BRITTON, 1995, RODRIGUEZ-AMAYA & KIMURA, 2004).

Sendo pigmentos naturais presentes em frutas e leguminosas, têm sido apontados como possíveis responsáveis pela proteção a doenças como o câncer e aterosclerose (DI MASCIO, 2001). Podem, também, ser encontrados em muitas espécies de animais e são importantes corantes encontrados nos pássaros, insetos, peixes e crustáceos. Entretanto, animais e humanos não podem sintetizar carotenóides dependendo da ingestão via suplemento alimentar (STAHL, 2005).

A classificação dos carotenóides ocorre de acordo com a estrutura química da cadeia molecular, são categorizados como carotenos, quando constituídos somente de átomos de carbono e hidrogênio, ou xantofilas quando, além de átomos de carbono e hidrogênio, são

constituídos de átomos de oxigênios (BAUERNFEIND, 1972, OLSON, 1995). β -caroteno, α -caroteno, e licopeno são membros do grupo de carotenos. zeaxantina, luteína, α - ou β -criptoxantina, cantaxantina e astaxantina, que possuem pelo menos um átomo de oxigênio em sua cadeia, são as xantofilas mais comuns (BRITTON, 1995).

Um grande número de isômeros geométricos podem existir no caso dos carotenóides. As formas *trans/cis* dos carotenóides dependem da posição e do número de duplas ligações, tornando possíveis várias configurações numa mesma molécula, estas isomerizações podem ocorrer durante reações químicas, radiação da luz e ação de energia térmica (TAPIERO *et al.*, 2004).

De acordo com RODRIGUEZ-AMAYA & KIMURA (2004), a forma isomérica mais estável do carotenóide é a *trans (E)*, mas podem ocorrer isomerizações *trans-cis*, mas pequenas quantidades de *cis(Z)* podem ocorrer.

BAURENFEIND (1972) expôs as formas pelas quais os carotenóides podem ser classificados bem como suas funções mais comuns como: sua atividade pró-vitamina A, absorvedores de energia luminosa, transportadores de oxigênio, corantes naturais e outras desconhecidas até o momento.

Além da atividade pró-vitamina A, exercem ação potencial contra certos tipos de câncer, previnem úlcera gástrica, estimulam o sistema imunológico, previnem doenças cardiovasculares e protegem contra a degeneração celular causada pelo avanço da idade (GAMA & SYLOS, 2005).

DUTTA *et al.* (2005), relatam que o β -caroteno tem sido encontrado na maioria dos vegetais de cor amarela, laranja, aqueles com folhas verde-escuro e em frutas como pêra e papaya. Porém, a manutenção da coloração natural dos vegetais durante processamento e estocagem tem sido a maior preocupação da indústria de alimentos

Cenouras são conhecidas por serem a maior fonte de β -caroteno, presente nos cloroplastos deste vegetal (CLYDESDALE *et al.*, 1970; IHL *et al.* 1998 *in* DUTTA *et al.*, 2005).

Os grupos de vitamina A são importantes metabólicos dos carotenóides. A vitamina A1 (retinol) derivada, nos mamíferos, do metabolismo oxidativo de tetraterpenos, comumente β -caroteno, adquirido na dieta. A reação se dá a partir de uma ruptura da cadeia na célula da mucosa intestinal e é catalisada pela enzima Dioxigenase O_2 -dependente. Retinol é um derivado encontrado somente em animais e este provém somente da ingestão (TAPIERO *et al.*, 2004).

Segundo GOODMAN (1969) *in* BAURENFEIND (1972), estruturalmente, a vitamina A (retinol) é, essencialmente, metade de uma molécula de β -caroteno, como pode ser observado na Figura 4, adicionado de uma molécula de água no fim de uma cadeia.



Figura 4. Estruturas do β -Caroteno e da Vitamina A (retinol)

Segundo ZECHMEISTER (1949) *in* GAYATHRI *et al.* (2004), os carotenóides quando comparados com a vitamina A, são mais estáveis à luz e à oxidação, podendo ser esta estabilidade devida à sua localização nos tecidos das plantas. Entretanto, se o tecido é exposto ao oxigênio, ou submetido a tratamentos térmicos, se desestrutura, podendo resultar na destruição de pró-vitamina A, ou carotenóides em geral.

Vários carotenóides são comumente encontrados nos alimentos de origem vegetal. SEO *et al.* (2005) analisaram, por CLAE, os carotenóides da abóbora (*Curcubita moschata*), encontrando luteína, licopeno, criptoxantina, α -caroteno, β -caroteno e os isômeros *cis* do β -caroteno. O β -caroteno foi o mais abundante seguido pelo α -caroteno.

GAMA & SYLOS (2005) identificaram e quantificaram os carotenóides presentes no suco de laranja, isolando 16 deles por Cromatografia em Coluna Aberta e diferenciando-os por grupos. Foram identificados e separados no grupo 1 o α -caroteno, β -caroteno e ζ -caroteno e no grupo 2 as xantofilas como: α -criptoxantina, β -criptoxantina, violaxantina, luteína, anteraxantina, zeaxantina, luteoxantina A, luteoxantina B, mutatoxantina A e a auroxantina B. Os maiores teores encontrados, em ordem decrescente, foram de luteína, β -criptoxantina e zeaxantina.

A variação nos teores de carotenóides ocorre, comumente, devido aos diferentes estádios de maturação quando da produção de sucos. Na acerola foram identificadas e quantificadas a luteína, a β -criptoxantina, o α -caroteno e o β -caroteno, porém variaram quanto às suas concentrações de acordo com o genótipo (Waldy Cati e Olivier) e a época de colheita de cada uma delas (ROSSO, 2005).

A América Latina é abundante em plantas comestíveis carotenogênicas devido à peculiaridade de possuir áreas tropicais e sub-tropicais. Porém, apenas uma parte desse rico recurso natural tem sido analisada e avaliada, particularmente o Brasil. Tendo em vista esta diversidade de fontes, existe uma necessidade urgente de elevar as atividades científicas para melhorar a utilização dessas valiosas e inexploradas espécies (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

A composição de carotenóides em frutas é complexa e variável. Em contraste com as frutas, os vegetais folhosos têm uma composição qualitativamente constante sendo os carotenóides, comumente, encontrados nestes vegetais: luteína, β -caroteno, violaxantina e neoxantina. A biodisponibilidade de carotenóides de vegetais folhosos é menor do que a de carotenóides presentes em frutas, entretanto, estão disponíveis o ano inteiro sendo, facilmente, cultivados em jardins e hortas, e são fonte de carotenóides comumente encontrada em todo mundo (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

Os carotenóides, particularmente, o β e o α -caroteno, geralmente predominam dentre os poucos carotenóides encontrados nas raízes tuberosas. O β -caroteno e α -caroteno são responsáveis por 80 a 90% do conteúdo total de carotenóides na cenoura (*Daucus carota*, L.).

A mandioca (*Manihot esculenta*) é um alimento popular no Brasil e outros países latinoamericanos. A folha da planta de mandioca é rica em β -caroteno e luteína. Por outro lado, a raiz, é pobre em carotenóides. Estudos em variedades de mandioca amarela cultivadas, principalmente, na região norte e nordeste do Brasil, podem apresentar teores de carotenóides mais elevados. A batata-doce, especialmente as variedades amarelas são importantes fontes de β -caroteno e α -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

2.11 Carotenóides na Mandioca

Recentemente, estudos têm avaliado a variabilidade do teor de carotenóides em raízes e folhas de milhares de clones de mandioca. Foram encontrados níveis elevados de carotenóides em alguns deles. Estes altos teores foram associados à coloração amarela da raiz, a qual facilita a seleção por seu valor nutricional elevado. Também foram encontrados clones com raízes amarelas, com baixos teores de ácido cianídrico (característica comum na mandioca) e aptas para a utilização culinária (IGLESIAS *et al.*, 1997).

Além disso, estudos detalhados sobre os carotenóides presentes nas raízes de mandioca mostraram teores de β -caroteno acima de 90% nas variedades amarelas, revelando-

se um achado importante visto este pigmento ter capacidade de ser transformado em vitamina A, pelo metabolismo humano. O β -caroteno pode, também, ser explorado na folhagem da mandioca, além dos altos níveis de carotenóides, possui quantidades promissoras de proteínas e minerais (IGLESIAS *et al.*, 1997).

ECHEVERRI *et al.* (2001) comprovaram que a coloração amarela das raízes possuem uma alta correlação com o seu teor de carotenóides totais e que, a maior parte deles é composta pelo β -caroteno, principal precursor da vitamina A. Essa correlação foi mais uma descoberta importante, facilitando e agilizando o processo de identificação e seleção de variedades com maior teor de carotenóides nas raízes.

Nos últimos dez anos, consideráveis esforços foram realizados, no sentido de identificar novos potenciais dessa cultura capazes de contribuir na melhoria do *status* nutricional das populações com graves problemas de desnutrição, situadas nos trópicos e, particularmente no nordeste brasileiro, onde a mandioca constitui um dos principais cultivos e quase a única fonte de nutrientes. Assim sendo, além de carboidratos, a mandioca de coloração amarela pode ser uma excelente fonte de carotenóides (IGLESIAS *et al.*, 1997; BEDOYA, 1999; CHÁVEZ *et al.*, 1999).

2.12 Cocção da Mandioca

O tempo de cozimento é uma característica importante na seleção de uma variedade de mandioca para cultivo comercial, tanto pelo processo caseiro de cocção de alimentos quanto para a cadeia industrial da mandioca.

Segundo WHEATLEY (1987), a identificação de raízes com qualidade culinária é um parâmetro importante na seleção de variedades de mandioca de mesa, mas deve-se levar em consideração alguns fatores variados e complexos, por constituir-se de um conjunto de características físicas, químicas e sensoriais, algumas das quais são: teores de ácido cianídrico, amido e fibra, tempo de cocção e outras, como o sabor, a consistência e a textura da polpa cozida.

De acordo com BORGES *et al.* (2002), o tempo de cozimento é variável entre as raízes de uma mesma cultivar, tipo de solo, variedade e idade da planta.

BORGES *et al.* (2002) e WHEATLEY (1987) relataram que o tempo de cozimento das raízes de boa qualidade culinária não deve ser superior a 30 minutos e que a polpa deve ser facilmente esmagada e desfeita quando amassada com um garfo.

Os processos de cocção alteram a textura inicial da raiz de mandioca porque promove a hidratação dos tecidos e gelatinização do amido. BUTARELO *et al.* (2004) relataram em seu estudo de absorção de água que a absorção varia com a temperatura de cocção, devido ao fato de à água a 100°C ter cozido as raízes num tempo menor que o cozimento a 80°C. Portanto, quanto mais rápido a hidratação, menor é o tempo de cozimento, conseqüentemente, maior rendimento será obtido na comercialização de produto pré-cozido.

2.13 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência é uma técnica analítica rotineira de separação. A razão se deve a sua sensibilidade, fácil adaptação para determinações quantitativas e separação de espécies não-voláteis ou termicamente sensíveis. Dois tipos de cromatografia podem ser diferenciados com base nas polaridades relativas das fases estacionária e móvel. Por razões históricas, atualmente, denomina-se o tipo de cromatografia como cromatografia de fase normal e de fase reversa. Na cromatografia de fase reversa, a fase estacionária é apolar, geralmente, um hidrocarboneto e a fase móvel é relativamente polar (água, metanol e acetronitrila) (SKOOG *et al.*, 2002).

BUSHWAY (1986) comprovou que a CLAE, é um método de análise rápido, simples e reprodutível na determinação de carotenóides, podendo ainda separar alguns isômeros de frutas e vegetais.

De acordo com CORTÉS *et al.* (2004), vários métodos têm sido utilizados para determinação de carotenóides e tem sido escolhida como o melhor método de separação, identificação e quantificação destes micronutrientes encontrados em tecidos biológicos.

Segundo LESSIN (1997), a análise de carotenóides em produtos frescos e processados, realizada por CLAE em fase reversa, resultou na observação de alterações químicas em alguns vegetais e frutas, após processamento térmico provocando a transformação do *trans*- β -caroteno no isômero geométrico *cis*- β -caroteno.

LACKER *et al.* (1999) utilizaram coluna C₃₀ na CLAE em fase reversa na separação e identificação dos carotenóides presentes em suco composto de cenoura, tomate e espinafre industrializado. A astaxantina, zeaxantina, β -caroteno e seus isômeros *trans*, 13 e 9-*cis*- β -caroteno foram identificados concluindo que a separação foi efetiva apesar de ser uma amostra complexa.

HART & SCOTT (1995) avaliaram os carotenóides de vegetais (brócolis, alface, pimenta e cenoura) e frutas (pêras) comumente consumidos na Inglaterra, durante as diferentes estações do ano, utilizando a CLAE. Encontraram teores de luteína acima de 1000 μ g/100g no brócolis, alface e pimenta sendo estas boas fontes deste micronutriente. O β -caroteno encontrado nas pêras, adquiridas ao longo do ano em mercados locais, variaram de 391 a 1929 μ g/100g e nas cenouras de 117 a 294 μ g/100g. Concluíram que existe uma ampla faixa de variação destes micronutrientes de acordo com a época de colheita.

KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA (1999) relatam que vários fatores dificultam a determinação de carotenóides por CLAE. Uma boa parte desses erros, se originam nas fases anteriores à cromatografia, como a amostragem, amostras não, corretamente, homogeneizadas, extrações incompletas, instabilidade dos padrões de carotenóides comumente utilizados, perdas de carotenóides durante a partição e as práticas analíticas. Conseqüentemente, são encontradas verdadeiras discrepâncias na literatura quanto à quantificação de carotenóides.

2.14 Estudos de Retenção de Carotenóides em Alimentos

A determinação de substâncias perdidas durante o processamento caseiro, industrial e a estocagem, é importante para que se reconsidere previamente os métodos de transformação de matérias primas de origem vegetal, a fim de minimizar estas perdas.

Dependendo do tempo e temperatura aplicados, os níveis de degradação de carotenóides totais e a isomerização ocorrem de formas diferenciadas em vários produtos.

O branqueamento, a pasteurização e os processos de esterilização, de uma forma geral, causam isomerização *trans-cis* enquanto que processos térmicos mais agressivos promovem destruição de carotenóides (PÉREZ-GÁLVEZ *et al.*, 2004).

GAYATHRI *et al.* (2004) observaram que a perda de β -caroteno na cenoura foi mais elevada quando cozido sob pressão no tempo de 10 minutos (27%) do que no cozimento em água sob ebulição, no mesmo intervalo de tempo (16%). Ainda avaliando a retenção destes carotenóides, com a adição de antioxidantes naturalmente presente no tamarindo (*Tamarindus indica*) ao meio de cocção, observando perdas de carotenóides de menos de 10% na cocção caseira e índices de retenção de 93% quando do cozimento em panela de pressão.

Os carotenóides totais foram avaliados em cenouras, por PINHEIRO-SANT'ANA *et al.* (1998) após diferentes tratamentos. As amostras foram submetidas à cocção a vapor, cocção em água, sob e sem pressão, e à desidratação convencional. A retenção dos carotenóides totais após os tratamentos variou de 60,13 a 85,64%. A cocção em água sem

pressão promoveu os maiores percentuais de retenção de α e β -caroteno, quando comparado aos outros métodos variando de 65% a 77% em β -caroteno e de 63% a 70 em α -caroteno. Observaram, ainda, que os percentuais de retenção foram mais elevados em β -caroteno do que o α -caroteno. Os resultados mostraram que a cocção em água sem pressão, se realizada em condições controladas de tempo e temperatura, é o melhor método para reduzir perdas de α e β -caroteno, principais carotenóides da cenoura. Concluindo que, apesar das perdas significativas de carotenóides, em cenouras preparadas, a nível doméstico, ainda permanecem uma rica fonte de pró-vitamina A.

O fruto bacuri foi analisado por CLAE quanto aos teores de carotenóides totais por HIANE *et al.* (2003), encontrando concentrações decrescentes de β -caroteno, ζ -caroteno e o β -zeacaroteno. O teor de β -caroteno foi de 37,51 μ g/g (base seca) e de 23,51 μ g/g na farinha preparada a partir da polpa homogeneizada e seca do fruto, em estufa ventilada, a 60°C, por dois dias, triturada, peneirada e embalada em sacos plásticos, encontrando percentuais de perda de 37% de β -caroteno. A perda de β -caroteno foi atribuída, exclusivamente, ao processo de fabricação de farinha, porém fatores como a aeração durante a secagem, a maior exposição ao oxigênio e à luz, podem ter contribuído para o alto percentual de perda.

DUTTA *et al.* (2005) avaliaram a retenção de β -caroteno em cenouras sob diferentes condições. O branqueamento foi realizado nos tempos de 3 e 5 minutos com água sob ebulição resultando num aumento no teor de β -caroteno quando comparado ao teor da cenoura *in natura*, possivelmente, devido a maior extratibilidade (liberação) provocada pela fervura, a perda de umidade e perda de sólidos solúveis que concentram a amostra.

SÁ *et al.* (2003) avaliaram as perdas de luteína e β -caroteno em feijões verdes cozidos, por CLAE, utilizando coluna de separação (C_{18}). Os valores de retenção encontram-se acima de 100% tanto o β -caroteno quanto a luteína, porém não significa um aumento real no teor destes carotenóides. Os resultados demonstraram a dificuldade em avaliar a retenção de carotenóides após cozimento e concluindo que há necessidade de se realizar mais estudos para que a quantificação de carotenóides em vegetais cozidos seja otimizada e padronizada.

2.15 Biodisponibilidade de Carotenóides e suas Aplicações

A biodisponibilidade e o metabolismo são afetados por vários fatores incluindo as propriedades da matriz alimentar, a preparação dos alimentos, a coingestão de gorduras e fibras, as doenças do trato gastrointestinal e o *status* de mal-nutrição. Podem, ainda, influenciar na tradução de certos genes ou atuarem como inibidores de enzimas reguladoras, tendo sido discutido como atuantes na prevenção de câncer (STAHL, 2005).

Mais de 600 carotenóides são conhecidos, mas em torno de 20 são encontrados no plasma e tecidos humanos. O licopeno é o carotenóide mais abundante no plasma humano e tem uma meia-vida de 2-3 dias (TAPIERO *et al.*, 2004), porém não apresenta atividade pró-vitamina A (SETIAWAN *et al.*, 2001 e MICRONUTRIENT, 2002).

Estima-se que mais de 70% da vitamina A provém dos carotenóides de frutas e vegetais presentes na dieta alimentar, em mais de trinta países do mundo (STAHL, 2005).

Nas regiões do nordeste brasileiro onde ocorre à deficiência de vitamina A, busca-se soluções a partir do hábito alimentar destas populações sendo a mandioca amarela também cultivada, colocando-se como alternativa viável no combate á deficiência destas populações (Harvestplus, 2005).

ORTEGA-FLORES *et al.* (2003) realizaram ensaios biológicos em ratos, comparando a biodisponibilidade do β -caroteno das folhas de mandioca, alimentando-os com rações contendo β -caroteno sintético. Os resultados revelaram que a biodisponibilidade de β -caroteno nas folhas de mandioca foi mais reduzida quando comparada com o β -caroteno

sintético. Resultados semelhantes foram reportados por BULUX *et al.* (1996) e TANUMIHARDJO (2002).em vegetais como espinafre e outros vegetais de folhas verdes.

Entretanto, apesar dos resultados dos estudos apresentados nesta revisão de literatura, é consenso de que mais deve ser realizado quanto às técnicas de identificação, quantificação e retenção de carotenóides devido a sua imensa diversidade (+ 600) nas matérias primas de origem vegetal e animal, o que proporcionará alternativas viáveis de alimentos no combate à fome e à desnutrição para as populações de baixa renda no Brasil e no mundo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

As raízes de 11 variedades de mandioca amarela mansa e 17 de mandioca brava utilizadas neste trabalho, foram cultivadas na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (Embrapa – CNPMF), localizada em Cruz das Almas, BA. Brasil. Latitude 1240s, Longitude 39°06'07", altitude 220 m e Índice pluviométrico de 800 a 1200 mm por ano. Colhidas após 12 meses de plantio, sendo manipuladas, cuidadosamente, para que se preservasse de eventuais injúrias. Cada raiz foi lavada, para a retirada do excesso de terra, seca e imersa em parafina líquida aquecida a temperatura de 50°C - 60°C por 45 segundos. A operação foi repetida 3 vezes a fim de que se formasse uma camada espessa de parafina.

Os experimentos foram ordenados conforme esquema apresentado na Figura 5, e realizados na Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ. Brasil onde as raízes foram recebidas e mantidas sob refrigeração a 4°C, a fim de se garantir sua preservação.

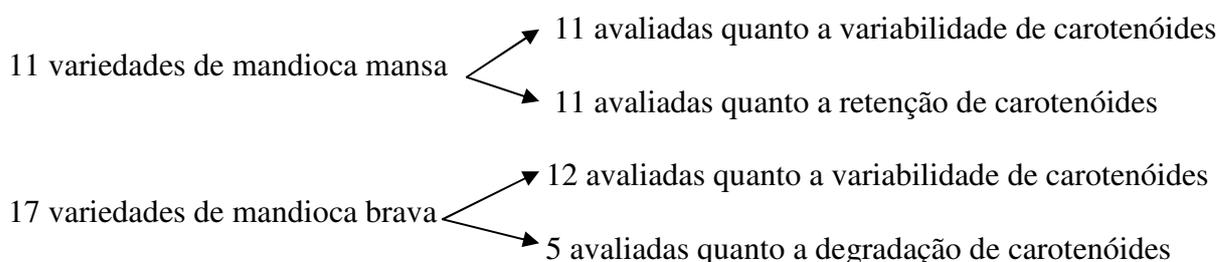


Figura 5. Esquema visual de análises das variedades de mandioca amarela mansa e brava.

3.1.1 Mandioca Amarela Brava *In natura*

Foram utilizadas 12 raízes de mandioca amarela brava *in natura* de diferentes variedades, sem que fosse elaborada farinha de mandioca, devido à indisponibilidade de matéria-prima suficiente para seu processamento. Tendo sido identificadas por códigos e/ou nome, conforme pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4. Código das amostras de mandioca amarela brava

<i>Código das Amostras</i>	<i>Nome</i>
61	Crueira
878	Cachimbo I
893	Imari III
949	Pretinha II
991 – IM 222	Juba
1138 – IM 147	-
1140 – IM 217	-
1700	Varejão
1704 – IM 936	Canço
1705	Juriti
1711	Arari
1785	Flor do Brasil

3.1.2 Processamento da Farinha de Mandioca Amarela Brava

Tendo em vista que não foram obtidas farinhas das amostras, conforme explicitado no item 3.1.1, constantes na Tabela 4, uma nova safra (março/2006) foi avaliada quanto aos teores de carotenóides totais nas raízes *in natura* bem como sua retenção nas farinhas nos tempos de estocagem: 0; 5; 12; 19 e 26 dias, respectivamente, sendo elas: 1783, 1757 (Anajazinha), 1752 (Flor do Brasil), 1740 (Najacaiá) e 1751 (Bonita).

Apesar de ter-se aguardado esta nova safra, as condições edafoclimáticas a que a planta foi exposta não foram favoráveis, ficando sujeita a um período de seca de oito meses, de julho de 2005 a março de 2006, o que prejudicou em muito o crescimento das raízes mesmo em plantas com idade de 18 meses, as quais deveriam ter suas raízes estruturadas.

A farinha foi processada em unidade industrial, em escala semi-piloto, com capacidade para processamento de 5 kg de raízes de mandioca por batelada. A unidade de processamento é equipada com um ralador rotativo, uma prensa manual e um forno a gás (propano/butano), com paleta giratória de madeira e tacho de cobre. A temperatura do tacho variou de 120°C a 150°C durante 30 minutos até a obtenção da farinha seca (Figura 6).

O processamento da farinha consistiu das seguintes etapas: a) lavagem das raízes para a retirada da terra proveniente da coleta no campo; b) descascamento manual utilizando-se facas de aço inox; c) lavagem seguida de imersão em água até o processamento, evitando a oxidação enzimática (escurecimento das raízes) após descascamento; d) as raízes foram raladas obtendo-se uma massa úmida, a qual foi transferida para sacos de tranças de fitas plásticas, que permitem a passagem de água; e) prensagem manual para retirada de água; f) a torta formada foi esfarelada com auxílio do ralador; g) secagem e torração.



Figura 6. Mini-casa de Farinha. 1) Ralador Rotativo. 2) Prensa manual. 3) Forno com Paleta Rotatória. Foto cedida pela Embrapa CNPMF – Cruz das Almas-Ba.

3.1.2.1 Avaliação da Cinética de Degradação

A perda de carotenóides foi observada por GABAS *et al.*, 2003; MORENO-ALVAREZ *et al.*, 2003 e VAN BOEKEL *et al.*, 1990, seguindo o modelo de primeira ordem, segundo a fórmula:

$$\frac{dC}{dt} = -K \cdot C$$

Integrando a fórmula acima, obtêm-se:

$$\text{Log}(C_0/C) = K / 2,303 \cdot t$$

3.1.3 Mandioca Amarela Mansa *In natura*

Foram utilizadas 11 variedades de mandioca amarela mansa para as análises dos teores de carotenóides totais, β -caroteno e os isômeros *trans*, 13 e 9-*cis*- β -caroteno, realizadas conforme descrito para mandioca amarela brava, sendo identificadas por códigos e/ou nome, conforme pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5. Código das amostras de mandioca amarela mansa

<i>Código das Amostras</i>	<i>Nome</i>
1456	Vermelhinha
456	Cenoura rosada
1153	Klainasik
1667	Macaxeira amarela
1668	Cacau amarelo
1692	Dendê
1721	Aipim cacau
1722	Abóbora
Híbrido 2003 14-08	-
Híbrido 2003 14-11	-
Híbrido 2003 14-17	-

3.1.4 Processamento da Mandioca Amarela Mansa

A fim de avaliar a retenção de carotenóides totais e β -caroteno nas raízes após seu processamento, foram realizados 3 tipos de experimentos em condições caseiras e um teste rápido de fritura, em panelas de teflon, conforme detalhado, a seguir. Todos os experimentos foram realizados em duplicata (Tabela 6).

Tabela 6. Experimentos de cozimento caseiro das amostras de mandioca amarela mansa

<i>Experimentos</i>	<i>Tipo de cozimento</i>
1	Raiz cozida em recipiente sem tampa completamente coberta com água (1:1,5 p/v);
2	Raiz cozida em recipiente tampado completamente coberta com água (1:1,5 p/v);
3	Raiz cozida em recipiente com tampa coberta com água até a metade (1:1, p/v).

Adicionalmente, tendo em vista a quantidade insuficiente de amostra, realizou-se um teste rápido para avaliar a retenção de carotenóides em uma amostra de mandioca amarela mansa, submetida ao processo de fritura, no qual a raiz foi cozida em recipiente tampado, completamente coberta com água (1:1,5 p/v). A seguir, foi seca em papel absorvente e levada à fritura sendo imersa em óleo de soja (marca Soya) a 180°C por 7 minutos até que atingisse a coloração característica e consistência firme.

A raiz que apresentou, após o cozimento, o maior percentual de Retenção Real foi utilizada para o teste de fritura acima citado.

Os teores de β -caroteno e carotenóides totais das raízes de mandioca amarela mansa, cozida, foram determinados, em duplicata, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Espectrometria no espectro visível e os percentuais de retenção real (%RR) foram calculados segundo Murphy *et al.*(1975).

$$\%RR = \frac{\text{Teor de carotenóides por grama de matéria-prima processada} \times \text{peso (g) da matéria-prima processada}}{\text{Teor de carotenóides por grama matéria-prima in natura} \times \text{peso (g) da matéria-prima in natura}}$$

3.1.5 Avaliação Qualitativa com Escala de Cores do *HarvestPlus*

As raízes de mandioca amarela foram avaliadas por comparação de sua coloração com a escala de cores “Carotenoid Colour Strips” criada pelo *HarvestPlus*, (CIAT - Centro Internacional de Agricultura Tropical e CIMMYT - International Maize and Wheat Improvement Center), Figura 7.

Esta escala foi elaborada a fim de que se possa avaliar qualitativamente o conteúdo de carotenóides totais em matérias-primas: mandioca, milho e batata doce, o que facilita a coleta de raízes durante a seleção das variedades no campo



Figura 7. Escala de cores “Carotenoids Colour Strips” do *HarvestPlus*

3.1.6 Padrão de β -Caroteno

Foi realizada a extração de carotenóides da cenoura (*Daucus carota*, L.), para obtenção de um padrão de β -caroteno.

A cenoura (*Daucus carota*, L.) é conhecida como uma das melhores fontes de α e β -caroteno. Desta forma, a cenoura foi escolhida para realização da extração de padrão de β -caroteno utilizado neste trabalho (CLYDESDALE *et al.*, 1970, IHL *et al.*, 1998 in DUTTA *et al.*, 2005).

3.2 Metodologia

3.2.1 Extração do Padrão do β -Caroteno

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

Foram pesados em *graal*, 50 gramas da massa homogeneizada de cenoura, sendo a ela adicionados 15 gramas de celite 454 (Tedia).

A extração dos carotenóides foi realizada, em *graal*, com a adição 25 mL de acetona, (Tedia, grau CLAE), macerando-a até que uma pasta homogênea fosse formada. A seguir, esta pasta foi transferida para funil de placa sinterizada acoplado a um kitasato de 250mL e filtrada sob vácuo. O procedimento, desde a adição de acetona até a filtração, foi repetido 3 vezes.

Todo o extrato obtido foi transferido para funil de separação de 500mL, contendo 40 mL de éter de petróleo (Tedia, grau CLAE), sendo adicionada, deixando-a escorrer lentamente pela parede do balão de separação, água ultra-pura (MilliQ-Millipore), para evitar a formação de emulsão. O procedimento foi repetido 4 vezes até que mais houvesse resíduo de acetona.

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

Para separação dos carotenóides contidos no extrato, uma coluna para cromatografia aberta (CCA) foi preparada misturando-se partes iguais (1:1) de óxido de magnésio (Across Organics) e celite 454 (Tedia), sendo a mistura colocada por quatro horas em estufa a 110°C para promover sua ativação e, posterior empacotamento da coluna de vidro (25x300mm), contendo lã de vidro. Deixou-se a mistura esfriar e, a seguir, transferiu-se para a coluna com auxílio do funil para sólidos, até que completasse 2/3 da altura. Após a mistura ter sido compactada na coluna, adaptou-se um kitassato sob vácuo por 1 hora. Ao final do empacotamento, foi adicionado sulfato de sódio anidro até completar 1 cm de altura.

O extrato concentrado de carotenóides, contido no balão de fundo redondo, foi transferido quantitativamente para o topo da coluna preparada para separação dos carotenóides.

A seguir, éter de petróleo foi adicionado lentamente, com o vácuo ligado, até que o β -caroteno (laranja) fosse separado do α -caroteno (amarelo alaranjado).

Após a retirada da fração inicial (cabeça) e final (cauda) da coluna, a fração de β -caroteno foi retirada da coluna, recolhida em funil com placa sinterizada de 5 μ m acoplado ao kitassato sob vácuo, para separação da celite/óxido de magnésio e o β -caroteno, sendo extraído com acetona, até que não apresentasse coloração alguma.

A fração de β -caroteno foi transferida do kitassato para funil de separação contendo 40 mL de éter de petróleo, procedendo três lavagens com água.

O extrato etéreo foi recolhido em balão volumétrico de 50 mL, passando-se por funil contendo 15 gramas de sulfato de sódio anidro.

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

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

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

onde:

A= absorvância

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

Retirou-se uma alíquota de 2mL do extrato de β -caroteno para verificação da pureza, a qual foi seca sob N_2 e dissolvida em 1mL de acetona e injetada no cromatógrafo.

A determinação da pureza do padrão foi realizada conforme fórmula abaixo:

$$\% \text{Pureza} = \frac{\text{Área Pico padrão}}{\text{Área Total}} \times 100$$

A concentração do extrato de β -caroteno foi corrigida conforme fórmula abaixo:

$$C \text{ corrigida } (\mu\text{g/g}) = \frac{C(\mu\text{g/g}) \times \% \text{ pureza}}{100}$$

Uma curva de calibração foi construída com alíquotas de 1, 2, 3, 4 e 5 mL, em triplicata, do extrato de β -caroteno. As alíquotas foram secas em N_2 , adicionando-se 1 mL de acetona para a injeção de 10 μ L, em triplicata, de cada uma das 5 concentrações.

A curva de calibração foi construída conforme Tabela 7, utilizando-se o Software Empower.

Tabela 7. Construção da curva padrão de calibração

<i>Alíquota Retirada (mL)</i>	<i>Pontos da curva de calibração</i>	<i>Concentração de Carotenóide</i>
1	1	C corrigida
2	2	C corrigida x 2
3	3	C corrigida x 3
4	4	C corrigida x 4
5	5	C corrigida x 5

3.2.2 Determinação do Teor de Carotenóides Totais e β -Caroteno

As análises para a determinação do teor de carotenóides totais foram realizadas em espectrofotômetro (SPECORD 210 mod. ANALYTIKJENA) na faixa do espectro visível e leitura no comprimento de onda a 450nm.

As análises para a determinação do conteúdo de β -caroteno do padrão e das amostras bem como seus isômeros *trans* e *cis*, foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em cromatógrafo Waters 2695 - Modelo Alliance, com detector de fluorescência Waters 996 Fluorescence, rede de Diodo UV/Visível de 350nm a 600nm operado pelo software Empower. A coluna utilizada para as análises foi a C₃₀ YCM Carotenoid S-3 (4,6mm x 250mm) da Waters. A fase móvel foi composta de 80% metanol (Tedia, grau CLAE) e 20% de éter metil tercbutílico (Tedia, grau CLAE). As condições de análise foram: fluxo 0,8 mL/min; injeção automática de 25 μ L do extrato obtido da amostra; temperatura 30°C e tempo total de análise de 60 minutos.

As amostras *in natura* foram retiradas do acondicionamento sob refrigeração e colocada por aproximadamente 10 min, para que atingisse a temperatura ambiente sendo, inicialmente removendo-se a camada de parafina e, posteriormente, descascada.

As amostras foram divididas em quatro partes através de dois cortes longitudinais, de uma extremidade a oposta, gerando estes cortes quatro secções (Figura 8). Destas 4 secções, duas, opostas entre si, foram descartadas e aquelas duas remanescentes foram utilizadas para análise, sendo cortadas em pedaços menores e colocadas em *mixer* vertical formando uma massa homogênea.

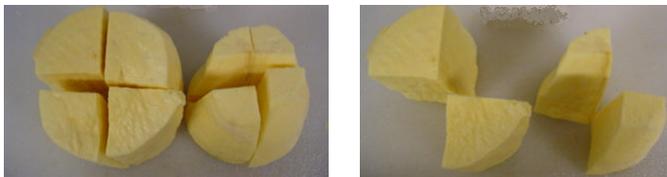


Figura 8. Raízes de mandioca preparadas para análise etapa corte longitudinal

Para a determinação dos carotenóides totais bem como aquelas do β -caroteno e seus isômeros *cis* e *trans*, foram pesados, inicialmente, em balança digital, *Bel Engineering*, modelo MA0434/05, devidamente calibrada, 5,0122 gramas da amostra. Porém, esta quantidade mostrou-se insuficiente tendo-se que otimizar o peso de amostra a ser utilizado.

A massa mínima determinada para que a amostra se situasse na faixa de leitura a 450 nm foi de 15,4350 gramas.

Para evitar perdas de amostra durante a transferência de recipientes foram pesadas 15,5 g, no *graal* e adicionando 3 g de celite (454 – Tedia).

Na etapa de extração dos carotenóides foram realizadas adições de 25 mL de acetona para a maceração formando-se uma pasta, a qual foi transferida para funil com placa sinterizada (5 μ m) acoplado a um kitasato de 250 mL e filtrada à vácuo. Este procedimento foi repetido por 3 vezes até que a amostra fosse esgotada (incolor).

O extrato obtido foi transferido para funil de separação de 500 mL, contendo 40 mL de éter de petróleo.

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

O extrato foi transferido para balão volumétrico de 50 mL, utilizando-se funil contendo 15 gramas de sulfato de sódio anidro e o volume completado com éter de petróleo.

A seguir, foi realizada a leitura da amostra, em espectrofotômetro, na faixa do espectro visível no comprimento de onda de 450 nm.

A fórmula para a determinação do teor de carotenóides totais, encontra-se a seguir,

$$\text{Teor de carotenóides } (\mu\text{g/g}) = \frac{A \times V \text{ (mL)} \times 10^4}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times P \text{ (g)}}$$

onde:

A= Absorbância

V= Volume total de extrato

P = Peso da amostra

$A_{1\text{cm}}^{1\%} = 2592$ (Coeficiente de Absorção do β -caroteno em éter de petróleo)

Para a identificação e quantificação do β -caroteno e seus isômeros *cis* e *trans* retirou-se uma alíquota de 2 mL do extrato, anteriormente, obtido e secou-se em frasco âmbar sob fluxo de nitrogênio.

A amostra (extrato seco) foi, então, diluída em 100 μ L de acetona, sob agitação em vortex *Genie 2* (Scientific Industries) e transferida para frasco âmbar de 2mL para as análises por CLAE.

A seguir uma ilustração do procedimento realizado para extração de carotenóides totais e β -caroteno, bem como seus isômeros (Figura 9).

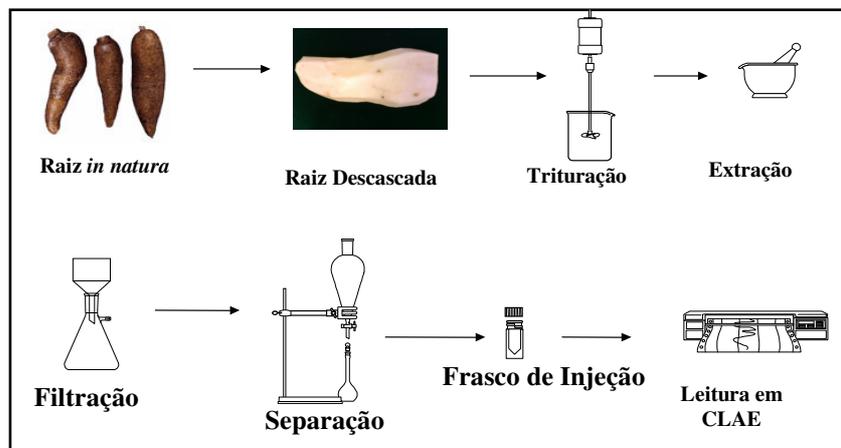


Figura 9. Ilustração do procedimento de análise de extração de carotenóides

A determinação do β -caroteno e seus isômeros *cis* e *trans* foi realizada segundo a fórmula:

Onde:

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

A_x = Área do pico do carotenóide

C_s = Concentração do padrão

A_s = Área do pico de padrão

V = Volume total de extrato

P = Peso da amostra

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Matéria-Prima

As amostras das raízes mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) amarela, mansa e brava apresentaram, externamente, aspecto característico da raiz de mandioca branca comumente encontrada nos mercados e centrais de abastecimento do estado do Rio de Janeiro.

As polpas das raízes de mandioca mansa *in natura* apresentaram coloração com tons variando do amarelo ao rosa, observando-se que essas cores se intensificavam após o cozimento, exemplificado pelas raízes 456 – Cenoura rosada e 1668 – Cacau amarelo, na Figura 10.

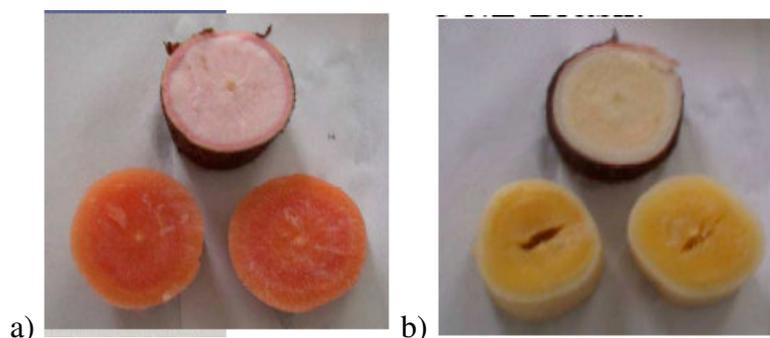


Figura 10. Intensificação da cor da raiz de mandioca mansa após cozimento, sendo a) Raiz 456 - Cenoura rosada e b) Raiz 1668 - Cacau amarelo

Todas as raízes de mandioca mansa amarela e rosa apresentaram maior intensidade de cor após o cozimento.

As cores das raízes *in natura* foram classificadas segundo a escala de cores padronizada pelo *HarvestPlus*, utilizada para mandioca, milho e batata-doce, conforme pode ser observado na Tabela 8.

As variedades 61 - Crueira, 1700 - Varejão e 1138 - IM – 147 foram classificadas na referência de cor RHS: 3/1 107U, apresentando faixa de carotenóides totais variando de 10,17 a 12,62 $\mu\text{g/g}$, com % médio de β -caroteno total de 38%.

As variedades 878 - Cachimbo I, 1140 - IM 217, 949 - Pretinha II, 1711 - Arari, Híbrido 2003 14 08, 1704 – IM – 936 – Caniço , Híbrido 2003 14 11 e Híbrido 2003 14 17 foram classificadas na referência de cor RHS: 3/2 120U, apresentando ampla faixa de carotenóides totais que variou de 7,03 a 16,33 $\mu\text{g/g}$, englobando 8 variedades. Porém, pode-se observar que, excluindo-se o % de β -caroteno das variedades híbridas do cálculo da média, o % médio de β -caroteno foi de 27% numa faixa de 25% a 39%. Observou-se que os híbridos se destacaram das outras variedades, apesar de terem sido classificados na mesma referência de cor, sendo que seus teores de carotenóides totais (híbridos 2003 14 08, 2003 14 11 e 2003 14 17) foram de 10,32, 8,26 e 7,03 $\mu\text{g/g}$, respectivamente, com média de 75% em β -caroteno.

As variedades 1785 - Flor do Brasil, 1722 - Abóbora, 1668 - Cacau amarelo, 1667 - Macaxeira amarela classificadas pela referência de cor RHS: 3/3 1205U apresentaram uma faixa de carotenóides totais variando de 1,87 a 2,64 $\mu\text{g/g}$ e faixa de 60 a 80% em β -caroteno. Apesar dos elevados % de β -caroteno, os teores de carotenóides totais destas variedades foram os menores encontrados neste estudo.

Tabela 8. Identificação das cores das amostras pela “Colour Stripes” *HarvestPlus*

Amostras	Cor (<i>HarvestPlus</i>)	Teor de Carotenóides totais ($\mu\text{g/g}$)	% β -caroteno
61 – Crueira	RHS: 3/1 107 U	12,62 \pm 0,03	37
1700 – Varejão	RHS: 3/1 107 U	11,40 \pm 0,93	37
1138 – IM – 147	RHS: 3/1 107 U	10,17 \pm 0,65	42
878 – Cachimbo I	RHS: 3/2 120 U	16,33 \pm 0,87	25
1140 – IM 217	RHS: 3/2 120 U	14,85 \pm 1,21	39
949 – Pretinha II	RHS: 3/2 120 U	13,36 \pm 0,55	33
1711 – Arari	RHS: 3/2 120 U	12,16 \pm 0,39	27
Híbrido 2003 14 08	RHS: 3/2 120 U	10,32 \pm 0,94	78
1704 – IM – 936 – Caniço	RHS: 3/2 120 U	8,95 \pm 0,29	35
Híbrido 2003 14 17	RHS: 3/2 120 U	8,26 \pm 0,43	72
Híbrido 2003 14 11	RHS: 3/2 120 U	7,03 \pm 0,11	76
1668 – Cacau amarelo	RHS: 3/3 1205 U	2,64 \pm 0,53	80
1722 – Abóbora	RHS: 3/3 1205 U	2,30 \pm 0,27	69
1785 – Flor do Brasil	RHS: 3/3 1205 U	1,97 \pm 0,20	69
1667 – Macaxeira amarela	RHS: 3/3 1205 U	1,87 \pm 0,06	60
893 – Imari III	RHS: 5/3 7401 U	11,29 \pm 0,03	54
1721 – Aipim cacau	RHS: 5/3 7401 U	4,43 \pm 0,46	64
1153 – Klainasik	RHS: 5/3 7401 U	3,99 \pm 0,63	82
1692 – Dendê	RHS: 5/3 7401 U	3,19 \pm 0,04	75
991 – IM 222 – Juba	RHS: 7/1 109 U	15,15 \pm 0,01	51
1705 – Juriti	RHS: 7/2 121 U	8,13 \pm 0,23	39
1456 – Vermelhinha	Rosa	14,15 \pm 0,64	14
456 – Cenoura rosada	Rosa	9,24 \pm 0,32	15

As variedades 893 - Imari III, 1721 - Aipim cacau, 1153 - Klainasik, 1692 - Dendê classificadas na referência de cor RHS: 5/3 7401U, apresentaram a maior variação em carotenóides totais (3,19 a 11,29 $\mu\text{g/g}$). Apesar de ter sido classificada na mesma escala de cor, a variedade 893 - Imari III apresentou o maior teor de carotenóides totais (11,29 $\mu\text{g/g}$) quando comparado as outras variedades. Por outro lado, quando foi excluída, a média do teor de carotenóides totais encontrada foi de 3,87 $\mu\text{g/g}$ (3,19 a 4,43 $\mu\text{g/g}$). Demonstrando que as outras variedades apresentaram teores de carotenóides totais próximos entre si, com percentuais de β -caroteno médios de 74%.

As variedades 1456 - Vermelhinha e 456 - Cenoura rosada, de coloração rósea, não foram classificadas pela referência de cor por não se enquadrarem na escala, apresentando teores de carotenóides totais de 9,24 e 14,15 $\mu\text{g/g}$, e % de β -caroteno 14 e 15%, respectivamente. Apesar de apresentarem elevados teores de carotenóides totais, o % de β -caroteno foram os menores quando comparados aqueles das outras variedades.

As variedades 991 - IM 222 - Juba e 1705 - Juriti foram classificadas pelas referências RHS: 7/1 109U e RHS: 7/2 121U, respectivamente, não permitindo comparação com outras variedades.

De acordo com SÁNCHEZ *et al.* (2006), a associação entre a intensidade de cor e o conteúdo de carotenóides totais é uma prática relevante. Esta correlação torna-se muito importante para seleção de variedades promissoras, ainda no campo, reduzindo custos de análises laboratoriais. Porém, os resultados obtidos com a escala de cor nas amostras avaliadas neste estudo, não refletiram seu real teor de carotenóides totais.

4.2 Padrão de β -Caroteno e Curva de Calibração

O padrão obtido da cenoura (*Daucus carota*, L), *in natura*, apresentou pureza cromatográfica de 93,99% (Figura 11). De acordo com RODRIGUEZ-AMAYA & KIMURA (2004), padrões de β -caroteno devem conter um nível de pureza $\geq 90\%$. Sendo portanto, o resultado obtido compatível e satisfatório.

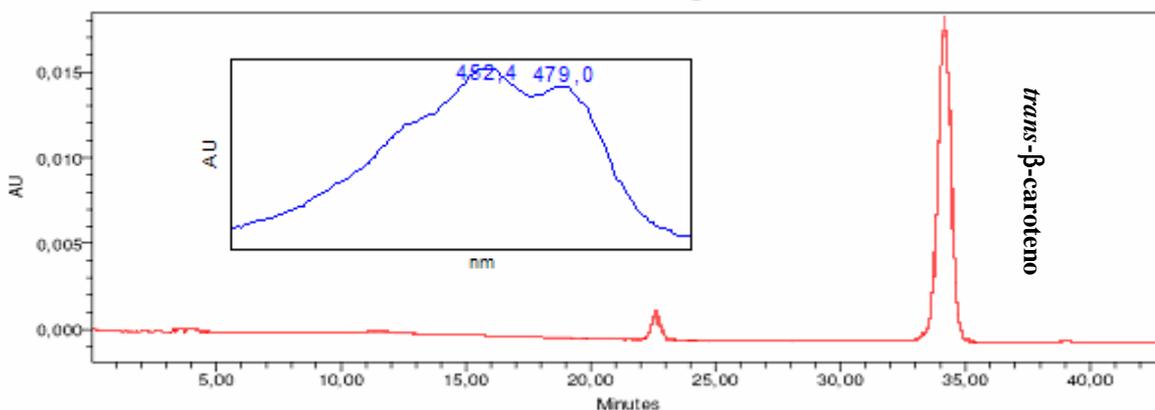


Figura 11. Cromatograma obtido por CLAE do padrão de β -caroteno e espectro de absorção no visível do *trans*- β -caroteno

A concentração do extrato de β -caroteno do padrão foi de 6,29 $\mu\text{g/mL}$, sendo corrigida para 5,91 $\mu\text{g/mL}$, segundo fórmula constante no item 3.2.1 (Material e Métodos).

Os dados obtidos foram submetidos ao Programa Empower, para os cálculos.

A construção da curva da calibração se baseou nos dados apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Curva de calibração do β -caroteno

<i>Aliquota Retirada (mL)</i>	<i>Pontos da curva de calibração</i>	<i>Concentração de β-caroteno ($\mu\text{g/mL}$)</i>
1	1	5,91
2	2	11,82
3	3	17,73
4	4	23,64
5	5	29,56

A equação obtida a partir de uma linha de tendência com regressão linear, gerou uma curva de calibração igual a $Y = 4,05 \cdot 10^5 \cdot X + 5,52 \cdot 10^4$ com R^2 igual a 0,9826 (Figura 12). A correlação está de acordo com o reportado por RODRIGUEZ-AMAYA & KIMURA (2004) para a cenoura.

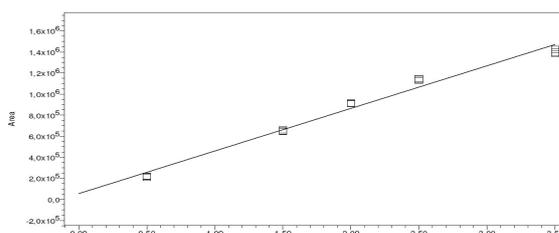


Figura 12. Curva de Calibração do β -caroteno

4.3 Mandioca Amarela Brava *In natura*

Na Tabela 10, podem ser observados os teores em carotenóides totais, β -caroteno total e o % de β -caroteno total nas 12 variedades de raízes de mandioca amarela brava *in natura*.

As variedades de mandioca amarela brava apresentaram variação nos teores de carotenóides totais de 1,97 (1785 – Flor do Brasil) a 16,33 $\mu\text{g/g}$ (878 – Cachimbo I), respectivamente. Sendo que a variedade 1785 – Flor do Brasil apresentou um teor de carotenóides totais muito mais baixo quando comparado aqueles das outras variedades. Excluindo-se a variedade 1785 – Flor do Brasil, a faixa de carotenóides totais ficou compreendida num menor intervalo, variando de 8,13 (1705 – Juriti) a 16,33 $\mu\text{g/g}$ (878 – Cachimbo I).

Tabela 10. Teor ($\mu\text{g/g}$) Carotenóides totais, β -caroteno total e percentual de β -caroteno total nas amostras de mandioca amarela brava *in natura* e respectivos desvios-padrão

<i>Amostras in natura mandioca brava</i>	<i>Teor de Carotenóides totais</i>	<i>Teor de β-caroteno total</i>	<i>% β-caroteno total</i>
878 – Cachimbo I	16,33 \pm 0,87	4,13 \pm 0,04	25
991 – IM 222 – Juba	15,15 \pm 0,01	7,66 \pm 0,45	51
1140 – IM 217	14,85 \pm 1,21	5,84 \pm 0,83	39
949 – Pretinha II	13,36 \pm 0,55	4,44 \pm 0,14	33
61 – Crueira	12,62 \pm 0,03	4,66 \pm 0,37	37
1711 – Arari	12,16 \pm 0,39	3,25 \pm 0,03	27
1700 – Varejão	11,40 \pm 0,93	4,16 \pm 0,23	37
893 – Imari III	11,29 \pm 0,03	6,05 \pm 0,14	54
1138 – IM 147	10,17 \pm 0,65	4,34 \pm 0,55	42
1704 – IM 936 – Caniço	8,95 \pm 0,29	3,11 \pm 0,03	35
1705 – Juriti	8,13 \pm 0,23	3,17 \pm 0,53	39
1785 – Flor do Brasil	1,97 \pm 0,20	1,37 \pm 0,01	69

Pôde-se observar que o teor de β -caroteno total (soma dos teores dos isômeros *trans*, 13 e 9-*cis*- β -caroteno) variou de 1,37 (1785 – Flor do Brasil) a 7,66 $\mu\text{g/g}$, (991 – IM 222 – Juba), respectivamente.

Apesar de ter sido encontrado o maior teor de carotenóides totais na amostra 878 – Cachimbo I, não foi a que apresentou teor de β -caroteno total mais elevado (25%). Porém, o seu teor de β -caroteno total foi maior do que o encontrado na variedade 1785 – Flor do Brasil (69%).

Não foi observada qualquer relação de proporcionalidade entre os teores de carotenóides totais e de β -caroteno total das variedades mandioca amarela brava.

Apesar de ter sido utilizado um número maior de amostras, as faixas de carotenóides totais (1,97-16,33 $\mu\text{g/g}$) e de β -caroteno (25 a 69%) foram menores do que aquela reportada por CHÁVEZ *et al.* (2002), que avaliando três clones de mandioca (CM2772-3, MBRA1324 e MCOL2401), encontraram variação de 10 a 22 $\mu\text{g/g}$ em carotenóides totais e de 7 a 13 $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno, com índices de 60% a 70% de β -caroteno em relação aos carotenóides totais.

A diferença encontrada nos resultados obtidos e aqueles reportados por CHÁVEZ *et al.* (1997) pode ser devido as diferentes variedades utilizadas. Os teores mais elevados de carotenóides totais encontrados por CHÁVEZ *et al.* (2002) podem dever-se ao fato de terem escolhido os clones de coloração mais intensa, o que contraria os resultados obtidos com a escala de cores. Deve-se levar, em consideração que os altos percentuais de β -caroteno encontrados nos 3 clones, que não houve preocupação em avaliar um maior número de variedades.

Os teores de isômeros do *trans*- β -caroteno variaram de 0,76 (1785 – Flor do Brasil) a 5,11 $\mu\text{g/g}$ (991 – IM 222 – Juba), respectivamente. O *trans*- β -caroteno foi o isômero predominante em todas as variedades analisadas (Tabela 11).

Os isômeros 13-*cis*- β -caroteno variaram de 0,22 (1785 – Flor do Brasil) a 1,24 $\mu\text{g/g}$ (991 – IM 222 – Juba), com média de $0,76 \pm 0,26 \mu\text{g/g}$ enquanto que aqueles de 9-*cis*- β -caroteno variaram de 0,05 (1711 – Ariri) a 1,32 $\mu\text{g/g}$ (991 – IM 222 – Juba), com média de $0,73 \pm 0,44 \mu\text{g/g}$.

A variedade 991 – IM 222 – Juba apresentou teores de isômeros do β -caroteno mais elevados, entre todas as variedades analisadas.

Tabela 11. Teores em ($\mu\text{g/g}$) de β -caroteno total e seus isômeros *trans*, 13 e 9-*cis*- β -caroteno nas amostras de mandioca amarela brava *in natura* e respectivos desvios-padrão

<i>Amostras in natura de mandioca brava</i>	β -caroteno total	<i>trans</i> - β -caroteno	13- <i>cis</i> - β -caroteno	9- <i>cis</i> - β -caroteno
878 – Cachimbo I	$4,13 \pm 0,04$	$3,04 \pm 0,03$	$0,81 \pm 0,10$	$0,28 \pm 0,04$
991 – IM 222 – Juba	$7,66 \pm 0,45$	$5,11 \pm 0,34$	$1,24 \pm 0,06$	$1,32 \pm 0,05$
1140 – IM 217	$5,84 \pm 0,83$	$3,91 \pm 0,52$	$0,93 \pm 0,23$	$1,00 \pm 0,08$
949 – Pretinha II	$4,44 \pm 0,14$	$2,75 \pm 0,01$	$0,93 \pm 0,15$	$0,76 \pm 0,02$
61 – Crueira	$4,66 \pm 0,37$	$3,07 \pm 0,04$	$0,69 \pm 0,17$	$0,90 \pm 0,16$
1711 – Arari	$3,25 \pm 0,03$	$2,40 \pm 0,04$	$0,80 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,01$
1700 – Varejão	$4,16 \pm 0,23$	$2,69 \pm 0,08$	$0,70 \pm 0,27$	$0,78 \pm 0,03$
893 – Imari III	$6,05 \pm 0,14$	$3,49 \pm 0,08$	$0,94 \pm 0,01$	$1,61 \pm 0,05$
1138 – IM 147	$4,34 \pm 0,55$	$2,68 \pm 0,35$	$0,93 \pm 0,10$	$0,73 \pm 0,10$
1704 – IM 936 – Caniço	$3,11 \pm 0,03$	$2,10 \pm 0,01$	$0,50 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,01$
1705 – Juriti	$3,17 \pm 0,53$	$2,26 \pm 0,39$	$0,49 \pm 0,08$	$0,42 \pm 0,06$
1785 – Flor do Brasil	$1,37 \pm 0,01$	$0,76 \pm 0,02$	$0,22 \pm 0,01$	$0,39 \pm 0,01$

Os maiores percentuais dos isômeros *cis* (Z) foram observados nas variedades 1785 – Flor do Brasil e da 893 – Imari III (Tabela 11). Não foi observada qualquer relação de proporcionalidade entre os teores de carotenóides totais e β -caroteno total.

Similarmente, KIMURA *et al.* (2005) reportaram a presença dos mesmos isômeros na variedade de mandioca BRA 005771, porém sem quantificá-los, também observando a prevalência do isômero *trans*- β -caroteno.

Os maiores percentuais foram encontrados nas variedades 1785 – Flor do Brasil e 893 – Imari III, para os isômeros *cis*, não apresentando qualquer relação direta ou inversamente proporcional aos teores de carotenóides totais e de β -caroteno total (Tabela 12).

Além da ocorrência natural destes isômeros nas variedades estudadas, podem ocorrer isomerizações durante a análise, as quais justificariam o elevado teor de isômeros encontrado. Esta ocorrência foi sugerida por SCHIEBER (2005), GIULIANO (2002) e AMAN *et al.* (2005).

A exposição ao calor, a luminosidade e ao oxigênio seriam os principais agentes destas isomerizações que ocorrem durante o curto período de análise (KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

4.4 Avaliação da Degradação de Carotenóides Totais em Mandioca Amarela Brava

A degradação dos carotenóides totais das farinhas das raízes de mandioca amarela brava: 1757 (Anajazinha), 1783, 1752 (Flor do Brasil I), 1740 (Najacaiá) e 1751 (Bonita) pode ser observada na Tabela 13, bem como durante o armazenamento nos tempos: 0 dia ou dia de processamento; 5; 12; 19 e 26 dias ou, até a degradação total dos carotenóides.

Tabela 12. Percentual de isômeros 13 e 9-*cis*- β -caroteno nas amostras de mandioca amarela brava em relação ao teor de carotenóides totais

<i>Amostras in natura de mandioca brava</i>	<i>13-cis β-caroteno</i>	<i>9-cis β-caroteno</i>
878 – Cachimbo I	5%	4%
991 – IM 222 – Juba	8%	12%
1140 – IM 217	4%	6%
949 – Pretinha II	7%	9%
61 – Crueira	5%	9%
1711 – Arari	3%	7%
1700 – Varejão	6%	8%
893 – Imari III	8%	16%
1138 – IM 147	9%	7%
1704 – IM – 936 – Caniço	6%	6%
1705 – Juriti	6%	6%
1785 – Flor do Brasil	12%	20%

Os teores de carotenóides totais nas variedades *in natura* variaram de 3,65 (1757 - Anajazinha) a 18,92 μ g/g (1751 - Bonita). Observou-se que apesar da variedade 1751 (Bonita) ter apresentado teor de carotenóides totais mais elevado, apresentou percentual de degradação de 95% no décimo segundo dia de armazenamento da farinha.

A degradação dos carotenóides totais foi contínua, mesmo durante o armazenamento na ausência da luz, totalmente no 12º dia na farinha da variedade 1783, no 19º dia naquelas das variedades 1757, 1740 e 1751 e no 26º dia na variedade 1752.

A degradação média encontrada nas farinhas foi de 50% após o processamento. A exposição ao calor durante o processo de fabricação da farinha foi o agente principal da degradação (oxidação) dos carotenóides totais, uma vez que a temperatura, durante o processo, situou-se numa faixa de 120°C a 150°C por cerca de 30 minutos, sabendo-se que os carotenóides degradam-se a partir de temperaturas próximas e superiores a 40°C (BAUERNFEIND, 1972).

Outros fatores podem, também, ter influenciado a degradação dos carotenóides totais como: a etapa de moagem/ralação (exposição do conteúdo celular ao ambiente), na passagem pelo ralador, facilitando o processo oxidativo.

Tabela 13. Teores de Carotenóides totais (μ g/g) e o percentual (%) de degradação nas amostras mandioca amarela brava *in natura*, nas farinhas após o processamento e durante o armazenamento

	<i>1757</i>	<i>%</i>	<i>1783</i>	<i>%</i>	<i>1752</i>	<i>%</i>	<i>1740</i>	<i>%</i>	<i>1751</i>	<i>%</i>
<i>In natura</i>	3,65	-	9,61	-	11,63	-	16,32	-	18,92	-
0 dia/processo	1,05	71	6,43	33	6,07	48	8,23	50	9,07	52
5 dias	0,42	89	1,63	83	5,02	57	2,20	87	2,17	89
12 dias	0,25	93	-	-	1,80	85	0,88	95	1,20	94
19 dias	-	-	-	-	0,16	90	-	-	-	-
26 dias	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A escassez de literatura quanto à degradação de carotenóides em farinha de mandioca, de uma forma geral, dificultou a comparação dos resultados obtidos no presente estudo porém alguns autores reportam seus efeitos deletérios sobre estes micronutrientes.

HIANE *et al.* (2003) observaram menor perda de 38% em carotenóides após a fabricação de farinha do fruto de Bacuri (*Scheelea phalerata*, Mart.), por processo de secagem da polpa, com ventilação, a temperatura de 60°C, por dois dias, em relação ao fruto *in natura*. O que corrobora o resultado de maior perda destes nutrientes nas farinhas de mandioca avaliadas no presente trabalho onde temperatura mais elevada foi utilizada.

4.5 Avaliação da Cinética de Degradação de Carotenóides Totais na Farinha de Mandioca Amarela Brava

A degradação dos carotenóides totais nas amostras de mandioca amarela brava foi contínua ao longo do tempo. Este comportamento também foi observado em outras matrizes como no açafraão (TSIMIDON & BILIDESIS, 1993) e em mamão (MORENO-ALVAREZ *et al.*, 2003).

A degradação dos carotenóides totais em relação aos tempos de armazenamento pela análise estatística ANOVA revelou que quatro variedades: 1740, 1751, 1752 e 1783 não foi encontrada uma correlação a $p < 0,001$, apesar de ter ocorrido redução da concentração ao longo do tempo de armazenamento.

Na variedade 1757, foi encontrada correlação de Pearson de $R^2 = 0,91$ com $p < 0,01$, devido a ocorrência da redução da concentração de carotenóides totais ao longo do tempo.

O modelo da equação utilizado para a cinética de degradação dos carotenóides totais não foi adequado quanto ao tempo de armazenamento.

Devido aos resultados obtidos pode-se conjecturar que outros fatores influenciaram a degradação dos carotenóides totais como a permeabilidade da embalagem ao oxigênio visto as amostras não terem sido embaladas à vácuo, manutenção das amostras sob refrigeração e pela temperatura do ambiente de estocagem. Por outro lado, estes fatores não foram considerados visto que a proposta do estudo se baseou nas condições comerciais de armazenamento deste tipo de produto.

4.6 Mandioca Amarela Mansa *In natura* e Processada

Na tabela 14 podem ser observados os teores de carotenóides totais, β -caroteno total e o percentual de β -caroteno total das 11 variedades de mandioca amarela mansa *in natura*.

As variedades de mandioca amarela mansa apresentaram variação nos teores de carotenóides totais de 1,87 (1667 – Macaxeira amarela) a 14,15 $\mu\text{g/g}$ (1456 – Vermelhinha), respectivamente.

Observou-se que o teor de β -caroteno total (soma dos teores dos isômeros *trans*, 13 e 9-*cis*- β -caroteno) variou de 1,17 (1667 - Macaxeira amarela) a 8,11 $\mu\text{g/g}$ (Híbrido 2003 14 08), respectivamente.

Tabela 14. Teores em ($\mu\text{g/g}$) de carotenóides totais, β -caroteno total e o percentual de β -caroteno total encontrado nas amostras de mandioca amarela mansa

<i>Amostras in natura mandioca mansa</i>	<i>Carotenóides totais</i>	<i>β-caroteno total</i>	<i>% β-caroteno total</i>
1456 – Vermelhinha	14,15 \pm 0,64	1,99 \pm 0,09	14
Híbrido 2003 14 08	10,32 \pm 0,94	8,11 \pm 0,06	78
456 – Cenoura rosada	9,24 \pm 0,32	1,40 \pm 0,48	15
Híbrido 2003 14 17	8,26 \pm 4,43	5,93 \pm 0,95	72
Híbrido 2003 14 11	7,03 \pm 0,11	5,37 \pm 0,51	76
1721 – Aipim cacau	4,43 \pm 0,46	2,84 \pm 0,35	64
1153 – Klainasik	3,99 \pm 0,63	3,29 \pm 0,06	82
1692 – Dendê	3,19 \pm 0,04	2,38 \pm 0,14	75
1668 – Cacau amarelo	2,64 \pm 0,53	2,11 \pm 0,02	80
1722 – Abóbora	2,30 \pm 0,27	1,59 \pm 0,36	69
1667 – Macaxeira amarela	1,87 \pm 0,06	1,13 \pm 0,26	60

A variedade 1456 – Vermelhinha foi a que apresentou o maior teor de carotenóides totais dentre as variedades analisadas, porém não sendo aquela com o teor de β -caroteno total (14%) mais elevado.

PEREIRA *et al.* (2005), avaliando o teor de carotenóides totais em 72 raízes de mandioca amarela e rosa, encontraram teor médio de carotenóides totais de 6,6 $\mu\text{g/g}$ e teores mínimos e máximos de 0,63 e 15,51 $\mu\text{g/g}$ na polpa fresca, respectivamente. Porém, das 72 raízes analisadas apenas dezessete apresentaram teores superiores a 10 $\mu\text{g/g}$. Estes resultados são semelhantes aos encontrados no presente trabalho, porém não discriminaram as variedades em mansa ou brava analisadas.

Os isômeros *cis* foram quantificados embora possuam menor atividade pró-vitamina A (BAUERNFEIND,1972), e podem estar presentes na raiz, em proporções significativas em relação ao teor de carotenóides totais (Tabela 15).

As variedades híbridas 2003 14 08, 2003 14 11 e 2003 14 17 (cruzamento de mandioca amarela brava com mandioca amarela mansa) se destacaram pelo alto teor de β -caroteno nas suas raízes (Tabela 15).

Tabela 15. Teores em ($\mu\text{g/g}$) de β -caroteno total e seus isômeros *trans*, 13 e 9-*cis*- β -caroteno nas amostras de mandioca amarela mansa *in natura* e respectivos desvios-padrão

<i>Amostras in natura de mandioca mansa</i>	<i>β-caroteno total</i>	<i>trans-β-caroteno</i>	<i>13-cis-βcaroteno</i>	<i>9-cis-β-caroteno</i>
Híbrido 2003 14 08	8,11 \pm 0,06	7,27 \pm 0,05	0,50 \pm 0,01	0,35 \pm 0,01
Híbrido 2003 14 17	5,93 \pm 0,95	5,35 \pm 0,89	0,34 \pm 0,04	0,24 \pm 0,02
Híbrido 2003 14 11	5,37 \pm 0,51	4,23 \pm 0,47	0,37 \pm 0,02	0,76 \pm 0,02
1153 - Klainasik	3,29 \pm 0,06	1,67 \pm 0,01	0,51 \pm 0,01	1,12 \pm 0,05
1721 - Aipim cacau	2,84 \pm 0,35	1,58 \pm 0,16	0,47 \pm 0,06	0,79 \pm 0,12
1692 - Dendê	2,38 \pm 0,14	1,71 \pm 0,11	0,42 \pm 0,27	0,25 \pm 0,02
1668 - Cacau amarelo	2,11 \pm 0,02	1,01 \pm 0,01	0,29 \pm 0,01	0,81 \pm 0,01
1456 - Vermelhinha	1,99 \pm 0,09	1,00 \pm 0,05	0,52 \pm 0,02	0,47 \pm 0,02
1722 - Abóbora	1,59 \pm 0,36	0,85 \pm 0,19	0,22 \pm 0,04	0,53 \pm 0,12
456 - Cenoura rosada	1,40 \pm 0,48	1,01 \pm 0,49	0,22 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01
1667 - Macaxeira amarela	1,13 \pm 0,26	0,63 \pm 0,33	0,21 \pm 0,03	0,29 \pm 0,04

Quanto aos isômeros *trans*, 13 e 9-*cis*- β -caroteno presentes nas amostras, observou-se que o isômero *trans*- β -caroteno também foi o mais abundante, variando 0,63 (1667 – Macaxeira amarela) a 7,27 $\mu\text{g/g}$ (Híbrido 2003 14 08).

Vários estudos comprovam a predominância do *trans* β -caroteno em diferentes matrizes de origem vegetal fonte de carotenóides (SEO *et al.*, 2005 na abóbora, KIMURA *et al.*, 2005 em milho e batata-doce e JAARVELD *et al.*, 2006 em batata-doce cv. Resisto)

Os teores de 13-*cis*- β -caroteno variaram de 0,21 (1667 – Macaxeira amarela) a 0,51 $\mu\text{g/g}$ (Híbrido 2003 14 08) e a media foi de 0,35 $\mu\text{g/g}$ enquanto que o 9-*cis*- β -caroteno variou de 0,19 (456 – Cenoura rosada) a 1,12 $\mu\text{g/g}$ (1153 – Klainasik) com média de 0,56 $\mu\text{g/g}$.

De um modo geral, os teores de *trans*- β -caroteno não apresentaram diferenças apreciáveis entre si porém, os híbridos apresentaram os teores mais elevados.

O maior percentual de 9-*cis*- β -caroteno foi encontrado na variedade 1668 – Cacau amarelo (32% do teor de carotenóides totais) enquanto que a amostra 1456 – Vermelhinha apresentou apenas 2% deste constituinte (Tabela 16).

Tabela 16. Percentual de isômeros 13 e 9-*cis*- β -caroteno nas raízes de mandioca amarela mansa em relação ao teor de carotenóides totais das amostras

<i>Amostras in natura de mandioca mansa</i>	<i>13-cis-β-caroteno</i>	<i>9-cis-β-caroteno</i>
1153 – Klainasik	13%	28%
1668 – Cacao amarelo	11%	32%
1721 – Aipim cacao	10%	18%
1722 – Abóbora	10%	27%
Híbrido 2003 14-11	9%	20%
1692 – Dendê	7%	8%
1667 – Macaxeira amarela	6%	8%
Híbrido 2003 14-08	5%	3%
Híbrido 2003 14-17	4%	3%
456 – Cenoura rosada	2%	2%
1456 – Vermelhinha	2%	2%

O Híbrido 2003 14 08 (Figura 13) apresentou o maior teor de β -caroteno total dentre as variedades avaliadas embora, quando comparado aos Híbridos 2003 14 11 (Figura 14) e 2003 14 17 (Figura 15), o percentual pouco diferiu proporcionalmente entre eles.

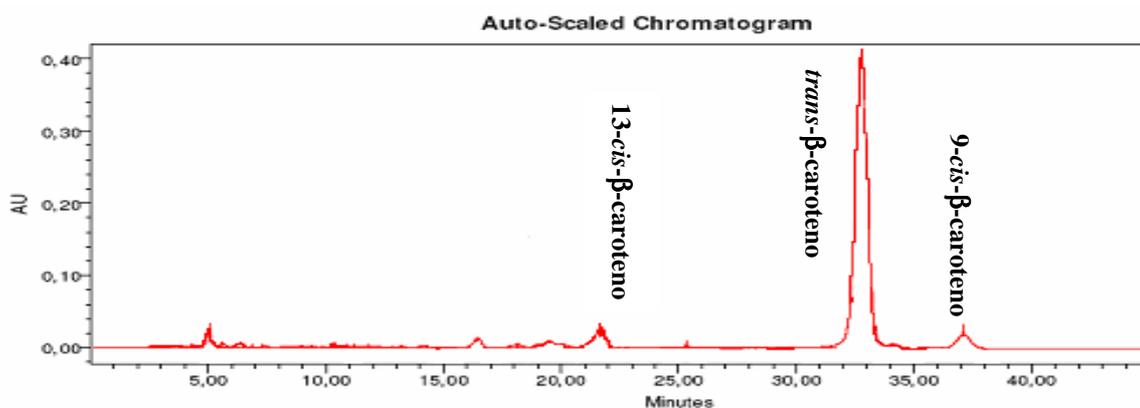


Figura 13. Cromatograma mandioca amarela mansa Híbrido 2003 14 08

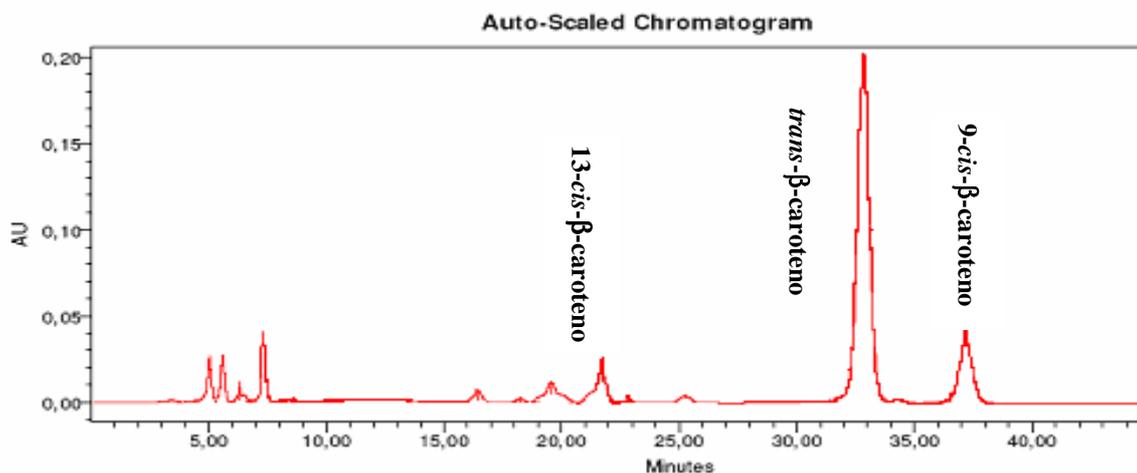


Figura 14. Cromatograma mandioca amarela mansa Híbrido 2003 14 11

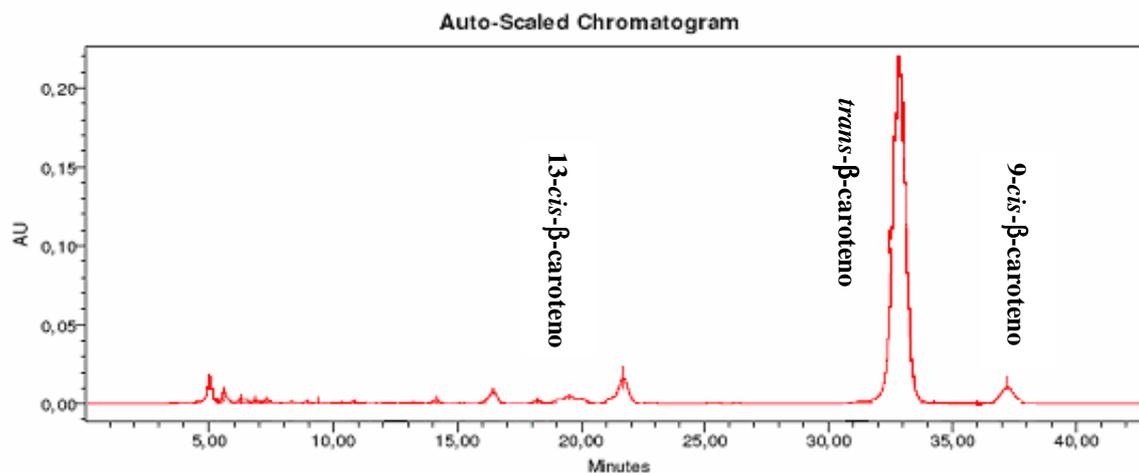


Figura 15. Cromatograma da mandioca amarela mansa Híbrido 2003 14 17

Na tabela 17 são apresentados os teores de carotenóides totais, β -caroteno total e seus respectivos percentuais de retenção real encontrados nas variedades de mandioca amarela mansa, conforme experimentos: 1 - (Raiz cozida em recipiente sem tampa completamente coberta com água (1:1,5 p/v)); 2 - (Raiz cozida em recipiente com tampa completamente coberta com água (1:1,5 p/v)) e, 3 - (Raiz cozida em panela com tampa parcialmente coberta com água (1:1 p/v)).

De uma forma geral, houve variação nos % RR de carotenóides totais e β -caroteno entre as variedades no cozimento 1, situando-se entre 53,61 (1692 – Dendê) a 106,92% (456 – Cenoura rosada) e entre 33,25 (1456 – Vermelhinha) a 118,05% (Híbrido 2003 14 17).

Tabela 17. Teor de carotenóides totais, β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) e respectivos percentuais de retenção real de mandioca amarela mansa em cada experimento de cozimento

<i>Amostra</i>	<i>Carotenóides totais</i>	<i>% RR</i>	<i>β-caroteno total</i>	<i>%RR</i>
1456				
<i>In natura</i>	14,15 \pm 0,32		1,99 \pm 0,06	
Exp 1	10,49 \pm 0,48	99,49	0,54 \pm 0,09	33,25
Exp 2	10,70 \pm 0,48	92,65	0,54 \pm 0,01	33,25
Exp 3	8,10 \pm 0,35	62,97	0,58 \pm 0,01	32,06
Híbrido 2003 14 08				
<i>In natura</i>	10,32 \pm 0,94		8,11 \pm 0,06	
Exp 1	7,06 \pm 0,21	89,20	5,65 \pm 0,07	90,84
Exp 2	7,04 \pm 0,16	89,20	4,42 \pm 0,42	71,25
Exp 3	7,21 \pm 0,35	62,97	6,31 \pm 0,54	32,06
456				
<i>In natura</i>	9,24 \pm 0,32		1,40 \pm 0,06	
Exp 1	8,23 \pm 0,59	106,92	0,87 \pm 0,01	74,60
Exp 2	7,77 \pm 0,18	86,49	1,14 \pm 0,21	83,75
Exp 3	10,14 \pm 0,36	110,89	1,13 \pm 0,01	81,56
Híbrido 2003 14 17				
<i>In natura</i>	8,26 \pm 0,03		5,93 \pm 0,95	
Exp 1	6,42 \pm 0,15	87,62	6,21 \pm 0,34	118,05
Exp 2	4,60 \pm 0,30	65,71	4,23 \pm 0,23	84,17
Exp 3	6,41 \pm 0,09	89,86	5,69 \pm 0,56	111,10

Híbrido 2003 14 11

<i>In natura</i>	7,03 ± 0,11		5,37 ± 0,51	
Exp 1	4,12 ± 0,05	77,90	3,81 ± 0,62	94,31
Exp 2	3,93 ± 0,19	73,83	3,13 ± 0,10	76,97
Exp 3	4,18 ± 0,84	80,90	2,99 ± 0,56	75,76

1721

<i>In natura</i>	4,34 ± 0,03		2,84 ± 0,06	
Exp 1	2,97 ± 0,16	65,42	1,53 ± 0,12	65,42
Exp 2	2,99 ± 0,06	69,38	1,51 ± 0,06	69,38
Exp 3	3,03 ± 0,11	65,23	1,65 ± 0,01	65,23

1153

<i>In natura</i>	3,99 ± 0,32		3,29 ± 0,07	
Exp 1	2,76 ± 0,17	71,86	2,06 ± 0,02	64,39
Exp 2	2,57 ± 0,04	74,45	2,07 ± 0,28	71,99
Exp 3	2,69 ± 0,37	69,35	2,57 ± 0,20	79,54

1692

<i>In natura</i>	3,19 ± 0,03		2,38 ± 0,06	
Exp 1	1,89 ± 0,02	53,61	1,61 ± 0,13	61,86
Exp 2	2,76 ± 0,13	80,96	2,24 ± 0,10	88,07
Exp 3	2,77 ± 0,13	82,46	2,15 ± 0,04	85,79

1668

<i>In natura</i>	2,68 ± 0,03		2,11 ± 0,06	
Exp 1	2,03 ± 0,03	68,34	1,72 ± 0,08	72,44
Exp 2	2,36 ± 0,06	77,29	1,80 ± 0,29	73,76
Exp 3	2,05 ± 0,04	66,45	1,66 ± 0,11	67,32

1667

<i>In natura</i>	1,87 ± 0,32		1,13 ± 0,06	
Exp 1	1,43 ± 0,01	62,83	1,17 ± 0,02	85,08
Exp 2	1,73 ± 0,01	82,32	1,23 ± 0,03	96,86
Exp 3	2,06 ± 0,01	93,73	1,37 ± 0,03	103,15

1722

<i>In natura</i>	2,30 ± 0,03		1,59 ± 0,06	
Exp 1	2,51 ± 0,42	74,08	2,02 ± 0,45	86,24
Exp 2	2,54 ± 0,05	104,51	1,67 ± 0,21	99,40
Exp 3	2,62 ± 0,03	81,19	1,75 ± 0,25	78,44

Foram encontrados percentuais acima de 100% de retenção real em carotenóides totais nas variedades 456 – Cenoura rosada (106,92%) e em β -caroteno no Híbrido 2003 14 17 (118,05%) após o cozimento 1.

Após o cozimento 2, a variedade 1722 – Abóbora apresentou %RR de 104,51% enquanto que no experimento 3, nas variedades Híbrido 2003 14 17 e 1667 – Macaxeira amarela, estes percentuais foram de 111,10 e 103,15, respectivamente.

No experimento 2, todas as variedades analisadas apresentaram os % RR de carotenóides totais acima de 60%, variando de 65,71 (Híbrido 2003 14 17) a 104,51% (1722 - Abóbora) enquanto a variação % RR quanto ao β -caroteno foi de 33,25 (1456 – Vermelhinha) a 99,40% (1722 - Abóbora).

No experimento 3, a variação do % RR em carotenóides totais variou de 62,97% (1456 – Vermelhinha) a 110,89% (456 - Cenoura Rosada) e aquela de β -caroteno de 32,06% (1456 – Vermelhinha) a 111,10% (Híbrido 2003 14 17).

A literatura sobre o estudo do %RR em carotenóides totais e β -caroteno em raízes de mandioca amarela mansa bem como de outros aspectos é escassa, o que dificultou a comparação e discussão dos resultados, uma vez que os autores nem sempre mencionavam as variedades estudadas bem como mansa ou brava.

A retenção de carotenóides totais varia de acordo com a matriz analisada.

Estudos realizados em batata-doce amarela, cv. Resisto (JAARVELD *et al.*, 2006) tendo variado de 83 a 92% nos tempos de cozimento de 20 e 30 minutos, respectivamente. Em cenouras, foi observada redução em β -caroteno de 27% após cozimento sob pressão por 10 minutos e 16% em panela tampada (GAYATHRI *et al.*, 2004), bem como DUTTA *et al.* (2005) em cenouras branqueadas nos tempos de 3 e 5 minutos, observando aumento no teor de β -caroteno de 84,4 (*in natura*) para 100,8 μ g/g (3 minutos) e redução para 88,6 μ g/g (5 minutos).

Por outro lado, AMAN *et al.* (2005) observaram redução no teor de β -caroteno avaliando a exposição de uma solução padrão do micronutriente à temperatura de 98°C por 60 minutos encontrando RR de 84%. Porém, SCOTT *et al.* (2005) não observaram diferenças significativas em milho fresco e processado 126°C por 12 minutos (apertização).

A análise estatística revelou diferenças significativas (LSD = 893,36 $p < 0,001$) entre os 3 tipos de cozimento (Gráfico 01) sendo que o maior % médio de RR em carotenóides totais foi observado no cozimento 2 (81,51 \pm 12,64) seguido pelo cozimento 3 (80,95 \pm 14,02) e de 77,90 \pm 15,91 no cozimento 1.

Quanto ao % médio de retenção de β -caroteno (Gráfico 02), a análise estatística revelou que também houve diferença significativa (LSD = 46,68, $p < 0,001$) entre os cozimentos sendo o cozimento 3 aquele que mais preservou este micronutriente (79,80 \pm 20,82) seguido pelo cozimento 2 (77,54 \pm 17,26) e do cozimento 1 (76,99 \pm 21,36).

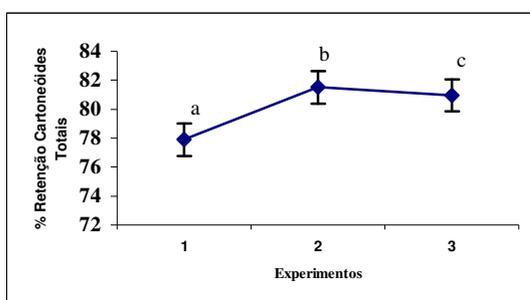


Gráfico 01 - % médio de retenção dos carotenóides totais entre os cozimentos. As análises foram realizadas em duplicata, e as barras de erro correspondem aos desvios-padrão e a identificação da diferença significativa ($p < 0,001$) entre os cozimentos

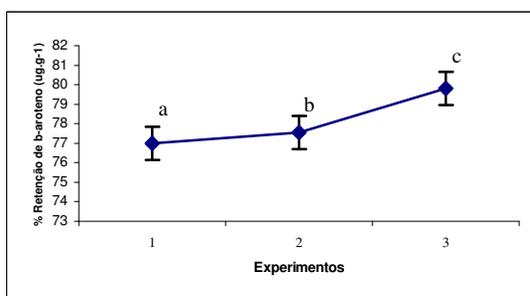


Gráfico 02 - % médio de retenção do β -caroteno entre os cozimentos. As análises foram realizadas em duplicata, e as barras de erro correspondem aos desvios-padrão e a identificação da diferença significativa ($p < 0,001$) entre os cozimentos.

Na tabela 18, verifica-se que o *trans*- β -caroteno foi o isômero predominante nos 3 cozimentos quando comparado aos isômeros 13 e 9-*cis*- β -caroteno.

Nas variedades 456, 1153, 1456 e 1721, observou-se reduções nos teores dos isômeros 13 e 9-*cis*- β -caroteno após o cozimento (1, 2 e 3).

Os isômeros 13 e 9-*cis*- β -caroteno apresentaram teores semelhantes ou superiores àqueles encontrados nas raízes *in natura* das variedades 1667, 1668, 1692, 1721, Híbrido 2003 14 08, Híbrido 2003 14 11 e Híbrido 2003 14 17. Possivelmente, devido à isomerização *trans-cis* provocada pelo calor aplicado durante os 3 cozimentos (ASHLEY *et al.*, 2003).

A isomerização *trans-cis* foi reportada por SCHIEBER (2005) e por LIN *et al.* (2005) como sendo causa do efeito do processamento térmico.

Tabela 18. Teor de isômeros *trans*, 13 e 9-*cis*- β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) na raiz *in natura* e processada de mandioca amarela mansa

<i>Amostra</i>	<i>trans</i> - β -caroteno	13- <i>cis</i> - β -caroteno	9- <i>cis</i> - β -caroteno
456			
<i>In natura</i>	1,01 \pm 0,06	0,22 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01
Exp 1	0,64 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01
Exp 2	0,75 \pm 0,01	0,20 \pm 0,02	0,19 \pm 0,01
Exp 3	0,97 \pm 0,21	0,04 \pm 0,01	0,12 \pm 0,03
Híbrido 2003 14 08			
<i>In natura</i>	7,27 \pm 0,06	0,50 \pm 0,03	0,35 \pm 0,01
Exp 1	4,55 \pm 0,89	0,73 \pm 0,02	0,37 \pm 0,01
Exp 2	3,44 \pm 0,20	0,79 \pm 0,02	0,19 \pm 0,03
Exp 3	4,48 \pm 0,10	1,50 \pm 0,05	0,33 \pm 0,03
1456			
<i>In natura</i>	1,00 \pm 0,06	0,52 \pm 0,01	0,47 \pm 0,01
Exp 1	0,26 \pm 0,04	0,14 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02
Exp 2	0,32 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01
Exp 3	0,32 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01
Híbrido 2003 14 17			
<i>In natura</i>	5,35 \pm 0,06	0,34 \pm 0,03	0,24 \pm 0,01
Exp 1	5,03 \pm 0,15	0,86 \pm 0,06	0,32 \pm 0,02
Exp 2	2,99 \pm 0,17	1,03 \pm 0,03	0,21 \pm 0,01
Exp 3	5,58 \pm 0,01	0,65 \pm 0,01	0,46 \pm 0,05
Híbrido 2003 14 11			
<i>In natura</i>	4,23 \pm 0,06	0,37 \pm 0,03	0,76 \pm 0,01
Exp 1	2,31 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	0,70 \pm 0,18
Exp 2	2,09 \pm 0,05	0,46 \pm 0,01	0,58 \pm 0,01
Exp 3	2,18 \pm 0,34	0,06 \pm 0,01	0,75 \pm 0,15
1721			
<i>In natura</i>	1,58 \pm 0,06	0,47 \pm 0,03	0,79 \pm 0,01
Exp 1	0,94 \pm 0,07	0,10 \pm 0,02	0,49 \pm 0,03
Exp 2	0,95 \pm 0,02	0,09 \pm 0,01	0,47 \pm 0,05
Exp 3	1,00 \pm 0,34	0,10 \pm 0,01	0,55 \pm 0,02
1153			
<i>In natura</i>	1,67 \pm 0,06	0,51 \pm 0,01	1,12 \pm 0,01
Exp 1	1,07 \pm 0,01	0,38 \pm 0,01	0,61 \pm 0,01
Exp 2	1,17 \pm 0,18	0,25 \pm 0,02	0,65 \pm 0,09
Exp 3	1,43 \pm 0,14	0,35 \pm 0,01	0,81 \pm 0,07

Cont. Tabela 18

1692			
<i>In natura</i>	1,71 ± 0,06	0,42 ± 0,03	0,25 ± 0,01
Exp 1	1,08 ± 0,02	0,38 ± 0,02	0,15 ± 0,01
Exp 2	1,49 ± 0,18	0,52 ± 0,02	0,23 ± 0,01
Exp 3	1,57 ± 0,14	0,31 ± 0,06	0,27 ± 0,04
1668			
<i>In natura</i>	1,01 ± 0,06	0,29 ± 0,03	0,81 ± 0,01
Exp 1	0,88 ± 0,02	0,29 ± 0,03	0,55 ± 0,03
Exp 2	0,86 ± 0,13	0,31 ± 0,07	0,63 ± 0,09
Exp 3	0,81 ± 0,06	0,26 ± 0,01	0,59 ± 0,04
1667			
<i>In natura</i>	0,63 ± 0,06	0,21 ± 0,03	0,29 ± 0,01
Exp 1	0,25 ± 0,01	0,67 ± 0,02	0,25 ± 0,02
Exp 2	0,72 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,26 ± 0,01
Exp 3	0,78 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,32 ± 0,01
1722			
<i>In natura</i>	0,85 ± 0,06	0,22 ± 0,03	0,53 ± 0,01
Exp 1	1,01 ± 0,07	0,38 ± 0,02	0,63 ± 0,06
Exp 2	0,87 ± 0,03	0,21 ± 0,01	0,59 ± 0,03
Exp 3	0,97 ± 0,05	0,12 ± 0,01	0,66 ± 0,08

Na Tabela 19, pode ser observada a retenção real ($\mu\text{g/g}$) após a fritura da amostra 1722 (maior %RR após o cozimento 2) revelando percentuais de 42% em carotenóides totais e 26% em β -caroteno e podendo ser atribuída à ação do calor utilizado na fritura (VITRAC *et al.*, 2003).

Tabela 19. Teores de carotenóides totais e β -caroteno na amostra 1722 após a fritura ($\mu\text{g/g}$)

	<i>In Natura</i>	<i>Cozimento</i>	<i>Fritura</i>
Carotenóides Totais	2,30 ± 0,27	2,54 ± 0,05	1,07 ± 0,13
β -caroteno	1,59 ± 0,36	1,67 ± 0,21	0,27 ± 0,08

4.7 Avaliação Comparativa da Mandioca Amarela Mansa e Brava

No Gráfico 3, pode-se observar que os teores de carotenóides totais das amostras de mandioca amarela brava foram superiores quando comparados àqueles das amostras de mandioca amarela mansa. Por outro lado, o percentual de β -caroteno foi sempre menor quando comparado aos percentuais de β -caroteno das amostras de mandioca amarela mansa.

No Gráfico 4, observa-se, mais claramente, que houve diferença significativa entre os teores de carotenóides totais (LSD = 21,20 - $p < 0,01$) nas variedades de mandioca amarela mansa (média = 6,21, $dp = 3,89$ e CV = 62,64%) e brava (média = 11,51, $dp = 3,91$ com CV = 33,97) porém, não houve diferença significativa nos teores de β -caroteno (LSD= 0,48 - $p < 0,001$) entre as variedades bravas e mansas.

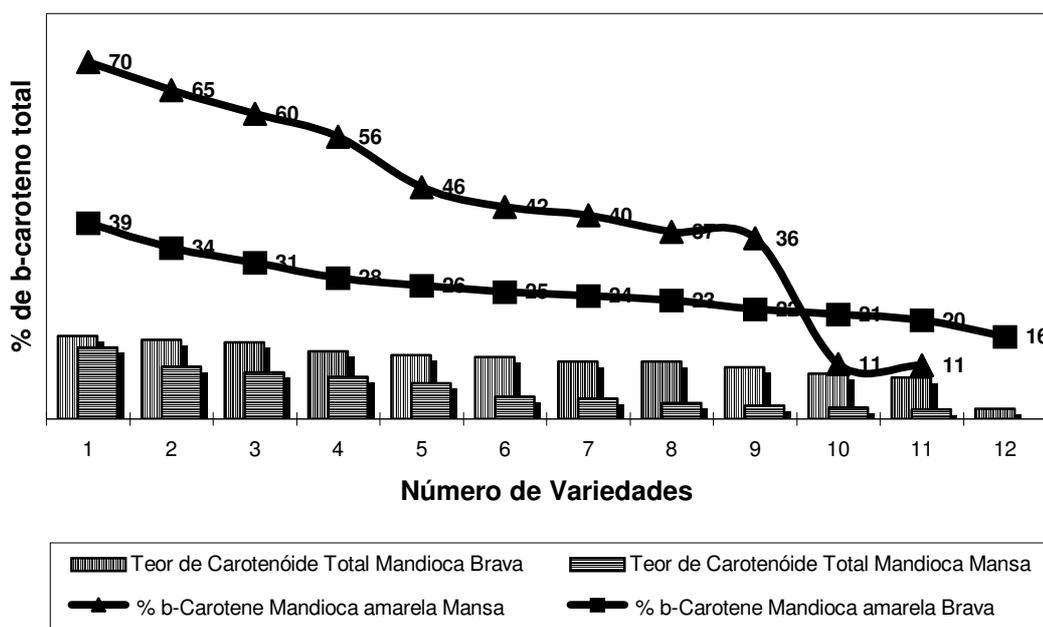


Gráfico 3. Comparação do teor de carotenóides totais da mandioca amarela mansa x mandioca brava (colunas) e do % de β-caroteno de mandioca amarela mansa x mandioca amarela brava (linhas)

A média dos teores de β-caroteno entre as raízes de mandioca amarela brava foi de $2,79 \pm 1,05$ com um coeficiente de variação ($CV = 37,63\%$) e, a média para mandioca amarela mansa foi de $2,46 \pm 2,09$ ($CV = 84,97\%$). Apesar desta diferença de 12%, entre os teores de β-caroteno, estatisticamente, não foi encontrada uma diferença significativa destes teores ($LSD = 0,48 - p < 0,001$).

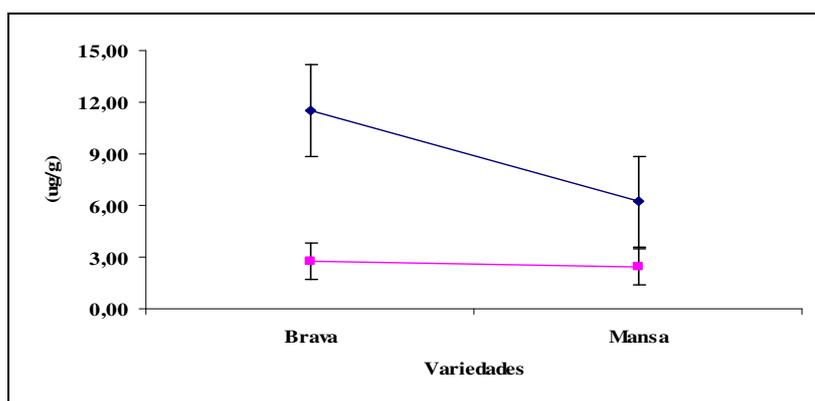


Gráfico 4. Teores médios de carotenóides totais e de β-caroteno (µg/g) das variedades mansas e bravas e as barras de erro correspondem aos desvios-padrão e a identificação da diferença significativa ($p < 0,001$).

No Gráfico 5, pode ser observada a média dos teores dos isômeros 13, 9-*cis* e *trans*-β-caroteno nas variedades de mandioca amarela mansa e brava, com os respectivos desvios-padrão.

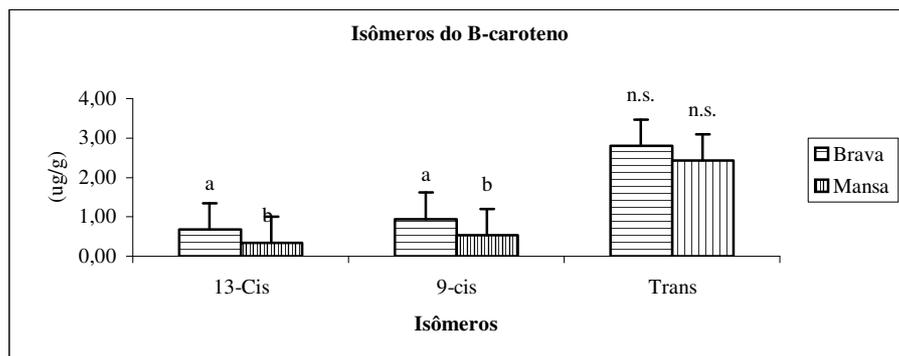


Gráfico 5. Teores médios dos isômeros 13, 9-*cis* e *trans*-β-caroteno (µg/g) das variedades mansas e bravas e as barras de erro correspondem aos desvios-padrão e a identificação da diferença significativa ($p < 0,001$) entre os cozimentos onde n.s. = não significativo.

Foi encontrada diferença significativa entre os teores do isômero 13-*cis*-β-caroteno (LSD= 25,19 a $p < 0,001$) e do 9-*cis*-β-caroteno (LSD = 11,27 a $p < 0,001$) entre as amostras de mandioca amarela mansa e brava. Porém, não foi encontrada diferença significativa entre os teores do isômero *trans*-β-caroteno (LSD = 0,59 a $p < 0,001$) das amostras.

Observou-se, nos cromatogramas obtidos das análises nas raízes de mandioca amarela brava (Figuras 16) que nos primeiros 10 minutos, após a injeção da amostra, a presença de picos de carotenóides que não o β-caroteno e seus isômeros sendo eles, provavelmente, carotenóides oxigenados como a luteína e a zeaxantina o que corrobora dados reportados por CORTÉS *et al.* (2004) onde os picos destes compostos foram observados em tempos de retenção inferiores a 10 minutos.

A presença de luteína e zeaxantina na mandioca foi também relatada por ASHLEY *et al.* (2003), RODRIGUEZ-AMAYA & KIMURA (2004) e KIMURA *et al.*, 2005. Cabendo salientar que a sua presença foi relatada sempre antes do pico do 13-*cis*-β-caroteno, independentemente da coluna e da fase móvel utilizada.

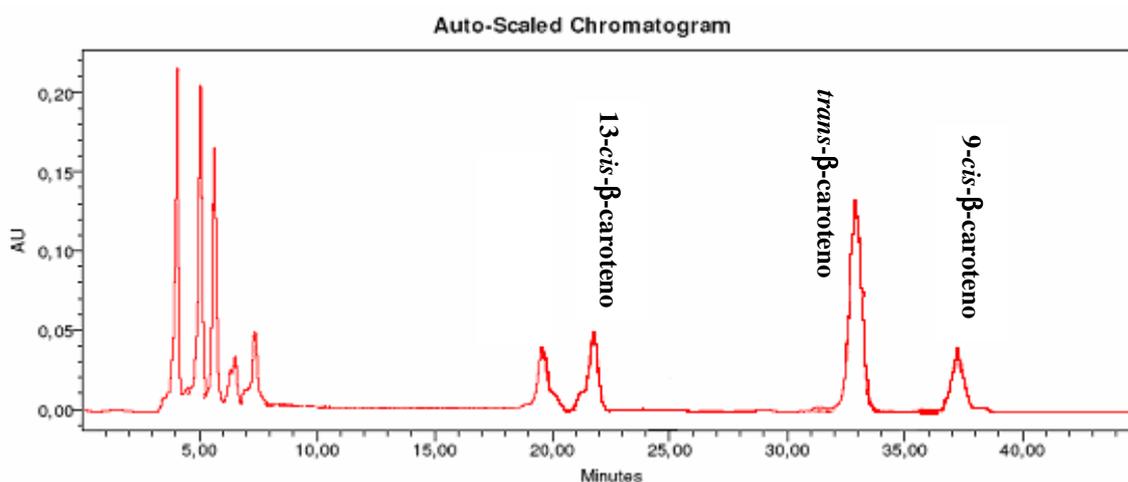


Figura 16. Cromatograma mandioca amarela brava - 1138 - IM 147

Enquanto que nos 10 min corridos a partir do início da análise, não se observou a presença dos mesmos picos, encontradas nas raízes de mandioca brava, de outros carotenóides nas raízes de mandioca amarela mansa (Figura 17).

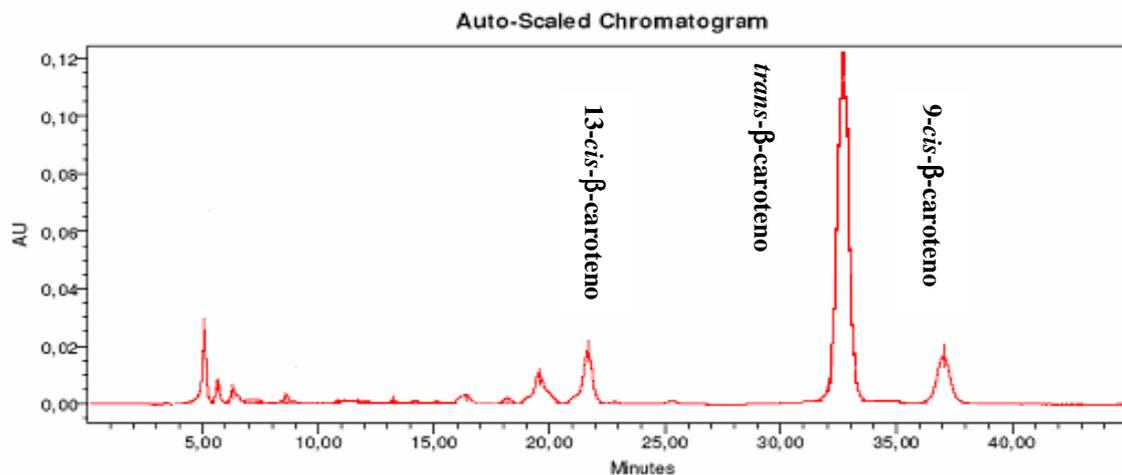


Figura 17. Cromatograma mandioca amarela mansa - 1692 – Dendê

A presente dissertação nos proporcionou um melhor entendimento sobre a variabilidade de carotenóides presentes nas raízes de mandioca amarela mansa ou brava, o que pode vir a auxiliar na escolha daquelas formas viáveis no combate à fome e à desnutrição para as populações de baixa renda no Brasil e no mundo proposta esta do *HarvestPlus* e do *Agrosalud*.

5 CONCLUSÕES

Os teores de carotenóides totais, 13 e 9-cis- β -caroteno diferiram significativamente entre os tipos de mandioca amarela mansa (11 amostras) e brava (12 amostras), porém sua composição em β -caroteno e *trans*- β -caroteno não diferiu significativamente, não apresentando qualquer relação de proporcionalidade entre eles.

Os teores de carotenóides totais nas raízes de mandioca amarela brava foram maiores, em quase todas as variedades, em relação aos encontrados na variedade mansa, porém a relação entre os carotenóides totais e β -caroteno nas amostras de mandioca mansa foi maior que naquelas de mandioca brava.

As variedades híbridas de mandioca amarela mansa se destacaram por apresentarem teores de carotenóides totais elevados, basicamente, de β -caroteno. Apontando um caminho para o melhoramento genético em relação aos carotenóides nas variedades de mandioca amarela.

O *Carotenoid colour strips* do *HarvestPlus*, utilizado para classificar com cores o teor de carotenóides totais nas raízes de mandioca, pode auxiliar na seleção de variedades com altos teores destes micronutrientes, porém observou-se que várias amostras com teores distintos foram encontraram-se em uma mesma referência de cor, não refletindo seu real teor.

Os maiores %RR em carotenóides totais foram obtidos no cozimento 2 (raiz totalmente coberta com água, cozida em panela tampada) e para o β -caroteno no cozimento 3 (raiz parcialmente coberta com água, cozida em panela tampada) e todos os 3 tipos de cozimento diferiram entre si, significativamente.

Na farinha, observou-se que a degradação total dos carotenóides ocorreu no 12º dia de armazenamento nas variedades 1757, 1751, 1740 e 1783 e no 19º dia, na variedade 1752. A cinética de degradação não revelou influência do tempo *versus* degradação de carotenóides totais embora tenha ocorrido redução destes teores durante o armazenamento.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAN, R., SCHIEBER, A., CARLE, R. Effects of heating and Illumination on *trans-cis* isomerization of β -caroteno and Lutein in Isolated Spinach Chloroplasts. **Journal Agricultural Food Chemical**, v. 53, p. 9512-9518, 2005.

ASHLEY, A., SCHWARTZ, S. J. Thermal Processing of Vegetables Increase *Cis* Isomers of Lutein and Zeaxantina. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 51 p. 6184-6190, 2003.

BAUERNFEIND, J. C., Carotenoid Vitamin A Precursors and Analogs in Foods and Feeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, n. 3 may/june, 1972.

BEDOYA, J. M. Determinación del Potencial Genético Respecto al Contenido de Provitamina A y Vitamina C en la Colección Nucleo de Yuca de CIAT. **Tesis Universidad Nacional de Colombia** (sede Palmira). 1999.

BEYER, P., AL-BABILIS, YEX, LUCCA P. SCHAUB, P. WELSCH, R., POTRYKUS, I. Golden Rice: Introducing the β -carotene Biosynthesis Pathway into Rice Endosperm by Genetic Engineering to Defeat Vitamin A Deficiency. **Journal of Nutrition** v.132, p.506S-510S, 2002.

BORGES, M. F., FUKUDA, W. M., ROSSETTI, A. G. Avaliação de Variedades de Mandioca para o Consumo Humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, V. 37, n. 11, p. 1559-1565, nov, 2002.

Brasil. **Resolução – RDC nº 130**, de 26 de maio de 2003.

Brasil. **Resolução – RDC nº 344**, de 13 de dezembro de 2002.

BRITTON, G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **FASEB J.** v. 9, p. 1551-1558, 1995.

BRUNORO, N. M. **Engenharia Genética Contribui para o Enriquecimento dos Alimentos**. Artigo do Departamento de Nutrição e Saúde. UFV, Viçosa, MG. 2005.

BULUX, J., SERRANO, J. Q., PEREZ, R., RIVERA, C., LOPEZ, C.Y., SOLOMONS, U. W. Studies on the Bioconversion and Bioavailability of β -caroteno in Guatemala School Children. **European Journal Clinical Nutrition**, London v.50, n. 3, p 876-877, 1996.

BUSHWAY, R. J., Determination of α - and β -carotene in Some Raw Fruits and Vegetables by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.34, p. 409-412, 1986.

BUTARELO, S. S., BELEIA, A., FONSECA, I. C. B., ITO, K. C. Hidratação de Tecidos de Raízes de Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz.) e Gelatinização do Amido durante a Cocção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24(3), p. 311-315, jul-set, 2004.

CARDOSO, E, L., C., HENRY, G., Novos e Velhos Determinantes do Preço da Mandioca no Brasil. **Revista Conjuntura e Planejamento** pág. 20-23. 2004.

CARVALHO, J. L. V. **Desenvolvimento de Produtos para o Público Alvo. In: Seminário do Programa de Biofortificação de Produtos Agrícolas para Melhor Nutrição Humana – HarvestPlus.** Brasília, 17 de março de 2005. CD.

CEBALLOS. Semi-Annual and Annual Progress Report. Disponível em <http://www.harvetplus.org>. 2005. *In press*.

CEREDA, M. P., VILPOUX, O. Caracterização dos Subprodutos da industrialização da Mandioca. In: **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**, Ed. Raíces, v. 04 – Manejo, Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca, cap. 04, p. 14-21. 2000a.

CEREDA, M. P., VILPOUX, O. Farinhas e Derivados. In: **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**, Ed. Raíces, v. 03 – Tecnologia, Usos e Potencialidades de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, cap. 20, p. 577-621. 2000.

CHARLES, A. L., SRIROTH, K. HUANG, T. Proximate Composition, Mineral Contents, Hydrogen Cyanide and Phytic acid of 5 Cassava Genotypes. **Food Chemistry**, v. 92, p. 615-620, 2005.

CHÁVEZ, A. L., BEDOYA, J. M., IGLESIAS, C., CEBALLOS, H., ROCA, W. Exploring the Genetic Potencial to Improve Micronutrients Content of Cassava. **Improving Human Nutrition Through Agriculture**. Los baños, Philipines. 1999. *In press*.

CHÁVEZ, A. L., SÁNCHEZ, T., CEBALLOS, H., RODRIGUEZ-AMAYA, D., NESTEL, P. TOHME, J. AND ISHITANI, M. **Retention of Carotenes in Cassava Roots upon Alternative Processing Methods**, 2002. *In press*.

CLYDESDALE F. M., FLEISCHMAN, D. L., FRANCIS, F. L. Maintenance of Color in Processed Green Vegetables. **J. Food Prod.** v. 4, p.127-130. 1970.

CORTÉS, C., ESTEVE, M. J., FRIGOLA, A. TERREGROSA, F. Identification and quantification of carotenóides including geometrical isomers in fruit and vegetables juices by liquid chromatography with ultraviolet-diode array detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, 2203-2212, 2004.

DEMMING-ADAMS, B., ADAMS III, W.W. Antioxidantes in photosynthesis and human nutrition. **Science**, v. 298, p.2149-2153, 2002.

DI MASCIO, P., MATOS, H. R., YAMAGUGHI, L. F., MIYAMOTO, S., MARQUES, S. A., MEDEIROS, M. H. G. **Carotenóides e Saúde: Mecanismo de Ação**. Quarto Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos. Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Brasil. 2001.

DIAS, C. A. C., LONGHI, A. A., LORENZI, J. O. **Mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) Manual Técnico das Culturas**. Campinas: CATI, n. 8, t. 1, p. 369-98, 1997.

DUTTA, D., RAYCHAUDHURI, U., CHAHRABORTY, R. Retention of β -caroteno in Frozen Carrots under Varying Conditions of Temperature and Time of Storage. **African Journal of Biotechnology** v. 4 (1), p. 103-103, January 2005.

ECHEVERRI, J., CHAVEZ, A. L., CALLE, F., CEBALLOS, H., ROCA, W. Exploring the Genetic Potential to Improve Micronutrient Content of Cassava. 2001. *In press*.

Embrapa, <http://www.cnpmtf.embrapa.br>, > Acesso em 30 de julho, 2005.

FAO http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/DOCREP/006/J2518E/J2518E.HTM, 2005. > Acesso em 24 de maio, 2005.

FENIMAN, C. M. **Caracterização de Raízes de Mandioca (*Manihot esculenta* Carntz) da Cultivar IAC 576-70 quanto à Cocção, Composição Química e Propriedades do Amido em duas Épocas de Colheita** – ESALQ/USP, Piracicaba-SP, p.83, 2004.

GABAS, A.L., TELIS-ROMERO, J., MENEGALLI, F.C. Cinética de degradação do ácido ascórbico em ameixas liofilizadas. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. v. 23 p. 66-70, 2003.

GAMA, J. J. T. , SYLOS, C. M. Major Carotenoid Composition of Brazilian Valencia Orange Juice: Identification e Quantification by HPLC. **Food Research International**, v.38, p. 899-903, 2005.

GAMEIRO, A.H. **Mandioca: De Alimento Básico à Matéria-prima Industrial**. USP/CPEA – Piracicaba-SP, 2002. *In press*.

GAYATHRI, G. N., PLATEL, K. PRAKASH, J. SRINIVASAN, K. Influence of antioxidante spices on the retention of β -carotene in vegetables during domestic cooking processes. **Food Chemistry**, v. 84, p. 35-43, 2004.

GIULIANO, G., GILIBETO, L., ROSATI, C. Carotenoid isomerase: a tale of light and isomers. **Trens in Plant Science**, v. 7, n.10, october, 2002.

GOODMAN, D. S., **American Journal Clinical Nutrition**, v.22, p.963. 1969.

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

HARVESTPLUS (Brasil). **Desenvolvendo Produtos Agrícolas mais Nutritivos**. Catálogo. Brasil. Junho, 2004.

HARVESTPLUS Program Partial Progress Report. **Improving the Nutritional Quality of Cassava Roots to Improve the Livelihoods of Farmers in the Northeast of Brasil from July to December, 2005**. *In press*.

HIANE, P. A., BOGO, D., RAMOS, M. I. L., RAMOS FILHO, M. M. Carotenóides Pró-vitamínicos A e Composição em Ácidos Graxos do Fruto e da Farinha do Bacuri (*Scheelea phalearata* Mart.) **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23(2), p.206-209, Campinas, maio-agosto, 2003.

IBGE 2006: <http://www.ibge.gov.br/indicadores/agropecuaria/produçãogrícola/tabelas/> . >
Acesso em: maio 2006.

IGLESIAS, C., MAYER, J., CHÁVEZ, A. L., CALLE, F. Genetic Potencial and Stability of Carotene Content in Cassava Roots. **Euphytica**, v. 94, p. 367-373, 1997.

IHL M. MONSLAVES M, BIFANI V. Chlorophyllase Inactivation as a Measure of Blanching Efficiency and Color Retention of Artichokes (*Cynara scolymus* L.). **Lebensm Wiss Techno**, v. 31, p.56, 1998.

JAARSVELD, P. J. V., MARAIS, D. W., NESTEL, P. RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Retention of β -carotene in Boiled, Mashed Orange-Fleshed Sweet Potato. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 4, n. 19, p. 321-329, 2006.

KIMURA, M. KOBORI, C. N., RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. NESTEL, P. Screening and HPLC methods for carotenoids in sweet potato, cassava and maize for plant breeding trials. **Food Chemistry**, 2005.

KIMURA, M., RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Sources of Errors in the Quantitative analysis of Food Carotenoids by HPLC. **Archivos LatinoAmericanos de Nutricion**, v. 49 n. 1-S. 1999.

LACKER, T., STROHSCHHEIN, S., ALBERT, K. Separation and identification of various Carotenóids by C₃₀ reverse-phase High-performace Liquid Chromatography coupled to UV and Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometric Detection. **Journal of Chromatography**, p. 37-44, 1999.

LESSIN, W. J.; CATIGANI, G. L.; SCHWARTZ, S. J. Quantification of *Cis-Trans* isomers of provitamin A carotenoids in Fresh and Processed Fruits and Vegetables. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 45, p. 3728-3732, 1997.

LIN, C. H., CHEN, B. H. Stability of Carotenoids in Tomato Juice during Processing. **European Food Research Technhology**, v. 221, p.274-280, 2005.

MADUAGWU, E.N., OKOROWKWO, C.O. AND OKAFOR, P.N., Occupational and Dietary Exposures of Humans to Cyanide Poisoning from large-scale Cassava Processing and Ingestion of Cassava Foods. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, p.1001–1005, 2002.

MARGIS, M. P. A Biotecnologia na Agricultura: O Melhoramento genético do Arroz. Rio de janeiro-RJ. **Conselho de Informação sobre Biotecnologia (CIB)**, 2000. *In press*.

MICRONUTRIENT INICIATIVE. Learning about Micronutrient Nutrition, v. 2: Vitamin A. ISBN I-894217-20-9 Canada, Ontario. 2002. © **The Micronutrient Initiative**, 2002.

MORENO ALVAREZ, M. J., BELÉN CAMACHO, D. R., TORREZ, V. degradación cinética de carotenoides obtenidos de frutos de *Carica papaya* L. **Rev. Fac. Agron.** v. 20, p. 232-237, 2003.

MURPHY E. W., CRINER, P. E., GRAY, B. C. Compararison of Methods for Calculating Retention of Nutrients in cooked foods. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.23, p. 1153-1157, 1975.

NODARI, R.O., GUERRA, M.P. Implicações dos Transgênicos na Sustentabilidade Ambiental e Agrícola. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, Rio de Janeiro, v.7, n.2, p.481-491, 2000.

OLSON, J. A., KRINSKY, N. I. Introduction: the colorful fascinating world od the carotenoids: Important physiologic modulators. **FASEB J.** v.9, p. 1547-1550, 1995.

ORTEGA-FLORES, C. I., LOPES DA COSTA, M. A., CEREDA, P., CAMARGO PENTEADO, M. V. Biodisponibilidade do β -caroteno da Folha Desidratada de Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz). **Ciência Tecnologia de Alimentos**, 23(3), p. 473-477, Campinas set-dez, 2003.

PEREIRA, M. E. C., FUKUDA, W. M. G., SILVA, R. P, BISPO, A. S. R., SANTOS, S. B., SILVA, A. S., NUTTI, M R., VIANA, J. L. C. **Quantificação de Carotenóides Totais em Raízes de Variedades de Mandioca Amarela e Rosa**. XI Congresso Brasileiro de Mandioca, 2005.

PÉREZ-GÁLVEZ, A., JARÉM-GALÁN, M., MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I. Impact of the Increased Thermal Processing on Retinol Equivalent Values of Paprika Oleoresins. **Journal Of Food Engineering**, 2004.

PINHEIRO-SANT'ANA, M. H., STRINGUETA P. C., BRANDÃO, S. C. C., PÁEZ H. H., QUEIRÓZ, V. M. V. Evaluation of Total Carotenoids, α - and β -carotene in Carrots (*Daucus carota* L.) During Home Processing. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.18 n.1 Campinas Jan./Abr. 1998.

PRONAF, 2006. http://www.pronaf.gov.br/quem_somos/perguntas.htm. Acessado em 26 de Setembro de 2006.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. & KIMURA, M. **HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis**. Washington, DC and Cali: IFPRI and CIAT, 58p. HarvestPlus Technical Monograph, 2). 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Latin American Food Sources of Carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 49 n 1-S. 1999.

RONCADA, M. S. Vitaminas Lipossolúveis. *apud* Dutra-de-Oliveira JE & Marchini JS. **Ciências Nutricionais**, Sarvier, São Paulo, p. 167-189. 1998.

ROSSO, V. V., MERCADANTE A. Z., Carotenoid Composition of Two Brazilian Genotypes of Acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) from Two Harvests. **Food Research International**, v. 38, p.1073-1077, 2005.

SÁ, M. C., RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Optimization of HPLC Quantification of Carotenoids in Cooked Green Vegetables – Comparison of analytical and calculated data. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.17, p.37-51, 2004.

SÁNCHEZ, T., CHÁVEZ, A. L., CEBALLOS, H., RODRIGUEZ-AMAYA, D. B., NESTEL, P. AND ISHITANI, M. Reduction or delay of post-harvest physiological deterioration in cassava roots with higher carotenoid content. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 86, p.634-639, 2006.

SCHIEBER, A, CARLE, R. Occurrence of Carotenoid *cis*-isomers in Food: Technological, Analytical and Nutritional Implications. **Trends in Food Science & Technology**, v.16, p. 416-422, 2005.

SCOTT, C. E., ELDRIDGE, A. L. Comparison of Carotenoids Content in Fresh, Frozen and Canned Corn. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p.551-559, 2005.

SEO, J. S., BURRI, B. J., QUAN, Z., NEIDLINGER, T. R., Extraction and Chromatography of Carotenoids from Pumpkin. **Journal of Chromatography** v.A, 1073, p. 371-375, 2005.

SETIAWAN, B., SULAEMAN, A., GIRAUD, D. W., DRISKELL, J. A. Carotenoid Content fo selected Indonesian Fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, p.169-176. 2001.

SKOOG, D.A., HOLLER, F. J., NIEMAN, , T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5º ed. Editora Bookman. Porto Alegre - Brasil, 2002.

STAHL, W., SIES, H. Bioactivity and Protective Effects of Natural Carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta** v. 1740, p. 101-107, 2005.

TANUMIHARDJO, S. A. Factors Influencing the Conversion of Ccarotenoids to Retinol: Bioavailability to Conversion to Bioefficacy. **Int. J. Vitam. Nutri Res. Bern**, v 72, n 1, 2002.

TAPIERO, H., TOWNSEND, D. M., TEW, K. D. The Role of Carotenoids in the Prevention of Human Pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy** v.58, p. 100-110, 2004.

TUMA, R.B. YUYAMA L. K. O., AGUIAR, J. P. L., MARQUES, H. O. Impacto da Farinha de Mandioca Fortificada com Ferro Aminoácido Quelato no Nível de Hemoglobina de Pré-escolares. **Revista Nutricional**, v. 16(1), p. 29-39, Campinas, jan./mar., 2003.

TSIMIDON, M and BILIADEISIS, C. G. Stability of saffon pigments in aqueous extracts. **Journal Food Science**, v. 45, p. 2890-2898, 1993.

VAN BOEKEL M.A.J.S.: WALSTRA, P. **Use of kinetics in studying heat-induced changes in foods**. IDF Mobograph Heat-induced changes in milk. 2nd edition. P.F. Fox (Ed.), Brussels, International Dairy Federation, 1995.

VITRAC, O., TRYSTRAM, G., RAOULT-WACK, A. Continous measurement of convectie heat flux during deep-frying: Validation and application to inverse modeling. **Journal of Food Engineering** v.60, p.111-124, 2003.

WHEATLEY, C.C. **Conservación de Raíces de Yuca en Bolsas de Pelietileno**. Cali. Centro Internacional de Agricultura Tropical, 33p serie: 0456-07-06. 1987. *In press*.

ZAKARIA-RUNGKAT, F., DJAELANI, M., SETIANA, RUMONDANG, E. AND NURROCHMAH. Carotenoid Bioavailability of Vegetables an Carbohydrate-containing Food Measured by Retinol Accumulation in Rat Livers. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.13, p. 297-310, 2000.

ZANCUL, M, S. Fortificação de Alimentos Com ferro e Vitamina A. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.37, p.45-50, jan/fev, 2004.

ZECHMEITER, L. Stereo-isomeric provitamin A. **Vitamins and Hormones**, v.7, p.57, 1949.