

Prospecção e Quantificação de Carotenoides em Frutos de Tucumã-do-Pará



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
139**

**Prospecção e Quantificação de Carotenoides
em Frutos de Tucumã-do-Pará**

*Laura Figueiredo Abreu
Trícia Noronha Cardoso
Kelly das Graças Fernandes Dantas
Maria do Socorro Padilha de Oliveira*

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, PA
2020

Disponível no endereço eletrônico: <https://www.embrapa.br/amazonia-oriental/publicacoes>

Embrapa Amazônia Oriental
Tv. Dr. Enéas Pinheiro, s/n
CEP 66095-903, Belém, PA
Fone: (91) 3204-1000
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicação

Presidente
Bruno Giovany de Maria

Secretária-Executiva
Ana Vânia Carvalho

Membros
Alfredo Kingo Oyama Homma, Alysson Roberto Baizi e Silva, Andréa Liliane Pereira da Silva, Luciana Gatto Brito, Michelliny Pinheiro de Matos Bentes, Narjara de Fátima Galiza da Silva Pastana, Patrícia de Paula Ledoux Ruy de Souza

Supervisão editorial e revisão de texto
Narjara de Fátima Galiza da Silva Pastana

Normalização bibliográfica
Andréa Liliane Pereira da Silva

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Tratamento de fotografia e editoração eletrônica
Vitor Trindade Lôbo

Foto da capa
Maria do Socorro Padilha de Oliveira

1ª edição
Publicação digitalizada (2020)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Amazônia Oriental

Prospecção e quantificação de carotenoides em frutos de tucumã-do-Pará / Laura Figueiredo Abreu... [et al.]. – Belém, PA : Embrapa Amazônia Oriental, 2020.
23 p. ; 16 cm x 22 cm. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Amazônia Oriental, ISSN 1983-0483 ; 139).

1. Tucumã. 2. *Astrocaryum vulgare*. 3. Carotenoide. 4. Pigmento. 5. Banco de germoplasma. I. Abreu, Laura Figueiredo. II. Embrapa Amazônia Oriental. III. Série.

CDD 634.65

Sumário

| | |
|------------------------------|----|
| Resumo | 5 |
| Abstract | 7 |
| Introdução..... | 8 |
| Material e Métodos | 14 |
| Resultados e Discussão | 17 |
| Conclusões..... | 21 |
| Referências | 21 |

Prospecção e Quantificação de Carotenoides em Frutos de Tucumã-do-Pará

Laura Figueiredo Abreu¹

Tricia Noronha Cardoso²

Kelly das Graças Fernandes Dantas³

Maria do Socorro Padilha de Oliveira⁴

Resumo – Os frutos de tucumã-do-pará vêm se destacando quantitativamente como uma importante fonte de carotenoides, contudo, a variabilidade entre indivíduos conservados em banco de germoplasma indicam também, em razão das tonalidades de cores observadas, uma diferença qualitativa desses compostos. O objetivo do trabalho foi prospectar e quantificar carotenoides da parte comestível de frutos de tucumã-do-pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.). Foram utilizadas 18 amostras de frutos provenientes de palmeiras do banco de germoplasma de tucumã (BAG-Tucumã) da Embrapa Amazônia Oriental para análise de carotenoides por espectrofotometria (UV/VIS). A prospecção considerou os espectros de absorção característicos de cada carotenoide, aliados aos dados disponíveis na literatura, e a quantificação foi expressa em equivalente de β -caroteno. Foram observados diferentes valores de comprimentos de onda máximos e de perfil espectral, sugerindo a presença de outros carotenoides, além do β -caroteno. A concentração de carotenoides totais variou significativamente de 15 $\mu\text{g/g}$ a 300 $\mu\text{g/g}$. Todos os frutos de casca e polpa amarela analisados apresentaram absorção característica em comprimentos de onda máximos menores ou iguais a 440 nm, enquanto nos frutos de cor laranja houve predominância de absorção em 450 nm. Os

¹ Química industrial, doutora em Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA

² Bacharel em Química, mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém, PA

³ Bacharel em Química, doutora em Química Analítica, professora da Universidade Federal do Pará, Belém, PA

⁴ Engenheira-agrônoma, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA

acessos do BAG-Tucumã figuram como uma fonte promissora e regular de material para enriquecimento de produtos com pigmentos naturais pró-vitamínicos A e antioxidantes, e para produção e disponibilização de padrões analíticos de β -caroteno e seus isômeros.

Termos para indexação: *Astrocaryum vulgare* Mart., banco de germoplasma, pigmentos, antioxidantes.

Prospection and Quantification of Carotenoids from Awara Palm Fruits

Abstract – The awara palm fruits have been highlighted quantitatively as an important source of carotenoids, however, the variability among individuals preserved in germplasm bank also indicates a qualitative difference of these compounds. The objective of this work was to prospect and quantify carotenoids of the edible part of awara (*Astrocaryum vulgare* Mart.) fruits. Eighteen fruit samples from germplasm bank palms were used for the analysis of carotenoids by spectrophotometry (UV/VIS). Prospecting considered as the characteristic absorption spectra of each carotenoid, combined with data available in the literature and quantification, was expressed in equivalent of β -carotene. Different values of maximum wavelengths and spectral profile were observed, suggesting the presence of other carotenoids besides β -carotene. The total carotenoid concentration ranged from 15 $\mu\text{g/g}$ to 300 $\mu\text{g/g}$. All fruits of yellow peel and pulp analyzed showed characteristic absorption at maximum wavelengths less than or equal to 440 nm, while in orange fruits there was a predominance of 450 nm. The results indicate that BAG-Tucumã can be a promising and regular source of material for enrichment of products with natural pro-vitamin A pigments and antioxidants, and for the production and availability of standards for analysis of β -carotene and its isomers.

Index terms: *Astrocaryum vulgare* Mart., germplasm bank, pigments, antioxidants.

Introdução

O tucumã-do-pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.) é uma palmeira nativa da Amazônia, amplamente distribuída no norte da América do Sul e da América Central. Os frutos são popularmente utilizados na alimentação humana e animal, para produção de polpa, sorvetes, picolés, sucos e óleos, apresentando uma reduzida exploração industrial (Cavalcante, 1991; Shanley, Medina, 2005; Oliveira et al., 2015).

A parte comestível (epicarpo e mesocarpo) é rica em ácidos graxos, fibras e carotenoides (Ferreira et al., 2008). Por isso, os extratos insaponificáveis e os óleos, tanto da polpa quanto das cascas, vêm sendo estudados quanto às suas propriedades antioxidantes, nutricionais e farmacológicas (Santos et al., 2015a; Oliveira et al., 2018).

O óleo da polpa de tucumã possui propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes que foram relacionadas principalmente aos altos teores de carotenoides, além do ácido oleico e outros bioativos minoritários (Bony et al., 2012). O óleo também é considerado um composto natural promissor com ação protetora contra diabetes e seus efeitos colaterais, capaz de melhorar as defesas antioxidantes enzimáticas, prevenindo a peroxidação lipídica do tecido pancreático, além do efeito hipoglicêmico (Baldissera et al., 2017a, 2017b, 2018). Rossato et al. (2019) detectaram atividade antimicrobiana do óleo de tucumã contra cinco importantes bactérias, quatro gram positivas (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus agalactiae*) e uma gram negativa (*Acinetobacter baumannii*). Souza Filho et al. (2013) demonstraram o efeito genoprotetor do óleo de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) sob o DNA, relacionando-o ao elevado conteúdo de compostos antioxidantes, como o carotenoide β -caroteno.

A espécie está listada entre as mais ricas fontes naturais brasileiras de carotenoides, juntamente ao buriti (*Mauritia vinifera*), dendê (*Elaeis guineenses*), macaúba/bocaiúva (*Acrocomia aculeata*), pupunha (*Bactryx gasipaes*), tucumã-do-amazonas (*A. aculeatum*), bacuri/ouricuri (*Scheelea phalerata*) e umari (*Poraqueiba sericea*) (Rosso; Mercadante, 2007; Rodriguez-Amaya et al., 2008; Santos et al., 2015b).

Os carotenoides são pigmentos responsáveis pelas cores amarela, laranja e vermelha de vegetais. Além de outras funções biológicas, alguns

deles apresentam propriedades pró-vitamínicas A, como β -caroteno, β -criptoxantina, α -caroteno e β -zeacaroteno, enquanto outros têm destacada ação antioxidante (capacidade de supressão de espécies reativas do oxigênio e desativação de radicais livres), como zeaxantina, violaxantina, neoxantina e fitoeno (Rodríguez-Amaya et al., 2008). Devido a essas propriedades, são capazes de reduzir o risco do desenvolvimento de doenças degenerativas como câncer, doenças cardiovasculares e formação de cataratas (Subczynski et al., 1991; Krinsky et al., 2004; Krinsky; Jonhson, 2005; Campbell et al., 2007; Engelmann et al., 2011).

Dessa forma, é crescente o interesse por essas substâncias com aplicabilidade em diferentes indústrias, tanto como pigmento quanto como suplementos de alimentos, rações, fármacos e cosméticos. Além da origem natural, podem ser produzidos por via biotecnológica e sintética, atingindo valores de mercado expressivos. Estima-se que o mercado mundial de carotenoides movimente mais de 1 bilhão de dólares por ano (Mesquita et al., 2017).

Os carotenoides são tetraterpenoides (C_{40}) com um sistema extenso de ligações duplas conjugadas, ao qual se denomina de cromóforo, responsável por suas cores características, propriedades e funções especiais. Mais de 650 carotenoides naturais já foram isolados e caracterizados, dos quais cerca de cem têm sido relatados em alimentos. O β -caroteno é o de ocorrência mais comum, seguido por α -caroteno, zeaxantina, violaxantina, neoxantina e β -criptoxantina (Rodríguez-Amaya, 2001; Schwartz et al., 2010).

Os frutos e óleos de duas espécies de tucumã – *A. vulgare* e *A. aculeatum* – podem ter um perfil de carotenoides bem diverso, com mais de 20 carotenoides detectados (Tabela 1), indicando os isômeros de β -caroteno como majoritários, com mais de 60% do total, em que o epicarpo concentra mais carotenoides que o mesocarpo (Rosso; Mercadante, 2007; Ferreira et al., 2008; Rodríguez-Amaya et al., 2008; Santos et al., 2015b; Matos et al., 2019). O óleo da polpa, ou azeite de tucumã, extraído da parte comestível do fruto (epicarpo e mesocarpo), chega a apresentar teores acima de mil microgramas por grama, maiores que de alguns óleos de palma, que tem cerca de 500 $\mu\text{g/g}$ a 700 $\mu\text{g/g}$ (Oboh; Oderinde, 1988; Sambanthamurthi et al., 2000; Damasceno; Batista, 2009; Bony et al., 2012; Santos et al., 2015b).

Tabela 1. Carotenoides identificados e carotenoides totais (CT) na polpa e no óleo de frutos de tucumã em diferentes estudos.

| Amostra | Técnica ⁽¹⁾ | Principais carotenoides sugeridos | CT (ug/g) |
|--|------------------------|---|-----------|
| Mesocarpo – Tucumã-do-Pará (<i>Astrocaryum vulgare</i>) ⁽²⁾ | HPLC-DAD | all- <i>trans</i> -β-caroteno (99), all- <i>trans</i> -α-caroteno (2,5) | 102 |
| Mesocarpo – Tucumã-do-amazonas (<i>Astrocaryum aculeatum</i>) ⁽³⁾ | HPLC-DAD-MS/MS | all- <i>trans</i> -β-caroteno (47,36), all- <i>trans</i> -α-caroteno (1,68), <i>trans</i> -β-criptoxantina (1,64), 13- <i>cis</i> -β-caroteno (1,60), <i>trans</i> -α-criptoxantina (1,30), zeinoxantina (1,02), <i>trans</i> -luteína (0,79), <i>cis</i> -Y-caroteno 3 (0,89), 15- <i>cis</i> -β-caroteno (0,80), 5,8-epoxi-β-caroteno (0,76), <i>cis</i> -β-zeacaroteno (1,25), all- <i>trans</i> -δ-caroteno (0,52), all- <i>trans</i> -β-zeacaroteno (0,44), all- <i>trans</i> -Y-carotene (0,35), all- <i>trans</i> -neoxantina (0,26), <i>cis</i> -violaxantina (0,24), <i>cis</i> -neoxantina (0,18), all- <i>trans</i> -zeaxantina (0,16), all- <i>trans</i> -ξ-carotene (0,14), <i>cis</i> -luteína (0,04) | 63 |
| Epicarpo – Tucumã-do-Pará (<i>A. vulgare</i>) ⁽⁴⁾ | HPLC-DAD-MS/MS | all- <i>trans</i> -β-caroteno (78), all- <i>trans</i> -Y-carotene (2,6), <i>cis</i> -Y-caroteno (0,8), all- <i>trans</i> -δ-caroteno (0,3). | 115 |
| Óleo de Tucumã-do-Pará (<i>A. vulgare</i>) ⁽⁵⁾ | HPLC-DAD-MS | all- <i>trans</i> -β-caroteno (747,7), 13- <i>cis</i> -β-caroteno (202,9), ξ-caroteno (151,4), fitoeno (133,9), zeacaroteno mistura (72,2), <i>cis</i> -fitoflueno (61,7), all- <i>trans</i> -α-caroteno (40,4), 15- <i>cis</i> -β-caroteno (36,2), Y-caroteno (32,9), all- <i>trans</i> -fitoflueno (9,3), <i>cis</i> -α-caroteno (6,0), all- <i>trans</i> -δ-caroteno (5,1), <i>cis</i> -δ-caroteno (1,5) | 1.637 |
| Óleo de Tucumã-do-Pará (<i>A. vulgare</i>) ⁽⁶⁾ | HPLC-DAD | β-caroteno (567,08), <i>cis</i> -β-caroteno (230,92), neoaxantina (76,08), <i>cis</i> -Y-caroteno (75,87), Y-caroteno (68,02), luteína (44,34), α-caroteno (29,21), 5,8-epoxi-β-caroteno (27,25), luteoxantina (16,13), β-criptoxantina (14,43), violaxantina (13,53), <i>cis</i> -violaxantina (12,80), <i>cis</i> -luteína (12,57) | 1.222 |

⁽¹⁾HPLC: cromatografia de alta eficiência; DAD: detector de arranjo de diodos; MS: espectrometria de massas.

⁽²⁾Rodríguez-Amaya et al. (2008), ⁽³⁾Rosso e Mercadante (2007), ⁽⁴⁾Matos et al. (2019), ⁽⁵⁾Bony et al. (2012),

⁽⁶⁾Santos et al. (2015b).

Como as plantas são capazes de sintetizar carotenoides constantemente, a composição destes nos vegetais é enriquecida pela presença de determinadas quantidades de precursores das rotas de biossíntese, juntamente com derivados dos componentes principais (Rodríguez-Amaya, 2001). As rotas estão resumidamente demonstradas na Figura 1.

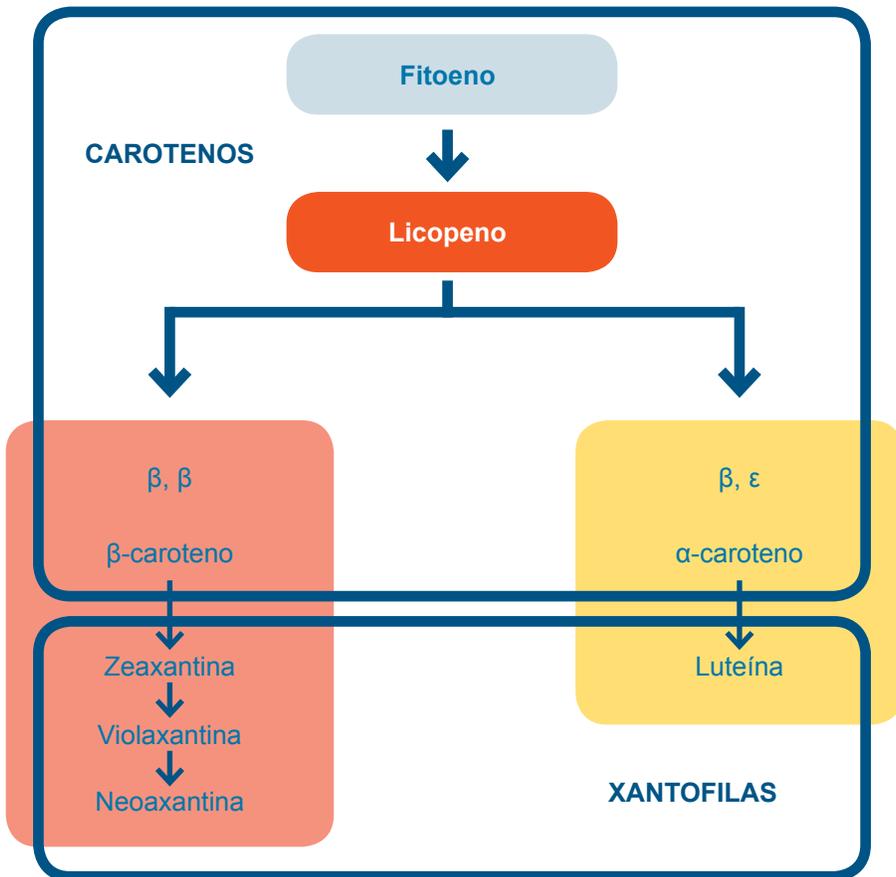


Figura 1. Esquema resumido das rotas β,ϵ e β,β de biossíntese de carotenoides. Fonte: Adaptado de Ruiz-Sola e Rodríguez-Concepción (2012).

Da perda de saturação e isomerização do fitoeno resulta a produção de licopeno (vermelho). Com a ciclização das extremidades da sua cadeia de licopeno, surge o primeiro ponto de ramificação da rota, resultando na produção de carotenos com um anel β e um anel ϵ (α -caroteno) ou com dois anéis β (β -caroteno), gerando assim as rotas de biossíntese conhecidas como β, ϵ (α -caroteno) e β, β (β -caroteno). Xantofilas, como a luteína (do α -caroteno) e a zeaxantina (do β -caroteno), são geradas pela hidroxilação dos anéis de caroteno, enquanto a zeaxantina é epoxidada duas vezes para produzir violaxantina, que pode produzir neoxantina (Figura 1). Esses carotenos e xantofilas podem sofrer mais modificações, resultando na grande diversidade de carotenoides encontrados nos vegetais (Britton, 1995; Walter; Strack, 2011; Ruiz-Sola; Rodríguez-Concepción, 2012). Para que tenha propriedade pró-vitáminica A, é necessário que o carotenoide tenha pelo menos um anel β intacto e não oxigenado e uma cadeia lateral de no mínimo 11 carbonos (Rodríguez-Amaya, 2001).

Além da ocorrência natural, uma série de fatores pode interferir na correta identificação e quantificação desses compostos, como maturação, procedimento de análise e reagentes, demandando técnicas específicas. Em espectros de absorção, na região do ultravioleta e visível, o comprimento de onda máximo de absorção (λ_{\max}) e a estrutura fina espectral (%III/II) são característicos de cada cromóforo (Figura 2). Contudo, devido à sua natureza complexa e à diversidade desses compostos, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detectores de matriz de diodos (DAD) e espectrômetro de massas (MS), juntamente ao uso de padrões analíticos e reações químicas de confirmação, são necessários para obtenção de resultados exatos e confiáveis. São considerados desafios analíticos especiais quando ésteres, isômeros cis/trans e ópticos precisam ser separados e identificados (Schwartz et al., 2010). Assim, atualmente, a análise de espectros de absorção não é mais utilizada isoladamente para fins de identificação definitiva. Contudo, ainda é uma técnica clássica viável para análise quantitativa, quando o carotenoide majoritário é conhecido (Rodríguez-Amaya, 2001; Biehler et al., 2010). Pode servir também de base para prospecções preliminares na seleção de materiais genéticos superiores e estudos analíticos mais aprofundados.

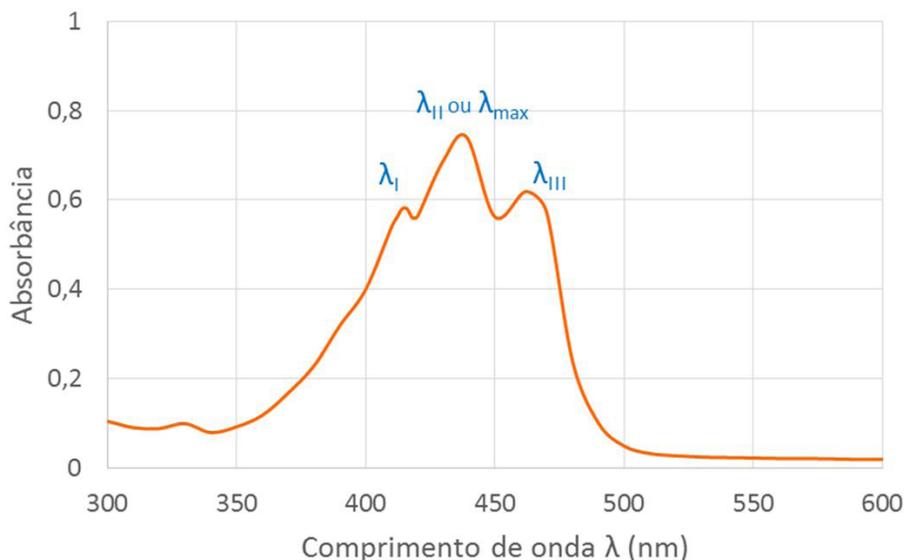


Figura 2. Representação esquemática da posição dos comprimentos de onda máximo (λ_{II} ou λ_{max}), I e III (λ_I e λ_{III}), na estrutura do espectro de absorção de um carotenoide.

Um dos fatores que se apresenta como grave empecilho à pesquisa analítica de carotenoides é a limitada disponibilidade comercial de padrões nos países em desenvolvimento, aliada à sua instabilidade e ao seu alto custo. Fontes naturais de carotenoides de procedência conhecida podem ter uma aplicação para fins de produção de padrões, agregando valor a essas matérias-primas (Rodriguez-Amaya et al., 2008; Pacheco, 2009).

A Embrapa Amazônia Oriental possui um banco de germoplasma de tucumanzeiros (BAG-Tucumã) cujas plantas se encontram em plena fase reprodutiva, permitindo a realização de atividades de avaliação e de caracterização, essenciais para a prospecção de novas moléculas e como subsídios ao melhoramento genético. Nesse banco de germoplasma, observa-se grande variação de caracteres qualitativos nos frutos, como a coloração do mesocarpo e do epicarpo, com predominância de frutos de cor laranja (60% e 80%), seguido de vermelhos (16% e 32%) e amarelos (2,7% e 3,6%), sugerindo a ocorrência de diferentes tipos e/ou concentrações de carotenoides e, conseqüentemente, de suas propriedades (Oliveira et al., 2015). Damasceno e Batista (2009) obtiveram, além do β -caroteno (447 nm), espectros característicos de α -caroteno (443 nm), δ -caroteno (456 nm) e

fitoflueno (331 nm/347 nm/366 nm), utilizando separação por cromatografia em coluna aberta e UV/VIS, em azeite de acessos de tucumãs provenientes do BAG.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi prospectar e quantificar os carotenoides presentes na parte comestível de frutos de tucumã-do-pará de alguns acessos conservados no banco de germoplasma de tucumã da Embrapa Amazônia Oriental, como subsídio para valorização dessa espécie.

Material e Métodos

Material

Foram colhidas amostras de 2 kg de frutos maduros e íntegros de 18 acessos (Figura 3 e Tabela 2) de tucumã provenientes do banco de germoplasma de tucumã da Embrapa Amazônia Oriental (BAG-Tucumã), localizado no Marco 15, base física da sede da unidade em Belém, PA (01°27' S; 48°30' W; 10 m) (Autorização AA9B4F2). Os cachos foram colhidos, em média, 8 meses após a abertura da bráctea e exposição da inflorescência, período este em que ocorre a completa maturação dos frutos (Lopes; Oliveira, 2013). Após a colheita, os frutos foram transportados em sacos de polietileno até o Laboratório de Agroindústria da Embrapa Amazônia Oriental.

Fotos: Maria do Socorro Padilha de Oliveira



Figura 3. Frutos de tucumã de cascas amarela e laranja.

Tabela 2. Identificação das amostras obtidas de 18 acessos de tucumã-do-pará (*Astrocaryum vulgare*) no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental.

| Amostra | Cor da casca | Acesso | Procedência |
|---------|--------------|--------|----------------------|
| 1 | Laranja | 2-4 | Marudá, PA |
| 2 | Laranja | 4-5 | Curuçá, PA |
| 3 | Laranja | 4-6 | Curuçá, PA |
| 4 | Laranja | 5-5 | Magalhães Barata, PA |
| 5 | Laranja | 6-4 | Maracanã, PA |
| 6 | Amarelo | 8-5 | Primavera, PA |
| 7 | Amarelo | 8-6 | Primavera, PA |
| 8 | Laranja | 12-3 | Salinópolis, PA |
| 9 | Laranja | 14-1 | Salinópolis, PA |
| 10 | Laranja | 16-4 | Salinópolis, PA |
| 11 | Laranja | 20-4 | Bragança, PA |
| 12 | Amarelo | 20-5 | Bragança, PA |
| 13 | Amarelo | 20-6 | Bragança, PA |
| 14 | Laranja | 20-7 | Bragança, PA |
| 15 | Laranja | 21-6 | Bragança, PA |
| 16 | Laranja | 23-2 | Capitão Poço, PA |
| 17 | Laranja | 26-6 | Soure, PA |
| 18 | Amarelo | 32-3 | Santa Inês, MA |

De cada acesso, foram retirados dez frutos ao acaso, dos quais a parte comestível (polpa+casca) foi obtida por despulpamento manual, com auxílio de facas de aço inoxidável e, posteriormente, homogeneizada em moinho analítico (IKA, Mod. A11 basic) para a retirada de porções de 4 g a 6 g para análise em duplicata. Após maceração com celite, os carotenoides foram extraídos exaustivamente com acetona e foi realizada partição em éter de petróleo (Davies, 1976; Rodriguez-Amaya, 2001).

A tentativa de prospecção de possíveis carotenoides foi realizada pela análise de espectros de absorção com seus comprimentos de onda máximos característicos ($\lambda_{\text{máx}}$) e perfil espectral (Tabela 3).

Tabela 3. Comprimentos de onda característicos de carotenoides em éter de petróleo.

| Carotenoide | λ_I | $\lambda_{m\acute{a}x}$ | λ_{III} |
|------------------------|-------------|-------------------------|-----------------|
| β -caroteno | 425 | 450 | 477 |
| β -criptoxantina | 425 | 449 | 476 |
| Zeaxantina | 424 | 449 | 476 |
| α -caroteno | 422 | 444 | 473 |
| Violaxantina | 416 | 440 | 465 |
| Neoxantina | 416 | 438 | 467 |
| β -Zeacaroteno | 406 | 428 | 454 |
| Fitoflueno | 331 | 348 | 367 |
| Fitoeno | 276 | 286 | 297 |

Fonte: Rodriguez-Amaya (2001).

Utilizou-se o modo varredura na região UV/VIS, de 250 nm a 700 nm, em espectrofotômetro (Thermo Scientific, modelo Evolution 300 BB UV/VIS). Para a quantificação foram utilizados valores de coeficiente de absorção específico do β -caroteno em éter de petróleo, em 450 nm, e calculado pela Equação 1.

$$\text{Carotenoides totais } (\mu\text{g/g}) = (A \cdot V \cdot 10^4) / (E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot P) \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

A = absorvância máxima a 450 nm.

V = volume do extrato carotenoide (mL).

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de absorção específico do β -caroteno (2.592) em éter de petróleo.

P = massa da amostra fresca (g).

Análise Estatística

Inicialmente, por meio de análise descritiva, a normalidade dos dados foi avaliada utilizando-se o teste Kolmogorov-Smirnov, a 5% de significância. Em seguida, de acordo com os resultados da análise descritiva, foram submetidos à análise de variância (Anova) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando o programa Statística® versão 5.0.

Resultados e Discussão

Analisando-se os espectros obtidos (Figura 4), foi constatado que 17 amostras apresentaram absorção na região do visível, entre 400 nm e 480 nm e apenas uma amostra (26.6), procedente de Soure, PA (Tabela 2), apresentou picos tanto na região do ultravioleta, entre 270 nm e 370 nm, quanto visível, entre 400 nm e 460 nm.

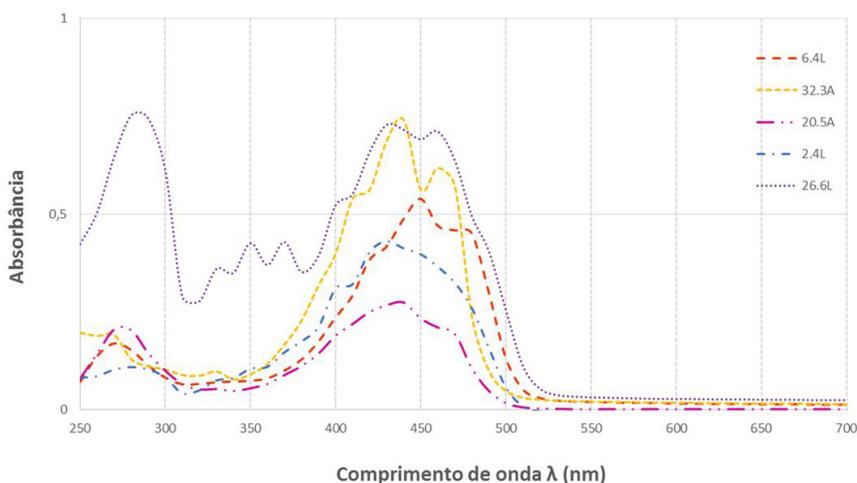


Figura 4. Representação gráfica dos diferentes espectros de absorção, obtidos a partir dos extratos brutos (éter de petróleo) da parte comestível de frutos de tucumã-do-pará.

Metade das amostras apresentou valores de $\lambda_{\text{máx}}$ iguais a 450 nm, indicativo do β -caroteno (Tabela 4). A β -criptoxantina e zeaxantina possuem espectros de absorção idênticos ao do β -caroteno, sendo possível a presença destes, simultaneamente (Rodríguez-Amaya, 2001). De acordo com Bony et al. (2012) e Santos et al. (2015b), foram identificados mais de 18 carotenoides no óleo da polpa de tucumã, em que a forma trans do β -caroteno foi a majoritária (567 $\mu\text{g/g}$ a 747 $\mu\text{g/g}$), representando em média 46% do total de carotenoides. Foi identificada a presença de β -criptoxantina em óleo da polpa de tucumã, com 14,43 $\mu\text{g/g}$ (Santos et al., 2015b). Em polpa de buriti, que é similar à de tucumã, a zeaxantina é o terceiro principal carotenoide, com 20 $\mu\text{g/g}$ (Rodríguez-Amaya et al., 2008). Na maioria dos alimentos, quando presente, a zeaxantina é um dos carotenoides minoritários, com exceção do milho e do pequi (*Caryocar villosum*) (Rodríguez-Amaya, 2001).

De uma maneira geral, os acessos apresentaram diferença significativa entre si quanto ao teor de carotenoides totais, entre 15 $\mu\text{g/g}$ e 300 $\mu\text{g/g}$ (b.u.). Seis acessos apresentaram teores maiores do que os reportados na literatura, entre 235 $\mu\text{g/g}$ e 300 $\mu\text{g/g}$, tanto em relação à polpa e à casca de frutos da mesma espécie (101 e 133 $\mu\text{g/g}$), quanto em relação à pupunha (198 $\mu\text{g/g}$) (Rosso; Mercadante, 2007; Rodriguez-Amaya et al., 2008; Ferreira et al., 2018; Matos et al., 2019). Por sua vez, 14 acessos apresentaram teores maiores que os da espécie *A. aculeatum* (63 $\mu\text{g/g}$) (Rosso; Mercadante, 2007).

Tabela 4. Comprimentos de onda máximos ($\lambda_{\text{máx}}$) e estimativa de concentração de carotenoides totais expressa em β -caroteno (CT β), da parte comestível de frutos de tucumã-do-pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.).

| Acesso | Cor do fruto | CT β ($\mu\text{g/g}$) | $\lambda_{\text{máx}}$ (nm) |
|--------|--------------|--------------------------------|-----------------------------|
| 20-7 | Laranja | 300,04 \pm 12,94 A | 440 |
| 16-4 | Laranja | 274,41 \pm 40,89 A | 440 |
| 4-6 | Laranja | 273,39 \pm 8,92 A | 450 |
| 14-1 | Laranja | 252,30 \pm 22,32 A | 450 |
| 2-4 | Laranja | 237,82 \pm 2,68 A | 428 |
| 20-4 | Laranja | 235,86 \pm 8,62 A | 450 |
| 12-3 | Laranja | 124,64 \pm 19,96 a | 450 |
| 4-5 | Laranja | 97,96 \pm 7,43 b | 450 |
| 8-5 | Amarelo | 86,22 \pm 0,80 bc | 440 |
| 20-6 | Amarelo | 83,76 \pm 1,62 bc | 440 |
| 26-6 | Laranja | 77,63 \pm 1,98 bc | 428 |
| 23-2 | Laranja | 74,08 \pm 1,58 bcd | 450 |
| 5-5 | Laranja | 65,55 \pm 2,47 cd | 450 |
| 32-3 | Amarelo | 64,55 \pm 1,94 cd | 440 |
| 8-6 | Amarelo | 56,76 \pm 1,44 d | 440 |
| 6-4 | Laranja | 51,32 \pm 5,47 d | 450 |
| 21-6 | Laranja | 24,83 \pm 1,67 e | 450 |
| 20-5 | Amarelo | 15,41 \pm 0,14 e | 438 |

Resultados expressos como média \pm desvio padrão, de duas repetições de extração, em base úmida. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Médias com letras minúsculas iguais, analisadas separadamente, igualmente não diferem significativamente, de acordo com Tukey, a 5% de probabilidade.

Observou-se também a ocorrência de diferentes comprimentos de onda máximos ($\lambda_{\text{máx}}$) (Tabela 4) nas amostras, sugerindo concentrações expressivas de outros carotenoides, além do β -caroteno. Seis amostras apresentaram $\lambda_{\text{máx}}$ igual a 440 nm (20-7, 16-4, 8-5, 20-6, 32-3 e 8-6), duas a 428 nm (2-4 e 26-6) e uma a 438 nm (20-5). Mambrim e Barrera-Arellano (1997) também detectaram um $\lambda_{\text{máx}}$ de 445 nm em azeite de tucumã (*A. vulgare*).

A simples observação dos espectros de absorção não oferece subsídios suficientes para identificação, pois os deslocamentos espectrais, batocrômicos ou hipsocrômicos, para $\lambda_{\text{máx}}$ maiores ou menores, respectivamente, podem sofrer influência de compostos presentes na mistura, principalmente por se tratar de extratos brutos. Esse fato também pode interferir na estrutura espectral fina, causando redução na definição das bandas (λ_{II} e λ_{III}) (Rodríguez-Amaya, 2001). Contudo, comparativamente, o comportamento dos espectros obtidos demonstra algo diferenciado no perfil de carotenoides desses acessos, merecendo um aprofundamento analítico em estudos posteriores.

De acordo com Britton (1995) e Daves (1976), dentre os carotenoides que absorvem em $\lambda_{\text{máx}}$ entre 438 nm e 440 nm, em éter de petróleo, estão violaxantina, neurosporeno, neoaxantina e luteína-5-6-epoxi, e próximo de 428 nm o β -zeacaroteno e a mutatoxantina. Considerando-se um deslocamento espectral maior, outros carotenoides que absorvem em $\lambda_{\text{máx}}$ próximos a 444 nm são o α -caroteno e a luteína. São carotenoides característicos por conferir coloração amarela, que corresponde a cinco acessos analisados (8-5, 20-6, 32-3, 8-6 e 20-5). Um dos diferenciais do presente estudo foi a análise de um maior número de amostras da parte comestível de frutos de tucumã-do-pará, não somente de coloração laranja como também, pela primeira vez, da cor amarela, o que pode justificar algumas possíveis variações espectrais em relação à literatura.

A maioria dos carotenoides citados já foram identificados em polpas e óleos de tucumã (Tabela 1), com exceção do neurosporeno, da luteína-5-6-epoxi e da mutatoxantina, a qual foi identificada no óleo de bacaba, com 0,17 $\mu\text{g/g}$ (Santos et al., 2015b).

Santos et al. (2015b) identificaram, em óleo de tucumã, violaxantina (13,53 $\mu\text{g/g}$) e cis-violaxantina (12,80 $\mu\text{g/g}$). Dentre as frutas, apenas em mangas da variedade Tommy Atkins, foram reportados teores consideráveis de violaxantina (36 $\mu\text{g/g}$) (Rodríguez-Amaya et al., 2008). A neoaxantina foi

identificada como o terceiro carotenoide majoritário presente no óleo de frutos de tucumãs do estado do Amapá, com 76 $\mu\text{g/g}$ (Santos et al., 2015b). O tucumã-do-amazonas (*A. aculeatum*) foi o único fruto amazônico que apresentou este carotenoide dentre os analisados por Rosso e Mercadante (2007). Santos et al. (2015b) consideraram particularmente interessante a presença de neoxantina e violaxantina (juntamente com sua derivada luteoxantina) no óleo de tucumã, diferente de outras frutas de palma, pois essas xantofilas são derivados finais da via β, β , um ciclo dominante nos frutos de tucumã (Figura 1).

O α -caroteno foi identificado na polpa de tucumã (2,5 $\mu\text{g/g}$ b.u.) e no seu óleo (29-40 $\mu\text{g/g}$), aparecendo como o segundo maior carotenoide em óleo de palma, chegando a representar mais de 35% do total, depois do β -caroteno (Sambanthamurthi et al., 2000; Rodriguez-Amaya et al., 2008; Bony et al., 2012; Santos et al., 2015b).

A amostra 26-6 apresentou três picos de absorção bem definidos (Figura 4), em que o de maior absorção foi em 286 nm, característico do fitoeno. O segundo maior pico, a 428 nm, sugere a presença do β -zeacaroteno, enquanto o terceiro pico, a presença de fitoflueno, com absorção em 348 nm. Em óleo de polpa de tucumã, o fitoeno foi o terceiro principal carotenoide identificado (133 $\mu\text{g/g}$) após as formas trans e cis do β -caroteno, e os isômeros do fitoflueno (70 $\mu\text{g/g}$) (Bony et al., 2012). O zeacaroteno já foi identificado tanto na espécie *A. vulgare* quanto *A. aculeatum*, com 72 $\mu\text{g/g}$ e 1,7 $\mu\text{g/g}$, respectivamente (Rosso; Mercadante, 2007; Bony et al., 2012).

A maioria dos carotenoides citados foram normalmente identificados no óleo da polpa de espécies de tucumã, e em diferentes proporções, quando utilizadas técnicas de separação cromatográfica. Por isso, vale ressaltar que, para sua obtenção, são necessários alguns procedimentos que envolvem aquecimento (secagem, extração por solventes e prensagem, por exemplo) e que podem causar redução, oxidação ou perda de carotenoides. As características intrínsecas das amostras e as diversas técnicas de extração e detecção analíticas também contribuem para os diferentes resultados divulgados.

A produção de insumos ricos em pigmentos com atividades pró-vitáminica A e antioxidante, bem como de padrões analíticos, pode ser vertente interessante para o aproveitamento da variabilidade de frutos do BAG-Tucumã, frente aos resultados desse estudo. Contudo, uma pesquisa mais aprofundada e

detalhada, utilizando técnicas de separação, é necessária para uma precisa identificação e quantificação dos carotenoides em todos os acessos do BAG.

Conclusões

Os frutos de tucumã-do-pará do BAG-Tucumã apresentam uma ampla faixa de concentração de carotenoides totais, em que seis acessos se destacaram com teores superiores aos já reportados na literatura, tanto em relação a outras espécies de tucumã quanto a outras palmáceas. Pela primeira vez, frutos de tucumã de cor amarela foram analisados, sugerindo um perfil de carotenoides diferenciado, que requer uma investigação analítica mais detalhada. Os resultados indicam que os acessos do banco de germoplasma de tucumã podem ser uma fonte regular e promissora de pigmentos naturais para o enriquecimento de produtos com propriedades pró-vitamínicas A e antioxidantes e para produção de padrões analíticos de β -caroteno e seus isômeros.

Referências

- BALDISSERA, M. D.; SOUZA, C. F.; GRANDO, T. H.; COSSETIN, L. F.; SAGRILLO, M. R.; NASCIMENTO, K.; SILVA, A. S.; MACHADO, A. K.; CRUS, I. B. M.; STEFANI, L. M.; WAGNER, R.; MONTEIRO, S. G. Antihyperglycemic, antioxidant activities of tucumã oil (*Astrocaryum vulgare*) in alloxan-induced diabetic mice, and identification of fatty acid profile by gas chromatograph: New natural source to treat hyperglycemia. **Chemico-Biological Interactions**, v. 270, p. 51-58, 2017a.
- BALDISSERA, M. D.; SOUZA, C. F.; DOLESKIA, P. H.; GRANDO, T. H.; SAGRILLO, M. R.; SILVA, A. S.; LEALA, D. B. R.; MONTEIRO, S. G. Treatment with tucumã oil (*Astrocaryum vulgare*) for diabetic mice prevents changes in seric enzymes of the purinergic system: Improvement of immune system. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 374-379, 2017b.
- BALDISSERA, M. D.; SOUZA, C. F.; GRANDO, T. H.; SAGRILLO, M. R.; COSSETIN, L. F.; SILVA, A. S.; STEFANI, L. M.; MONTEIRO, S. G. Tucumã oil (*Astrocaryum vulgare*) ameliorates hepatic antioxidant defense system in alloxan-induced diabetic mice. **Journal Food Biochemistry**, v. 42, n. 2, e12468, 2018.
- BIEHLER, E.; MAYER, F.; HOFFMANN, L.; KRAUSE, E.; BOHN, T. Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 2, p. C55-61, 2010.
- BONY, E.; BOUDARD, F.; BRAT, P.; DUSSOSSOY, E.; PORTET, K.; POUCHERET, P.; GIAIMIS, J.; MICHEL, A. Awara (*Astrocaryum vulgare* M.) pulp oil: Chemical characterization, and anti-inflammatory properties in a mice model of endotoxic shock and a rat model of pulmonary inflammation. **Fitoterapia**, v. 83, n. 1, p. 33-43, 2012.

- BRITTON, G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **Faseb Journal**, v. 9, n. 15, p.1551-1558, 1995.
- CAMPBELL, J. K.; ENGELMANN, N. J.; LILA, M. A.; ERDMAN JUNIOR, J. W. Phytoene, phytofluene, and lycopene from tomato powder differentially accumulate in tissues of male Fisher 344 rats. **Nutrition Research**, v. 27, n. 12, p. 794-801, 2007.
- CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 5. ed. Belém, PA: CEJUP: CNPq: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1991. 279 p. (Coleção Adolfo Ducke).
- DAMASCENO, F. S.; BATISTA, R. S. M. **Obtenção do azeite de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) e sua viabilidade como substituto do azeite de dendê (*Elais guineenses* Jacq.)**. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia Agroindustrial – Ênfase em alimentos) – Universidade do Estado do Pará, Centro de Ciências Naturais e Tecnologia, Belém, PA.
- DAVIES, B. H. Carotenoids. In: GOODWIN, T. W. (Ed.). **Chemistry and biochemistry of plant pigments**. 2. ed. London: Academic Press, 1976. v. 2., p. 38-165.
- ENGELMANN, N. J.; CLINTON, S. K.; ERDMAN JUNIOR, J. W. Nutritional Aspects of Phytoene and Phytofluene, Carotenoid Precursors to Lycopene. **American Society for Nutrition. Advances in Nutrition**, v. 2, n. 1, p. 51-61, 2011.
- FERREIRA, E. S.; LUCIEN, V. G.; AMARAL, A. S.; SILVEIRA, C. S. Caracterização físico-química do fruto e do óleo extraído de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart). **Revista de Alimentos e Nutrição**, v. 4, n. 4, p. 427-433, 2008.
- KRINSKY, N. I.; JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, n. 6, p. 459-516, 2005.
- KRINSKY, N. I.; MAYNE, S. T.; SIES, H. **Carotenoids in Health and Diseases**. New York: Marcel Dekker, 2004. 551 p.
- LOPES, V. S.; OLIVEIRA, M. S. P. Coeficiente de repetibilidade para o caráter maturação de frutos em tucumazeiros (*Astrocaryum vulgare* Mart.). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 17.; SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 1., 2013, Belém, PA. **Anais**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2013. 1 CD-ROM.
- MAMBRIN, M. C. T.; BARRERA-ARELLANO, D. Caracterización de aceites de frutos de palmeras de la región amazonica del Brasil. **Grasas Aceites**, v. 48, n. 3, p. 154-158, 1997.
- MATOS, K. A. N.; LIMA, D. P.; BARBOSA, A. P. P.; MERCADANTE, A. Z.; CHISTÉ, R. C. Peels of tucumã (*Astrocaryum vulgare*) and peach palm (*Bactris gasipaes*) are by-products classified as very high carotenoid sources. **Food Chemistry**, v. 272, p. 216-221, 2019.
- MESQUITA, S. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; SERVULO, E. F. C. Carotenoides: Propriedades, Aplicações e Mercado. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 672-688, 2017.
- OBOH, F. O. J.; ODERINDE, R. A. Analysis of the Pulp and Pulp Oil of the Tucum (*Astrocaryum vulgare* Mart) Fruit. **Food Chemistry**, v. 30, n. 4, p. 277-287, 1988.
- OLIVEIRA, M. S. P.; ABREU, L. F.; NASCIMENTO, W. M. O.; PARACAMPO, N. E. N. P. Tucumã-do-pará. In: LOPES, R.; OLIVEIRA, M. S. P.; CAVALLARI, M. M.; BARBIERI, R. L.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S. da (Ed.). **Palmeiras Nativas do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. Cap. 13, p. 395-432.

OLIVEIRA, S. F.; MOURA NETO, J. P.; SILVA, K. E. R. Uma revisão sobre a morfoanatomia e as propriedades farmacológicas das espécies *Astrocaryum aculeatum* Meyer e *Astrocaryum vulgare* Mart. **Scientia Amazonia**, v. 7, n. 3, CS18-CS28, 2018.

PACHECO, S. **Preparo de padrões analíticos, estudo de estabilidade e parâmetros de validação para ensaio de carotenoides por cromatografia líquida**. 2009. 117 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A. **Guide to carotenoid analysis in foods**. Washington D.C.: International Life Sciences Institute, 2001. 64 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenoides: tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**. Brasília, DF: MMA/SBF, 2008. 100 p.

ROSSATO, A.; SILVEIRA, L. S.; LOPES, L. Q. S.; SOUSA FILHO, W. P.; SCHAFFER, L. F.; SANTOS, R. C. V.; SAGRILLO, M. R. Evaluation in vitro of antimicrobial activity of tucumã oil (*Astrocaryum vulgare*). **Archives in Biosciences & Health**, v. 1, n. 1, p. 99-112, 2019.

ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Identification and Quantification of Carotenoids, By HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian Fruits. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 13, p. 5062-5072, 2007.

RUIZ-SOLA, M. Á.; RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN, M. Carotenoid Biosynthesis in Arabidopsis: A Colorful Pathway. **Arabidopsis Book**, v. 10, e0158, 2012.

SAMBANTHAMURTHI, R.; SUNDRAM, K.; TAN, Y.-A. Chemistry and biochemistry of palm oil. **Progress in Lipid Research**, v. 39, n. 6, p. 507-558, 2000.

SANTOS, F. G. S.; MAMEDE, R. V. S.; RUFINO, M. S. M.; BRITO, E. S.; ALVES, R. E. Amazonian Native Palm Fruits as Sources of Antioxidant Bioactive Compounds. **Antioxidants**, v. 4, n. 3, p. 591-602, 2015a.

SANTOS, M. F. G.; ALVES, R. E.; ROCA, M. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon. **Grasas y Aceites**, v. 66, n. 3, e086, 2015b.

SCHWARTZ, S. J.; VON ELBE, J. H.; GIUSTI, M. Corantes. In: DAMORAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. Cap. 9, p. 445-498.

SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica**. Belém, PA: CIFOR: Imazon, 2005. 300 p.

SOUZA FILHO, O. C.; SAGRILLO, M. R.; GARCIA, L. F. M.; MACHADO, A. K.; CADONA, F.; RIBEIRO, E. E.; DUARTE, E. E. M. F.; MOREL, A. F.; CRUZ, I. V. M. da. The In Vitro Genotoxic Effect of Tucuma (*Astrocaryum aculeatum*), an Amazonian Fruit Rich in Carotenoids. **Journal of Medicinal Food**, v. 16, n. 11, p. 1013-1021, 2013.

SUBCZYNSKI, W. K.; MARKOWSKA, E.; SIELEWIESIUK, J. Effect of polar carotenoids on the oxygen diffusion-concentration product in lipid bilayers. An EPR spin label study. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1068, n. 1, p. 68-72, 1991.

WALTER, M. H.; STRACK, D. Carotenoids and their cleavage products: biosynthesis and functions. **Natural Product Reports**, v. 28, n. 4, p. 663-692, 2011.



Amazônia Oriental

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



CGPE 15812