

## Panorama de la investigación sobre carotenoides en el Brasil. Perspectiva y necesidades

*Jaime Amaya-Farfan*

Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição -Faculdade de Engenharia de Alimentos.  
Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil

**RESUMEN.** Durante las dos últimas décadas, el país produjo más de 80 trabajos científicos en carotenoides, la mayoría sobre composición, desarrollo de métodos analíticos y la influencia de varios factores sobre la composición. Diferencias entre variedades, condiciones de cultivo, de clima y grado de maduración, condiciones de almacenaje, procesamiento y preparación de alimentos figuran entre los factores que afectan la composición. Trabajos sobre biodisponibilidad y funciones y acciones en la salud vienen siendo también desarrollados y éstos deben ser incrementados. Hay un creciente interés en investigaciones sobre la degradación de los carotenoides con formación de aroma/sabor deseable o indeseable en los alimentos. En el futuro, los estudios en análisis y composición deberán continuar para incrementar la base de datos que servirán a proyectos agronómicos, nutricionales, de salud pública y biotecnológicos. Considerábase fundamental continuar dando importancia máxima a la calidad de los datos generados, pues esto determina la confiabilidad de las conclusiones, no importa en qué sub-área se ubique el trabajo.

**Palabras clave:** Carotenoides, provitamina A, vegetales, frutas, verduras, acciones, funciones,  $\beta$ -caroteno, licopeno.

En la década del 80, el énfasis de los trabajos brasileños en carotenoides era sobre la copilación de datos de composición. Indudablemente que al mismo tiempo que se obtenían nuevas informaciones sobre la flora útil al hombre como alimento, se hacía indispensable validar metodologías y procedimientos analíticos, a fin de reunir datos confiables para el futuro. La supersimplificación de las técnicas analíticas o la utilización de un mismo procedimiento para productos muy diferentes eran operaciones realizadas con cautela y no significaban ventaja alguna antes de ser validadas científicamente. El know-how analítico se irradió del Departamento de Ciencias de Alimentos, Facultad de Ingeniería de Alimentos de la Universidade Estadual de Campinas, para diversas universidades e institutos de investigación en el país. Esta revisión tuvo como objetivo simplemente actualizar lo alcanzado hasta ahora con las investigaciones hechas en el Brasil y, por tanto, no pretendió ser una revisión crítica.

Toda la gama de trabajos puede dividirse en ocho temas, a saber: (a) validación y actualización de las metodologías

**SUMMARY. Research on carotenoids in Brazil. Perspective and needs.** During the last two decades Brazil has produced more than 80 scientific papers on carotenoids, most of which dealing with food composition, development of analytical methodology and the factors that influence composition. Varietal differences, agricultural practices, climate and stage of maturity, as well as food storage, processing and preparation are the main influencing factors. Studies on bioavailability and the functions and actions in health have also been carried out and are expanding. Recently, interest has grown on the degradation of carotenoids with the production of either desirable or undesirable aroma/flavor in foods. For the future, analytical and compositional studies should continue to enlarge the basis for agronomic, nutritional, medical and biotechnological projects. It is fundamental that the quality of analytical data continues to receive top priority, for this can mean the difference between reliable and confounding results, regardless of the sub-area of application.

**Key words:** Carotenoids, provitamin A, vegetables, fruits, actions, functions,  $\beta$ -carotene, lycopen

analíticas, (b) confirmación y elucidación de estructuras, (c) estudio de la composición de las fuentes, (d) influencia de algunos factores edafoclimáticos, (e) incidencia de los isómeros *cis*, (f) efecto del almacenaje, del procesamiento y la preparación doméstica, (g) la función provitamínica, y (h) el estudio de otras acciones y funciones biológicas de los carotenoides.

### Técnicas analíticas y datos de composición

Con relación a las metodologías analíticas, la contribución brasileña ha sido considerable (1-11). Estos son trabajos que tuvieron gran importancia en la demostración del uso correcto de las técnicas analíticas. No es posible analizar carotenoides con éxito sin ejercer máxima atención, cuidado y celeridad, eso sin considerar el alto grado de conciencia química que se requiere. Después de leer algunos de esos trabajos, por ejemplo, se entiende por que el análisis de una calabaza madura es mucho más complejo que el de un tubérculo como la zanahoria y que el método de extracción empleado para una fruta no puede ser usado para extraer  $\beta$ -caroteno de un espagueti

fortificado, antes de hacerse un estudio formal de validación. La filosofía y detalles sobre cómo realizar los análisis fueron didácticamente integrados y discutidos en cuatro publicaciones (12-15). Actualmente, un nuevo libro sobre el tema está siendo lanzado por la ILSI Press (16).

Como las propiedades biológicas (funciones y acciones) de los carotenoides dependen obviamente de sus estructuras químicas, la confirmación y elucidación de estructuras eran obstáculos que debían ser superados antes de alcanzar las metas de composición de algunos productos (17-23). En su medio natural, los carotenoides se encuentran generalmente en la configuración más estable, toda *trans*. Sin embargo, pequeñas cantidades de isómeros *cis* son cada día más y más reportadas en productos procesados y hasta *in natura*. En vista de que las actividades biológicas de los dos isómeros son diferentes, la incidencia de isómeros *cis* en ciertos productos fue también investigada (6,24-26).

Tanto el desarrollo de métodos analíticos como la confirmación de estructuras fue parte esencial para el trabajo descriptivo de los alimentos brasileños. Inicialmente por columna abierta y después por HPLC, los extensos estudios composicionales legaron al Brasil un banco de datos sobre composición de alimentos en carotenoides más grande que cualquier otro país pueda tener (27-59). La mayoría de estos estudios objetivaba describir la composición lo más completamente posible y no solamente la de aquellos carotenoides con valor provitamínico A. Puede decirse que los datos para las tablas de composición y valores vitamínicos que hoy se encuentran a disposición, resultaron como consecuencia lógica de los trabajos de composición.

### Factores que influyen en la composición de carotenoides

Existía también gran interés en evaluar los factores que afectan la composición final de los alimentos. Por un lado, no se sabía con seguridad si la composición y el valor vitamínico A de un producto variaban, cuantitativa y cualitativamente, más con la maduración o con el procesamiento. Por otro lado, la tecnología de alimentos conocía la retención de nutrientes de varios tipos cuando sometidos al blanqueamiento, procesamiento y preparo doméstico, mientras que lo poco que se sabía con respecto a los carotenoides era basado en técnicas analíticas anticuadas e inexactas. Por esa razón fueron estudiados efectos edafoclimáticos, como tipo de cultivar (34-36, 41, 43, 48, 57, 67), región geográfica (42,48,60), forma de cultivo (60), y factores de almacenaje (52,61-65), procesos industriales (61-63,66,67) y condiciones de preparo doméstico (56, 57, 68, 69).

A través de esos estudios se tornó evidente que ocurren alteraciones tanto cualitativas como cuantitativas en los perfiles de composición y que las pérdidas de carotenoides debidas a la pasteurización, deshidratación y almacenamiento, cuando tales tratamientos son efectuados dentro de la racionalidad, no llegan a igualarse en magnitud a los aumentos que se registran

cuando los alimentos pasan de inmaduros para maduros (32,34,67,70). Estos factores fueron presentados y discutidos en conjunto en un artículo de revisión (71), un capítulo de libro (72) y un libro (73).

### Biodisponibilidad

Dentro de la actividad provitamínica, el tema de la biodisponibilidad ha provocado varias investigaciones que muestran, por ejemplo, el aumento del retinol plasmático en ratas después de consumir fuentes ricas en  $\beta$ -caroteno (74,75). Sin embargo, sabiéndose que estos animales poseen un sistema de conversión por demás eficiente y teniendo en cuenta los más recientes conceptos de biodisponibilidad, lo lógico es que estos experimentos se realicen con modelos validados, o directamente con humanos. El objetivo es evitar pérdidas de tiempo y recursos al esperarse un día usar los resultados de comparación de fuentes diferentes o haciendo extrapolaciones para humanos. Dos estudios fueron realizados en humanos, uno utilizando el fruto burití (76), la más rica fuente de  $\beta$ -caroteno conocida (45), y otro que específicamente usó fortificación de aceite comestible (77). Estos últimos autores proponen que los aceites comestibles refinados sean fortificados con aceites ricos en  $\beta$ -caroteno, como los de dendé (palma africana) y burití, para atender a las necesidades de los grupos más carentes.

### Otras funciones y acciones

En tratándose de las funciones y acciones de los carotenoides en el organismo, diferentes de la actividad provitamínica A, nótase que los estudios comenzaron en la década del 90, época en que los temas sobre la actividad vitamínica pasaron a ocupar un segundo plano en la investigación mundial. Moreno et al. (78) reportaron el efecto de la suplementación de dietas de roedores con  $\beta$ -caroteno sobre la inducción de la reductasa del 3-hidroxi-3-metilglutarato. Los mismos autores principales también habían mostrado la existencia de un efecto inhibitor en las lesiones preneoplásicas inducidas en hígado de ratas por dietilnitrosamina y 2-acetilaminofluoreno, efecto éste que se correlacionaba directamente con la ingestión de  $\beta$ -caroteno e inversamente con la concentración de vitamina A en los hepatocitos (79, 80).

La paradoja de que los extensos estudios epidemiológicos realizados por investigadores finlandeses contradigan la anteriormente propalada función protectora del  $\beta$ -caroteno contra ciertos tipos de cáncer, es algo que ha merecido atención y provocado una propuesta de interpretación por Naves y Moreno (81).

Todavía, la acción del  $\beta$ -caroteno como posible protector contra los daños causados por el oxígeno singlet al organismo, usando el sistema modelo del alga *Gonyaulax polyedra*, ha sido estudiada por DiMascio et al. (82) y Hollnagel et al. (83), mientras que en otro trabajo se mostró que el  $\beta$ -caroteno puede ser significativamente más eficiente que la vitamina A en

recuperar células hepáticas preneoplásicas, principalmente por su estímulo a la regeneración de lesiones positivas a la  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa (84).

En otra investigación, Dagli et al. (85), usando el sistema modelo de carcinogénesis resistente del hepatocito, mostraron que las lesiones preneoplásicas fueron significativamente menores en ratas tratadas con  $\beta$ -caroteno, que en las no tratadas, o tratadas con acetato de retinilo. Esto llevó a los autores a proponer que el  $\beta$ -caroteno reduce, no solo el apareamiento de lesiones carcinogénicas en el hígado, sino también la reacción de las células ovas en este modelo experimental.

La porfiria eritropoyética es una condición clínica hereditaria o inducida por algunos xenobióticos, que tiene su origen en defectos fotooxidativos (86). Trabajos de DiMascio y colaboradores vienen colectando evidencias de que los carotenoides acumulados en la sangre de humanos cumplen una función protectora de vital importancia contra la acción destructiva del oxígeno singlet. En ese sentido, el licopeno puede tener función más importante que los demás, visto que éste tiene poder extinguidor (*quencher*) mayor que el de cualquier otro carotenoide y su concentración en el plasma es superior, inclusive a la del  $\beta$ -caroteno.

### Perspectivas y necesidades

Futuramente, el país deberá continuar con los estudios de exploración analítica. Esto es, incrementar el volumen de datos sobre composición de alimentos, tanto los clásicos como los no convencionales. Para tal fin, deberá continuarse a prestar extremo cuidado a las técnicas analíticas, no economizando esfuerzos en la aplicación de los más rigurosos patrones de calidad. Los estudios analíticos y de composición, además de colocar a disposición una base cada vez mayor de alternativas para los estudios agronómicos, químicos, bioquímicos, nutricionales, médicos e industriales, dejarán el saldo positivo de un mayor contingente de técnicos específicamente capacitados en esta área.

En este sentido, espérase que el guía práctico sobre el análisis de carotenoides (16) venga a contribuir en la identificación y corrección de errores importantes que son de común ocurrencia. El libro podrá ser de utilidad no solo para los países latinoamericanos, sino para todo laboratorio que trabaje con carotenoides.

Se prevee expansión de los estudios químicos sobre la degradación de los carotenoides y su influencia en la evolución de aromas y sabores, tanto indeseables como deseables. Esta línea de investigación deberá ser extendida, de sistemas modelo para sistemas reales, evaluándose la posible relevancia biológica y tecnológica de tales transformaciones, inclusive buscando medios de proteger los carotenoides durante los procesos, almacenaje, etc.

Es necesario que los estudios sobre biodisponibilidad de carotenoides evolucionen mediante el uso de técnicas más apro-

piadas; no con el objetivo de dificultar la investigación, sino para obtener datos que sean más relevantes. Los avances recientes sobre la conversión del  $\beta$ -caroteno en vitamina A muestran que se trata de un proceso de gran complejidad. La biodisponibilidad puede depender de más de doce factores, sin considerar la influencia de grupos étnicos, estados etarios o estados patológicos. Como ya se sabe que las diversas especies de animales responden de formas diferentes a la utilización de los carotenoides, entiéndese entonces que los estudios deben ser objetivamente canalizados para la especie humana, si lo que se busca es contribuir para la solución de los problemas de salud pública. Aquí, valga decir, las técnicas analíticas tienen importancia fundamental, pues sin una cuantificación adecuada, cualquier conclusión es posible.

Otra necesidad está en profundizar el conocimiento sobre los medios de mejorar la biodisponibilidad, sea obviando las pérdidas debidas a procesos y preparos inadecuados, o justificando la escogencia de las fuentes más apropiadas para cada situación. Este campo se muestra bastante fértil, no solo por lo que el estudio de nuevas fuentes puede traer, sino también por la posibilidad de involucrar las modernas técnicas biotecnológicas en la producción industrial de estos pigmentos y sus derivados. Con relación a ese tema, es interesante tener presente que el fruto amazónico burití es la fuente más rica conocida en  $\beta$ -caroteno, aún cuando agronómicamente la palma africana tenga rendimiento mayor.

Los temas de investigación que involucran carotenoides diferentes del  $\beta$ -caroteno y acciones y funciones distintas de la provitamina A, sin duda, continuarán a llamar mucho la atención. Es temeridad, sin embargo, pensar que ciertas investigaciones con carotenoides puedan ser realizadas sin que se tenga suficiente conocimiento o destreza analítica. El estudio de las funciones y acciones biológicas, por ejemplo, no puede basarse simplemente en el empleo de patrones comerciales, dispensando así cualquier involucramiento con las técnicas analíticas. Está demostrado que aquellos se degradan con extremada facilidad y, por consiguiente, poseen grados muy variables de pureza. De igual forma, es importante sentir seguridad con los métodos analíticos cuando se estudian los inesperados caminos que el metabolismo o bioconversión de un carotenoide puede tomar después de ser incorporado por el tejido animal. Las formas *cis* de carotenoides como el licopeno están siendo cada vez más implicadas en los procesos de absorción y, tal vez, protección, como muestra la literatura mundial. Es menester entonces enfatizar nuevamente que las expectativas de desarrollar nuestra capacidad y credibilidad investigativa, llegando al dominio de la química y bioquímica de los carotenoides, dependerán directamente de la capacidad de manipular y analizar estos compuestos con confianza.

### AGRADECIMIENTOS

Al PRONEX (FINEP/CNPq/MCT) y FAPESP.

## REFERENCIAS

1. Rodriguez-Amaya DB, Kimura M, Godoy HT, Arima HK. Assessment of provitamin A determination by open column chromatography/visible absorption spectrophotometry. *J Chromatogr Sci* 1988; 26:624-9.
2. Mercadante AZ, Rodriguez-Amaya DB. Comparison of normal-phase and reversed-phase gravity flow column methods for provitamin A determination. *Chromatogr* 1989; 28: 249-52.
3. Kimura M, Rodriguez-Amaya DB, Godoy HT. Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamins A. *Food Chem* 1991; 35: 187-95.
4. Carvalho PRN, Rodriguez-Amaya DB, Collins CH, Carvalho CRL. Determinação de carotenóides e provitamina A por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). *Coletânea ITAL* 1991; 21: 317-28.
5. Mercadante AZ, Rodriguez-Amaya DB. Desempenho da camada delgada versus camada delgada de alta eficiência multi-desenvolvimento para triagem de carotenóides. *Ciênc Tecnol Aliment* 1991; 11: 200-9.
6. Rodriguez-Amaya DB, Tavares CA. Importance of cis-isomer separation in determining provitamin A in tomato and tomato products. *Food Chem* 1992; 45: 297-302.
7. Carvalho PRN, Collins CH, Rodriguez-Amaya DB. Comparison of provitamin A determination by normal-phase, gravity-flow column chromatography and reverse-phase high performance liquid chromatography. *Chromatogr* 1992; 33: 133-7.
8. Godoy HT, Rodriguez-Amaya DB. Avaliação das metodologias para a determinação das pró-vitaminas A. *Rev Farm Bioquím Univ S Paulo* 1993; 29: 17-24.
9. Wilberg VC, Rodriguez-Amaya DB. Quantificação de  $\beta$ -caroteno e licopeno em tomate e alguns de seus produtos por CLAE. *Ciênc Tecnol Aliment* 1993; 13: 132-41.
10. Pereira MR, Amaya-Farfan J, Rodriguez-Amaya DB. Avaliação da metodologia analítica para determinação de  $\beta$ -caroteno em macarrão fortificado. *Ciênc Tecnol Aliment* 1998; 18: 35-8.
11. Wilberg VC, Rodriguez-Amaya DB. Quantificação dos carotenóides de urucum (*Bixa orellana* L.) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). *Rev Bras Cor Natur* 1992; 1: 145-52.
12. Rodriguez-Amaya DB. Critical review of provitamin A determination in plant foods. *J Micronutr Anal* 1989; 5: 191-225.
13. Rodriguez-Amaya DB. Provitamin A determination. Problems and possible solutions. *Food Nutr Bull* 1990; 12: 246-50.
14. Rodriguez-Amaya DB, Amaya-Farfan J. Estado actual de los métodos analíticos para determinar provitamina A. *Arch Latinoamer Nutr* 1992; 42: 180-91.
15. Rodriguez-Amaya DB. Carotenoids: Properties and determination. In: Macrae R, Robinson RK, Sadler M, editors. *Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition*, vol. 1. London: Academic Press, 1993: 707-13.
16. Rodriguez-Amaya DB. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington, DC: ILSI Press, 1999 (in press).
17. Godoy HT, Rodriguez-Amaya DB, Connor AE, Britton G. Confirmation of the structure of papaya  $\beta$ -cryptoxanthin monoepoxide. *Food Chem* 1990; 36: 281-6.
18. Mercadante AZ, Steck A, Rodriguez-Amaya DB, Pfander H, Britton G. Isolation of methyl 9'Z-*apo*-6'lycopenoate from *Bixa orellana*. *Phytochem* 1996; 41: 1201-3.
19. Mercadante AZ, Rodriguez-Amaya DB, Britton G. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoid from mango. *J Agric Food Chem* 1997; 45: 120-6.
20. Mercadante AZ, Steck A, Pfander H. Carotenoids from guava (*Psidium guava* L.). Isolation and structure elucidation. *J Agric Food Chem* 1999, 47: 145-51.
21. Almeida LB, Penteado MVC, Simpson KL, Britton G, Acemoglu M, Eugster CH. Isolation and characterization of (5R,6S,5'R,8'R)- and (5R,6S,5'R,8'S)-luteochrome from Brazilian sweet potatoes (*Ipomoea batatas* Lam). *Helv Chim Acta* 1986; 69: 1554-8.
22. Almeida LB, Penteado MVC, Britton G, Acemoglu M, Eugster CH. Isolation and absolute configuration of beta, beta-carotene diepoxide. *Helv Chim Acta* 1988; 71: 31-2.
23. Mercadante AZ, Britton G, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoids from yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). *J Agric Food Chem* 1998; 46: 4102-6.
24. Godoy HT, Rodriguez-Amaya DB. Ocorrência de *cis* isomers of provitamin A in Brazilian fruits. *J Agric Food Chem* 1994; 42: 1306-13.
25. Godoy HT, Rodriguez-Amaya DB. Ocorrência de *cis*-isomers of provitamins A in Brazilian vegetables. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 3081-6.
26. Trigueiro INS, Penteado MVC. Stereochemical isomer composition and vitamin A value of Brazilian palm oil. *Arch Latinoamer Nutr* 1996; 46: 334-7.
27. Rodriguez-Amaya DB, Bobbio PA, Bobbio FO. Carotenoid composition and vitamin A value of the Brazilian fruit *Cyphomandra betacea*. *Food Chem* 1983; 12: 61-5.
28. Padula M, Rodriguez-Amaya DB. Characterisation of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of Brazilian guava. *Food Chem* 1986; 20: 11-9.
29. Penteado MVC, Minazzi RS, Almeida LB. Carotenóides e atividade pró-vitamínica A de folhas de hortaliças consumidas no Norte do Brasil. *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1986; 22: 97-102.
30. Almeida LB, Penteado MVC. Carotenóides com valor pró-vitamínico A da mandioquinha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) consumida em São Paulo, Brasil. *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1987; 23: 52-7.
31. Almeida LB, Penteado MVC. Carotenóides com atividade pró-vitamínica A de cenouras (*Daucus carota* L.) comercializadas em São Paulo, Brasil. *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1987; 23: 133-41.
32. Ramos DMR, Rodriguez-Amaya DB. Determination of the vitamin A value of common Brazilian leafy vegetables. *J Micronutr Anal* 1987; 3: 147-55.
33. Almeida LB, Penteado MVC. Carotenoids and pro-vitamin A value of white-fleshed Brazilian sweet potatoes (*Ipomoea batatas* Lam.). *J Food Comp Anal* 1988; 1: 341-2.
34. Arima HK, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition and vitamin A value of commercial Brazilian squashes and pumpkins. *J Micronutr Anal* 1988; 4: 177-91.
35. Penteado MVC, Almeida LB. Ocorrência de carotenóides em raízes de cinco cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do Estado de São Paulo. *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1988; 24: 39-49.
36. Godoy HT, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. *Lebensm Wiss Technol* 1989; 22: 100-3.

37. Minazzi-Rodrigues RS, Penteadó MVC. Carotenóides com atividade pró-vitamínica A em hortaliças folhosas. *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1989; 25: 39-52.
38. Rodriguez-Amaya DB, Kimura M. Carotenóides e valor de vitamina A em cajá (*Spondias lutea*). *Ciênc Tecnol Aliment* 1989; 9: 148-62.
39. Arima HK, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from Northeastern Brasil. *Arch Latinoamer Nutr* 1990; 40: 284-92.
40. Mercadante AZ, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition and vitamin A value of some native Brazilian green leafy vegetables. *Int J Food Sci Technol* 1990; 25: 213-9.
41. Trujillo-Quijano JA, Rodriguez-Amaya DB, Esteves W, Plonis GF. Carotenoid composition and vitamin A value from four Brazilian palm fruits. *Fat Sci Technol* 1990; 6: 222-6.
42. Cavalcante ML, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. In: Charalambous G, editor. Food science and human nutrition. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1992: 643-50.
43. Almeida-Muradian LB, Penteadó MVC. Carotenoids and provitamin A value of some Brazilian sweet potato cultivars (*Ipomoea batatas* Lam.). *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1992; 28: 145-54.
44. Trigueiro INS, Penteadó MVC. Teorês de alfa e beta caroteno e atividade pró-vitamínica a de óleos de dendê brasileiros. *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1992; 28: 61-74.
45. Godoy HT, Rodriguez-Amaya DB. Buriti (*Mauritia vinifera*, Mart.), a very rich source of provitamin A. *Arq Biol Tecnol* 1995; 38: 109-20.
46. Godoy HT, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition and vitamin A value of Brazilian loquat (*Eriobotrya japonica*, Lind). *Arch Latinoamer Nutr* 1995; 45: 336-9.
47. Penteadó MVC, Minazzi RS, Almeida, LB. Carotenóides e atividade provitamínica A de folhas de hortaliças consumidas no Norte do Brasil. *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1996; 22: 97-102.
48. Kimura M, Rodriguez-Amaya DB, Yokoyama SM. Cultivar differences and geographic effects on the carotenoid composition and vitamin A value of papaya. *Lebens Wissen Technol* 1991; 24: 415-8.
49. Cecchi HM, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition and vitamin A value of fresh and pasteurized cashew-apple (*Anacardium occidentale* L.) juice. *J Food Sci* 1981; 46: 147-9.
50. Cecchi HM, Rodriguez-Amaya DB. Carotenóides e valor de vitamina A em suco de maracujá processado. *Ciênc Cult* 1981; 33: 72-6.
51. Padula M, Rodriguez-Amaya DB. Comparison of the carotenoid composition and general properties of the processed juice of guava cultivar IAC-4 and commercial juices. *Ciênc Tecnol Aliment* 1983; 3: 109-16.
52. Hiani PA, Penteadó MVC. Mudança na composição de carotenóides da bocaiúva (*Acrocomia mokayayba* Barb. Rodr.) com a estocagem em congelador a -20°C. *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1989; 25: 169-76.
53. Tavares CA, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition of Brazilian tomatoes and tomato products. *Lebens Wissen Technol* 1994; 27: 219-24.
54. Wilberg VC, Rodriguez-Amaya DB. Quantification of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. *Lebens Wissen Technol* 1995; 28: 474-80.
55. Agostini TS, Cecchi HM, Godoy HT. Composição de carotenóides no marolo *in natura* e em produtos de preparo caseiro. *Ciênc Tecnol Aliment* 1996; 16: 67-71.
56. Almeida-Muradian LB, Popp V, Farias MP. Provitamin A activity of Brazilian carrots: Leaves and roots, raw and cooked and their chemical composition. *Ciênc Tecnol Aliment* 1997; 17: 120-4.
57. Bianchini R, Penteadó MVC. Carotenóides de pimentões amarelos (*Capsicum annum* L.). Caracterização e verificação de mudanças com o cozimento. *Ciênc Tecnol Aliment* 1998; 18: 283-8.
58. Godoy HT, Rodriguez-Amaya DB. Composição de carotenóides em nectarina (*Prunus persica*) brasileira. *Rev Inst Adolfo Lutz* 1998; 57: 73-9.
59. Pereira MR, Amaya-Farfan J, Rodriguez-Amaya DB.  $\beta$ -caroteno content of Brazilian fortified pasta. *Food Control* 1999; 10: 81-5.
60. Mercadante AZ, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition of a leafy vegetable in relation to some agricultural variables. *J Agric Food Chem* 1991; 39: 1094-7.
61. Padula M, Rodriguez-Amaya DB. Changes in individual carotenoids and vitamin C on processing and storage of guava juice. *Acta Alim* 1987; 16: 209-16.
62. Godoy HT, Rodriguez-Amaya DB. Changes in individual carotenoids on processing and storage of mangoes (*Mangifera indica*) slices and puree. *Int J Food Sci Technol* 1987; 22: 451-60.
63. Godoy HT, Rodriguez-Amaya DB. Comportamento dos carotenóides de purée de mamão (*Carica papaya*) sob processamento e estocagem. *Ciênc Tecnol Aliment* 1991; 11: 210-20.
64. Rodriguez-Amaya DB. Stability of carotenoids during storage of foods. In: Charalambous G, editor. Shelf-life studies of foods and beverages. Chemical, biological, physical and nutritional aspects. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1993: 591-628.
65. Trigueiro INS, Penteadó MVC. Mudanças nos teores de alfa e beta-caroteno em óleos de dendê durante o armazenamento à temperatura ambiente (26 C). *Bol CEPPA* 1993; 11: 1-10.
66. Ramos DMR, Rodriguez-Amaya DB. Avaliação das perdas de carotenóides e valor de vitamina A durante desidratação e liofilização industrial de espinafre. *Arq Biol Tecnol* 1993; 36: 83-94.
67. Mercadante AZ, Rodriguez-Amaya DB. Effects of ripening, cultivar differences and processing on the carotenoid composition of mango. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 128-30.
68. Costa MAL, Penteadó MVC. Alterações decorrentes de dois tipos de cozimento sobre os teores de carotenóides provitamínicos A em escarolas (*Chicorium endivia* L.). *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1996; 32: 95-100.
69. Sant'Anna ZM, Penteadó MVC. Alterações dos carotenóides decorrentes do cozimento convencional e em forno microondas de três hortaliças. *Rev Bioquím Farm Univ S Paulo* 1996; 32: 53-8.
70. Almeida-Muradian LB, Fiorini F, Penteadó MVC. Provitamin A evaluation of external and internal leaves of cabbage (*Brassica oleracea* L. var *capitata* L.). *Ciênc Tecnol Aliment* 1995; 15: 108-11.

71. Rodriguez-Amaya DB. Assessment of the provitamin A contents of foods. The Brazilian experience. *J Food Comp Anal* 1996; 9: 196-230.
72. Rodriguez-Amaya DB. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: Charalambous G, editor. Shelf-life studies of foods and beverages. Chemical, biological, physical and nutritional aspects. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1993: 547-89.
73. Rodriguez-Amaya DB. Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed and stored foods. Arlington: OMNI, 1997.
74. Yuyama LKO, Fávoro RMD, Yuyama K, Vannucchi H. Bioavailability of vitamin A from peach palm (*Bactris gasipaes* HBK) and from mango (*Mangifera indica* L) in rats. *Nutr Res* 1991; 11: 1167-75.
75. Dutra de Oliveira JE, Fávoro RMD, Junqueira-Franco MVM, Carvalho CG, Jordão Jr AA, Vannucchi H. Effect of heat treatment on the biological value of  $\beta$ -carotene added to soybean cooking oil in rats. *Int J Food Sci Nutr* 1998; 49: 205-10.
76. Mariath JGR, Lima MCC, Santos LMP. Vitamin A activity of buriti (*Mauritia vinifera* Mart.) and its effectiveness in the prevention of xerophthalmia. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 849-53.
77. Dutra de Oliveira JE, Fávoro RMD, Leonardo IR, Jordão AA Jr, Vannucchi H. Absorption by humans of  $\beta$ -carotene from fortified soybean oil added to rice: Effect of heat treatment. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 1-5.
78. Moreno FS, Rossiello MR, Manjeshwar S, Nath R, Rao PM, Rayalakshmi S, Sarma DSR. Effect of  $\beta$ -carotene on the expression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A reductase in rat liver. *Cancer Let* 1995; 96: 201-8.
79. Moreno FS, Rizzi MBSL, Dagli MLZ, Penteado MVC. Inhibitory effects of beta-carotene on preneoplastic lesions induced in wistar rats by the resistant hepatocyte model. *Carcinogenesis* 1991; 12: 1817-22.
80. Moreno FS, Wu TS, Penteado MVC, Rizzi MBS, Jordão AA, Almeida-Muradian LB, Dagli MLZ. A comparison of beta-carotene and vitamin-A effects on a hepatocarcinogenesis model. *Int J Vitam Nutr Res* 1995; 65: 87-94.
81. Naves MMV, Moreno FS. Beta-carotene and cancer chemoprevention. From epidemiological associations to cellular mechanisms of action. *Nutr Res* 1998; 18: 1807-24.
82. DiMascio P, Hollnagel HC, Speranca M, Colepicolo P. Diurnal rhythm of beta-carotene in photosynthetic alga *Gonyaulax polyedra*. *Biol Chem* 1995; 376: 297-301.
83. Hollnagel HC, DiMascio P, Asano CS, Okamoto OK, Stringher CG, Oliveira MC, Colepicolo P. The effect of light on the biosynthesis of beta-carotene and superoxide dismutase activity in the photosynthetic alga *Gonyaulax polyedra*. *Braz J Med Biol Res* 1996; 29: 105-10.
84. Rizzi MBL, Dagli MLZ, Jordão AA, Penteado MVC, Moreno FS. Beta-carotene inhibits persistent and stimulates remodeling gamma GT-positive preneoplastic lesions during early promotion of hepatocarcinogenesis. *Int J Vit Nutr Res* 1997; 67: 415-22.
85. Dagli MLZ, Guerra JL, Sinhorini IL, Wu TS, Rizzi MBSL, Penteado MVC, Moreno FS. Beta-carotene reduces the ductular (oval) cell reaction in the liver of Wistar rats submitted to the resistant hepatocyte model of carcinogenesis. *Pathol* 1998; 30: 259-66.
86. DiMascio P, Medeiros MHG, Bechara EJH, Catalani LH. Singlet molecular oxygen: Generation, reactivity, identification and biological effects. *Ciênc Cult* 1995; 47: 297-311.