

ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS *IN VIVO* DOS ISÔMEROS TODO-TRANS, 9-CIS E 13-CIS DO β -CAROTENO¹

Maria Aparecida Lopes da COSTA², Claudia Isabel ORTEGA-FLORES², Marilene De Vuono Camargo PENTEADO^{3,*}

RESUMO

Com o objetivo de verificar alterações estruturais nos isômeros *todo-trans*, 9- e 13-*cis* do β -caroteno foi realizado um ensaio biológico baseado no modelo de esgotamento das reservas hepáticas de carotenóides em ratos. Animais depletados desses carotenóides receberam, durante quinze dias, os isômeros puros *todo-trans*, 9-*cis* e 13-*cis* do β -caroteno. Ao final deste período, verificou-se a ocorrência de re-isomerização *in vivo* desses isômeros, a partir da quantificação dos mesmos depositados no fígado dos animais. Foi observada re-isomerização do 9-*cis* em *todo-trans*, do *todo-trans* em 9-*cis*, do 13-*cis* em 9-*cis* e *todo-trans*. O 13-*cis* foi mais susceptível à isomerização que o 9-*cis*, pois este último passou a *todo-trans* e nunca a 13-*cis*. Já o 13-*cis*, tanto pode se transformar em 9-*cis* quanto em *todo-trans*.

Palavras-chave: re-isomerização; β -caroteno; isômeros; carotenóides.

SUMMARY

IN-VIVO STRUCTURAL ALTERATIONS OF THE ALL-TRANS, 9-CIS AND 13-CIS OF β -CAROTENE ISOMERS. A biological assay was conducted in order to verify the possible structural interconversion of the 9-*cis*, 13-*cis* and all-*trans* β -carotene isomers. The different β -carotene isomers (either all-*trans* β -carotene, 9-*cis* β -carotene or 13-*cis* β -carotene) were administered for fifteen days to rats that had been previously depleted of liver carotenoids. It was possible to verify the *in vivo* re-isomerization of the isomers. The 9-*cis* β -carotene isomer can be converted into all-*trans* β -carotene, the latter re-isomerized into 9-*cis* β -carotene, and the 13-*cis* β -carotene modified into 9-*cis* β -carotene and all-*trans* β -carotene. From these results it can be concluded that the 13-*cis* isomer was more susceptible to isomerization than was the 9-*cis* β -carotene, because the latter could be isomerized into all-*trans*, but not into 13-*cis* β -carotene, while the 13-*cis* can be either modified to 9-*cis* or to all-*trans* β -carotene.

Keywords: β -carotene; isomers; re-isomerization; carotenoids.

1 – INTRODUÇÃO

O β -caroteno existe naturalmente na configuração termodinamicamente mais estável e menos solúvel, a forma *todo-trans*. Contudo, a ocorrência natural de isômeros *cis* tem sido relatada com uma certa frequência. Teoricamente, existiriam 272 possíveis isômeros do β -caroteno, porém, apenas 12 têm sido detectados [2].

SWEENEY e MARSH [26], trabalhando com hortaliças conseguiram separar o isômero *todo-trans* bem como seis isômeros *cis* do β -caroteno, a saber: neo β -caroteno U, neo β -caroteno V, neo β -caroteno B, neo β -caroteno C, neo β -caroteno D e neo β -caroteno E. Em muitas frutas e hortaliças, os únicos isômeros do β -caroteno presentes são o *todo-trans*, o neo β -caroteno U (9-*cis*) e o neo β -caroteno B (13-*cis*), sendo os dois primeiros os mais comumente encontrados [5, 8, 9, 17].

A isomerização *cis-trans* pode ocorrer durante o processamento e estocagem do alimento [7]. Devido ao seu sistema conjugado de duplas ligações, os carotenóides são estruturas altamente instáveis. O calor, a luz, os ácidos, o oxigênio e enzimas como lipoxigenase levam a alterações ou parcial destruição dos pigmentos. A exposição destes a tais agentes, resulta na formação de isômeros *cis*, epóxidos, diminuição da cor, perda da atividade pró-vitamínica A e quebra da cadeia [21].

Tendo em vista que a absorção dos lipídeos ocorre em função da formação das micelas, a solubilização dos carotenóides nas micelas lipídicas do intestino é um pré-requisito para a absorção desses pigmentos. A composição isomérica do β -caroteno afeta a quantidade de carotenóide incorporado às micelas lipídicas. O isômero 9-*cis* do β -caroteno parece aumentar a incorporação do isômero *todo-trans* às micelas lipídicas do intestino de ratos [13].

GAZIANO *et al.* [10], estudaram a absorção e a incorporação dos isômeros 9-*cis* e *todo-trans* do β -caroteno nas lipoproteínas no plasma de humanos, e observaram que existe uma preferencial absorção e transporte do *todo-trans* em comparação com o 9-*cis*.

STAHL *et al.* [22], detectaram o isômero 9-*cis* no soro de humanos, porém, em quantidades traço. O isômero 9-*cis* do β -caroteno é absorvido, imediatamente transferido e acumulado em tecidos, não sendo por isto encontrado no soro [23, 24].

Outros possíveis mecanismos podem explicar a ausência do isômero 9-*cis* no plasma, como por exemplo: a ineficiente captação intestinal do isômero 9-*cis* em contraste com o *todo-trans*; a rápida degradação do 9-*cis* no trato-gastrointestinal; a rápida remoção desse isômero do plasma; a rápida conversão deste isômero em vitamina A; ou a rápida transisomerização do 9-*cis* em *todo-trans* [28].

Nos estudos realizados por LEVIN, BEN-AMOTZ e MOKADY [14] e BEN-AMOTZ *et al.* [4], animais acumulam os isômeros do β -caroteno diferentemente. Para estes autores, ratos acumulam preferencialmente o isômero *todo-trans*, enquanto que os galináceos acumulam

¹ Recebido para publicação em 19/06/2000. Aceito para publicação em 08/03/2002.

² Curso de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP-SP.

³ Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP-SP – Depto. de Alimentos e Nutrição Experimental. Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bl. 14. Cidade Universitária. CEP 05508-900. São Paulo. SP. E-mail: devuono@usp.br

* A quem a correspondência deve ser enviada.

o 9-*cis* β -caroteno. A presença deste último na dieta, permite um maior acúmulo do *todo-trans* nos tecidos dos ratos. Tais fatos devem acontecer em função das propriedades físico-químicas dos isômeros *cis* diferirem das do isômero *todo-trans*, particularmente aquelas relacionadas com solubilidade e cristalização [6].

Outras diferenças existentes entre os isômeros *cis* e *todo-trans* estão relacionadas com as outras funções desempenhadas pelos carotenóides, como por exemplo, a atuação como antioxidantes, uma vez que aparentemente o isômero 9-*cis* seria um antioxidante mais eficiente que o *todo-trans* [3].

Tendo em vista o acima exposto o objetivo desse trabalho foi verificar a ocorrência de re-isomerização dos isômeros *todo-trans*, 9 e 13-*cis* do β -caroteno, *in vivo*.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Delineamento experimental

No ensaio biológico, foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. Albinos Rodentia mammalia), provenientes da colônia do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Inicialmente, os animais foram depletados de carotenóides, conforme descrito a seguir. Durante 22 dias quinze ratas adultas amamentaram de oito a dez filhotes, sendo que destes, em média 8 eram machos e os demais fêmeas. As mães receberam ração à base de caseína deficiente em carotenóides. Ao final deste período, os filhotes foram separados das mães, pesados e agrupados em quatro grupos com sete animais em cada grupo.

Para assegurar a eficácia da depleção, todos os animais de cada grupo foram alojados em gaiolas individuais com bebedouro de plástico ou vidro e permaneceram durante dezessete dias recebendo a mesma dieta sem carotenóides. Esta fase correspondeu ao período de esgotamento das reservas hepáticas de carotenóides.

Ao término deste período, um grupo de animais foi sacrificado e os fígados e sangue recolhidos para posterior análise. Este grupo foi denominado Grupo Um.

A partir deste momento, durante 15 dias os animais passaram a receber, por entubação gástrica a cada dois dias, os isômeros *todo-trans*, 9-*cis* e 13-*cis* do β -caroteno dissolvidos em 0,5mL de óleo de milho. Os grupos formados foram denominados de grupo β -caroteno *todo-trans*, 9-*cis* e 13-*cis*, respectivamente.

Os animais receberam 45 μ g/dia de β -caroteno *todo-trans*, 82 μ g/dia de isômero 9-*cis* do β -caroteno e 68 μ g/dia de isômero 13-*cis* do β -caroteno para os grupos β -caroteno *todo-trans*, 9-*cis* e 13-*cis*, respectivamente. Tais teores foram calculados de modo a suprir as necessidades recomendadas por REEVES *et al.* [19] para cada dois dias. No caso dos isômeros *cis*, os cálculos foram feitos levando-se em consideração as biopotências obtidas por SWEENEY e MARSH [25].

Ao final deste período todos os animais foram sacrificados e os fígados recolhidos para análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Durante todo experimento os animais receberam *ad libitum* água e ração sem carotenóides.

2.2 - Obtenção dos carotenóides fornecidos aos animais

Os isômeros de β -caroteno fornecidos aos animais foram extraídos de folhas de couve-flor (*Brassica oleracea* L.) no Laboratório de Análise de Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Os procedimentos de extração e separação dos isômeros do β -caroteno foram feitos de acordo com o método de RODRIGUEZ *et al.* [20], com algumas modificações conforme descrito em COSTA e PENTEADO [9].

2.3 - Colheita e extração das amostras

Para se proceder a retirada do fígado, os animais foram anestesiados por inalação de éter etílico p. a. Os fígados foram retirados, lavados em solução salina 0,9% (p/v) resfriada, secos em papel de filtro, pesados, subdivididos em pedaços de até 3g, embalados em papel alumínio, congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a -70°C até a análise.

2.4 - Análise de retinol, β -caroteno e isômeros no material biológico

Os procedimentos de saponificação e extração dos isômeros do β -caroteno presentes nos fígados foram baseados no trabalho de AL-ABDULALY e SIMPSON [1]. Tais procedimentos estão descritos resumidamente a seguir:

Em torno de 2 gramas de fígado foram pesados em tubo de ensaio e homogeneizados utilizando-se um triturador tipo Turrax, usando-se o mínimo possível de água. Em seguida, adicionou-se cerca de 30mL de KOH metanólico 30% (p/v). A mistura permaneceu durante uma noite, no escuro, sob nitrogênio e à temperatura ambiente.

Ao final desse período, a mistura foi transferida para um erlenmeyer contendo 50mL de éter etílico e agitado mecanicamente durante 15 minutos. Após este tempo, a mistura foi transferida para um funil de separação e a fase metanólica foi descartada. O álcali residual presente na fase etérea foi removido através de sucessivas lavagens com água destilada. Posteriormente, a solução foi transferida para erlenmeyer e a água remanescente foi retirada com a adição de sulfato de sódio anidro. O éter etílico contendo o β -caroteno extraído foi então transferido para um balão e evaporado em rota-evaporador, a vácuo.

Após a secura, o balão foi lavado com 2mL de éter etílico e a solução transferida para um tubo de ensaio. O éter etílico foi evaporado por nitrogênio e ao resíduo adicionou-se de 0,3 a 0,5mL de metanol, para determina-

ção de β -caroteno e isômeros. Antes da injeção no CLAE as amostras foram filtradas com membrana de 0,45 μ m.

2.5 – Condições cromatográficas para análise dos isômeros de β -caroteno

O β -caroteno presente nos fígados foi determinado através de cromatografia líquida de fase reversa. A coluna de separação era C₁₈, contendo partículas de 5 μ m, com 4,6mm de diâmetro interno e 25cm de comprimento, marca Vydac 201 TP 54. A fase móvel era uma mistura de metanol:acetoneitrila:água (88:9:3 v/v/v). O detector era UV/visível e o comprimento de onda máximo na quantificação dos isômeros era de 452nm. O fluxo das injeções da fase móvel foi de 2,0mL/min. e o volume de injeção foi de 20 μ L fixado pelo *looping*.

2.6 – Identificação e quantificação dos isômeros do β -caroteno

Os compostos foram identificados através da comparação entre os tempos de retenção dos seus picos e os tempos de retenção dos picos dos padrões correspondentes e dos seus espectros cromatográficos. A quantificação foi feita utilizando-se as respectivas curvas de calibração.

2.7 – Análise estatística

As análises dos resultados obtidos durante a fase de testes foram feitas utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis, que equivale a ANOVA (One-Way Analysis of Variance) não paramétrica. Este é o teste indicado para se verificar a homogeneidade dos grupos em que o n<30, através da análise múltipla das variáveis.

Quando se verificava diferença estatisticamente significativa foi aplicado o teste de Mann-Whitney (não paramétrico). Todas as análises foram realizadas com nível de significância de 5% (p<0,05) [11].

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para se determinar os teores de retinol e β -caroteno hepático, foi analisado, sempre que possível apenas o lóbulo direito do animal. Este tipo de cuidado foi tomado para se evitar a análise de amostras muito heterogêneas. OLSON [16], encontrou uma distribuição não homogênea de retinol no fígado.

Na Tabela 1 estão as contribuições dos isômeros *todo-trans*, 9 e 13-*cis* no teor total de β -caroteno de fígado.

O isômero *todo-trans* foi o predominante nas amostras de fígado dos grupos que receberam β -caroteno como fonte de vitamina A. É interessante observar o aparecimento do isômero 9-*cis*, mesmo que em pequena porcentagem (4,1%), nos fígados de animais que haviam recebido apenas o isômero *todo-trans*, indicando claramente que houve uma isomerização do *todo-trans* em 9-*cis*. O inverso, ou seja, a re-isomerização do 9-*cis* em *todo-trans*, ocorreu em maior proporção, pois foi considerável a porcentagem de *todo-trans* (65,2%) no fígado do grupo que recebeu apenas o 9-*cis*.

TABELA 1. Porcentagem da contribuição dos isômeros *todo-trans*, 9 e 13-*cis* nos teores de β -caroteno dos fígados de ratos, analisados após os períodos de desmame, depleção e repleção.

Grupos	Isômeros (%)		
	9- <i>cis</i>	13- <i>cis</i>	<i>todo-trans</i>
Grupo Um	nd	nd	100
β <i>todo-trans</i> ¹	4,1	nd	95,9
9- <i>cis</i> ¹	34,8	nd	65,2
13- <i>cis</i> ¹	25,2	12,6	62,2

nd = não detectado

¹ grupos correspondentes ao período de repleção de vitamina A

Tem sido levantada a possibilidade do isômero 9-*cis* primeiramente passar a *todo-trans*, e este ser posteriormente convertido em retinol, ao invés da conversão direta do isômero *cis* em retinol [12, 18].

YOU *et al.* [26], para estudarem a absorção e metabolismo do 9-*cis* β -caroteno, forneceram para 3 indivíduos 1,0mg de β -caroteno, com a seguinte proporção, 99,4% de 9-*cis* e 0,6% de *todo-trans*. Os resultados obtidos sugeriram que ocorreu uma transisomerização do 9-*cis* em *todo-trans*.

YOU *et al.* [29], estudaram o metabolismo de isômero 9-*cis* marcado com carbono 13 em humanos, e encontraram dados que sugerem que este isômero pode facilitar a absorção do *todo-trans* ou ser parcialmente isomerizado formando este último, porém, não pode ser extensivamente absorvido nem diretamente metabolizado em 9-*cis* retinol.

TAMAI *et al.* [27], acreditam que o isômero 9-*cis* do β -caroteno não é absorvido diretamente através do intestino, porém pode ser encontrado nas células. A explicação para isso seria a isomerização do *todo-trans* em 9-*cis*, que ocorreria durante e após a absorção. Porém, como pode-se constatar neste trabalho, esse isômero pode ser absorvido através do intestino, a menos que ele tenha sido re-isomerizado no trato-gastrointestinal antes de ser absorvido, e depois voltado à forma de 9-*cis*.

Nos fígados do grupo que recebeu 13-*cis* foi encontrada a mistura dos três isômeros, sendo que a porcentagem do isômero 9-*cis* encontrada foi maior que a do próprio 13-*cis*, indicando que houve re-isomerização.

Duas hipóteses são sugeridas: na primeira hipótese, o 13-*cis* β -caroteno sofreria isomerização, formando *todo-trans* e 9-*cis*, concomitantemente. Na segunda hipótese, o 13-*cis* β -caroteno passaria a *todo-trans* e este por sua vez se isomerizaria em 9-*cis* β -caroteno.

Acredita-se que a primeira hipótese é a mais viável, pois, parece que são necessários mais passos para que a segunda hipótese aconteça. Além disso, a porcentagem de 9-*cis* β -caroteno formada oriunda do 13-*cis* é alta (Tabela 1). Se a segunda hipótese ocorresse, encontrar-se-

ia uma menor porcentagem de 9-*cis* no grupo que recebeu 13-*cis*. De acordo com os resultados obtidos com o grupo que recebeu 100% de *todo-trans*, menos de 5% do *todo-trans* se converteu em 9-*cis*. Assim, parece pouco provável que o 13-*cis* β -caroteno passe a *todo-trans* e que este passe a 9-*cis*. Entretanto, as duas hipóteses podem ocorrer ao mesmo tempo.

NAGAO e OLSON [15], também observaram após a administração dos isômeros *cis* do β -caroteno a ratos a formação de diferentes isômeros de retinaldeído. Quando a fonte era o isômero β -caroteno *todo-trans*, 72% do retinaldeído formado era *todo-trans*, 25% era 13-*cis* e 3% era 9-*cis*. Quando era fornecido o isômero 9-*cis* β -caroteno, 64% do retinaldeído formado era *todo-trans* e 22% era 9-*cis* e não apareceu o 13-*cis* retinaldeído. Quando a fonte era o 13-*cis* β -caroteno, as proporções eram de 74%, 18% e 7% de *todo-trans*, 13-*cis* e 9-*cis* retinaldeído, respectivamente. Para estes autores, o caminho de conversão do isômero 9-*cis* do β -caroteno em 9-*cis* e *todo-trans* retinaldeído é direto. Sobre a conversão do 13-*cis*, estes autores sugerem dois caminhos: 1) 13-*cis* β -caroteno passa a 13-*cis* retinaldeído que por sua vez passa a retinaldeído *todo-trans*, e 2) 13-*cis* β -caroteno passa a β -caroteno *todo-trans* que passa a *todo-trans* retinaldeído que passa a 13-*cis* retinaldeído. Como a proporção de 13-*cis* retinaldeído formado a partir do β -caroteno *todo-trans* era maior do que a partir do 13-*cis* β -caroteno, os autores acreditam o segundo caminho é o mais conveniente.

Aparentemente, o isômero 13-*cis* é mais susceptível à isomerização que o 9-*cis*, pois nos fígados dos grupos que receberam 9-*cis* puro, não foi detectado o 13-*cis*, e nos grupos que receberam 13-*cis* foi detectado o isômero 9-*cis*.

A metodologia empregada nesse estudo não permitiu verificar em qual fase do metabolismo ocorreu isomerização nem se a absorção do β -caroteno foi influenciada pelas formas *cis* da molécula, porém parece que tal fato ocorreu em algum momento.

Conforme observado anteriormente, a isomerização aconteceu de modo mais acentuado nos grupos que receberam o isômero 13-*cis*.

4 – CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que o isômero *todo-trans* do β -caroteno foi a principal forma isomérica encontrada no fígado de ratos que receberam carotenóides como fonte de vitamina A. Ocorreu re-isomerização do 9-*cis* em *todo-trans*, do *todo-trans* em 9-*cis*, do 13-*cis* em 9-*cis* e *todo-trans*. O 13-*cis* β -caroteno é mais susceptível à isomerização que o 9-*cis* β -caroteno, pois este último passa a *todo-trans* e nunca a 13-*cis*, já o 13-*cis* tanto pode se transformar em 9-*cis* quanto em *todo-trans*.

Os isômeros β -caroteno *todo-trans*, 9-*cis* e 13-*cis*, administrados por via intragástrica, sofrem alterações estruturais durante o seu metabolismo.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- [1] AL-ABDULALY, A. B., SIMPSON, K. L. Reversed-phase flash column chromatography for the determination of retinol in some foods. **J. Micronutr. Anal.**, Barking, v. 5, p. 161-9, 1989.
- [2] BAUERNFEIND, J. C. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 20, n. 3, p. 456-73, 1972.
- [3] BEN-AMOTZ, A., LEVY, Y. Bioavailability of a natural isomer mixture compared with synthetic *all-trans* β -carotene in human serum. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 63, p. 729-34, 1996.
- [4] BEN-AMOTZ, A., MOKADY, S., EDELSTEIN S., AVRON, M. Bioavailability of a natural isomer mixture as compared with synthetic *all-trans*- β -carotene in rats and chicks. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 119, p. 1013-9, 1989.
- [5] BIANCHINI, R. Carotenóides dos pimentões amarelos (*Capsicum annuum*, L.). Caracterização e verificação de mudanças com o cozimento. São Paulo, 1993. 101p. (Dissertação – Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas (USP).
- [6] BRITTON, G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **FASEB J.**, Bethesda, v. 9, n. 15, p. 1551-8, 1995.
- [7] CHANDLER, L. A., SCHWARTZ, S. J. Isomerization and losses of *trans*- β -carotene in sweet potatoes as affected by processing treatments. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 36, n. 1, p. 129-33, 1988.
- [8] CHANDLER, L. A., SCHWARTZ, S. J. HPLC separation of *cis-trans* carotene isomers in fresh and processed fruits and vegetables. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 52, n. 3, p. 669-72, 1987.
- [9] COSTA, M. A. L., PENTEADO, M. V. C. Alterações decorrentes de dois tipos de cozimento sobre os teores de carotenóides pró-vitâmicos A em escarolas (*Cichorium endivia* L.). **Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 95-100, 1996.
- [10] GAZIANO, J. M., JOHNSON, E. J., RUSSEL, R. M., MANSON, J. E., STAMPFER, M. J., RIDKER, P. M., FREI, B., HENNEKENS, C. H., KRINSKY, N. I. Discrimination in absorption or transport of β -carotene isomers after oral supplementation with either *all-trans* or 9-*cis*- β -carotene. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 61, p. 1248-52, 1995.
- [11] GRAPHPAD InStat tm. Copyright © 1990-1993 GraphPad Software. V2.01. Cipolla-Neto, Univ. of São Paulo. 930675S. [Programa de computador].
- [12] JENSEN, C. D., HOWES, T. W., SPILLER, G. A., PATTISON, T. S., WHITTAM, J. H., SCALA, J. Observations of the effects of ingesting *cis*- and *trans*-beta-carotene isomers on human serum concentrations. **Nutr. Rep. Int.**, Los Altos, v. 35, n. 2, p. 413-23, 1987.
- [13] LEVIN, G., MOKADY, S. Incorporation of *all-trans* or 9-*cis*- β -carotene into mixed micelles *in vitro*. **Lipids**, Champaign, v. 30, p. 177-9, 1995.
- [14] LEVIN, G., BEN-AMOTZ, A., MOKADY, S. Liver accumulation of soluble *all-trans* ou 9-*cis*- β -carotene in rats and chicks. **Comp. Biochem. Physiol.**, Oxford, v. 107A, n. 1, p. 203-7, 1994.

* De acordo com a norma NBR 6023/89 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI) 1996.

- [15] NAGAO, A., OLSON, J. A. Enzymatic formation of 9-*cis*, 13-*cis*, and all-*trans* retinaldeídos from isomers of β -carotene. **FASEB J.**, Bethesda, v. 8, p. 968-73, 1994.
- [16] OLSON, J. A. A simple dual assay for vitamin A and carotenoids in human liver. **Nutr. Rep. Int.**, Los Altos, v. 19, n. 6, p. 807-13, 1979.
- [17] ORTEGA-FLORES, C. I., PENTEADO, M. V. C. Carotenóides com atividade pró-vitamina A em cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do Estado de São Paulo. **Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 51-60, 1992.
- [18] PARKER, R. S. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. **FASEB J.**, Bethesda, v. 10, p. 542-51, 1996.
- [19] REEVES, P. G., NIELSEN, F. H., FAHEY Jr., G. C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 123, p. 1939-51, 1993.
- [20] RODRIGUEZ, D. B., RAYMUNDO, L. C., LEE, T., SIMPSON, K. L., CHICHESTER, C. O. Carotenoid pigment changes in ripening *Momordica charantia* fruits. **Ann. Bot.**, London, v. 49, p. 615-24, 1976.
- [21] SIMPSON, K. L., CHICHESTER, C. O. Metabolism and nutritional significance of carotenoids. **Annu. Rev. Nutr.**, Palo Alto, v. 1, p. 351-74, 1981.
- [22] STAHL, W., SUNDQUIST, A. R., HANUSCH, M., SCHWARZ, W., SIES, H. Separation of β -carotene and lycopene geometrical isomers in biological samples. **Clin. Chem.**, Winton Salem, v. 39, n. 5, p. 810-4, 1993a.
- [23] STAHL, W., SCHWARZ, W., SIES, H. Human serum concentrations of all-*trans* b and a-carotene but not 9-*cis* β -carotene increase upon ingestion of a natural isomer mixture obtained from *Dunaliella salina* (Betatene). **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 123, 847-51, 1993b.
- [24] STAHL, W., SCHWARZ, W., SUNDQUIST, A. R., SIES, H. *cis-trans* isomers of lycopene and β -carotene in human serum and tissues. **Arch. Biochem. Biophys.**, New York, v. 294, n. 1, p. 173-7, 1992.
- [25] SWENEY, J. P., MARSH, A. C. Liver storage of vitamin A in rats fed carotene stereoisomers. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 103, p. 20-5, 1973.
- [26] SWEENEY, J. P., MARSH, A. C. Vitamins and other nutrients. Separation of carotene stereoisomers in vegetables. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, Washington, v. 53, n. 5, 937-40, 1970.
- [27] TAMAI, H., MORINOBU, T., MURATA, T., MANAGO, M., MINO, M. 9-*cis*- β -carotene in human plasma and blood cells after ingestion of β -carotene. **Lipids**, Champaign, v. 30, p. 493-8, 1995.
- [28] YOU, C.-S., PARKER, R. S., GOODMAN, K. J., SWANSON, J. E., CORSO, T. N. Evidence of *cis-trans* isomerization of 9-*cis*- β -carotene during absorption in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 64, p. 177-83, 1996.
- [29] YOU, C.-S., PARKER, R. S., GOODMAN, K., BRENNAN, J. T., CANFIELD, W. Metabolism of [^{13}C]9-*cis*- β -carotene in humans. **FASEB J.**, Bethesda, v. 8, n. 4, p. A422, 1994.

6 – AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES pelo suporte financeiro.