

ESTUDOS SOBRE CAROTENÓIDES COM ATIVIDADE DE PROVITAMINA "A" EM CULTIVARES DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* CRANTZ) EM ECOSISTEMA DE TERRA FIRME DE MANAUS, AMAZONAS, BRASIL.

Helyde A. MARINHO¹; José Jackson B. N. XAVIER², Roberto M. MIRANDA², Janete S. CASTRO¹

RESUMO — Foram conduzidos experimentos de competição entre cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em ecossistema de terra firme (Manaus - Amazonas), com objetivo de obter melhores cultivares de mandioca com relação a produtividade e teor de caroteno pró-vitamínico A. Raízes de sete cultivares de mandioca amarela foram selecionadas para identificação e quantificação de carotenos com atividade de vitamina A, mediante o método descrito por Rodriguez. Observou-se, também, as perdas de pró-vitamina A pelo processamento e armazenamento de farinha. Constatou-se a presença de três isômeros do β - caroteno (o 13 - cis - β - caroteno, o β - caroteno todo trans e o 9 - cis - β - caroteno U). Quanto aos teores de vitamina A, expressos em equivalente de retinol, nas raízes variaram de 4,4 a 18,8. Com relação a perda de atividade da vitamina A pelo processamento variou de 25,0 a 40,0 %, enquanto que o armazenamento por 6 meses em sacos plásticos transparentes, à temperatura ambiente e à exposição de luz, resultou em degradação total de seus carotenóides. Os resultados permitem concluir que três cultivares (IM 232; IM 104 e BGM 021) apresentaram os maiores teores de pró-vitamina A.

Palavras-Chave: Caroteno, mandioca, farinha e vitamina A.

Studies of Carotenoids with Provitamin A Activity in Cultivars of Manioc (*Manihot esculenta* Crantz) in Terra-Firme Ecosystem at Manaus, Amazonas, Brazil.

ABSTRACT— Competition experiments were carried out between different cultivars of manioc (*Manihot esculenta* Crantz) in the terra firme ecosystem (Manaus, Amazonas, Brazil), with the productivity and pro-vitamin A carotene content. Roots from seven cultivars of yellow manioc were selected for the identification and quantification of carotenoids with vitamin A activity, according to the method described by Rodriguez. Pro-vitamin A loss due to processing and storage of the flour was also determined. The presence of three β - carotene isomers was noted (13 - cis - β - carotene, all trans β - carotene and 9 - cis - β - carotene). The amount of vitamin A present in the roots varied from 4.4 to 18.8 retinol equivalents. The loss of vitamin A due to processing was high, ranging from 25.3 to 40.0 %. The storage of the roots for six months in transparent plastic bags at room temperature and exposure to the sun, resulted in a total degradation of the carotenoids. The results allow one to conclude that three cultivars (IM 232; IM 104 and BGM 021) contain the highest pro-vitamin A content.

Key-words: Carotene, manioc, flour, provitamin A.

INTRODUÇÃO

Vários estudos nutricionais destacam a hipovitaminose A como um dos principais problemas nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (SILVA, 1959;

GOMES *et al.*, 1970; FLORES & ARAÚJO, 1978; MARINHO *et al.*, 1981; SANTOS *et al.*, 1983; MARINHO 1989). Inquéritos alimentares, evidenciam que dentre os nutrientes limitantes na dieta de Manaus, a vitamina A sobressai como um

¹ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA.

² EMBRAPA.

dos mais deficientes (SHRIMPTON & GIUGLIANO, 1978; YUYAMA, *et al.*, 1989; Marinho, 1989). No entanto já foi constatada a ocorrência de carotenóides pró-vitaminicos A em raízes de mandioca amarela em variedades amazônicas (MARAVALHAS, 1964; GUIMARÃES, 1971; MARINHO & ARCKOLL, 1981).

A mandioca da família Euphorbiaceae possui um vasto número de espécies, entretanto apenas duas do gênero *Manihot* são cultivadas, a mandioca brava (*Manihot esculenta*) e a mandioca mansa (*Manihot aipin*).

O Brasil destaca-se como o maior produtor, contribuindo com 30 % da produção mundial, com 25 milhões de toneladas de raízes de mandioca/ano.

Em um levantamento realizado pela EMBRAPA/CERNAGEN, 1978 foram registrados 1131 cultivares de mandioca no Brasil. Novas variedades vem sendo estudadas, sobretudo as mandiocas amarelas. Esses novos cultivares são produzidos de acordo com as características recomendadas pelos mercados consumidores, geralmente envolvem, produtividade, melhoramento nutricional (proteína, amido, vitaminas, etc.).

A farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), varia de cor, do branco ao amarelo e constitui-se num dos alimentos mais consumidos pelas populações das regiões Norte e Nordeste, notadamente nas zonas rurais do Brasil. No entanto, a produtividade da mandioca cultivada no Estado do Amazonas é muito baixa, em torno de 12 toneladas/ha.

Assim sendo, um programa de melhoramento de mandioca foi instalada

pela EMBRAPA de Manaus - Am. , na tentativa de propiciar melhores cultivares, no que concerne a produtividade e variedades mais ricas em carotenóides fontes de vitamina A, visando no futuro uma produção em grande escala, conseqüentemente baixando o custo das farinhas amarelas, contribuindo também para melhorar o estado nutricional de populações, referente a vitamina A.

Neste estudo foram determinados os teores de carotenóides com atividade de vitamina A em alguns cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) produzida pela EMBRAPA de Manaus, Amazonas.

MATERIAL E MÉTODOS

Em novembro de 1988 foi instalado pela EMBRAPA (Manaus - Am.) um experimento de competição, no ecossistema de terra firme, entre 28 cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), originárias de 336 introduções, das quais 197 coletadas na Amazônia Ocidental, e as demais fornecidas pelo Centro Nacional de Pesquisas de Mandioca e Fruticultura da EMBRAPA (Bahia). O experimento foi conduzido no Campo Experimental do Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental (CPAA), localizado num ramal do quilometro 12 da Estrada Manuel Urbano (Manaus - Manacapuru). Dos cultivares testados os que revelaram superiores, quanto à sobrevivência, produtividade e coloração amarela foram IM 006; IM 065; BGM 025; IM 021; IM 232; IM 104 e IM 036.

As análises foram realizadas no período de setembro de 1990 a março de

1992. As amostras (raízes e farinhas) de mandioca eram encaminhadas imediatamente ao laboratório de alimentação e nutrição do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA para determinações dos teores de carotenóides pró-vitamínicos A e totais. O processamento da farinha de mandioca foi conduzido segundo o fluxograma (Fig. 1).

As raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), foram descascadas, cortadas em pequenos pedaços e homogeneizada em liquificador de aço inoxidável. A extração dos carotenóides foi realizada mediante a trituração da amostra (raiz ou farinha) com a mistura éter de petróleo e acetona (1:3), até o resíduo se apresentar totalmente incolor. A solução foi transferida para um funil de separação e adicionada água destilada, para retirar acetona. Para a identificação e determinação dos teores de carotenóides utilizou-se o método descrito por RODRIGUEZ *et al.*, 1976. Realizou-se saponificação dos extratos com adição de KOH a 10% em metanol, deixando em repouso por um período aproximado de 12 horas, à temperatura ambiente. Em seguida, os extratos foram transferidos para funil de separação e levados com água destilada, várias vezes, até que a água de lavagem não se apresentasse mais alcalina. Coletou-se a solução de pigmentos, passando-a por uma coluna de Na_2SO_4 anidro. Após a leitura dos carotenóides totais a 448 nm, concentrou-se a solução em evaporador rotatório à temperatura de 25 a 35°C. Os pigmentos concentrados foram então

separados através de cromatografia de coluna de vidro (2 cm de diâmetro e 30 cm de altura) empacotada com MgO: Hyflosupercel (1:2), até altura de 10 cm. No topo da coluna foi adicionada pequena quantidade de sulfato de sódio anidro, para reter eventual água residual do extrato. Utilizou-se como fase móvel o éter de petróleo e um gradiente de acetona em éter de petróleo em concentrações variadas de 1 a 5. Recolheu-se as bandas eluídas e concentrou-se em evaporador rotatório à temperatura de 35°C. Após a concentração, levou-se a um volume determinado com éter de petróleo para leitura.

A dosagem dos carotenóides foi através de espectrofotometria. O espectro de absorção foi registrado em 350 a 550 nm, utilizou-se o espectrofotômetro marca Perkin-Elmer modelo 552 A, com registrador acoplado.

Concentrou-se novamente, a fração de β -caroteno, para separação de isômeros passando por uma coluna de vidro, empacotada com hidróxido de cálcio e pequena quantidade de sulfato de sódio anidro no topo da mesma.

Isomerização foi realizada usando solução de iodo em éter de petróleo com o objetivo de verificar a configuração cis ou trans da fração β -caroteno.

Em todas as operações o extrato de caroteno foi protegido com uso de papel alumínio e abrigo de luz. O teor de vitamina A foi calculado segundo a recomendação da NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE-NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NAS-NRC, 1980).

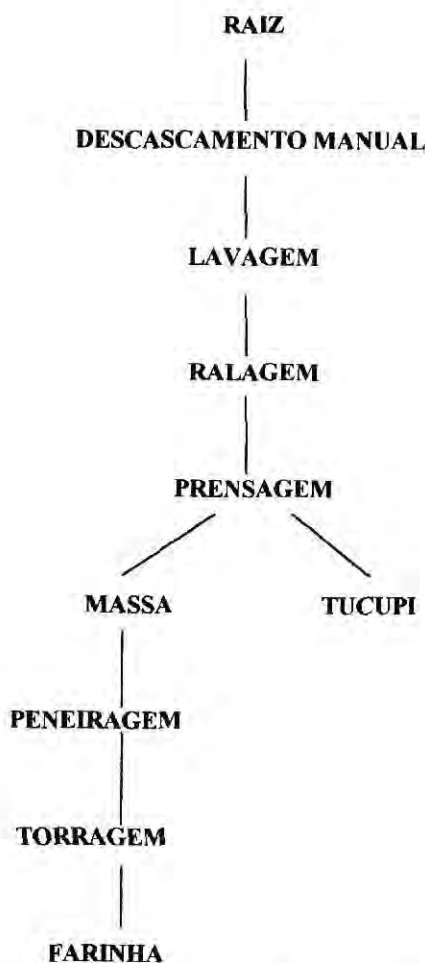


Figura 1. Fluxo do processo de produção de farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos sete cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) estudados foram verificados três frações.

A primeira fração foi identificada com a β - caroteno, e as outras duas não foi possível serem identificados devido se encontrarem em pequenas quantidades.

Na fração β - caroteno foram isolados e identificados três isômeros: 13 cis β - caroteno, β - caroteno todo trans e o

9 - cis β - caroteno (Tab. 1).

A primeira fração a ser eluída foi a do 13 cis β -caroteno, a qual ficou evidenciada tratar-se de um isômero cis, com base na reação química (teste cis/trans), tendo como resposta um aumento no comprimento de onda após adição de solução de iodo. As frações eluídas a seguir foram identificadas com β - caroteno todo trans e terceira com 9 cis β - caroteno.

A presença de carotenóides em raízes e farinha de mandioca (*Manihot*

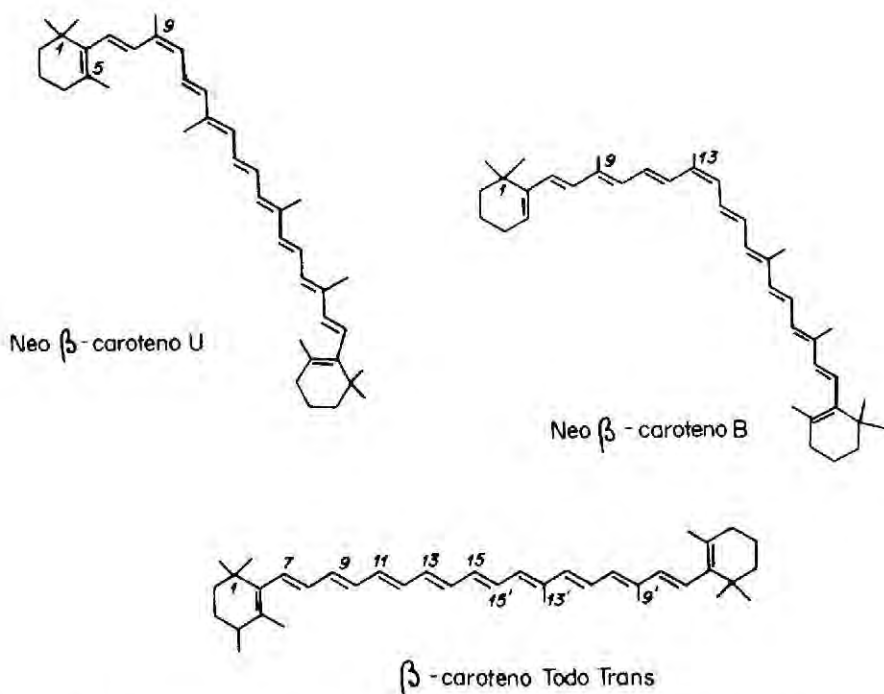


Figura 2. Estrutura dos isômeros do β -caroteno encontrados nas raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), cultivadas em ecossistema de terra firme de Manaus-AM.

Tabela 1. Características dos isômeros do β - caroteno das raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivadas em ecossistema de terra firme (Manaus-AM).

Fração	Identificação	max em éter de petróleo (nm)	Reação de Isomerização
1	13 cis β - caroteno	(418) 442 468	teste cis +
2	β - caroteno	(423) 448 475	teste trans +
3	9 cis β - caroteno	(421) 445 471	teste cis +

esculenta Crantz) de variedades da Amazônia foi registrado por MARAVALHAS, 1974 em uma variedade. Encontrou três carotenóides (α -caroteno, β -caroteno e criptoxantina). GUIMARÃES *et al*, 1971 e MARINHO & ARCKOLL, 1981,

também constataram presença de β -caroteno. Em nossas análises, conforme pode ser observado nas Tabelas 1 e 2. Foi também detectado o β -caroteno e identificados três isômeros deste, em todo os cultivares.

Observa-se, ainda na Tabela 2

que os maiores teores de β -caroteno foram encontrados na fração do isômero β -caroteno todo trans, sendo que o cultivar BGM 025 apresentou maior concentração e o cultivar IM 036 a menor, com 83 e 34 mg/100g respectivamente.

Com relação atividade de vitamina A, dos isômeros do β -caroteno foi estabelecido para o β -caroteno todo trans a biopotência de 100%, para o 13 cis - β - caroteno, 53% e para o 9 cis - β - caroteno, 38% (ZECHMEISTER, L. 1962).

Os valores de vitamina A, das raízes de mandioca expressos em Equivalentes de Retinol encontram-se na Tabela 3. A cultivar que apresentou maior atividade de provitamina A foi a IM 104 com 18, 18 ER/100g, seguida de perto pelas cultivares IM 232, IM 025 e BGM 021 com 17, 43; 16, 74 e 15, 97, respectivamente. As demais (3) cultivares apresentam abaixo de 8,78 ER/100g.

As perdas de atividade de vitamina A nas cultivares de mandioca, pelo cozimento durante 10 minutos a 98°C, estão na Tabela 4. Nesta tabela são apresentados os resultados de análises pareadas de raízes de mandioca cruas e cozidas, com e sem a separação de isômeros do β -caroteno. A perda de atividade de vitamina A variou de 25,0 a 40,0 %, sem separação de isômeros. Com a separação, a perda variou de 17,8 a 40,0 %, significantes a nível de 1 %. MARINHO & ARCKOLL (1981) e PENTEADO & ALMEIDA (1989), também observaram perdas altas pelo processamento. Sabe-se que os principais responsáveis pelas altas

perdas de atividade de vitamina A são o aquecimento e a oxidação, pois as estruturas dos carotenoides apresentam carbonos ligados por duplas ligações, que favorece a oxidação, principalmente na presença de luz, metais e peróxidos (SIMPSON, 1983). Além disso, os carotenoides todo trans são isomerizados para a forma cis, pelo aquecimento (BAUERNFEIND, 1981; SIMPSON, 1983).

Na Tabela 5, estão as perdas de atividade de vitamina A pelo processamento na produção de farinha. Quanto ao tempo de armazenamento da farinha no período de 6 meses em saco plástico, sem abrigo da luz e em temperatura ambiente, constatou-se degradação total de β -caroteno.

Compara-se os teores de vitamina A de raízes e farinhas de mandioca com os mencionados na literatura, tabela 6. Os presentes resultados estão próximos aos encontrados por PENTEADO & FLORES, 1988 em São Paulo ou seja (10,8 a 13,9 ER/100g) enquanto que os mesmos resultado variaram de 7,8 a 18,1 nas raízes de mandioca cruas. O maior teor de vitamina A observado em farinha foi de 1,9 ER/100g na cultivar IM 104.

Espera-se que estas variedades com maiores teores de pró-vitamina A sejam utilizadas pelos fabricantes de farinhas do Amazonas, com devido cuidado no processamento para evitar perdas de carotenóides pró-vitâmicos A e conseqüentemente contribuir com este nutriente na dieta de populações, onde tem a farinha de mandioca como alimento básico.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem

Tabela 2. Teores de β -caroteno de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivadas em ecossistema de terra firme (Manaus-AM).

Cultivares n° de determinações	Isômeros de β -caroteno ($\mu\text{g}/100\text{g}$)		
	13-cis- β -caroteno	β -caroteno todo trans	9-cis β -caroteno
IM 232			
crua 5	32±9	80±13	20±5
cozida 5	21±8	54±25	13±5
IM 104			
crua 5	35±19	81±27	25±6
cozida 5	29±6	71±18	16±7
IM 36			
crua 5	11±6	17±9	10±4
cozida 5	5±3	11±5	7±4
BGM 021			
crua 5	37±11	69±16	19±6
cozida 5	23±8	40±18	12±5
IM 025			
crua 5	20±18	83±28	18±9
cozida 5	15±03	69±29	11±5
IM 065			
crua 5	13±4	42±18	10±3
cozida 5	11±6	27±14	6±2
IM006			
crua 6	19±6	38±12	11±4

Tabela 3. Teores de vitamina A de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivadas em ecossistema de terra firme (Manaus-AM).

Cultivares	Isômeros de β -caroteno (ER/100g)				Total em ER
	13-cis β -caroteno	β -caroteno todo trans	9-cis β -caroteno		
IM 232					
crua	2,83	13,33	1,27	17,43	
cozida	1,85	9,00	0,82	11,67	
IM 104					
crua	3,10	13,50	1,58	18,18	
cozida	2,56	11,83	1,01	15,4	
IM 36					
crua	0,97	2,83	0,63	4,43	
cozida	0,44	1,83	0,44	2,71	
BGM 021					
crua	3,27	11,50	1,20	15,97	
cozida	2,03	6,67	0,76	9,46	
IM 025					
crua	1,77	13,83	1,14	16,77	
cozida	1,32	11,50	0,69	13,51	
IM 065					
crua	1,15	7,0	0,63	8,78	
cozida	0,97	4,5	0,38	5,85	
IM006					
crua	1,68	6,33	0,63	8,70	
cozida	1,23	4,00	0,51	5,74	

Tabela 4. Perda de atividade de vitamina A de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivadas em ecossistema de terra firme (Manaus-AM).

Cultivares	Determinações	
	Sem separação de isômeros	ER/100g Com separação de isômeros
IM 232		
crua	24,0	17,41
cozida	16,1	11,84
perda (%)	33,0	32,0
IM 104		
crua	26,1	18,18
cozida	19,6	15,40
perda (%)	25,0	17,80
IM 36		
crua	11,5	7,90
cozida	7,6	5,57
perda (%)	40,0	33,33
BGM 021		
crua	22,0	15,97
cozida	13,2	9,46
perda (%)	40,0	40,0
IM 025		
crua	22,6	16,74
cozida	16,1	13,52
perda (%)	29,0	21,4
IM 065		
crua	13,20	8,78
cozida	8,00	5,85
perda (%)	40,00	32,4
IM 006		
crua	12,00	8,70
cozida	8,00	5,74
perda (%)	33,00	32,7

Tabela 5. Comparação dos teores de vitamina A de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), segundo literatura, em equivalente de retinol/100g.

Referência	Raízes (crua)	Farinha
Franco (1982)	-	0
ENDEF-FIBGE, 1976	2	-
Penteado & Almeida (1988)	10,8 - 13,9	0,4-0,5
Este trabalho	7,86-18,18	0,2-1,9

concluir:

- Três isômeros do β -caroteno (o 13 cis β -caroteno, o β -caroteno todo trans e o 9 cis β -caroteno) presentes nas raízes e farinhas de todos cultivares estudados.

- O teor de pró-vitamina A nas raízes variou de 4,4 a 18,8 equivalente de retinol/100g.

- Degradação total de pró-vitamina A pelo armazenamento de farinha, pelo período de 6 meses.

- Três cultivares (IM 232; IM 104 e BGM 021) são boas fontes de pró-vitamina A.

Bibliografia citada

- BAUERNFEIND, J. C. 1981. *Carotenoids as colorants and vitamin A precursors*. Food Science and Technology. New York, Academic Press. p. 935-8.
- FLORES, H.; ARAUJO, C. R. C. 1980. Liver levels of retinol in unselected necropsy specimens: a prevalence survey of vitamin A deficiency in Recife, Brazil. *Am. J. Clin. Nutr.* 40:146-52.
- FRANCO, G. 1982. *Nutrição: texto básico e tabela de composição química de alimentos*. 6 ed. Rio de Janeiro. Edições Atheneu.
- FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 1976. *Tabelas de composição de Alimentos. Estudos Nacional de Despesa Familiar*, Rio de Janeiro V. 3.
- GOMES, S. F.; BATISTA, M. VARELA, R.M.; BAZANTE, M.O.; SALZAMO, A. C. 1970. Plasma retinol levels of preschool children in the sugar - cane area of Northeast Brazil. *Arch. Latinoam. Nutr.* 20:445-51.
- GUIMARÃES, M. L.; BARROS, M. S. C. 1971. Sobre a ocorrência de caroteno em variedades de mandioca amarela. *Bol. Tec. Div. Tecnol. Agric. Aliment. Rio de Janeiro*, 4:1-4.
- MARAVALHAS, N. 1964. Carotenóides de *Manihot Crantz*. In: Maravalhas, N., *Cinco estudos sobre a farinha de mandioca*. Manaus, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia: Química, pulel. nº 6. p. 35-41.
- MARINHO, H.A.; FRANÇA, T.S.; REBELO, Y.S.; SHRIMPTON, R. 1981. Níveis séricos de vitamina A em operários de Manaus-AM. *Acta Amazônica*, 11(2): 347-353.
- MARINHO, H.A.; ARCKOLL, D.B. 1981. Estudos sobre o caroteno em algumas variedades amazônicas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). *Acta Amazônica*, 11(1): 5-75.
- MARINHO, H.A. 1989. *Influência de parasitose intestinal (Ascaris lumbricoides e ou Giardia lamblia) sobre os níveis séricos de vitamina A em crianças recebendo suplementação oral de zinco e/ou vitamina A. Estudo em pré-escolares de um bairro pobre de Manaus-AM*. Dissertação de Mestrado. p. ?
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES; NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1980. Recommended dietary allowance. 1980/9 ed. Washington, 55-60.
- RODRIGUES, D. B.; RAYMUNDO, L. C.; LEE, T.C. SIMPSON, K.L.; CHICHESTER, C.O. 1976. Carotenoids pigments changes in ripening monordica charantia fruits. *Ann. Bot. London*, 40: 615-24.
- SANTOS, L. M. P.; DRICOT, J. M.; ASCIUTTI, L. A.; DRICOT-D'AMS, C. 1983. Xerophthalmia in the state of Paraíba, north-east of Brazil: clinical findings. *Am. Journ. Clin. Nutr.* 38: 139-144.
- SHRIMPTON, R.; GIUGLIANO, R. 1978. Consumo de alimentos e de alguns nutrientes em Manaus, Amazonas, 1973 - 74. *Acta Amazônica*, 9(1):117.
- SILVA, W. 1959. Inquérito sobre consumo de alimentos e nutrientes, avaliação do estado nutricional e situação econômica da população amazônica. *Bol. Com. Nac. Alim.* 42 (2):13.
- SIMPSON, K. L. 1983. Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *proc. Nutr. Soc. London*, (42):7-16.
- PENTEADO, M.V.C.; ALMEIDA, L.B. 1988. Ocorrência de carotenóides em cinco cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do Estado de São Paulo. *Rev. Farm.*

- Bioquímica. *Univ. São Paulo*, 27(1):39-49.
- YUYAMA, L. K. O.; NAGAHAMA, D.; MARINHO, H. A.; VANNUCCHI, H. 1989. *Alimentação e estado nutricional de mães em diferentes estados fisiológicos de um bairro pobre de Manaus*. Alimentação Nutrição. UNESP. V. 1, 13-17.
- ZECHMEISTER, L. *Cis - Transisomeric carotenoids, vitamin A and arylpolyenes*. 1962. New York, Springer - Verlag.

Acceto para publicação em 10.07.1996