UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Carotenóides e composição centesimal de ervilhas (*Pisum
sativum* L.) cruas e processadas

Otilia Teixeira de Carvalho

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. Marilene De Vuono Camargo Penteado

São Paulo
2007

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Carotenóides e composição centesimal de ervilhas (*Pisum
sativum* L.) cruas e processadas

Otilia Teixeira de Carvalho

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. Marilene De Vuono Camargo Penteado

São Paulo
2007

Otilia Teixeira de Carvalho

Carotenóides e composição centesimal de ervilhas (*Pisum sativum* L.)
cruas e processadas

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Marilene De Vuono Camargo Penteado
orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

“O que você pode fazer ou sonhar que pode, acontece. A determinação tem
genialidade, força e magia.”
(Goethe)

“Sabemos o que somos, mas ignoramos em que podemos tornar-nos.”
(William Shakespeare)

Aos meus pais Maria e Adrião e
ao meu irmão Amílcar

Agradecimentos

A Deus, por ter me guiado e proporcionado a oportunidade de realizar este trabalho.

À Prof. Dra. Marilene De Vuono Camargo Penteado, pela valiosa orientação e dedicação.

Ao Prof. Dr. Flávio Finardi Filho e à pesquisadora Dra. Cristiane Bonaldi Cano, por terem participado da banca de qualificação.

Ao Prof. Dr. Luiz Antonio Gioielli e à Prof. Dra. Inar Alves de Castro, pela orientação no PAE.

À CEAGESP, pelas importantes informações cedidas.

À Agro Comercial DUAS BARRAS Ltda. e ao Marcelo, por fornecer amostras e importantes informações ao trabalho.

À bibliotecária Adriana pela ajuda na elaboração e correção das referências bibliográficas.

A todos os colegas do Laboratório de Análises e Alimentos pela força e ajuda durante as análises.

Aos meus pais Adrião e Maria e ao meu irmão Amilcar pela dedicação, compreensão, incentivo e apoio.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram na execução deste trabalho.

Resumo

A ervilha é um dos alimentos mais produzidos no mundo e, conseqüentemente, tem uma grande importância para a nutrição humana, sendo comercializada sob várias formas: fresca, seca, congelada e enlatada, necessitando de cozimento antes de ser consumida. Sendo assim, podem ocorrer alterações em sua composição durante esses processamentos. O presente trabalho teve como objetivos avaliar as mudanças ocorridas devido ao processamento na composição centesimal e no perfil de carotenóides em ervilhas frescas (tortas – com vagem comestível – e em grão), secas e enlatadas e relacionar esses dados com sua origem e safra. Foram analisados seis lotes de ervilhas tortas provenientes de duas regiões produtoras (cruas e cozidas por 5 minutos), três lotes de ervilhas frescas (cruas e cozidas por 7 minutos), dois lotes de ervilhas enlatadas (processadas e sua matéria-prima) e três lotes de ervilhas secas (cruas e cozidas por 35 minutos). A umidade em ervilhas tortas diferiu entre safras e regiões produtoras e em ervilhas em grão, aumentou após o cozimento em duas amostras e variou entre safras. O cozimento ocasionou perdas nos teores de Resíduo Mineral Fixo (RMF) em ervilhas em grão e secas. Em ervilhas enlatadas, o processamento causou aumento da umidade e RMF, devido à incorporação de água e sais. Os carotenóides encontrados foram a luteína, o β -caroteno e traços de violaxantina. O perfil de carotenóides em ervilhas tortas, em grão e secas não se alterou após o cozimento, já o enlatamento revelou um aumento aparente no teor de luteína em apenas um dos lotes estudados. Os teores de luteína e β -caroteno variaram entre as diferentes épocas de coleta de ervilhas tortas, em grão e secas, porém não foi observada variação entre as duas regiões produtoras de ervilhas tortas. Os teores de luteína variaram entre as matérias-primas dos diferentes fornecedores de ervilhas enlatadas. Apenas o β -caroteno possui atividade pró-vitâmica A, porém está presente em quantidade insuficiente para fazer das ervilhas fontes desse nutriente.

Palavras-chave: Carotenóides. Ervilhas. Cromatografia em coluna aberta. Composição centesimal.

Carotenoids and centesimal composition of raw and cooked peas (*Pisum sativum* L.)

Pea is one of the world's most produced foods and therefore has great importance for human nutrition, being commercialized under different conditions: fresh, dried, frozen and canned, and further cooking is needed before being consumed. As a result, processing can cause some changes in its composition. The aim of the present work was to evaluate the changes in the centesimal composition and carotenoids profile of garden peas, snow peas, dry peas and canned peas due to processing and to compare these data according to geographic origin and crop. Six batches of snow peas from two different regions (raw and cooked for 5 min), three batches of garden peas (raw and cooked for 7 min), two batches of canned peas (processed and raw material) and three batches of dry peas (raw and cooked for 35 min) were analyzed. Water content in snow peas differed between crops and region and, in garden peas, it increased after cooking and varied between crops. Cooking caused losses in the ash content of garden and dry peas. In canned peas, processing increased water and ash contents due to absorption of water and salt. Lutein, β -carotene and traces of violaxanthin were identified in all samples. Carotenoids profile of snow, garden and dry peas did not change after cooking while canning caused an apparent increase in lutein contents only in one batch. Snow, garden and dry peas showed differences in lutein and β -carotene amount due to crops, though different regions revealed not to influence snow peas carotenoids content. The raw material from two suppliers of canned peas differed in their content of lutein. Only β -carotene is a pro-vitamin A carotenoid, however it was found in such small quantities that peas can not be considered source of this nutrient.

Keywords: Carotenoids. Peas. Open column chromatography. Centesimal composition.

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura química do isopreno.....	4
Figura 2. Estrutura química do retinol.....	5
Figura 3. Estrutura química dos principais carotenóides encontrados em vegetais.....	6
Figura 4. Ciclo da violaxantina.....	8
Figura 5. Estrutura química da luteína e do licopeno.....	12
Figura 6. Distribuição do cultivo de ervilhas em grão.....	17
Figura 7. Fluxograma do processamento de vegetais enlatados.....	24
Figura 8. Fluxograma do processamento de grãos congelados.....	25
Figura 9. Coluna de separação empacotada com MgO:Hyflosupercel (1:2), desenvolvida com éter de petróleo.....	35
Figura 10. Coluna de separação empacotada com MgO:Hyflosupercel (1:1), desenvolvida com gradiente de acetona em éter de petróleo (1 a 50%).....	36
Figura 11. Espectro de absorção do β -caroteno em éter de petróleo.....	54
Figura 12. Espectro de absorção da luteína em éter de petróleo.....	54

Lista de Tabelas

Tabela 1. Atividade pró-vitâmica A de alguns carotenóides.....	7
Tabela 2. Ingestão diária recomendada (IDR) de vitamina A.....	9
Tabela 3. Conteúdo de carotenóides em alguns alimentos (em µg/100g).....	13
Tabela 4. Estabilidade da vitamina A e do β-caroteno.....	14
Tabela 5. Perdas de β-caroteno devido ao cozimento convencional por 10 minutos.....	15
Tabela 6. Produção mundial de ervilha em grão (<i>Pisum sativum</i> L. <i>sativum</i>) em alguns países em 1999.....	18
Tabela 7. Área plantada, área colhida, quantidade e rendimento médio da produção de ervilha no Brasil.....	19
Tabela 8. Quantidade de ervilhas (<i>Pisum sativum</i> L.) comercializadas na CEAGESP no ano de 2004.....	20
Tabela 9. Relação de procedência de ervilhas (<i>Pisum sativum</i> L.) no ano de 2004 recebidas na CEAGESP.....	21
Tabela 10. Carotenóides em ervilhas (<i>Pisum sativum</i> L. <i>sativum</i>) produzidas em diversos países (µg/g de produto fresco e integral).....	26
Tabela 11. Composição centesimal de ervilhas tortas (<i>Pisum sativum</i> L. <i>macrocarpum</i>), expressa em %.....	42
Tabela 12. Composição centesimal de ervilhas em grão (<i>Pisum sativum</i> L. <i>sativum</i>) provenientes de Senador Amaral, expressa em %.....	45
Tabela 13. Composição centesimal de ervilhas secas (<i>Pisum sativum</i> L.), expressa em %.....	47
Tabela 14. Composição centesimal de ervilhas (<i>Pisum sativum</i> L.) secas partidas cruas, expressa em %.....	48
Tabela 15. Composição centesimal de ervilhas (<i>Pisum sativum</i> L.) secas partidas cozidas, expressa em %.....	49
Tabela 16. Composição centesimal de ervilhas (<i>Pisum sativum</i> L.) enlatadas – matéria-prima (MP) e produto final (PF), de dois fornecedores – A e B, expressa em %.....	50

Tabela 17. Composição centesimal de ervilhas enlatadas (<i>Pisum sativum</i> L.), expressa em %.....	51
Tabela 18. Carotenóides em ervilhas tortas (<i>Pisum sativum</i> L. <i>macrocarpum</i>) (µg/g)...	56
Tabela 19. Carotenóides em ervilhas em grão (<i>Pisum sativum</i> L. <i>sativum</i>) provenientes de Senador Amaral (µg/g).....	58
Tabela 20. Carotenóides em ervilhas secas (<i>Pisum sativum</i> L.) (µg/g).....	62
Tabela 21. Carotenóides em ervilhas enlatadas (<i>Pisum sativum</i> L.) e sua matéria-prima (µg/g).....	64

Lista de Abreviaturas e Siglas

AIS – Sólidos Insolúveis em Álcool.

CCA – Cromatografia em Coluna Aberta.

CEAGESP – Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo.

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

IDR – Ingestão Diária Recomendada.

λ max – Comprimento de onda de máxima absorbância.

MP – Matéria-prima.

PF – Produto Final.

RAE – Equivalente de Atividade de Retinol.

RE – Equivalente em Retinol.

R_f – Distância percorrida pelo composto na placa.

RMF – Resíduo Mineral Fixo.

USP – Universidade de São Paulo.

Sumário

1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica	2
2.1. Carotenóides	2
2.1.1. Propriedades físicas dos carotenóides	3
2.1.2. Estrutura química dos carotenóides	4
2.1.3. Função dos carotenóides nos vegetais	7
2.1.4. Função dos carotenóides e da vitamina A na nutrição	8
2.1.5. Hipovitaminose A	11
2.1.6. Fontes naturais de β -caroteno e vitamina A	11
2.1.7. Estabilidade de carotenóides e da vitamina A	14
2.1.8. Efeitos da estocagem e do processamento sobre carotenóides	15
2.2. Ervilha (<i>Pisum sativum</i> L.)	16
2.2.1. Produção mundial e consumo	17
2.2.2. A ervilha no Brasil	19
2.2.3. Cultivo, colheita, estocagem e processamento de ervilhas	21
2.2.3.1. Ervilhas Enlatadas	23
2.2.3.2. Ervilhas Congeladas	24
2.2.3.3. Ervilhas Secas	25
2.2.4. Valor nutricional	26
3. Objetivos	28
4. Materiais e Métodos	29
4.1. Materiais	29
4.1.1. Amostras	29
4.1.1.1. Preparo das Amostras	29
4.1.1.2. Processamento	30
4.1.2. Reagentes	30
4.2. Métodos	31
4.2.1. Composição centesimal	31
4.2.1.1. Umidade	31

4.2.1.2.	Resíduo mineral fixo (RMF).....	31
4.2.1.3.	Extrato etéreo	31
4.2.1.4.	Nitrogênio total / proteína	31
4.2.1.5.	Carboidratos totais	32
4.2.2.	Carotenóides	32
4.2.2.1.	Escolha do Método de Análise	32
4.2.2.2.	Saponificação	33
4.2.2.3.	Extração dos Carotenóides	34
4.2.2.4.	Cromatografia.....	34
4.2.2.4.1.	Coluna de MgO:Hyflosupercel.....	34
4.2.2.4.2.	Coluna de Ca(OH) ₂	37
4.2.2.5.	Identificação de Carotenóides	37
4.2.2.5.1.	Cromatografia e Espectrofotometria.....	37
4.2.2.5.2.	Testes Químicos.....	38
4.2.2.5.2.1.	Teste <i>cis-trans</i>	38
4.2.2.5.2.2.	Teste de Epóxido.....	38
4.2.2.5.2.3.	Teste de Metilação	38
4.2.2.5.2.4.	Teste de Acetilação	39
4.2.2.6.	Quantificação de Carotenóides	39
4.2.3.	Análise Estatística	40
5.	Resultados e discussão	41
5.1.	Composição centesimal	41
5.2.	Carotenóides	52
5.2.1.	Teste dos Métodos de Saponificação.....	52
5.2.2.	Teste das Colunas.....	52
5.2.3.	Testes Químicos.....	53
5.2.4.	Quantificação dos Carotenóides Individuais.....	54
5.2.5.	Cálculo de Vitamina A	65
6.	Conclusões.....	66
7.	Referências Bibliográficas*	68

1. Introdução

Os carotenóides são pigmentos que conferem cores aos alimentos que vão do amarelo ao vermelho. São encontrados naturalmente em vegetais de folhas verdes, frutas vermelhas e amarelas, algumas raízes, sementes e alguns produtos de origem animal, como gema de ovo, leite e manteiga (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003).

Alguns carotenóides possuem atividade pró-vitâmica A, sendo de grande importância na nutrição humana, pois a deficiência desta vitamina é a responsável por vários males, entre eles, a cegueira noturna, malformação fetal, xeroftalmia e até a morte (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 1998). Além disso, o consumo de carotenóides é freqüentemente relacionado à redução do risco de algumas doenças degenerativas, como câncer, problemas cardiovasculares e catarata (QUIRÓS e COSTA, 2006; BURNS *et al.*, 2003; OLIVER e PALOU, 2000).

As tabelas de composição nutricional indicam as fontes ricas em vitamina A, porém existe um grande conflito entre os valores mostrados em algumas delas, o que pode ser explicado pelas diferentes metodologias de análise empregadas (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003).

Assim, é de grande importância a análise quantitativa de carotenóides em alimentos consumidos no Brasil, pois os valores para esses nutrientes geralmente são provenientes de tabelas estrangeiras. Esses valores não refletem a realidade brasileira, tendo em vista que os teores de carotenóides variam de acordo com vários fatores, como o clima, o cultivar, o solo e a maturidade do vegetal (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Além disso, os valores existentes, em sua maioria, representam teores de carotenóides totais e apenas em alimentos crus.

A ervilha, como um dos alimentos mais produzidos no mundo, tem grande importância como fonte de nutrientes para a nutrição humana. Além disso, por ser consumida de várias formas (fresca, seca, congelada e enlatada), pode apresentar diferentes atividades pró-vitâmica A devido aos vários processamentos a que é submetida.

Como não há dados nacionais sobre o teor de carotenóides em ervilhas, o presente trabalho teve como objetivo principal quantificar e avaliar suas perdas durante o cozimento doméstico e processamento industrial. Além disso, pretende-se determinar a composição centesimal desses produtos e comparar esses dados em relação a sua origem, safra e lote. Os valores obtidos contribuirão com dados para a tabela nacional de composição nutricional de alimentos.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Carotenóides

As colorações amarela, laranja e vermelha em muitos alimentos são devidas à presença de carotenóides, que figuram entre os mais importantes pigmentos naturais (BURNS *et al.*, 2003; BARTLEY e SCOLNICK, 1995). Juntamente com as clorofilas e antocianinas, os carotenóides são pigmentos encontrados em todos os organismos fotossintetizantes, e são encontrados também em alimentos de origem animal, como ovos e leite. Os vegetais são os únicos organismos capazes de sintetizar os carotenóides, constituindo, assim, a única fonte deste nutriente para animais (QUIRÓS e COSTA, 2006; ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003; BALL, 1998; GROSS, 1987).

Brócolis, alface, salsinha, ervilhas, pimentas, espinafre e agrião são boas fontes de luteína (>1000µg/100g); tomates e derivados são boa fonte de licopeno (HART e SCOTT, 1995); e brócolis, cenouras, alface, salsinha, espinafre e agrião são boas fontes de β-caroteno (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003; HART e SCOTT, 1995).

Os carotenóides são pigmentos de estrutura isoprenóide cuja coloração varia entre o amarelo e o vermelho. Este grupo está amplamente distribuído pela natureza, principalmente nos vegetais (OLIVER e PALOU, 2000; MINAZZI-RODRIGUES e PENTEADO, 1989; GROSS, 1987). São encontrados em todos os vegetais verdes em complexos pigmento-proteína nos cloroplastos. A sua coloração amarela é mascarada

pela coloração verde das clorofilas, porém ela é revelada com a destruição destas (BRITTON, 1995; BARTLEY e SCOLNICK, 1995). Os carotenóides podem ser divididos em carotenos, que são hidrocarbonetos, e xantofilas, seus derivados oxigenados (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003; BALL, 1998; GROSS, 1987).

A análise de carotenóides é delicada por causa de sua instabilidade, sensibilidade à luz, à temperatura e à ação de ácidos e serem facilmente oxidados (OLIVER e PALOU, 2000; SCHIEDT e LIAAEN-JENSEN, 1995; HART e SCOTT, 1995; GROSS, 1987). Por serem moléculas altamente insaturadas, são suscetíveis à isomerização, o que causa perda de cor e posterior oxidação (OLIVER e PALOU, 2000; HART e SCOTT, 1995; ALMEIDA e PENTEADO, 1987a).

Portanto, qualquer que seja o método utilizado, algumas medidas de precaução para evitar a formação de compostos indesejáveis ou perdas devem ser tomadas. São elas: execução da análise no menor tempo possível, em atmosfera pobre em oxigênio, ao abrigo da luz, a baixa temperatura, sem contato com ácidos e a utilização de solventes com alto grau de pureza e antioxidantes (OLIVER e PALOU, 2000; RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

2.1.1. Propriedades físicas dos carotenóides

Os carotenóides cristalizam sob várias formas, e sua coloração varia entre vermelho alaranjado e violeta escuro (GROSS, 1987). Cada carotenóide tem um espectro específico de absorção de luz. A posição do espectro de absorção é função do número de duplas ligações em sua molécula. O valor máximo de absorbância depende da natureza do cromóforo, número de duplas ligações e do solvente utilizado (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007; GROSS, 1987).

A cor dos carotenóides, que pode ser vista em solução e durante a cromatografia, facilita o isolamento e o monitoramento da purificação e das reações químicas. Uma mudança na coloração revela que houve modificação na estrutura da molécula (BERNHARD, 1995). Sua estrutura característica, com sistema de duplas

ligações conjugadas influencia suas propriedades químicas, bioquímicas e físicas (QUIRÓS e COSTA, 2006).

Os carotenóides são substâncias lipossolúveis, além de serem solúveis em solventes polares como acetona, álcool, éter dietílico e clorofórmio e em solventes apolares, como éter de petróleo e hexano (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003; SCHIEDT e LIAAEN-JENSEN, 1995; BALL, 1998; GROSS, 1987).

2.1.2. Estrutura química dos carotenóides

Os carotenóides são compostos de estrutura poli isoprenóide que possuem no centro de sua molécula uma ligação 1:6 (cauda-cauda) entre duas moléculas de estrutura alifática ou alicíclica, compostas, normalmente, por oito grupos isopreno (**Figura 1**) ligados na posição 1:5 (cabeça-cauda) (OLIVER e PALOU, 2000).

Figura 1. Estrutura química do isopreno.

Os carotenóides podem ser classificados como carotenos, os quais possuem apenas átomos de carbono e hidrogênio em sua molécula, e xantofilas, que apresentam alguns grupos com oxigênio, como hidroxilas, cetonas e epóxidos. Nas suas extremidades, os carotenóides podem apresentar grupos lineares ou cíclicos (ciclohexanos e ciclopentanos) (QUIRÓS e COSTA, 2006; OLIVER e PALOU, 2000).

A forma mais estável da molécula é aquela em que todas as suas duplas ligações estão na forma *trans*. Nessa configuração, o retinol (**Figura 2**) tem máxima atividade pró-vitáminica A (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003; BALL, 1998). A isomerização depende da estrutura e da configuração do carotenóide, e aumenta conforme o aumento da temperatura e da intensidade de luz e é induzida na presença de ácidos (GROSS, 1987). A formação de estrutura *cis* é considerada degenerativa em

tecidos vegetais senescentes, embora existam alguns isômeros *cis* que ocorram naturalmente (MINAZZI-RODRIGUES e PENTEADO, 1989).

Figura 2. Estrutura química do retinol.

Entre os carotenóides já identificados, cerca de 50 possuem atividade pró-vitamínica A (BALL, 1998). Destes, apenas os α , β , γ -caroteno e β -criptoxantina (**Figura 3**) são comuns em vegetais (BALL, 1998; OTTAWAY, 1993).

Figura 3. Estrutura química dos principais carotenóides encontrados em vegetais.

O carotenóide mais importante na nutrição é o β -caroteno, pois, por ser composto por duas moléculas de retinol, tem máxima atividade pró-vitáminica A. Os outros carotenóides com atividade pró-vitáminica A possuem apenas uma molécula de retinol, contribuindo, assim, com apenas cerca de 50% da atividade do β -caroteno (BALL, 1998). As atividades pró-vitámicas A de alguns carotenóides são mostradas na **Tabela 1**.

Tabela 1. Atividade pró-vitâmica A de alguns carotenóides.

Carotenóides	Atividade (%)
β -caroteno	100
α -caroteno	50 – 54
γ -caroteno	42 – 50
5,6-monoepóxi β -caroteno	21
β -criptoxantina	50 – 60
β -apo-10'-carotenal	Ativo
β -apo-8'-carotenal	32 – 72
luteína	Inativo
licopeno	Inativo
9- <i>cis</i> - β -caroteno	37
13- <i>cis</i> - β -caroteno	45,6

Fonte: ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003.

2.1.3. Função dos carotenóides nos vegetais

A estrutura dos carotenóides lhes confere propriedades que são responsáveis pelas funções e ações em todos os organismos vivos (OLIVER e PALOU, 2000). Em tecidos fotossintetizantes sua principal função é a proteção contra a oxidação podendo contribuir também para a coloração de flores e frutos (BARTLEY e SCOLNIK, 1995).

Nos cloroplastos, os carotenóides atuam como pigmentos coadjuvantes da fotossíntese, absorvendo a luz na região entre 400 e 600nm do espectro. Além disso, eles atuam como agentes protetores contra possíveis danos causados pela luz visível (SILVA e MERCADANTE, 2002; LANDRUM e BONE, 2001; OLIVER e PALOU, 2000; BARTLEY e SCOLNIK, 1995; GROSS, 1987).

Alguns carotenóides estão envolvidos no mecanismo de fotoproteção através do ciclo da violaxantina, anteraxantina e zeaxantina (**Figura 4**) e permitem a

desenergização das clorofilas através do processo de dissipação térmica (GROSS, 1987).

Figura 4. Ciclo da violaxantina.

Fonte: GROSS, 1987.

2.1.4. Função dos carotenóides e da vitamina A na nutrição

Uma das funções fisiológicas dos carotenóides é atuar como precursor da vitamina A em organismos animais (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003; SILVA e MERCADANTE, 2002; GROSS, 1987). O retinol é essencial para o crescimento, visão, diferenciação celular, proliferação, reprodução e integridade do sistema imunológico e desenvolvimento dos tecidos (OLIVER e PALOU, 2000; OTTAWAY, 1993). No tecido epitelial, ele é transformado irreversivelmente em ácido retinóico.

Um dos motivos que afetam a biodisponibilidade dos carotenóides para a nutrição humana é a baixa digestibilidade das células fibrosas dos vegetais. Em uma alimentação normal, a vitamina A é absorvida com uma eficiência de 70 a 90%, já para os carotenóides, esses valores são reduzidos de 20 a 50% (BALL, 1998).

A **Tabela 2** mostra a ingestão diária recomendada (IDR) de vitamina A segundo a RDC nº 269, de 23 de setembro de 2005 e o Institute of Medicine of the National Academies.

Tabela 2. Ingestão diária recomendada (IDR) de vitamina A.

Faixa Etária	Vit. A (µg RE) (BRASIL, 2005b)	Vit. A (µg/d) (INSTITUTE OF MEDICINE OF THE NATIONAL ACADEMIES, 2006)
Lactentes (0-6meses)	375	400*
Lactentes (7-11 meses)	400	500*
Crianças (1-3 anos)	400	300
Crianças (4-6 anos)	450	
Crianças (4-8 anos)		400
Crianças (7-10 anos)	500	
Crianças (9-13 anos)		600
Gestantes	800	
Gestantes (14-18 anos)		750
Gestantes (>19 anos)		770
Lactantes	850	
Lactantes (14-18 anos)		1200
Lactantes (>19 anos)		1300
Adultos	600	
Homens		900
Mulheres		700

* Ingestão adequada.

Fontes: BRASIL, 2005b; INSTITUTE OF MEDICINE OF THE NATIONAL ACADEMIES, 2006.

A legislação brasileira ainda considera que 1µg de retinol equivale a 6µg de β-caroteno e 12µg dos demais carotenóides com atividade pró-vitâmica A.

O Institute of Medicine of the National Academies apresenta esses valores em equivalente de atividade de retinol (RAE). Essa atividade é calculada como é mostrado a seguir:

1 RAE = 1µg retinol

12µg β-caroteno

24µg α-caroteno

24µg β-criptoxantina

Esses valores são o dobro dos valores de equivalente em retinol (RE) para carotenóides com atividade pró-vitâmica A. Já para a vitamina A, o RAE é igual ao RE (INSTITUTE OF MEDICINE OF THE NATIONAL ACADEMIES, 2006; CAMPOS e ROSADO, 2005).

Os carotenóides também agem como antioxidantes por reagirem com o oxigênio singlet, que é altamente reativo, transformando-o em oxigênio triplet, mais estável que aquele (PRESOTO *et al.*, 2000; SHAHIDI, 1997). Além disso, vêm sendo utilizados por muitos anos no tratamento de doenças relacionadas à fotossensibilidade (OLIVER e PALOU, 2000).

Por serem antioxidantes naturais, os carotenóides promovem proteção contra radicais livres e são associados com a redução do risco de aparecimento de doenças crônicas como problemas cardiovasculares (VOUTILAINEN *et al.*, 2006; KRITCHEVSKY, 1999), câncer (Van POPPEL e GOLDBOHN, 1995), diabetes, mal de Alzheimer, catarata e o declínio de algumas atividades relacionadas ao envelhecimento (PORCU e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006; QUIRÓS e COSTA, 2006; BURNS *et al.*, 2003; SILVA e MERCADANTE, 2002; OLIVER e PALOU, 2000).

As funções oxidantes e antioxidantes são determinantes na função das células imunológicas, incluindo a manutenção da integridade e funcionabilidade da membrana lipídica, das proteínas celulares e dos ácidos nucléicos, bem como no controle de sua expressão genética (PRESOTO *et al.*, 2000).

A ingestão de licopeno está associada à diminuição da incidência de câncer de próstata, enquanto que altos índices de β -caroteno estão relacionados à redução do risco de desenvolvimento de câncer de pulmão (Van POPPEL e GOLDBOHN, 1995). As xantofilas, luteína e zeaxantina protegem o olho contra a degeneração do cristalino que ocorre com o envelhecimento, complexando o oxigênio singlet e absorvendo a luz azul na retina (QUIRÓS e COSTA, 2006; LANDRUM e BONE, 2001).

A vitamina A está envolvida no processo de crescimento e no funcionamento normal do sistema imunológico. Os benefícios para a saúde podem ser alcançados aumentando o consumo de alimentos ricos em vitamina A, porém o consumo de suplementos vitamínicos tem pouco ou nenhum resultado na prevenção da maioria dos

tumores em populações nutridas adequadamente, ou podem, ainda, aumentar o risco de câncer de pulmão em fumantes (OLIVER e PALOU, 2000; BALL, 1998).

2.1.5. Hipovitaminose A

A deficiência de vitamina A é um problema de saúde pública em vários países em desenvolvimento, inclusive em algumas regiões do Brasil (PRESOTO *et al.*, 2000; ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 1998; SANT'ANNA e PENTEADO, 1996).

A cegueira noturna é um sinal da falta de vitamina A no organismo. Além disso, na falta desse nutriente, as células epiteliais deixam de diferenciar-se, perdendo, assim sua função secretora. Nesse processo, as células multiplicam-se a uma taxa elevada e produzem uma superfície queratinizada (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 1998; BALL, 1998). Isso pode levar à falta de lubrificação da conjuntiva e da córnea (xeroftalmia), com subsequente ulceração, ou pode haver amolecimento da córnea (queratomalácia) que, se não for tratada, pode causar cegueira permanente (BALL, 1998; OTTAWAY, 1993). A falta de apetite relacionada à falta de vitamina A na dieta pode ser devida à queratinização das papilas gustativas (BALL, 1998).

A ingestão de vegetais folhosos pode ser uma alternativa barata para suprir a deficiência dessa vitamina. Estima-se que, devido ao alto custo de uma dieta que inclua fontes animais de nutrientes, em países em desenvolvimento o consumo de vegetais contribua com até 82% da ingestão de vitamina A. Essa proporção é de 30 a 50% em países desenvolvidos (ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 2000).

2.1.6. Fontes naturais de β -caroteno e vitamina A

A ocorrência de vitaminas nos vegetais depende de vários fatores, como a variedades de planta, a estação do ano, as condições de crescimento e climáticas da região produtora, a raça, o estágio de maturação, estocagem e tratamento dado ao alimento após a colheita. Além disso, os valores encontrados em tabelas de

composição nutricional variam de acordo com o método analítico e as amostras utilizadas nas análises (QUIRÓS e COSTA, 2006; OTTAWAY, 1993).

O β -caroteno, principal precursor da vitamina A, está presente na maioria dos vegetais. Outros carotenóides que também possuem atividade pró-vitâmica A são encontrados em outras fontes, como alguns tipos de algas, esponjas vermelhas e crustáceos. Carotenóides inativos como precursores da vitamina A, como luteína (**Figura 5**), podem ser encontrados em vários alimentos, como vegetais verde escuro, milho, batatas, frangos e ovos e como o licopeno (**Figura 5**), que está presente em tomates, melancias, damascos e pimentões (OTTAWAY, 1993).

Figura 5. Estrutura química da luteína e do licopeno.

Durante o amadurecimento de frutas, o decréscimo no conteúdo de clorofila é geralmente acompanhado de um aumento no conteúdo de carotenóides (BALL, 1998). Em vegetais verdes ou branco-amarelados, o teor de luteína predomina sobre o de β -caroteno, já em tecidos vegetais cor de laranja e avermelhados, o perfil de carotenóides é bem mais complexo e são encontrados outros carotenóides majoritários (GRANADO *et al.*, 1992).

Tecidos animais também podem ser fonte destes nutrientes, como a gema dos ovos, fígado, leite, creme de leite, queijos, manteiga e margarinas (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003; OTTAWAY, 1993).

Toda a vitamina A encontrada nos alimentos de origem vegetal é derivada de carotenóides com atividade pró-vitâmica A. As únicas fontes de vitamina A para os

seres humanos são de origem animal. Os retinóis estão presentes em tecidos animais devido à conversão enzimática de carotenóides com atividade pró-vitâmica A em seu trato gastrintestinal (BALL, 1998).

O conteúdo de β -caroteno em alguns alimentos é mostrado na **Tabela 3**.

Tabela 3. Conteúdo de carotenóides em alguns alimentos (em $\mu\text{g/g}$).

Alimento	β -caroteno ($\mu\text{g/g}$)	Referência
Mandioquinha	0,82	ALMEIDA e PENTEADO, 1987b
Batata-doce	0,61	ALMEIDA e PENTEADO, 1988
Repolho	0,38	ALMEIDA-MURADIAN <i>et al.</i> , 1995
Pimentão amarelo	1,13 – 2,16	BIANCHINI e PENTEADO, 1998
Escarola	16,29 – 26,53	COSTA e PENTEADO, 1996
Salsa	55	PRESOTO <i>et al.</i> , 2000
Folhas de mostarda	60	MINAZZI-RODRIGUES e PENTEADO, 1989
Serralha (folha)	63 - 83	ALMEIDA-MURADIAN <i>et al.</i> , 2000; ALMEIDA-MURADIAN <i>et al.</i> , 1998
Cenoura (raiz)	34	ALMEIDA e PENTEADO, 1987a
Censura (folha)	29	ALMEIDA-MURADIAN <i>et al.</i> , 1998
Beterraba (folha)	54,40 – 66,00	ALMEIDA-MURADIAN <i>et al.</i> , 1998

Na maioria das frutas e vegetais, o β -caroteno constitui mais de 85% do total da atividade pró-vitâmica A. Em muitas frutas e vegetais, a concentração de carotenóides ativos é baixa, se comparada à dos inativos (BALL, 1998).

Naturalmente, os carotenóides apresentam-se na forma *trans*, porém a forma *cis* já foi encontrada em algumas frutas e vegetais. Alguns processamentos para conservação de alimentos, especialmente o enlatamento induzem a isomerização *cis-trans* (ALMEIDA-MURADIAN e PENTEADO, 2003; BALL, 1998).

Sabe-se que tecidos vegetais superiores possuem quatro carotenóides principais: o β -caroteno, a luteína, a violaxantina e a neoxantina (MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Apesar disso, ainda há pouca informação na literatura a respeito dos carotenóides minoritários presentes nos alimentos. Calcula-se que uma

média de 77% dos carotenóides presentes em alimentos foi identificada e quantificada. Na maioria dos casos, esses dados são apresentados como carotenóides totais ou equivalentes em retinol (BURNS *et al.*, 2003; ALMEIDA-MURADIAN *et al.*, 1998).

2.1.7. Estabilidade de carotenóides e da vitamina A

No tecido vegetal, os carotenóides são compostos estáveis, porém, quando isolados, são suscetíveis à ação da luz, calor e ácidos (BALL, 1998). O próprio tecido vegetal possui enzimas lipoxigenases, que catalisam a oxidação dos carotenóides. A alta suscetibilidade da molécula à oxidação e à isomerização é devida ao grande número de duplas ligações em sua molécula (ALMEIDA e PENTEADO, 1987a).

A estabilidade da vitamina A e do β -caroteno é mostrada na **Tabela 4**.

Tabela 4. Estabilidade da vitamina A e do β -caroteno.

	Vitamina A	β -caroteno
Aquecimento	Instável	
Luz (UV)	Instável	Instável
Oxigênio atmosférico	Muito instável	Instável
pH ácido	Instável	Instável
pH alcalino	Estável	
Agentes oxidantes		
Agentes redutores		
Íons metálicos	Instável	
Radiação ionizante	Instável	

Fonte: OTTAWAY, 1993.

Por causa dessa instabilidade, as análises de carotenóides devem ser feitas no menor tempo possível, na ausência de oxigênio, protegidas da luz, evitando altas temperaturas e o contato com ácidos, devendo os reagentes utilizados ser livres de impurezas (RODRIGUEZ-AMAYA, 2000; RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

2.1.8. Efeitos da estocagem e do processamento sobre carotenóides

Alimentos com alto teor de lipídeos, quando aquecidos a temperaturas muito altas, têm um decréscimo significativo em sua atividade de vitamina A. Isso é devido aos peróxidos decorrentes do processo de rancidez oxidativa que atacam e destroem a vitamina A e os carotenóides (BALL, 1998).

Recentemente tem sido verificado que o cozimento leve de vegetais aumenta a biodisponibilidade dos carotenóides, pois as suas ligações com lipoproteínas e algumas membranas são quebradas (HART e SCOTT, 1995; GRANADO *et al.*, 1992). Já um cozimento excessivo causa perda da vitamina A pela exposição ao calor e ao oxigênio (BALL, 1998).

Muitos trabalhos apresentam as perdas de carotenóides ocorridas devido ao processamento de vegetais. Dados relativos às perdas de β -caroteno devido ao cozimento de alguns vegetais estão apresentados na **Tabela 5**.

Tabela 5. Perdas de β -caroteno devido ao cozimento convencional por 10 minutos.

Alimento	Perda de β -caroteno	Referência
Cenoura	14%	ALMEIDA e PENTEADO, 1987a
Mandioquinha	30%	ALMEIDA e PENTEADO, 1987b
Mandioca*	20 a 55%**	PENTEADO e ALMEIDA, 1988
Batata doce	26%	ALMEIDA e PENTEADO, 1988
Repolho (folhas internas)	45%	ALMEIDA-MURADIAN <i>et al.</i> , 1995
Repolho (folhas externas)	41%	ALMEIDA-MURADIAN <i>et al.</i> , 1995
Espinafre	16%	SANT'ANNA e PENTEADO, 1996
Folha de couve-flor	37%	SANT'ANNA e PENTEADO, 1996
Escarola "Valdena"	31,2%	COSTA e PENTEADO, 1996
Escarola "Full Heart"	46,1%	COSTA e PENTEADO, 1996
Serralha	21%	COSTA e PENTEADO, 1996
Salsão	11%	COSTA e PENTEADO, 1996

* Cozimento por 30 minutos

** perda em atividade pró-vitâmica A

PENTEADO e ALMEIDA (1988) verificaram que não houve perdas na atividade pró-vitáminica A em mandiocas armazenadas em freezer a -20°C por seis meses. Porém o armazenamento de sua farinha pelo mesmo período a temperatura ambiente provocou degradação total dos carotenóides.

ALMEIDA-MURADIAN *et al.* (2000) pesquisaram, juntamente com a serralha e o salsão, os carotenóides da hortelã crua e cozida e este vegetal, ao contrário dos demais, teve seu teor de β -caroteno aumentado em 12,53% devido ao cozimento.

Alimentos desidratados são altamente suscetíveis à perda de vitamina A e pró-vitamina A devido à oxidação em meios com baixa atividade de água. Essa perda pode ser minimizada procedendo-se o branqueamento antes da desidratação (BALL, 1998).

A utilização de pesticidas provoca uma diminuição no teor de carotenóides devido à inibição da síntese dos mesmos (BARTLEY e SCOLNIK, 1995).

2.2. Ervilha (*Pisum sativum* L.)

A ervilha (*Pisum sativum* L.) é um dos vegetais mais antigos cultivados no mundo, figurando entre os dez mais consumidos. É originária do Oriente Médio, porém, hoje é um vegetal cultivado em várias partes do mundo, tendo restrições em países de climas tropical e subtropical (DESHPANDE e ADSULE, 1998; SCHUCHERT, 2006; WUTKE *et al.*, 2006).

A produção de ervilhas em grão está distribuída no mundo conforme é mostrado no mapa da **Figura 6**.

Região de origem: ■ Região de cultivo: ■

Figura 6. Distribuição do cultivo de ervilhas em grão.

Fonte: SCHUCHERT, 2006.

As ervilhas comestíveis são classificadas em ervilhas de jardim ou em grão (*Pisum sativum* L. *sativum*), que são subdivididas em lisas e rugosas. Estas últimas, por terem alto teor de amilose, são cultivadas apenas para a produção de amido (SCHUCHERT, 2006), e ervilhas tortas (*Pisum sativum* L. *macrocarpum*), que possuem vagem comestível (STEPHENS, 2006a).

Ervilhas em grão são mais sensíveis a altas temperaturas do que ervilhas tortas. Por essa razão, são produzidas preferencialmente em regiões temperadas (STEPHENS, 2006b). No Brasil, sua produção se restringe aos meses de maio a outubro, enquanto que ervilhas tortas são produzidas o ano todo.

2.2.1. Produção mundial e consumo

As plantações de ervilhas foram as primeiras a serem cruzadas para produzir novas variedades mais atraentes ao consumidor. Muitos cruzamentos foram feitos até o final do século XIX, dos quais, o mais célebre foi conduzido por Gregor Mendel na, então, Tchecoslováquia, de onde nasceram os fundamentos da genética (DESHPANDE e ADSULE, 1998).

Quase 80% da produção mundial de ervilhas é direcionada para a forma seca do produto e apenas 20% é comercializada como ervilha verde. Das ervilhas verdes, aproximadamente 50% são comercializadas congeladas, 40%, enlatadas e 9%, desidratadas (DESHPANDE e ADSULE, 1998).

O mercado de ervilhas tem-se modificado ao longo dos últimos anos, verificando-se uma diminuição do consumo de ervilhas frescas e uma migração dos consumidores de ervilhas enlatadas para ervilhas congeladas. Isso se deve, provavelmente, ao fato da produção de ervilhas frescas ter um alto custo, relacionado ao alto custo de mão de obra na colheita. As ervilhas congeladas apresentam melhores características por períodos mais longos que as frescas, resultando em aumento na popularidade daquelas (DESHPANDE e ADSULE, 1998).

Em 1999, a produção mundial foi de aproximadamente sete milhões de toneladas (em base debulhada) e esteve distribuída pelo mundo como é mostrado na **Tabela 6**.

Tabela 6. Produção mundial de ervilha em grão (*Pisum sativum* L. *sativum*) em alguns países em 1999.

País/Continente	Produção (1000 ton)
Mundo	
Índia	2000
China	1100
Estados Unidos	1000
Mercosul	
Peru	68
Chile	30
Brasil	2

Fonte: KUROZAWA, 2007.

2.2.2. A ervilha no Brasil

Seu consumo no Brasil restringia-se ao produto importado, devido às características climáticas necessárias à produção. Em 1986 iniciou-se a tentativa de produção nacional após serem desenvolvidos estudos para aclimação da cultura (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2004; WUTKE *et al.*, 2006). Seu cultivo é feito durante o inverno, sua época de semeadura vai de março a maio e a colheita é feita de 75 a 140 dias após a semeadura, dependendo do ciclo do cultivar utilizado (WUTKE *et al.*, 2006).

Com a introdução, adaptação e desenvolvimento de tecnologia de produção de ervilha no Planalto Central, o Brasil reduziu sua importação em 70%, nos últimos 20 anos. Nesse período, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) lançou diversas variedades de ervilha com resistência a doenças. Também colocou no mercado as quatro primeiras variedades brasileiras específicas para congelamento. Este produto apresenta 50% mais de aproveitamento sobre a ervilha verde importada. Sua produção veio suprir a demanda pelo produto para consumo “*in natura*” ou congelado (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2004).

A produção brasileira de ervilha em grão nos anos de 2000 e 2001, bem como a área utilizada para seu plantio, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), são apresentados na **Tabela 7**.

Tabela 7. Área plantada, área colhida, quantidade e rendimento médio da produção de ervilha no Brasil.

Ano	Área plantada (ha)	Área colhida (ha)	Quantidade produzida (t)	Rendimento médio (kg/ha)
2000	1 470	1 467	3 699	2 521
2001	1 893	1 893	4 442	2 346

Fontes: INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2007a; 2007b.

A EMBRAPA também desenvolveu a ervilha Axé, uma variedade de ervilha verde, especialmente para a agroindústria (grãos verdes enlatados e grãos

congelados). Apresenta produtividade superior em relação às variedades existentes atualmente no mercado (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2004).

Além disso, o Centro Nacional de Pesquisa de Hortalças da EMBRAPA desenvolveu e coloca à disposição dos agricultores e agroindústrias quatro cultivares de ervilha-verde – Forró, Frevo, Pagode e Samba. Essas variedades têm a vantagem de poderem ser congeladas ou enlatadas logo após a colheita, sem a necessidade de reidratação antes de serem processadas (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2006).

Em São Paulo, a comercialização de ervilhas e de todos os outros vegetais “*in natura*” é feita pela Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP). As quantidades de ervilhas tortas e em grãos comercializadas pela CEAGESP no ano de 2004 estão apresentadas na **Tabela 8**.

Tabela 8. Quantidade de ervilhas (*Pisum sativum* L.) comercializadas na CEAGESP no ano de 2004.

Mês	Ervilha em grão (caixas de 12 kg)	Ervilha torta (caixas de 15 kg)
Janeiro	955	10790
Fevereiro	1062	6034
Março	917	8090
Abril	1560	14263
Maio	1490	13804
Junho	3182	12778
Julho	6606	20093
Agosto	8004	24323
Setembro	10802	22188
Outubro	4110	10317
Novembro	1971	10074
Dezembro	1587	10850
Total	42246	163604

Fonte: COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO, 2005b.

As ervilhas comercializadas em São Paulo são de diversas procedências, inclusive de outros Estados e regiões do Brasil. As cidades que mais fornecem o produto para a CEAGESP e suas respectivas quantidades são mostradas na **Tabela 9**.

Tabela 9. Relação de procedência de ervilhas (*Pisum sativum* L.) no ano de 2004 recebidas na CEAGESP.

Cidades	Ervilha torta (ton)	Ervilha em grão (ton)
Pouso Alegre (MG)	1096,68	198,53
Cambuí (MG)	968,30	122,06
Amparo (SP)	177,82	27,95
Pedra Bela (SP)	162,19	25,74
Piedade (SP)	488,66	88,53
Capão Bonito (SP)	601,16	102,60
Apiaí (SP)	185,84	22,96
Guapiara (SP)	264,54	43,38

Fonte: COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO, 2005a.

2.2.3. Cultivo, colheita, estocagem e processamento de ervilhas

Geralmente, a ervilha é cultivada em regiões de clima temperado, mas também pode ser explorada nos trópicos, onde a altitude compense a latitude desfavorável. É um vegetal bastante tolerante a baixas temperaturas, mas pode ser prejudicado por geadas, principalmente nas fases de florescimento e formação das vagens. As temperaturas ótimas para a ervilha estão compreendidas entre 12 e 18°C, com máximas de 21 a 24°C e mínimas de 7°C. Temperaturas diurnas superiores a 30°C, por vários dias seguidos, resultam em decréscimo de rendimento, pois podem prejudicar a qualidade dos grãos, por favorecerem a transformação dos açúcares em amido. De modo geral, a umidade relativa do ar não afeta diretamente o rendimento de grãos da ervilha. Outras condições que favorecem a ervilha são fotoperíodo longo e alta intensidade luminosa (VIEIRA *et al.*, 2000; DESHPANDE e ADSULE, 1998).

A faixa de pH ótima do solo para o crescimento de ervilhas está entre 6,0 e 7,5. Elas se adaptam a qualquer tipo de solo, porém crescem melhor em solos argilosos de fácil drenagem e arenosos adubados (DESHPANDE e ADSULE, 1998).

O tempo de colheita é determinado pela aparência das vagens. Após atingirem um certo grau de maturidade, a qualidade e o rendimento são inversamente proporcionais. Quanto mais tardia é a colheita, menor é a proporção de ervilhas pequenas, aumentando o rendimento. Por outro lado, o conteúdo de amido e a rigidez das ervilhas aumentam, o que reduz a qualidade e o valor comercial da colheita. Os valores da textura, da densidade específica e do teor de sólidos insolúveis em álcool aumentam com a maturação, o que contribui negativamente com a qualidade organoléptica do produto. Os parâmetros usados para verificar o grau de maturidade da colheita são:

- uso de instrumentos, como texturômetro e maturômetro;
- proporção de ervilhas por vagem;
- conteúdo de sólidos insolúveis em álcool (AIS);
- conteúdo de amido;
- flotação em salmoura a 5% (DESHPANDE e ADSULE, 1998).

Esses parâmetros são influenciados pela genética, condições de crescimento, grau de maturidade na colheita, condições de processamento e manipulação antes do consumo. A coloração também é de grande importância. A concentração de pigmentos é um fator que depende do grau de maturidade das ervilhas e deve ser levado em consideração quando o produto é processado para que não haja perda excessiva de sua coloração (EDELLENBOS *et al.*, 2001).

Ervilhas que serão consumidas frescas devem ser resfriadas a uma temperatura próxima a 0°C logo após a colheita, caso contrário, elas perderão parte do seu conteúdo de açúcar, o que afetará seu aroma e sabor (DESHPANDE e ADSULE, 1998).

2.2.3.1. Ervilhas Enlatadas

Segundo a Resolução RDC nº 272, de 22 de setembro de 2005, produtos vegetais são os produtos obtidos a partir de partes comestíveis de espécies vegetais tradicionalmente consumidas como alimento, incluindo as sementes oleaginosas, submetidos a processos de secagem e/ou desidratação e/ou cocção e/ou salga e/ou fermentação e/ou laminação e/ou floculação e/ou extrusão e/ou congelamento e/ou outros processos tecnológicos considerados seguros para a produção de alimentos. Podem ser apresentados com líquido de cobertura e adicionados de sal, açúcar, tempero ou especiaria e ou outro ingrediente desde que não descaracterize o produto. Excluem-se desta definição os produtos de frutas, produtos de cereais e farinhas (cereais, tubérculos e raízes) (BRASIL, 2005a).

Para o enlatamento, as ervilhas debulhadas com casca mais firme são mais indicadas, assim mantêm sua forma mesmo após serem processadas. Também para esse fim, as ervilhas menores são preferidas pelos consumidores (DESHPANDE e ADSULE, 1998).

O parâmetro mais importante na avaliação da qualidade das ervilhas é o teor de AIS. Valores ideais de AIS estão compreendidos entre 11% e 16%. O fluxograma de processamento de ervilhas enlatadas é mostrado na **Figura 7**.

Figura 7. Fluxograma do processamento de vegetais enlatados.

Fonte: VICENZI, 2006.

2.2.3.2. Ervilhas Congeladas

As variedades destinadas ao congelamento devem ter coloração verde escuro e casca macia, o tamanho da semente não é importante apesar de ervilhas maiores serem mais aceitas no mercado (DESHPANDE e ADSULE, 1998).

O fluxograma do processamento de ervilhas congeladas é mostrado na **Figura 8**.

Figura 8. Fluxograma do processamento de grãos congelados.

Fonte: FURTUNATO *et al.*, 2000.

2.2.3.3. Ervilhas Secas

As ervilhas secas são deixadas na vagem até sua completa maturação, portanto são colhidas já com teor baixo de umidade, não necessitando de posterior processamento, devendo-se controlar sua umidade para que não ultrapasse os níveis máximos permitidos pela legislação. Segundo a Portaria nº 065, de 16 de Fevereiro de 1993, o teor máximo de umidade dos grãos deve ser de 15% em peso (BRASIL, 1993).

2.2.4. Valor nutricional

Ervilhas verdes possuem umidade variando de 80 a 82%, de 5 a 8% de proteínas, cerca de 0,5% de lipídeos e de 10 a 15% de carboidratos. Quando maduras, seus grãos contêm de 20 a 25% de proteínas, de 1 a 3% de lipídeos e cerca de 60% de carboidratos (SCHUCHERT, 2006).

Na **Tabela 10** são mostrados os teores de carotenóides encontrados em ervilhas provenientes de vários países. Porém esses valores não estão acompanhados pelos métodos de análise utilizados e nem separam aqueles com atividade pró-vitamínica dos demais.

Tabela 10. Carotenóides em ervilhas (*Pisum sativum* L. *sativum*) produzidas em diversos países (µg/g de produto fresco e integral).

Países	Conteúdo de carotenóides (µg/g)
Reino Unido	3,91 – 4,56*
Israel	3,2
Alemanha	3,0 – 6,8*
Estados Unidos	5,6*
Japão	10,8*
Austrália	0,42**
Tanzânia	1,1*
Tailândia	8,9 (1,7*)
Paquistão	2,6***

* valor de β-caroteno

** valor total de carotenóides expresso em β-caroteno

*** valor em equivalentes de retinol

Fonte: GROSS, 1991; HART e SCOTT, 1995.

Deve-se levar em consideração que esses valores não são valores absolutos e que são afetados por muitos fatores, dentre eles, a variedade, o cultivar, a parte consumida do vegetal, distribuição desigual de carotenóides pela amostra analisada,

estágio de maturidade, as condições climáticas e geográficas do local de produção, o manuseio durante e após a colheita, o processamento e a estocagem (RODRIGUEZ-AMAYA, 2000; HART e SCOTT, 1995).

3. Objetivos

Este trabalho tem como objetivos:

- Determinar a composição qualitativa e quantitativa de carotenóides majoritários presentes em ervilhas tortas e em grão frescas comercializadas pela CEAGESP provenientes dos Estados de São Paulo e Minas Gerais, em ervilhas enlatadas e ervilhas secas;
- Verificar o efeito do cozimento convencional e do enlatamento sobre o perfil de carotenóides desta hortaliça;
- Comparar o teor de carotenóides em produtos de diferentes safras, cultivares e lotes;
- Verificar se as ervilhas podem ser consideradas boas fontes de carotenóides para a dieta dos brasileiros;
- Determinar a composição centesimal desses produtos e verificar a influência da safra, lote, região de cultivo e processamento sobre os teores de macronutrientes.

4. Materiais e Métodos

4.1. Materiais

4.1.1. Amostras

Como amostras foram utilizadas ervilhas (*Pisum sativum* L.) frescas, secas partidas e enlatadas. No caso do produto fresco, foram utilizadas ervilhas em grão e torta, cruas e cozidas, cultivadas nas regiões de Guapiara, Estado de São Paulo e Senador Amaral, Estado de Minas Gerais, coletadas na CEAGESP. As amostras frescas foram coletadas no período da manhã, logo após sua chegada ao entreposto nos meses de Abril de 2005, de Fevereiro (apenas ervilhas tortas), de Setembro de 2006 e de Maio de 2007 (apenas ervilhas em grão). As vagens foram retiradas de diferentes sacas e caixas provenientes de diversas fazendas, totalizando aproximadamente 500 gramas de amostra em cada lote.

Uma empresa situada no Estado de Goiás forneceu as ervilhas enlatadas e a matéria-prima destinada ao processamento, de dois fornecedores diferentes. Ambas amostras foram fornecidas em Junho de 2006. As análises foram iniciadas um mês após o recebimento das amostras. Foram recebidas 24 latas contendo 200 gramas de grãos cada uma, sendo 12 de cada fornecedor. Além de um quilo de matéria-prima, sendo dividido igualmente entre os dois fornecedores.

A ervilha seca foi adquirida em pacotes de 500 gramas em comércio na cidade de São Paulo nos meses de Janeiro, Fevereiro e Março de 2007.

4.1.1.1. Preparo das Amostras

As ervilhas tortas e em grão foram separadas conforme a integridade de sua vagem, e foram escolhidas aquelas que não apresentaram nenhum sinal de deterioração. As ervilhas em grão foram debulhadas antes de serem cozidas. Antes de

serem analisadas, as amostras foram picadas em pedaços de aproximadamente cinco milímetros de lado e homogeneizadas.

As ervilhas secas a serem analisadas, bem como a matéria-prima destinada ao enlatamento, foram moídas previamente e tamisadas.

Todas as amostras foram analisadas num período de até duas semanas após a coleta, e durante esse período, as ervilhas frescas foram mantidas congeladas até serem destinadas à análise.

4.1.1.2. Processamento

As ervilhas frescas e secas foram cozidas numa proporção de 10 gramas de amostra para 100 mililitros de água fervente em béquer de vidro. O tempo de cozimento para ervilha torta foi de cinco minutos, para ervilha em grão foi de sete minutos e para a ervilha seca, foi de 35 minutos. Após o processamento, a água foi descartada e somente as ervilhas foram submetidas à análise. Os grãos enlatados foram fornecidos já processados, e sua salmoura foi descartada. A empresa fornecedora das ervilhas enlatadas não detalhou as condições de processamento.

4.1.2. Reagentes

Os reagentes e solventes utilizados nas análises foram todos de grau analítico.

4.2. Métodos

4.2.1. Composição centesimal

4.2.1.1. Umidade

A determinação de umidade foi realizada por gravimetria, após secagem do material em estufa a 105°C por quatro horas. A seguir, a amostra foi colocada novamente na estufa até peso constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005a).

4.2.1.2. Resíduo mineral fixo (RMF)

O teor do resíduo mineral fixo foi determinado por gravimetria, após incineração do material em mufla a 550°C por seis horas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005b).

4.2.1.3. Extrato etéreo

A fração extrato etéreo foi determinada pela extração contínua em aparelho de Soxhlet por seis horas, usando éter etílico como solvente e posterior evaporação em estufa a 105°C por duas horas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005c).

4.2.1.4. Nitrogênio total / proteína

O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de micro-Kjeldahl empregando-se o fator 6,25 para a transformação deste em proteína (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1995).

4.2.1.5. Carboidratos totais

Os teores de carboidratos totais foram obtidos por diferença, de acordo com a legislação (BRASIL, 2003).

4.2.2. Carotenóides

4.2.2.1. Escolha do Método de Análise

Hoje em dia vem-se utilizando a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para a separação, identificação e quantificação de carotenóides, porém esta técnica utiliza equipamentos caros e sofisticados e é necessária uma provisão constante de padrões de carotenóides puros, pois os mesmos são suscetíveis à isomerização e à oxidação. Além disso, a padronização do método deve ser feita a cada análise, o que encarece ainda mais as análises (KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2002; CARVALHO *et al.*, 1992).

Vários trabalhos mostram que as diferenças entre os resultados de carotenóides obtidos por CLAE e por Cromatografia em Coluna Aberta (CCA) não são significativas. ALMEIDA-MURADIAN *et al.* (1998) encontraram valores equivalentes de β -caroteno em folhas de cenouras, de beterraba, hortelã, aipo e *Sonchus oleraceus* L. para os dois métodos. CARVALHO *et al.* (1992), em quantificação de β -caroteno em cenouras, tomates e couve e de β -caroteno e β -criptoxantina em mamões papaia, encontraram uma boa equivalência entre os valores obtidos pelas duas técnicas. ADEWUSI e BRADBURY (1993) encontraram quantidades equivalentes de β -caroteno e luteína em mandioca, porém não conseguiram uma boa separação dos carotenóides minoritários por CCA. Mais recentemente, um estudo de PORCU e RODRIGUEZ-AMAYA (2006) também mostrou uma boa concordância entre valores de β -caroteno obtidos por CCA e CLAE em amostras de acerola.

Além disso, o grau de pureza obtido em coluna aberta para os carotenóides é bastante alto, ficando entre 91 e 97% para a neoxantina, entre 95 e 98% para a

violaxantina, entre 92 e 96% para a luteína e entre 90 a 97% para o β -caroteno (KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2000).

O método de análise para caracterização dos carotenóides utilizado foi o preconizado por RODRIGUEZ *et al.* (1976), com algumas modificações.

O isolamento de carotenóides envolveu extração, saponificação e separação em coluna aberta. A identificação dos pigmentos separados foi baseada em suas propriedades espectroscópicas e testes químicos específicos. Todos os materiais coadjuvantes da análise, como reagentes e adsorventes utilizados, tinham grau de pureza analítico.

4.2.2.2. Saponificação

Esta é uma etapa em que lipídeos indesejados e clorofilas são removidos, já que os produtos da saponificação das clorofilas são solúveis em água e facilmente removidos. Portanto, é recomendada em vegetais de folhas verdes e alimentos com alto teor lipídico (BALL, 1998; SCHIEDT e LIAAEN-JENSEN, 1995; HART e SCOTT, 1995; GRANADO *et al.*, 1992).

O tempo de hidrólise, a temperatura, a concentração de KOH e a lavagem podem ocasionar a formação de produtos indesejáveis, isomerização e perdas (HART e SCOTT, 1995). Algumas perdas de carotenóides, especialmente das xantofilas são observadas em amostras saponificadas (OLIVER e PALOU, 2000).

Normalmente esta etapa é realizada após a extração adicionando-se KOH metanólico ao extrato contendo os pigmentos, porém dessa forma as perdas de carotenóides são muito grandes, conforme descrição no item 5.2.1. Por esse motivo, no presente trabalho, a saponificação foi realizada antes da extração adicionando-se uma solução aquosa de KOH 10%, de acordo com COSTA e PENTEADO (1996) e SANT'ANNA e PENTEADO (1996).

Para a saponificação, foram adicionados 100mL de uma solução aquosa de KOH com concentração de 10% (m/v) a uma massa de aproximadamente 10g de

amostra picada ou moída. Essa mistura foi deixada em béquer coberto com filme plástico ao abrigo da luz por uma noite em temperatura ambiente.

4.2.2.3. Extração dos Carotenóides

Os alimentos têm composições químicas variadas, conseqüentemente, os métodos utilizados para extração do pigmento variam de uma amostra para outra. Após esse procedimento, o extrato ainda contém alguns contaminantes polares que são removidos durante a lavagem com água (OLIVER e PALOU, 2000).

Como a ervilha é um alimento com alto teor de umidade, o solvente utilizado foi a acetona, com grau de pureza analítico. A extração foi feita em processador tipo Ultra Turrax, onde o vegetal foi triturado diretamente no solvente e os pigmentos foram extraídos ao mesmo tempo.

Após isso, procedeu-se a filtração a vácuo em cadinho de placa sinterizada. O resíduo sólido foi re-extraído mais três vezes até que o filtrado se tornou incolor. O solvente contendo os pigmentos foi transferido para um funil de separação em pequenas porções e os pigmentos foram transferidos para éter de petróleo.

Este extrato foi lavado com água até remoção total da acetona e deixado em repouso por 15 minutos com uma pequena porção de Na_2SO_4 para garantir a retirada de todo resíduo de água. O solvente foi evaporado em evaporador rotativo a uma temperatura não superior a 35°C para evitar a degradação dos carotenóides.

4.2.2.4. Cromatografia

4.2.2.4.1. Coluna de MgO:Hyflosupercel

Esta técnica é usada como uma separação preliminar de carotenóides em grupos de diferentes polaridades e está baseado na cromatografia de adsorção (BERNHARD, 1995; GROSS, 1987). É o método cromatográfico mais antigo, mas

continua indispensável como método de separação e purificação preliminar (BERNHARD, 1995).

A cromatografia em coluna tem a vantagem de ser um método que utiliza equipamentos simples e baratos, e permite monitorar a migração dos componentes visualmente. Porém, períodos muito longos de separação podem causar a isomerização e a formação de subprodutos indesejados (BERNHARD, 1995).

Para ervilhas frescas cruas e cozidas, foi escolhida uma coluna de vidro de 14x2 centímetros empacotada com uma mistura de MgO:Hyflosupercel (1:2) ou (1:3), as quais tiveram resultados equivalentes, e o solvente utilizado foi éter de petróleo com grau de pureza analítico, até que as zonas coloridas foram totalmente separadas, conforme o esquema apresentado na **Figura 9**.

Figura 9. Coluna de separação empacotada com MgO:Hyflosupercel (1:2), desenvolvida com éter de petróleo

No caso das ervilhas enlatadas e secas, foi utilizada uma coluna de vidro de 14x2 centímetros empacotada com uma mistura de MgO:Hyflosupercel (1:1), utilizando-se éter de petróleo como fase móvel inicialmente. A seguir, concentrações crescentes de acetona em éter de petróleo (1 a 50%) foram adicionadas para manter um gradiente

de polaridade, conforme descrito no item 5.2.2. As bandas foram separadas conforme esquema mostrado na **Figura 10**.

Figura 10. Coluna de separação empacotada com MgO:Hyflosupercel (1:1), desenvolvida com gradiente de acetona em éter de petróleo (1 a 50%)

A cromatografia foi desenvolvida sob vácuo e no topo da coluna, colocou-se uma pequena porção de sulfato de sódio anidro para garantir a retirada de qualquer resíduo de água que ainda possa estar contida no extrato.

O extrato foi colocado no topo da coluna já embebida com uma pequena porção de éter de petróleo. Após a adsorção completa do extrato, a coluna foi preenchida com a fase móvel utilizada. Ao final da separação, as bandas foram cortadas. Os pigmentos separados foram eluídos em acetona e transferidos para éter de petróleo, seguindo a mesma metodologia utilizada na extração.

4.2.2.4.2. Coluna de Ca(OH)_2

A fração identificada como β -caroteno foi concentrada e recromatografada em coluna de Ca(OH)_2 para verificar a separação de isômeros. Para tanto, o procedimento seguido foi o mesmo utilizado na separação em coluna de MgO:Hyflosupercel .

4.2.2.5. Identificação de Carotenóides

Os carotenóides foram identificados e quantificados de acordo com seu perfil cromatográfico e espectrofotométrico (SCHIEDT e LIAAEN-JENSEN, 1995; GROSS, 1987). A identificação foi feita pela posição de sua banda na coluna, seu espectro de absorção visível e reações químicas específicas.

4.2.2.5.1. Cromatografia e Espectrofotometria

Um dos comportamentos levados em conta na identificação dos carotenóides é a posição da banda na coluna. Após a separação em coluna, foi feita a leitura dos valores de absorbância de cada carotenóide no modo de varredura na faixa de comprimento de onda entre 350 e 550nm. Os picos obtidos foram comparados com os valores da literatura (DAVIES, 1976). Pequenas diferenças (± 1 a 2nm) nos valores não foram levadas em conta, devido aos erros inerentes ao método, que podem ser atribuídas a contaminantes aromáticos no solvente, à presença de isômeros no extrato e diferenças na calibração do espectrofotômetro (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; CRAFT e SOARES JÚNIOR, 1992).

4.2.2.5.2. Testes Químicos

4.2.2.5.2.1. Teste *cis-trans*

Após a leitura da banda identificada como β -caroteno, foram adicionadas de uma a três gotas de solução de KI em éter de petróleo ao extrato. O extrato foi lido novamente na mesma faixa de comprimento de onda após exposição à luz por um a cinco minutos. Após essa reação, os carotenóides *todo-trans* sofrem um deslocamento hipsocrômico de 3 a 5nm em seu λ max. Estruturas *cis* (15-*cis*- e 13-*cis*- β -caroteno) sofrem um deslocamento batocrômico na mesma proporção e o 9-*cis*- β -caroteno não sofre alteração em seu λ max. A solução adicionada foi preparada diluindo-se alguns cristais de KI em éter de petróleo (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

4.2.2.5.2.2. Teste de Epóxido

As duas bandas superiores isoladas foram diluídas em volume conhecido de etanol após a evaporação do éter de petróleo. Seus espectros foram lidos em comprimento de onda entre 350 a 550nm. Foram adicionadas algumas gotas de ácido clorídrico 0,1N e feita nova leitura após três minutos de reação. Um deslocamento hipsocrômico de 20 a 25nm indica a transformação de 5,6-epóxido a 5,8-epóxido. Um deslocamento de 40 a 45nm indica a presença de dois grupos epóxido (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

4.2.2.5.2.3. Teste de Metilação

Após a evaporação do éter de petróleo, aproximadamente 0,1mg das duas frações superiores foram diluídos em 5mL de metanol. A essas soluções foram adicionadas algumas gotas de ácido clorídrico 0,2N. Após três horas de reação no

escuro à temperatura ambiente, os pigmentos foram transferidos novamente para éter de petróleo, aplicados em placa de sílica gel 60 juntamente com uma amostra não reagida e desenvolvidos com 5% de metanol em tolueno. A reação é positiva quando o R_f da fração reagida é muito maior do que da não reagida (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

4.2.2.5.2.4. Teste de Acetilação

Cerca de 0,1mg das duas frações superiores isoladas foram dissolvidas em 2mL de piridina e a essas soluções foram adicionados 0,2mL de ácido acético glacial. Essas misturas foram deixadas reagindo no escuro à temperatura ambiente por 21 horas. Os pigmentos foram transferidos para éter de petróleo, aplicados em placa de sílica gel 60 juntamente com uma fração não reagida e desenvolvidos com 5% de metanol em tolueno. A reação é positiva quando o R_f da fração reagida é muito maior do que da não reagida (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

4.2.2.6. Quantificação de Carotenóides

Os carotenóides foram quantificados espectrofotometricamente. Os seus espectros de absorção foram determinados em espectrofotômetro de duplo feixe SHIMADZU UV-1650PC acoplado a um computador, a um monitor e a uma impressora.

Para a determinação quantitativa, foram utilizados o valor máximo de absorbância nos cálculos e o coeficiente de extinção específico para cada carotenóide aplicando-se a fórmula abaixo, conforme a Lei de Beer (DAVIES, 1976):

$$\frac{\mu\text{g de carotenóide}}{\text{g de amostra}} = \frac{\lambda_{\text{máx}} \times V_{\text{sol}} \times 10^4}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times m_{\text{amostra}}}$$

onde:

$\lambda_{\text{máx}}$ é o valor do máximo valor do pico de absorbância;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ são os coeficientes de extinção específicos para cada carotenóide;

V_{sol} é o volume em que o carotenóide foi diluído para leitura;

m_{amostra} é a massa da amostra em gramas.

4.2.3. Análise Estatística

As médias das variáveis foram comparadas em relação às diferentes safras e lotes através do Teste t para comparação de médias. A seguir, aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos resultados. Para verificar diferenças entre as regiões de cultivo e mudanças devido ao tratamento térmico, aplicou-se a análise de variância ANOVA para valores com distribuição normal e o teste de Friedman para distribuição não-normal. Ambos seguidos pelo Teste de Comparação de Tukey (BARROS NETO *et al.*, 1996). Para tanto, utilizou-se o programa estatístico SISVAR® versão 5.0, com nível de significância de 5%, de acordo com FERREIRA (1999).

5. Resultados e discussão

Todos os resultados apresentados são expressos em média de três determinações seguidos do desvio padrão.

5.1. Composição centesimal

Os resultados obtidos nas determinações da composição centesimal realizadas em três diferentes safras de ervilhas tortas provenientes das regiões de Guapiara e Senador Amaral estão apresentados na **Tabela 11**, como médias de três observações.

Os valores de umidade em ervilhas tortas provenientes da região de Guapiara variaram entre 87,29 e 89,90% para o produto cru e entre 86,73 e 90,62% para cozido. O resíduo mineral fixo (RMF) variou de 4,26 a 5,37% na amostra crua e de 3,90 a 4,81% na cozida. O nitrogênio total ou proteínas ficou entre 11,16 e 26,28% no produto cru e entre 13,85 e 27,93% no cozido. Os resultados para o extrato etéreo, ou lipídeos, variaram entre 1,02 e 5,91% (ervilhas cruas) e entre 0,53 e 3,35% (ervilhas cozidas).

Em ervilhas cultivadas na região de Senador Amaral, a umidade variou de 85,35 a 89,15% no produto cru e de 85,68 a 89,48% no cozido. A variação do RMF ficou entre 3,54 e 5,69% para a amostra crua e entre 3,21 e 4,29% para a cozida. Os teores de proteínas (nitrogênio total) foram de 16,45 a 27,99% (ervilhas cruas) e de 13,34 a 27,63% (ervilhas cozidas). Os valores para o extrato etéreo (lipídeos) variaram entre 1,57 e 4,49% na amostra crua e entre 1,58 e 4,70% na amostra cozida.

Tabela 11. Composição centesimal de ervilhas tortas (*Pisum sativum* L. *macrocarpum*), expressa em %**.

		Abril/2005		Fevereiro/2006		Setembro/2006	
		Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
Guapiara	Umidade	89,08±0,50 ^d	90,51±0,17 ^e	89,46±0,41 ^d	89,40±0,27 ^d	87,38±0,08 ^c	86,88±0,13 ^{abc}
	RMF*	4,90±0,48 ^{bc}	4,51±0,26 ^{abc}	4,71±0,27 ^{abc}	4,56±0,12 ^{abc}	4,20±0,99 ^{abc}	4,06±0,15 ^{abc}
	Proteínas*	23,38±3,66 ^a	19,91±7,23 ^a	17,13±7,54 ^a	15,67±2,18 ^a	20,58±3,59 ^a	24,77±2,65 ^a
	Lipídeos*	5,17±0,21 ^e	2,20±0,41 ^{abc}	4,35±1,36 ^{de}	3,04±0,42 ^{bcd}	2,29±1,27 ^{abc}	0,75±0,21 ^a
	Carboidratos***	66,55±4,35	73,38±7,90	73,81±9,17	76,73±2,72	72,93±5,85	70,42±3,01
Senador Amaral	Umidade	86,99±0,20 ^{bc}	89,19±0,31 ^d	88,71±0,52 ^d	88,97±0,41 ^d	86,21±0,16 ^{ab}	85,93±0,40 ^a
	RMF*	5,01±0,38 ^c	3,70±0,51 ^{ab}	4,58±0,27 ^{abc}	3,67±0,41 ^{ab}	4,12±0,51 ^{abc}	3,50±0,18 ^a
	Proteínas*	22,30±3,28 ^a	29,25±6,72 ^a	21,36±5,61 ^a	22,08±7,66 ^a	22,51±2,59 ^a	28,03±3,23 ^a
	Lipídeos*	3,77±0,73 ^{cde}	4,08±0,93 ^{cde}	3,14±0,31 ^{bcd}	1,69±0,14 ^{ab}	1,58±0,01 ^{ab}	1,76±0,13 ^{ab}
	Carboidratos***	68,92±4,39	68,00±4,29	70,92±6,19	72,56±8,21	71,79±3,11	66,71±3,54

* Valores de composição em base seca.

** Média de três determinações.

*** Resultados obtidos por diferença.

RMF - Resíduo Mineral Fixo.

Letras minúsculas iguais nas linhas representam valores que não diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si. As diferentes regiões produtoras também são comparadas nesta tabela.

Em ervilhas tortas provenientes da região de Guapiara, a umidade da amostra coletada em setembro de 2006 foi significativamente menor do que nas outras safras. Por causa dessa diferença, houve a necessidade de se calcular todos os demais valores em base seca.

Fazendo-se a mesma comparação para o produto proveniente da região de Senador Amaral, verifica-se que a umidade da amostra coletada em fevereiro de 2006 é maior do que nas demais safras.

Apenas os dados de umidade revelaram uma distribuição não-normal. E seus valores não apresentaram boa concordância pelo coeficiente de Kendall ($K=0,0123$).

As amostras coletadas em Abril de 2005 provenientes das duas regiões tiveram um aumento significativo em suas umidades após o cozimento por 5 minutos. Além disso, houve diferença na umidade do produto entre as regiões produtoras em Abril de 2005 e Setembro de 2006, ambas maiores na região de Guapiara.

A umidade é um parâmetro que depende diretamente das condições climáticas, por isso, pode-se supor que as coletas feitas em diferentes épocas do ano e regiões com diferenças nos índices pluviométricos influenciaram o seu conteúdo nas amostras. Além disso, o armazenamento, transporte e processamento de vegetais frescos são fatores que afetam a umidade.

O RMF apenas sofreu uma diminuição em seu teor na safra de Abril de 2005 coletada em Senador Amaral, e não diferiu entre as duas regiões produtoras. A diminuição no teor de RMF após o processamento pode estar relacionada à solubilização dos sais presentes no tecido na água de cozimento, que foi descartada após o processamento.

Os teores de proteínas não diferiram entre as regiões produtoras, entre safras ou devido ao cozimento.

O teor de lipídeos não diferiu entre as regiões produtoras, porém sofreu uma diminuição apenas na amostra de Guapiara coletada em Abril de 2005 devido ao cozimento. Nas duas regiões produtoras, o teor de lipídeos na safra de Setembro de 2006 foi menor do que nas demais.

Os resultados obtidos nas determinações da composição centesimal realizadas em ervilha em grão proveniente de Senador Amaral estão apresentados na **Tabela 12**. Os valores de umidade variaram entre 71,32 e 77,44% no produto cru e entre 67,13 e 75,70% para o produto cozido. O RMF teve os valores compreendidos entre 3,59 e 4,03% em ervilhas cruas e entre 2,16 e 3,24% em cozidas. Os valores de proteínas dos grãos variaram de 19,76 a 37,26% (cru) e de 16,39 a 42,62% (cozido). Os lipídeos ficaram entre 0,42 e 2,38% em ervilhas cruas e entre 0,18 e 1,81% em cozidas.

Tabela 12. Composição centesimal de ervilhas em grão (*Pisum sativum* L. *sativum*) provenientes de Senador Amaral, expressa em %**.

	Junho/2005		Setembro/2006		Maio/2007	
	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
Umidade	75,73±0,45 ^c	75,30±0,37 ^c	71,64±0,51 ^b	67,96±0,78 ^a	76,78±0,75 ^c	68,64±1,05 ^a
RMF*	3,96±0,05 ^c	3,08±0,14 ^b	3,77±0,15 ^c	2,47±0,27 ^a	3,76±0,24 ^c	3,00±0,14 ^b
Proteína*	31,95±2,24 ^a	30,89±2,72 ^a	30,88±9,66 ^a	34,36±9,75 ^a	28,26±2,14 ^a	18,36±6,20 ^a
Lipídeos*	0,63±0,29 ^a	0,90±0,25 ^a	1,48±0,83 ^a	0,43±0,22 ^a	1,38±0,84 ^a	1,34±0,41 ^a
Carboidratos***	63,46±2,58	65,13±3,11	63,87±10,64	62,74±10,24	66,60±3,22	77,30±6,75

* Valores de composição em base seca.

** Média de três determinações.

*** Resultados obtidos por diferença.

RMF - Resíduo Mineral Fixo.

Letras minúsculas iguais nas linhas representam valores que não diferem significativamente (p<0,05) entre si.

Como a umidade variou entre as safras estudadas, todos os demais parâmetros foram calculados em base seca. Além disso, os valores de umidade apresentaram distribuição não-normal, com boa concordância pelo coeficiente de Kernell ($K=1$).

O teor de umidade diminuiu após o cozimento nas amostras coletadas em Setembro de 2006 e em Maio de 2007. Pode ter ocorrido evaporação da água presente nas ervilhas após o descarte da água de cozimento, durante o resfriamento e armazenamento dos grãos até serem destinados à pesagem e posterior análise de umidade.

A umidade é um fator que depende diretamente das condições climáticas, de transporte e armazenamento, por isso podem ocorrer flutuações em seu valor ao longo do ano.

O teor de RMF, lipídeos e proteínas não diferiram entre as safras estudadas. Porém o conteúdo de RMF teve uma diminuição significativa em todas as épocas de coleta devido ao cozimento. Isso pode estar relacionado a uma solubilização dos minerais na água de cozimento e descarte da mesma.

As análises de composição centesimal foram feitas em ervilhas secas partidas, cruas e cozidas, em três lotes. Os resultados obtidos são mostrados na **Tabela 13**. Devido à grande incorporação de água, os valores apresentados foram calculados em base seca para compará-los e avaliar se houve diferença nos teores de algum nutriente após o cozimento. Os valores de umidade variaram de 9,45 a 12,04% em ervilhas cruas e de 59,78 a 65,32% em cozidas; o RMF esteve entre 2,74 e 2,91% (cruas) e entre 1,52 e 1,96% (cozidas); as proteínas, entre 18,00 e 20,90% no produto cru e entre 15,67 e 22,69% no cozido e os lipídeos ficaram entre 1,08 e 1,90% em ervilhas cruas e entre 1,19 e 2,33% em cozidas.

Tabela 13. Composição centesimal de ervilha seca (*Pisum sativum* L.), expressa em %**.

	Janeiro/2007		Fevereiro/2007		Março/2007	
	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
Umidade	10,38±0,14 ^a	61,10±0,47 ^b	9,44±0,03 ^a	60,47±0,60 ^b	11,90±0,12 ^a	64,94±0,39 ^c
RMF*	2,87±0,04 ^c	1,68±0,15 ^a	2,77±0,03 ^c	1,74±0,06 ^{ab}	2,78±0,01 ^c	1,89±0,06 ^b
Proteínas*	18,38±0,14 ^{ab}	20,91±0,81 ^c	18,36±0,31 ^{ab}	17,41±1,73 ^a	20,56±0,30 ^{bc}	21,67±0,89 ^c
Lipídeos*	1,16±0,10 ^a	1,50±0,22 ^a	1,63±0,09 ^a	1,70±0,58 ^a	1,69±0,20 ^a	1,49±0,15 ^a
Carboidratos***	77,59±0,28	75,91±1,18	77,24±0,43	79,15±2,37	74,97±0,51	74,95±1,10

* Valores de composição em base seca.

** Média de três determinações.

*** Resultados obtidos por diferença.

RMF - Resíduo Mineral Fixo.

Letras minúsculas iguais nas linhas representam valores que não diferem significativamente (p<0,05) entre si.

Os valores de umidade e proteínas apresentaram distribuição não-normal. A umidade apresentou bom coeficiente de concordância de Kernell ($K=1$), enquanto as proteínas não apresentaram boa concordância ($K=0,3086$).

Não houve diferença significativa entre os lotes coletados para nenhum dos parâmetros analisados. A cocção resultou em diminuição significativa ($p<0,05$) de RMF em todos os lotes, provavelmente devido à solubilização dos minerais na água de cozimento e posterior descarte da mesma.

O pequeno aumento verificado no teor de proteínas no lote de Janeiro de 2007 após o cozimento pode ser devido à homogeneização inadequada da amostra ou erros inerentes ao método, não representando um aumento real de seu teor devido ao tratamento térmico. Os demais resultados mostraram não haver influência do tratamento ou lote sobre seus valores.

O fabricante declara a composição centesimal do produto cru de acordo com a legislação (BRASIL, 2003). As informações que constam no rótulo são mostradas na **Tabela 14** e seus valores são comparados com os obtidos em laboratório, em base úmida.

Tabela 14. Composição centesimal de ervilhas (*Pisum sativum* L.) secas partidas cruas, expressa em %.

	Janeiro/2007*	Fevereiro/2007*	Março/2007*	Rótulo
Umidade	10,38±0,14	9,44±0,03	11,90±0,12	-
RMF	2,57±0,03	2,54±0,03	2,45±0,01	-
Proteínas	16,47±0,13	16,62±0,28	18,11±0,26	22,5
Lipídeos	1,04±0,09	1,47±0,08	1,49±0,18	0
Carboidratos**	69,54±0,39	69,93±0,42	66,05±0,57	64,75

* Média de três determinações.

** Resultados obtidos por diferença.

RMF - Resíduo Mineral Fixo

Não foi possível interpretar a diferença entre os resultados obtidos em laboratório e os apresentados no rótulo, pois não se conhece a metodologia empregada para obtenção dos resultados apresentados nos rótulos do produto. Os resultados de proteínas obtidos em laboratório foram cerca de 24% menores do que o valor declarado no rótulo. O cálculo de carboidratos resultou em um valor aproximadamente 6% maior do que o que consta na embalagem.

Os valores de composição centesimal em ervilhas secas partidas cozidas constam da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – USP. Esses valores são comparados com as amostras analisadas na **Tabela 15**.

Tabela 15. Composição centesimal de ervilhas (*Pisum sativum* L.) secas partidas cozidas, expressa em %.

	Janeiro/2007*	Fevereiro/2007*	Março/2007*	USP(2006a)
Umidade	61,10±0,47	60,47±0,60	64,55±0,39	67,69
RMF	0,65±0,06	0,69±0,02	0,66±0,02	0,84
Proteínas	8,13±0,31	6,88±0,68	7,60±0,31	9,43
Lipídeos	0,11±0,06	0,67±0,23	0,52±0,05	0,51
Carboidratos**	30,01±0,90	31,29±1,53	26,67±0,67	21,53

* Média de três determinações.

** Resultados obtidos por diferença.

RMF - Resíduo Mineral Fixo

Fonte: UNIVERSIDADE de SÃO PAULO – USP (2006a).

Os métodos empregados no presente trabalho foram os mesmos utilizados na obtenção dos dados da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos da USP.

Em ervilhas enlatadas, todas as análises foram feitas em produtos de dois fornecedores. Na **Tabela 16** são apresentados os resultados de composição centesimal em base seca para que se possa fazer uma comparação e verificar possíveis mudanças nos valores durante o enlatamento, pois a matéria-prima é desidratada e, antes do processamento, ela é hidratada e uma grande porção de água é incorporada aos grãos.

No produto do fornecedor A, a umidade da matéria-prima (MP) variou entre 7,03 e 7,13% e no produto final (PF), entre 67,64 e 67,99%; o RMF ficou entre 2,65 e 2,74% nos grãos secos e entre 4,82 e 5,13% após o enlatamento. As proteínas variaram entre 21,39 e 21,72% (MP) e entre 18,85 e 20,67% (PF) e os lipídeos foram de 1,43 a 1,47 na matéria-prima e de 1,00 a 1,52% no produto final. Esses valores para as ervilhas do fornecedor B foram de 5,87 a 6,13% para a umidade (MP) e de 68,89 a 70,43% (PF). O RMF variou entre 2,60 a 2,68% na matéria-prima e entre 5,34 a 5,77% no produto final; os valores de proteínas estiveram compreendidos entre 21,96 e 22,72% na matéria-prima e entre 20,64 e 26,96% e os lipídeos variaram de 1,28 a 1,39% na matéria-prima e de 1,18 a 1,75% no produto final.

Tabela 16. Composição centesimal de ervilhas (*Pisum sativum* L.) enlatadas – matéria-prima (MP) e produto final (PF), de dois fornecedores – A e B, expressa em %**.

	Fornecedor A		Fornecedor B	
	MP	PF	MP	PF
Umidade	7,09±0,05 ^a	67,85±0,18 ^b	6,00±0,13 ^a	69,87±0,85 ^c
RMF*	2,68±0,05 ^a	4,97±0,15 ^b	2,65±0,04 ^a	5,55±0,21 ^c
Proteína*	21,56±0,16 ^a	19,83±0,91 ^a	22,33±0,38 ^a	23,97±3,17 ^a
Lipídeos*	1,44±0,02 ^a	1,27±0,26 ^a	1,32±0,06 ^a	1,39±0,31 ^a
Carboidratos***	74,32±0,23	73,79±1,22	73,70±0,48	67,60±2,12

* Valores de composição em base seca.

** Média de três determinações.

*** Resultados obtidos por diferença.

RMF - Resíduo Mineral Fixo

Letras minúsculas iguais nas linhas representam valores que não diferem significativamente (p<0,05) entre si.

Nestas amostras, a umidade apresenta distribuição não-normal, com boa concordância pelo coeficiente de Kernell (K=1).

Nota-se uma grande diferença entre os valores de umidade e RMF na matéria-prima e no produto final. Isso é devido à prévia hidratação dos grãos e ao enlatamento ser feito em salmoura. O sal migra para dentro dos grãos de ervilha até o equilíbrio da

pressão osmótica dentro e fora dos grãos durante e após o processamento, por isso o RMF é maior no produto enlatado.

O processamento não altera os teores de proteínas e lipídeos, o que já era esperado, pois a embalagem é fechada antes de se proceder ao tratamento, impossibilitando a perda ou incorporação de nutrientes. Além disso, não há diferença significativa ($p < 0,05$) entre os teores dos nutrientes nas matérias-primas dos diferentes fornecedores.

Os valores obtidos sugerem que a matéria-prima do fornecedor B incorpora mais água durante a hidratação e processamento, e conseqüentemente, pode haver um maior transporte de minerais da salmoura para os grãos.

A **Tabela 17** mostra uma comparação entre os valores obtidos em laboratório para os diferentes fornecedores, os valores declarados em rótulo pelo fabricante e os valores que constam da Tabela Nacional de Composição de Alimentos da USP. Neste caso, os valores utilizados para comparação foram em base úmida.

Tabela 17. Composição centesimal de ervilhas enlatadas (*Pisum sativum* L.), expressa em %.

	Fornecedor A*	Fornecedor B*	USP(2006b)	USP(2006c)	Rótulo
Umidade	67,85±0,18	69,87±0,85	68,82	71,28	-
RMF	1,60±0,05	1,67±0,06	1,57	1,49	-
Proteínas	6,37±0,30	7,72±0,56	6,40	6,30	4,08
Lipídeos	0,45±0,05	0,36±0,01	0,60	0,20	0
Carboidratos**	23,72±0,58	20,37±1,48	22,61	20,73	20,38

* Média de três determinações.

** Resultados obtidos por diferença.

RMF - Resíduo Mineral Fixo

Fonte: UNIVERSIDADE de SÃO PAULO – USP (2006b; 2006c).

Não é possível afirmar se há diferença entre os resultados obtidos em laboratório e os apresentados no rótulo porque não se conhece o método de análise dos nutrientes apresentados na embalagem do produto. Já a comparação entre os resultados obtidos

no presente trabalho com os dados da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos da USP mostra uma boa concordância entre os valores.

5.2. Carotenóides

5.2.1. Teste dos Métodos de Saponificação

Foi verificada a necessidade de saponificação das amostras, pois no teste feito sem esta etapa as bandas dos carotenóides identificados eluíram muito próximo à banda de clorofila, tornando impossível a separação entre elas sem ocorrer contaminação.

O teste utilizando-se a saponificação com extrato metanólico de KOH 10% adicionado aos pigmentos contidos em éter de petróleo resultou em uma perda significativa dos carotenóides. Não foi possível fazer a separação em coluna, já que esta é feita pela identificação visual das bandas e um dos carotenóides, identificado posteriormente como β -caroteno, não foi detectado visualmente na coluna, utilizando-se essa técnica de saponificação.

Desta forma, foi escolhido o método modificado de acordo com COSTA e PENTEADO (1996) e SANT'ANNA e PENTEADO (1996), que utilizaram uma solução aquosa de KOH a 10% antes de se proceder a extração.

5.2.2. Teste das Colunas

Para a separação dos carotenóides em ervilhas frescas, as colunas de MgO:Hyflosupercel (1:2) ou (1:3) foram capazes de separar as duas bandas identificadas, sem a necessidade de se aplicar um gradiente de polaridade. Também foi testada uma coluna de MgO:Hyflosupercel (1:1), porém, as duas bandas ficaram muito próximas, dificultando seu posterior corte sem que houvesse contaminação entre elas.

Para as ervilhas secas e enlatadas, foram testadas as mesmas colunas, porém, a fração superior foi recromatografada e apresentou separação em duas bandas. Assim, foi escolhida uma coluna de MgO:Hyflosupercel (1:1), pois as bandas se desenvolveram mais vagarosamente, possibilitando a utilização de um gradiente de polaridade para separar os carotenóides da banda superior.

A utilização de uma coluna de Ca(OH)_2 para o β -caroteno revelou a ausência de isômeros, resultado que está de acordo com os dados obtidos por EDELENBOS *et al.* (2001).

5.2.3. Testes Químicos

A leitura do β -caroteno feita após a adição da solução de KI em éter de petróleo mostrou um deslocamento hipsocrômico de 3nm nos valores de λ max. Esse comportamento é típico de carotenóides de estrutura todo-*trans*. Concluindo-se assim que se trata de todo-*trans*- β -caroteno.

O teste de epóxido revelou que as xantofilas não apresentam grupos epóxido, tendo em vista que o espectro de absorção lido após a adição de ácido clorídrico 0,1N à solução em etanol não se deslocou.

As bandas superiores aplicadas em camada delgada apresentaram R_f maiores após a reação, revelando reações positivas tanto para metilação quanto para acetilação, sendo assim, tratam-se do mesmo carotenóide: luteína, a qual possui um comportamento atípico, revelando duas bandas de colorações diferentes na coluna.

O teste feito em camada delgada revelou duas manchas para a fração de luteína, mostrando que se trata de uma mistura de luteína e violaxantina (MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1990). Como foram encontrados apenas traços deste último carotenóide, não foram feitas sua separação e quantificação. Sendo assim, a fração contendo os dois carotenóides será tratada apenas como luteína para efeito de simplificação.

5.2.4. Quantificação dos Carotenóides Individuais

Em todas as amostras, foram encontrados dois carotenóides majoritários, são eles: a luteína e o β -caroteno. Seus espectros de absorção em UV-visível são mostrados nas **Figuras 11 e 12**.

Figura 11. Espectro de absorção do β -caroteno em éter de petróleo.

Figura 12. Espectro de absorção da luteína em éter de petróleo.

O coeficiente de extinção em éter de petróleo utilizado para o cálculo do β -caroteno foi de 2592 (DAVIES, 1976); para a luteína, de 2589, referente ao hexano (CRAFT e SOARES JÚNIOR, 1992).

Foram analisados três lotes de ervilhas tortas provenientes de Senador Amaral e três lotes provenientes de Guapiara. Os resultados obtidos nas determinações de carotenóides nos vegetais provenientes das regiões de Guapiara e Senador Amaral são apresentados na **Tabela 18**. Os valores de luteína em ervilhas tortas provenientes da região de Guapiara cruas variaram entre 13,89 μ g/g e 37,74 μ g/g nas amostras cruas e entre 17,70 e 32,22 μ g/g nas amostras cozidas. No mesmo produto, os teores de β -caroteno ficaram entre 6,12 e 10,34 μ g/g na amostra crua e entre 4,83 e 14,10 μ g/g na amostra cozida. Nas amostras provenientes da região de Senador Amaral, a quantidade de luteína variou entre 16,07 e 47,90 μ g/g nas ervilhas cruas e entre 15,12 e 53,61 μ g/g nas cozidas, e os teores de β -caroteno foram de 5,80 a 9,74 μ g/g no produto cru e de 3,51 a 12,15 μ g/g no cozido.

Tabela 18. Carotenóides em ervilhas tortas (*Pisum sativum* L. *macrocarpum*) (µg/g)**.

		Abril/2005		Fevereiro/2006		Setembro/2006	
		Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
Guapiara	β-caroteno*	9,22±0,97 ^{bcd}	12,05±1,80 ^d	6,35±0,24 ^{ab}	6,42±0,37 ^{ab}	7,23±0,42 ^b	7,55±0,90 ^{bc}
	Luteína*	32,83±4,89 ^{ab}	30,32±1,88 ^{ab}	24,73±10,01 ^{ab}	23,53±3,78 ^{ab}	24,39±1,85 ^{ab}	27,22±3,21 ^a
Senador Amaral	β-caroteno*	7,70±0,48 ^{bc}	8,97±1,12 ^{bc}	8,49±1,18 ^{bc}	10,52±1,43 ^{cd}	6,98±1,41 ^{ab}	4,24±0,26 ^a
	Luteína*	23,28±8,18 ^a	31,45±3,58 ^{ab}	40,13±9,69 ^{bc}	49,72±3,38 ^c	22,52±1,73 ^a	20,59±2,80 ^a

* Valores em base seca.

** Média de três determinações.

Letras minúsculas iguais nas linhas representam valores que não diferem significativamente (p<0,05) entre si.

Os valores de luteína apresentaram distribuição não-normal, e o coeficiente de Kernel não apresentou boa concordância ($K=0,3086$).

O cozimento convencional por 5 minutos não ocasionou alteração no conteúdo desses nutrientes em nenhuma das amostras coletadas. Os teores de luteína e de β -caroteno não diferiram significativamente ($p<0,05$) entre os vegetais provenientes das duas regiões. Porém, o conteúdo de luteína da amostra proveniente de Senador Amaral no mês de Fevereiro de 2006 foi maior do que nas demais safras.

Apesar de serem compostos estáveis em tecidos íntegros, a intensidade luminosa, pluviosidade, demais condições climáticas e grau de maturidade podem alterar o teor de carotenóides nos vegetais.

Os carotenóides foram determinados em três lotes de ervilhas em grão provenientes de Senador Amaral. Os resultados em base seca obtidos estão apresentados na **Tabela 19**. Os teores de luteína variaram de 14,73 a 40,65 $\mu\text{g/g}$ no produto cru e de 11,38 a 21,75 $\mu\text{g/g}$; e os teores de β -caroteno variaram de 2,13 a 5,02 $\mu\text{g/g}$ em ervilhas cruas e de 1,69 a 5,00 $\mu\text{g/g}$ em cozidas.

Tabela 19. Carotenóides em ervilhas em grão (*Pisum sativum* L. *sativum*) provenientes de Senador Amaral (µg/g)**.

	Junho/2005		Setembro/2006		Maio/2007	
	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
β-caroteno*	4,47±0,62 ^b	4,06±0,81 ^b	2,35±0,23 ^a	1,81±0,16 ^a	4,61±0,23 ^b	2,01±0,27 ^a
Luteína*	23,87±3,02 ^a	17,83±5,62 ^a	16,58±1,60 ^a	15,89±0,84 ^a	37,13±3,24 ^b	19,09±2,63 ^a

* Valores em base seca.

** Média de três determinações.

Letras minúsculas iguais nas linhas representam valores que não diferem significativamente (p<0,05) entre si.

Os valores de β -caroteno apresentaram distribuição não-normal, com baixa concordância pelo coeficiente de Kernell ($K=0,6049$).

Houve diminuição significativa ($p<0,05$) nos teores de ambos carotenóides apenas na safra de Maio de 2007 após o cozimento por sete minutos. Além disso, houve diferença entre safras. O β -caroteno foi encontrado em menor quantidade na safra de Setembro de 2006 e a luteína teve seu teor em Maio de 2007 significativamente ($p<0,05$) maior que nas demais.

O tratamento térmico pode ocasionar perdas de carotenóides livres e também pode quebrar os complexos formados pelos pigmentos, lipídeos e proteínas, aumentando sua extratibilidade. Na safra de Maio de 2007, os carotenóides livres provavelmente foram degradados durante o cozimento.

As diferenças encontradas entre as safras podem ser explicadas pelas diferenças climáticas nas diversas épocas do ano estudadas. Além disso, as amostras não foram controladas quanto ao seu grau de maturidade, condições de transporte e armazenamento, o que pode ter contribuído para as variações dos valores.

Em geral, foram encontrados teores mais altos de β -caroteno e de luteína em safras de meses mais frios do que em meses quentes. Isso pode indicar que há degradação dos carotenóides devido à incidência de raios solares e da temperatura ainda antes da colheita.

MÁRKUS *et al.* (1999) verificaram que pimentas vermelhas cultivadas em clima frio e chuvoso continham mais β -caroteno e menos xantofilas diesterificadas do que o mesmo produto produzido em uma estação mais seca e quente. Além de terem constatado que frutos colhidos maduros apresentaram de uma a duas vezes mais xantofilas livres, monoesterificadas ou diesterificadas, confirmando que o clima e o estágio de maturação dos vegetais afetam seu perfil de carotenóides.

EDELENBOS *et al.* (2001), utilizando CLAE, encontraram 300 a 490 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de β -caroteno, 1200 a 1900 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de luteína em ervilhas processadas e 170 a 260 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de violaxantina. Houve um aumento significativo de 1300 $\mu\text{g}/100\text{g}$ a 1800 $\mu\text{g}/100\text{g}$ para a luteína. A concentração de β -caroteno também aumentou devido ao cozimento, porém esse aumento não foi significativo. Além desses carotenóides,

eles também encontraram neoxantina, pigmento não encontrado nas amostras analisadas. Não foram mencionadas as condições de processamento das amostras.

HART e SCOTT (1995) analisaram, por CLAE, ervilhas congeladas, e encontraram os mesmos carotenóides identificados no presente trabalho. Os valores de luteína variaram entre 1519 a 1929 $\mu\text{g}/100\text{g}$ e os de β -caroteno variaram de 391 a 456 $\mu\text{g}/100\text{g}$. As suas médias foram de 1633 $\mu\text{g}/100\text{g}$ para a luteína e de 360 $\mu\text{g}/100\text{g}$ para o β -caroteno no produto cru e de 1991 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de luteína e 546 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de β -caroteno no produto cozido. Os autores identificaram o isômero *cis* do β -caroteno em quantidades de 78 e 114 $\mu\text{g}/100\text{g}$ em ervilhas cruas e cozidas respectivamente. Houve um aumento de 22% no teor de luteína e de 52% no teor de β -caroteno devido ao cozimento, de acordo com as instruções do fabricante. Não foram mencionadas as condições em que as ervilhas foram processadas.

HEINONEN *et al.* (1989), pesquisando carotenóides em vários vegetais, verificaram que a luteína e o β -caroteno foram predominantes. Em ervilhas congeladas, os teores foram de 360 $\mu\text{g}/100\text{g}$ para β -caroteno, 9,2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ para criptoxantina e 1700 $\mu\text{g}/100\text{g}$ para luteína, sendo esta última uma mistura de luteína e zeaxantina, além de terem encontrado traços de α -caroteno.

Nossos resultados em base úmida variaram entre 417,72 e 648,20 $\mu\text{g}/100\text{g}$ para luteína no produto cru e de 281,17 a 540,09 $\mu\text{g}/100\text{g}$ no produto cozido. Para β -caroteno, os valores variaram entre 60,29 e 121,88 $\mu\text{g}/100\text{g}$ em ervilhas cruas e de 54,83 a 123,43 $\mu\text{g}/100\text{g}$ em cozidas.

GRANADO *et al.* (1992) verificaram um aumento significativo de todos os carotenóides devido ao cozimento dos vegetais estudados, fato que não foi observado nas amostras utilizadas no presente trabalho.

Nota-se que os dados encontrados em literatura são diferentes dos resultados obtidos. Essas variações podem ser atribuídas ao fato de terem sido analisadas diferentes variedades de ervilhas, a diferenças climáticas, de solo, de processamento e de safras, entre outros.

Em ervilhas secas, devido à grande incorporação de água durante o processamento, os valores de composição de carotenóides foram calculados em base seca. Para o β -caroteno, esses valores variaram entre 0,63 a 1,42 μ g/g no produto cru e entre 0,68 e 1,22 μ g/g no cozido. Os teores de luteína foram de 8,21 a 14,27 μ g/g em grãos crus e de 7,44 a 10,35 μ g/g nos cozidos. Os valores estão representados na **Tabela 20**.

Tabela 20. Carotenóides em ervilhas secas (*Pisum sativum* L.) ($\mu\text{g/g}$)**.

	Janeiro/2007		Fevereiro/2007		Março/2007	
	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
β -caroteno*	$1,16 \pm 0,23^c$	$1,01 \pm 0,02^{abc}$	$0,68 \pm 0,07^a$	$0,71 \pm 0,05^{abc}$	$0,74 \pm 0,11^{ab}$	$1,07 \pm 0,12^{bc}$
Luteína*	$11,87 \pm 2,18^b$	$9,69 \pm 0,58^{ab}$	$8,71 \pm 0,48^a$	$8,16 \pm 0,65^a$	$9,64 \pm 0,91^{ab}$	$9,20 \pm 0,77^{ab}$

* Valores em base seca.

** Média de três determinações.

Letras minúsculas iguais nas linhas representam valores que não diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

Nessas amostras, os teores de β -caroteno variaram entre as safras, tendo sido significativamente ($p < 0,05$) maiores na safra de Janeiro de 2007 do que nas demais. O conteúdo de luteína diferiu entre as safras de Janeiro e Fevereiro de 2007, tendo sido maior naquela. O cozimento dos grãos por 35 minutos não ocasionou alterações no conteúdo de nenhum dos carotenóides.

Em ervilhas enlatadas, foram realizados os testes em produtos de dois fornecedores diferentes (A e B). O local de cultivo e período de safra não foram informados pela empresa.

Para poder avaliar se houve perdas de carotenóides durante o enlatamento, foi necessário comparar os teores em base seca, pois há uma grande incorporação de água durante o processamento. Os resultados de composição de carotenóides em base seca para ervilhas enlatadas e sua matéria-prima são mostrados na **Tabela 21**. Para o produto do fornecedor A, os teores de luteína ficaram compreendidos entre 5,04 e 5,77 $\mu\text{g/g}$ na matéria-prima e entre 5,24 e 6,60 $\mu\text{g/g}$ para o produto final. O β -caroteno teve seus teores entre 0,61 e 0,81 $\mu\text{g/g}$ na matéria-prima e entre 0,56 e 0,62 $\mu\text{g/g}$ no produto final. Os valores de luteína para as ervilhas do fornecedor B variaram entre 2,16 e 3,23 $\mu\text{g/g}$ na matéria-prima e entre 7,24 e 7,55 $\mu\text{g/g}$ no produto enlatado. Os valores de β -caroteno foram de 0,53 a 0,74 $\mu\text{g/g}$ na matéria-prima e de 0,52 a 0,76 $\mu\text{g/g}$ no produto processado.

Tabela 21. Carotenóides em ervilhas enlatadas (*Pisum sativum* L.) e sua matéria-prima ($\mu\text{g/g}$)**.

	Fornecedor A		Fornecedor B	
	MP	PF	MP	PF
β -caroteno*	0,69 $\pm$ 0,10 ^a	0,60 $\pm$ 0,03 ^a	0,63 $\pm$ 0,11 ^a	0,60 $\pm$ 0,14 ^a
Luteína*	5,30 $\pm$ 0,40 ^b	5,77 $\pm$ 0,73 ^b	2,84 $\pm$ 0,59 ^a	7,41 $\pm$ 0,16 ^c

MP - Matéria-prima; PF - Produto final.

* Valores em base seca.

** Médias de três determinações.

Letras minúsculas iguais nas linhas representam valores que não diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

As matérias-primas dos dois fornecedores não diferiram quanto aos teores de β -caroteno, porém o fornecedor A apresentou teor significativamente maior ($p < 0,05$) de luteína. O processamento ocasionou um aumento significativo ($p < 0,05$) em seu teor no produto do fornecedor B.

Na verdade, não há um aumento no teor de luteína devido ao enlatamento. O que deve ocorrer é uma quebra dos complexos formados entre os carotenóides e outras moléculas, o que aumenta a sua extratibilidade, ocasionando, assim, um aumento irreal no seu conteúdo.

Como os carotenóides são suscetíveis à influência de vários fatores, as diferenças entre os fornecedores podem ser devidas a diferentes regiões de cultivo, transporte, armazenamento, entre outros.

Os resultados estão de acordo com GRANADO *et al.* (1992), que encontraram em tecidos vegetais verdes quantidades maiores de luteína do que de β -caroteno, praticamente único responsável por sua atividade pró-vitáminica A. Além disso, houve diferenças em algumas amostras de diferentes lotes no presente trabalho, fato também observado por GRANADO *et al.* (1992), MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA (1991) e HEINONEN *et al.* (1989).

5.2.5. Cálculo de Vitamina A

Em ervilhas, o único carotenóide que contribui com valor de atividade pró-vitamínica A é o β -caroteno. Como são necessários $12\mu\text{g}$ de β -caroteno para obter um equivalente de atividade de retinol, segundo o Institute of Medicine of the National Academies, tem-se que, em média, 100g de ervilhas tortas cozidas por cinco minutos são responsáveis por 63 RAE e 100g de ervilhas em grão cozidas por 7 minutos fornecem 24 RAE. Em ervilhas enlatadas, o teor de β -caroteno contribui com apenas 5 RAE e em ervilhas secas, com 3 RAE.

Segundo a Resolução RDC nº 39, de 21 de março de 2001, são recomendáveis três porções diárias de vegetais de aproximadamente 15 kcal cada uma (BRASIL, 2001). Seguindo essa recomendação, a porção diária de ervilhas tortas deve ser de aproximadamente 100 gramas e de ervilhas em grão, de 40 gramas. A quantidade de ervilhas secas ingeridas deve ser por volta de 30 gramas e de enlatadas deve estar em torno de 37 gramas diários.

De acordo com a Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998, nos termos de rotulagem, um alimento sólido será considerado fonte de determinada vitamina ou mineral se fornecer 15% da IDR na porção especificada do produto (BRASIL, 1998).

Sendo assim, como a porção recomendada de ervilhas tortas cozidas (100 gramas) fornece aproximadamente $7,2\mu\text{g}$ de retinol, ervilhas em grão cozidas (40 gramas) fornecem por volta de $2,5\mu\text{g}$ de retinol, ervilhas secas (30 gramas) são responsáveis por $0,88\mu\text{g}$ de retinol e ervilhas enlatadas (37 gramas) fornecem cerca de $0,58\mu\text{g}$ de retinol ($12\mu\text{g}$ de β -caroteno correspondendo a $1\mu\text{g}$ de retinol, segundo o Institute of Medicine of the National Academies), estes produtos não podem ser considerados boas fontes de β -caroteno para o ser humano.

6. Conclusões

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- Em ervilhas tortas, a umidade diferiu entre as safras e regiões produtoras. O teor de RMF diminuiu na amostra de Abril de 2005 proveniente de Senador Amaral devido à solubilização dos sais e não aproveitamento da água de cozimento. O teor de lipídeos diminuiu na amostra de Guapiara após o cozimento e diferiu entre safras nas duas regiões produtoras.
- O teor de RMF diminuiu em todas as safras de ervilhas em grão estudadas e a umidade diminuiu em duas delas após o cozimento devido à evaporação durante o resfriamento. Apenas o teor de umidade diferiu entre safras, tendo sido significativamente menor em Setembro de 2006.
- Os grãos de ervilhas secas têm teor de umidade baixo, portanto incorporaram muita água durante o cozimento. Além disso, tiveram uma diminuição no RMF devido ao processamento em todos os lotes, pela solubilização dos sais na água de cozimento, que não foi aproveitada.
- Em ervilhas enlatadas, há aumento de umidade e RMF devido à incorporação de água e transporte dos sais da salmoura para dentro dos grãos durante o processamento.
- Os carotenóides encontrados em ervilhas foram o β -caroteno, a luteína e traços de violaxantina.
- Em ervilhas tortas provenientes de Guapiara, foram encontradas quantidades maiores de β -caroteno e luteína na safra de Abril de 2005. No produto da região de Senador Amaral, houve apenas diferença no teor de luteína, o qual foi maior na safra de Setembro de 2006 do que de Fevereiro de 2006. Os teores de carotenóides não diferiram devido à região de cultivo ou ao cozimento.
- Em ervilhas em grão, tanto o β -caroteno quanto a luteína foram encontrados em maior quantidade na safra de Junho de 2005 do que em Setembro de

2006. Na safra de Maio de 2007 houve diminuição significativa nos teores de ambos carotenóides após o cozimento.

- O cozimento convencional de ervilhas secas não ocasionou perdas de carotenóides, entretanto houve diferença entre os lotes, dos quais o de Janeiro de 2007 apresentou teores mais altos de β -caroteno e luteína em relação aos demais.
- Em ervilhas enlatadas, a luteína foi encontrada em quantidade significativamente maior no fornecedor A do que no B. Após o enlatamento, foi verificado um aumento aparente apenas no teor de luteína no produto do fornecedor B.
- Dentre todos os fatores estudados, que podem influenciar o teor de carotenóides, apenas diferentes safras causaram variação significativa desse nutriente. O enlatamento dos grãos ocasionou um aumento na extratibilidade de luteína em apenas um lote estudado.
- Os teores de β -caroteno encontrados em ervilhas tortas cozidas variaram de 3,51 a 12,15 μ g/g; em ervilhas em grão cozidas de 1,69 a 5,00 μ g/g; em ervilhas enlatadas de 0,53 a 0,74 μ g/g e em ervilhas secas de 0,68 a 1,22 μ g/g, em base seca. Essas amostras não podem ser consideradas fontes deste carotenóide, visto que forneceram menos de 15% do valor pró-vitamínico recomendado de vitamina A na sua porção diária.

7. Referências Bibliográficas*

ADEWUSI, S.R.A.; BRADBURY, J.H. Carotenoids in cassava: Comparison of open-column and HPLC methods of analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.62, n.4, p.375-383, 1993.

ALMEIDA, L.B.; PENTEADO, M.D.V.C. Carotenóides com atividade pró-vitamínica A de cenouras comercializadas em São Paulo, Brasil. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.23, n.2, p.133-141, 1987a.

ALMEIDA, L.B.; PENTEADO, M.D.V.C. Carotenóides e valor pró-vitamínico A da mandioquinha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) consumida em São Paulo. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.23, n.1, p.52-57, 1987b.

ALEMIDA, L.B.; PENTEADO, M.V.C. Carotenoids and pro-vitamin A value of white fleshed Brazilian sweet potatoes (*Ipomoea batatas* Lam.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.1, p.341-352, 1988.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; FIORINI, F.; PENTEADO, M.D.V.C. provitamin A evaluation of external and internal leaves of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.15, n.2, p.108-111, 1995.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PENTEADO, M.D.V.C. Carotenóides. In: PENTEADO, M.D.V.C. **Vitaminas**: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. São Paulo: Manole, 2003. p.3-52.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; RIOS, M.D.G.; SASAKI, R. Determination of provitamin A of green leafy vegetables by high performance liquid chromatography and open column chromatography. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v.137, p.290-294, 1998.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; VANDERLINDE, D.W.; SASAKI, R. Provitamin A activity of raw and cooked Brazilian leaves. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.2, p.151-154, 2000.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 16.ed. Arlington, 1995. cap.33. p.10-12.

BALL, G.F.M. Vitamin A and the provitamin A carotenoids. In:_____. **Bioavailability and analysis of vitamins in food**. London: Chapman & Hall, 1998. cap.3, p.115-161.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e otimização de processos**. 2.ed. Campinas: UNICAMP, 1996. 299p.

BARTLEY, G.E.; SCOLNICK, P.A. Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. **Plant Cell**, v.7, p.1027-1038, 1995.

BERNHARD, K. Chromatography: part 2, column chromatography. In: BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H., eds. **Carotenoids**: isolation and analysis. Basel: Birkhäuser Verlag, 1995. cap.6, p.117-130.

BIANCHINI, R.; PENTEADO, M.V.C. Carotenóides de pimentões amarelos (*Capsicum annum*, L.): caracterização e verificação de mudanças com o cozimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.3, p.283-288, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. SisLegis. Portaria n.065, de 19 de fevereiro de 1993. Aprova as anexas normas de identidade, qualidade embalagem, marcação e apresentação do alpiste, da ervilha, da lentilha, do girassol e da mamona, devidamente assinadas pelo Secretário da Defesa Agropecuária e pelo Diretor do Departamento Nacional de Produção e Defesa Vegetal. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=8057>. Acesso em 09 dez. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. Portaria n.31, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento técnico referente a alimentos adicionados de nutrientes essenciais, constante do anexo desta portaria. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=64&word=>. Acesso em: 09 dez. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. Resolução RDC n.39, de 21 de março de 2001. Aprova a tabela de valores de referência para porções de alimentos e bebidas embalados para fins de rotulagem nutricional. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15952&word=>. Acesso em: 22 dez. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. Resolução RDC n.360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=9059&word=>. Acesso em: 12 maio 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. Resolução RDC n.272, de 22 de setembro de 2005a. Aprova o regulamento técnico para produtos de vegetais, produtos de frutas e cogumelos comestíveis. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18831&word=>. Acesso em: 14 mar. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. Resolução RDC n.269, de 23 de setembro de 2005b. Aprova o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18828&word=>. Acesso em: 22 dez. 2006.

BRITTON, G. Example 1: higher plants. In: BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. **Carotenoids**: Isolation and Analysis. Basel: Birkhäuser Verlag, 1995. p.201-214.

BURNS, J.; FRASER, P.D.; BRAMLEY, P.M. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. **Phytochemistry**, v.62, n.6, p.939-947, 2003.

CAMPOS, F.M.; ROSADO, G.P. Novos fatores de conversão de carotenóides provitamínicos A. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.3, p.571-578, 2005.

CARVALHO, P.R.N.; COLLINS, C.H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Comparison of provitamin a determination by normal-phase gravity-flow column chromatography and reversed-phase high performance liquid chromatography. **Chromatographia**, v.33, n.3/4, p.133-137, 1992.

COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO. **Relatório de procedências prévio**. São Paulo: CEAGESP, 2005a. [Comunicação pessoal].

COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO. **Seção de Economia**. São Paulo: CEAGESP, 2005b. [Comunicação pessoal].

COSTA, M.A.L.; PENTEADO, M.D.V.C. Alterações decorrentes de dois tipos de cozimento sobre os teores de carotenóides pró-vitamínicos A em escarolas (*Cichorium endivia* L.). **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.32, n.2, p.95-100, 1996.

CRAFT, N.E.; SOARES JÚNIOR, J.H. Relative solubility, stability and absorptivity of lutein and beta-carotene in organic solvents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, p.431-434, 1992.

DAVIES, B.H. Carotenoids. In: GOODWIN, T.W., ed. **Chemistry and biochemistry of plant pigments**. 2.ed. London: Academic Press, 1976. v.2, cap.19, p.38-165.

DESHPANDE, S.S.; ADSULE, R.N. Garden pea. In: SALUNKHE, D.K.; KADAM, S.S. eds. **Handbook of vegetable science and technology**: production, composition, storage and processing. New York: Marcel Dekker, 1998. cap.19, p.433-456.

EDELENBOS, M.; CHRISTENSEN, L.P.; GREVSEN, K. HPLC determination of chlorophyll and carotenoid pigments in processed green pea cultivars (*Pisum sativum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.10, p.4768-4774, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Ervilha para produção de grãos**. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/cultivares/ervilha.htm>. Acesso em: 22 nov. 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Ervilhas resistem a doenças.** Disponível em:

<http://www.embrapa.gov.br/noticias/bancodenoticias/2000/julho/bn.2004-11-25.8398783322/nostranoticia>. Acesso em: 09 jul. 2004.

FERREIRA, D.F. **SisVar**: sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.0(Build 66). Lavras: DEX/UFLA, 1999. [Software estatístico].

FURTUNATO, A.A.; MAGALHÃES, M.M.A.; MARIA, Z.L. Estudo do feijão verde (*Vigna unguiculata* (L) Walp) minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.3, p.299-301, 2000.

GRANADO, F.; OLMEDILLA, B.; BLANCO, I.; ROJAS-HIDALGO, E. Carotenoid composition in raw and cooked Spanish vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, p.2135-2140, 1992.

GROSS, J. **Pigments in fruits**. London: Academic Press, 1987. p.75-138.

GROSS, J. **Pigments in vegetables**: chlorophylls and carotenoids. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. p.87-122.

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

HEINONEN, M.I.; OLLILAINEN, V.; LINKOLA, E.K.; VARO, P.T.; KOIVISTOINEN, P.E. Carotenoids in Finnish foods: vegetables, fruits, and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.37, p.655-659, 1989.

INSTITUTE OF MEDICINE OF THE NATIONAL ACADEMIES. Dietary Reference Intakes Table. Disponível em: <http://www.iom.edu/Objecy6.File/Master/21/372/DRI%20Tables%20after%20electrolytes%20plus%20micro-macroEAR2.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4.ed. Brasília: ANVISA, 2005a. p.98-99.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4.ed. Brasília: ANVISA, 2005b. p.105-106.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4. ed. Brasília: ANVISA, 2005c. p. 117-118.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agrícola municipal.Tabela: área plantada, área colhida, quantidade, rendimento médio e valor da produção dos principais produtos das lavouras temporárias - Brasil – 2000. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/tabela1pam.shtm>. Acesso em: 12 mar. 2007a.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agrícola municipal. Tabela 1 - Área plantada e colhida, quantidade produzida, rendimento médio e valor da produção, segundo os principais produtos das lavouras temporárias - Brasil - 2001. Disponível em:

http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/tabela1pam_2001.shtm. Acesso em: 12 mar. 2007b.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, v.78, p.389-398, 2002.

KRITCHEVSKY, S.B. β -carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. **Journal of Nutrition**, v.129, p.5-8, 1999.

KUROZAWA, C. Ervilha. In: Globo Rural TV. **Glossário**. Disponível em: <http://globoruraltv.globo.com/GRural?0,27062,LTP0-4373-0-L-E,00.html>. Acesso em: 12 mar. 2007.

LANDRUM, J.T.; BONE, R.A. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.385, n.1, p.28-40, 2001.

MÁRKUS, F.; DAOOD, H.G.; KAPITÁNY, J.; BIACS, P.A. Change in the carotenoid and antioxidant content of spice red pepper (paprika) as a function of ripening and some technological factors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.100-107, 1999.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.J.; BRITTON, G.; VICARIO, I.M.; HEREDIA, F.J. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigment. **Food Chemistry**, v.101, p.1145-1150, 2007.

MERCADANTE, A.Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of some native Brazilian green leafy vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, v.25, p.213-219, 1990.

MERCADANTE, A.Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition of a leafy vegetable in relation to some agricultural variables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.39, p.1094-1097, 1991.

MERCADANTE, A.Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Confirmação da identidade da α -criptoxantina e incidência de carotenóides minoritários provitamínicos A em verduras folhosas verdes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.2, p.216-222, 2001.

MINAZZI-RODRIGUES, R.S.; PENTEADO, M.D.V.C. Carotenóides com atividade pró-vitamínica A em hortaliças folhosas. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.25, n.1, p.39-52, 1989.

OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal of Chromatography, A**, v.881, p.543-555, 2000.

OTTAWAY, P.B. **The technology of vitamins in food**. Glasgow: Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall, 1993. 270p.

PENTEADO, M.D.V.C.; ALMEIDA, L.B. Ocorrência de carotenóides em raízes de cinco cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.) do Estado de São Paulo. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade São Paulo**, v.24, n.1, p.39-49, 1988.

PORCU, O.M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Variation in the carotenoid composition of acerola and its processed products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, p.1916-1920, 2006.

PRESOTO, A.E.F.; RIOS, M.D.G.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. HPLC determination of α -tocoferol, β -carotene and proximate analysis of Brazilian parsley leaves. **Bollettino dei Chimici Ingienisti**, v.51, p.127-130, 2000.

QUIRÓS, A.R.B.; COSTA, H.S. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: a review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.97-111, 2006.

RODRIGUEZ, D.B.; RAYMUNDO, L.C.; LEE, T.C.; SIMPSON, K.L.; CHICHESTER, C.O. Carotenoids pigments changes in ripening *Momordica charantia* fruits. **Annals of Botany**, v.40, p.615-624, 1976.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide for carotenoids analysis in foods**. Washington: International Life Sciences Institute Press, 1999. 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Some considerations in generating carotenoid data for food composition tables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.13, p.641-647, 2000.

SANT'ANNA, Z.M.; PENTEADO, M.D.V.C. Alterações dos carotenóides decorrentes do cozimento convencional e em forno microondas de três hortaliças. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.32, n.1, p.53-58, 1996.

SCHIEDT, K.; LIAAEN-JENSEN, S. Isolation and analysis. In: BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H., eds. **Carotenoids: isolation and analysis**. Basel: Birkhäuser Verlag, 1995. cap.5, p.81-108.

SCHUCHERT, W. Garden Pea (*Pisum sativum* L.). In: UNIVERSITY OF HAMBURG. Department of Biology. Disponível em: <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/schaugarten/pisumsativumL/Pea.html>. Acesso em: 22 dez. 2006.

SHAHIDI, F., ed. **Natural antioxidants: chemistry, health effects and applications**. Champaing: AOCS, 1997. 414p.

SILVA, S.R.; MERCADANTE, A.Z. Composição de carotenóides de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.3, p.254-258, 2002.

STEPHENS, J.M. Pea, Snap – *Pisum sativum* L. (Macrocarpum group). In: UNIVERSITY OF FLORIDA. IFAS extension. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/MV109>. Acesso em: 22 dez. 2006a.

STEPHENS, J.M. Pea, Snow – *Pisum sativum* L. (Macrocarpum group). In: UNIVERSITY OF FLORIDA. IFAS extension. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/MV110>. Acesso em: 22 dez. 2006b.

UNIVERSIDADE de SÃO PAULO. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. TBCAUSP–tabela brasileira de composição de alimentos. Ervilha. Qualidade em informação sobre alimentos brasileiros. Resultado: **Ervilha, grão seco, cozida, *Pisum sativum* L.** Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tabela/resultado.asp?IDLetter=T&IDNumber=3>. Acesso em: 30 ago. 2006a.

UNIVERSIDADE de SÃO PAULO. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. TBCAUSP–tabela brasileira de composição de alimentos. Ervilha. Qualidade em informação sobre alimentos brasileiros. Resultado: **Ervilha, conserva, *Pisum sativum* L.** Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tabela/resultado.asp?IDLetter+T&IDNumber=2>. Acesso em: 30 ago. 2006b.

UNIVERSIDADE de SÃO PAULO. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. TBCAUSP–tabela brasileira de composição de alimentos. Ervilha. Qualidade em informação sobre alimentos brasileiros. Resultado: **Ervilha, conserva, "Jurema"**. Disponível em:

<http://fcf.usp.br/tabela/resultado.asp?IDLetter=T&IDNumber=1>. Acesso em: 30 ago. 2006c.

Van POPPEL, G.; GOLDBOHN, R.A. Epidemiologic evidence for β -carotene and cancer prevention. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, suppl., p.1393S-1402S, 1995.

VICENZI, R. **Tecnologia de frutas e hortaliças**. In: UNIVERSIDADE REGIONAL DO NOROESTE DO ESTADO DO RS. Departamento de Biologia e Química. Curso: **Química industrial de alimentos**. [Apostila]. Disponível em: http://www.sinpro-rs.org.br/paginasPessoais/layout2/..%5Carquivos%5CProf_394%5CAPOSTILA%20DE%20FRUTAS%20E%20HORTALI%20C%87AS%20-%20QIA.pdf. Acesso em: 22 dez. 2006.

VIEIRA, R.F.; RESENDE, M.A.V.; SANTOS, C.M. Épocas de plantio de ervilhas em Patos de Minas, Uberaba e Janaúba, Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.1, p.74-80, 2000.

VOUTILAINEN, S.; NURMI, T.; MURSU, J.; RISSANEN, T.H. Carotenoids and cardiovascular health. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.83, p.1265-1271, 2006.

WUTKE, E.B.; AMBROSANO, E.D.; BULISANI, E.A. **Ervilha-de-grão**. In: INSTITUTO AGRONÔMICO. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/ErvilhaGraos/ErvilhaGRAOS.htm>. Acesso em 22 nov 2006.