

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

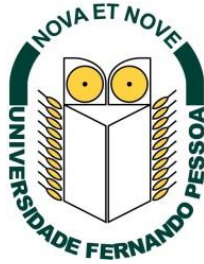


EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENOIDES PROVENIENTES DE
DIFERENTES CULTIVARES DE *CAPSICUM ANNUUM L.* COM INTERESSE
PARA A INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Ana de Matos Beja Madeira

Porto, 2015

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas



EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENOIDES PROVENIENTES DE
DIFERENTES CULTIVARES DE *CAPSICUM ANNUUM L.* COM INTERESSE
PARA A INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Ana de Matos Beja Madeira

Porto, 2015

Trabalhos desenvolvidos durante a execução prática desta dissertação:

Madeira, A., Silva, C., Barreira, S.V.P. e Vinha, A.F. (2014). *Capsicum annuum* L. with different colors provide bioavailable phytochemicals with health benefits. Book of Abstracts of 2nd IPLeia's Health International Congress. 48: 83. ISSN online: 1518-8787.

Madeira, A., Silva, C., Barreira, S.V.P. e Vinha, A.F. (2014). *Capsicum annuum* L. with different colors provide bioavailable phytochemicals with health benefits. **Poster n. 118.** 2nd IPLeia's Health International Congress. 9 e 10 de maio de 2014, Leiria

EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENOIDES PROVENIENTES DE
DIFERENTES CULTIVARES DE *CAPSICUM ANNUUM* L. COM INTERESSE
PARA A INDÚSTRIA FARMACÊUTICA



(Ana De Matos Beja Madeira)

“Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Professora Doutora Ana Cristina Vinha”

Resumo

O género *Capsicum annuum* L. inclui plantas de frutos picantes e adocicados vulgarmente conhecidos como pimentos ou pimentões. De entre os diferentes cultivares existem frutos com diferentes cores, sendo os mais conhecidos o verde e o vermelho. Porém existem outras variedades mais exóticas, como o amarelo, laranja, roxo e branco.

A cor desenvolvida pelos vegetais está diretamente relacionada com a presença de certos metabolitos sintetizados, responsáveis por muitas ações farmacológicas atualmente reconhecidas. As propriedades fitoterápicas, aliadas ao elevado valor mercadológico do pimento impulsionam estudos mais aprofundados e direcionados sobre os aspetos biológicos da planta, necessários para a sua futura aplicação na indústria farmacêutica.

O género *Capsicum* é reconhecido pelos seus elevados teores em vitamina C, vitaminas do complexo B, vitamina A e vitamina E. Carotenoides como o β -caroteno e a β -criptoxantina também são encontrados. Existem inúmeras aplicações deste material vegetal, destacando-se o seu uso como corantes naturais, na forma de extratos concentrados e de extratos e óleos vegetais na cosmética. No entanto, uma planta de uso tradicional e tão rica em fitoquímicos deve ser estudada de forma mais aprofundada permitindo dar a conhecer as suas propriedades nutricionais, composição química, funções terapêuticas e possíveis reações adversas. Face às diferenças de cor encontradas nos pimentos, crê-se que as suas propriedades poderão estar diretamente relacionadas com a diferença de concentração destes fitoquímicos, muitos deles responsáveis pela pigmentação natural do material vegetal e, conseqüentemente, nas propriedades terapêuticas.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o teor de carotenoides dos pimentos de diferentes colorações e, conseqüentemente, a elaboração de sabonetes artesanais com incorporação dos extratos obtidos dos diferentes pimentos.

Foi realizada a quantificação do teor de carotenoides presentes em seis variedades de pimentos (branco, amarelo, laranja, vermelho, verde e roxo), nomeadamente, teores de clorofila a, clorofila b, β -caroteno e licopeno por método colorimétrico.

Nos sabonetes artesanais com incorporação dos extratos obtidos dos diferentes pimentos, foi avaliado o teor de carotenoides presentes após o processo de saponificação a frio, determinação do índice de espuma, pH e textura.

Palavras-chave: *Capsicum annuum* L., Carotenoides, Dermocosmética, Sabonetes artesanais.

Abstract

The genus *Capsicum annuum* L. includes hot and sweetened fruit plants commonly known as chilies or peppers. Among the different fruit varieties there are fruits with different colors, however, the green and red fruits are the most common. There are other exotic varieties, such as yellow, orange, purple and white.

The color developed by the plants is directly related with the presence of certain metabolites synthesized, responsible for many pharmacological actions currently recognized. The fruit properties, coupled with the high marketing value of pepper, have been the focus of several studies, focused on biological aspects for their application in the pharmaceutical industry.

The genus *Capsicum* is recognized for its high levels of vitamin C, vitamins from the complex B, vitamin A and vitamin E. Carotenoids in particular β -carotene and β -cryptoxanthin are also found. There are many uses of plant material, especially its use as natural dyes in the form of concentrated extracts and extracts and vegetable oils in cosmetic. However, a traditional use of plants with high content of phytochemicals should be studied in more detail in order to evaluate their nutritional properties, chemical composition, therapeutic functions and possible adverse reactions. Due to the color differences in peppers, some biological properties may be directly related to the phytochemical compounds concentration and therefore in their therapeutic properties.

This study aimed to evaluate the carotenoid contents of different peppers and the development of handmade soaps with the incorporation of peppers aqueous extracts. The carotenoids contents presented in six varieties of peppers (white, yellow, orange, red, green and purple) was performed, in particular, chlorophyll a, chlorophyll b, β -carotene and lycopene contents.

Also the carotenoids contents presented in handmade soaps were quantified, as well as the foam index, pH and texture of soaps.

Keywords: *Capsicum annuum* L., Carotenoids, Dermocosmetic, Handmade soaps.

Aos Meus Queridos Avós,

Agradecimentos

Terminada esta etapa tão importante e valiosa, não só a nível académico como a nível humano, quero agradecer a todos que de uma maneira geral contribuíram para a sua conclusão.

À Universidade Fernando Pessoa, em especial à Faculdade de Ciências da Saúde e a todos os seus docentes, que diariamente contribuem para formar profissionais competentes colocando ao seu dispor todas as ferramentas e condições necessárias.

À minha orientadora, Professora Doutora Ana Cristina Vinha, agradeço todo o apoio, dedicação e esforço demonstrados. Por toda a orientação, conselhos e conhecimentos transmitidos, que contribuíram decisivamente para a conclusão deste projeto.

À Professora Doutora Carla Sousa e Silva e à minha colega Bárbara Castro, por toda a ajuda e disponibilidade prestada durante a execução do trabalho prático.

Aos técnicos de laboratório da Faculdade de Ciências da Saúde, sempre prestáveis e disponíveis durante o trabalho prático.

À Dr.^a Joana Nobre, diretora técnica do Alés Groupe Portugal, pela disponibilidade demonstrada e por ter contribuído para o desenvolvimento deste trabalho, através do material científico fornecido.

Aos meus pais e irmã, por todo o apoio, amizade e carinho em todos os momentos.

À minha família, que sempre apoiou todas as minhas decisões, em especial à minha tia Alda e prima Filipa que me acompanharam e apoiaram durante todo o percurso académico.

Ao Ricardo, um agradecimento muito especial por toda a força, motivação e por sempre ter acreditado em mim.

Aos meus amigos e colegas, que sempre estiveram presentes.

Índice geral

Resumo.....	i
Abstract.....	iii
Agradecimentos.....	v
Índice de figuras.....	ix
Índice de tabelas.....	xi
Capítulo I. Introdução.....	1
Capítulo II. Revisão Bibliográfica.....	4
2.1. Pimento (<i>Capsicum annuum</i> L.)	4
2.1.1. Importância no consumo e propriedades terapêuticas.....	7
2.2. Carotenoides.....	8
2.2.1. Propriedades físicas e químicas dos carotenoides.....	9
2.2.2. Fontes naturais de carotenoides.....	13
2.2.3. Efeitos biológicos.....	15
2.3. Possíveis aplicações na indústria farmacêutica.....	17
2.3.1. Cosmética	17
2.3.1.1. Dermocosmética.....	19
2.3.1.2. Nutricosméticos.....	22
2.3.1.3. Sabonetes	22

Capítulo III. Objetivos.....	25
3.1. Objetivo geral	25
3.2. Objetivos específicos	25
3.3. Metodologia.....	26
Capítulo IV. Materiais e Métodos.....	27
4.1. Material.....	27
4.1.1. Preparação dos extratos	28
4.2. Determinação do teor de carotenoides	28
4.3. Elaboração dos sabonetes	29
4.3.1. Processo de saponificação.....	31
4.3.2. Teor de carotenoides nos sabonetes.....	31
4.3.3. Determinação do índice de espuma.....	32
4.3.4. Determinação do pH.....	32
4.3.5. Textura	33
4.4. Análise estatística.....	33
Capítulo V. Resultados e Discussão.....	34
5.1. Parâmetros físicos.....	34
5.2. Avaliação do teor de carotenoides em pimentos frescos.....	35
5.3. Sabonetes artesanais com extratos de pimentos.....	42
5.3.1. Determinação do índice de espuma.....	46

5.3.2. Determinação do pH.....	48
5.3.3. Textura	50
Capítulo VI. Conclusão	52
Capítulo VII. Referências Bibliográficas.....	54
Capítulo VIII. Anexos.....	69

Índice de Figuras

Figura 1. Classificação científica do pimento.....	4
Figura 2. Morfologia do pimento.....	6
Figura 3. Síntese de carotenoides C40: fitoeno, licopeno e β - caroteno.....	11
Figura 4. Principais estruturas de carotenoides.....	11
Figura 5. Significado geométrico das coordenadas $L^*a^*b^*$	15
Figura 6. Desenvolvimento dos carotenoides na prevenção de doenças crónicas.....	16
Figura 7. Incidência de radiações UVA,UVB e IV na pele.....	20
Figura 8. Formação de rugas na pele	20
Figura 9. Variedades de pimentos selecionados para a análise experimental.....	27
Figura 10. Acondicionamento dos sabonetes em moldeira.....	30
Figura 11. Sabonetes com extratos de pimentos de diferentes colorações.....	30
Figura 12. Teste de penetração em sabonete no aparelho <i>TAXT2i Texture Analyser</i>	33
Figura 13. Representação gráfica dos espectros característicos das diferentes variedades de pimento estudadas.....	37
Figura 14. Concentração de clorofila a presente nas diferentes variedades de pimentos.....	38
Figura 15. Concentração de clorofila b presente nas diferentes variedades de pimentos.....	39
Figura 16. Concentração de β -caroteno presente nas diferentes variedades de pimentos.....	39

Figura 17. Concentração de licopeno presente nas diferentes variedades de pimentos.....	40
Figura 18. Teores de clorofila a obtidos nos sabonetes enriquecidos com extrato de pimento.....	43
Figura 19. Teores de clorofila b obtidos nos sabonetes enriquecidos com extrato de pimento.....	43
Figura 20. Teores de β -caroteno obtidos nos sabonetes enriquecidos com extrato de pimento.....	45
Figura 21. Teores de licopeno obtidos nos sabonetes enriquecidos com extrato de pimento.....	45

Índice de Tabelas

Tabela 1. Tipos e características dos pimentos.....	6
Tabela 2. Alguns corantes utilizados em cosméticos.....	18
Tabela 3. Parâmetros físicos das diferentes variedades de pimentos estudados.....	34
Tabela 4. Relação diâmetro longitudinal/diâmetro transversal (DL/DT) das variedades de pimentos estudados.....	35
Tabela 5. Resultados do índice de espuma nos sabonetes.....	47
Tabela 6. Valores de pH dos sabonetes.....	49
Tabela 7. Valores relativos à textura dos sabonetes.....	50

Capítulo I. Introdução

Plantas do género *Capsicum*, como os pimentos, são culturas agrícolas importantes a nível mundial. O cultivo de pimentos é feito preferencialmente em zonas tropicas, no entanto, a sua área de distribuição, compreende também neste momento regiões tropicais, subtropicais e temperadas (Ferrão, 1999).

Caracterizam-se como culturas de estação quente que requerem condições de cultivo idênticas a outras *Solanáceas*. Devido à enorme diversidade fenotípica na forma, no tamanho e na cor do fruto do pimento, a sua classificação é feita através do agrupamento por género, espécie e variedade (Almeida, 2006).

O cultivo de pimentos no território nacional tem-se expandindo nos últimos anos, devido à crescente procura do mercado, sendo que a sua produção está disseminada um pouco por todo o país, maioritariamente nas regiões do Ribatejo.

O pimento apresenta ainda um maior impacto económico devido ao seu grande valor nutricional atribuído aos seus teores em proteínas, glúcidos, lípidos, minerais, vitaminas e celulose ou fibras, que quando em proporções adequadas na dieta, são capazes de ajudar na manutenção das funções vitais do organismo. De facto, o seu consumo intensifica a salivação, estimula a secreção gástrica e a motilidade gastrointestinal, dando uma sensação de bem-estar. A capsaicina, presente em grandes quantidades nas sementes e frutos das plantas do género *Capsicum* atua a diversos níveis no organismo, ajuda a baixar os níveis de gordura no sangue, reduz os processos de inflamações e pelos elevados teores de vitamina C e carotenoides, são capazes de contribuir para a eliminação de radicais livres retardando o processo de envelhecimento das células (Campos *et al.*, 2013; Hernández-Ortega *et al.*, 2012; Perucka e Materska, 2007).

As variadas cores dos pimentos podem ser devidas a diferentes concentrações e composições químicas, permitindo diferenciá-los geneticamente e/ou pelo grau de maturação. As diferentes cores tais como o vermelho, o verde, o amarelo, o laranja e roxo são um dos principais fatores responsáveis na aquisição de pimentos pelo

consumidor. No entanto, é do conhecimento geral, que a coloração está fortemente associada aos pigmentos naturais sintetizados pela própria planta conferindo-lhe propriedades protetoras e potenciando efeitos biológicos benéficos para o metabolismo humano. Um grupo desses pigmentos naturais são os carotenoides.

Os pigmentos naturais obtidos de fontes vegetais, atualmente têm tido uma maior procura por diversas indústrias tais como a farmacêutica, cosmética e alimentar devido a uma maior preocupação pela utilização de recursos naturais (Croteau *et al.*, 2000; Pichersky e Gang, 2000).

O género *Capsicum* apresenta diversos atributos devido às suas propriedades físico-químicas ricas em capsaicinoides, flavonoides e carotenoides que têm sido relacionadas com a prevenção e/ou tratamento de doenças relacionadas com o sistema nervoso (Gomes *et al.*, 2009). Alguns autores referem que a uma das principais utilizações da capsaicina é em formulações tópicas para a artrite (Sanatombi e Sharma, 2008).

Face à grande variedade e produção de pimentos, a sua utilização pelas indústrias e consumo pode ser insuficiente para escoar o alimento. Surge assim a fitocosmética definida como um segmento da cosmetologia que estuda e aplica substâncias ativas extraídas de matérias vegetais, em proveito da higiene e estética, mantendo o estado normal da pele (Freitas de Araújo *et al.*, 2010).

Devido à presença de propriedades fitoterápicas, o género *Capsicum* é valorizado pelas suas espécies nativas que estimulam estudos mais aprofundados sobre os aspetos biológicos da planta, necessários para sua aplicação em cosméticos e produtos farmacêuticos.

O género *Capsicum* é rico em vitamina C, vitaminas do complexo B, vitamina A, vitamina E, β -caroteno, β -criptoxantina, capsaicina, entre outros. Os pimentos são usados como corantes naturais, na forma de extratos concentrados e de extratos e óleos vegetais na cosmética. Esta planta sugere ser estudada de forma mais aprofundada a fim de se identificar as suas propriedades nutricionais, composição química, ações

terapêuticas e possíveis reações adversas como irritação, ardor, dor, inflamação, lesões de natureza inflamatória, entre outras, garantindo assim, um tratamento cosmético seguro e eficaz (Cunha, 2010; Hervert-Hernández *et al.*, 2010; Almeida, 2006).

Capítulo II. Revisão Bibliográfica

2.1. Pimento (*Capsicum annuum* L.)

O pimento, comumente conhecido por pimentão, pertence ao género *Capsicum*, da família Solanaceae (Figura 1) (Zimmer *et al.*, 2012), a qual inclui aproximadamente vinte e cinco espécies (Eshbaugh *et al.*, 1993). Até à atualidade não existe um número preciso de espécies, sendo que Reiihschneider (2000) referiu a existência de trinta e três espécies enquanto Carvalho *et al.* (2003) apenas reportou 20 espécies. O motivo da não concordância pode dever-se ao facto dos autores contabilizarem apenas as espécies cultivadas ou incluírem as selvagens.

Segundo Reiihschneider (2000) existem cinco espécies maioritariamente cultivadas, sendo que *C. annuum* é a principal, que inclui pimentos doces e pungentes. As restantes espécies são: *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. baccatum* e *C. pubescens*, sendo que as últimas três espécies são de menor importância devido ao facto de apenas serem cultivadas em regiões tropicais. (Zimmer *et al.*, 2012; Almeida, 2006).

Ordem: Solanales

Família: Solanaceae

Género: *Capsicum*

Espécie: *C. annuum* L. (pimento)

C. frutescens L. (piri-piri)



Figura 1. Classificação científica do pimento (Adaptado de Almeida, 2006).

O pimento teve origem na América do Sul (Morales-Soto *et al.*, 2013; Ferrão, 1999). O género *Capsicum*, nativo de zonas tropicais e húmidas, foi descoberto em 1943 numa

viagem histórica de Cristóvão Colombo ao Brasil, onde eram designados por *quiya* ou *quijá*, nomes atribuídos pelos indígenas (Ferrão, 1993). Devido aos descobrimentos e conquistas de novas terras, esta cultura rapidamente se expandiu por diversos continentes. Os povos da América Central intitularam-no de *chilli* ou *chili* e era muito utilizado como condimento ou especiaria de acordo com a sua variedade ou parte/órgão da planta utilizada (Ferrão, 1999; Ferrão, 1993).

Uma vez que o fruto do pimento apresenta uma grande diversidade em termos de forma, cor e tamanho, a classificação deste hortícola torna-se mais fácil quando agrupada por género, espécie e variedade. As variedades doces e as variedades pungentes são as que apresentam maior relevância dentro desta espécie, devido sabor adocicado um atributo considerado preferencial pela maioria dos consumidores (Almeida, 2006). Outra razão prende-se com o facto de o pimento estar diretamente associado a um produto alimentar ou condimento, amplamente cultivado em todo o mundo, podendo ser utilizado como matéria-prima para a indústria alimentar, farmacêutica e cosmética (Cunha, 2010). Em Portugal, esta espécie é cultivada em diversas regiões a sul do Tejo entre os meses de abril e maio (Ferrão, 1999), ocupando uma área de 1.700 hectares, com produção anual próxima das 50.000 toneladas (Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares, 2011).

Relativamente à sua morfologia, o fruto do pimenteiro é caracterizado como uma baga, que apresenta bastante diversidade em termos de forma, cor e pungência (Devari *et al.*, 2014). A sua coloração varia de acordo com o seu estado de maturação, desde o verde, amarelo-claro, amarelo-forte, laranja, vermelho, roxo até ao preto (Santos, 2009; Ferrão, 1993). No pimento amarelo e vermelho os pigmentos predominantes são os carotenoides, no entanto, no pimento verde a sua coloração é devida à presença de clorofila, e no pimento roxo predominam as antocianinas (Nogueira, 2013; Almeida, 2006). Na sua estrutura interna, o crescimento do pericarpo é bastante mais rápido do que o da placenta e por esta razão o pimento apresenta uma estrutura oca (Figura 2) (Chillihead, 2015; Santos, 2009). A placenta apresenta um tecido seco que não envolve as sementes, sendo as sementes caracterizadas por apresentar uma forma achatada, ovóide e cor amarelada, característico das Solanaceas (Martins, 2010).

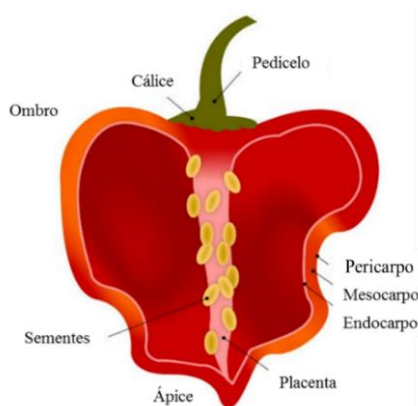


Figura 2. Morfologia do pimento (Adaptado de Chillihead, 2015).

O pimenteiro apresenta muitas variedades e formas híbridas. As variedades mais evidentes nos pimentos concentram-se na existência ou não de sabor picante, intensidade de picante e cor do fruto (Ferrão, 1999). De acordo com estas características podem dividir-se os pimentos pelos seguintes grupos: pimentos intensamente picantes, pimentos moderadamente picantes e pimentos doces descritos na seguinte tabela (Tabela 1).

Tabela 1. Tipos e características dos pimentos (Adaptado de Ferrão, 1999).

Tipo de pimentos	Características
Pimentos intensamente picantes	Utilizadas para extração de oleorrerinas; Presença de elemento picante.
Pimentos moderadamente picantes	Valorização de picante e coloração.
Pimentos doces	Consumido como hortaliça; Ausência de picante.

Assim os principais princípios ativos presentes nos pimentos são a capsaicina e os pigmentos. A capsaicina ($C_{18}H_{27}NO_3$), responsável pela pungência dos pimentos, está localizada essencialmente na placenta dos frutos onde estão inseridas as sementes. (Portillo, 1997). Os pigmentos responsáveis pela coloração vermelha, apresentam uma mistura de carotenoides na qual o β -caroteno é o mais importante (Mínguez-Mosqueta e Hornero-Méndez *et al.*, 1993). Devido às suas características aromáticas e corantes, o pimento é bastante procurado pela indústria alimentar (Romo-Hualde *et al.*, 2012).

2.1.1. Importância no consumo e propriedades terapêuticas

O pimento, importante hortícola na nutrição humana (Conforti *et al.*, 2007), é cultivado por todo o mundo. A produção na Europa atinge os 12% , sendo a Ásia e a China os responsáveis por quase metade da produção mundial (Nogueira, 2013; Almeida, 2006). Em Portugal, a área cultivada é superior a 1500 ha, com maior incidência no Ribatejo (Almeida, 2006).

Para além do seu consumo, os pimentos podem também ser transformados em especiarias (pimentão-doce), permitindo obter corantes, corantes alimentares e oleorresinas (Cunha, 2010). No entanto, pode também ser associado ao campo farmacêutico, devido às propriedades das oleorresinas, ricas em capsainoides (Almeida, 2006).

Os pimentos apresentam na sua composição nutricional uma baixa quantidade de proteínas, lípidos e açúcares (Santos, 2009). No entanto são ricos em vitamina C, vitamina A, vitamina B₁ e B₂, heterósidos diterpénicos (capsinóides, apenas nos pimentos picantes), carotenoides, vitamina E (tocoferóis) e compostos fenólicos, essencialmente flavonoides (Nogueira, 2013; Cunha, 2010; Hervert-Hernández *et al.*, 2010; Almeida, 2006).

Os componentes presentes na espécie *Capsicum annuum* L. apresentam efeitos benéficos para a saúde, no tratamento e prevenção de doenças, devido às suas propriedades antioxidantes (Cunha, 2010; Santos, 2009).

Relativamente às suas propriedades terapêuticas, o principal responsável pela pungência dos pimentos, a capsaïcina, pode ser utilizado em situações de artrite e psoríase, reduzindo os seus sintomas. No mecanismo de perceção da dor são utilizados devido ao seu efeito analgésico, quando aplicado externamente (Almeida, 2006).

Ao serem ingeridos, os pimentos apresentam efeitos benéficos na circulação sanguínea e estimulam o apetite em doses baixas (Almeida, 2006), em doses elevadas provocar irritações nas mucosas (Cunha, 2010).

2.2. Carotenoides

O nome “caroteno” foi atribuído por Wackenroder em 1831, após este ter isolado o pigmento amarelo-alaranjado em cenouras, derivado do nome científico *Daucus carote* (Weber, 2015; Meléndez-Martínez *et al.*, 2007). A presença dos carotenos nas plantas foi descrita por Arnaud em 1887, mas apenas em 1914, os autores Palmer e Eckles detetaram pela primeira vez a presença de carotenos e xantofilas no plasma humano (Weber, 2015). Em 1966, foi aprovado o uso de β -caroteno em produtos alimentares pelo Comité de Peritos em Aditivos Alimentares da FAO/WHO (Sourkes, 2009).

Os carotenoides são compostos fitoquímicos amplamente distribuídos na natureza, presentes em diferentes frutas e vegetais que, para além de responsáveis pelas suas colorações amarela, laranja e vermelha, são caracterizados por serem potenciais antioxidantes e exercerem um papel relevante na prevenção de doenças e manutenção da saúde humana (Rao e Rao, 2007). Os carotenoides são biossintetizados por plantas, algas, fungos, leveduras e bactérias. Até à data já foram identificados na natureza mais de 600 tipos de carotenoides (Weber, 2015; Duarte, 2010), contudo apenas 40 estão presentes na dieta humana e, desses 40, apenas 20 carotenoides foram detetados em tecidos e no sangue humano. Aproximadamente 90% dos carotenoides presentes no corpo humano, provenientes da dieta alimentar, são representados pelo α -caroteno, β -caroteno, licopeno, luteína e β -criptoxantina (Rao e Rao, 2007).

Durante alguns anos, a importância nutricional dos carotenoides esteve diretamente relacionada com a atividade da vitamina A, no entanto, atendendo às suas propriedades benéficas, tais como capacidade em sequestrar radicais livres provenientes do stress oxidativo, confere-lhes propriedades antioxidantes que estimulam a diminuição da

pressão arterial e menor incidência de doenças coronárias (Lewinsohn *et al.*, 2005; Baker e Gunther, 2004; Zhang *et al.*, 2003). Estas características fazem com que os carotenoides sejam, hoje em dia, alvo de estudo em diferentes áreas, nomeadamente, alimentar, farmacêutica e cosmética. É também do conhecimento geral que os carotenoides apresentam propriedades biológicas associadas à prevenção de cancro, sendo que em diversos estudos clínicos o seu poder antiproliferativo já foi observado em culturas de células neoplásicas de animais com carcinogénese induzida (Maio *et al.*, 2010).

Devido à sua diversidade estrutural, estes pigmentos apresentam funções essenciais a diversos tipos de organismos, dependendo essencialmente das propriedades físico-químicas relacionadas com a estrutura química de cada carotenoide (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007; Edge *et al.*, 1997).

2.2.1. Propriedades físicas e químicas dos carotenoides

As funções dos carotenoides estão diretamente relacionadas com a sua estrutura química (Carvalho *et al.*, 2013; Carvalho, 2007).

Quimicamente, os carotenoides apresentam uma estrutura tetraterpenóide composta por 40 átomos de carbono (C_{40}) formados pela união cauda-cabeça de oito unidades isoprenoides, exceto na posição central (C_5), onde a junção ocorre no sentido cauda-cauda, invertendo desta forma a assimetria da molécula (Uenojo *et al.*, 2007). As reações de ciclização, hidrogenação, desidrogenação, migração de duplas ligações, encurtamento ou alongamento da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de funções com oxigénio ou a combinação destes processos originam a diversidade de estruturas existentes dos carotenoides (Uenojo *et al.*, 2007; Rodriguez-Amaya, 1999).

A cadeia é caracterizada por apresentar pelo menos 10 ligações duplas conjugadas sendo que o tamanho do cromóforo é determinante para o espectro de absorção e coloração do carotenóide. As cadeias dos carotenóides apresentam diversos grupos terminais, mas apenas quatro são encontrados nos vegetais (Dias *et al.*, 2014; Meléndez-Martínez *et al.*, 2007; Edge *et al.*, 1997).

Devido à conjugação de duplas ligações presentes nos carotenoides, estes podem sofrer reações de isomerização *cis-trans* (Rao e Rao, 2007). Os isómeros *cis* apresentam menor estabilidade térmica que as formas *trans*. Por outro lado, este sistema de duplas ligações presente na sua estrutura tem a capacidade de desativar os radicais livres, conferindo-lhes propriedades antioxidantes (Carvalho, 2007; Rao e Rao, 2007).

Os isoprenoides são compostos que podem ser caracterizados tanto pela sua coloração como pelo seu aroma. Os seus esqueletos carbonados (C_{40}) formam-se por sucessivas unidades de C_5 até formar um intermediário C_{20} , que condensa com outra molécula igual.



O produto de condensação C_{40} , o fitoeno, sofre posterior desidrogenação, formando-se o licopeno. Por ciclização dos extremos da cadeia, o licopeno converte-se em β -caroteno, tal como se representa na Figura 3.

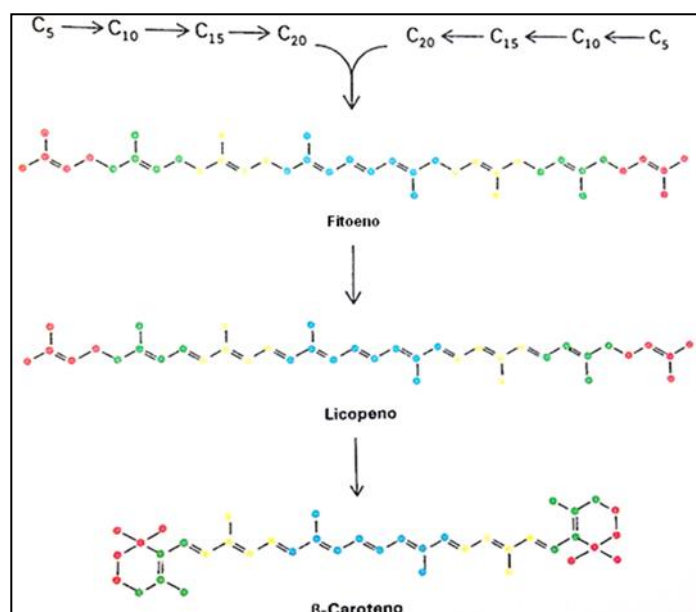


Figura 3. Síntese de carotenoides C₄₀: fiteno, licopeno e β - caroteno (Retirado de Stryer, 1985).

De acordo com a sua estrutura química os carotenoides podem ser subdivididos em xantofilas e carotenos (Uenojo *et al.*, 2007). As xantofilas apresentam na sua constituição química grupos substituintes com átomos de oxigênio (luteína e zeaxantina, entre outros), enquanto os carotenos são carotenoides hidrocarbonados (β -caroteno e α -caroteno) (Silva *et al.*, 2010; Meléndez-Martínez *et al.*, 2007; Meléndez-Martínez *et al.*, 2007; Raven *et al.*, 2001), representados na Figura 4.

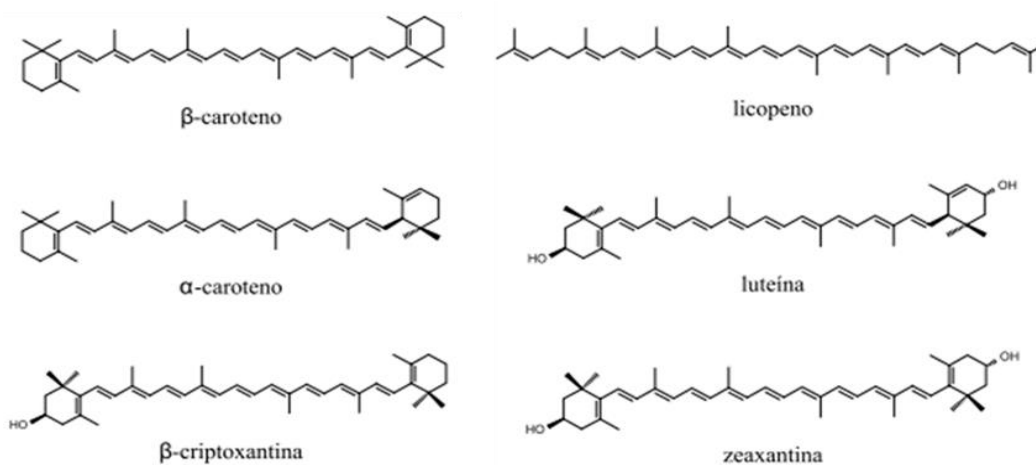


Figura 4. Principais estruturas de carotenoides (Adaptado de Rodriguez-Amaya *et al.*, 2008).

Como já foi referido anteriormente, os carotenoides podem ainda ser subdivididos em acíclicos, monocíclicos e bicíclicos (Banout *et al.*, 2011). O α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina, apresentam uma estrutura cíclica β -ionona, considerados precursores da vitamina A (Silva *et al.*, 2010), no entanto, o β -caroteno é o carotenoide com maior importância no corpo humano, uma vez que é o responsável pela conversão da forma ativa da vitamina A (retinol) (Rao e Rao, 2007).

Relativamente às características físicas dos carotenoides, cada carotenoide apresenta um espectro específico de absorção de luz que está diretamente relacionado com o número de ligações duplas existentes na própria molécula. A sua absorvência depende do número de ligações duplas, da estrutura do cromóforo e do solvente utilizado. Uma modificação na estrutura da molécula origina uma alteração na cor de cada carotenoide (Carvalho, 2007; Cepeda *et al.*, 2000).

Nos últimos anos, muitos estudos propõem que a medição da coloração de cada composto é uma ferramenta poderosa no campo de controlo de qualidade para estimar o conteúdo de carotenoides provenientes de diferentes fontes naturais, como tomate (Vinha *et al.*, 2014; Arias *et al.*, 2000), sumo de laranja (Meléndez-Martínez *et al.*, 2003), pimentos (Hornero-Méndez *et al.*, 2000) e damascos (Vinha *et al.*, 2012; Ruíz *et al.*, 2005), essencialmente devido às vantagens que estas técnicas analíticas possuem, tais como a velocidade, versatilidade e integridade da amostra. Assim, a medição objetiva da cor foi proposta recentemente como um método adequado para a determinação da atividade da vitamina A no sumo de laranja, como parâmetro de controlo de qualidade (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007). Por conseguinte torna-se importante realçar que a natureza dos carotenoides é lipofílica, ou seja estes pigmentos naturais são solúveis em solventes apolares (Carvalho, 2007).

No geral os pontos de fusão dos carotenoides são elevados, apresentando valores entre os 130-220°C. Quando expostos à luz ou submetidos a temperaturas elevadas, os carotenoides também podem sofrer degradação (Satyanarayana *et al.*, 2003). Com base nestas características, para alcançar o efeito corante e/ou antioxidante desejado em produtos alimentares, em produtos farmacêuticos ou cosméticos deve-se ter em

consideração, além das condições de processamento e armazenamento, as características das matérias-primas (Garcia. *et al.* 2012).

2.2.2. Fontes naturais de carotenoides

Os carotenoides são uma família de compostos pigmentados essenciais à vida, que apresentam uma grande distribuição na natureza e podem ser encontrados em todos os organismos fotossintetizantes. Na Europa, a principal fonte de carotenoides na dieta humana são as frutas e os vegetais, mas também podem ser encontrados em alimentos de origem animal, como por exemplo ovos e leite (Silva *et al.*, 2010; Meléndez-Martínez *et al.*, 2007; Uenojo *et al.*, 2007).

A síntese dos carotenoides não requer custos de produção muito elevados (Moritz, 2005). Os carotenoides usados em indústria podem ser obtidos por via química ou extraídos de plantas e algas. Contudo, houve um crescente interesse nos carotenoides obtidos naturalmente por processos biotecnológicos devido ao uso de aditivos químicos usados pelas indústrias alimentar e farmacêutica.

A coloração de um determinado produto é sem dúvida um critério de qualidade, e preferência por parte dos consumidores, independentemente de se tratar de um gênero alimentício ou produto farmacêutico/dermocosmético. (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007; Quirós e Costa, 2006).

O teor de carotenoides extraídos das diversas fontes naturais difere qualitativa e quantitativamente, de acordo com a variabilidade genética, a parte utilizada do vegetal, o estado de maturação, as condições climáticas e geográficas assim como as práticas de cultivo, armazenamento e processamento (Silva *et al.*, 2010; Lakshminarayana *et al.*, 2005). A perda de carotenoides no processamento e armazenamento está relacionada com vários fatores, como temperatura, luz, exposição ao oxigênio, acidez, percentagem

de água, enzimas entre outros que são a principal causa da oxidação destes compostos (Dias *et al.*, 2014).

Face à produção sintética de carotenóides, recorrendo a procedimentos químicos, a sua produção comercial a partir de microrganismos também tem sido uma alternativa bastante viável e competitiva. Os produtos obtidos por microrganismos conseguem ser alcançados num curto espaço de tempo e em qualquer época do ano estando isentas de condições climáticas, do solo e de cultivo. A maior parte dos microrganismos produz carotenoides mas nem todos são de interesse para a indústria. A quantidade de carotenoides e os tipos desenvolvidos podem variar com base nas condições do meio de cultura, temperatura, pH e luminosidade. De acordo com estudos realizados evidenciam-se alguns em que a produção de carotenoides foi efetuada pelos microrganismos *Rhodotorula* (Li *et al.*, 2008; Malisorn e Suntornsuk, 2008), *Phaffia rhodozyma* (Ramírez *et al.*, 2001; Vázquez e Santos, 1998), *Sporobolomyces* (Maldonado *et al.*, 2008; Buzzini *et al.*, 2007), *Blakeslea trispora* (López-Nieto *et al.*, 2004; Mantzouridou *et al.*, 2002), *Dunaliella salina* (Hu *et al.*, 2008; Hejazi *et al.*, 2004) e *Haematococcus pluvialis* (Katsuda *et al.*, 2008; Ranjbar *et al.*, 2008; Domínguez-Bocanegra *et al.*, 2004), sendo que os carotenoides naturais mais investigados são a astaxantina, β -caroteno, cantaxantina, toruleno e o licopeno (Valduga *et al.*, 2009).

Para o mercado nacional e internacional, a cor é um dos requisitos de qualidade, sendo uma das características que mais influencia o consumidor. Em 1976 a CIE (Commission Internationale de L'Éclairage) definiu o espaço de cor CIELAB, onde as cores são representadas pelas coordenadas luminosidade (L^*), a^* (variação de cor do vermelho a verde), b^* (variação de cor de amarelo a azul) ou pelas coordenadas cilíndricas de luminosidade (L^*), cromaticidade ou croma (C^*) e tonalidade (h). (HunterLab, 2013).

A Figura 5 apresenta o significado geométrico deste conjunto de coordenadas, em que $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ e $h = \tan^{-1} (b^*/a^*)$.

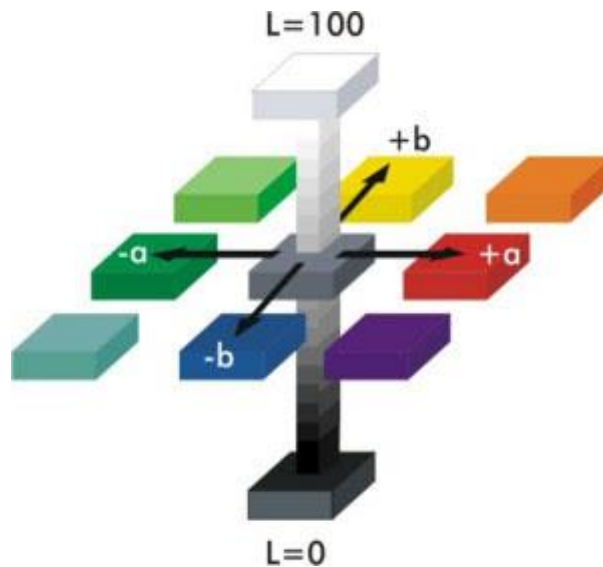


Figura 5. Significado geométrico das coordenadas $L^*a^*b^*$.

2.2.3. Efeitos biológicos

Os carotenoides têm sido descritos na literatura por possuírem propriedades muito importantes não só para os organismos que os sintetizam como para os animais e seres humanos (Valduga *et al.*, 2009).

Uma dieta equilibrada e variada contribui para o bom funcionamento do metabolismo humano e, conseqüentemente promove uma boa qualidade de vida, minimizando o risco do desenvolvimento de certas doenças. Assim sendo, uma das principais recomendações é aumentar o consumo de frutas e vegetais da dieta, sendo estes uma boa fonte de carotenóides e outros fitoquímicos biologicamente ativos.

Estudos epidemiológicos demonstram que o consumo de frutas e vegetais ricos em carotenóides está associado a uma menor incidência e à prevenção de doenças, tais como cancro, doenças cardiovasculares, diabetes, degeneração macular relacionada com

a idade e formação de cataratas, entre outras, devido às suas propriedades benéficas como antioxidantes naturais (Carvalho, 2007; Aruna e Baskaran, 2010; Rao e Rao, 2007). No esquema da Figura 6 encontram-se algumas das principais ações biológicas dos carotenoides.

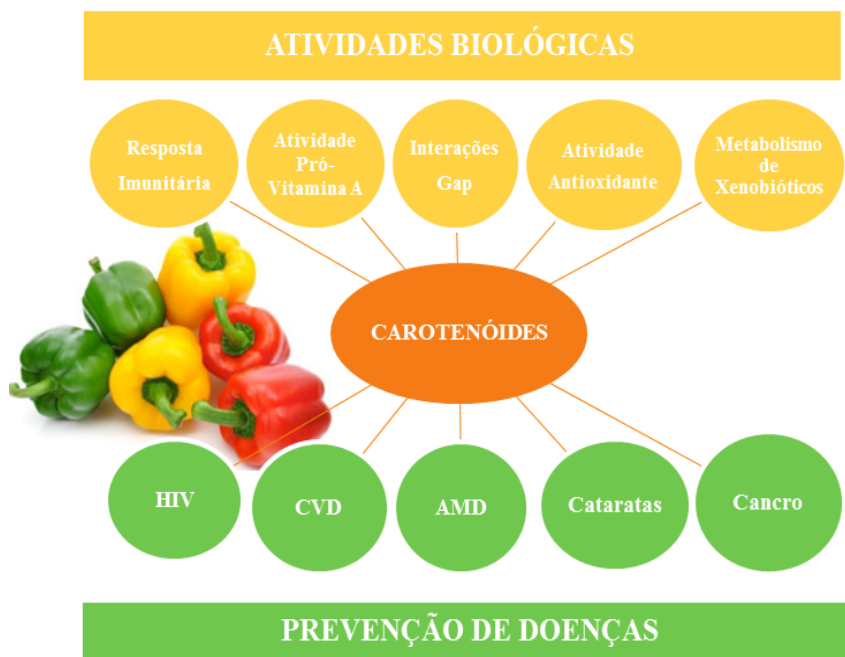


Figura 6. Desenvolvimento dos carotenoides na prevenção de doenças crónicas (Adaptado de Rao e Rao, 2007).

O β -caroteno, α -caroteno, licopeno, β -criptoxantina e a luteína, para além de serem os carotenoides mais distribuídos e abundantes nos alimentos, são também os principais carotenoides encontrados no sangue humano e, por isso, os mais estudados na prevenção de doenças degenerativas (Rodríguez-Amaya *et al.*, 2008).

Outros estudos demonstraram que entre a década de 80 e 90 o consumo de β -caroteno tinha uma relação inversa com a incidência de cancro, mais especificamente cancro do pulmão, entre outras doenças. Mais tarde o consumo de β -caroteno diminuiu drasticamente, uma vez que se constatou que em indivíduos fumadores e trabalhadores

expostos ao amianto, o consumo de beta-caroteno, aumentava a incidência de cancro do pulmão (Rodríguez-Amaya *et al.*, 2008).

O β -caroteno apresenta propriedades antioxidantes que ajudam a neutralizar radicais livres. Estes radicais livres podem destruir lípidos nas células membranares, assim como material genético, que pode levar ao desenvolvimento de cancro (Sentanin & Amaya, 2007). Sabe-se que o β -caroteno e o licopeno são transportados principalmente por lipoproteínas de baixa densidade (LDL) protegendo assim estas proteínas contra a oxidação. Uma vez que o licopeno é o carotenoide com maior capacidade antioxidante, alguns estudos concluíram que apresentava características protetoras (Tapiero *et al.*, 2004). O β -caroteno ao ser uma das principais fontes de vitamina A, ajuda no crescimento e desenvolvimento do sistema imunitário e da visão, sendo melhor absorvido quando se encontra em suplementos dietéticos do que nos alimentos.

2.3. Possíveis aplicações na indústria farmacêutica

Na indústria farmacêutica, nomeadamente na área da cosmética, a utilização de carotenoides tornou-se indispensável. Estes são precursores de muitas fragrâncias e sabores naturais, sendo por isso importantes para produtos que são extraídos de plantas e flores, muito usados em nutracêuticos e em cosmética (Vengaiah e Pandey, 2007).

2.3.1. Cosmética

Os produtos de cosmética tiveram início na pré-história, onde diversas culturas aplicavam decorações na pele através de corantes e pigmentos presentes na natureza (Ramírez *et al.*, 2015).

Segundo o INFARMED (Autoridade Nacional do Medicamento e dos Produtos de Saúde I.P), os produtos de cosmética são definidos como formulações ou substâncias

que têm como principal objetivo serem aplicadas no corpo humano (epiderme, sistema capilar e piloso, lábios, unhas, dentes, mucosa bucal e órgãos genitais externos) para ajudar a modificar o seu aspeto, corrigir odores corporais através de perfume e mantê-los em bom estado.

Estes produtos têm tido cada vez mais relevância na vida quotidiana ajudando a definir diferentes estilos de vida proporcionando saúde e beleza. O uso de pigmentos em cosmética, através de novas estratégias de produção, não deve comprometer a saúde do consumidor (Ramírez *et al.*, 2015).

Os corantes usados em dermocosmética têm diversas origens, salientando-se os corantes orgânicos de origem vegetal, como se exemplifica na Tabela 2.

Tabela 2. Alguns corantes utilizados em cosméticos (Adaptado de Ramírez *et al.*, 2015).

CORANTES ORGÂNICOS DE ORIGEM VEGETAL		
Carotenoides		
Produto	Corante	Usos
Pimentão	Capsantina	Cremes labiais e pós faciais.
β - caroteno	β -caroteno	Cremes faciais, loções faciais e corporais, cremes para corpo e mãos e micropigmentação.
Xantofilas	Luteína	Cremes faciais, loções faciais e corporais, cremes para corpo e mãos, protetores solares e micropigmentação.

Dentro destes, a capsantina é o principal carotenoide do *Capsicum annum*, usado como corante, não só devido à sua cor, mas também ao aroma e propriedades antioxidantes, que ajudam a prevenir o envelhecimento celular (Ramírez *et al.*, 2015).

2.3.1.1. Dermocosmética

O número de pessoas que pretende um escurecimento prolongado da pele através da exposição solar tem sido sucessivamente maior durante a época do Verão, facto que aumentou drasticamente o número de carcinomas cutâneos (Prista *et al.*, 1995).

A pele é o maior órgão do corpo humano e tem como principal função a proteção de órgãos internos do corpo, atuando como barreira física contra agentes externos. É constituída por 3 camadas: epiderme, derme e hipoderme, sendo a segunda o local onde estão localizadas as estruturas responsáveis pela elasticidade e resistência da pele (colagénio e elastina) (Prista *et al.*, 2011).

O envelhecimento cutâneo pode ser resultante de diversos fatores intrínsecos e extrínsecos. As radiações ultravioleta, concretamente as UVA, UVB e UVC, e infravermelhos (IV) são um dos maiores fatores extrínsecos de risco para o desenvolvimento de vários tipos de patologias a nível da pele, entre as principais tumores cutâneos e fotoenvelhecimento (Alam e Havey, 2010; Darvin *et al.*, 2008; Cunningham, 2001).

A incidência da radiação solar na pele, representada na Figura 7, leva a um aumento da concentração de radicais livres, destruindo as cadeias de ADN da pele, o que contribui para um envelhecimento precoce da pele (Darvin *et al.*, 2008), favorecendo o desenvolvimento de rugas (Cunningham, 2001).

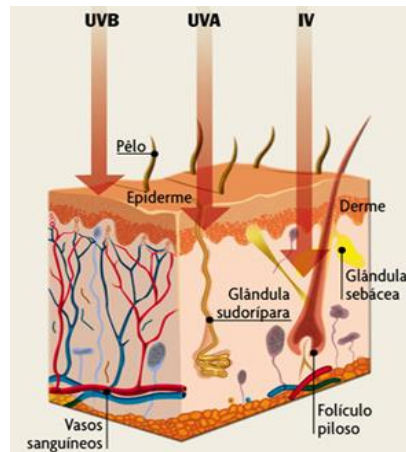


Figura 7. Incidência de radiações UVA,UVB e IV na pele.

(Fonte: <http://www.gentequeeduca.org.br/planos-de-aula/funcoes-da-pele-e-transformacao-dela-ao-longo-da-vida>)

As fibras de colagénio e elastina perdem ao longo da vida as suas funcionalidades levando ao aparecimento de rugas, perda de elasticidade e volume, secura e pigmentação da pele, contribuindo para o fotoenvelhecimento, sinais cutâneos que podem ser visíveis apenas alguns anos mais tarde após a exposição solar (Figura 8) (Barbosa, 2012; Anunciato, 2011).

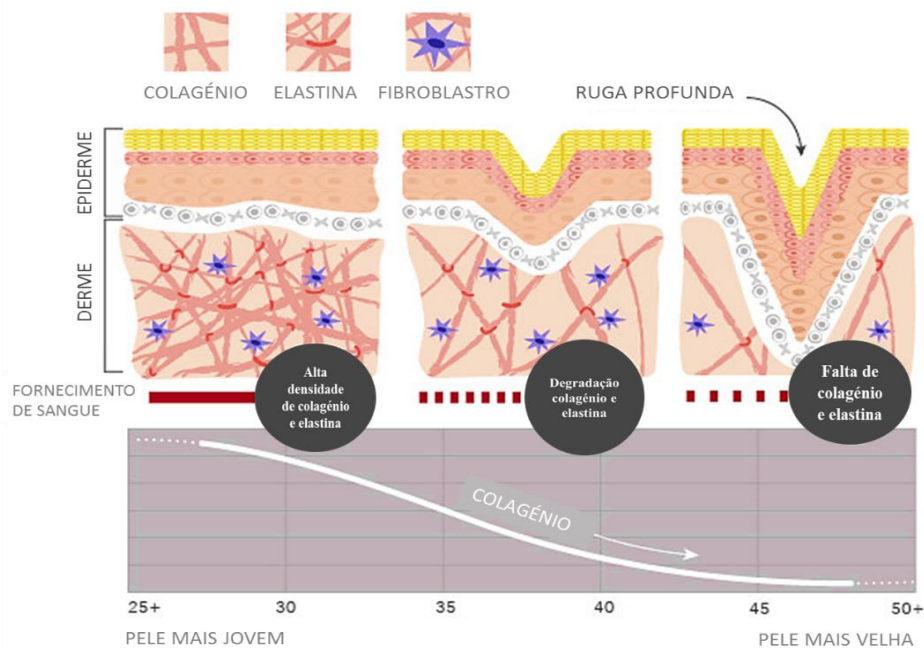


Figura 8. Formação de rugas na pele.

(Fonte: <http://fotos.sapo.pt/agirlinmintgreen/fotos/?uid=JA11WsIzEEtT9nRSnN9b>)

Para combater esta situação foi desenvolvido um mecanismo de proteção natural com substâncias antioxidantes como os carotenóides e as vitaminas que protegem a pele contra estas moléculas reativas. As substâncias com propriedades antioxidantes, actuam na pele diminuindo o fotoenvelhecimento (Darvin *et al.*, 2008). Os carotenóides licopeno e β -caroteno, como substâncias antioxidantes, atuam contra a ação de radicais livres prevenindo o desenvolvimento de rugas (Offord *et al.*, 2002).

Para além dos mecanismos de proteção naturais, existem cosméticos, utilizados por pessoas de todas as faixas etárias, mas cujo resultado na aparência da pele está também dependente de outros fatores, tais como, estilo de vida, influências ambientais e genética (Ramírez, *et al.*, 2015; Barbosa, 2012).

Para prevenir um envelhecimento mais acelerado da pele é importante, para além de manter bons hábitos alimentares e um estilo de vida saudável, evitar determinados fatores, como elevados níveis de stresse, exposição solar prolongada e consumo de álcool e tabaco. A exposição solar e o consumo de álcool e tabaco em excesso aumentam a produção de radicais livres, provocando danos nas fibras elásticas da pele, colagénio e elastina, o que leva à formação de rugas, tornando-se visíveis os sinais clínicos de envelhecimento prematuro da pele (Barbosa, 2012; Anunciato, 2011; Cunningham, 2001).

De acordo com alguns estudos a quantidade de antioxidantes naturais presentes na pele aumenta com a sua administração exógena (por via oral ou tópica), por norma uma maior quantidade de antioxidantes permite uma maior proteção da pele (Richelle *et al.*, 2006).

Um estudo efetuado em 40 mulheres saudáveis que apresentavam sinais de envelhecimento cutâneo demonstrou que um tratamento combinado de carotenoides (oral e tópico) promove uma maior redução da peroxidação lipídica, devido à melhoria da elasticidade cutânea (Palombo *et al.*, 2007; Dias, 2008).

Com base nestas evidências a indústria farmacêutica, desenvolveu diferentes produtos de cosmética e suplementos nutricionais que prometem prevenir o antienvelhecimento

premature da pele. São exemplos a fotoproteção oral e a aplicação tópica e sistémica combinada de antioxidantes (Darvin *et al.*, 2011).

2.3.1.2. Nutricosméticos

O termo nutricosméticos relaciona o conceito de nutracêutico (alimento ou parte de alimento que apresenta propriedades benéficas para a saúde), fármaco e cosmético. Os nutricosméticos são suplementos alimentares que contribuem para a beleza fornecendo cuidados pessoais direcionados para a pele com diferentes necessidades dermatológicas e dermocosméticas, sendo administrados por via oral (Correia, 2012; Grammenou, 2008).

Estes produtos permitem prevenir o envelhecimento cutâneo, conferir pigmentação, firmeza e proteção solar sem ter que recorrer a tratamentos mais invasivos. O β -caroteno é um dos principais constituintes deste tipo de suplementos devido às suas propriedades antioxidantes e prolongadoras do bronzado (Barbosa, 2012; Anunciato, 2011). Em associação a estes suplementos, é importante existir estilos de vida saudáveis e uma boa alimentação. Em Portugal já se encontram comercializados vários produtos que nos permitem atenuar e prevenir os danos causados pela radiação ultravioleta. Face ao exposto, o recurso a frutos e vegetais ricos em carotenoides pode ser uma mais-valia como recurso natural para o fabrico de nutricosméticos.

2.3.1.3. Sabonetes

Os sabonetes são produtos de cosmética utilizados diariamente como produtos de limpeza corporal na extração de gorduras, devido às suas propriedades químicas. Os trabalhos científicos sobre a formação dos sabonetes foram publicados pela primeira vez no século XIX pelo farmacêutico Chevreul, que estudou a estearina e a oleína (Prista *et al.*, 2011). O sabonete é um produto químico que pode ser formado pela saponificação

de gorduras (líquidas ou sólidas), pela saponificação de metiléteres gordos ou ainda pela neutralização de ácidos gordos por bases inorgânicas ou orgânicas (Prista *et al.*, 2011; Prista *et al.*, 1995).

Na preparação de sabões, as gorduras mais utilizadas são sebos de origem vegetal e óleos extraídos do coco, amêndoas, amendoim, azeitona, palma, linho, colza, entre outros. Estas gorduras, após saponificação a quente ou a frio por bases inorgânicas, dão origem a sabões vegetais (Ghaim e Volz, 2001; Prista *et al.*, 1995).

Segundo a Farmacopeia Portuguesa IV, os sabões vegetais são descritos como sabões duros, com coloração branca ou amarelada, obtido por saponificação do óleo de amêndoas (nozes ou azeite) por intermédio do hidróxido de sódio (Prista *et al.*, 1995). As características do sabonete como agente de limpeza derivam da alteração da tensão superficial da água e dos agentes emulsificantes (Ghaim e Volz, 2001).

O uso de antissépticos em produtos de higiene tem por objetivo a obtenção de um produto com capacidade de combater microrganismos presentes na pele. Por norma na pele, os microrganismos sobrevivem por pequenos períodos de tempo devido à falta de condições para se desenvolverem, tais como: humidade insuficiente, presença de bactericidas e ácidos gordos presentes na superfície da pele.

No entanto, quando presentes, estes microrganismos podem ser removidos através de banhos e lavagens da pele (Dias, 2008). O banho permite a renovação constante da pele, limpando os resíduos que estejam acumulados. Como a água é insuficiente para este efeito, é indispensável a ajuda de produtos de limpeza cuja composição tenha detergentes.

Os detergentes também designados por tensioativos ou surfactantes apresentam várias propriedades como efeito de espuma, efeito humidificante, efeito dispersor e efeito emulsionante que ao reduzir a tensão superficial permite a eliminação da sujidade com o enxaguamento (Pinheiro e Pinheiro, 2007).

A incorporação de extratos vegetais em produtos de limpeza, como sabonetes é interessante para a indústria cosmética quer a nível económico quer a nível da aceitação do produto por parte do consumidor (Uenojo *et al.*, 2007).

Capítulo III. Objetivos

A presença de carotenoides nos pimentos reforça o aumento de investigações uma vez que devido à sua capacidade em desativar radicais livres, apresenta propriedades antioxidantes e outras propriedades benéficas anteriormente referidas. Com base nestas evidências, a pesquisa destes componentes tem sido de extrema importância para o desenvolvimento de produtos na indústria farmacêutica, cosmética e alimentar. Por outro lado, e como forma de garantir o reaproveitamento de uma matriz alimentar que, muitas vezes não está associada a um consumo extremo, este trabalho visa aumentar a potencialidade do recurso das variedades de *Capsicum annuum* L.

3.1. Objetivo geral

O presente trabalho teve como principal objetivo estudar o teor de carotenoides existente em diferentes cultivares de pimentos produzidos em Portugal. Admitindo a hipótese de que as diferentes colorações possam apresentar efeitos benéficos distintos, associados aos diferentes carotenoides presentes em cada matriz e, sabendo-se que a elaboração de produtos cosméticos tradicionais estão em franca expansão, realizou-se um estudo piloto, na elaboração de sabonetes artesanais com extratos obtidos das diferentes variedades de pimentos selecionados para este estudo.

3.2. Objetivos específicos

- Quantificação do teor de carotenoides presentes em seis variedades de pimentos (branco, amarelo, laranja, vermelho, verde e roxo).
 - Teores de clorofila a, clorofila b, β -caroteno e licopeno por método colorimétrico.
- Elaboração de sabonetes artesanais com incorporação dos extratos obtidos dos diferentes pimentos em estudo.

- Avaliação do teor de carotenoides presentes nos sabonetes após processo de saponificação a frio.
- Determinação do índice de espuma.
- Determinação do pH.
- Determinação da textura dos sabonetes.

3.3. Metodologia

A pesquisa de informação para a realização da dissertação foi efetuada recorrendo aos motores de busca Science Direct, PubMed, b-on e Google Scholar. As palavras-chave maioritariamente utilizadas foram *Capsicum annuum* L., carotenoides, atividade antioxidante, dermocosmética e sabonetes. A pesquisa bibliográfica teve por base artigos de revisão e estudos experimentais publicados, relacionados com o tema deste trabalho, limitando-se à procura de textos escritos em inglês, espanhol e português. Foram utilizados artigos com menos de dez anos exceto os que são de interesse para o tema proposto.

Capítulo IV. Materiais e Métodos

4.1. Material

Para a realização experimental deste trabalho foram selecionadas seis variedades de pimentos (*Capsicum annuum* L.): pimento verde (1), pimento branco (2), pimento amarelo (3), pimento laranja (4), pimento vermelho (5) e pimento roxo (6) (Figura 9).

Durante a seleção das amostras foram tidos em conta diversos fatores como, cultivar, grau de maturação, calibre e danos físicos visíveis.

As amostras foram adquiridas frescas numa grande superfície comercial localizada na cidade do Porto, no grau de maturação ideal para consumo, isentas de danos físicos sem sinais de deterioração/senescência.



Figura 9. Variedades de pimentos selecionados para a análise experimental.
(1-Pimento Verde; 2- Pimento Branco; 3- Pimento Amarelo; 4- Pimento Laranja;
5- Pimento Vermelho; 6- Pimento Roxo)

4.1.1. Preparação dos extratos

As amostras foram rececionadas e preparadas no laboratório de Bromatologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa, 24 horas após a sua aquisição numa grande superfície. Procedeu-se à lavagem de todos os frutos com água corrente e posteriormente foram todos secos com papel absorvente.

De seguida, os pimentos inteiros foram avaliados de acordo com as suas características físicas:

- Dimensões dos pimentos: diâmetro (cm) e comprimento (cm), sendo que esta avaliação foi efetuada em 18 pimentos;
- Massas dos pimentos (g): aferiu-se a massa de três pimentos de cada cor, calculando-se depois a massa média por variedade de pimento.

Para dar continuidade à realização dos procedimentos analíticos propostos, removeram-se manualmente as sementes, placenta e cálice. Após a remoção destas estruturas, as amostras de pimentos foram trituradas, armazenadas em frascos de plásticos devidamente identificados, e congeladas a -20 °C, até novas determinações.

4.2. Determinação do teor de carotenoides

A medição da cor dos pigmentos foi feita por espectrofotometria, uma vez que se trata de uma metodologia extremamente rápida e não destrutiva, permitindo-nos analisar as amostras num curto espaço de tempo (Meléndez- Martínéz *et al.*, 2003). A absorção dos carotenoides no espectro depende essencialmente do número de duplas ligações conjugadas nas moléculas uma vez que quanto maior o cromóforo maior os comprimentos de onda da máxima absorção (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007). Desta forma foram traçados os espectros de cada pimento num intervalo de comprimentos de onda de 450 a 700 nm, recorrendo a um espectrofotómetro UV/Vis (Thermo, Genesys

10S UV-Vis). Posteriormente, o teor de certos carotenoides foi quantificado seguindo a metodologia descrita por Vinha *et al.* (2014):

Aproximadamente 0,5 g de amostra foi submetida a um processo de extração com uma mistura de acetona-hexano (4:6). Após homogeneização recolheu-se o sobrenadante para efetuar as leituras das absorvências a diferentes comprimentos de onda (453 nm, 505 nm, 645 nm e a 663 nm) de forma a quantificar os teores de clorofila a, clorofila b, licopeno e β -caroteno, segundo as equações abaixo referidas.

- Clorofila a (mg/ 100mL) = $0,999A_{663} - 0,0989A_{645}$
- Clorofila b (mg/ 100mL) = $- 0,328A_{663} + 1,77A_{645}$
- Licopeno (mg/ 100mL) = $- 0,0458A_{663} + 0,204A_{645} + 0,372A_{505} - 0,0806A_{453}$
- β -caroteno (mg/ 100mL) = $0,216A_{663} - 1,22A_{645} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453}$

4.3. Elaboração dos sabonetes

Para a realização dos sabonetes artesanais apenas foi utilizado o sumo extraído na trituração das amostras previamente descongeladas. Os sabonetes foram elaborados de forma artesanal com protocolo pré-definido para quatro sabonetes:

Óleo de coco	65,80%	Óleo de coco	500g
Sumo do pimento.....	21,70%	Sumo do pimento.....	165g
NaOH.....	10,85%	NaOH.....	82,46g
Fragrância.....	1,64%	Fragrância.....	12,5g

A sua realização foi dividida em dois principais processos, saponificação e acabamento. Uma vez que são obtidos por saponificação do óleo de côco por intermédio do hidróxido de sódio são caracterizados por serem sabonetes de origem vegetal. São definidos por sabonetes duros, solúveis em água e no álcool (Prista *et al.*, 2011).

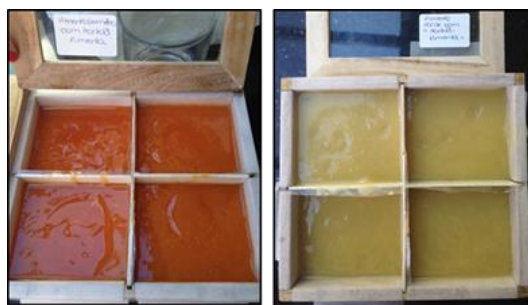


Figura 10. Acondicionamento dos sabonetes em moldeira.

A fragrância foi adicionada no final da mistura. A fragrância utilizada na preparação dos sabonetes foi essência de hortelã-pimenta. Durante o processo de acabamento os sabonetes foram acondicionados em estrutura própria (Figura 10), ficando a secar ao ar (temperatura ambiente) e ao abrigo da luz, durante 15 dias para adquirir consistência. Seguidamente os sabonetes foram desenhados (Figura 11) e armazenados em local próprio.

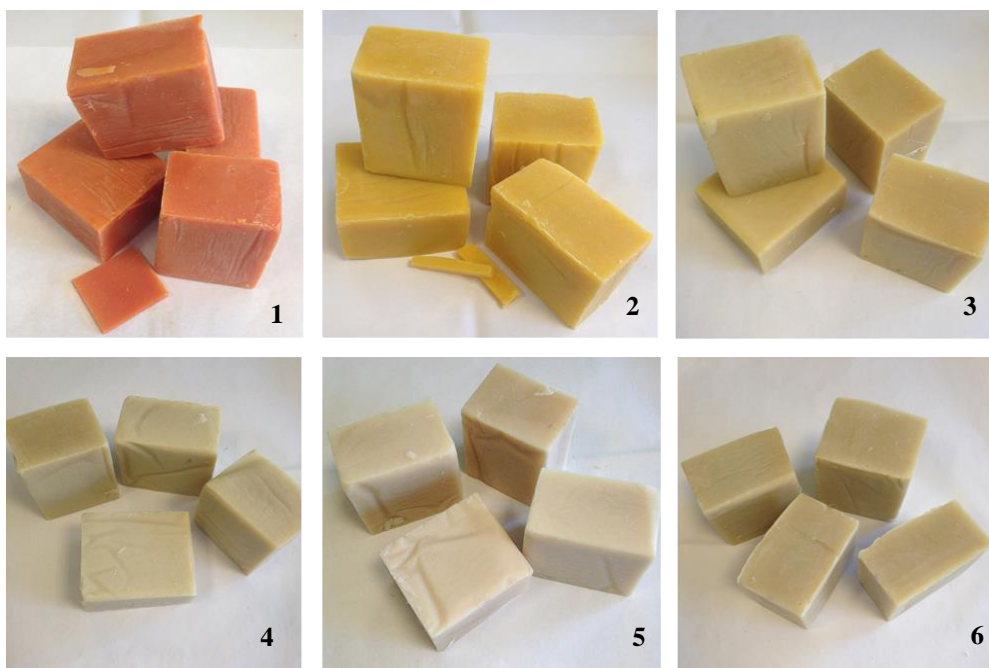
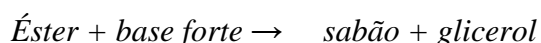


Figura 11. Sabonetes com extratos de pimentos de diferentes colorações. (1-Sabonete Vermelho 2-Sabonete Laranja 3-Sabonete Amarelo 4-Sabonete Roxo 5-Sabonete Branco 6- Sabonete Verde).

4.3.1. Processo de saponificação

Segundo Prista *et al.* (1995) a formação de sabões pode ser obtida quer pela saponificação de gorduras naturais, com ou sem rejeição de glicerina, pela neutralização simples de ácidos gordos, ou ainda pela saponificação de metilésteres gordos.

O processo de saponificação resulta de uma reação química entre um éster e uma base forte originando a formação de um sal orgânico e um álcool. O nome saponificação deriva da utilização de um éster derivado de um ácido gordo que resulta na produção de sabão como produto principal. Genericamente pode-se escrever a reação como:



Como subproduto da reação de saponificação ocorre a formação de glicerina, forma comercial do glicerol, que devido às suas propriedades humectantes é bastante utilizada na produção de produtos de dermocosmética como cremes, sabonetes, entre outros (Dias, 2013; Prista *et al.*, 1995).

Nesta reação as bases mais utilizadas são o hidróxido de sódio (NaOH) ou o hidróxido de potássio (KOH). Quando se utiliza hidróxido de sódio obtém-se um sabão mais consistente contrariamente ao sabão obtido com hidróxido de potássio que apresenta uma textura mais mole (Prista *et al.*, 1995).

4.3.2. Teor de carotenoides nos sabonetes

Tendo em consideração que o processo de saponificação só ocorre entre uma base forte e um composto lipossolúvel, e atendendo a que os carotenoides são lipossolúveis, a quantificação do teor de carotenoides foi efetuada seguindo a mesma metodologia descrita no ponto 4.2. O objetivo desta análise experimental resume-se em saber se

houve processo de degradação/hidrólise destes pigmentos durante a reação de saponificação.

4.3.3. Determinação do índice de espuma

Este método teve como finalidade quantificar o índice de espuma em função do tempo.

Para a determinação do índice de espuma foram colocados 0,5 g de uma amostra de sabonete com 100 mL de água neutra em goblé com agitação constante (2000 rpm). Os resultados foram medidos com uma pipeta automática após 5 minutos em contacto com a água. A leitura repetiu-se ao fim de 10 minutos e 15 minutos. Os ensaios foram efetuados em triplicado e os resultados expressos em valores médios.

4.3.4. Determinação do pH

O teste de pH foi realizado por potenciometria, através de um potenciómetro (Mettler Toledo, FE20- Five EasyTM pH) para determinar o pH dos sabonetes.

Pesaram-se 10 g de amostra de sabonete e colocaram-se em contacto com 90 mL de água desionizada (pH 7) até dissolução total. Se durante este processo ocorresse muita formação de espuma, era adicionado uma gota de álcool etílico (96%). Antes da medição teve-se o cuidado de limpar o eléctrodo com água desionizada para não alterar a sensibilidade do mesmo. O pH é determinado pela diferença de potencial entre os dois eléctrodos (padrão e referência) imersos na amostra a ser analisada. Todos os ensaios foram feitos em triplicado.

4.3.5. Textura

Para avaliar a textura dos sabonetes foram realizados testes de penetração no aparelho *TAXT2i Texture Analyser*. Estes testes foram efetuados a uma velocidade de 1mL/segundo com uma sonda P/2 com 2 mm diâmetro, a uma distância de 5 mm.

A amostra foi colocada centralmente na plataforma do aparelho (Figura 12) e a sonda penetrou no sabonete emitindo os resultados. As penetrações foram realizadas em triplicado para cada sabonete, com o cuidado de não serem muito próximas uma vez que poderiam influenciar os resultados.



Figura 12. Teste de penetração em sabonete no aparelho *TAXT2i Texture Analyser*.

4.4. Análise estatística

Todos os resultados obtidos foram apresentados sob a forma de média \pm desvio padrão da média de ensaios realizados em triplicado para um nível de 5% de significância. Os valores foram avaliados através da análise de variância (ANOVA).

Capítulo V. Resultados e Discussão

5.1. Parâmetros físicos

As características físico-químicas relacionadas com o odor, textura, sabor e valor nutricional são fatores que determinam a qualidade de produtos influenciando a sua comercialização. Por outro lado, o Codex Alimentarius (2007) desenvolvido pelos órgãos internacionais FAO e OMS, onde se insere o código de práticas de higiene para frutas e hortícolas aborda as boas prática agrícolas e de fabrico de forma a evitar e/ou controlar os perigos físicos, químicos e biológicos associados a todas as etapas de produção dos produtos hortícolas frescos, desde a sua plantação até ao seu armazenamento (CAC/RCP 53-2003), fundamental para garantir a melhor qualidade de um alimento. Estes fatores, embora alheios ao consumidor final, são de extrema importância para atribuir o calibre e o respetivo valor económico a um fruto ou vegetal. Nesse sentido, foram avaliadas as características físicas das seis variedades de pimentos estudadas, nomeadamente o peso, diâmetro e comprimento (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros físicos das diferentes variedades de pimentos estudados.

Pimentos	Massa total (g)	Diâmetro (cm)	Comprimento (cm)
Amarelo	273,21±17,78 ^b	26,83±2,08 ^c	10,33±1,26 ^b
Vermelho	270,36±9,66 ^b	29,83±1,89 ^b	11,17±1,04 ^b
Laranja	225,15±11,32 ^c	27,50±0,50 ^c	9,67±1,04 ^c
Verde	329,67±10,21 ^a	33,50±4,77 ^a	15,50±0,50 ^a
Branco	204,28±5,81 ^e	24,17±0,76 ^d	8,33±1,15 ^c
Roxo	221,27±4,48 ^d	24,12±1,26 ^d	7,83±0,76 ^d

*Valores apresentados como média ±desvio padrão (n=6)

Pelos resultados obtidos, verificam-se diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os pesos e dimensões (diâmetro versus comprimento) das diferentes variedades. O pimento verde apresenta maior peso e dimensão enquanto o pimento branco é o que tem menor peso e menor dimensão. Não foram observadas diferenças de peso entre os pimentos amarelo e vermelho, no entanto, as dimensões do vermelho (diâmetro e comprimento) foram significativamente diferentes ($p < 0,05$).

A razão entre o diâmetro longitudinal e o diâmetro transversal (DL/DT) indica o formato do fruto. Os frutos com forma ovulada/arredondada apresentam DL/DT=1. Uma vez que a aparência é fundamental, a forma de um fruto também é caracterizada como um fator de qualidade (Reis *et al.*, 2015; Melo *et al.*, 2013). Na Tabela 4, estão representadas a relação diâmetro longitudinal/diâmetro transversal (DL/DT) de todos os pimentos estudados.

Tabela 4. Relação diâmetro longitudinal/diâmetro transversal (DL/DT) das variedades de pimentos estudados.

Pimentos	Diâmetro longitudinal (cm)	Diâmetro transversal (cm)	DL/DT
Amarelo	20,66	26,83	0,77
Vermelho	22,34	29,83	0,75
Laranja	19,34	27,50	0,70
Verde	31,00	33,50	0,93
Branco	16,66	24,17	0,69
Roxo	15,66	24,12	0,65

Os resultados apresentados na Tabela 4 mostram que a forma dos pimentos apresenta uma tendência ovalada sendo que a variedade verde é a mais ovalada de todas as variedades, ou seja, com uma proporção mais equilibrada entre o diâmetro longitudinal e o diâmetro transversal.

5.2. Avaliação do teor de carotenoides em pimentos frescos

O espectro de UV/Vis é muito importante para a determinação dos carotenoides uma vez que fornece informações sobre a estrutura de cada um deles, conseguindo-se obter um espectro através da presença de um longo cromóforo nas duplas ligações. As moléculas orgânicas conseguem absorver a luz visível ou ultravioleta e como consequência desta absorção, ocorrem transições eletrônicas que lidam com um estado de energia mais alto ou que excitam o estado fundamental da molécula (Meléndez-

Martínez *et al.*, 2007). Convém salientar que é necessário algum tipo de precauções no decurso da manipulação e determinação do teor de carotenoides devido à sua instabilidade perante a luz, temperatura e oxigénio (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007).

No sentido de avaliar o teor de carotenoides nas diferentes variedades de pimentos em estudo, primeiramente efetuou-se o traçado do espectro para cada variedade de forma a garantir que a preparação dos extratos reunisse as condições necessárias para a sua quantificação, minimizando assim possíveis interferências ou erros experimentais. Os traçados dos espectros das absorvências em função do comprimento de onda estão representados na Figura 13. Para o traçado dos referidos espectros contínuos utilizou-se um intervalo de comprimentos de onda dentro da gama do visível (450 nm – 670 nm). O traçado de um espectro contínuo é um espectro de luz emitida que contém todos os comprimentos de onda das cores que compõem a luz branca (vermelho, laranja, amarelo, verde, azul, anil e violeta) através dos comprimentos de onda maiores para os mais pequenos, respetivamente.

Pela análise dos espectros (Figura 13) verificam-se comportamentos idênticos para todas as variedades, à exceção do pimento verde e pimento roxo que apresentam um traçado com absorvência considerável a um $\lambda \sim 660$ nm. Segundo Zeraik e Yariwake (2008), através da comparação dos espectros UV-Vis de extrato de cenouras com os do β -caroteno (p.a.) ambos apresentaram similaridade sendo observada uma banda com $\lambda_{\text{máx}} \sim 460$ nm, característica das ligações duplas conjugadas do β -caroteno. O licopeno sendo caracterizado por uma estrutura acíclica e simétrica com 11 ligações duplas conjugadas, pertence ao subgrupo dos carotenoides não oxigenados (Rao e Agawal, 2000). O licopeno é considerado um bom supressor biológico de radicais livres, devido à sua estrutura química. De uma forma geral, os estudos que utilizam o procedimento espectrofotométrico, consideram que o $\lambda_{\text{máx}}$ para o licopeno é de 470 nm a 480 nm. Devido à conveniência e maior facilidade no uso de medidas de cor, vários estudos têm investigado a intensidade da correlação entre valores de cromaticidade e o teor de pigmentos de diferentes vegetais. O facto dos pimentos verde e roxo apresentarem sinal analítico a um λ mais elevado pode dever-se à presença de isómeros

do licopeno ou produtos derivados cujas estruturas químicas apresentem maior número de ligações duplas conjugadas (Carvalho *et al.*, 2005).

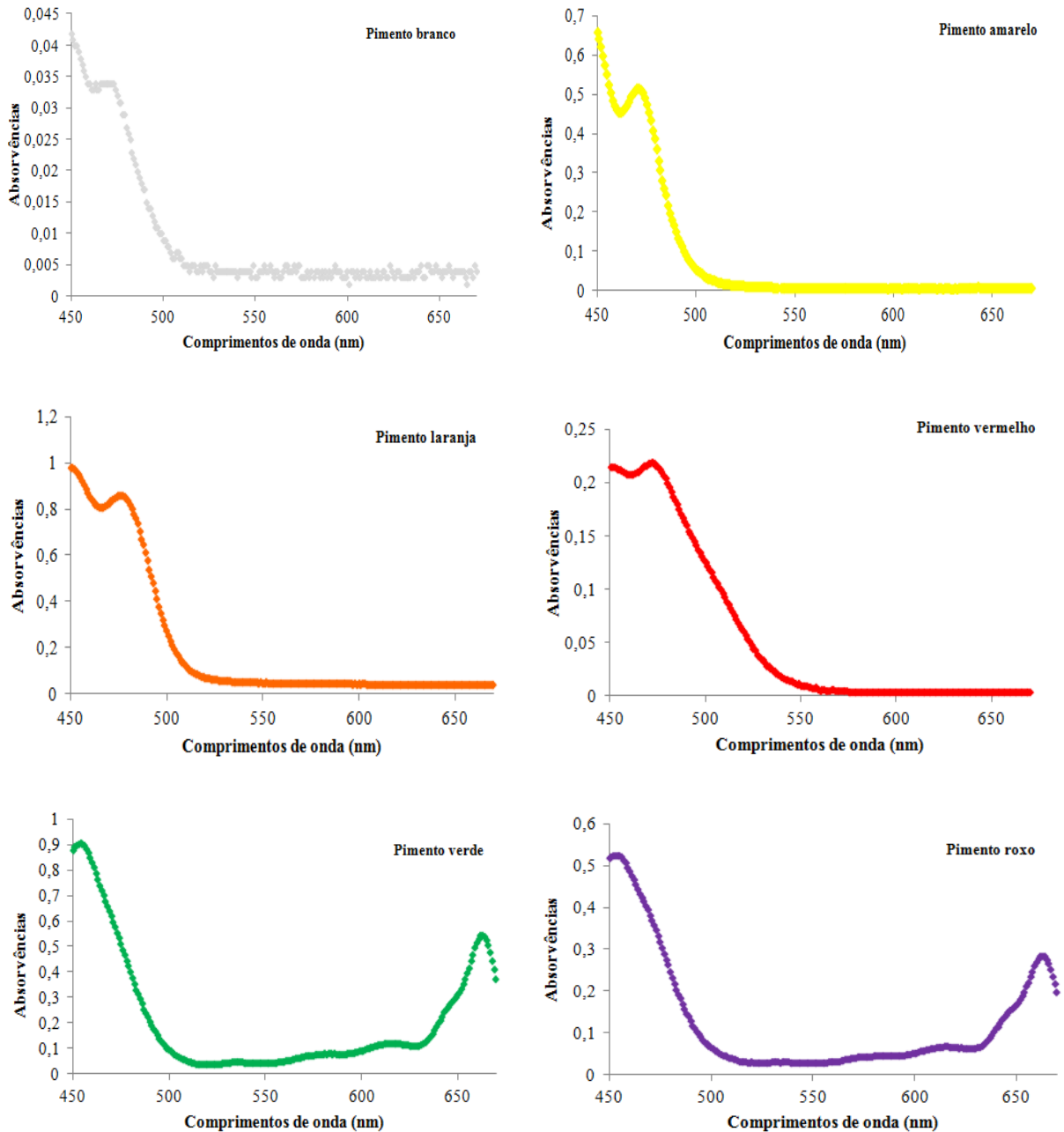


Figura 13. Representação gráfica dos espectros característicos das diferentes variedades de pimento estudadas.

As informações relativas às características físico-químicas dos pimentos (*Capsicum annuum* L.) são importantes para a avaliação do seu consumo e desenvolvimento de novos produtos. As condições edafo-climáticas e o local geográfico onde decorre o cultivo desta espécie são fatores importantes que influenciam a síntese de metabolitos secundários, incluindo os pigmentos naturais. A identificação e quantificação dos teores de pigmentos naturais, incluindo a clorofila a, clorofila b, β -caroteno e licopeno influenciam a cor da variedade do vegetal, no entanto, as suas quantidades dependem do estado de maturação, condições de armazenamento, práticas de processamento e preparação (Nogueira, 2013).

Os resultados dos teores de clorofila a, clorofila b, β -caroteno e licopeno obtidos nas diferentes variedades de pimentos estão representados nas Figuras 14, 15, 16 e 17.

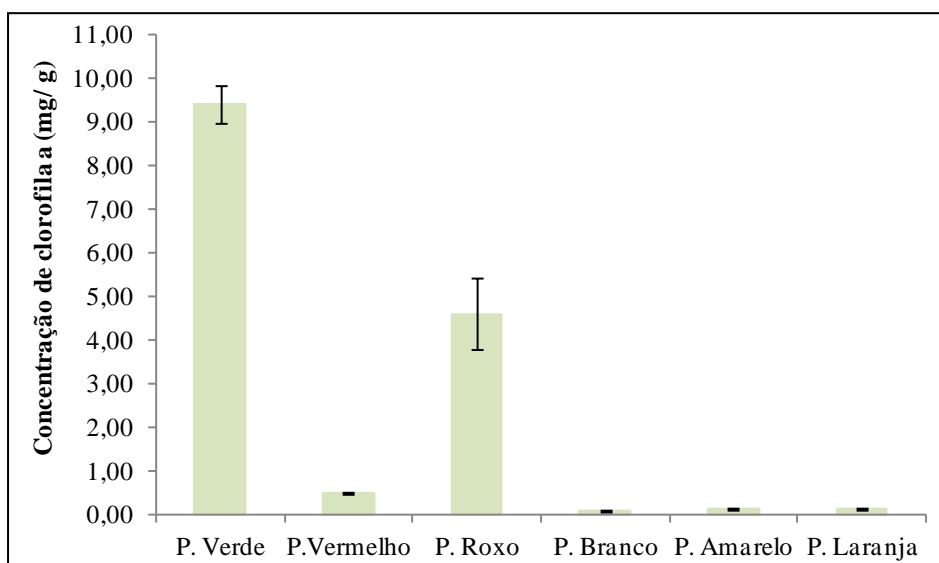


Figura 14. Concentração de clorofila a presente nas diferentes variedades de pimentos.

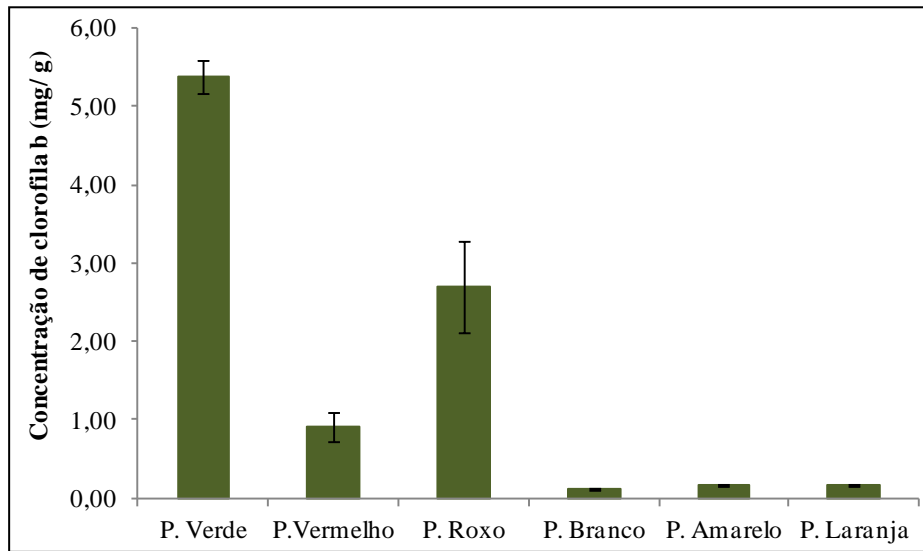


Figura 15. Concentração de clorofila b presente nas diferentes variedades de pimentos.

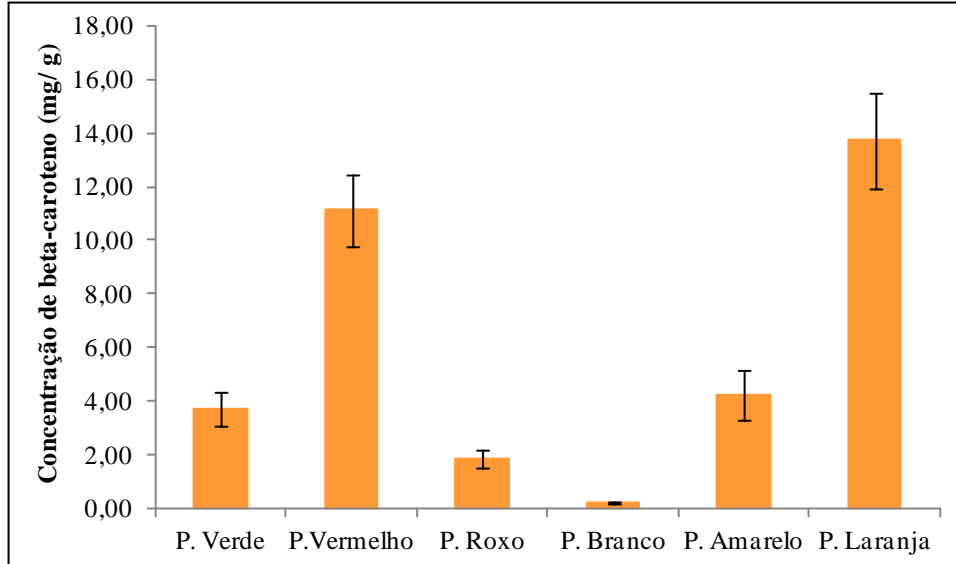


Figura 16. Concentração de β -caroteno presente nas diferentes variedades de pimentos.

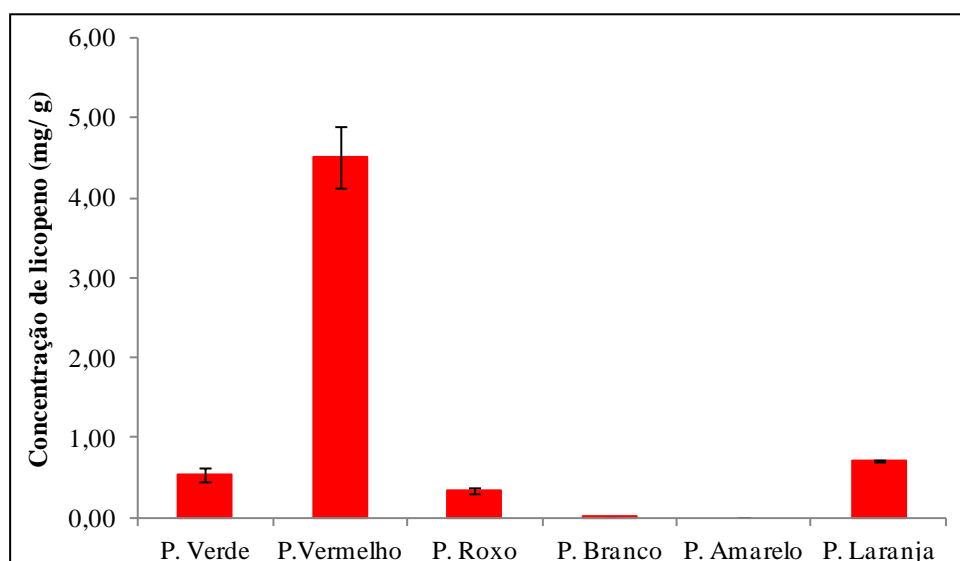


Figura 17. Concentração de licopeno presente nas diferentes variedades de pimentos.

Quanto à clorofila a e clorofila b, estas estão presentes em maiores quantidades nos pimentos verdes e roxos. Estes valores, embora quantificados como clorofilas podem corresponder a outras xantofilas, mais concretamente à luteína e zeaxantina resultantes do processo de hidroxilação do α -caroteno e do β -caroteno (Silva *et al.*, 2010). As clorofilas são pigmentos verdes comuns em todas as células fotossintéticas mas sua abundância varia de acordo com a espécie. A clorofila a é o pigmento essencial no primeiro estágio do processo fotossintético, os restantes pigmentos funcionam como pigmentos acessórios, ou seja, auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação (Streit *et al.* 2005).

O pimento roxo apresenta valores elevados de clorofila a e clorofila b devido ao facto de a sua polpa ser verde, estando a tonalidade roxa concentrada apenas na pele do pimento. Relativamente ao pimento verde era de esperar elevados valores de clorofilas devido à sua cor verde. Curiosamente, os teores de clorofila b foram superiores aos encontrados na clorofila a para as variedades de pimento branco, amarelo e laranja, mostrando que todas as variedades apresentavam um índice de maturação adequado para consumo.

Segundo Hodges e Forney (2000) a perda das clorofilas em frutas e legumes, está associada a mudanças estruturais que libertam ácidos celulares e enzimas, como as polifenoloxidasas, responsáveis pela senescência e escurecimento dos vegetais. O ambiente onde a planta se encontra vai influenciar a intensidade de absorção de luz realizada pela planta. O excesso de luz ativa um mecanismo que diminuiu a sua absorção do UV/Vis para proteger a planta. Neste sentido, a fotossíntese é inibida através de dois processos: fotoinibição e fotooxidação. Uma vez que as clorofilas são pigmentos instáveis devido a diversos fatores ambientais, tais como, o stresse hídrico, pH, luminosidade reduzida, alterações enzimáticas, temperatura e aumento do etileno, deve-se ter alguns cuidados durante o processo de extração, análise e processamento dos alimentos (Streit *et al.*, 2005). A clorofila pode ser usada como corante natural, apresentando aplicações variadas, tanto em alimentos como produtos farmacêuticos e suplementos alimentares (Volpe *et al.* 2009; Goldberg, 1994).

As clorofilas embora não tenham muito destaque em efeitos biológicos demonstrados, apresentam efeitos benéficos para a saúde devido às suas propriedades antimutagênicas e antígenotóxicas (Lila, 2004; Ferruzzi *et al.*, 2002). De acordo com um estudo, clorofilas, clorofilinas e porfirinas tiveram a capacidade de induzir genes citoprotetores, os quais protegem as células contra os danos oxidativos provocados pelos radicais livres (Fahey *et al.*, 2005). Outro estudo demonstrou que extratos aquosos de derivados de clorofilas conseguiram melhorar a habilidade de linfócitos humanos aumentando a sua resistência contra o dano oxidativo induzido pelo peróxido de hidrogênio (Volpe *et al.* 2009; Hsu *et al.*, 2005).

Nos vegetais o β -caroteno está associado à tonalidade laranja enquanto o licopeno é o responsável pelos tons vermelhos. Os resultados estão concordantes com os dados bibliográficos, uma vez que a ordem decrescente dos teores de β -caroteno encontrado nas diferentes variedades de pimento coincide com as tonalidades dos mesmos (laranja > vermelho > amarelo > verde > roxo > branco). O teor de licopeno foi superior no pimento vermelho (4,51 mg/ g), seguindo-se o pimento laranja (0,72 mg/ g), pimento verde (0,53 mg/ g), pimento roxo (0,33 mg/ g) e pimento branco (0,006 mg/ g).

Não foi possível quantificar o teor de licopeno no pimento amarelo, dado o seu teor ser inferior ao mínimo quantificável pelo espectrofotômetro.

Assim, durante a degradação da clorofila potencializam-se as cores características dos carotenoides. Este fenômeno pode ser observado durante a maturação dos frutos e na alteração das tonalidades das folhas das árvores no outono. Após os resultados obtidos nas determinações analíticas das diferentes colorações de variedades do gênero *Capsicum annuum* L., o pigmento que apresenta maior concentração é o β -caroteno. O β -caroteno para além de ser o carotenoide que apresenta maior concentração nos alimentos é também um dos compostos mais estudados na prevenção de doenças (Meléndez-Martínez *et al.*, 2003).

Face aos efeitos biológicos anteriormente referidos, a presença de carotenos em matrizes vegetais, tais como β -caroteno e licopeno são uma mais-valia para a sua reutilização na indústria farmacêutica.

5.3. Sabonetes artesanais com extratos de pimentos

Tal como foi referido no Capítulo IV (Materiais e Métodos), foi efetuada a medição do teor de carotenoides nos sabonetes elaborados. O objetivo desta determinação consistiu em avaliar a perda destes compostos durante o processo de saponificação, uma vez que, a intenção deste trabalho fundamentou-se na elaborar de sabonetes com fins terapêuticos para a pele.

Os resultados dos teores de clorofila a, clorofila b, β -caroteno e licopeno obtidos nos diferentes sabonetes elaborados com extratos de pimentos frescos estão representados nas Figuras 18, 19, 20 e 21. Para esta determinação efetuou-se um sabonete “branco” que consiste na base do sabonete sem a adição de pimento.

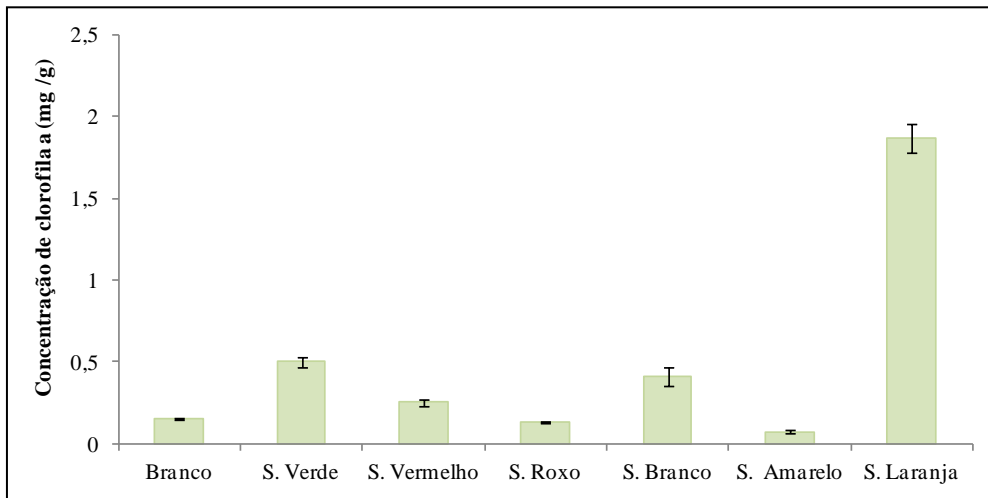


Figura 18. Teores de clorofila a obtidos nos sabonetes enriquecidos com extrato de pimento.

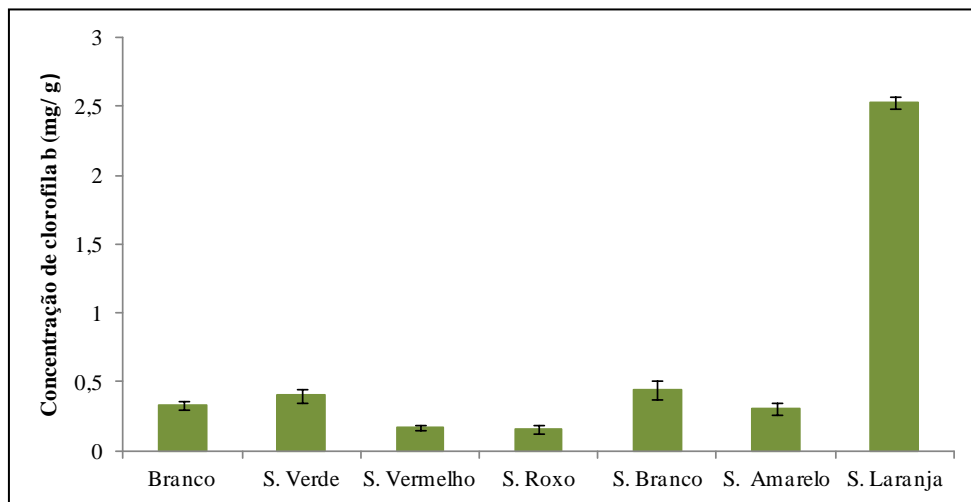


Figura 19. Teores de clorofila b obtidos nos sabonetes enriquecidos com extrato de pimento.

Pela análise das Figuras 18 e 19, verifica-se que todos as concentrações obtidas tanto para a clorofila a como para a clorofila b apresentam valores acrescidos aos valores hipoteticamente reais, uma vez que o branco apresentou absorvências a esses comprimentos de onda (645 e 663 nm). Assim, o sabonete isento de extrato (branco) apresentou teores de clorofila a e de clorofila b de 0,15 mg/ g e 0,33 mg/ g,

respetivamente. Curiosamente verifica-se uma relação inversa nestes teores quando comparados com os extratos de pimentos frescos. Os sabonetes com extratos de pimentos laranja, branco e verde foram os que mostraram superioridade nos teores de clorofilas. Estes resultados estão de acordo com o que foi referido por Silva *et al.* (2010), em que os autores justificam que, por vezes, a quantificação das clorofilas pode não corresponder a esses pigmentos mas a outras xantofilas resultantes da hidrólise dos carotenoides. Por outro lado, sabe-se que no decurso da reação de saponificação ocorre libertação de calor (reação exotérmica) e a presença de oxigénio interfere na estabilidade das moléculas dos carotenoides.

O sabonete com extrato de pimento vermelho foi o que sofreu menos interferências e, conseqüentemente perdas destes compostos. Outra justificação para estes resultados pode dever-se à formação de agregados de clorofilas, clorinas e várias porfirinas. O fenómeno de dimerização de porfirinas e de metaloporfirinas e agregação, desempenha um papel significativo no seu comportamento fotofísico em soluções de natureza polar, no entanto, Moreira *et al.* (2010) afirmou que os auto-agregados podem ser induzidos por várias formas, tais como variações de pH e de concentração iónica, modificações de solventes, funcionalização de monómero interações de van der Waals, ligações de hidrogénio, interações eletrostáticas.

As Figuras 20 e 21 correspondem ao teores de β -caroteno e de licopeno obtidos nos sabonetes enriquecidos com extratos de pimentos. Pela análise à Figura 20, verifica-se que apenas o sabonete com pimento vermelho apresenta uma concentração significativa de β -caroteno (0,62 mg/ g). Não foram detetados teores de β -caroteno para os restantes sabonetes.

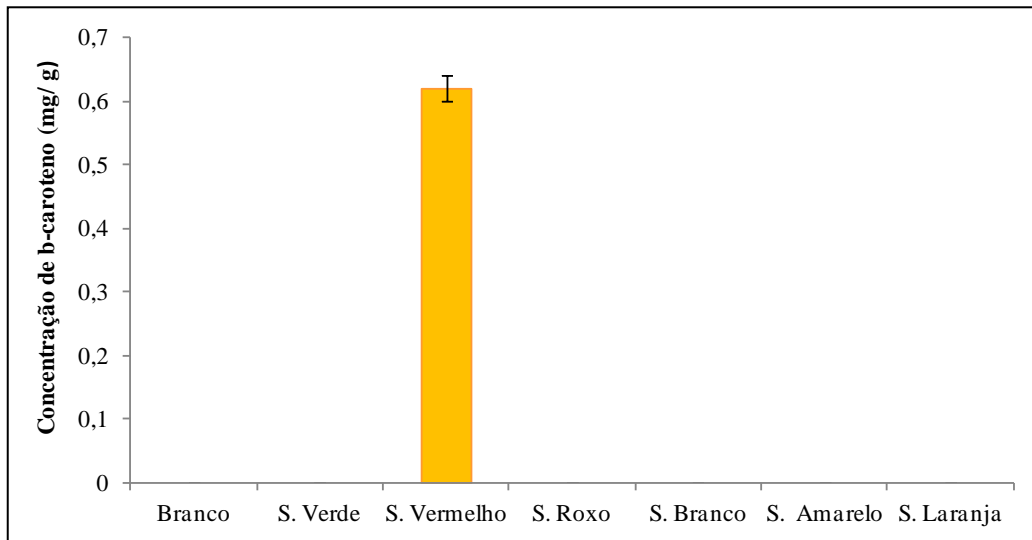


Figura 20. Teores de β -caroteno obtidos nos sabonetes enriquecidos com extrato de pimento.

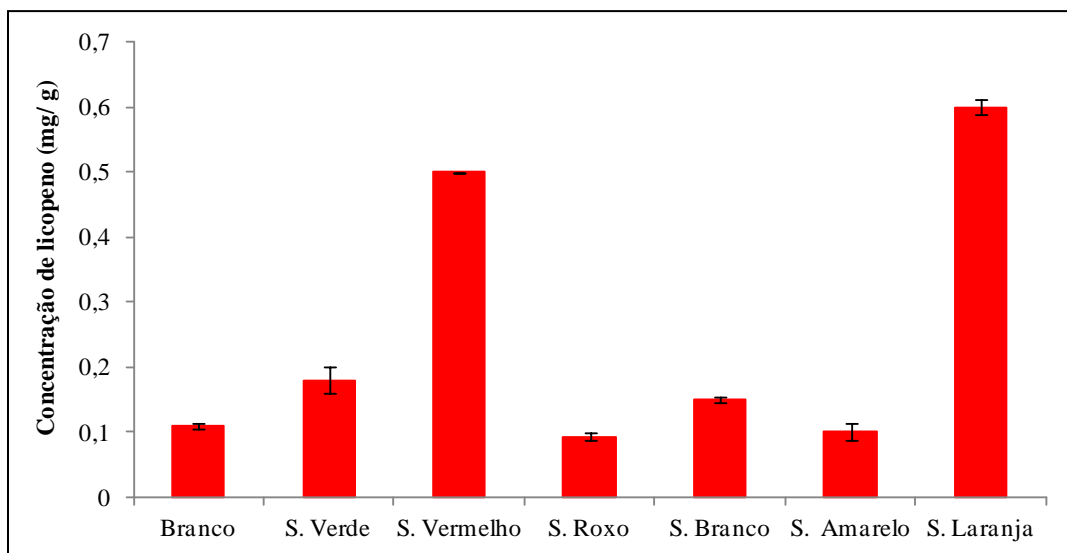


Figura 21. Teores de licopeno obtidos nos sabonetes enriquecidos com extrato de pimento.

O comportamento do teor de licopeno mostrou-se idêntico ao do β -caroteno, no que se refere ao teor perdido. Todos os sabonetes mostraram um decréscimo acentuado na concentração de licopeno, comparativamente com os extratos frescos de pimentos. Pela análise detalhada, verificou-se que no sabonete de pimento vermelho ocorreu uma perda de ~ 89% de licopeno, enquanto que para o sabonete de pimento laranja a perda foi apenas de ~17%. Embora tenha sido encontrado licopeno no sabonete de pimento amarelo, este valor é muito idêntico ao sabonete controlo (branco), razão que justifica também a ausência deste pigmento na quantificação do extrato de pimento amarelo. Estes resultados eram espectáveis. Independentemente da perda de licopeno após a saponificação, esta é bastante menor do que a perda observada no β -caroteno.

A estrutura dos carotenoides é uma característica determinante das propriedades físicas, da reatividade química, do funcionamento biológico ou ações observadas. A menor perda encontrada no licopeno pode ser fundamentada pelo facto deste composto ser mais resistente ao calor e conseqüentemente aos processos culinários, mas pode tornar-se suscetível a isomerização e oxidação durante o processamento e armazenamento (Pelissari *et al.*, 2008).

Em resumo, os dados obtidos constataam que o sabonete que apresenta maior conteúdo de pigmentos naturais é o sabonete de pimento vermelho, no entanto, a introdução de extratos de pimentos mostrou ser uma mais-valia para potenciar os efeitos terapêuticos dos sabonetes.

5.3.1. Determinação do índice de espuma

Durante a agitação ou fervura de um líquido é usual ocorrer a formação de bolhas na superfície, ao qual se designa por espuma. As bolhas são formadas por ar que fica aprisionado dentro de uma bolha no líquido. A medição de índice de espuma é efetuada após agitação durante um determinado tempo de um líquido contendo um detergente. O

volume de espuma formado é medido após agitação controlada num determinado tempo. Apesar de índice de espuma estar associado a propriedades de limpeza o seu valor de aceitabilidade perante o consumidor final vai influenciar o seu valor comercial (Costa, 2014; Amaral *et al.*, 2007; Borella *et al.*, 2006).

Uma vasta gama de compostos orgânicos naturais de origem vegetal (produtos do metabolismo primário e secundário), devido ao facto de serem biologicamente ativos apresentam características anti-inflamatórias, analgésicas, antimicrobianas, entre outras. Estes compostos são utilizados como aromatizantes ou antioxidantes para diversas finalidades, tanto na terapêutica médica como na indústria de cosméticos e alimentos (Nogueira, 2013). As saponinas são os metabolitos secundários que mais interferem na formação de espuma, no entanto, neste trabalho não foram quantificadas e, através da pesquisa bibliográfica não foram encontrados registos sobre a sua quantificação em pimentos.

No entanto, neste trabalho considerou-se importante determinar o índice de espuma, não só pelo facto de ser um dos atributos mais desejados pelos consumidores, como também pelo facto de terem sido adicionados extratos vegetais que, direta ou indiretamente poderão interferir no índice de espuma. Na Tabela 5 encontram-se as medidas de espuma obtidos durante 15 minutos.

Tabela 5. Resultados do índice de espuma nos sabonetes.

Índice de espuma (mm)						
Tempo (minutos)	Sabonete Vermelho	Sabonete Verde	Sabonete Roxo	Sabonete Amarelo	Sabonete Branco	Sabonete Laranja
5	175	130	185	230	170	150
10	185	190	200	165	135	210
15	125	120	100	100	100	135

Apesar de se saber que a espuma não interfere na atividade de uma formulação de sabonete, a maioria das pessoas prefere utilizar um produto que faça uma quantidade maior de espuma, razão pela qual, a importância de se avaliar a espuma formada e sua manutenção durante um tempo pré-estabelecido. Com a realização do teste de altura da

espuma, foram obtidos resultados semelhantes (Tabela 5). Os sabonetes que apresentaram um maior índice de espuma aos 5 minutos foram os sabonetes amarelo e roxo com um índice de espuma de 230 mm e 185 mm, respetivamente. O sabonete vermelho, branco e laranja apresentaram índices de espuma idênticos. O sabonete verde foi o que apresentou genericamente um índice de espuma mais baixo, ao longo dos 15 minutos. Admitindo que a base do sabonete é comum para todas as amostras, uma vez mais, poder-se-á relacionar a diferença qualitativa e quantitativa de compostos fitoquímicos presentes nas diferentes variedades de pimentos. Esta técnica não pode ser considerada como uma metodologia analítica reprodutível e precisa, pois baseia-se apenas numa análise qualitativa pouco rigorosa. Por este mesmo motivo, sugere-se a realização de mais ensaios, no âmbito da tecnologia farmacêutica para detalhar as possíveis diferenças encontradas.

5.3.2. Determinação do pH

Entre os parâmetros físico-químicos associados à qualidade dos sabonetes, especialmente na aparência, estabilidade e eficácia, o pH é o fator que pode interferir não só nestes aspetos inerentes à formulação dos sabonetes, como pode modificar drasticamente a microflora cutânea e promover danos reversíveis e irreversíveis na pele (Prista *et al.*, 2011).

As determinações do pH foram efetuadas nos sabonetes enriquecidos com extratos de diferentes variedades de pimentos e os resultados encontram-se apresentados na Tabela 6. Uma vez que são produtos para aplicação tópica o seu pH deve estar de acordo com o pH cutâneo de forma a não originar irritações ou alergias cutâneas. Os sabonetes de barra apresentam de uma forma geral pH alcalino (Prista *et al.*, 2011).

Tabela 6. Valores de pH dos sabonetes.



Sabonetes	Resultados
Vermelho	9,87±0,11
Verde	9,85±0,12
Roxo	9,74±0,14
Amarelo	9,82±0,11
Branco	9,80±0,07
Laranja	9,88±0,14

O pH foi avaliado de acordo com o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (Pianovski *et al.*, 2008), a partir de soluções de sabonetes a 10%, preparadas com água destilada em pHmetro digital. De uma maneira geral os sabonetes apresentaram um valor de pH ~9,80, ou seja pH alcalino. Segundo Pinheiro e Pinheiro (2007) o uso de sabonetes pode interferir com pH cutâneo, uma vez que o seu pH alcalino pode destruir a camada lipídica superficial, levando a um aumento da secura da pele, também denominada de “efeito sabão”.

Muitos autores referem ainda que o pH da superfície cutânea é um indicador funcional da pele, devido à produção de ácido lático e conferindo um “manto cutâneo ácido” na sua superfície. Por essa mesma razão, a pele apresenta um pH ligeiramente ácido, que ajuda a combater a proliferação de bactérias e fungos. Por outro lado, segundo Couto *et al.* (2007) o pH alcalino é o principal responsável pelas irritações da pele e pela sua desidratação. Analisando os resultados obtidos, pode-se concluir que a formulação destes sabonetes não está bem ajustada, encontrando-se fora da faixa de compatibilidade de acidez da pele, segundo os registos bibliográficos anteriormente publicados deve-se efetuar ligeiros ajustes na formulação dos sabonetes de forma a garantir um abaixamento dos valores de pH, no entanto, estes valores estão de acordo com os relatados na literatura para sabonetes de barra.

5.3.3. Textura

A importância em conhecer melhor o consumidor de modo a satisfazê-lo tem assumido um papel bastante importante uma vez que a competitividade no mercado é cada vez maior (Guiné *et al.* 2014; Rojo, 1998). O desenvolvimento de novos produtos está dependente das necessidades e tendências ou modas dos consumidores. O uso de matérias-primas de origem vegetal tem levado ao aumento da procura de novas tecnologias e matérias-primas, produtos verdes, que podem ser classificados como cosméticos orgânicos (Barbizan, *et al.* 2013; Ribeiro, 2012).

A textura foi avaliada por um texturômetro, sendo que as penetrações foram realizadas em triplicado para cada tipo de sabonete, tendo particular cuidado em não realizar as diferentes penetrações em áreas muito próximas de forma a garantir maior rigor nos resultados experimentais. Os valores de referência da textura de sabonetes estão compreendidos entre os 5 e 7 N. Na Tabela 7 estão apresentados os valores obtidos experimentalmente.

Tabela 7. Valores relativos à textura dos sabonetes.



Sabonetes	Resultados (N)
Vermelho	7,09±0,45
Verde	7,37±0,30
Roxo	8,02±0,29
Amarelo	6,78±0,43
Branco	9,24±0,55
Laranja	6,39±0,54

De uma maneira em geral os resultados estão todos compreendidos dentro dos valores de referência (5-7 N), com a exceção do sabonete roxo que apresenta uma textura de 8,02 N e o sabonete branco que apresenta uma textura de 9,24 N. Quanto maior a variação de valores de textura no mesmo sabonete, maior a sua rugosidade.

A textura dos sabonetes está diretamente relacionada com a composição da sua base. Um sabonete que apresente na sua composição uma base menos solúvel vai originar um sabonete mais denso, duro e com pouca formação de espuma, ao passo que, um sabonete que apresente na sua composição uma base mais solúvel (como por exemplo o óleo de coco) vai originar um sabonete menos denso e com maior formação de espuma (Abbas *et al.*, 2004; Ghaim e Volz, 2001).

Além das características de dureza, odor, cor e índice de espuma, deve-se ter em consideração a solubilidade do sabonete, já que esta apresenta um grande impacto durante a sua utilização e descamação do produto final (Ghaim e Volz, 2001). O comportamento da base pode também estar relacionado com o catião utilizado para a neutralização que influencia significativamente a suavidade e a solubilidade da base. É importante também referir que os sabonetes produzidos não apresentaram fissuras, um aspeto negativo considerado negativo por parte dos consumidores (Ghaim e Volz, 2001).

Tendo em conta que a caracterização físico-química dos sabonetes é bastante importante para garantir a saúde e segurança do consumidor final, outros testes complementares deveriam ter sido realizados neste estudo. Relativamente aos sabonetes realizados neste trabalho propõe-se a realização de ensaios complementares como uma análise sensorial de modo a avaliar a aceitação dos sabonetes produzidos, testes de irritação, toxicidade dérmica e capacidade de hidratação que podem demonstrar e comprovar a segurança do produto desenvolvido.

Capítulo VII. Conclusão

É notório, nos dias de hoje, uma grande preocupação por parte do consumidor não só ao nível de cuidados em saúde mas também ao nível da estética. Através deste estudo pretendeu-se explorar uma diferente área de aplicação, aleando a dermocosmética ao sector alimentar, tirando um maior partido das propriedades químicas e benefícios reconhecidas do *Capsicum annuum* L.

No âmbito deste trabalho e após a análise dos resultados foi possível concluir que os pimentos apresentam uma composição nutricional de excelência devido à presença de compostos como vitaminas, carotenoides e compostos fenólicos.

Numa perspetiva para futuras investigações sugere-se a realização de alguns testes relativamente a ensaios de controlo qualidade como a análise da atividade antimicrobiana de extratos de *Capsicum annuum* L. em sabonetes, testes complementares a nível da tolerância e toxicidade dérmica, parâmetros de dureza e durabilidade para posteriormente tentar introduzir no mercado.

O princípio deste trabalho pode também ser desenvolvido noutras perspetivas a nível da dermocosmética sem ser os sabonetes, como por exemplo no desenvolvimento de cremes e protetores solares, aumentando as potencialidades dos pimentos como pigmentos naturais nesta área.

O objetivo em utilizar pigmentos naturais no estudo, foi alcançado. Os carotenoides devido às suas vantagens, apresentam propriedades antioxidantes que ajudam a neutralizar radicais livres, e por isso o uso houve um crescente interesse na utilização de pigmentos naturais em produtos. A cor de um determinado produto, independentemente de ser considerado produto alimentício ou produto farmacêutico, está diretamente relacionada com a sua qualidade, e preferência por parte dos consumidores.

Tendo em conta que o cultivo de pimentos e pimentões em Portugal apresenta volumes assinaláveis, é possível encará-lo não só como um produto hortícola com fins alimentares, mas também como matéria-prima para aplicação em dermocosmética devido às suas propriedades como pigmento natural. Deste modo, é possível, criar alternativas ao consumo tradicional do pimento, aumentando a sua produção e o seu consumo, contribuindo positivamente para a economia nacional.

Capítulo VIII. Referências Bibliográficas

Abbas, S., Goldberg, J. e Massaro, M. (2004). Personal cleanser technology and clinical performance. *Dermatologic Therapy*, 17, pp. 35-42.

Alam, M. e Havey, J. (2010). Photoaging. *In: Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*. Durham, North Carolina, Blackwell Publishing, pp. 13-20.

Almeida, D. (2006). *Manual de Culturas Hortícolas*. 2ª ed. Lisboa, Editorial Presença, pp.72-78.

Amaral, L., Jaigobind, A. e Jaisingh, S. (2007) *Detergente Doméstico*. Dossier Técnico do Instituto De Tecnologia Do Paraná.

Anunciato, T.P. (2011). *Nutricosméticos*. [Tese de Mestrado]. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto.

Arias, R. *et al.* (2000). Correlation of lycopene measured by HPLC with the L*, a*, b* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, pp. 1697-1702.

Aruna, G. e Baskaran, V. (2010). Comparative study on the levels of carotenoids lutein, zeaxanthin and B-carotene in Indian spices of nutritional and medicinal importance. *Food Chemistry*, 123, pp. 404-409.

Baker, R. e Gunther, C. (2004). The role of carotenoids in consumer choice and the likely benefits from their inclusion into products for human consumption. *Trends in Food Science and Technology*, 15, pp. 484 - 488.

Banout, J. *et al.* (2011). Design and performance evaluation of a Double-pass solar drier for drying of red chilli (*Capsicum annum* L.). *Solar Energy*, 85, pp. 506-515.

Barbizan, F., Ferreira, E. e Dias, I. (2013). Sabonete em barra produzido com óleo de oliva (*olea europaea* l.) Como proposta para o desenvolvimento de cosméticos verdes. *Revista Biologia e Farmácia*, 9(1), pp. 116-127.

Barbosa, M.S.B. (2012) . *Fotoproteção Oral*. [Tese de Mestrado]. Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia.

Borella, J. *et al.* (2006). Variabilidade sazonal do teor de saponinas de *Baccharis trimera* (Less.) DC (Carqueja) e isolamento de flavona. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(4), pp. 557-561

Buzzini, P. *et al.* (2007). Carotenoid profiles of yeasts belonging to the genera *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Sporobolomyces*, and *Sporidiobolus*. *Canadian Journal of Microbiology*, 53, pp. 1024-1031.

Campos, M.R.S. *et al.* (2013). Polyphenols, ascorbic acid and carotenoids contents and antioxidant properties of Habanero pepper (*Capsicum chinense*) fruit. *Food and Nutrition Sciences*, 4, pp. 47-54.

Carvalho, A.V. *et al.* (2013). Características Físicas e Químicas de frutos de punheira no estado do Panamá. *Revista Brasileira de Fruticultura.*, 35(4), pp. 763-768.

Carvalho, O.T.D. (2007). *Carotenoides e composição centesimal de ervilhas (Pisum Sativum L.) cruas e processadas*. [Tese de Mestrado]. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

Carvalho, S.I.C. *et al.* (2003). Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.). *Embrapa Hortaliças (Eds)*, DF Embrapa Hortaliças, Brasília, Brasil, pp. 49.

Carvalho, W. *et al.* (2005). Estimativa indireta de teores de licopeno em frutos de genótipos de tomateiro via análise colorimétrica. *Horticultura Brasileira*, 232(3), pp. 819-825.

Cepeda, E. *et al.* (2000). Pimento (*Capsicum annuum* L.) purée: Preparation, physicochemical properties and microscopical characterisation. *Journal of Food Engineering*, 45, pp. 85-92.

Chillihead (2015). *Chillihead*. [Em linha]. Disponível em <http://www.chillihead.co.za/burn/index.php?route=product%2Fcategory&path=121_124> [Consultado em 02/07/2015].

Codex Alimentarius. (2007). Código de práticas de higiene para las frutas e hortalizas frescas. In: *Frutas y Hortalizas Frescas*. Roma, FAO y OMS, pp. 161-192.

Conforti, F., Statti, G. e Mennichini, F. (2007). Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annuum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity state. *Food Chemistry*, 102, pp. 1096-1104.

Correia, A.T.P. (2012). *Nutracêuticos para aplicação cosmética*. [Tese de Mestrado]. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde.

Costa, R. (2014). *Produtos de Higiene Corporal*. [Tese de Mestrado] Universidade Fernando Pessoa, Faculdade Ciências da Saúde.

Couto, R.C. *et al.* (2007). The effect of application of aquaphor on skin condition, fluid requirements, and bacterial colonization in very low birth weight infants. *Journal Perinatology*, 19, pp. 278–283.

Croteau, R., Kutchan, T.M. e Lewis, N.G. (2000). Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 24, pp. 1250-1319.

Cunha, A.D.C. (2010). *Farmacognosia e Fitoquímica*. 3ª edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp.478-502

Cunningham, W.J. (2001). Antiwrinkle Products. *In:Handbook of Cosmetic Science and Technology*. New York, Marcel Dekker, Inc., pp. 5-18, 543-549.

Darvin, M. *et al.* (2008). Cutaneous concentration of lycopene correlates significantly with the roughness of the skin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69, pp. 943-947.

Darvin, M. *et al.* (2011). Dermal carotenoid level and kinetics after tropical and systemic administration of antioxidants: Enrichment strategies in a controlled in vivo study. *Journal of Dermatological Science*, 64, pp. 53-58.

Devari, S. *et al.* (2014). Capsicum production by *Alternaria alternata*, an endophytic fungus from *Capsicum annum* ;LC-ESI-MS/MS analysis. *Phytochemistry*, 98, pp. 183-189.

Dias, A. (2008). *Nutrição e a Pele*. [Monografia]. Universidade do Porto, Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação.

Dias, D. (2013). *Processos de valorização energética de óleos e gorduras* [Tese de Mestrado]. Universidade Nova de Lisboa Faculdade de Ciências e Biotecnologia.

Dias, M., Camões, M. e Oliveira, L. (2014). Carotenoids stability in fruits, vegetables and working standards- Effect of storage temperature an time. *Food Chemistry*, 156, pp. 37-41.

Domínguez-Bocanegra, A.R. *et al.* (2004) Influence of environmental and nutritional factors in the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 92, pp. 209-214.

Duarte, D. (2010). *Alimentos funcionais com microalgas: nova fonte de pigmentos, antioxidantes e ácidos gordos ómega 3*. [Tese de Mestrado]. Universidade de Lisboa Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

Edge, R., McGarvey, D. e Truscott, T. (1997). The carotenoids as anti-oxidants- a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 41, pp. 189-200.

Eshbaugh, W.H. (1993). History and exploitation of a serendipitous new crop discovery. In: *New crops*, Janick, J. and Simon. New York, New York, J. E., pp. 132-139.

Fahey, J. *et al.* (2005). Chlorophyll, chlorophyllin and related tetrapyrroles are significant inducers of mammalian phase 2 cytoprotective genes. *Carcinogenesis*, 26(7), pp. 1247-1255.

Ferrão, J. (1993). *Especiarias - Cultura Tecnologia Comércio*. Lisboa, Instituto de Investigação Científica Tropical, pp. 354-386.

Ferrão, J. (1999). *Fruticultura Tropical - Espécies com frutos comestíveis*. Lisboa, Instituto de Investigação Científica Tropical - Missão de Macau em Lisboa, pp. 310-322.

Ferruzzi, M. *et al.* (2002). Antioxidant and antimutagenic activity of dietary chlorophyll Derivatives determined by radical scavenging and bacterial reverse mutagenesis assays. *Journal of Food Science*, 67(7), pp. 2589-2595.

Freitas de Araújo, A. *et al.* (2010). Plantas nativas do Brasil empregadas em Fitocosmética. *X Jornadas de Ensino, Pesquisa e Extensão*, Recife, pp.1-3.

Garcia, C. *et al.* (2012). Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos. *Ciencia Rural*, 42(8), pp. 1510-1517

Ghaim, J. e Volz, E. (2001). Skin Cleansing Bars. *In: Handbook of Cosmetic Science and Tecnology*. New York, Macel Dekker, Inc., pp. 485-497.

Goldberg, I. (1994). *Functional foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals*. New York, Chapman & Hall, pp.406.

Gomes, N.G.M. *et al.* (2009). Plants with neurobiological activity as potential targets for drug discovery. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33, pp. 1372-1389.

Grammenou, E. (2008). Nutricosmetics: a new way to beauty. **[Em linha]. Disponível em** <<http://www.gcimagazine.com/marketstrends/segments/nutricosmetics/27921464.html>> **[Consultado em 15/06/2015]**.

Guiné, R. *et al.* (2014). Estudo de Mercado sobre a Aceitação de um Novo Sabonete de Vinho do Porto. *Millenium*, 46, pp. 97-106. 97

Hejazi, M.A., Holwerda, E. e Wijffels, R.H. (2004). Milking microalga *Dunaliella salina* for beta-carotene production in two-phase bioreactors. *Biotechnol Bioeng*, 85, pp. 475-481.

Hernández-Ortega, M. *et al.* (2012). Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory effects of carotenoids extracted from dried pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1, pp. 1-10.

Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S. G. e Goñi, I. (2010). Bioactive Compounds of Four Hot Pepper Varieties (*Capsicum annuum* L.), Antioxidant Capacity and

Intestinal Bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, pp. 3399-3406.

Hodges, D.M. e Forney, C.F. (2000). The effects of ethylene, depressed oxygen and elevated carbon dioxide on antioxidant profiles of senescing spinach leaves. *Journal of Experimental Botany*, 51, n.344, pp.645-655.

Hornero-Méndez, D., Gómez-Ladrón de Guevara, R. e Mínguez-Mosquera, M.I. (2000). Carotenoid biosynthesis changes in five red pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars during ripening. Cultivar selection for breeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, pp. 3857-3864.

Hsu, C. *et al.* (2005). Effects of chlorophyll-related compounds on hydrogen peroxide induced DNA damage within human lymphocytes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), pp. 2746-2750.

Hu, C.C. *et al.* (2008). Determination of carotenoids in *Dunaliella salina* cultivated in Taiwan and antioxidant capacity of the algal carotenoid extract. *Food Chemistry*, 109, pp.439-446.

HunterLab (2013). *HunterLab – CIE L*a*b* Color Scale*.**[Em linha]. Disponível em:** <URL http://www.hunterlab.com/appnotes/an07_96a.pdf> **[Consultado em: 10/08/2015]**

Katsuda, T. *et al* (2008). Effect of light intensity and frequency of flashing light from blue light emitting diodes on astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105, pp. 216.

Lakshminarayana, R. *et al.* (2005). Determinations of Major Carotenoids in a few Indian Leafy Vegetables by Hight Permormance Liquid Chromatography. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, pp. 2838-2842.

Lewinsohn, E. *et al.* (2005). Not just colors—carotenoid degradation as a link between pigmentation and aroma in tomato and watermelon fruit. *Trends in Food Science and Technology*, 16, pp. 407-415.

Li, Z., Yuan, H. e Hu, X. (2008). Cadmium-resistance in growing *Rhodotorula* sp. Y11. *Bioresource Technology*, 99, pp. 1339-1344.

Lila, M. (2004). Plant pigments and human health. *In: Davis, S. Plant pigments and their manipulation*. Oxford, CRC Press/Blackwell Publ, pp. 248-274.

López-Nieto, M.J. *et al.* (2004). Biotechnological lycopene production by mated fermentation of *Blakeslea trispora*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 66, pp. 153-159.

Maio, R. *et al.* (2010). Ingestão Dietética, Concentrações Séricas e Teciduais Oraís de Carotenoides em Pacientes com Carcinoma Epidermoide da Cavidade Oral e da Orofaringe. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 56 n. 1, pp. 7-15

Maldonade, I.R., Rodriguez-Amaya, D.B. e Scamparini, A.R.P. (2008). Carotenoids of yeasts isolated from the Brazilian ecosystem. *Food Chemistry*, 107, pp. 145-150.

Malisorn, C. e Suntornsuk, W. (2008). Optimization of β -carotene production by *Rhodotorula glutinis* DM28 in fermented radish brine. *Bioresource Technology*, 99, pp. 2281-2287.

Mantzouridou, F., Roukas, T. e Kotzekidou, P. (2002). Effect of the aeration rate and agitation speed on β -carotene production and morphology of *Blakeslea trispora* in a stirred tank reactor: mathematical modeling. *Biochemical Engineering Journal*, 10, pp. 123-135.

Martins, K. (2010). *Palinologia de Capsicum spp.:Caracterização, Divergência Genética e Viabilidade Polínica*. [Tese de Mestrado]. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias.

Meléndez- Martínez, A., Vicario, I. e Heredia, F. (2003). Application of tristimulus colorimetry to estimate the carotenoids content in ultrafrozen orange juices. *Journal of Agricultural an Food Chemistry*, 51, pp. 7266-7270.

Meléndez-Martínez, A. *et al.* (2007). Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoids pigments. *Food Chemistry*, 101, pp. 1145-1150.

Meléndez-Martínez, A., Vicario, I. e Heredia, F. (2007). Review: Analysis of carotenoids in orange juice. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, pp. 638-649.

Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I. e Heredia, F. (2007). Pigmentos Carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos LatinoAmericanos de Nutricion*, 57, pp. 109-117.

Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M. e Heredia, F.J. (2007). Rapid assessment of vitamin A activity through objective color measurements for the quality control of orange juices with diverse carotenoid profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(8), pp. 2808-2815.

Melo, A.P.C., Seleguini, A. e Veloso, V.R.S. (2013). Caracterização física e química de frutos de araçá (*Psidium guineense* Swartz). *Comunicata Scientiae*, 4(1), pp. 91-95.

Mínguez-Mosqueta, M. e Hornero-Méndez, D. (1993). Separation an quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.), paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC. *Journal of Food and Chemistry*, 41, pp. 1616-1620.

Morales-Soto, A. *et al.* (2013). High-performance liquid chromatography coupled to diode array and electrospray time-of-flight mass spectrometry detectors for a comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in three pepper (*Capsicum annuum* L.) samples. *Food Research International*, 51, pp. 977-984.

Moreira, L.M., Rodrigues, M.R. e Oliveira, H.P.M. (2010). Influência de diferentes sistemas de solvente água-etanol sobre as propriedades físico-químicas e espectroscópicas dos compostos macrocíclicos feofitina e clorofila a. *Química Nova*, 33(2), pp. 258-262

Moritz, D. E. (2005). *Produção do Pigmento Monascus Por Monascus ruber CCT 3802 em Cultivo Submerso*. [Tese Doutorado]. Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos.

Nogueira, L. (2013). *Composição química e atividade antioxidante de diferentes variedades de pimento (Capsicum annuum L.)*. [Tese de Mestrado]. Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária.

Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares (2011). Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares. [**Em linha**]. Disponível em : <http://www.observatorioagricola.pt/item.asp?id_item=110> [Consultado em 06/02/2015].

Offord, E. A. *et al.* (2002). Photoprotective potential of lycopene, beta-carotene, vitamin E , vitamin C and carnolic acid in UVA-irradiated human skin fibroblasts. *Free Radical Biology & Medicine*, 32, pp. 1293-1303.

Palombo, P. *et al.* (2007). Beneficial long-term effects of combined oral/topic antioxidant treatment with the carotenoids lutein and zeaxanthin on human skin: a double-blind, placebo-controlled study. *Skin Pharmacology and Physiology*, 20(4), pp.199-210

Pelissari, F.M. *et al.* (2008). O licopeno e suas contribuições na prevenção de doenças. *Arquivos do Mudi*, 12, pp. 5-11.

Perucka, I. e Materska, M. (2007). Antioxidant vitamin contents of capsicum annuum fruit extracts as affected by processing and varietal factors. *ACTA Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 6(4), pp. 67-74.

Pianovski, A.R. *et al.* (2008). Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 44(2), pp. 249-259.

Pichersky, E. e Gang, D.R. (2000). Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in Plant Science*, 5, pp. 439-445.

Pinheiro, L. e Pinheiro, A. (2007). A pele da criança. A cosmética infantil será um mito?. *Acta Pediátrica Portuguesa*, 38 (5), pp. 200-208.

Portillo, A. (1997). Plantas Medicinais e Drogas Vegetais. *OFFARM- Farmácia & Sociedade*, 4, pp. 47-48.

Prista, L. *et al.* (2011). *Tecnologia Farmacêutica I Volume*, 7ª Edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp. 91-103

Prista, L. *et al.* (2011). *Tecnologia Farmacêutica II Volume*, 7ª Edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp.1388-1391.

Prista, L., Bahia, M.F.G. e Vilar, E. (1995). *Dermofarmácia e Cosmética II volume*. Porto, Associação Nacional de Farmácias, pp. 317-329

Quirós, A.R.B. e Costa, H.S. (2006). Analysis of carotenoids in vegetable an plasma samples: A review. *Journal of Food and Composition and Analysis*, 19, pp. 97-111.

Ramírez, J., Gutierrez, H. e Gschaedler, A. (2001). Optimization of astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* through factorial design and response surface methodology. *Journal of Biotechnology*, 88, pp. 259-268.

Ramírez, J.R. *et al.* (2015). Colorantes y pigmentos microbianos en la belleza cosmética. *Revista Digital Universitária*, 16(4), pp. 1-17.

Ranjbar, R. *et al.* (2008). High efficiency production of astaxanthin by autotrophic cultivation of *Haematococcus pluvialis* in a bubble column photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 39, pp. 575–580

Rao, A. e Rao, L. (2007). Caratenoids an human heath. *Pharmacological Research*, 55, pp. 207-216.

Rao, A.V. e Agawal, S. (2000). Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *Journal American College Nutrition*, 19, pp. 563-569.

Raven, P., Evert, R. e Eichhorn, S. (2001). *Biologia Vegetal*, 6ª Edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, pp. 48-50 , 128-133.

Reiifschneider, F. J. B. (2000). *Capsicum Pimentas e Pimentões do Brasil*. Brasília, DF: Embrapa comunicação para transferência de tecnologia/ Embrapa Hortaliças, pp. 113

Reis, D. *et al.* (2015). Caracterização biométrica e físico-química de pimenta, variedade biquinho. *Revista Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*, 11 (21), pp. 454-460.

Ribeiro, C.M. *et al.* (2012). A qualidade do relacionamento em diferentes formatos de venda: um estudo no mercado de cosméticos. *5º Congresso Latino-Americano de Varejo*. CLAV, FGV/EAESP.

Richelle, M. *et al.* (2006). Skin bioavailability of dietary vitamin E, carotenoids, polyphenols, vitamin C, zinc and selenium. *British Journal of Nutrition*, 96, pp. 227-38

Rodriguez-Amaya, D., Kimuba, M. e Amaya-Farfan, J. (2008). *Fontes Brasileiras de Carotenoides*, Brasília, Ministério do Meio Ambiente/Secretaria de Biodiversidades e Florestas.

Rodriguez-Amaya, D.B. (1999). *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. Washington, International Life Sciences Institute.

Rojo, F.J.G. (1998). Pesquisa: o comportamento do consumidor nos supermercados. *Revista de Administração de Empresas*, 38(3), pp. 16-24.

Romo-Hualde, A. *et al.* (2012). Supercritical fluid extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red pepper (*Capsicum annuum* L.) by-products. *Food Chemistry*, 133, pp. 1045-1049.

Ruíz, D. *et al.* (2005). Carotenoids from new apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties and their relationship with flesh and skin color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, pp. 6368-6374.

Sanatombi, K. e Sharma, G.J. (2008). Capsaicin content and pungency of different *Capsicum* spp. cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 36, pp. 89-90.

Santos, V.S. (2009). *Caracterização morfológica e derterminação da pungência em pimentos picantes*. [Tese de Mestrado]. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia.

Satyanarayana, A. *et al.* (2003). Chemistry, processing and toxicology of annatto (*Bixa orellana* L.). *Journal of Food Science Technology*, 40, pp. 131-141.

Sentanin, M.A. e Amaya, D.B.R. (2007). Teores de carotenoides em mamão e pêssego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. *Ciências Tecnológicas Alimentares*, 27, pp. 13-19.

Silva, M.L. *et al.* (2010). Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, 31, pp. 669-682.

Sourkes, T.L. (2009). The Discovery and Early History of Carotene. *Bulletin for the History of Chemistry*, 34, pp. 32-38.

Streit, N. *et al.* (2005). As Clorofilas. *Ciência Rural*, 35(3), pp. 748-755.

Stryer, L. (1985). *Bioquímica*. 2ª Edição. Spain, Editorial Reverté, pp. 441-443.

Tapiero, H., Townsend, D.M. e Tew, K.D. (2004). The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 58, pp. 100-110.

Uenojo, M., Maróstica Junior, M.R. e Pastore, G.M. (2007). Carotenoides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. *Química Nova*, 30, pp. 616-622.

Valduga, E. *et al.* (2009). Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. *Química Nova*, 32(9), pp. 2429-2436

Vázquez, M. e Santos, V. (1998). 3-Hydroxy-3', 4'-didehydro-beta-Psi-caroten-4-one (HDCO) from *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*) cultivated on xylose media. *Biotechnology Letters*, 20, pp. 181-182.

Vengaiyah, P. e Pandey, J. (2007). Dehydration kinetics of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Engineering*, 81, pp. 282-286.

Vinha, A.F. *et al.* (2012). Study of the influences by geographical origin in chemical characters, Sugars, and antioxidant activity of Portuguese autochthonous *Prunus armeniaca* L. *Experimental Agriculture & Horticulture*, 1, pp. 8-20.

Vinha, A.F. *et al.* (2014). Effect of peel and seed removal on the nutritional value and antioxidant activity of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruits. *LWT- Food Science and Technology*, 55, pp. 197-202.

Volp, A., Renhe, I. e Stringueta, P. (2009). Pigmentos Naturais Bioativos. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.20(1), pp. 157-166.

Weber, P., (2015). *Vitamin Basics*. [Em linha]. Disponível em : <www.dsm.com/human-nutrition> [Consultado em 10/05/2015].

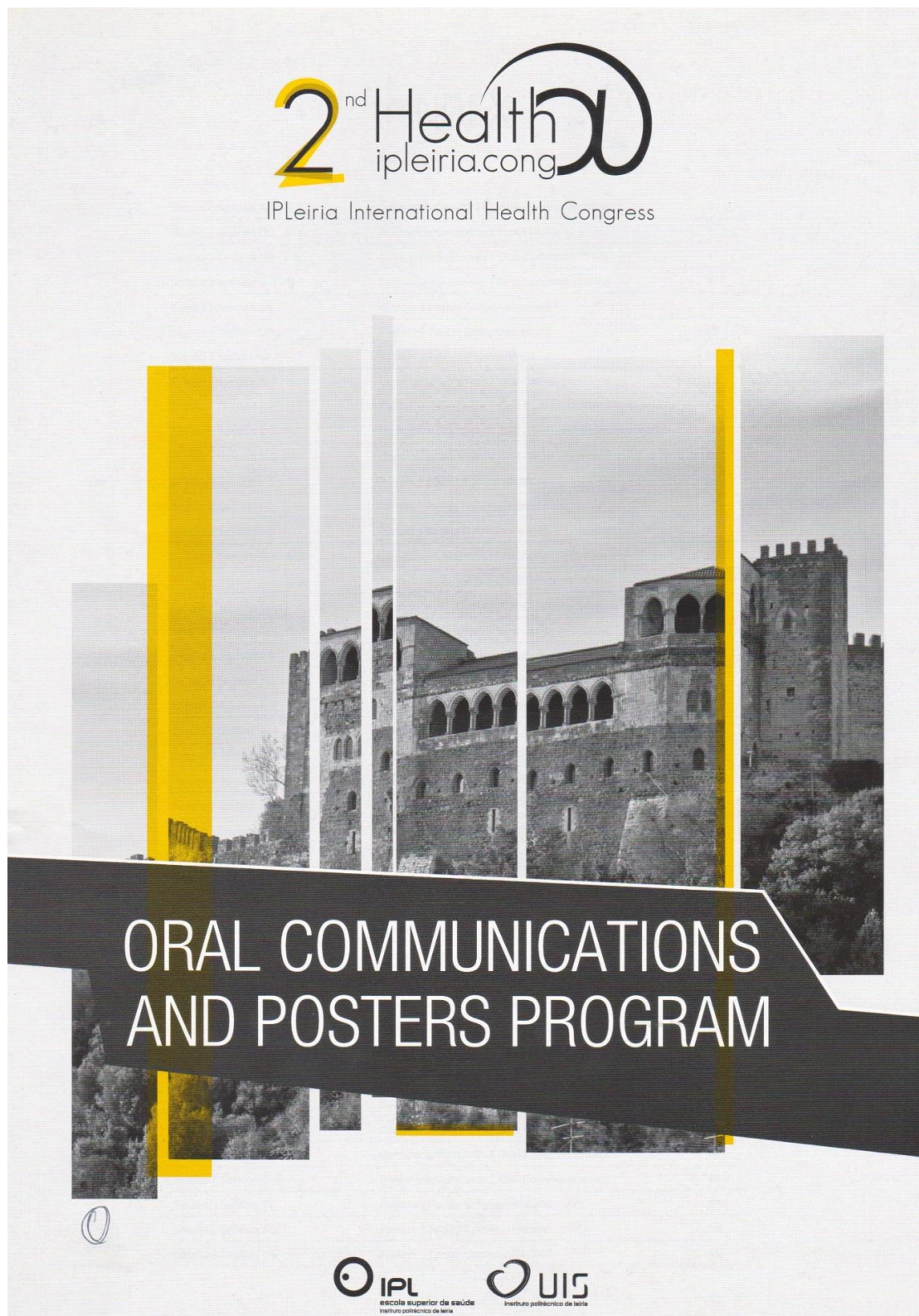
Zeraik, M.L. e Yariwake, J.H. (2008). Extração de β -caroteno de cenouras: uma proposta para disciplinas experimentais de química. *Química Nova*, 33(1), pp. 1259-1262.

Zhang, H. *et al.* (2003). A novel cleavage product formed by autoxidation of lycopene induces apoptosis in HL-60 cells. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 35, pp. 1653–1663.

Zimmer, A. *et al.* (2012). Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: From tradicional use to scientific approach. *Journal of Ethnopharmacology*, 139, pp. 228-233.

Capítulo IX. Anexos

Participação no 2º Congresso Internacional de Saúde Ipleiria.



Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

RSP Revista de Saúde Pública

Volume 48
Special Number
May 2014

2nd Health
iLeiria.cong

IPLeiria International Health Congress

09th and 10th MAY 2014

CHALLENGES & INNOVATION
IN HEALTH

Abstracts

www.rsp.fsp.usp.br

ISSN 0034-8910
ISSN online 1518-8787

117

MUSIC PARODIED: APPLICATIONS IN COMMUNITY HEALTH EDUCATION

Ângela Maria Uchôa Rodrigues^{1,3}, Marcélio Berto da Costa^{1,3}, Fátima Luna Pinheiro Landim^{1,5}, Mirna Albuquerque Frota^{1,2}, Bruna Caroline Rodrigues Tamboril^{1,6}, Thalita Soares Rimes^{1,7}, Pâmela Campelo Paiva^{1,8}

¹Universidade de Fortaleza, Fortaleza, Brasil

²Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Brasil

Introduction: The relevance of this study is to consider parodied music as an object of research in communication.

Objective: To evaluate the learning process promoted by songs, parodying issues of Health Education in the context of a community.

Methods: An exploratory - descriptive study of qualitative character, carried out during the year of 2008 in the city of Fortaleza, Ceará, Brazil. The data collection used the technique of the semi-structured interviews applied to 11 key-informants. The data processing carried the technique of the Collective Subject's Speech. This research is ethically and legally guarded by Opinion.

Results: It was proved that the parodied music is a possible intervention strategy for Health Education, for its potential to become effective by using a few resources and leveraging resources/human potentials of the same community. The negative points identified by the participants were that parodied music should not be applied in an isolated form or as an alternative to other education strategies. On the contrary, there was proved a need to associate it with other methodologies in order to achieve the final goal.

Conclusions: The strategies calls people's attention and are more attractive than the expository explanations normally applied. Considering the potential disseminators of information in the community, it is believed that the possibility of these people to reproduce the captured content with the resource of the CD, at least, in the family context, among friends and neighbors, which already prints to this resource a significant importance.

Descriptors: Health Education; Health Promotion; Music Therapy; Public Health; Community Health Nursing.

¹angeluchoa@unifor.br

³marcelidberto@bol.com.br

¹lunalandim@yahoo.com.br

⁶mirnafrota@unifor.br

⁵carolinebert@gmail.com

⁷thalita_rimes@yahoo.com.br

⁸enfapamelapaiva@hotmail.com

118

CAPSICUM ANNUUM L. WITH DIFFERENT COLORS PROVIDE BIOAVAILABLE PHYTOCHEMICALS WITH HEALTH BENEFITS

Ana Madeira, Carla S. Silva, Sérgio V.P. Barreira, Ana F. Vinha

Faculdade de Ciências da Educação, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal

Introduction: Sweet peppers (*Capsicum annuum* L.) are more than a versatile green or red vegetable. These vegetable is one of the oldest and most important carotenoid food colorants, and it is widely used in food industry and in pharmaceutical formulations. Carotenoids are some of the most vital colored phytochemicals, and accounting for the brilliant colors of a variety of vegetables, and concentration depends on their growth maturity, variety, concentration of carotenoid isomers, and food processing methods.

Objective: The main objective of this work was to examine possible changes in carotenoids contents due to processing, fresh, frozen, and cooked sweet pepper varieties (green, red, yellow, and orange).

Methods: Briefly, 1 g sweet pepper samples were extracted with 20 ml of acetone/hexane (2:3, v/v), then the absorbance of the supernatants at 453, 505, 645, and 663 nm were measured by spectrophotometric assay. The contents of chlorophyll a, chlorophyll b, b-carotene and lycopene were calculated according to the following equations: chlorophyll a (mg/100 mL)=0.999A663-0.0989A645; chlorophyll b (mg/100 mL)=-0.328A663+1.77A645; b-carotene (mg/100 mL)=0.216A663-1.22A645-0.304A505+0.452A453; lycopene (mg/100 mL)=-0.0458A663+0.204A645+0.372A505-0.0806A453.

Results: In comparison with the water-soluble vitamins, the provitamin A carotenoids and lycopene appear to be relatively stable to processing, and cooking. Significant differences in carotenoids were observed ($p < 0.05$) and correlations with each sweet pepper variety.

Conclusions: Major public health benefits could be achieved by increasing consumption of carotenoid-rich vegetables still appears to stand, independently of the type of processing.

Descriptors: *Capsicum annuum* L.; Carotenoids; Antioxidant activity; Health benefits.

Ana Madeira¹, Carla S. Silva¹, Sérgio V.P. Barreira², Ana F. Vinha¹
¹ Faculty of Health Sciences, University Fernando Pessoa, Portugal.



Introduction: Sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) species produce fruits that synthesize and accumulate carotenoid pigments, which are responsible for the fruits' yellow, orange, green and red colors¹. This vegetable is one of the oldest and most important carotenoid food colorants, and it is widely used in the food industry and in pharmaceutical formulations. The main function of carotenoids is the protection of cells and organelles against oxidative damage, which they accomplish by interacting with singlet oxygen molecules and scavenging peroxy radicals, thus preventing the accumulation of harmful reactive oxygen species². The effects of two conservation methods, including frozen, and lyophilized on the carotenoid contents of four sweet pepper varieties (green, red, yellow, and orange), were investigated.



Methods: Pepper samples (fresh, frozen and lyophilized) were extracted with acetone/hexane (4:6, v/v) by centrifugation at room temperature. The absorbances at 453, 505, 645, and 663 nm of the supernatant were measured and used to evaluate the contents (mg/g) of chlorophyll a, chlorophyll b, β -carotene and lycopene according to the following equations :

$$\text{chlorophyll a} = 0.999A_{663} - 0.0989A_{645}$$

$$\text{chlorophyll b} = -0.328A_{663} + 1.77A_{645}$$

$$\beta\text{-carotene} = 0.216A_{663} - 1.22A_{645} - 0.304A_{505} + 0.452A_{453}$$

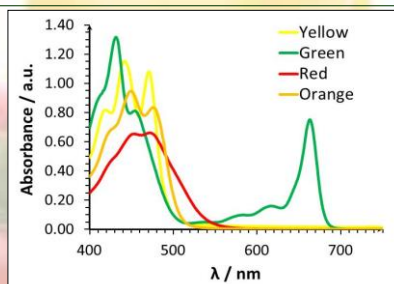
$$\text{lycopene} = -0.0458A_{663} + 0.204A_{645} + 0.372A_{505} - 0.0806A_{453}$$


Figure 1 – Absorbance spectra of extracts obtained from different colored peppers.



Results and discussion: The sweet pepper varieties with different colors have different types and amounts statistically different of carotenoid compounds (Table 1), as would be expected since these are secondary metabolites that are largely responsible for the pigmentation and the spectra of the extracts obtained from the different fruits studied are quite different (Figure 1). Thus, only the beta-carotene is present in measurable quantities in all the pepper varieties studied. On the other hand, lycopene was only detected in red peppers and chlorophyll b in green. The storage method can affect the carotenoids content existing in the fruit in accordance with what has been reported by other authors in the case of other fruits and vegetables³. It is observed that the freezing of pepper may result in an important loss of all molecules analyzed.

Table 1 - Concentration of carotenoids. Values expressed as mean±standard deviation obtained from 3 measurements per replicate. Different lowercase superscripts indicate statistical significant differences ($p < 0.05$).

Sweet pepper variety	Storage	Carotenoids content (mg/g) FW			
		Chlorophyll a	Chlorophyll b	β -carotene	Lycopene
Red	Fresh	Nq	Nq	0.208±0.036 ^{c,d}	0.089±0.015 ^b
	Frozen	Nq	Nq	0.301±0.033 ^{b,c}	0.100±0.011 ^b
	Lyophilized	Nq	Nq	1.408±0.219 ^a	0.499±0.071 ^a
Orange	Fresh	Nq	Nq	0.135±0.047 ^{c,d}	Nq
	Frozen	Nq	Nq	0.230±0.030 ^{c,d}	Nq
	Lyophilized	Nq	Nq	0.514±0.130 ^b	Nq
Yellow	Fresh	0.026±0.012 ^b	0.004±0.002 ^b	0.040±0.007 ^d	Nq
	Frozen	0.003±0.001 ^b	Nq	0.017±0.002 ^d	Nq
	Lyophilized	0.015±0.005 ^b	Nq	0.066±0.001 ^d	Nq
Green	Fresh	0.661±0.036 ^b	0.024±0.001 ^b	0.013±0.001 ^d	Nq
	Frozen	0.579±0.091 ^b	0.023±0.004 ^b	0.011±0.002 ^d	Nq
	Lyophilized	4.245±0.818 ^a	0.189±0.042 ^a	0.121±0.023 ^{c,d}	Nq

Different lowercase superscripts indicate statistical significant differences ($p < 0.05$). Nq – not quantified.

This range from ~4% in the case of chlorophyll b to ~80% in chlorophyll a. The reason why the losses vary with the type of fruit is more surprisingly and is still under scrutiny. Lyophilization in turn, and probably because it concentrates the molecules, appears to increase the availability of carotenoids.



Conclusions: While eating, or using pharmaceutical formulations obtained from sweet pepper fruits with different colors or preserved differently, the consumer must realize that he intakes different amounts of carotenoid compounds. Compared with the fresh fruit, the freezing of the pepper translates into a loss of carotenoids. On the other hand lyophilization may constitute an interesting and innovative storage method for the pepper if the objective is to retain its bioactive compounds.

References:

- Yuan GF, Sun B, Yuan J, Wang QM. Effects of different cooking methods on health-promoting compounds of broccoli. J. Zhejiang Univ. Sci. B. 2009, 10, 580–588.
- Gómez-García MR, Ochoa-Alejo N. Biochemistry and molecular biology of carotenoid biosynthesis in chili peppers (*Capsicum* spp.). Int. J. Mol. Sci. 2013, 14, 19025-19053.
- Puupponen-Pimiä R, Häkkinen ST, Arni M, et al. Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. J. Sci. of Food and Agricul. 2003, 83,1389–1402.