

Teores de carotenoides em produtos de tomate

Carotenoid contents in Brazilian tomato products

RIALA6/1259

Cintia Nanci KOBORI¹, Lísia Senger HUBER¹, Mieko KIMURA², Delia B. RODRIGUEZ-AMAYA^{1*}

Endereço para correspondência: Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, C.P. 6121, 13083-862 Campinas, SP, Brasil. Tel.: (19) 3521-4013. e-mail: delia@fea.unicamp.br

¹Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil

²Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, SP, Brasil

Recebido: 09.09.2009 – Aceito para publicação: 10.02.2010

RESUMO

A composição dos carotenoides em produtos de tomate foi anteriormente determinada em nosso laboratório, utilizando-se cromatografia em coluna aberta. Em virtude da introdução de novas variedades de tomate, do desenvolvimento de novos produtos e dos avanços tecnológicos nas áreas de processamento e de técnicas analíticas, esses dados necessitavam ser atualizados. Neste contexto, no presente estudo determinou-se a composição de carotenoides em produtos de tomates por meio de técnica CLAE. As amostras de extrato, catchup, polpa, molho pronto e tomate seco foram adquiridas em supermercados em Campinas-SP. Para cada produto, foram adquiridos cinco lotes diferentes de cada uma das três marcas (no total de 65 amostras), em que cada lote foi composto por três embalagens coletadas ao acaso. As faixas de licopeno e de β -caroteno total ($\mu\text{g/g}$) foram, respectivamente, 188-261 e 9,3-13 para extrato, 111-203 e 5,1-7,0 para catchup, 77-117 e 4,4-7,3 para polpa, 93-112 e 5,1-6,4 para molho pronto e 231-471 e 7,0-25 para tomate seco. O tomate seco, que foi analisado pela primeira vez, apresentou os maiores teores de licopeno e luteína. Os teores de β -caroteno do extrato e licopeno do extrato e catchup foram maiores nas amostras analisadas neste estudo, quando comparados com os resultados obtidos no trabalho anterior.

Palavras-chave. carotenoides, licopeno, produtos de tomate, CLAE.

ABSTRACT

The carotenoid contents in Brazilian tomato products were previously determined at our laboratory by using raw material. The data regarding the development of new products, the advances on processing technologies and analytical techniques, need to be updated. In this context, the present study was carried out in order to determine the carotenoid contents of processed tomato products by means of HPLC. Samples of ketchup, sauce, paste, pulp and dried tomato were purchased at supermarkets in Campinas, Brazil. For each product, five different lots from each of the three brands (a total of 65 samples) were purchased, each lot consisting of three randomly collected packages. The lycopene and β -carotene concentration ranges ($\mu\text{g/g}$) were 188-261 and 9.3-13 for paste, 111-203 and 5.1-7.0 for ketchup, 77-117 and 4.4-7.3 for pulp, 93-112 and 5.1-6.4 for sauce, 231-471 and 7.0-25 for dried tomato, respectively. Dried tomatoes, which were analyzed for the first time, showed the highest lycopene and lutein concentrations. β -carotene contents in the paste and lycopene contents in tomato paste and in ketchup samples analyzed by the present study were higher than those obtained in the previous investigation.

Key words. carotenoids, lycopene, tomato products, HPLC.

INTRODUÇÃO

O tomate é um produto agrícola importante no mundo inteiro e é o vegetal mais consumido no país. O Brasil lidera a produção de tomate para processamento industrial na América do Sul, sendo o maior mercado consumidor de seus derivados industrializados. Os programas de melhoramento genético de instituições de pesquisas contribuíram para o progresso da cultura no país, priorizando a obtenção de cultivares mais bem adaptadas às condições climáticas das principais regiões produtoras (áreas do Cerrado em GO e MG), resistentes e/ou tolerantes a doenças e pragas limitantes e com melhores características agrônômicas e industriais¹.

Ao longo da década de 90, as linhagens foram substituídas por híbridos de alto potencial produtivo e com características que atendiam aos requisitos dos processadores. Assim, as variedades de polinização aberta, que chegaram a ocupar cerca de 75% de toda área cultivada, deixaram praticamente de ser plantadas². O impulso do uso de híbridos começou a se expandir a partir de 1997. Informações obtidas nas indústrias processadoras indicavam que as cultivares híbridas ocupava 45% da área plantada em 1998 e quase a totalidade da área em 2002³. De acordo com Melo e Vilela (2004)², os principais híbridos plantados eram a Heinz 9992, APT 533, Heinz 9665, APT 529, Heinz 9553, Hypeel 108, Hycolor 312 e RTP 1095.

Há numerosos estudos sobre carotenoides contidos em tomate e seus derivados na literatura. Giovannucci⁴ fez uma extensa revisão sobre os trabalhos publicados sobre tomates, produtos atomatados, câncer e estudos epidemiológicos. Concluiu que os tomates e seus produtos industrializados têm sido associados consistentemente com a diminuição do risco de certos tipos de câncer, com evidências fortes para pulmão, estômago e próstata e sugestivas para câncer cervical, de mama, boca, pâncreas, colo e esôfago. Estes benefícios são sempre atribuídos ao licopeno. Porém, um efeito direto do licopeno ainda não foi comprovado, e outros compostos presentes no tomate também podem ser importantes por suas atividades isoladas ou por interagir com o licopeno.

As atividades biológicas dos carotenoides têm sido relacionadas às suas propriedades antioxidantes, isto é, a sua capacidade de sequestrar o oxigênio singlete e de interagir com radicais livres^{5,6}. O licopeno mostrou ser mais eficiente no sequestro de oxigênio singlete que o β -caroteno e outros antioxidantes estudados por Di Mascio et al⁷.

De acordo com Bramley⁸, 85% do licopeno consumido pelos humanos é obtido do tomate ou de seus derivados e o restante é proveniente da melancia, *grapefruit*, goiaba e mamão. O Brasil também conta com fontes de licopeno, como a pitanga⁹, melancia¹⁰, mamão¹¹ e o caqui¹². No entanto, pelo alto consumo de tomate e seus produtos, estes continuam sendo as principais fontes deste carotenoide na dieta brasileira.

No Brasil, foram comercializados, em 2000, cerca de 350 mil toneladas de produto atomatados, sendo 41% de extrato simples concentrado, 30% de molhos prontos, 15% de catchup e 14% de polpa de tomate¹³. Em 2006, as companhias apostaram nos molhos prontos, que apresentavam crescimento contínuo de 46% nos últimos quatro anos, enquanto o consumo de extratos e polpas diminuía¹⁴.

A importância dos produtos processados de tomate se torna mais evidente quando a biodisponibilidade é considerada. Estudos indicam que o processamento pode aumentar a biodisponibilidade dos carotenoides pela ruptura da parede celular e pela desnaturação das proteínas complexadas com os carotenoides, facilitando a sua liberação da matriz alimentícia. O licopeno do tomate *in natura* ou do suco de tomate sem processamento foi menos absorvido em comparação com o licopeno de produtos de tomate processados, como o suco de tomate cozido com óleo de milho¹⁵, o tomate cozido com azeite de oliva¹⁶ e o extrato de tomate^{17,18,19}.

Bohm e Bitschi²⁰ verificaram a biodisponibilidade do licopeno em mulheres, separando-as em três grupos que ingeriram tomate *in natura*, suco de tomate ou cápsulas de licopeno oleaginoso. A menor absorção de licopeno ocorreu em mulheres que ingeriram tomate fresco, pois a matriz alimentícia sem processamento deve ter diminuído a biodisponibilidade do licopeno. A ruptura da matriz pela homogeneização mecânica e/ou o tratamento térmico aumentaram a biodisponibilidade do licopeno e do β -caroteno no estudo realizado por van het Hof et al²¹ com extrato de tomate. O β -caroteno de cenoura e espinafre submetidos ao tratamento térmico também obteve maior biodisponibilidade em comparação com a obtida dessas fontes *in natura*²².

A biodisponibilidade parece estar afetada também pelas formas isoméricas. Os carotenoides estão presentes predominantemente na natureza na forma *trans*, os isômeros *cis* aparecem em concentrações bem menores, ocorrendo um aumento durante o processamento e estocagem. Já no plasma humano, foram encontrados altos teores de *cis*-licopeno^{23,24}, indicando uma melhor absorção destes pelo

organismo. De acordo com Boileau et al^{25,26}, os isômeros *cis* do licopeno são mais biodisponíveis que as formas *trans* por serem mais solúveis nas micelas de ácidos biliares e por serem incorporados preferencialmente pelos quilomícrons. Por outro lado, o *trans*- β -caroteno foi preferencialmente absorvido em comparação com o 9-*cis*- β -caroteno em humanos^{27,28}. Portanto, quando há quantidades mensuráveis de isômeros *cis* nos alimentos, a separação e a quantificação dos isômeros são recomendáveis.

Tavares e Rodriguez-Amaya²⁹ já reportaram a composição de carotenoides de tomates e seus produtos determinada por cromatografia em coluna aberta. Porém, considerando a introdução de novas variedades de matéria-prima¹⁻³, o desenvolvimento de novos produtos¹⁴ e avanços nas tecnologias de processamento e técnicas analíticas, estes dados necessitavam ser atualizados. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar os teores de carotenoides em cinco produtos de tomates industrializados, comercializados em Campinas-SP: extrato, catchup, polpa, molho pronto e tomate seco.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram amostradas três marcas (A, B e C) de cada produto, extrato, polpa, molho pronto e catchup, em diferentes supermercados da região de Campinas-SP. Para cada marca, foram analisados cinco lotes diferentes, compostos por três embalagens por lote coletadas ao acaso do grande lote do supermercado. As análises foram realizadas dentro das datas de validade dos produtos. Como o tomate seco é mais comumente adquirido e consumido a granel pela população, a amostragem foi composta por cinco amostras de 0,5 Kg, compradas em mercados diferentes. O tomate seco e o molho pronto foram analisados pela primeira vez.

Determinação de carotenoides

A análise de carotenoides foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), baseada na metodologia de Kimura e Rodriguez-Amaya³⁰, efetuando-se as adaptações necessárias às amostras. Este método foi validado anteriormente por Kimura et al³¹, utilizando um material de referência certificado.

As três embalagens de cada lote foram homogeneizadas num processador de alimentos. A extração dos carotenoides foi realizada com 2-3 g de amostra,

dependendo do produto, utilizando almofariz e pistilo, misturando celite (hyflosupercel) à amostra e utilizando acetona como solvente de extração. A mistura foi filtrada em funil de Büchner e o resíduo foi levado novamente ao almofariz. A extração e a filtração foram repetidas até que o resíduo se tornasse incolor. Fez-se a partição para éter de petróleo em um funil de separação e o extrato etéreo foi então concentrado em evaporador rotatório ($T \leq 35^\circ \text{C}$) e seco com N_2 . Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo, o extrato seco foi redissolvido em acetona de grau cromatográfico e filtrado em filtro PTFE 0,22 μm .

Os padrões foram isolados de melancia (licopeno), rúcula (luteína) e batata doce (β -caroteno) por cromatografia em coluna aberta (CCA) de vidro empacotada com mistura de MgO:hyflosupercel (1:1), previamente ativada por 4 horas a 110°C . As soluções foram quantificadas espectrofotometricamente na região visível e as concentrações foram corrigidas de acordo com a pureza da solução determinada por CLAE. A média da pureza dos padrões obtidos foram 96% para licopeno, 94% para luteína e 96% para β -caroteno.

A identificação dos carotenoides foi realizada de acordo com Rodriguez-Amaya³¹, utilizando em conjunto o comportamento cromatográfico e cocromatografia com padrões de carotenoides, análise dos espectros de absorção (λ_{max} e estrutura espectral fina) obtidos pelo DAD e espectrofotômetro UV-Visível e reações químicas específicas para grupos substituintes como acetilação, metilação, redução e rearranjo de grupos epóxidos.

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência foi conduzida em um módulo de separação Waters (modelo 2690) equipado com bomba quaternária, degasser a vácuo na linha e detector de arranjo de diodos (DAD) Waters (Modelo 996), controlados por software Millennium (versão 3.20). Foi utilizada uma coluna monomérica C_{18} Spherisorb ODS2, 3 mm, 4,6 x 150 mm. A detecção dos carotenoides foi feita nos comprimentos de onda de absorção máxima (max plot) e a quantificação foi realizada por padronização externa. A curva foi composta por cinco pontos em triplicata. As curvas passaram pela origem e foram lineares nas faixas de concentração esperadas para as amostras, os coeficientes de correlação obtidos foram maiores que 0,99.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta um cromatograma típico dos carotenoides dos produtos industrializados de tomate, demonstrando a predominância de licopeno.

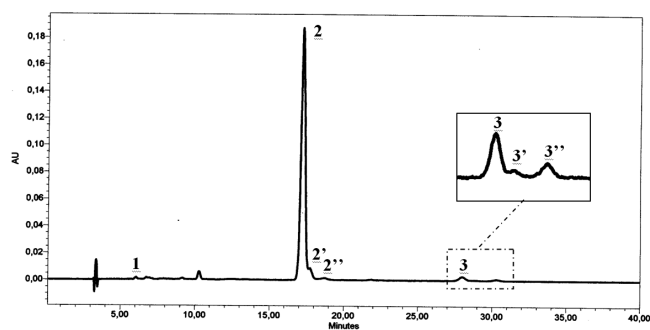


Figura 1. Cromatograma típico obtido por CLAE dos carotenoides de produtos de tomate. Identificação dos picos: 1. luteína, 2. *trans* licopeno, 2' e 2'' isômeros *cis* do licopeno, 3. β -caroteno e 3' e 3'' isômeros *cis* do β -caroteno. Detecção a 450 nm. Condições cromatográficas estão descritas no texto

A identificação do pico de licopeno foi realizada pelo seu espectro de absorção na região visível ($\lambda_{\text{máx}}$ a 448, 473 e 505 nm na fase móvel; estrutura espectral % III/II = 71), de acordo com um cromóforo de 11 duplas ligações conjugadas, todas na cadeia poliênica. A ausência de grupos funcionais foi demonstrada pelo comportamento cromatográfico ($t_R = 17$ minutos). Este carotenoide coeluiu com o padrão de licopeno isolado por CCA.

O β -caroteno apresentou $\lambda_{\text{máx}}$ a 455 e 482 nm na fase móvel, tendo pouca estrutura espectral (% III/II = 25), refletindo um cromóforo de 11 duplas conjugadas, porém, com duas duplas nos anéis β . O tempo de retenção ($t_R = 28$ minutos) indica a ausência de substituintes. Além disso, este carotenoide coeluiu com o padrão de β -caroteno isolado por CCA.

A luteína apresentou $\lambda_{\text{máx}}$ a 424, 448 e 476 nm na fase móvel, tendo estrutura espectral intermediária (% III/II = 60), que é típico para um carotenoide com 10 duplas conjugadas, nove na cadeia poliênica e uma no anel b. O comportamento cromatográfico foi de acordo com o característico para carotenoides dihidroxilados ($t_R = 6$ minutos). Este carotenoide também coeluiu com o padrão de luteína isolado por CCA.

Observa-se na Tabela 1 que o licopeno total (*trans* + *cis*) foi encontrado em alta concentração em todos os produtos, variando de 77 $\mu\text{g/g}$ em polpa de tomate a 361 $\mu\text{g/g}$ no tomate seco.

Tavares e Rodriguez-Amaya²⁹ obtiveram faixas de 164–183, 86–103 e 89–133 $\mu\text{g/g}$ para licopeno e 4,3–6,6, 3,5 e 3,0–5,0 para β -caroteno em extrato de tomate enlatado, catchup e polpa embalada em caixa Tetra Pak®, respectivamente. Em comparação com os dados obtidos no presente trabalho, para *trans*- β -caroteno, estes valores são

ligeiramente menores para extrato e similares para catchup e polpa; para *trans*-licopeno, os teores são semelhantes para polpa, mais menores para extrato e catchup. As diferenças se devem, provavelmente, às substituições do cultivar de tomate utilizado pela indústria e/ou as modificações realizadas no processamento pela indústria.

Tabela 1. Teores dos principais carotenoides nos produtos de tomate em base úmida

Marca	Concentração de carotenoides ($\mu\text{g/g}$) ^a				
	licopeno		β -caroteno		luteína
	<i>trans</i>	<i>cis</i>	<i>trans</i>	<i>cis</i>	total ^b
Extrato (em lata)					
A	243 \pm 43	14 \pm 3,2	9,2 \pm 2,5	3,6 \pm 1,0	Tr
B	248 \pm 25	13 \pm 1,8	9,1 \pm 1,5	3,6 \pm 0,5	Tr
C	179 \pm 23	9,6 \pm 1,3	6,5 \pm 1,1	2,8 \pm 0,1	Tr
Catchup (em frasco plástico)					
A	104 \pm 17	6,6 \pm 0,6	3,5 \pm 0,7	1,5 \pm 0,5	Tr
B	192 \pm 38	11 \pm 1,8	5,2 \pm 1,6	1,8 \pm 0,6	Tr
C	147 \pm 33	8,0 \pm 0,2	4,7 \pm 1,2	1,8 \pm 0,2	Tr
Polpa (em caixa Tetra Pak®)					
A	72 \pm 12	5,1 \pm 1,2	3,0 \pm 0,7	1,4 \pm 0,4	Tr
B	110 \pm 30	6,7 \pm 2,2	5,1 \pm 2,1	2,1 \pm 0,7	Tr
C	81 \pm 23	5,0 \pm 0,7	3,2 \pm 0,5	1,4 \pm 0,2	Tr
Molho pronto (em lata)					
A	90 \pm 23	6,6 \pm 1,4	3,3 \pm 0,7	2,1 \pm 0,3	Tr
B	84 \pm 12	8,9 \pm 0,9	3,0 \pm 0,5	2,1 \pm 0,4	Tr
C	99 \pm 26	13 \pm 0,5	4,1 \pm 0,5	2,3 \pm 0,2	Tr
Tomate seco a granel					
	343 \pm 96	18,3 \pm 5,2	13 \pm 6,8	2,7 \pm 0,9	4,0 \pm 0,9

^aMédia e desvio padrão dos 5 lotes diferentes;

^btotal = *trans* + *cis*;

Tr = traço (<0,1 $\mu\text{g/g}$)

A composição de carotenoides em molho pronto e tomate seco foi avaliada pela primeira vez. Os molhos de tomate apresentaram teores de licopeno e β -caroteno similares aos da polpa e bem menores que do extrato, um resultado esperado uma vez que o último é um produto concentrado. Os molhos, porém, estão prontos para serem consumidos, enquanto que o extrato é incorporado em receitas e, portanto, diluído. Já o tomate seco, que é um produto introduzido mais recentemente, possui licopeno, β -caroteno e luteína em concentrações 10 vezes maiores que no tomate fresco e é um produto pronto para consumo. O maior teor de carotenoides deste produto deve ocorrer devido à perda de água durante o processamento, que resulta na concentração destes compostos mesmo com provável degradação devido ao uso de altas temperaturas.

Segundo Melo e Vilela¹, o desenvolvimento de cultivares para o processamento do tomate seco ainda constitui um importante nicho para pesquisas, pois vem apresentando tendências de franca expansão no mercado. Atualmente, não existem cultivares adequadas para a produção de tomate seco, as cultivares utilizadas possuem grande quantidade de água na polpa, que exige muito tempo para desidratação completa (em média 12 horas). A fabricação de tomate seco no Brasil tem sido realizada por pequenas empresas que ainda utilizam equipamentos artesanais. Mesmo com sua produção ainda não otimizada pela indústria, o tomate seco apresentou as maiores concentrações de todos os carotenoides avaliados.

Embora os produtos de tomate tenham sido extensivamente analisados em outros países, foi encontrado apenas um trabalho brasileiro, além dos dois trabalhos realizados no nosso laboratório, que avaliou somente uma marca de polpa e catchup e ainda reportou a quantificação dos carotenoides individuais em base seca³³. Os teores de carotenoides totais obtidos em base úmida foram bem superiores para polpa (348-355 $\mu\text{g/g}$) e próximos para catchup (123-131 $\mu\text{g/g}$) em comparação com os nossos resultados.

Os teores de licopeno e β -caroteno total (mg/g) dos produtos de tomate avaliados nos Estados Unidos, encontrados no banco de dados do USDA (*United States Department of Agriculture*)³⁴ são, respectivamente, 288 e 9,0 para extrato, 167 e 5,6 para catchup, 218 e 3,1 para polpa, 140 e 2,6 para molho pronto. Estes valores são próximos para o extrato e maiores para catchup e especialmente para polpa e molho pronto, em relação aos dados do presente trabalho.

CONCLUSÃO

A introdução de novas variedades de matéria-prima e os avanços das tecnologias de processamento refletiu num aumento das concentrações de carotenoides nos produtos de tomates comercializados no Brasil. O desenvolvimento de novos produtos, como os molhos prontos e o tomate seco, também contribui para o aumento da oferta desses alimentos fontes de carotenoides. O tomate seco destacou-se pelos altos teores de licopeno.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), projeto PRONEX n° 2003/10151-4, pelo financiamento.

REFERÊNCIAS

1. Melo PCT, Vilela NJ. Desafios e perspectivas para a cadeia brasileira do tomate para processamento industrial. *Hortic Bras* 2005; 23 (1): 154-7.
2. Melo PCT, Vilela NJ. Desempenho da cadeia agroindustrial brasileira do tomate na década de 90. *Hortic Bras*. 2004; 22 (1): 154-60.
3. Embrapa Hortaliças. Cultivo de tomate para industrialização. 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/index.htm>.
4. Giovannucci E. Tomatoes, tomatoes-based products, lycopene, and câncer: review of the epidemiologic literature. *J National Cancer Inst*. 1999; 91 (4): 317-31.
5. Burton GW. Antioxidant action of carotenoids. *J Nutr*. 1989; 119: 109-11.
6. Krinsky NI. Antioxidant unctions of carotenoids. *Free Radical Bio Med*. 1989; 7: 617-35.
7. Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys*. 1989; 274: 532-8.
8. Bramley PM. Is lycopene benecial to human health? *Phytochem*. 2000; 54: 233-6.
9. Porcu OM, Rodriguez-Amaya DB. Variation in the carotenoid composition of the lycopene-rich brazilian fruit *Eugenia uniflora* L. *Plant Foods Hum Nutr*. 2008; 63: 195-9.
10. Niizu PY, Rodriguez-Amaya DB. A melancia como fonte de licopeno. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2003; 62(3): 195-200.

11. Sentanin MA, Rodriguez-Amaya DB. Teores de carotenóides em mamão e pêssego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. *Ciênc Tecnol Alim*. 2007; 27: 787-92.
12. Brossard J, Mackinney G. The carotenoids of *Diospyros kaki* (Japanese Persimmons). *J Agric Food Chem*. 1963; 11 (6): 501-3.
13. Araújo L. Atomatados: um mercado disputado por gigantes mundiais. *Brasil Alim*. 2001; 9: 21-2.
14. Brasil. Alimentos. Atomatados: setor substitui embalagens de aço por caixinhas. 2007; 308. Available from: <http://www.signuseditora.com.br/BA/default.asp>.
15. Stahl W, Sies H. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr*. 1992; 122: 2161-6.
16. Fielding JM, Rowley KG, Cooper P, O'Dea K. Increases in plasma lycopene concentration after consumption of tomatoes cooked with olive oil. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2005; 14 (2):131-6.
17. Agarwal A, Shen H, Agarwal S, Rao AV. Lycopene content of tomato products: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *J Med Food*. 2001; 4: 9-15.
18. Gartner C, Stahl W, Sies H. Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *Am J Clin Nutr*. 1997; 66: 116-22.
19. Richelle M, Bortlik K, Liardet S, Hager C, Lambelet P, Baur M et al. A food-based formulation provides lycopene with the same bioavailability to humans as that from tomato paste. *J Nutr* 2002; 132: 404-8.
20. Bohm V, Bitsch R. Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status and the antioxidant capacity of human plasma. *Eur J Nutr*. 1999; 38: 118-25.
21. van het Hof KH, de Boer BCJ, Tijburg LBM, Lucius BRHM, Zijp I, West CE et al. Carotenoid Bioavailability in Humans from Tomatoes Processed in Different Ways Determined from the Carotenoid Response in the Triglyceride-Rich Lipoprotein Fraction of Plasma after a Single Consumption and in Plasma after Four Days of Consumption. *J Nutr* 2000; 130: 1189-96.
22. Rock CL, Lovalvo JL, Emehiser C, Ruffin MT, Flatt SW, Schwartz SJ. Bioavailability of β -carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. *J Nutr*. 1998; 128: 913-6.
23. Stahl W, Schwarz W, Sundquist AR, Sies H. *Cis-trans* isomers of lycopene and β -carotene in human serum and tissues. *Arch Biochem Biophys*. 1992; 294 (1): 173-7.
24. Schierle J, Bretzel W, Bühler I, Faccin N, Hess D, Steiner K et al. Content and isomeric ratio of lycopene in food and human blood plasma. *Food Chem*. 1997; 59 (3): 459-65.
25. Boileau AC, Marchen NR, Wasson K, Atkinson CA, Erdman Jr JW. *Cis*-lycopene is more bioavailable than *trans*-lycopene in vitro and in vivo in lymph-cannulated ferrets. *J Nutr*. 1999; 129: 1176-81.
26. Boileau TWM, Boileau A, Erdman Jr. JW. Bioavailability of *all-trans* and *cis*-isomers of lycopene. *Exp Biol Med*. 2002; 227: 914-9.
27. Gaziano JM, Johnson EJ, Russell RM, Manson JE, Stampfer MJ, Ridker PM et al. Discrimination in absorption or transport of β -carotene isomers after oral supplementation with either *all-trans*-or *9-cis*- β -carotene. *Am J Clin Nutr*. 1995; 61: 1248-52.
28. Stahl W, Schwarz W, von Laar J, Sies H. All-trans β -carotene preferentially accumulates in human chylomicrons and very low density lipoproteins compared with the *9-cis* geometrical isomer. *J Nutr*. 1995; 125: 2128-33.
29. Tavares CA, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition o brazilian tomatoes and tomatoes products. *Lebensm Wiss Technol*. 1994; 27: 219-24.
30. Kimura M, Rodriguez-Amaya DB. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. *Food Chem*. 2002; 78 (3): 389-98.
31. Kimura M, Kobori CN, Rodriguez-Amaya DB, Nestel P. Screening and HPLC methods dor carotenoids in sweetpotato, cassava and maize for plant breeding trials. *Food Chem*. 2007, 100, 1734-46.
32. Rodriguez-Amaya DB. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington, D. C.: International Life Sciences Institute Press; 1999.
33. Gama JJT, Tadiotti AC, de Sylos CM. Comparison of carotenoid content in tomato, tomato pulp and ketchup by liquid chromatography. *Alim Nutr*. 2006, 17, 353-8.
34. USDA (*United States Department of Agriculture*). National Nutrient Database for Standard Reference. Available from: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>