

FONSECA MEN; FILHO, JG; SILVA ED; ARAÚJO, AH; BOITEUX LS. Análise via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do conteúdo e composição de carotenóides em frutos maduros de espécies silvestres e cultivadas de *Solanum* (secção *Lycopersicon*). 2010. Horticultura Brasileira 28: S937-S940.

Análise via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do conteúdo e composição de carotenóides em frutos maduros de espécies silvestres e cultivadas de *Solanum* (secção *Lycopersicon*).

Maria Esther de Noronha Fonseca^{1,2}; José Getulio Filho^{1,3}; Elaine Dias da Silva^{1,3}; Ana Heloneida Araújo^{1,4}; Leonardo Silva Boiteux^{1,2}

¹Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNPq), Embrapa Hortaliças, CP 218, 70359-970, Brasília-DF, Brasil; ²Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq/MCT; ³Universidade de Brasília. ⁴Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 59072-970 Natal-RN.

RESUMO

O germoplasma de espécies selvagens tem sido amplamente utilizado para o melhoramento genético do tomateiro. No entanto, ainda têm sido poucas as tentativas de manipular a composição/balanço de carotenóides e valor nutricional nos frutos do tomateiro cultivado utilizando genes oriundos de espécies selvagens. No presente estudo, frutos de acessos de espécies selvagens com uma diversa amplitude de cores variando de verde (*S. habrochaites*, *S. chilense*, *S. peruvianum*, *S. neorickii* e *S. pennellii*), ao amarelo [*S. pimpinellifolium* (mutante de fruto amarelo), *S. galapagense* e *S. cheesmaniae*] e ao vermelho (*S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicum* e *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) foram avaliados em relação aos teores e tipos de carotenóides via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os frutos dos diferentes acessos de espécies selvagens apresentam diversos tipos, conteúdos e balanço de carotenóides. Acessos com frutos maduros com coloração verde apresentam um acúmulo de luteína e zeaxantina, que não foram detectados nos acessos de tomate cultivado. O carotenóide α -caroteno foi detectado em *S. galapagense*, *S. cheesmaniae* e em um mutante de *S. pimpinellifolium* com frutos amarelos. Os acessos de *S. pimpinellifolium* (de coloração tipicamente vermelha) apresentaram bons

níveis de todos os carotenóides avaliados com exceção de fitoeno e zeaxantina. Este padrão de acumulação diferencial de carotenóides indica que distintos mecanismos de regulação ocorrem nas diferentes espécies estudadas. Estes resultados podem ser úteis em programas de melhoramento que visem modificar o conteúdo, tipo ou composição total de carotenóides com propriedades nutricionais, sensoriais ou funcionais em frutos de tomateiro.

Palavras-chave: tomate, pigmentos nutracêuticos, melhoramento.

ABSTRACT

High performance liquid chromatography analysis of carotenoid content and types in mature fruits of wild and cultivated species of *Solanum* (section *Lycopersicon*).

A vast amount of work has been done with the phenotypic, genetic, biochemical and molecular characterization of fruit lycopene and b-carotene composition and amount in tomatoes. However, comparatively little information is available about the amount and diversity of carotenoid pigments in mature fruits of closely related wild *Solanum* (section *Lycopersicon*) species. In the present work,

the carotenoid fruit composition was evaluated (via High Performance Liquid Chromatography) in a germplasm collection comprising species of the genus *Solanum* section *Lycopersicon* with a wide array of colors varying from distinct shades of green (*S. habrochaites*, *S. chilense*, *S. peruvianum*, *S. neorickii* and *S. pennellii*), to yellow (*S. galapagense* and *S. cheesmaniae*) and red/deep red (*S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* and *S. lycopersicum* wild-type and color mutants). The carotenoid compounds accumulated in varying amounts as well as in distinct blends across species. The main carotenoids found in accessions with greenish mature fruit were lutein, zeaxanthin, phytoene and phytofluene. One yellow-fruit accession of *S. pimpinellifolium* had a peculiar profile with all carotenoids of the red-fruit accession except for complete absence of lycopene, zeaxanthin and d-

carotene. The yellow-fruit accession of *S. galapagense* had lutein, traces of α -carotene and the highest levels of trans- β -carotene. The red-fruit accessions of *S. pimpinellifolium* displayed the most diverse carotenoid profile accumulating variable levels of all carotenoids but zeaxanthin and phytoene. These patterns of differential carotenoid accumulation reinforce the notion that distinct gene regulation mechanisms are operative in the carotenoid biosynthetic pathway across *Solanum* (section *Lycopersicon*) species. The results reported here might be useful to breeding programs aiming to increase and/or modify the amount, types and blends of carotenoid pigments with distinct sensorial, functional and nutritional properties in tomato fruits.

Keywords: Tomato, nutraceutical pigments, breeding.

Os carotenóides são pigmentos lipossolúveis que desempenham papéis fisiológicos e bioquímicos relevantes (Giuliano *et al.*, 2003). Na nutrição humana, alguns carotenóides como o β -caroteno, α -caroteno e a criptoxantina são convertidos em vitamina A. Derivados oxigenados dos carotenóides (xantofilas) tais como luteína, violaxantina, neoxantina e zeaxantina apresentam efeitos antioxidantes benéficos, reduzindo os riscos de doenças causadas por degeneração macular, incluindo a catarata (Smidt & Burke, 2004). O principal carotenóide presente em frutos maduros do tomate cultivado é o pigmento vermelho licopeno (Fraser *et al.*, 1994). As propriedades únicas da molécula do licopeno fazem deste pigmento um dos mais poderosos antioxidantes disponíveis na natureza (Rao *et al.*, 1998). Do ponto de vista do melhoramento genético do tomateiro a concentração de licopeno (cor vermelha) está associada com a melhoria da percepção visual e conferindo sabor e aroma mais acentuados e atrativos (Lewinsohn *et al.*, 2005). Desta forma, existe uma forte demanda para o aumento da concentração de licopeno no fruto do tomate tanto para o consumo *in natura* como para produtos processados (Carvalho *et al.*, 2005). No entanto, ainda têm sido poucas as tentativas de manipular a composição/balanco de carotenóides e valor nutricional nos frutos do tomateiro cultivado utilizando genes oriundos de espécies selvagens. Existe uma grande diversidade natural de teores e tipos de carotenóides em acessos do gênero *Solanum* secção *Lycopersicon* que permanece largamente inexplorada (Kabelka *et al.*, 2004). No presente trabalho, frutos de espécies do gênero *Solanum* [secção *Lycopersicon*: Solanaceae] mostrando um amplo espectro de cores de fruto maduro foram avaliados via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com o objetivo de obter um catálogo detalhado sobre a composição/contéudo dos principais pigmentos carotenóides em diferentes acessos neste grupo taxonômico.

Material e Métodos

Acessos de espécies de *Solanum* (secção *Lycopersicon*) – Foram avaliados frutos de acessos de espécies selvagens com uma diversa gama de cores variando de verde (*S. habrochaites*, *S. chilense*, *S. peruvianum*, *S. neorickii* e *S. pennellii*), ao amarelo [*S. pimpinellifolium* (mutante de fruto amarelo), *S. galapagense* e *S. cheesmaniae*] e ao vermelho (*S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicum* e *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*). Foram coletados somente os frutos completamente maduros (mudança completa de cor, mas com frutos ainda firmes). Os frutos caídos e/ou próximos de cair da planta foram os colhidos nos acessos com frutos verdes. Logo após a colheita, os frutos foram estocados à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, protegidos por papel alumínio e mantidos no escuro. No momento da análise, os frutos foram descongelados, homogeneizados e pesados. **Extração dos carotenóides** – Foi utilizada uma amostra de 2g de tecido homogeneizado contendo polpa, cascas e sementes. O método de extração foi conduzido de acordo com o procedimento descrito por Rodriguez-Amaya (2001). **Análise dos carotenóides** - As análises foram feitas em triplicatas. Na análise por CLAE, a separação foi feita de forma isocrática em uma coluna monomérica C18 (Spherisorb S3 ODS2) de fase reversa 3 mm, 4.6 x 150 mm. A fase móvel foi composta por acetonitrila:metanol:etil acetato (8:1:1) e o fluxo foi de 0,8 mL.min⁻¹. **Conteúdo dos carotenóides** – Para o cálculo da concentração dos carotenóides das amostras, utilizou-se a curva padrão, na qual a área do pico de cada carotenóide correspondia um valor em $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Então, o valor obtido para cada amostra, em $\mu\text{g.mL}^{-1}$, foi dividido pelo seu peso inicial (em g), obtendo-se um valor em $\mu\text{g.g}^{-1}$ de carotenóide na amostra. A presença de outros carotenóides (zeaxantina, z-caroteno, fitoflueno e fitoeno) nas amostras foi estimada indiretamente usando o coeficiente de absorvidade do carotenóide com o coeficiente de absorvidade do padrão de β -caroteno, obtido por meio da razão e integrando na curva de calibração do padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão sumarizados na Tabela 1. A partir da análise desta coleção de diversos materiais genéticos de tomate cultivados e selvagens, podemos concluir que os frutos do gênero *Solanum* secção *Lycopersicon* apresentam diversos tipos, conteúdos e balanço de carotenóides. Alguns acessos com frutos maduros de coloração verde apresentam um acúmulo de luteína e zeaxantina, que não foram detectados em quantidades nos acessos de tomate cultivado. Portanto, estes acessos podem fornecer genes capazes de aumentar o repertório de carotenóides com características nutricionais diferenciadas. Além disso, diversos carotenóides de reconhecido valor nutricional, mas que não são comumente encontrados em tomates, tais com o β -caroteno, foram identificados em espécies como *S. galapagense*, *S. cheesmaniae* e em um mutante de *S. pimpinellifolium*. Estes acessos com frutos de pigmentação amarela podem representar fontes de novos carotenóides em tomates comerciais. Alguns acessos de *S. pimpinellifolium* (de coloração tipicamente vermelha) apresentaram o perfil mais adequado para melhoramento, tanto em termos de conteúdo quanto de diversidade de carotenóides. Acessos desta espécie apresentaram distintos carotenóides incluindo: luteína, fitoeno, z-caroteno, neoxantina, fitoflueno, *trans* β -caroteno, *all-trans*-licopeno e *cis*-licopeno. Estes resultados indicam que o germoplasma das espécies selvagens apresenta um enorme potencial para contribuir no melhoramento do tomateiro

Análise via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do conteúdo e composição de carotenóides em frutos maduros de espécies silvestres e cultivadas de *Solanum* (secção *Lycopersicon*).

cultivado visando, especialmente, o desenvolvimento de variedades com características nutricionais e funcionais superiores.

REFERÊNCIAS

CARVALHO W; FONSECA MEN; SILVA HR; BOITEUX LS; GIORDANO LB. 2005. Estimativa indireta de teores de licopeno em frutos de genótipos de tomateiro via análise colorimétrica. *Horticultura Brasileira* 23: 819-825.

FRASER PD; TRUESDALE MR; BIRD CR; SCHUCH W; BRAMLEY PM. 1994. Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development. *Plant Physiology* 105: 405-413.

GIULIANO G; AL-BABILI S; VON LINTIG J. 2003. Carotenoid oxygenases: cleave it or leave it. *Trends in Plant Sciences* 8: 145-149.

KABELKA E; YANG W; FRANCIS DM. 2004. Improved tomato fruit color within an inbred backcross lines derived from *Lycopersicon esculentum* and *L. hirsutum* involves the interaction of loci. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129: 250-257.

LEWINSOHN E; SITRIT Y; BAR E; AZULAY Y; MEIR A; ZAMIR D; TADMOR Y. 2005. Carotenoid pigmentation affects the volatile composition of tomato and watermelon fruits, as revealed by comparative genetic analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 3142-3148.

RAO AV; WASEEM Z; AGARWAL S. 1998. Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. *Food Research International* 31: 737-741.

RODRIGUEZ-AMAYA DB. 2001. A Guide to Carotenoids Analysis in Food. Washington: *International Life Sciences Institute Press*, 64p.

SMIDT CR; BURKE DS. 2004. Nutritional significance and measurement of carotenoids. *Current Topics in Nutraceutical Research* 2: 79-91.



Tabela 1. Conteúdo dos carotenóides em mg/g em acessos de espécies cultivadas e selvagens do gênero *Solanum* da seção *Lycopersicon*. [Carotenoid content (mg/g) in cultivated and wild *Solanum* (secção *Lycopersicon*) species]. Embrapa-Hortaliças, Brasília, 2010.

Acessos	Espécie de <i>Solanum</i>	Conteúdo de carotenóides (mg/g)						
		Luteína	Trans β -caroteno	Trans β -caroteno + fitoflueno	All-trans-licopeno	Zeaxantina	Trans β -caroteno	
CNPH 0790	<i>S. pimpinellifolium</i>	3,30	-	12,50	230,00	-	-	-
CNPH 1040	<i>S. pimpinellifolium</i>	-	-	2,36	95,01	-	13,21	-
CNPH 1037	<i>S. pimpinellifolium</i>	1,70	-	-	-	-	-	12,50
CNPH 1556	<i>S. pimpinellifolium</i>	2,04	8,40	-	82,97	-	-	-
CNPH 1025	<i>S. pimpinellifolium</i>	1,13	3,90	-	102,82	-	-	-
LA 1614	<i>S. pimpinellifolium</i>	4,01	13,41	-	128,14	-	10,41	-
CNPH 1678	<i>S. pimpinellifolium</i>	2,73	4,38	-	143,51	-	-	-
LA 2934	<i>S. pimpinellifolium</i>	3,14	12,91	-	127,56	-	-	-
CNPH 1304	<i>S. lycopersicum</i>	1,12	1,00	-	50,00	-	-	-
CNPH 1593	<i>S. lycopersicum</i>	2,30	12,60	-	82,44	-	-	-
CNPH 1026	<i>S. lycopersicum</i>	3,01	11,78	-	76,41	-	-	-
CNPH 1028	<i>S. lycopersicum</i>	4,55	13,36	-	64,79	-	-	-
CNPH 1027	<i>S. lycopersicum</i>	3,38	6,28	-	60,85	-	-	-
LA 1954	<i>S. peruvianum</i>	2,63	2,60	-	-	0,51	-	-
CNPH 1035	<i>S. peruvianum</i>	1,08	-	-	-	-	-	-
CNPH 1277	<i>S. peruvianum</i>	12,50	-	-	-	3,00	-	3,00
CNPH 0201	<i>S. peruvianum</i>	3,30	2,50	-	-	-	-	-
CNPH 0402	<i>S. peruvianum</i>	3,30	6,50	-	-	-	1,00	-
CNPH 0945	<i>S. neorickii</i>	15,2	-	-	-	-	3,00	5,00
CNPH 0432	<i>S. galapagense</i>	10,00	-	-	-	-	-	25,00
CNPH 0944	<i>S. cheesmaniae</i>	3,00	-	-	-	-	-	12,00