

**MARIA ISABEL LIMA RAMOS**

**Polpa de bocaiúva [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.]:  
composição química e biodisponibilidade de carotenóides.**

**Brasília – DF**

**2007**

**MARIA ISABEL LIMA RAMOS**

**Polpa de bocaiúva [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.]:  
composição química e biodisponibilidade de carotenóides.**

**Tese submetida ao Programa Multiinstitucional  
de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Rede  
Centro-Oeste, Convênio Universidade de  
Brasília, Universidade Federal de Goiás e  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,  
como parte dos requisitos exigidos para a  
obtenção do título de Doutor em Ciências da  
Saúde.**

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Egle Machado de Almeida Siqueira  
Orientadora - UnB**

**Brasília - DF**

**2007**

## **BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Egle Machado de Almeida Siqueira  
(Presidente - Departamento de Biologia Celular - UnB)

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elizabeth Maria Talá de Souza  
(Membro - Departamento de Biologia Celular - UnB)

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Leonor Maria Pacheco Santos  
(Membro - Departamento de Nutrição - UnB)

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sandra Fernandes Arruda  
(Membro - Departamento de Nutrição - UnB)

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nonete Barbosa Guerra  
(Membro - Universidade Federal de Pernambuco)

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Wilma Maria Coelho Araújo  
(Suplente - Departamento de Nutrição - UnB)

Brasília – DF  
03 de Agosto de 2007.

Ao meu marido Manoel, pelo seu amor, colaboração e sua compreensão compartilhada durante a realização deste trabalho e em todos os momentos de vida conjugal e profissional.

As minhas filhas, Mariana, Marília e Maíra, que com amor e paciência compreenderam os momentos de estresse e de ausência.

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, por tudo e acima de tudo.

Aos meus pais, pelo apoio, orientação e carinho sempre recebidos.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Egle Machado de Almeida Siqueira, pela orientação, incentivo e confiança, imprescindíveis à realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo Dutra Aydos, pelo empenho na coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, através do Programa Multiinstitucional de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Rede Centro-Oeste UnB/UFG/UFMS.

Aos membros da banca, pelas sugestões e contribuições apresentadas.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Priscila Aiko Hiane, amiga e colega do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública (DTA) da UFMS que sempre incentivou e participou dos bons momentos de vida pessoal e profissional.

Aos Técnicos de laboratório do DTA/UFMS, Darli Castro Costa e Osmar Ferreira de Andrade, pela amizade, companheirismo e apoio técnico durante a realização deste trabalho.

Aos demais Técnicos de laboratório do DTA/UFMS e à Técnica administrativa Neide Aparecida Pereira Vieira, pela colaboração e amizade.

Ao Laboratório Central de Saúde Pública da Secretaria de Estado de Saúde do Estado de Mato Grosso do Sul, pelo apoio técnico.

Ao Químico Antonio Marcos J. Barbosa, do Laboratório Central de Saúde Pública/Secretaria de Estado de Saúde-MS e à Farmacêutica Bioquímica Clarissa C. Isomura, pelo apoio na realização de análises da parte experimental do trabalho.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mieke kimura, do IBILCE/UNESP-SJRP, pelo apoio nas análises de carotenóides e ao Prof. Dr. José Antônio Braga Neto, do DTA/UFMS, pelas sugestões e colaboração no desenvolvimento do experimento *in vivo*.

Aos Técnicos administrativos do Biotério/UFMS pela colaboração durante o uso da sala de experimentação.

À Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelo incentivo e apoio financeiro.

A todos que me incentivaram, participaram e colaboraram na execução deste trabalho.

**Muito Obrigada!**

## Índice

Resumo Geral .....	1
General Abstract .....	3
Introdução Geral .....	5
Objetivos .....	14
Referências Bibliográficas .....	15
<b>CAPÍTULO 1 - Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ....</b>	<b>21</b>
RESUMO .....	22
SUMMARY .....	23
1 - INTRODUÇÃO .....	24
2 - MATERIAL E MÉTODOS .....	25
2.1 - Matéria-prima .....	25
2.2 - Composição centesimal .....	25
2.3 - Teores de minerais .....	26
2.4 - Composição em carotenóides .....	26
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27
3.1 - Características físicas .....	27
3.2 - Composição centesimal .....	28
3.3 - Teores de minerais .....	29
3.4 - Composição em carotenóides .....	30
4 - CONCLUSÕES .....	32
5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	32
6 - AGRADECIMENTOS .....	36

<b>CAPÍTULO 2 - Bocaiúva [<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd.] melhora o estado nutricional de vitamina A em ratos. Versão em português do artigo original publicado no <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i>.....</b>	<b>37</b>
RESUMO .....	38
ABSTRACT .....	39
1. INTRODUÇÃO .....	40
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	41
2.1. Polpa de bocaiúva .....	41
2.2. Análise de $\beta$ -caroteno .....	42
2.3. Delineamento experimental .....	42
2.4. Determinação do retinol hepático .....	43
2.5. Biodisponibilidade do $\beta$ -caroteno da bocaiúva .....	44
2.6. Análise estatística .....	44
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
3.1. Quantificação do $\beta$ -caroteno .....	45
3.2. Avaliação da biodisponibilidade do $\beta$ -caroteno .....	46
4. AGRADECIMENTOS .....	50
5. LITERATURA CITADA .....	50
<b>ANEXOS .....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXO 1 - Certificado de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais .....</b>	<b>56</b>
<b>ANEXO 2 - Declaração de submissão de artigo para publicação referente ao Capítulo 1 .....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXO 3 - Figuras referentes ao Capítulo 1 .....</b>	<b>58</b>
<b>FIGURA 1. Palmeiras da bocaiúva <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ...</b>	<b>59</b>

<b>FIGURA 2.</b> Frutos da bocaiúva <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd., em cachos. ....	59
<b>FIGURA 3.</b> Frutos (1), fruto descascado (2) e polpa fatiada de bocaiúva (3), <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ....	60
<b>FIGURA 4.</b> Sementes e amêndoas da bocaiúva, <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ....	60
<b>ANEXO 4 -</b> Figuras referentes ao Capítulo 2 .....	61
<b>FIGURA 5.</b> Preparo da dieta bocaiúva, ingredientes no misturador. ....	62
<b>FIGURA 6.</b> Dietas em <i>pellets</i> : controle (1) e bocaiúva (2), utilizadas no experimento, dispostas em bandejas de secagem. ....	62
<b>FIGURA 7.</b> Gaiolas metabólicas com os animais utilizadas no ensaio realizado na sala de experimentação do Biotério da UFMS. ....	63
<b>FIGURA 8.</b> Rato Wistar sacrificado após experimento para retirada do fígado (1) e fígado do animal (2). ....	63
<b>ANEXO 5 -</b> Bocaiuva [ <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd.] improved Vitamin A status in rats. Versão original do artigo publicado no <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> .....	64

## RESUMO GERAL

Na região Centro-Oeste, onde predomina o cerrado, ocorrem muitas espécies de frutas nativas consideradas fontes de elementos nutritivos. A bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., é uma palmeira nativa e abundante no Estado de Mato Grosso do Sul, cuja polpa apresenta cor variável de amarela a alaranjada quando madura, sendo consumida *in natura* ou na forma de farinha, no preparo de pratos regionais. O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial nutritivo da polpa de bocaiúva, através da determinação da composição centesimal, quantificação de minerais, identificação dos principais carotenóides e investigar a biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno da polpa de bocaiúva. A biodisponibilidade relativa do  $\beta$ -caroteno da polpa de bocaiúva em relação ao  $\beta$ -caroteno puro foi avaliada por meio do Fator de Acúmulo do Retinol (*Retinol Accumulation Factor* - RAF), estimado a partir da recuperação do retinol hepático, em ratos deficientes de vitamina A. Durante o período de depleção (28d), ratos Wistar foram tratados com dieta AIN-93G (*American Institute of Nutrition – 93 Growth*) deficiente em vitamina A e então separados em dois grupos, que foram alimentados com dieta AIN-93G contendo  $\beta$ -caroteno puro (Dieta  $\beta$ -caroteno) ou polpa de bocaiúva *in natura* (Dieta bocaiúva), como únicas fontes de vitamina A. No final do período de repleção (21d), os ratos foram sacrificados e as reservas de retinol hepático analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A polpa de bocaiúva analisada apresentou 52,99% de umidade, 8,14% de lipídios totais, 1,5% de proteínas, 22,08% de carboidratos, 1,51% de cinzas e 13,76% de fibra. O valor energético foi estimado em 167,67 kcal/100g de polpa úmida. Entre os minerais avaliados na polpa, a maior concentração foi a do potássio ( $766,37 \pm 18,36$  mg/100g). Relacionando-se os resultados de minerais as IDR de referências dos mesmos, a polpa de bocaiúva pode ser classificada como rica em cobre para crianças, como fonte de zinco e potássio para crianças e como fonte de cobre e potássio para adultos. O  $\beta$ -caroteno foi o carotenóide predominante na polpa madura ( $49,0 \pm 2,0$   $\mu$ g/g de polpa integral), o que permitiu a classificação da bocaiúva como rica em  $\beta$ -caroteno. No estudo *in vivo*, não houve diferença

significativa no ganho de peso e crescimento entre os ratos dos dois grupos, tratados com  $\beta$ -caroteno puro ou bocaiúva, como fontes de vitamina A. A biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno, estimada pelo RAF, foi de 7,3 e 3,5 para os grupos de  $\beta$ -caroteno e bocaiúva, respectivamente. A biodisponibilidade relativa do  $\beta$ -caroteno presente na bocaiúva, neste modelo de estudo, foi superior (cerca de 200%) a do  $\beta$ -caroteno puro. O fruto bocaiúva pode ser considerado uma fonte alternativa de pró-vitamina A biodisponível, capaz de contribuir para a prevenção de hipovitaminose A, e como fonte natural dos minerais cobre, potássio e zinco para enriquecer dietas regionais.

**Palavras-chave:** Frutos do Cerrado, bocaiúva, minerais, carotenóides, biodisponibilidade,  $\beta$ -caroteno, *Acrocomia aculeata*, vitamina A.

## GENERAL ABSTRACT

In Central-West Brazil, where the *Cerrado* predominates, there are many species of native fruits considered to be sources of nutritive elements. The bocaiuva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., is a native palm which is abundant in *Mato Grosso do Sul* State. Its pulp has a variable color from yellow to orange when ripe, and is consumed fresh or in the form of flour in regional dishes. The aim of the present study was to evaluate the nutritive potential of bocaiuva pulp, by determining its proximate composition, mineral contents, identifying its majoritary carotenoids and investigate the bioavailability of  $\beta$ -carotene in the bocaiuva pulp. The relative bioavailability of  $\beta$ -carotene in the bocaiuva pulp was determined in relation to pure  $\beta$ -carotene by means of the Retinol Accumulation Factor (RAF), estimated by the recovery of hepatic retinol in vitamin A deficient rats. During the depletion period (28d), Wistar rats were treated with AIN-93G (American Institute of Nutrition-93 Growth) vitamin A deficient diet, and than were separated into two groups and treated with AIN-93G diet containing pure  $\beta$ -carotene ( $\beta$ -carotene diet) or raw bocaiúva pulp (bocaiuva diet), as the only sources of vitamin A. At the end of the repletion period (21d), the rats were sacrificed and the reserves of hepatic retinol were determined by high performance liquid chromatography. The bocaiuva pulp analyzed show 52.99% of moisture, 8.14% of total lipids, 1.5% of protein, 22.08% of carbohydrates, 1.51% of ash and 13.76% of fiber. The energy value was estimated at 167.67 kcal/100g of wet pulp. Among the minerals examined, potassium had the highest concentration in the pulp ( $766.37 \pm 18.36$  mg/100g). The bocaiuva pulp may be a rich source of copper for children, source of zinc and potassium for children and source of copper and potassium for adults considering the dietary recommendation intake of those minerals.  $\beta$ -Carotene was the predominant carotenoid in the pulp ( $49.0 \pm 2.0$   $\mu$ g/g wet pulp), classifying bocaiuva as a rich of  $\beta$ -carotene. In the *in vivo* study, there was no significant difference in weight gain and growth of rats between the two groups, treated with pure  $\beta$ -carotene or bocaiuva, as sources of vitamin A. The relative bioavailability of  $\beta$ -carotene, estimated by RAF, was 7.3 and 3.5 for the  $\beta$ -

carotene and bocaiuva groups, respectively. The relative bioavailability of  $\beta$ -carotene for bocaiuva, in this study model, was greater (about 200%) than for pure  $\beta$ -carotene. Bocaiuva fruit can be considered an alternative source of bioavailable pró-vitamin A, capable to contribute with the prevention of vitamin A deficiency and as a natural source of cupper, potassium and zinc minerals to enrich regional diets.

**Keywords:** Native fruits, bocaiuva, minerals, carotenoids, bioavailability,  $\beta$ -carotene, *Acrocomia aculeata*, vitamin A.

## INTRODUÇÃO GERAL

Aproximadamente 30% da população de países em desenvolvimento, sofrem de uma ou mais formas múltiplas de desnutrição. Geograficamente, mais de dois terços (72%) das crianças desnutridas do mundo sobrevivem na Ásia, 25,6% na África e 2,3% na América Latina (WHO, 2000).

Em pleno século 21, a hipovitaminose A ainda constitui um dos principais problemas nutricionais em populações de países em desenvolvimento, incluindo o Brasil. Mundialmente, a deficiência de vitamina A encontra-se em segundo lugar em relação aos problemas nutricionais, mesmo nos países desenvolvidos, ficando atrás apenas da deficiência de ferro (YUYAMA et al., 2005).

Embora exista grande disponibilidade de frutas e hortaliças fontes de carotenóides no Brasil, em contradição, há um grande número de crianças com hipovitaminose A (AMBRÓSIO, CAMPOS, FARO, 2006). No Brasil, a deficiência de vitamina A juntamente com a desnutrição protéico-calórica e as anemias, são importantes problemas de endemia carencial em diversas regiões, havendo necessidade de identificar novas fontes de alimentos ricos em vitamina A. Nas populações de baixa renda, onde há maior incidência de hipovitaminose A, o suprimento dietético dessa vitamina é representado basicamente por fontes de pró-vitamina A presentes nos alimentos de origem vegetal (PENTEADO, 2003; YUYAMA et al. 2005).

Pesquisadores realizaram uma revisão sobre a hipovitaminose A em diferentes regiões do Brasil nas últimas quatro décadas, e a deficiência da vitamina A foi diagnosticada em grupos populacionais de vários Estados, capitais brasileiras, grandes e pequenas cidades e em zonas rurais. Os trabalhos da última década indicaram associação entre a hipovitaminose A e o aumento da morbidade e mortalidade, principalmente em crianças pré-escolares (GERALDO et al., 2003). Estudo sobre hipovitaminose A publicado na América do Sul e no Brasil, entre 1970 e 2000, constatou carência marginal de vitamina A praticamente em todas as regiões do país onde existem dados (RAMALHO, FLORES, SAUNDERS, 2002).

Na maioria dos programas governamentais de intervenção aplicados em populações que sofrem de deficiências múltiplas, inclusive hipovitaminose A, são realizadas intervenções como a fortificação ou suplementação, porém essas estratégias são insustentáveis na erradicação da desnutrição em populações (DARNTON-HILL, NALUBOLA, 2002; GARCÍA-CASAL, LAYRISSE, 2002). A diversificação da dieta constitui uma estratégia de combate às deficiências nutricionais, pois pode ser perpetuada através da introdução e do estímulo ao consumo dos produtos naturais da região pela população. A inclusão na dieta de frutas e de hortaliças regionais ricas em nutrientes oferece diversas vantagens entre elas, a valorização da produção regional e a redução de custo de produção (MARIN, 2006; PENA, BACALLAO, 2002).

Em 2003, o Brasil priorizou entre as diretrizes da Política Nacional de Alimentação e Nutrição, a prevenção e o controle dos distúrbios nutricionais e de doenças associadas à alimentação e nutrição, com ênfase às carências de micronutrientes, entre elas a de vitamina A e de ferro. No combate a hipovitaminose A, em áreas reconhecidas como de risco, deve-se estimular a produção e o consumo de fontes alimentares ricas nesta vitamina ou seus precursores, além da aplicação periódica e emergencial de megadoses de retinol e, quando necessário, o enriquecimento/fortificação de alguns alimentos. Cita ainda, a necessidade em se promover a complementação das tabelas de composição químico-nutricional dos principais alimentos consumidos no Brasil, valorizando o conteúdo e a biodisponibilidade de ferro e de precursores de vitamina A (BRASIL, 2003).

Considerando que dados sobre composição de alimentos são importantes para inúmeras atividades, como avaliar o suprimento e o consumo alimentar de um país; verificar a adequação nutricional da dieta de indivíduos e de populações; avaliar o estado nutricional e para o desenvolvimento de pesquisas sobre as relações entre dieta e doença; em planejamentos agropecuários; na indústria de alimentos, entre outras, estudos de caracterização e avaliação de nutrientes essenciais tornam-se relevantes na área de nutrição e saúde pública (SGARBIERI, 1996).

Embora o Brasil encontre-se entre os maiores produtores agrícolas do mundo, produzindo milhões de toneladas de alimentos por ano, a fome e o desperdício de alimentos são dois dos maiores problemas que o país enfrenta e milhões de excluídos não têm acesso ao alimento em quantidade e/ou qualidade (GONDIM et al., 2005).

O bioma cerrado abrange uma área de 204 milhões de hectares, distribuídos principalmente nos Estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Bahia, Piauí, Maranhão e Distrito Federal, correspondendo a aproximadamente 22% do território brasileiro. O cerrado é considerado o segundo ecossistema brasileiro; apresenta enorme potencial para a produção de alimentos e uma grande biodiversidade, comparável à Amazônia (SILVA et al., 2001).

Estudos têm sido realizados com frutos do cerrado e do pantanal no sentido de fornecer subsídios que incentivem tanto a exploração comercial quanto uma maior utilização pela população local como fonte complementar de nutrientes essenciais (CALDEIRA et al., 2004; HIANE et al., 1992; HIANE et al., 2003; MARTINS et al., 1998; RAMOS et al., 2001); tem-se verificado, no entanto, a necessidade de um maior conhecimento sobre os elementos nutritivos encontrados em produtos que enriquecem uma dieta regional.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em decorrência do alto custo dos alimentos de origem animal, as provitaminas vegetais constituem a maior porção das vitaminas dietéticas, podendo chegar a 88% nos países em desenvolvimento e, nas Américas, atinge cerca de 60%. A OMS cita ainda, a crescente necessidade de informações corretas sobre a biodisponibilidade de carotenóides relacionados tanto aos carotenóides *per se* como ao valor de vitamina A, e aos carotenóides pró-vitamínicos A em alimentos (WHO, 1995).

Dos mais de 600 carotenóides conhecidos, aproximadamente 50 são precursores da vitamina A. Entre os carotenóides, o  $\beta$ -caroteno é o mais abundante em alimentos e apresenta a maior atividade de vitamina A, além do  $\alpha$  e  $\gamma$ -carotenos e a criptoxantina. O carotenóide precursor da vitamina A deve possuir pelo menos um anel  $\beta$ -ionona e cadeia poliênica de 11 carbonos (AMBRÓSIO, CAMPOS, FARO, 2006; YUYAMA et al., 2005). Como os carotenóides representam a maior fonte de vitamina A nas dietas de muitas

populações do mundo, a eficiência de sua absorção intestinal e a conversão em vitamina A é de fundamental importância na adequação nutricional de dietas contendo carotenóides (OLSON, 1999). Identificar os fatores que afetam a biodisponibilidade de carotenóides em vegetais e aplicar fatores de conversão adequados para o cálculo do valor de vitamina, são medidas imprescindíveis para determinar até que ponto o consumo de fontes carotenogênicas, como as hortaliças e as frutas, podem auxiliar no combate à deficiência de vitamina A (CAMPOS, ROSADO, 2005).

Atualmente, pesquisas multidisciplinares apontam as funções dos carotenóides não apenas como corantes naturais, mas como compostos bioativos com atuação benéfica à saúde humana. A principal função é atribuída à capacidade de conversão em vitamina A, que no organismo está relacionada à visão, crescimento ósseo e diferenciação celular (IOM, 2001; OLSON, 1999). Atuam ainda na prevenção de patologias como câncer, doenças cardiovasculares, cataratas, distúrbios fotossensíveis e do sistema imunológico (PAHO, 2001; SOMMER, 1995; TAPIERO, TOWNSEND, TEW, 2004).

Os carotenóides têm sido considerados como importantes nutrientes dietéticos com potencial antioxidante, estando envolvidos na eliminação de espécies reativas de oxigênio, as quais podem ser consideradas como biomoléculas implicadas na causa e na progressão de doenças crônicas (PALACE et al., 1999; STAHL, SIES, 2005; TAPIERO, TOWNSEND, TEW, 2004). Diante das ações benéficas e possibilidades de uso dos carotenóides, torna-se imprescindível a sua identificação, quantificação e biodisponibilidade em alimentos, principalmente frutas e hortaliças, fontes desses nutrientes.

As possíveis funções dos carotenóides e seus metabólitos na prevenção de doenças estão distantes de serem totalmente compreendidas, porque a biodisponibilidade dos mesmos é influenciada por múltiplos fatores endógenos e exógenos que afetam sua absorção, conversão, transporte e estocagem. Entre esses fatores, inclui-se a natureza química do carotenóide, sua ligação à matriz alimentar, a quantidade ingerida, a integridade do processo de absorção intestinal de gordura, a presença de inibidores ou aceleradores de absorção de carotenóides da dieta, o tamanho das partículas de alimentos ingeridos e as práticas de preparação dos alimentos. O estado

nutricional dos indivíduos, infecções, infestações parasitárias e os fatores genéticos também interferem na biodisponibilidade dos carotenóides (OLSON, 1999; PARKER et al., 1999; STAHL, SIES, 2005; VAN HET HOF et al., 2000b).

Pesquisas têm demonstrado a contribuição do processamento ou preparo dos alimentos sobre a biodisponibilidade dos carotenóides. O aumento da biodisponibilidade do licopeno, em função da homogeneização mecânica e do tratamento térmico, foi confirmado por Van Het Hof et al. (2000a). A biodisponibilidade do licopeno do tomate em pasta foi superior a do tomate fresco; efeito similar foi encontrado para o  $\beta$ -caroteno (VAN HET HOF et al., 2000a). Cenouras e espinafre cozidos e em purês parecem ser absorvidos 3 vezes mais que os vegetais crus intactos (ROCK, et al., 1998). Estudos têm mostrado que a biodisponibilidade de  $\beta$ -caroteno é muito influenciada pelo estado nutricional de vitamina A do organismo (RIBAYA-MERCADO et al., 2000; VAN VLIET et al., 1996).

A identificação de enzimas específicas, que catalisam a clivagem de  $\beta$ -caroteno bem como de carotenóides não pró-vitamínicos A, proporcionou um melhor entendimento das funções dos carotenóides em nível molecular. As possíveis vias e os mecanismos de clivagem dos carotenóides e os fatores que afetam a biodisponibilidade foram recentemente revisados (YEUM, RUSSEL, 2002).

O  $\beta$ -caroteno e outros carotenóides com atividade pró-vitamínica A são hidrolisados na mucosa intestinal pela enzima dioxigenase de caroteno, gerando retinaldeído. Este é reduzido a retinol, que é esterificado e entra na circulação em quilomicrons junto com os ésteres do retinol da dieta; são secretados na linfa, alcançam a corrente sanguínea e são armazenados principalmente no fígado. O principal ponto de clivagem da dioxigenase é na ligação central 15-15' do  $\beta$ -caroteno, originando duas moléculas de retinaldeído; a clivagem assimétrica também pode ocorrer, levando a formação de apocarotenais (AMBRÓSIO, CAMPOS, FARO, 2006; OLSON, 1999; YUYAMA et al., 2005). Entretanto, Leuenberger et al. (2001) demonstraram que o mecanismo de reação da clivagem central do  $\beta$ -caroteno a retinal segue um mecanismo de monoxigenase, catalisada pela enzima  $\beta$ ,  $\beta$ -caroteno 15, 15'-monoxigenase.

A biodisponibilidade de vitaminas em alimentos pode ser definida como a proporção da quantidade de vitamina ingerida que sofre absorção intestinal e é então utilizada pelo corpo ou para estocagem. A utilização e o transporte da vitamina nos tecidos incluem absorção celular e conversão para uma forma com função bioquímica (CASTENMILLER, WEST, 1998; JACKSON, 1997; KREBS, 2001).

A biodisponibilidade relativa compara a eficiência relativa de duas fontes de determinado composto, sendo que a substância de referência geralmente utilizada é o  $\beta$ -caroteno em óleo ou éster de retinil. O indicador de biodisponibilidade de carotenóides mais comumente usado tem sido o retinol plasmático, obtido em resposta ao aumento de uma quantidade ingerida de um carotenóide por indivíduos depletados de vitamina A (OLSON, 1999). Embora o ideal fosse o uso diretamente de humanos para responder às questões críticas relacionadas à absorção, metabolismo e o efeito sobre a progressão de doenças, modelos apropriados de animais oferecem muitas vantagens (LEE, et al., 1999).

A avaliação do estado nutricional de indivíduos com relação à vitamina A pode ser medida através de testes funcionais, clínicos e bioquímicos, tais como, dose resposta relativa, dose resposta relativa modificada, retinol sérico, retinol no leite materno e o método de diluição de isótopos estáveis. O retinol sérico e no leite humano são utilizados para identificar a deficiência de vitamina A, porém, em indivíduos saudáveis, as concentrações de retinol no soro, são controladas homeostaticamente e só iniciam a diminuição quando as reservas hepáticas de vitamina A encontram-se drasticamente baixas (TANUMIHARDJO, 2004; YEUM, RUSSEL, 2002).

Atualmente, não há métodos validados para a avaliação da biodisponibilidade de carotenóides de dietas ou suplementos dietéticos (YEUM, RUSSEL, 2002; YUYAMA et al., 2005). Dosagens de reservas hepáticas têm sido descritas como o método “padrão ouro” para avaliar o estado nutricional de vitamina A (TANUMIHARDJO, 2004). Furusho et al. (2000), demonstraram um método para avaliar a biodisponibilidade de carotenóides baseado na correlação entre o conteúdo hepático de retinol e o consumo de carotenóides dietético, em ratos deficientes de vitamina A, concluindo que o equivalente em

retinol fornecido por carotenóides dos alimentos pode ser avaliado através desse método. A biodisponibilidade de carotenóides em alimentos tem sido avaliada através do Fator de Acúmulo de Retinol - FAR (*Retinol Accumulation Factor - RAF*), que é estimado a partir da relação entre a quantidade de  $\beta$ -caroteno ou carotenóide ingerido e o Retinol Hepático Acumulado - RHA (*Liver Retinol Accumulation - LRA*), utilizando modelo animal com ratos deficientes de vitamina A (ZAKARIA-RUNGKAT et al., 2000).

Pesquisadores avaliaram a biodisponibilidade dos carotenóides das polpas de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) e de buriti (*Mauritia flexuosa* L.), em experimentos com ratos depletados. As reservas hepáticas mostraram a biodisponibilidade de 256,6% e de 250,8% para grupos alimentados com dietas suplementadas com farinha de buriti e de pupunha, respectivamente, quando comparadas às reservas hepáticas dos grupos controles, considerados como 100%. Os resultados indicaram esses frutos como fontes de precursores de vitamina A altamente biodisponíveis (YUYAMA et al., 1998; YUYAMA et al., 1999). Esses estudos confirmaram dados de pesquisa realizada anteriormente, quando os carotenóides da pupunha foram avaliados através da suplementação da dieta regional de Manaus, AM, Brasil, com polpa cozida e transformada em farinha utilizando modelo experimental com ratos depletados em vitamina A (YUYAMA, COZZOLINO, 1996). Estudos recentes utilizando o mesmo modelo experimental, baseado no método de depleção e repleção em fígado de ratos, nos quais foi estimada a biodisponibilidade relativa de carotenóides pró-vitamínicos A, provenientes de folhas de taioba, serralha, beldroegra e de folhas de mandioca (GRAEBNER et al., 2004; SIQUEIRA et al., 2007), em contradição aos encontrados por De Pee et al. (1995), demonstraram que os carotenóides dietéticos provenientes de folhosos podem recuperar as reservas hepáticas de vitamina A.

Os diversos biomas encontrados no Brasil abrigam uma biodiversidade ainda desconhecida e inexplorada. O bioma cerrado possui muitas frutas nativas de consumo consagrado e de significativa importância cultural na região. Muitas dessas fruteiras possuem potencial de aproveitamento alimentar e agroindustrial, consideradas altamente nutritivas, com valor energético, ricas em vitaminas, sais minerais e apresentam propriedades medicinais. Além de

consumidas *in natura*, essas frutas podem ser transformadas em sucos, sorvetes, pães, bolos e preparações da culinária regional (MARIN et al., 2006; SANO, ALMEIDA, 1998; SILVA et al., 1994; SILVA et al., 2001).

Entre as diversas frutas existentes no cerrado, encontra-se a bocaiúva. Segundo Henderson et al. (1995), o gênero *Acrocomia* pertence a família Palmae (Arecaceae), é composto por duas espécies: *A. aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. e *A. hassleri* (B. Rodr.) W. J. Hahn., que diferem basicamente no porte das palmeiras, sendo a primeira de maior porte. *A. aculeata* é amplamente distribuída nas regiões secas da América Tropical e *A. hassleri* é restrita à região de cerrado no Brasil e Paraguai. A espécie *A. aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart., apresenta várias sinonímias, tais como, *A. antiguana* L.H. Bailey, *A. odorata* Barb. Rodr, *A. pilosa* Leon, *A. fusiformis* Sweet, *A. mokayayba* Barb. Rodr., *A. sclerocarpa* Mart., *A. totai* Mart., entre outras (HENDERSON, GALEANO, BERNAL, 1995).

No Brasil, a espécie *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. é conhecida por bocaiúva, chiclete-de-baiano, coco-baboso, coco-de-catarro, coco-de-espinho, macacauba, macaiba, macaibeira, macajuba, macaúba, macaúva, mucaia, mucaja e mucajaba (FRUITS, 2007; LORENZI, 2002; LORENZI, 2006; TEIXEIRA, 1996). São consideradas como palmeiras de maior dispersão, com ocorrência de povoamentos naturais dessas espécies em quase todo território brasileiro. Entretanto, as maiores concentrações estão localizadas em Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, sendo amplamente espalhadas pelas áreas de cerrado (HENDERSON, GALEANO, BERNAL, 1995; SILVA et al., 1994).

Os frutos desta palmeira são esféricos, em forma de drupa globosa com diâmetro variando de 2,5 a 5,0 cm. O epicarpo rompe-se facilmente quando maduro e o mesocarpo é fibroso, mucilaginoso, de sabor adocicado, rico em glicerídeos, de coloração amarelo ou esbranquiçado, comestível. O endocarpo é fortemente aderido à polpa (mesocarpo), com parede óssea enegrecida e a amêndoa oleaginosa, comestível e revestida de uma fina camada de tegumento (FRUITS, 2007; GRAY, 2007; HENDERSON, GALEANO, BERNAL, 1995; SILVA et al., 1994).

O fruto bocaiúva (polpa e castanha) é muito apreciado tanto pelo homem como pela fauna doméstica e silvestre. A polpa e a farinha da polpa de bocaiúva possuem grande mercado potencial, podendo ser usadas no preparo de misturas de vitaminas, fabricação de sorvete, bolos e pães. Também podem ser incorporadas na merenda escolar, pois são muito nutritivas, ricas em cálcio e potássio (SALIS, JUARACY, 2005).

Recentemente, Lorenzi (2006) realizou pesquisa objetivando gerar subsídios para a elaboração de planos de manejo para o extrativismo sustentável de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart., considerando que esta espécie é tradicionalmente submetida ao extrativismo e amplamente utilizada em âmbito doméstico pela comunidade pantaneira e em outras regiões brasileiras. Essa pesquisa incluiu também, ampla revisão de literatura abordando os aspectos botânicos e ecológicos da bocaiúva (LORENZI, 2006).

Em estudos anteriores, frutos maduros de bocaiúva (*Acrocomia mokayayba* Barb. Rodr.) provenientes do Estado de Mato Grosso do Sul, foram avaliados quanto aos teores de carotenóides e atividade pró-vitáminica A da polpa *in natura*, e durante o processamento e estocagem da farinha de bocaiúva. O  $\beta$ -caroteno foi o principal carotenóide encontrado na polpa, representando 89% do total de carotenóides (66,55 $\mu$ g/g de polpa *in natura*), caracterizando o fruto bocaiúva como potencial fonte de vitamina A (HIANE, PENTEADO, 1989).

A bocaiúva, espécie *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. é nativa e abundante no Estado de Mato Grosso do Sul e apresenta uma polpa de cor variável de amarela a alaranjada quando madura, rica em carotenóides. No presente estudo, essa espécie foi avaliada quanto à sua composição em nutrientes e ao potencial pró-vitáminico A do  $\beta$ -caroteno da polpa, através da investigação da biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno da polpa de bocaiúva em relação ao  $\beta$ -caroteno puro, em ratos.

## OBJETIVOS

### Objetivo Geral:

Investigar o potencial nutritivo e pró-vitamínico A da polpa de bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.

### Objetivos Específicos:

- Avaliar a composição química da polpa de bocaiúva
- Identificar e quantificar os principais carotenóides da polpa bocaiúva
- Verificar a eficiência do  $\beta$ -caroteno da polpa de bocaiúva em recuperar as reservas hepáticas de vitamina A, em ratos depletados.
- Investigar a biodisponibilidade relativa do  $\beta$ -caroteno da polpa de bocaiúva, em relação ao  $\beta$ -caroteno puro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. S.; FARO, Z. P. Carotenóides como alternativa contra hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, v.19, n.2, p.233-243, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Atenção à Saúde. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição**, 2 ed. rev. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 48p.

CALDEIRA, S. D. et al. Caracterização físico-química do araçá (*Psidium guineense* SW.) e do tarumã (*Vitex cymosa* Bert.) do Estado de Mato Grosso do Sul. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.22, n.1, p.145-154, 2004.

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

CASTENMILLER, J. J. M.; WEST, C. E. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. **Annual Review of Nutrition**, v.18, p.19-38, 1998.

DARNTON-HILL, I.; NALUBOLA, R. Fortification strategies to meet micronutrient needs: successes and failures. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v.6, p.231-241, 2002.

DE PEE S. et al. Lack of improvement in vitamin A status with increased consumption of dark green leafy vegetables. **Lancet**, v.346, p.75-81, 1995.

**FRUITS from America: an ethnobotanical inventory *Acrocomia aculeata*.**

Disponível em:

<[http://www.ciat.cgiar.org/ipgri/fruits\\_from\\_americas/frutales/Acrocomiaaculeata.htm](http://www.ciat.cgiar.org/ipgri/fruits_from_americas/frutales/Acrocomiaaculeata.htm)>. Acesso em: 21 abr. 2007.

FURUSHO, T. et al. Retinol equivalence of carotenoids can be evaluated by hepatic vitamin A content. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v.70, n.2, p.43-47, 2000.

GARCÍA-CASAL, M. N.; LAYRISSE, M. Iron fortification of flours in Venezuela. **Nutrition Reviews**, v.60, S26-S29, 2002.

GERALDO, R. R. C. et al. Distribuição da hipovitaminose A no Brasil nas últimas quatro décadas: ingestão alimentar, sinais clínicos e dados bioquímicos. **Revista de Nutrição**, v.16, n.4, p.443-460, 2003.

GONDIM, J. A. M. et al. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.825-827, 2005.

GRAEBNER, I. T. et al. Carotenoids from native Brazilian dark-green vegetables are bioavailable: a study in rats. **Nutrition Research**, v.24, p.671-679, 2004.

GRAY, M. **Palm and Cycad Societies of Australia**. Disponível em: <<http://www.pacsoa.org.au/palms/Acrocomia/aculeata.html>>. Acesso em: 21 abr. 2007.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **Field Guide to the Palms of the Americas** New Jersey: Princeton University, p.166-167, 1995.

HIANE, P. A.; PENTEADO, M. V. C. Carotenóides e valor de vitamina A do fruto e da farinha de bocaiúva (*Acrocomia mokayáyba* Barb. Rodr.) do Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista de Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.25, n.2, p.158-168, 1989.

HIANE, P. A. et al. Carotenóides pró-vitamínicos A e composição em ácidos graxos do fruto e da farinha de bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.2, p.206-209, 2003.

HIANE, P. A. et al. Composição centesimal e perfil de ácidos graxos de alguns frutos nativos do Estado de Mato Grosso do Sul. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.10, n.1, p.35-42, 1992.

IOM – U.S. INSTITUTE OF MEDICINE, Food and Nutrition Board, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. **Dietary Reference Intakes: for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Cromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenium, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc**. Washington, D.C, National Academy Press, 2001, 797p.

JACKSON, M. J. Assessment of the bioavailability of micronutrients. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.51 (Suppl.1): S1-2, 1997.

KREBS, N. F. Bioavailability of dietary supplements and impact of physiologic state: infants, children and adolescents. **The Journal of Nutrition**, v.131: 1351S–1354S, 2001.

LEE, C. M. et al. Review of animal models in carotenoid research. **The Journal of Nutrition**, v.129, p.2271-7, 1999.

LEUENBERGER, M. G.; ENGELOCH-JARRET, C.; WOGGON, W. D. The reaction mechanism of the enzyme-catalyzed central cleavage of beta-carotene to retinal. **Angewandte Chemie International Edition**, v.40, n.14, p.2613-2617, 2001.

LORENZI, G. M. A. C. **Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart. - Arecaceae: Bases para o extrativismo sustentável**. Curitiba, 2006, 156p, Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras - Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v.1. 4 ed. Nova Odessa-SP: Editora Plantarum, p.288, 2002.

MARIN, A. M. F. **Potencial nutritivo de frutos do cerrado: composição em minerais e componentes não convencionais**. Brasília, 2006, 121p, Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) Departamento de Nutrição, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF.

MARTINS, L. R. R. et al. Caracterização físico-química do sapotá do campo, espécies *Peritassa campestris* (Cambes) A.C. Smith e *Cheinoelinium cognatum* (Miers) A.C. Smith, nativas do Estado de Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16, 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, CBCTA, 1998. v.2, p.1128-1131.

OLSON, J. A. Bioavailability of carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.49, 3 Suppl 1:26S-33S, review 1999.

PAHO (Pan American Health Organization), **Providing vitamin A supplements through immunization and other health contacts for children 0-59 months and women up to 6 weeks postpartum-** A guide for health workers. 2<sup>th</sup> ed., 2001, 35p.

PALACE, V. P. et al. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n.5/6, p.746-61, 1999.

PARKER, R. S. et al. Bioavailability of carotenoids in human subjects. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v.58, p.155-62, 1999.

PENA, M.; BACALLAO, J. Malnutrition and poverty. **Annual Review of Nutrition**, v.22, p.241-253, 2002.

PENTEADO, M. V. C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri, SP. Ed. Manole, 2003. 612p.

RAMALHO, R. A. FLORES, H; SAUNDERS, C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. **Pan American Journal of Public Health**, v.12, n.2, p.117-123, 2002.

RAMOS, M. I. L. et al. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenóides pró-vitamínicos A da polpa do piqui (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Boletim do Centro de Processamento de Alimentos**, Campinas, v.19, n.1, p.23-32, 2001.

RIBAYA-MERCADO, J.D. et al. Bioconversion of plant carotenoids to vitamin A in Filipino school-aged children varies inversely with vitamin A status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, p.455-65, 2000.

ROCK, C.L. et al. Bioavailability of beta-carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. **The Journal of Nutrition**, v.128, p.913-916, 1998.

SALIS, S. M.; JUARACY, A. R. da M. **A utilização da bocaiúva no Pantanal**. 21 out. 2005. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br>>. Acesso em: 21 abr. 2007.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. ed. **Cerrado-ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA - CPAC, 1998. 556p.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades - degradações - modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517p.

SILVA, D. B. et al. **Frutas do Cerrado**. Brasília: EMBRAPA - CPAC, 2001.178p.

SILVA, J.A. et al. **Frutas nativas dos cerrados**. Brasília: EMBRAPA - CPAC: EMBRAPA-SPI, 1994. 166p.

SIQUEIRA, E. M. A. et al.  $\beta$ -carotene from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves improves vitamin A status in rats. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology**, 146, p. 235-240, 2007.

SOMMER, A. **La carencia de vitamina A y sus consecuencias. Guia práctica para la detección y el tratamiento**. 3<sup>th</sup> ed, Geneva, Organización Mundial de la Salud, 1995.

STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1740, p.101-107, 2005.

TANUMIHARDJO, S. A. Assessing vitamin A status: past, present and future. **The Journal of Nutrition**, v.134, 290S–293S, 2004.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.58, n.2, p.100-110, 2004.

TEIXEIRA, E. *Acrocomia aculeata* In: TASSARO, H. **Frutas no Brasil**. São Paulo: Empresa das Artes, p.15, 1996.

VAN HET HOF, K. H. et al. Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways from the carotenoid response in the triglyceride-rich lipoprotein fraction of plasma after a single consumption and in plasma after four days of consumption. **The Journal of Nutrition**, v.130, p.1189-1196, 2000a.

VAN HET HOF, K. H. et al. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. **The Journal of Nutrition**, v.103, p.503-506, 2000b.

VAN VLIET, T, et al.  $\beta$ -carotene adsorption and cleavage in rats is affected by the vitamin A concentration of the diet. **The Journal of Nutrition**, v.126, p.499-508, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global prevalence of vitamin A deficiency (WHO/NUT/95.3). Geneva: 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Nutrition for Health and Development. A global agenda for combating malnutrition 2000. Disponível em: <[http://www.who.int/nut/documents/nhd\\_mip\\_2000.pdf](http://www.who.int/nut/documents/nhd_mip_2000.pdf)>. Acesso em: 20 fev. 2006.

YEUM, K. L.; RUSSEL, R. M. Carotenoid bioavailability and conversion. **Annual Review of Nutrition**, v.22, p.483-504, 2002.

YUYAMA, L. K. O.; COZZOLINO, S. M. F. Interaction of zinc and vitamina A in rats receiving a regional diet of Manaus, Amazonas, Brazil. Effect of supplementation with vitamin A, zinc and zinc and vitamin A. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.46, n.3, p.216-220, 1996.

YUYAMA, L. K. O. et al. Biodisponibilidade dos carotenóides do buriti (*Mauritia flexuosa* L.) em ratos. **Acta Amazônica**, v.28, n.4, p.409-415, 1998.

YUYAMA, L. K. O. et al. Biodisponibilidade de vitamina A da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) em ratos. **Acta Amazônica**, v.29, n.3, p.497-500, 1999.

YUYAMA, L. K. O. et al. Vitamina A (retinol) e carotenóides. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1ed. São Paulo: Manole, 2005. cap.8, p.215-257.

ZAKARIA-RUNGKAT, F. et al. Carotenoid bioavailability of vegetables and carbohydrate-containing foods measured by retinol accumulation in rats livers. **Journal of Food Composition Analysis**, v.13, p.297-310, 2000.

## CAPÍTULO 1

### **Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.**

Artigo submetido à avaliação para publicação na Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos (ISSN 0101 – 2061)

**QUALIDADE NUTRICIONAL DA POLPA DE BOCAIÚVA *Acrocomia aculeata* (JACQ.) LODD.**

**(Título abreviado: Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva)**

Maria Isabel Lima RAMOS<sup>\*1</sup>, Manoel Mendes RAMOS FILHO<sup>1</sup>, Priscila Aiko HIANE<sup>1</sup>, José Antonio BRAGA NETO<sup>1</sup>, Egle Machado Almeida SIQUEIRA<sup>2</sup>.

**RESUMO**

Com o objetivo de incentivar o consumo e aproveitamento de alimentos oriundos do Cerrado Brasileiro, foram determinados os teores de umidade, lipídios totais, proteínas, carboidratos, cinzas, fibra, minerais e os principais carotenóides da polpa de bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.. A porção comestível do fruto (polpa e amêndoa) representou aproximadamente a metade do peso total do fruto. A polpa apresentou potencial energético superior ao de outros frutos da região Centro-Oeste. Dentre os minerais investigados, o potássio apresentou a mais alta concentração ( $766,37 \pm 18,36$  mg/100g). A polpa de bocaiúva pode ser classificada como rica em cobre para crianças, como fonte de zinco e potássio para crianças e como fonte de cobre e potássio para adultos, quando relacionadas às IDR (Ingestão Diária Recomendada) de referência destes minerais. A polpa mostrou-se rica em  $\beta$ -caroteno ( $49,0 \pm 2,0$   $\mu$ g/g de polpa integral), principal carotenóide identificado no fruto analisado, podendo contribuir com o enriquecendo da dieta regional em programas de suplementação alimentar, como uma fonte natural desse nutriente e dos minerais cobre, potássio e zinco.

**Palavras-chave:** Frutos do Cerrado, bocaiúva, nutrientes, minerais; carotenóides.

---

<sup>1</sup> Professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS (e-mail: milramos@nin.ufms.br).

<sup>2</sup> Professora do Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

\* A quem a correspondência deve ser enviada

## SUMMARY

**NUTRITIONAL QUALITY OF PULP OF BOCAIUVA** *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. With the aim to stimulate the consumption of natural foods from the Brazilian *Cerrado*, moisture content, lipid, protein, carbohydrate, ash, fiber, minerals and also carotenoids were determinate in the bocaiuva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. pulp. The edible portion of the fruit (pulp and kernel) represented the half of the whole fruit. The pulp showed higher energy value in relation to other fruits from this region. Regarding the mineral values, potassium was the element in higher concentration ( $766.37 \pm 18.36$  mg/100g). The bocaiuva pulp may be a rich of cupper for children, source of zinc and potassium for children and source of cupper and potassium for adults considering the dietary recommendation intake of those minerals. The  $\beta$ -carotene was the major carotenoid identified in the pulp ( $49.0 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$  of integral pulp). The fruit studied can be considered rich of  $\beta$ -carotene, and it could contribute with enriching of the regional diet in programs of supply alimentary, as a natural source of that nutrient, and cupper, potassium and zinc minerals.

**Keywords:** Native fruits; bocaiuva; nutrients; minerals; carotenoids.

## 1 - INTRODUÇÃO

Na região Centro-oeste, onde predomina o cerrado, ocorrem muitas espécies de frutas nativas consideradas fontes de proteínas, fibras, energia, vitaminas, minerais e ácidos graxos (SILVA et al., 1994; SANO & ALMEIDA, 1998; MARIN, 2006). Muitas frutas são comercializadas e consumidas *in natura* ou processadas pela indústria caseira, com grande aceitação popular (ALMEIDA, 1998). O aproveitamento tecnológico de espécies frutíferas nativas pode constituir uma preciosa fonte de alimentos e riqueza para o país.

Frutas e hortaliças são exemplos de importantes fontes de nutrientes essenciais, dentre eles, os minerais, que desempenham função vital no desenvolvimento e boa saúde do corpo humano, por serem essenciais à manutenção de várias funções de importância fisiológica como na contratibilidade muscular, na coagulação sanguínea, nos processos digestivos e no equilíbrio ácido-básico (FRANCO, 2004; HARDISSON et al., 2001).

Hortaliças e frutas também são consideradas fontes de carotenóides, os quais atuam não apenas como corantes naturais, mas como compostos bioativos com atuação benéfica à saúde humana. A principal atividade é atribuída à capacidade de conversão em vitamina A, que no organismo está relacionada à visão, crescimento ósseo e diferenciação de tecidos (OLSON, 1999; IOM, 2001). Atuam também na redução de risco de patologias como câncer, doenças cardiovasculares, cataratas, distúrbios fotossensíveis e do sistema imunológico (SOMMER, 1995; PAHO, 2001; TAPIERO, TAWNSEND & TEW, 2004). A composição em carotenóides nesses alimentos pode ser afetada por vários fatores, entre eles a variedade, cultivar, estágio de maturação, condições climática e geográfica de produção, manuseio durante e pós-colheita, processamento e estocagem (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

Frutos do cerrado e do pantanal têm sido avaliados quanto à composição em nutrientes e carotenóides, visando o conhecimento de matérias-primas regionais (RAMOS et al., 2001; HIANE et al., 2003; CALDEIRA et al., 2004).

A bocaiúva é um fruto que pertence à família *Palmae*, sendo a espécie *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., abundante e nativa no Estado de Mato

Grosso do Sul. A polpa e a amêndoa na forma *in natura* são consumidas pela população local ou na elaboração de preparações da culinária regional, tais como sorvetes, bolos, “paçoca” doce e “cocada”, podendo enriquecer a dieta como fonte complementar de nutrientes essenciais (ALMEIDA, 1998; SANO & ALMEIDA, 1998).

Este estudo teve como objetivo avaliar a composição centesimal, os minerais e os principais carotenóides da polpa de bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., contribuindo para o aproveitamento tecnológico e nutricional de matérias-primas regionais.

## **2 - MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 - Matéria-prima**

Frutos maduros de bocaiúva, *A. aculeata* (Jacq.) Lodd., foram coletados no solo do campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e em algumas regiões próximas a Campo Grande, MS, entre os meses de Agosto e Novembro de 2005. Os frutos foram selecionados previamente procurando obter um lote uniforme quanto ao tamanho e ao grau de maturação, que foi determinado pela intensidade de cor (amarelo intenso). Deste lote, separaram-se 20 frutos aleatoriamente para a avaliação das características físicas, medindo-se o diâmetro, o peso do fruto, da casca (epicarpo), da polpa (mesocarpo), da semente, composta de casca dura (endocarpo) e a amêndoa. O restante dos frutos (cerca de 300 unidades) foi descascado, despulpado manualmente e a polpa homogeneizada em processador de alimentos, embalada e armazenada a -20°C até o início das análises.

### **2.2 - Composição centesimal**

A polpa homogeneizada foi avaliada quanto à composição centesimal, de acordo com os métodos descritos nas normas analíticas do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (BRASIL, 2005) e ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC (1992).

A determinação de umidade foi feita por dessecação em estufa à 105°C (método gravimétrico), o teor de lipídios totais realizado pelo método de

extração direta com solvente orgânico em aparelho de Soxhlet, as cinzas (resíduo mineral fixo) foram determinadas por calcinação em mufla à 550°C (método gravimétrico), e os carboidratos avaliados através do método de Lane-Eynon, de acordo com metodologias descritas nas normas analíticas do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985). A proteína foi determinada pelo conteúdo de nitrogênio total (%), segundo método microKjeldahl, usando-se o fator 6,25 para a conversão do nitrogênio em proteínas, descrito na AOAC (1992). A fibra foi obtida por diferença entre 100 gramas e os gramas totais de umidade, proteína, lipídios, cinzas e carboidratos “disponíveis” (USP, 2005).

A energia total proveniente dos nutrientes foi expressa em quilocalorias (kcal), estimada a partir dos fatores de conversão de Atwater:  $\text{kcal} = (4 \times \text{g proteína}) + (4 \times \text{g carboidratos}) + (9 \times \text{g lipídios})$  (USP, 2005).

### **2.3 - Teores de minerais**

Os teores de minerais foram avaliados em amostras trituradas e homogeneizadas, preparadas de acordo com metodologia descrita por SALINAS & GARCIA (1985) com digestão orgânica por via úmida. Na digestão orgânica, as amostras foram tratadas com uma mistura de ácidos nítricos e perclórico concentrados, em alta temperatura, e os macro e microelementos presentes foram solubilizados, submetidos a diferentes tratamentos e diluídos para posterior avaliação quantitativa. A quantificação dos elementos foi realizada por espectrofotometria, utilizando-se de curva padrão para cada mineral. Para determinação da concentração de cálcio, ferro, manganês, zinco e cobre, empregou-se espectrofotômetro de absorção atômica (Perkim-Elmer mod. 2380) e gás acetileno. Utilizou-se fotômetro de chama (Micronal B262) para determinação de sódio (589 nm) e potássio (768 nm) e espectrofotômetro luz visível (Femto 482) para a determinação de fósforo (420 nm).

### **2.4 - Composição em carotenóides**

A polpa homogeneizada do fruto (25g) foi submetida à extração com acetona resfriada e os carotenóides transferidos para o éter de petróleo foram saponificados com solução metanólica de hidróxido de potássio a 30%, durante uma noite em temperatura ambiente, de acordo com as metodologias descritas por RODRIGUEZ-AMAYA (1999) e HIANE & PENTEADO (1989). Todas as

etapas foram desenvolvidas, utilizando proteção com tecido preto e/ou papel alumínio, evitando a fotodegradação dos carotenóides.

O extrato etéreo contendo os carotenóides foi concentrado em evaporador rotatório (temperatura inferior a 40°C) e o resíduo obtido foi submetido à análise através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Utilizou-se equipamento HPLC (Waters modelo 2695) com detector UV-Visível e arranjo de diodos (Waters modelo 2996), coluna monomérica C18 Spherisorb OD2 (3µm, 4,6 x 150mm), fase móvel acetonitrila (0,05% de trietilamina):metanol:acetato de etila, com gradiente linear de 90:10:0 a 60:20:20 em 40 min, fluxo 0.5 mL/min, e detecção a 450nm. A quantificação do β-caroteno foi realizada através do método de padronização externa (KIMURA & RODRIGUEZ-AMAYA, 2002). A polpa homogeneizada foi analisada em triplicata.

### 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 - Características físicas

A porção comestível dos frutos selecionados, composta pela polpa (mesocarpo) e amêndoa representou 48% do peso total do fruto (*Tabela 1*). Frutos oriundos de Minas Gerais, Brasil, descritos por ALMEIDA (1998), apresentaram diferentes proporções de casca, polpa, endocarpo e amêndoa, em relação aos dados obtidos nesta pesquisa, porém o diâmetro foi semelhante, ou seja, 3cm.

**TABELA 1.** Características físicas dos frutos de bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.

Medidas físicas	Peso (g) ± DP*	%
Fruto inteiro	21,83 ± 2,48	-
Diâmetro do fruto (cm)	3,38 ± 0,15	-
Casca (epicarpo)	4,68 ± 1,07	21,44
Polpa (mesocarpo)	9,61 ± 1,17	44,22
Semente (endocarpo e amêndoa)	7,55 ± 1,23	34,58
Amêndoa	0,83 ± 0,23	3,80

\* Resultado médio e desvio padrão de 20 frutos.

### 3.2 - Composição centesimal

A polpa de bocaiúva apresentou valores elevados de lipídios totais, carboidratos e fibra (*Tabela 2*). Comparando a composição da bocaiúva encontrada neste estudo com a obtida anteriormente por HIANE et al. (1992), observou-se que o teor de umidade para a polpa estudada foi superior a 49,14%, porém, o teor de lipídios foi aproximadamente a metade do percentual obtido na pesquisa anterior (16,50%) e, conseqüentemente, menor valor calórico.

**TABELA 2** – Composição centesimal da polpa de bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., expressa em g/100g de amostra úmida.

<b>Componentes</b>	<b>Média ± DP*</b>
Umidade	52,99 ± 2,88
Resíduo mineral fixo	1,51 ± 0,06
Lipídios totais	8,14 ± 1,45
Proteínas	1,50 ± 0,04
Glicose	9,47 ± 2,48
Sacarose	0,07 ± 0,17
Amido	12,56 ± 0,48
Fibra por diferença	13,76 ± 4,07
Valor calórico total (kcal/100g)	167,67 ± 2,56

\* Valores médios de 3 determinações ± Desvio Padrão.

A polpa de bocaiúva analisada apresentou potencial energético duas vezes superior ao de outra palmeira da região, o buriti (85,9 kcal/100g de polpa integral) e cerca de três vezes superior aos de outros frutos regionais (caraguatá, pitanga e araticum, araçá e tarumã), cujos valores energéticos apresentaram variação de 39 a 55 kcal/100g de polpa integral (HIANE et al., 1992; CALDEIRA et al., 2004). Os teores de lipídios e de carboidratos encontrados na polpa representaram cerca de 40 e 50%, respectivamente, da energia total oriunda dos macronutrientes.

### 3.3 - Teores de minerais

Dentre os elementos minerais analisados, o que apresentou maior concentração foi o potássio, seguido do cálcio e do fósforo (*Tabela 3*). Comparando os teores de minerais da polpa com os da amêndoa obtidos por HIANE et al. (2006), observou-se que o potássio foi duas vezes superior ao da amêndoa (377,2 mg/100g de amostra integral), porém os elementos fósforo, sódio, ferro, manganês, zinco e cobre encontrados na polpa, mostraram-se inferiores. Geralmente, são esperados teores de minerais em amêndoas superiores aos de polpas de frutas, pois as amêndoas apresentam menores conteúdos de umidade e seus elementos nutritivos mais concentrados.

Comparando-se os teores de minerais da bocaiúva com os encontrados em partes comestíveis de frutas tropicais comercializadas e consumidas pela população (abacate, abacaxi, banana, mamão, maracujá, melão e tangerina) (GONDIM, 2005), observa-se que os teores de cálcio e potássio foram superiores aos de todas essas frutas, ressaltando que o potássio foi o dobro do encontrado na banana (333,4mg/100g), e no maracujá (380,0mg/100g), os quais são considerados importantes fontes desse mineral (FRANCO, 2004).

**TABELA 3** – Teores de minerais da polpa de bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., expressos em amostra úmida.

Mineral	mg/100g*
Cálcio	61,96 ± 2,30
Fósforo	36,70 ± 0,00
Potássio	766,37 ± 18,36
Sódio	0,37 ± 0,03
Ferro	0,78 ± 0,02
Manganês	0,14 ± 0,00
Zinco	0,60 ± 0,01
Cobre	0,24 ± 0,00

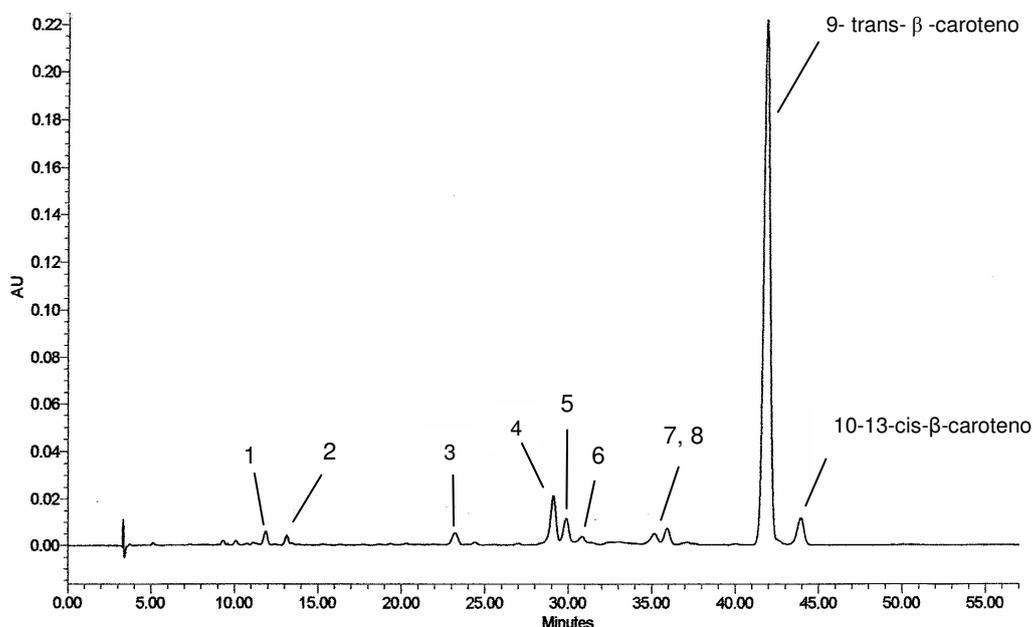
\*Média e desvio padrão de duas repetições.

Os teores de minerais encontrados em 100g de polpa de bocaiúva não suprem a recomendação dietética mínima para adultos (BRASIL, 2005; NATIONAL, 2006). Porém, comparando esses teores com a IDR de referência

do mineral e a classificação de alimento como rico ou fonte de um mineral quando proporciona 30 ou 15% da ingestão diária recomendável/100g de polpa, respectivamente, de acordo com Portaria nº 31/1998 – SVS/MS (BRASIL, 1998), a polpa de bociúva pode ser classificada como rica em cobre para crianças e como fonte para adultos de qualquer idade, proporcionando 71 e 27% da IDR de referência, respectivamente. Os conteúdos dos elementos zinco e potássio proporcionaram 20 e 25% da IDR de referência para crianças (1-3 anos), respectivamente, e 16% da IDR do potássio para adultos, classificando a polpa como fonte desses nutrientes.

### 3.4 - Composição em carotenóides

O cromatograma do extrato de carotenóides da polpa de bociúva obtido no sistema CLAE (HPLC) apresentou 10 picos, os quais foram identificados por meio do detector de arranjo de diodos como sendo: 1 - zeaxantina, 4 - trans-licopeno, 5 -  $\alpha$ -criptoxantina ou zeinoxantina, 6 - cis-licopeno, 7 e 8 -  $\gamma$ -caroteno, 9 - trans  $\beta$ -caroteno e 10 - 13-cis- $\beta$ -caroteno. Os picos 2 e 3 não foram identificados (*Figura 1*).



**FIGURA 1** - Cromatograma obtido por HPLC de extrato de polpa de bociúva em 450nm, detector de arranjo de diodos. Condições de separação: Coluna monomérica Sherisorb OD2 (4.6x150mm, 3 $\mu$ m), fase móvel: acetonitrila (0.05% trietilamina):metanol:acetato de etila, gradiente linear de 90:10:0 a 60:20:20 em 40 min., fluxo 0.5 mL/min.

O teor de  $\beta$ -caroteno encontrado na polpa da bocaiúva foi de  $49,0 \pm 2,0$   $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno total/g polpa úmida, correspondendo a cerca de 80% dos carotenóides totais encontrados na polpa (pico 9, *Figura 1*). Os demais carotenóides minoritários identificados nas alíquotas analisadas, não foram quantificados neste estudo. O conteúdo de  $\beta$ -caroteno foi próximo ao valor encontrado por HIANE et al. em polpa de bocaiúva analisada através de cromatografia em coluna aberta ( $59,41 \pm 11,09$   $\mu\text{g/g}$ ), porém diferindo em sua composição, pois foram identificados os carotenóides  $\beta$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, cis-licopeno e cis-flavoxantina, com predominância do  $\beta$ -caroteno (89%), em relação aos carotenóides totais presentes na polpa (HIANE & PENTEADO, 1989). O teor de  $\beta$ -caroteno da polpa de bocaiúva foi superior ao encontrado em outros frutos do cerrado e do pantanal sul-mato-grossense. Para as polpas comestíveis de pindó (*Arecastrum romanzoffianum* Becc.), bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.), piqui (*Caryocar brasiliense* Camb.) e caraguatá (*Bromelia balansae* Mez) foram detectados 36,6; 17,3; 14,7 e 0,5  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno/g de amostra úmida, respectivamente (ALONSO et al., 1998; ANDREOLLA et al., 1998; RAMOS et al., 2001; HIANE et al., 2003).

Frutos brasileiros nativos foram estudados e identificados como fontes de carotenóides, entre eles, os de palmeiras frutíferas brasileiras, tais como a bocaiúva (*A. mokayáyba* Barb. Rodr.), buriti (*Mauritia flexuosa*, L.), tucumã (*Astrocarium vulgare*) e pupunha (*Bactris gasipaes*), os quais foram considerados ricos em carotenóides, predominando o  $\beta$ -caroteno, o  $\alpha$ -caroteno e o  $\gamma$ -caroteno, citados por RODRIGUEZ-AMAYA (1999).

As novas recomendações do *Institute of Medicine* (IOM) adotam os fatores de conversão do  $\beta$ -caroteno e carotenóides pró-vitamínicos em vitamina A como sendo 12 e 24, respectivamente, os quais são duas vezes maiores que os fatores utilizados no passado (IOM, 2001; CAMPOS & ROSADO, 2005). Esses novos fatores de conversão dificultam a proposta de atingir as recomendações dessa vitamina com o consumo de vegetais e frutos ricos em carotenóides pró-vitamínicos A, porém estudos recentes têm demonstrado que vegetais, frutas e leguminosas podem suprir quantidades significativas de vitamina A em animais e humanos (TANG et al., 2005; DOSTIL et al., 2006; SIQUEIRA et al., 2007).

A avaliação do potencial nutritivo do alimento deve considerar não somente a concentração dos nutrientes presentes no alimento, mas também a biodisponibilidade dos nutrientes deste alimento. A biodisponibilidade dos carotenóides alimentares é afetada por muitos fatores endógenos e exógenos (van HET HOF et al., 2000; YEUM & RUSSEL, 2002; DOSTIL et al., 2006). Assim, estudos adicionais sobre a biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno devem ser incentivados visando avaliar a real contribuição de frutos como fonte de vitamina A. Um estudo, recentemente realizado em nosso laboratório, revelou que o  $\beta$ -caroteno da polpa da bocaiúva é altamente biodisponível em relação ao  $\beta$ -caroteno puro (RAMOS et al., 2007). Estes resultados evidenciam o potencial da polpa de bocaiúva como alimento nutritivo, capaz de contribuir para o enriquecimento da dieta regional em programas de suplementação alimentar, como uma fonte natural de  $\beta$ -caroteno e de vitamina A.

#### **4 - CONCLUSÕES**

Os teores de minerais encontrados indicaram que a polpa de bocaiúva pode ser classificada como rica em cobre para crianças, como fonte de zinco e potássio para crianças e como fonte de cobre e potássio para adultos, quando relacionadas às IDR de referência destes minerais.

A polpa de bocaiúva mostrou-se rica em  $\beta$ -caroteno, podendo contribuir com o enriquecimento da dieta regional em programas de suplementação alimentar, como uma fonte natural desse nutriente, de vitamina A e dos minerais cobre, potássio e zinco.

#### **5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALMEIDA, S. P. **Cerrado: aproveitamento alimentar**. EMBRAPA, Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - CPAC. Planaltina, DF, 1998. 188p.

ALONSO, C. P.; RAMOS, M. I. L.; HIANE, P. A.; RAMOS FILHO, M. M. Carotenóides do pindó (*Arecastrum romanzoffianum* Becc.). Identificação e quantificação de pró-vitamínicos A. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE

CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, XVI, Rio de Janeiro, 1998. **Anais**, Rio de Janeiro, SBCTA, 1998.

ANDREOLLA, A.; RAMOS, M. I. L.; HIANE, P. A.; RAMOS FILHO, M. M. Carotenóides pró-vitamínicos A do caraguatá (*Bromelia balansae* Mez) nativo do Estado de Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, XVI, Rio de Janeiro, 1998. **Anais**, Rio de Janeiro, SBCTA, 1998.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 12<sup>th</sup> ed. Washington, 1992. 1115 p.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018p.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n. 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, publicada em 23 de setembro de 2005.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n. 31, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimentos adicionados de nutrientes essenciais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, publicada em 16 de janeiro de 1998.

CALDEIRA, S. D.; HIANE, P. A.; RAMOS, M. I. L.; RAMOS FILHO, M. M. Caracterização físico-química do araçá (*Psidium guineense* SW.) e do tarumã (*Vitex cymosa* Bert.) do Estado de Mato Grosso do Sul. **Boletim do CEPPA**, v.22, n.1, p.145-154, 2004.

CAMPOS, F. M.; ROSADO, G. P. Novos fatores de conversão de carotenóides provitamínicos A. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.25, n.3, p. 571-578, 2005.

DOSTIL, M. P.; MILLS, J. P.; SIMOM, P. W.; TANUMIHARDJO, S. A. Bioavailability of  $\beta$ -carotene ( $\beta$  C) from purple carrots is the same as typical

orange carrots while high- C carrots increase  $\beta$  C stores in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). **British Journal of Nutrition**, v.96, p.258-267, 2006.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9<sup>a</sup> ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2004. 307p.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.25, n.4, p.825-827, 2005.

HARDISSON, A. et al. Mineral composition of the banana (*Musa acuminata*) from the island Tenerife. **Food Chemistry**, v.17, n.2, p.153-161, 2001.

HIANE, P. A.; BALDASSO, P. A.; MARANGONI, S.; MACEDO, M. L. Chemical and nutrition evaluation of kernels of bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.26, n.3, p.683-689, 2006.

HIANE, P. A.; BOGO, D.; RAMOS, M. I. L., RAMOS FILHO, M. M. Carotenóides pró-vitamínicos A e composição em ácidos graxos do fruto e da farinha de bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.23, n.2, p.206-209, 2003.

HIANE, P. A.; PENTEADO, M. V. C. Carotenóides e valor de vitamina A do fruto e da farinha de bocaiúva (*Acrocomia mokayáyba* Barb.Rodr.) do Estado de Mato Grosso do Sul. **Rev. Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo**. v.25, n.2, p.158-168, 1989.

HIANE, P. A.; RAMOS, M. I. L., RAMOS FILHO, M. M., PEREIRA, J. G. Composição centesimal e perfil de ácidos graxos de alguns frutos nativos do Estado de Mato Grosso do Sul. **Boletim do CEPPA**, v.10, n.1, p.35-42, 1992.

IOM – U.S. INSTITUTE OF MEDICINE, Food and Nutrition Board, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. **Dietary Reference Intakes:** for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Cromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenium, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Washington, D.C, National Academy Press, 2001, 797p.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**. v.78, n.3, p. 389-398. 2002.

MARIN, A.M.F. **Potencial nutritivo de frutos do Cerrado: composição em minerais e componentes não convencionais.** Brasília, 2006, 121p., Dissertação (Mestrado em Nutrição), Departamento de Nutrição, Universidade de Brasília (UnB), Brasil.

NATIONAL ACADEMIES PRESS. Dietary reference intakes: elements. 2002. Disponível em: <<http://www.nal.usda.gov>>. Acesso em: 21 fev. 2006.

OLSON, J. A. Bioavailability of carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion.** v.49, 3 Suppl 1: 26S-33S, review 1999.

PAHO (Pan American Health Organization), **Providing vitamin A supplements through immunization and other health contacts for children 0-59 months and women up to 6 weeks postpartum-** A guide for health workers. 2<sup>th</sup> ed., 2001, 35p.

RAMOS, M. I. L.; UMAKI, M. C. S.; HIANE, P. A.; RAMOS FILHO, M. M. Efeito do cozimento convencional sobre os teores de carotenóides pró-vitamínicos A da polpa do piqui (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Boletim do CEPPA**, v.19, n.1, p.23-32, 2001.

RAMOS, M. I. L.; SIQUEIRA, E. M. A.; ISOMURA, C. C.; BARBOSA, A. M. J.; ARRUDA, S. F. Bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd) improved Vitamin A status in rats. **J Agric. Food Chem.** Published on Web, 3/21/2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods.** Washington, OMNI Research, 1999, 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Latin American food sources of carotenoids. **Arch. Latinoam Nutr.**, n.49, 3 Suppl 1: 74S-84S, 1999.

SALINAS, Y. G.; GARCIA, R. **Métodos químicos para el analisis de suelos acidos y plantas forrajeras.** Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1985. 83p.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. ed. **Cerrado-ambiente e flora.** Planaltina: EMBRAPA - Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - CPAC, 1998. 556p.

SILVA, J. A.; SILVA, D. B.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. N. **Frutas nativas dos cerrados**. EMBRAPA, Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - CPAC, Brasília DF. 1994. 166p.

SIQUEIRA, E. M. A.; ARRUDA, S. F.; VARGAS, R. M.; SOUZA, E. M. T.  $\beta$ -Carotene from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves improves vitamin A status in rats. **Comp. Biochem. Physiol, C Toxicol. Pharmacol.**, (2007) xxx–xxx (*in press*).

SOMMER, A. **La carencia de vitamina A y sus consecuencias. Guia práctica para la detección y el tratamiento**. 3<sup>th</sup> ed, Genebra, Organización Mundial de la Salud, 1995.

TANG, G.; QIN, J.; DOLNIKOWSKI, G. G.; RUSSEL, R. M.; GRUSAK, M. A. Spinach or carrots can supply significant amounts of vitamin A as assessed by feeding with intrinsically deuterated vegetables. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.82, p.821-828, 2005.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomed. Pharmacother.** v.58, n.2, p.100-110, 2004.

USP. Universidade de São Paulo. **Tabela de composição de alimentos: projeto integrado de composição de alimentos**. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tabela/>>. Acesso em: 28 dez 2005.

van HET HOF, K. H.; DE BOER, B. C. J.; TIJBURG, L. B. M.; LUCIUS, B. R. H. M.; ZIJP, I.; WEST, C. E.; HAUSTVAST, J. G. A. J.; WESTSTRATE, J. A. Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways 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.**, v.130, p.1189-1196, 2000.

YEUM, K. L.; RUSSEL, R. M. Carotenoid bioavailability and conversion. **Annu. Rev. Nutr.**, v.22, p.483-504, 2002.

## 6 - AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Doutora Mieko kimura, Ibilce/Universidade Estadual de São Paulo, pelo apoio nas análises de carotenóides no fruto.

## CAPÍTULO 2

**Bocaiúva [*Acrocomia aculeata* (JACQ.) LODD.] melhora o estado nutricional de vitamina A em ratos.**

Versão em português do artigo original publicado no *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.22, n.8, p.3186-3140, April, 2007.

**Bocaiúva [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.] melhora o estado nutricional de vitamina A em ratos.**

MARIA ISABEL L. RAMOS<sup>†</sup>, EGLE M. A. SIQUEIRA\*, CLARISSA C. ISOMURA, ANTÔNIO M. J. BARBOSA<sup>#</sup> and SANDRA F. ARRUDA<sup>§</sup>

<sup>†</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brazil. (e-mail: milramos@nin.ufms.br)

\*A quem a correspondência deve ser enviada. Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular, Laboratório de Biofísica, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília, DF, CEP: 70.910-900, Brasil (e-mail: eglemasi@unb.br, Tel. 55-61-33072042; Fax. 55-61-32734608)

<sup>§</sup> Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição, Asa Norte D.F., Brasil (e-mail: arruda@unb.br).

<sup>#</sup>Laboratório Central de Saúde Pública, Secretaria de Estado de Saúde, MS

## **RESUMO**

A biodisponibilidade de carotenóides é influenciada por vários fatores, inclusive a matriz alimentar. A liberação dessas moléculas da matriz alimentar é a etapa inicial e a mais importante do processo de absorção. A biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno da polpa de bocaiúva em relação ao  $\beta$ -caroteno puro foi realizada através das reservas hepáticas de retinol, em ratos Wistar deficientes de vitamina A. Após o período de depleção, ratos deficientes de vitamina A foram separados em dois grupos e alimentados com dietas AIN-93G modificadas, contendo 14.425  $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno puro (grupo  $\beta$ -caroteno) ou 13.475  $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno de 275 g de polpa de bocaiúva (grupo bocaiúva) por 1 kg de dieta, como fonte de vitamina A. As duas dietas experimentais apresentaram resultados similares quanto a ganho de peso dos animais. A biodisponibilidade, estimada através do *Retinol Accumulation Factor (RAF)*, foi de 7,3 e 3,5 para os grupos  $\beta$ -caroteno e bocaiúva, respectivamente. Esses resultados mostraram que apesar da matriz ter sido polpa de bocaiúva, a biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno desta fruta foi superior a do  $\beta$ -caroteno puro.

**Palavras-chave:** Biodisponibilidade,  $\beta$ -caroteno, bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., vitamina A.

**ABSTRACT**

Carotenoid bioavailability is influenced by various factors including the food matrix. The release of those molecules from the food matrix is the initial and important step in the absorption process. The relative bioavailability of bocaiuva pulp  $\beta$ -carotene in relation to pure  $\beta$ -carotene was assayed by hepatic retinol store, in vitamin A deficient Wistar rats. After the depletion period, the vitamin A deficient rats were separated into two groups and fed AIN-93G modified diet, which contained 14,425  $\mu\text{g}$  pure  $\beta$ -carotene ( $\beta$ -carotene diet) or 13,475  $\mu\text{g}$   $\beta$ -carotene from 275 g bocaiuva pulp (Bocaiuva diet) per 1 kg of the diet as a vitamin A source. Both experimental diets resulted in similar body weight gains. The bioavailability, estimated as Retinol Accumulation Factor, was 7.3 and 3.5 for the  $\beta$ -carotene and the Bocaiuva group, respectively. These results show that in spite of the matrix of the bocaiuva pulp, the  $\beta$ -carotene bioavailability from this fruit was higher than the pure  $\beta$ -carotene.

**KEYWORDS:** Bioavailability;  $\beta$ - carotene; bocaiuva; *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., vitamin A.

## 1. INTRODUÇÃO

A despeito da função da vitamina A sobre a proliferação e diferenciação celular, manutenção da integridade das células epiteliais, desenvolvimento embrionário e no mecanismo da visão noturna (1, 2, 3), a deficiência dessa vitamina ainda é um problema de saúde pública mundial. Constitui um dos principais problemas nutricionais em países em desenvolvimento, onde coexiste com a baixa ingestão energética e a deficiência de outros nutrientes (1). No Brasil, a carência marginal de vitamina A ocorre praticamente em todas as regiões do país, mesmo nas mais ricas (4). A deficiência de vitamina A afeta o crescimento, a diferenciação dos tecidos epiteliais e o sistema auto-imune. Nos países em desenvolvimento, é a causa mais freqüente de cegueira noturna em crianças de idade escolar. Em crianças mais jovens, é a mais severa das doenças e a de maior risco de destruição de córnea, seguida de morte (5, 6, 7).

A deficiência de vitamina A ocorre quando as reservas do organismo estão exauridas e a suplementação não atende às necessidades do corpo. Os carotenóides provitamínicos A provenientes do consumo de dietas vegetais, são considerados como a principal fonte dietética de vitamina A para os humanos, os quais são convertidos a retinol pela ação da 15,15'-dioxigenase caroteno, principalmente nos enterócitos da mucosa intestinal. Esse processo resulta na formação de retinal, que pode ser reduzido a retinóides, os quais são incorporados aos quilomícrons, secretados para a linfa e transportados até o sangue, onde são captados pelo fígado e estocados (8, 9). Porém, a taxa de conversão destas moléculas em vitamina A depende da sua biodisponibilidade, isto é, da sua liberação do alimento, do processamento em forma potencialmente absorvível e da passagem do lúmen para os enterócitos do duodeno (10). Muitos fatores influenciam na biodisponibilidade de carotenóides, inclusive o tipo de carotenóide, a matriz onde estão incorporados e a composição da dieta (8, 10, 11). Vários frutos nativos têm sido identificados como ricas fontes de carotenóides (12). O fruto bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., é uma palmeira do bioma cerrado, cuja polpa é consumida fresca ou utilizada no preparo de doces, sorvetes, cremes, batidas, bolos e geléias caseiras, com grande aceitação pela população. Pesquisa anterior mostrou que  $\beta$ -caroteno representou cerca de 90% do conteúdo total de carotenóides da

polpa de bocaiúva; e que a polpa é rica em lipídios com alto teor de ácidos graxos insaturados, tais como o ácido oléico (13, 14), os quais podem influenciar na biodisponibilidade de carotenóides.

Ratos não têm sido considerados como o modelo animal mais apropriado para investigar a biodisponibilidade de carotenóides, porém, têm sido utilizados para avaliar a eficiência da conversão de  $\beta$ -caroteno em vitamina A através do monitoramento das reservas hepáticas de retinol (2, 15, 16). Os ratos apresentam alta eficiência em converter o  $\beta$ -caroteno em vitamina A em nível de enterócitos, no entanto, diferentemente de humanos, não absorvem facilmente os carotenóides intactos, mas sim pequenas doses fisiológicas de uma variedade de carotenóides, inclusive  $\beta$ -caroteno intacto (2). Estudo comparativo de biodisponibilidade de carotenóides utilizando ratos é muito útil, principalmente para investigar os fatores dietéticos, tais como a matriz alimentar, que é uma das primeiras e a mais crítica etapa na absorção de carotenóides, pois a absorção no intestino delgado ocorre via difusão passiva (8, 10), e não existe evidência de que esse mecanismo é diferente entre ratos e humanos. O objetivo deste estudo foi comparar o potencial benéfico do  $\beta$ -caroteno da polpa de bocaiúva, em relação ao  $\beta$ -caroteno puro, através da quantificação da eficiência da polpa em recuperar as reservas hepáticas de vitamina A, após a indução da deficiência em ratos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Polpa de bocaiúva**

Frutos maduros de bocaiúva, *A. aculeata* (Jacq.) Lodd. do bioma cerrado, foram coletados no campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e em região próxima à Campo Grande, MS, no período de Agosto a Outubro de 2005. Os frutos maduros foram selecionados pela maior intensidade de coloração, descascados e despulpados manualmente. A polpa foi homogeneizada com um processador de alimentos e estocada em embalagens plásticas sob vácuo, na temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$ , até a realização das análises.

## 2.2. Análise de $\beta$ -caroteno

Os carotenóides da polpa de bocaiúva (25g) foram extraídos e saponificados de acordo com as metodologias descritas em Rodriguez–Amaya (17) e Hiane (13) e modificadas como a seguir: os extratos em éter de petróleo foram concentrados em evaporador rotatório e submetidos à análise em equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com detector de arranjo de diodos (Waters modelo 2996), coluna monomérica C18 Spherisorb OD2 (3 $\mu$ m, 4,6 x 150mm), fase móvel acetonitrila (com 0,05% de trietilamina):metanol:acetato de etila, com gradiente linear de 90:10:0 a 60:20:20 em 40 minutos, fluxo 0.5 mL/minuto. O  $\beta$ -caroteno foi detectado em 450nm e a concentração foi determinada através do método de padronização externa (18). A polpa homogeneizada foi analisada em triplicata.

## 2.3. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi baseado no método de depleção e repleção da vitamina A hepática, de acordo com o proposto por Furusho *et al.* (15) e modificado por Graebner *et al.* (19). Resumidamente, 20 ratos machos da linhagem Wistar com 21 dias, recém desmamados (45,03  $\pm$  9,49g), foram fornecidos pelo Biotério da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, mantidos em gaiolas individuais, ambiente com temperatura controlada a 22°C, com ciclo de luz/escuro de 12 horas, alimentados entre 16 e 8 horas e com acesso livre à água. Os ratos foram aclimatados durante 5 dias, alimentados com dieta básica completa AIN-93G (20) modificada, onde o conteúdo de vitamina A foi substituído por  $\beta$ -caroteno. Posteriormente, foram alimentados com dieta AIN-93G sem nenhuma fonte de vitamina A (dieta deficiente – DD) durante 28 dias, para induzir a deficiência da vitamina (período de depleção). Após esse período, 4 ratos foram sacrificados para determinar o conteúdo basal de retinol hepático. Os outros ratos foram randomizados, separados em dois grupos (8 ratos / grupo) e alimentados durante 21 dias (período de repleção) com dietas AIN-93G modificadas, suplementadas com 14 425,5  $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno puro em pó (Fluka), dissolvido em óleo de soja (dieta  $\beta$ -caroteno – DC) ou 13.475,0  $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno de 275 g de polpa de bocaiúva fresca (dieta bocaiúva – DB) por 1 kg de dieta. As dietas foram estocadas em

embalagens plásticas, à -20°C (**Tabela 1**). Após o período de repleção, os ratos foram sacrificados com anestésico tiopental sódico (*thionembutal*) em dose letal e os fígados foram retirados, lavados com solução salina gelada, secados em toalhas de papel para remover o excesso de água, pesados, embalados em tubos plásticos e imediatamente congelados em N<sub>2</sub> líquido e estocados à -70°C, até as análises de retinol. O consumo de dieta e o peso dos ratos foram monitorados diária e semanalmente, respectivamente. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, MS.

**TABELA 1** - Composição das dietas de acordo com a formulação AIN-93G, expressa em g/kg de dieta.

Componentes (g)	DD	DC	DB
Amido	397,5	397,5	362,9
Amido (bocaiúva)	-	-	34,6
Proteína (caseína)	200,0	200,0	195,9
Proteína (bocaiúva)	-	-	4,1
Amido dextrinizado (90-94% tetras.)	132,0	132,0	132,0
Sacarose	100,0	100,0	75,3
Sacarose (bocaiúva), conversão			24,7
Óleo de soja	70,0	70,0	47,7
Óleo (bocaiúva)	-	-	22,3
Fibra	50,0	50,0	12,0
Fibra (bocaiúva)	-	-	38,0
Mistura vitamínica <sup>a</sup>	10,0	10,0	10,0
L-cistina	3,0	3,0	3,0
Bitartarato de colina (41.1% colina)	2,5	2,5	2,5
Mistura mineral	35,0	35,0	35,0
Butilhidroxitolueno (mg)	14,0	14,0	14,0
Vitamina A (µg de β-caroteno)	-	14.425,5 <sup>b</sup>	13.475,0 <sup>c</sup>

DD = Dieta deficiente de vitamina A; DC = Dieta β-caroteno, contendo β-caroteno puro como fonte de vitamina A; DB = Dieta teste contendo polpa de bocaiúva como fonte de vitamina A.

<sup>a</sup> Mistura vitamínica AIN-93G sem vitamina A; <sup>b</sup> β-caroteno puro (Fluka); <sup>c</sup> β-caroteno da polpa de bocaiúva.

#### 2.4. Determinação do retinol hepático

As concentrações de retinol nos fígados foram realizadas segundo método descrito por Tanumihardjo (21), com modificações para retinol hepático. Amostras com aproximadamente 0,1g de fígado homogeneizado a 4°C, foram suspensas em etanol (1,5 x volume de amostra) e agitadas em

vortex durante 15 segundos. Estas suspensões foram saponificadas adicionando-se KOH 50% aquoso (0,8 x volume), agitadas por 15 segundos e mantidas em banho-maria à 50°C durante 30 minutos, fazendo agitação dos tubos em vortex a cada 15 minutos, durante 15 segundos. Após a saponificação, as amostras foram extraídas três vezes com hexano (2,0 x volume), fazendo agitação em vortex durante 15 segundos e centrifugação durante 3 minutos para a separação das fases. As camadas superiores contendo retinol em hexano foram separadas, transferidas para tubos e evaporadas em gás nitrogênio. Os resíduos foram ressuspensos em 2 mL de metanol e injetados (20µL) em HPLC (Varian, equipado com coluna C<sub>18</sub> Chromsep 250 x 4,6mm ID, Onnspher 5). Foi usado um padrão interno durante o procedimento, para controlar as perdas degradativas e mecânicas. A mistura de metanol:água (95:5) foi usada como fase móvel, em fluxo de 1,5 mL/minuto e o retinol foi detectado em 325nm.

As concentrações de retinol foram obtidas através de curva padrão de *all-trans* retinol (Sigma-Aldrich), quantificado previamente por espectrofotometria em 325nm e coeficiente de extinção 1850 (22). Os fígados dos ratos foram analisados em triplicata.

## **2.5. Biodisponibilidade do β-caroteno da bocaiúva**

A biodisponibilidade do β-caroteno da polpa de bocaiúva foi avaliada através do *Retinol Accumulation Factor* (*RAF*), segundo Zakaria-Rungkat *et al.* (23). O *RAF* foi calculado dividindo-se o β-caroteno ingerido (I) pelo *Liver Retinol Accumulation* (*LRA*). O *LRA* foi calculado através da diferença entre o retinol no fígado dos ratos após o período de repleção e o retinol no fígado após a depleção de vitamina A.

A biodisponibilidade relativa foi determinada através da relação entre o *RAF* do grupo β-caroteno e o *RAF* do grupo bocaiúva, multiplicado por 100.

## **2.6. Análise estatística**

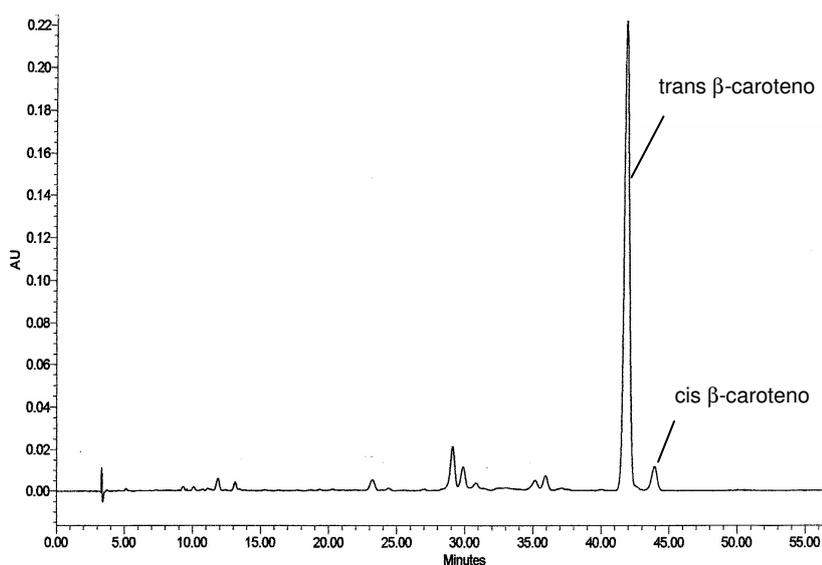
A análise estatística foi realizada para os dados de ganho de peso, dieta consumida, β-caroteno ingerido, retinol hepático e biodisponibilidade relativa.

Os resultados foram expressos em médias  $\pm$  desvio padrão. Utilizou-se a análise de variância (ANOVA) para determinar as diferenças entre os tratamentos, através de um programa Excel 2003 (Microsoft  $\text{\textcircled{R}}$  Office), considerando diferença significativa em nível de  $p < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Quantificação do $\beta$ -caroteno

O  $\beta$ -caroteno foi o carotenóide majoritário identificado no perfil cromatográfico do extrato de carotenóides da polpa da bocaiúva, *A. aculeata* (Jacq.) Lodd., representando cerca de 82% da área total do cromatograma. Também foram encontradas menores porcentagens de outros carotenóides nas alíquotas analisadas, os quais não foram identificados neste estudo (**Figura 1**). No entanto, em estudo realizado anteriormente em nosso laboratório, estes carotenóides minoritários foram identificados através de cromatografia em coluna aberta, como  $\gamma$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, cis-licopeno e cis-flavoxantina (13). No presente estudo, o conteúdo de  $\beta$ -caroteno encontrado foi de  $49,0 \pm 2,0 \mu\text{g/g}$  de polpa integral, próximo ao valor relatado por Hiane ( $59,4 \pm 11,1 \mu\text{g/g}$ ) (13).



**FIGURA 1** - Cromatograma obtido por HPLC de extrato de polpa de bocaiúva em 450nm, detector de arranjo de diodos. Condições de separação: Coluna monomérica Sherisorb OD2 (4.6x150mm, 3 $\mu\text{m}$ ), fase móvel: acetonitrila (0.05% trietilamina):metanol:acetato de etila, gradiente linear de 90:10:0 a 60:20:20 em 40 min., fluxo 0.5 mL/min.

A composição de carotenóides em vegetais e frutos é afetada por diversos fatores tais como a cultivar ou variedade, parte da planta consumida, estágio de maturação, região climática ou geográfica de produção, manuseio durante e pós-colheita, processamento e estocagem (12, 23, 24), e também o processo de trituração, o qual resulta em destruição da matriz e liberação dos carotenóides.

### 3.2. Avaliação da biodisponibilidade do $\beta$ -caroteno

Estudos recentes têm indicado que ratos alimentados com  $\beta$ -caroteno suprem as necessidades de vitamina A, mostrando maior ganho que os ratos deficientes de vitamina A (23, 25). No presente estudo, no final do período de depleção, os ratos apresentaram ganho de peso médio de  $150,9 \pm 21,3$  g e a concentração de retinol hepático foi de  $4,6 \pm 1,8$   $\mu\text{g/g}$ . Após o período de repleção, não houve diferença significativa entre o ganho de peso, dieta ingerida e peso dos fígados dos ratos em ambos os grupos ( $\beta$ -caroteno e bocaiúva) (**Tabela 2**). Estes resultados sugerem que o  $\beta$ -caroteno da polpa de bocaiúva pode suprir quantidade suficiente de vitamina A para promover o crescimento dos ratos, como o  $\beta$ -caroteno puro e que o ajuste calórico e protéico da dieta de bocaiúva foi eficiente (**Tabela 1**).

**Tabela 2** - Ganho de peso, dieta consumida e peso do fígado de ratos dos grupos  $\beta$ -caroteno e bocaiúva, no final do período de repleção<sup>a</sup>.

<b>Grupos<sup>b</sup></b> <b>(n = 8)</b>	<b>Ganho de</b> <b>Peso (g)</b>	<b>Dieta</b> <b>Consumida (g)</b>	<b>Peso do</b> <b>Fígado (g)</b>
<b>Controle</b>	$99,29 \pm 8,87^a$	$323,55 \pm 37,25^a$	$15,11 \pm 2,29^a$
<b>Bocaiúva</b>	$99,14 \pm 21,52^a$	$313,41 \pm 31,33^a$	$14,57 \pm 1,67^a$

<sup>a</sup> Médias e Desvio Padrão = Valores nas colunas, seguidos da mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) pelo ANOVA. <sup>b</sup> Ratos previamente depletados foram alimentados com as dietas AIN-93G modificadas, contendo  $\beta$ -caroteno puro (grupo  $\beta$ -caroteno) ou polpa de bocaiúva (Grupo Bocaiúva), como fonte de vitamina A.

Durante o período de repleção, os ratos dos grupos  $\beta$ -caroteno e bocaiúva aumentaram o nível de retinol hepático de  $4,6$   $\mu\text{g/g}$  (nível basal) para  $47,5$  e  $91,4$   $\mu\text{g/g}$ , respectivamente ( $p < 0,0001$ ) (**Tabela 3**). Estes resultados mostraram que o  $\beta$ -caroteno das duas dietas restauraram o retinol do fígado

dos ratos. No entanto, apesar da similaridade entre as quantidades de  $\beta$ -caroteno ingeridas durante o período de repleção, as análises hepáticas mostraram maiores acúmulo de vitamina A nos ratos do grupo bocaiúva (**Tabela 3**).

A biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno, medida através do Fator de Acúmulo de Retinol (RAF), em ratos alimentados com dieta de  $\beta$ -caroteno puro foi de  $7,3 \pm 1,0$  e dos ratos alimentados com polpa de bocaiúva foi de  $3,5 \pm 0,5$ . Em outras palavras, estes resultados sugerem que  $7,3 \mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno puro produziram  $1 \mu\text{g}$  de retinol hepático e  $3,5 \mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno da polpa de bocaiúva produziram  $1 \mu\text{g}$  de retinol hepático, em ratos (**Tabela 3**). O menor valor de RAF reflete em maior biodisponibilidade. Sendo assim, a biodisponibilidade relativa do  $\beta$ -caroteno da bocaiúva foi cerca de 200% superior à biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno puro ( $p < 0,0001$ ).

**Tabela 3** -  $\beta$ -caroteno ingerido (I) durante o período de repleção, retinol hepático (HRL), *Liver Retinol Accumulation* (LRA) e *Retinol Accumulation Factor* (RAF) no final do período de repleção<sup>a</sup>.

<b>Dietas</b> <b>(n = 8)</b>	<b><math>\beta</math>-caroteno ingerido</b> <b>(I) (<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>HRL</b> <b>(<math>\mu\text{g/g}</math> fígado)</b>	<b>LRA</b> <b>(<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>RAF</b> <b>(I / LRA)</b>
<b>Controle</b>	$5110,5 \pm 588,4^a$	$47,50 \pm 6,5^a$	$717,8 \pm 141,9^a$	$7,3 \pm 1,0^a$
<b>Bocaiúva</b>	$4562,2 \pm 456,1^a$	$91,4 \pm 14,6^b$	$1317,1 \pm 166,8^b$	$3,5 \pm 0,5^b$

<sup>a</sup> Médias e Desvio Padrão = Valores nas colunas, seguidos da mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) pelo ANOVA.

Medidas diretas de reservas hepáticas de vitamina A foram descritas como método padrão ouro para avaliar o estado nutricional de vitamina A (26). Assim, esse indicador tem sido amplamente usado para avaliar a efetividade dos alimentos, na melhora do estado nutricional dessa vitamina (15, 23, 27). Outros métodos como o de isótopos radioativos e testes de dose-resposta, têm sido validados em comparação com as reservas hepáticas, tanto em animais quanto em humanos (26).

A biodisponibilidade dos carotenóides é influenciada por múltiplos fatores exógenos e endógenos tais como espécie de carotenóide, quantidade

ingerida, fibra e gordura da dieta, propriedade da matriz, preparação do alimento e tamanho das partículas e a interação entre os carotenóides durante a absorção, metabolismo e o processo de transporte (8, 28, 29, 30). A primeira etapa limitante na biodisponibilidade de carotenóide é a sua liberação dos alimentos, que ocorre quando as células da planta são rompidas, durante o processamento. O segundo maior fator limitante é a solubilidade do carotenóide no lúmen intestinal (10). Em frutos amarelos e alaranjados, os carotenóides encontram-se dissolvidos em gotículas de óleo nos cromoplastos e podem ser facilmente extraídos durante a digestão (9), facilitando a liberação do  $\beta$ -caroteno no trato gastrintestinal. Os carotenóides são absorvidos nos enterócitos do intestino delgado, via difusão passiva e são incorporados aos quilomícrons. A liberação do  $\beta$ -caroteno da matriz e a solubilização na fase lipídica são etapas críticas no processo de absorção (8, 10). O processamento do alimento, tal como a homogeneização mecânica ou tratamento térmico resultam na ruptura das matrizes alimentares, os quais contribuem para aumentar a biodisponibilidade dos carotenóides (30). O aumento da biodisponibilidade do licopeno, em função da homogeneização mecânica e do tratamento térmico, foi confirmado por van Het Hof *et al.* A biodisponibilidade do licopeno do tomate em pasta foi superior a do tomate fresco; efeito similar foi encontrado para o  $\beta$ -caroteno (31). Cenouras e espinafre cozidos e em purês parecem ser absorvidos 3 vezes mais que os vegetais crus intactos (32).

Neste estudo, as diferentes fontes de  $\beta$ -caroteno, puro ou da polpa de bocaiúva, ambos adicionados as dietas dos ratos, refletiram na concentração hepática de vitamina A. Os grupos  $\beta$ -caroteno e bocaiúva receberam dietas com conteúdo semelhante de energia, lipídios e outros nutrientes. Assim, a maior biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno da bocaiúva pode ser devido à forma que está presente na matriz da polpa do fruto ou da presença de outras moléculas tais como os lipídios, que podem facilitar a absorção do  $\beta$ -caroteno pelos enterócitos, após a ruptura da matriz (8, 10). Em pesquisas anteriores, Yuyama *et al.* avaliaram a biodisponibilidade de carotenóides de outras duas palmeiras, a pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) e o buriti (*Mauritia flexuosa* L.), usando o acúmulo de retinol em fígados de ratos. Os autores encontraram maior biodisponibilidade do  $\beta$ -caroteno em grupos alimentados com dietas

suplementadas com farinhas de pupunha e de buriti, em relação aos respectivos grupos controle com palmitato de retinil (33, 34). Esses resultados sugerem que palmeiras brasileiras podem ser boas fontes de  $\beta$ -caroteno e vitamina A para ratos; no entanto, para prever a biodisponibilidade em uma população humana saudável, através deste modelo, há necessidade de avaliação.

Diversos estudos têm claramente mostrado que a biodisponibilidade de  $\beta$ -caroteno é muito influenciada pelo estado nutricional de vitamina A do organismo (23, 35, 36). A biodisponibilidade pode ser influenciada pelo tempo utilizado para repletar os animais. Em estudo recente, desenvolvido em nosso laboratório, onde ratos depletados e o acúmulo de retinol hepático também foram usados para avaliar a biodisponibilidade de  $\beta$ -caroteno, o Fator de Acúmulo de Retinol (RAF) foi 12, superior ao valor obtido neste estudo, porém, o período de repleção foi diferente entre os estudos (30 e 21 dias, respectivamente) (19). O estado nutricional de vitamina A apresenta um grande efeito sobre a estocagem de vitamina A e de  $\beta$ -caroteno, assim, um único valor de RAF não pode refletir precisamente a biodisponibilidade sobre várias circunstâncias (27).

Nas duas últimas décadas, têm aumentado novos interesses científicos na identificação de fontes de carotenóides biodisponíveis, não somente pelo valor de vitamina A, mas também devido às propriedades antioxidantes dos carotenóides. Os carotenóides podem proteger humanos e animais contra o *stress* oxidativo (37, 38). Essas propriedades antioxidantes têm sido atribuídas à capacidade destes pigmentos vegetais em reagir com o oxigênio singlete, e também inibir reações de oxidação de lipídios e proteínas (39). Pesquisas anteriores mostraram o efeito protetor dos carotenóides contra várias doenças crônicas, incluindo o câncer, e as doenças cardiovasculares (3, 7, 40).

Na década de noventa, estudos de intervenção mostraram que vegetais folhosos verdes e cenouras não afetaram a concentração de retinol sérico, sugerindo que esses alimentos são pobres em vitamina A (41). No entanto, estudo recente, onde carotenóides intrinsecamente marcados foram usados, mostrou que espinafre e cenoura podem suprir significantes quantidades de vitamina A para a mulher e para o homem (42). No presente estudo, os

carotenóides provitamínicos A da polpa de bocaiúva nativa foram mais eficientes na melhoria do estado de vitamina A do que o  $\beta$ -caroteno puro, em ratos. Estes resultados sugerem que o fruto bocaiúva pode ser uma boa fonte de carotenóides provitamínicos A. Este fruto é amplamente consumido pela população da região do cerrado, *in natura* (fresco) e na forma de farinha, no preparo de doces, sorvetes e de outros pratos regionais. Assim, pode contribuir com a redução da incidência de hipovitaminose A, em programas governamentais para combater a deficiência de micronutrientes nesta região. No entanto, é sempre necessário enfatizar que um modelo de estudo em animais, incluindo este, a extrapolação de resultados para organismos humanos deve ser realizada com cautela e necessita de confirmação.

#### 4. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Dra. Mieko Kimura, Ibilce/Universidade Estadual de São Paulo e ao Dr. José Antonio Braga Neto, pelo apoio técnico.

#### 5. LITERATURA CITADA

- (1) Underwood, B.A.; Arthur, P. The contribution of vitamin A in public health. *Faseb J.* **1996**,10, 1040-8.
- (2) Lee, C.M.; Boileau, A.C.; Boileau, T.W.; Williams, A.W.; Swanson, K.S.; Heintz, K.A.; Erdman, J.W. Jr. Review of animal models in carotenoid research. *J. Nutr.* **1999**,129, 2271–2277.
- (3) Stahl, W.; Sies, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim. Biophys. Acta*, **2005**, 1740, 101-107.
- (4) Ramalho, R.A.; Flores, H; Saunders, C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. *Rev. Panam. Salud Publica / Pan Am. J. Public Health*, **2002**, 12, 117-123.
- (5) DeMaeyer E.M. The WHO programme of prevention and control of vitamin A deficiency, xerophthalmia and nutritional blindness. *Nutr. Health*, **1986**, 4, 105-112.

- (6) PAHO (Pan American Health Organization), Providing vitamin A supplements through immunization and other health contacts for children 0-59 months and women up to 6 weeks postpartum - A guide for health workers. 2<sup>a</sup> Ed, **2001**, pp 35.
- (7) Tapiero, H.; Townsend, D.M.; Tew, K.D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed. Pharmacother.*, **2004**, 58, 100-110.
- (8) Yeum, K.L.; Russel, R.M. Carotenoid bioavailability and conversion. *Annu. Rev. Nutr.* **2002**, 22, 483-504.
- (9) Castenmiller, J.J.M.; West, C.E. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. *Annu. Rev. Nutr.* **1998**, 18, 19-38.
- (10) Faulks, R.M.; Southon, S. Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. *Biochim. Biophys. Acta*, **2005**, 1740, 95-100.
- (11) De Pee, S.; West, C.E. Dietary carotenoids and their role in combating vitamin A deficiency review of literature. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1996**, 50 (suppl 3), S38-S53.
- (12) Rodriguez-Amaya, D.B. Latin American food sources of carotenoids. *Arch. Latinoam. Nutr.* **1999**, 49, (3 Suppl 1), 74S-84S.
- (13) Hiane, P.A.; Penteado, M.V.C. Carotenóides e valor de vitamina A do fruto e da farinha de bocaiúva (*Acrocomia mokayáya* Barb.Rodr.) do Estado de Mato Grosso do Sul. *Rev. Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo.* **1989**, 25, 158-168.
- (14) Hiane, P.A.; Ramos Filho, M.M.; Ramos, M.I.L.; Macedo, M.L.R. Bocaiuva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd, pulp and kernel oils: characterization and fatty acid composition. *Braz. J. Food Technol.* **2005**, 3, 56-59.
- (15) Furusho, T.; Kataoka, E.; Yasuhara, T; Wada, M.; Masushide, S. Retinol equivalence of carotenoids can be evaluated by hepatic vitamin A content. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **2000**, 70, 43-47.
- (16) Grolier, P.; Agoudavi, S; Azais-Braesco, V. Comparative bioavailability of diet oil and emulsion-based preparations of vitamin A and  $\beta$ -carotene in rat. *Nutr. Res.*, **1995**, 15, 1507-1516.

- (17) Rodriguez-Amaya, D. B. *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington, OMNI Research, **1999**; pp 64.
- (18) Kimura, M.; Rodriguez-Amaya, D.B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. *Food Chem.* **2002**, 78, 389-398.
- (19).Graebner, I.T.; Siqueira, E.M.A.; Arruda, S.F.; Souza, E.M.T. Carotenoids from native Brazilian dark-green vegetables are bioavailable: a study in rats. *Nutr. Res.* **2004**, 24, 671-679.
- (20) Reeves, P.G.; Nielsen, F.H.; Fahey Jr, G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A. Rodent Diet. *J. Nutr.* **1993**, 123, 1939-1951.
- (21) Tanumihardjo, S.; Penniston, K.L. Simplified methodology to determine breast milk retinol concentrations. *J. Lipid Res.* **2002**, 43, 350-355.
- (22) Furr, H.; Tanumihardjo, S.A.; Olson, J.A. Training manual for assessing vitamin A status by use the modified relative dose response and the relative dose response assays. Office of Nutrition, Bureau for Research and Development, U.S. Agency for International Development. Washington, D.C. **1992**.
- (23) Zakaria-Rungkat, F.; Djaelani, M.; Setiana, R.; Nurrochmah, E. Carotenoid bioavaiability of vegetables and carboydrate-containing foods measured by retinol accumulation in rat livers. *J. Food Comp. Anal.* **2000**, 13, 297-310.
- (24) Rodriguez-Amaya, D.B. Some considerations in generating carotenoids data for food composition table. *J. Food Comp. Anal.*, **2000**, 13, 641-647.
- (25) Siqueira, E.M.A.; Arruda, S.F.; Vargas, R.M.; Souza, E.M.T.  $\beta$ -Carotene from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves improves vitamin A status in rats. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, (**2007**) xxx–xxx (*in press*)
- (26) Tanumihardjo, S.A. Assessing vitamin A status: past, present and future. *J. Nutr.* **2004**, 134, 290S–293S.

- (27) Howe, J.A.; Tanumihardjo, S.A. Carotenoid-biofortified maize maintains adequate vitamin A status in Mongolian gerbils. *J. Nutr.* **2006**, 136, 2562-2567.
- (28) Olson, J.A. Bioavailability of carotenoids. *Arch. Latinoam. Nutr.* **1999**, 49, (3 Suppl 1), 26S-33.
- (29) Parker, R.S.; Swanson, J.E.; You, C.S.; Edwards, J.A.; Huang, T. Bioavailability of carotenoids in human subjects. *Proc. Nutr. Soc.* **1999**, 58, 155-62.
- (30) Van Het Hof, K.H.; West, C.E.; Weststrate, J.A.; Hautvast, J.G.A.J. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J. Nutr.* **2000**, 130, 503-506.
- (31) Van Het Hof, K.H.; de Boer, B.C.J.; Tijburg, L.B.M.; Lucius, B.R.H.M.; Zijp, I.; West, C.E.; Hautvast, J.G.A.J.; Weststrate, J.A. Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways 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, 1189-1196.
- (32) Rock, C.L.; Lovalvo, J.L.; Emenhiser, C.; Ruffin, M.T.; Flatt, S.W.; Schwartz, S.J. Bioavailability of beta-carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. *J. Nutr.*, **1998**, 128, 913-916.
- (33) Yuyama, L.K.O.; Yonekura, L.; Aguiar, J.P.L.; Souza, R.F.S. Biodisponibilidade dos carotenóides do buriti (*Mauritia flexuosa* L.) em ratos. *Acta Amazônica*. **1998**, 28, 409-415.
- (34) Yuyama, L.K.O.; Yonekura, L.; Aguiar, J.P.L.; Souza, R.F.S. Biodisponibilidade de vitamina A da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) em ratos. *Acta Amazônica*. **1999**, 29, 497-500.
- (35) Ribaya-Mercado, J.D.; Solon, F.S.; Solon, M.A.; Cabal-Barza, M.A.; Perfecto, C.S.; Tang, G.; Solon, J.A.A.; Fjeld, C.R.; Russel, R.M. Bioconversion of plant carotenoids to vitamin A in Filipino school-aged children varies inversely with vitamin A status. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, 72, 455-65.

- (36) Van Vliet, T.; Van Vliissingen, M.F.; Van Schaik, F.; Van Den Berg, H.  $\beta$ -carotene adsorption and cleavage in rats is affected by the vitamin A concentration of the diet. *J. Nutr.* **1996**, 126, 499-508.
- (37) Vaisman, N.; Haenen, G.R.; Zaruk, Y.; Verduyn, C.; Bindels, J.G.; Verlaan, S.; Meijer, E.P. Enteral feeding enriched with carotenoids normalizes the carotenoid status and reduces oxidative stress in long-term enterally fed patients. *Clin. Nutr.* **2006**, 25, 897-905.
- (38) Arruda, S.F.; Souza, E.M.; Siqueira, E. Carotenoids from malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) leaves protect cells against oxidative stress in rats. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **2005**, 75, 161-8.
- (39) Palace, V.P.; Khaper, N.; Qin, Q.; Singal, P.K. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic. Biol. Med.*, **1999**, 26, 746-61.
- (40) Dwyer, J.H.; Paul-Labrador, M.J.; Fan, J.; Shircore, A.M.; Merz, C.N.; Dwyer, K.M. Progression of carotid intima-media thickness and plasma antioxidants: the Los Angeles atherosclerosis study. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.*, **2004**, 24, 313-319.
- (41) De Pee, S.; West, C.E.; Muhilal, K.D.; Hautvast, J.G.A.J. Lack of improvement in vitamin A status with increased consumption of dark green leafy vegetables. *Lancet* **1995**, 346, 75–81.
- (42) Tang, G.; Qin, J.; Dolnikowski, G.G.; Russel, R.M.; Grusak, M.A.. Spinach or carrots can supply significant amounts of vitamin A as assessed by feeding with intrinsically deuterated vegetables. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, 82, 821-828.

## **ANEXOS**

## **ANEXO 1**

**Certificado de Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais**

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº. 41/2003 para uso de animais em experimentação, referente ao projeto de pesquisa ***“Potencial vitamínico A do fruto bocaiúva (Acrocomia aculeata (jacq.) Lodd.). Avaliação da biodisponibilidade relativa em modelo experimental com ratos”***, da Doutoranda **Maria Isabel Lima Ramos** e sob orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Egle Machado de Almeida Siqueira, está de acordo com os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com a legislação vigente e demais disposições da ética em investigação que envolvem diretamente os animais e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA/UFMS, em reunião de 16 de outubro de 2003. O título acima retifica o título originalmente proposto ***“Potencial Vitamínico A do piqui (Caryocar brasiliense Camb) e do buriti (Mauritia vinifera Mart). Avaliação da biodisponibilidade relativa em modelo experimental com ratos”***.

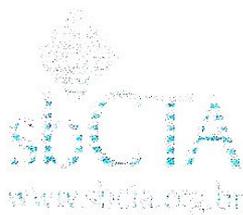
Campo Grande (MS), 23 de fevereiro 2007.



Prof<sup>a</sup> Joice Stein  
Presidente em exercício/CEUA

## **ANEXO 2**

**Declaração de submissão de artigo para publicação referente ao Capítulo 1**



---

**Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**

---

Orgão de Utilidade Pública  
Lei Municipal No. 4919 de 31/08/1979 - Fundada em 08/04/1967

Av. Brasil, 2880  
Caixa Postal 271  
13001-970 - Campinas/SP

C.G.C: 46.113.742/0001-24  
Fone/Fax: (019)3241-0527  
Fone: (019)3241-5793

---

Campinas, 26 de junho de 2007

### **ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO**

Ilma. Sra.  
Maria Isabel Lima Ramos  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Campo Grande/MS

Informamos que o artigo: QUALIDADE NUTRICIONAL DA POLPA DE BACAIÚVA, ACROCOMIA ACULEATA (Jacq) Lodd" submetido para publicação na Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos, foi cadastrado com o número 2490-07.

Atenciosamente,

DIRETORIA DE PUBLICAÇÕES/SBCTA

## **ANEXO 3**

**Figuras referentes ao Capítulo 1**



**FIGURA 1.** Palmeiras da bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd.



**FIGURA 2.** Frutos da bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., em cachos.



**FIGURA 3.** Frutos (1), fruto descascado (2) e polpa fatiada de bocaiúva (3). *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.



**FIGURA 4.** Sementes e amêndoas da bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.

## **ANEXO 4**

**Figuras referentes ao Capítulo 2**



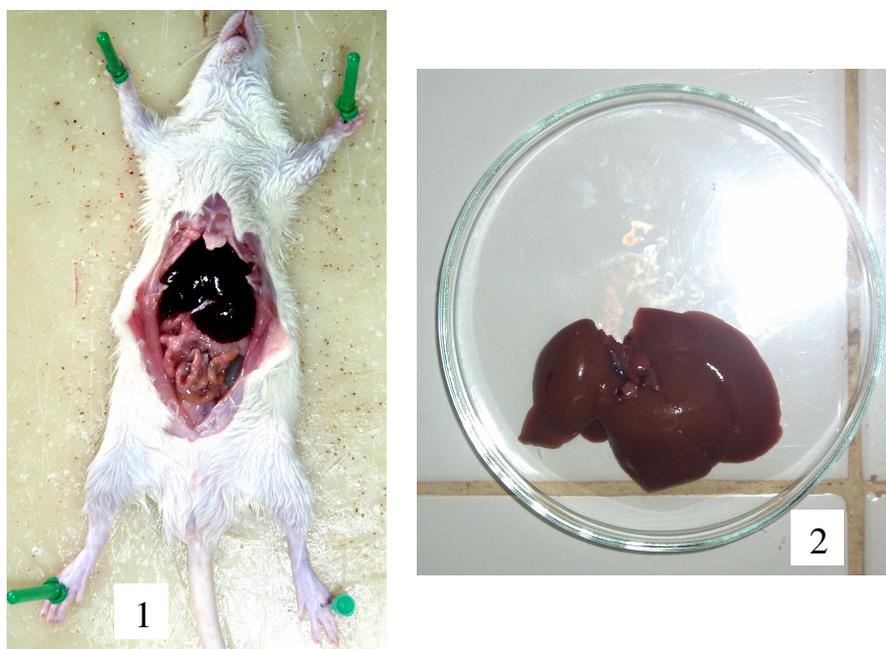
**FIGURA 5.** Preparo da dieta bocaiúva, ingredientes no misturador.



**FIGURA 6.** Dietas em *pellets*: controle (1) e bocaiúva (2), utilizadas no experimento, dispostas em bandejas de secagem.



**FIGURA 7.** Gaiolas metabólicas com os animais utilizadas no ensaio realizado na sala de experimentação do Biotério da UFMS.



**FIGURA 8.** Rato Wistar sacrificado após experimento para retirada do fígado (1) e fígado do animal (2).

## **ANEXO 5**

**Bocaiuva [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.] improved Vitamin A status in rats. Versão original do artigo publicado no *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (ISSN: 0021-8561 e 1520-5118).**

## Bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd) Improved Vitamin A Status in Rats

MARIA ISABEL L. RAMOS,<sup>†</sup> EGLE M. A. SIQUEIRA,<sup>\*†</sup> CLARISSA C. ISOMURA,<sup>†</sup>  
ANTÔNIO M. J. BARBOSA,<sup>§</sup> AND SANDRA F. ARRUDA<sup>||</sup>

Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande MS, Brazil; Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Asa Norte, D. F., Brazil; Laboratório Central de Saúde Pública, Secretaria de Estado de Saúde, MS, Brazil; and Departamento de Nutrição, Faculdade de Ciências da Saúde, Brasília, Asa Norte, D. F., Brazil

Carotenoid bioavailability is influenced by various factors including the food matrix. The release of those molecules from the food matrix is the initial and most important step in the absorption process. The relative bioavailability of bocaiuva pulp  $\beta$ -carotene in relation to pure  $\beta$ -carotene was assayed by a hepatic retinol store, in vitamin A deficient Wistar rats. After the depletion period, the vitamin A deficient rats were separated into two groups and fed an AIN-93G modified diet, which contained 14 400  $\mu$ g of pure  $\beta$ -carotene ( $\beta$ -carotene diet) or 13 475  $\mu$ g of  $\beta$ -carotene from 275 g of bocaiuva pulp (bocaiuva diet) per 1 kg of the diet as a vitamin A source. Both experimental diets resulted in similar body weight gains. The bioavailability, estimated as Retinol Accumulation Factor, was 7.3 and 3.5 for the  $\beta$ -carotene and the Bocaiuva group, respectively. These results show that in spite of the matrix of the bocaiuva pulp, the  $\beta$ -carotene bioavailability from this fruit was higher than the pure  $\beta$ -carotene.

**KEYWORDS:** Bioavailability;  $\beta$ -carotene; bocaiuva; *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd; vitamin A

### INTRODUCTION

In spite of its critical role in cell differentiation and proliferation, maintenance of epithelial cell integrity, embryonic development, and in the mechanism of vision in the dark (1–3), vitamin A deficiency is still a public health problem in the world. It is becoming worse in developing countries, where it coexists with low vitamin intake and other micronutrient deficiencies (1). In Brazil, the marginal vitamin A deficiency reaches practically all the regions of the country, even the richest ones (4). Vitamin A deficiency affects growth, the differentiation of epithelial tissues, and immune competence. It is the single most frequent cause of blindness among preschool children in developing countries. The younger the child, the more severe the disease is and the higher the risk that corneal destruction will be followed by death (5–7).

Vitamin A deficiency occurs when body stores are exhausted and the supply fails to meet the body's requirements. The major dietary source of vitamin A in humans consuming predominantly vegetarian diets are the provitamin A carotenoids, which are converted to retinol by the action of 15–15'-carotenoid dioxygenase mainly in the enterocytes from intestine mucosa. This

process results in the formation of retinal that could be reduced to retinoid forms, which are incorporated into chylomicrons and secreted into lymph for delivery to the blood stream, where they are taken up by the liver to be stored (8, 9). However, the rate of conversion of these molecules into vitamin A depends on their bioavailability (i.e., their release from the food structure, their processing into a potentially absorbable form, and their passage from gut lumen into the duodenum enterocytes (10)). Several factors including the carotenoids in foods, the matrix in which carotenoids are incorporated, and the diet composition influence carotenoid bioavailability (8, 10, 11). Numerous native Brazilian fruits have been identified as rich sources of carotenoids (12). Bocaiuva fruit, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd, is a palm from the cerrado (Brazilian savannas) whose yellow pulp is consumed fresh or processed as ice cream, juice, liqueur, and jelly, with great popular acceptance. A previous report has found that about 89% of the total carotenoid content in the bocaiuva pulp is  $\beta$ -carotene, and the bocaiuva pulp is rich in oils with a high content of unsaturated fatty acid such as oleic acid (13, 14), which may influence the carotenoid bioavailability.

Rats have not been considered to be the most appropriate animal model to investigate carotenoid bioavailability; however, they have been used to evaluate the efficiency of  $\beta$ -carotene conversion to vitamin A by monitoring changes in liver vitamin A stores (2, 15, 16). Rats are high efficiency converters of

\* Corresponding author. E-mail: eglemasi@unb.br. Tel.: 55-61-33072042. Fax: 55-61-32734608.

<sup>†</sup> Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

<sup>‡</sup> Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília.

<sup>§</sup> Laboratório Central de Saúde Pública.

<sup>||</sup> Faculdade de Ciências da Saúde.

$\beta$ -carotene in vitamin A at level of enterocytes; therefore, they do not readily absorb intact carotenoids differently than humans, who absorb small, physiologic doses of a variety of carotenoids, including intact  $\beta$ -carotene (2). However, a comparative study of carotenoid bioavailability using rats is very useful to investigate mainly dietary factors such as the food matrix that is one of the first and most critical steps in the carotenoid absorption, once absorption by the small intestine enterocytes occurs via passive diffusion (8, 10), and there is no evidence that this mechanism is different between humans and rats. The aim of this study was to compare the potential benefits of  $\beta$ -carotene from bocaiuva pulp by quantifying the effectiveness of pulp on the recovery of hepatic vitamin A reserves after deficiency induction in relation to pure  $\beta$ -carotene in rats.

## MATERIALS AND METHODS

**Bocaiuva Pulp.** Mature fruits of the *A. aculeata* (Jacq.) Lodd, from the Cerrado Biome (woodland savanna), were harvested between August and November in the city of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. The ripe stage of the fruits was determined by the fruit firmness and surface color (yellow). Fruits free of defects were selected and manually peeled. The pulp was homogenized with a food processor and stored in plastic bags under vacuum at  $-70^{\circ}\text{C}$  until the analysis.

**$\beta$ -Carotene Analysis.** The carotenoids from the bocaiuva pulp fruit (25 g) were extracted and saponified according to the Rodriguez--Amaya (17) and Hiane and Penteadó (13) methods modified as follows: the ether carotenoid extracts were concentrated in a rotary evaporator and submitted to high performance liquid chromatography (HPLC) analysis, with a photodiode array detector (Waters model 2996) and a Spherisorb OD2 column (4.6 mm  $\times$  150 mm i.d.). Acetonitrile (with 0.05% triethylamine)-methanol-ethyl acetate was used as the mobile phase, with a linear gradient 90:10:0 to 60:20:20 for 40 min, at a flow rate of 0.5 mL/min. The  $\beta$ -carotene was detected at 450 nm, and the concentration was determined by the external standard method (15). The homogeneous pulp was analyzed in triplicate.

**Experimental Design.** The design of the study was based on a rat vitamin A liver depletion and repletion method according to Furusko et al. (15) modified by Graebner et al. (19). Briefly, 20 male Wistar weaning rats 21 days old ( $45.0 \pm 9.5$  g) were obtained from the University of Mato Grosso do Sul in Brazil, housed in individual cages in a room maintained at  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  with a 12 h light/dark cycle, and fed between 4 PM and 8 AM with free access to water. Rats were acclimated during 5 days feeding the AIN-93G (20) modified diet, the vitamin A requirement was replaced by  $\beta$ -carotene, and then they were subjected to the AIN-93G diet without any source of vitamin A during 28 days to induce vitamin A deficiency (depletion period). After depletion, four rats were killed to determine basal hepatic retinol. The remaining rats were randomly separated into two groups (eight rats/group), and they were treated, for 21 days (repletion period), with the AIN-93G modified diet, with either 14 400  $\mu\text{g}$  of pure  $\beta$ -carotene powder (Fluka) dissolved in soybean oil ( $\beta$ -carotene diet) or 13 475  $\mu\text{g}$  of  $\beta$ -carotene from 275 g of the fresh bocaiuva pulp (bocaiuva diet) per 1 kg of the total diet, replacing the vitamin A requirements. The diets were stored in dark plastic bags at  $-20^{\circ}\text{C}$  (Table 1). At the end of the repletion period, the rats were killed by anesthetic sodium thiopental (thionembatal) in lethal doses, and the liver was excised, washed in ice-cold saline, blotted on paper towels to remove excess blood and saline, weighed, and immediately frozen in liquid  $\text{N}_2$  and stored at  $-70^{\circ}\text{C}$  until the analysis. Food intake was monitored daily, and body weight was monitored weekly. The experimental protocol was approved by the Animal Care Committee, Federal University of Mato Grosso do Sul.

**Liver Retinol Determination.** The liver retinol concentration was measured according to the Tammihardjo and Penniston (21) method, adapted for hepatic retinol. Samples with approximately 0.1 g of liver were homogenized at  $4^{\circ}\text{C}$  and suspended in ethanol (1.5  $\times$  vol of the sample) by vortexing for 15 s. To this suspension was added an aqueous solution of KOH 50% (0.8  $\times$  vol), mixed by a vortex for 15 s and placed into a water bath at  $50^{\circ}\text{C}$  for 30 min. The sample was mixed every 15

Table 1. Composition of Diets According to Formulations of AIN-93G Diet (14)<sup>a</sup>

ingredients (g)	DD <sup>b</sup>	CD <sup>b</sup>	BD <sup>b</sup>
cornstarch	397.5	397.5	362.9
starch (bocaiuva)			34.6
protein (casein)	200.0	200.0	195.9
protein (bocaiuva)			4.1
dextrinized cornstarch (90–94% tetras.)	132.0	132.0	132.0
sucrose	100.0	100.0	75.3
sucrose (bocaiuva), conversion			24.7
soybean oil	70.0	70.0	47.7
oil (bocaiuva)			22.3
fiber	50.0	50.0	12.0
fiber (bocaiuva)			38.0
vitamin mix <sup>c</sup>	10.0	10.0	10.0
mineral mix	35.00	35.0	35.0
L-cysteine	3.0	3.0	3.0
choline bitartrate (41.1% choline)	2.5	2.5	2.5
butylhydroxytoluene (mg)	14.0	14.0	14.0
vitamin A source ( $\mu\text{g}$ of $\beta$ -carotene)		14425.5 <sup>d</sup>	13475.0 <sup>e</sup>

<sup>a</sup> Expressed in g/kg diet. <sup>b</sup> DD = diet without any vitamin A source; CD =  $\beta$ -carotene diet, containing pure  $\beta$ -carotene as vitamin A source; and BD = test diet containing bocaiuva pulp as the vitamin A source. <sup>c</sup> Vitamin mix AIN-93G without vitamin A. <sup>d</sup> Pure  $\beta$ -carotene (Fluka). <sup>e</sup>  $\beta$ -carotene from bocaiuva pulp.

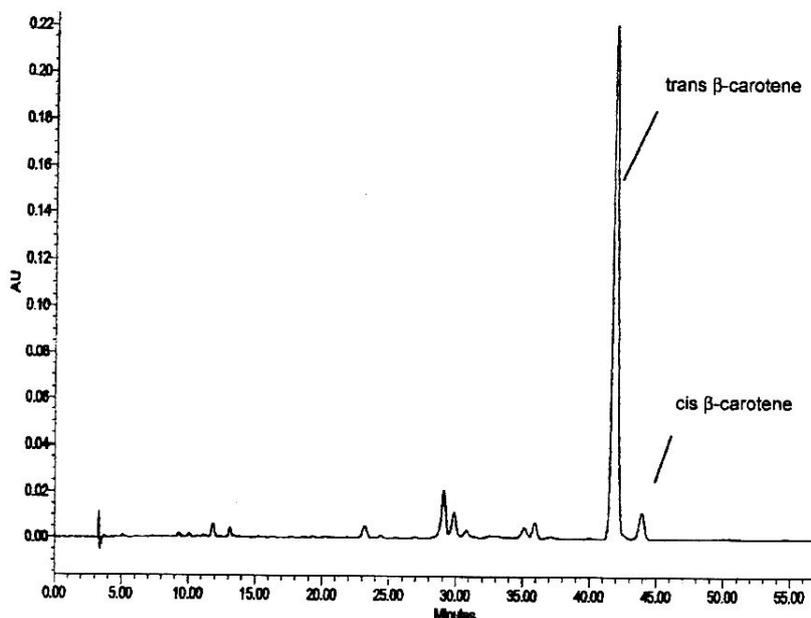
min for about 15 s. After saponification, the sample was extracted 3 times with 2  $\times$  vol of hexane by mixing for 30 s and centrifuging for 3 min. The top organic layer was pooled into a clean test tube and evaporated under nitrogen gas. The residue was redissolved in 2 mL of ethanol. The 20  $\mu\text{L}$  sample was injected into the HPLC system (Varian, Chromsep 250 mm  $\times$  4.6 mm i.d., Omspher 5  $\text{C}_{18}$  column). An internal standard was used during the hepatic retinol extraction procedure to control mechanical and degradative losses. A mixture of methanol/water (95:5) was used as the mobile phase, at a flow rate of 1.5 mL/min. The retinol was detected at 325 nm. The hepatic retinol concentration was determined using a standard curve obtained with an external standard solution of the synthetic all-*trans*-retinol (Sigma-Aldrich). The retinol concentration was calculated by the molar extinction coefficient of 1850 (ethanol) at 325 nm (22). Three samples from each liver were analyzed.

**Bioavailability of  $\beta$ -Carotene from Bocaiuva.** The  $\beta$ -carotene bioavailability was evaluated as the retinol accumulation factor (RAF) according to Zakaria-Rungakat et al. (23). The RAF was calculated by dividing the  $\beta$ -carotene intake (I) by the total retinol accumulation in the liver (LRA). The LRA was calculated by the difference between the total liver retinol found at the end of the repletion period and the total liver retinol found at the end of the depletion period (basal retinol level). The relative bioavailability was determined in relation to the RAF found in the  $\beta$ -carotene group.

**Statistical Analysis.** Statistical analysis of the data was determined for weight gain, diet consumption,  $\beta$ -carotene intake, hepatic retinol, and relative bioavailability. The results were expressed as the mean value  $\pm$  standard error of the mean. Analysis of variance (ANOVA) was used to determine differences between diet treatments, with the Excel 2003 (Microsoft Office) program. Differences associated with  $p < 0.05$  were regarded as significant.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Content of  $\beta$ -Carotene.** The major carotenoid identified in the chromatography profile from HPLC of the bocaiuva pulp was  $\beta$ -carotene, representing about 82% of the total peak area of the carotenoid profile. There were also other minor carotenoids not identified in this study (Figure 1); however, in earlier studies at our laboratory, these minor carotenoids were identified by an open column chromatography method as  $\gamma$ -carotene,  $\beta$ -cryptoxanthin, *cis*-lycopene, and *cis*-flavoxanthin (13). In the present study, the  $\beta$ -carotene content was  $49.0 \pm 2.0$   $\mu\text{g}/\text{g}$  (wet weight), similar to the value reported by Hiane and Penteadó ( $59.4 \pm 11.1$   $\mu\text{g}/\text{g}$ ) (13).



**Figure 1.** Typical HPLC chromatogram profile of the carotenoids from bocaiuva pulp at 450 nm, obtained through the photodiode array detector. Separation conditions. Column: monomeric Sherisorb OD2 (4.6 mm × 150 mm, 3 μm); mobile phase: acetonitrile (0.05% triethylamine)/methanol/ethyl acetate, in a linear gradient of 90:10:0 to 60:20:20 for 40 min; and flow rate: 0.5 mL/min.

**Table 2.** Weight Gain, Diet Intake, and Liver Weight of Rats from β-Carotene and Bocaiuva Groups at End of Repletion Period<sup>a</sup>

groups <sup>b</sup> (n = 8)	weight gain (g)	diet intake (g)	liver weight (g)
β-carotene	99.3 ± 8.9 <sup>a</sup>	323.6 ± 37.3 <sup>a</sup>	15.1 ± 2.3 <sup>a</sup>
bocaiuva	99.1 ± 21.5 <sup>a</sup>	313.4 ± 31.3 <sup>a</sup>	14.6 ± 1.7 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Means ± standard error; values in columns not sharing a common superscript letter are significantly different ( $p < 0.05$ ) by ANOVA. <sup>b</sup> Rats with vitamin A previously depleted were treated with a modified AIN-93G diet, containing vitamin A replaced by pure β-carotene (β-carotene group) or bocaiuva pulp (bocaiuva group).

The composition of carotenoids in vegetables and fruits is affected by several factors such as cultivar or variety, part of plant consumed, stage of maturity, climate or geographic region of production, harvesting and post-harvest handling, processing and storage (12, 23, 24), and also the milling processes that result in matrices disruption and delivering of carotenoids from the matrix.

**Bioavailability of β-Carotene.** Earlier studies have found that rats fed β-carotene replacing vitamin A requirements showed a higher weight gain than the vitamin A deficient rats (23, 25). In the present study, at the end of the depletion period, the rats showed a weight gain average of  $150.9 \pm 21.3$  g and a hepatic retinol concentration of  $4.6 \pm 1.8$  μg/g. After the repletion period, there was no significant difference in the weight gain of the rats from both groups (β-carotene and bocaiuva). There was also no difference in the diet intake and the rats' liver weight between the groups (Table 2). These results suggest that β-carotene from bocaiuva pulp may supply enough vitamin A to promote rat growth as pure β-carotene does and also that the calorie and protein value adjustment in the bocaiuva diet was adequate (Table 1).

During the repletion period, the rats from the β-carotene and bocaiuva groups increased the liver retinol level from 4.6 μg/g (basal level) to 47.5 and 91.4 μg/g, respectively ( $p < 0.0001$ ) (Table 3). These results showed that β-carotene from both diets was able to restore the rat liver retinol. However, in spite of

**Table 3.** β-Carotene Intake (I) during Repletion Period, Hepatic Retinol Level (HRL), Liver Retinol Accumulation (LRA), and Retinol Accumulation Factor (RAF) at End of Repletion Period<sup>a</sup>

diet (n = 8)	β-carotene intake (I) (μg)	HRL (μg/g)	LRA (μg)	RAF (LRA)
β-carotene	5110.5 ± 588.4 <sup>a</sup>	47.5 ± 6.5 <sup>a</sup>	717.8 ± 141.9 <sup>a</sup>	7.3 ± 1.0 <sup>a</sup>
bocaiuva	4562.2 ± 456.1 <sup>a</sup>	91.4 ± 14.6 <sup>b</sup>	1317.1 ± 166.8 <sup>b</sup>	3.5 ± 0.5 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Means ± standard error; values in columns not sharing a common superscript letter are significantly different ( $p < 0.05$ ) by ANOVA.

the similar β-carotene intake, during the repletion period, hepatic analysis showed a higher vitamin A accumulation in the rats from the bocaiuva group (Table 3).

The β-carotene bioavailability measured by the retinol accumulation factor (RAF) in the rats fed a pure β-carotene diet was  $7.3 \pm 1.0$  and in the rats fed bocaiuva pulp was  $3.5 \pm 0.5$ . In other words, these results suggest that 7.3 μg of pure β-carotene produced 1 μg of liver retinol accumulation and that 3.5 μg of β-carotene from bocaiuva produced 1 μg of liver retinol accumulation (Table 3). The lowest RAF value reflects the highest bioavailability. Thus, the relative bioavailability of β-carotene from bocaiuva was about 200% of the pure β-carotene bioavailability ( $p < 0.0001$ ).

The direct measurement of liver reserves of vitamin A has been described as the gold standard method to assessing the vitamin A status (26); therefore, this indicator has been widely used to evaluate the food effective in improving vitamin A status (15, 23, 27). Other methods such as isotope ratio and dose-response tests have been validated against liver reserves in either animals or humans (26).

Carotenoid bioavailability is influenced by multiple endogenous and exogenous factors such as carotenoid food composition, dietary fat and fiber, matrix properties, food preparation, particle size, and carotenoid interactions during the absorption, metabolism, and transport process (8, 28, 29, 30). The first limiting step of carotenoid bioavailability is the release of

carotenoids from the foods that occurs when the plant cell is disrupted during food processing. The second major limiting factor is the carotenoid solubility in the intestinal lumen (10). In orange and yellow fruits, carotenoids are dissolved in oil droplets in chromoplasts and can be readily extracted during digestion (9), which facilitates the  $\beta$ -carotene delivery into the gastrointestinal tract. Carotenoids appear to be absorbed by small intestine enterocytes via passive diffusion to be packaged into chylomicrons. Release of  $\beta$ -carotene from the matrix and dissolution in the lipid phase are critical steps in the absorption process (8, 10). Food processing, such as mechanical homogenization or heat treatments, results in food matrices disruption that contributes to the increased carotenoid bioavailability (30). The improvement of bioavailability of lycopene by mechanical homogenization and heat treatment was confirmed by van Het Hof et al. The bioavailability of lycopene from tomato paste was higher than that from fresh tomatoes; similar effects were found for  $\beta$ -carotene (31). Cooked, pureed carrots and spinach seemed to be absorbed approximately 3-fold better than the raw, intact vegetables (32).

In this study, the differences between the  $\beta$ -carotene sources, pure or from bocaiuva pulp, both mixed in the rats' diets, were reflected in the liver vitamin A concentration. The  $\beta$ -carotene and bocaiuva groups received diets with similar contents of energy, fat, and other nutrients. Thus, the higher bioavailability of  $\beta$ -carotene from bocaiuva may be due to the form of  $\beta$ -carotene present in the matrix of fruit pulp or in the presence of other molecules such as lipids that may facilitate  $\beta$ -carotene uptake by the enterocyte, after the matrix disruption (8, 10). In previous reports, Yuyama et al. evaluated the bioavailability of carotenoids from other two palm fruits, buriti (*Mauritia flexuosa* L.) and pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth), using liver retinol accumulation in rats. The authors also found higher  $\beta$ -carotene bioavailability in the groups fed diets supplemented with buriti and pupunha flours in relation to the retinyl palmitate, the respective control group (33, 34). These results suggest that these Brazilian palm fruits may be a good source of  $\beta$ -carotene and vitamin A for rats; however, the ability of this model to predict bioavailability in a healthy human population needs to be verified.

Several studies have clearly showed that  $\beta$ -carotene bioavailability is strongly influenced by the vitamin A status of the organism (23, 35, 36). The bioavailability may also be influenced by the time used to replete the animals. An early study, developed in our laboratory, in which depleted rats and liver retinol accumulation were also used to assay  $\beta$ -carotene bioavailability, showed that the retinol accumulation factor was 12, higher than the value obtained in the present study; however, the repletion period was different between the studies (30 and 21 days, respectively) (19). The vitamin A status had a large effect on vitamin A and  $\beta$ -carotene storage; thus, a single RAF may not accurately reflect bioavailability under any circumstances (27).

New scientific interest in identifying new sources of bioavailable carotenoids has increased in the last two decades not only for their vitamin A value but also because of antioxidant properties of carotenoids. Carotenoids may protect humans and animals against oxidative stress (37, 38). These antioxidant properties have been attributed to the ability of these vegetable pigments to scavenge singlet oxygen and, to a lesser extent, inhibit lipid and protein oxidation reactions (39). Previous reports have found a protective effect of carotenoids against several chronic diseases, including cancer and cardiovascular diseases (3, 7, 40).

In the 1990s, an intervention study showed that dark-green leafy vegetables and carrots had no effect on the serum retinol concentration, which suggested that these foods were a poor source of vitamin A (41). However, a recent study, where intrinsically labeled carotenoids were used, showed that spinach and carrots can provide significant amounts of vitamin A in men and women (42). In the present study, the provitamin A carotenoids from the native bocaiuva pulp were more effective in improving vitamin A status than the pure  $\beta$ -carotene. These results suggest that bocaiuva fruit may be a very good source of provitamin A carotenoids. This fruit is largely consumed fresh or in a flour form, by the Brazilian savanna (cerrado) population, as candy, ice cream, and other regional plates. Thus, this fruit might contribute to the reduction of hypovitaminosis A incidence and combat the micronutrient deficiency in this region. However, it is always necessary to emphasize that in any animal model of study, including in the present one, the extrapolation of the results for the human organism should be taken with caution and needs confirmation.

#### ACKNOWLEDGMENT

We thank Mieko Kimura of Universidade Estadual de São Paulo, Brazil and José Antônio Braga Neto for technical support.

#### LITERATURE CITED

- (1) Underwood, B. A.; Arthur, P. The contribution of vitamin A in public health. *FASEB J.* **1996**, *10*, 1040–1048.
- (2) Lee, C. M.; Boileau, A. C.; Boileau, T. W.; Williams, A. W.; Swanson, K. S.; Heintz, K. A.; Erdman, J. W., Jr. Review of animal models in carotenoid research. *J. Nutr.* **1999**, *129*, 2271–2277.
- (3) Stahl, W.; Sies, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, *1740*, 101–107.
- (4) Ramalho, R. A.; Flores, H.; Saunders, C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de Saúde Pública. *Rev. Panam. Salud Publica* **2002**, *12*, 117–123.
- (5) DeMaeyer, E. M. The WHO programme of prevention and control of vitamin A deficiency, xerophthalmia, and nutritional blindness. *Nutr. Health* **1986**, *4*, 105–112.
- (6) PAHO (Pan American Health Organization). *Providing vitamin A supplements through immunization and other health contacts for children 0–59 months and women up to 6 weeks postpartum—A guide for health workers*, 2nd ed.; PAHO: Washington, DC, 2001; p 35.
- (7) Tapiero, H.; Townsend, D. M.; Tew, K. D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed. Pharmacother.* **2004**, *58*, 100–110.
- (8) Yeum, K. L.; Russel, R. M. Carotenoid bioavailability and conversion. *Annu. Rev. Nutr.* **2002**, *22*, 483–504.
- (9) Castenmiller, J. J. M.; West, C. E. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. *Annu. Rev. Nutr.* **1998**, *18*, 19–38.
- (10) Faulks, R. M.; Southon, S. Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, *1740*, 95–100.
- (11) De Pee, S.; West, C. E. Dietary carotenoids and their role in combating vitamin A deficiency, review of literature. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1996**, *50* (Suppl. 3), S38–S53.
- (12) Rodriguez-Amaya, D. B. Latin American food sources of carotenoids. *Arch. Latinoam. Nutr.* **1999**, *49* (Suppl. 1), 74–84.
- (13) Hiane, P. A.; Penteado, M. V. C. Carotenóides e valor de vitamina A do fruto e da farinha de bocaiuva (*Acrocomia mokayáya* Barb. Rodr.) do Estado de Mato Grosso do Sul. *Rev. Farm. Bioquim. Univ. Sao Paulo* **1989**, *25*, 158–168.
- (14) Hiane, P. A.; Ramos Filho, M. M.; Ramos, M. I. L.; Macedo, M. L. R. Bocaiuva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd, pulp and kernel oils: Characterization and fatty acid composition. *Braz. J. Food Technol.* **2005**, *3*, 56–59.

- (15) Furusko, T.; Kataoka, E.; Yasuhara, T.; Wada, M.; Masushide, S. Retinol equivalence of carotenoids can be evaluated by hepatic vitamin A content. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **2000**, *70*, 43–47.
- (16) Grolier, P.; Agoudavi, S.; Azais-Braesco, V. Comparative bioavailability of diet oil and emulsion-based preparations of vitamin A and  $\beta$ -carotene in rats. *Nutr. Res.* **1995**, *15*, 1507–1516.
- (17) Rodriguez-Amaya, D. B. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*; OMNI Research: Washington, DC, 1999; p 64.
- (18) Kimura, M.; Rodriguez-Amaya, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. *Food Chem.* **2002**, *78*, 389–398.
- (19) Graebner, I. T.; Siqueira, E. M. A.; Arruda, S. F.; Souza, E. M. T. Carotenoids from native Brazilian dark-green vegetables are bioavailable: A study in rats. *Nutr. Res.* **2004**, *24*, 671–679.
- (20) Reeves, P. G.; Nielsen, F. H.; Fahey, G. C., Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* **1993**, *123*, 1939–1951.
- (21) Tanumihardjo, S.; Penniston, K. L. Simplified methodology to determine breast milk retinol concentrations. *J. Lipid Res.* **2002**, *43*, 350–355.
- (22) Furr, H.; Tanumihardjo, S. A.; Olson, J. A. *Training Manual for Assessing Vitamin A Status by Use of the Modified Relative Dose-Response and the Relative Dose-Response Assays*; Office of Nutrition, Bureau for Research and Development, U.S. Agency for International Development: Washington, DC, 1992.
- (23) Zakaria-Rungkat, F.; Djaelani, M.; Setiana, R.; Nurrochmah, E. Carotenoid bioavailability of vegetables and carbohydrate-containing foods measured by retinol accumulation in rat livers. *J. Food Comp. Anal.* **2000**, *13*, 297–310.
- (24) Rodriguez-Amaya, D. B. Some considerations in generating carotenoids data for food composition table. *J. Food Comp. Anal.* **2000**, *13*, 641–647.
- (25) Siqueira, E. M. A.; Arruda, S. F.; Vargas, R. M.; Souza, E. M. T.  $\beta$ -Carotene from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves improves vitamin A status in rats. *Comp. Biochem. Physiol., C* **2007**, in press.
- (26) Tanumihardjo, S. A. Assessing vitamin A status: Past, present, and future. *J. Nutr.* **2004**, *134*, 290–293.
- (27) Howe, J. A.; Tanumihardjo, S. A. Carotenoid biofortified maize maintains adequate vitamin A status in Mongolian gerbils. *J. Nutr.* **2006**, *136*, 2562–2567.
- (28) Olson, J. A. Bioavailability of carotenoids. *Arch. Latinoam. Nutr.* **1999**, *49* (Suppl. 1), 26–33.
- (29) Parker, R. S.; Swanson, J. E.; You, C. S.; Edwards, A.; J.; Huang, T. Bioavailability of carotenoids in human subjects. *Proc. Nutr. Soc.* **1999**, *58*, 155–162.
- (30) van Het Hof, K. H.; West, C. E.; Weststrate, J. A.; Hautvast, J. G. A. J. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J. Nutr.* **2000**, *130*, 503–506.
- (31) van Het Hof, K. H.; de Boer, B. C. J.; Tijburg, L. B. M.; Lucius, B. R. H. M.; Zijp, I.; West, C. E.; Hautvast, J. G. A. J.; Weststrate, J. A. Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways from the carotenoid response in the triglyceride-rich lipoprotein fraction of plasma after a single consumption and in plasma after 4 days of consumption. *J. Nutr.* **2000**, *130*, 1189–1196.
- (32) Rock, C. L.; Lovalvo, J. L.; Emenhiser, C.; Ruffin, M. T.; Flatt, S. W.; Schwartz, S. J. Bioavailability of  $\beta$ -carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. *J. Nutr.* **1998**, *128*, 913–916.
- (33) Yuyama, L. K. O.; Yonekura, L.; Aguiar, J. P. L.; Souza, R. F. S. Biodisponibilidade dos carotenoídeos do buriti (*Mauritia flexuosa* L.) em ratos. *Acta Amazônica* **1998**, *28*, 409–415.
- (34) Yuyama, L. K. O.; Yonekura, L.; Aguiar, J. P. L.; Souza, R. F. S. Biodisponibilidade de vitamina A da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) em ratos. *Acta Amazônica* **1999**, *29*, 497–500.
- (35) Ribaya-Mercado, J. D.; Solon, F. S.; Solon, M. A.; Cabal-Barza, M. A.; Perfecto, C. S.; Tang, G.; Solon, J. A. A.; Fjeld, C. R.; Russel, R. M. Bioconversion of plant carotenoids to vitamin A in Filipino school-aged children varies inversely with vitamin A status. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, *72*, 455–465.
- (36) van Vliet, T.; van Vlissingen, M. F.; van Schaik, F.; van den Berg, H.  $\beta$ -Carotene adsorption and cleavage in rats is affected by the vitamin A concentration of the diet. *J. Nutr.* **1996**, *126*, 499–508.
- (37) Vaisman, N.; Haenen, G. R.; Zaruk, Y.; Verduyn, C.; Bindels, J. G.; Verlaan, S.; Meijer, E. P. Inter alia feeding enriched with carotenoids normalizes the carotenoid status and reduces oxidative stress in long-term internally fed patients. *Clin. Nutr.* **2006**, *25*, 897–905.
- (38) Arruda, S. F.; Souza, E. M.; Siqueira, E. Carotenoids from malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) leaves protect cells against oxidative stress in rats. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **2005**, *75*, 161–168.
- (39) Palace, V. P.; Khaper, N.; Qin, Q.; Singal, P. K. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radical Biol. Med.* **1999**, *26*, 746–761.
- (40) Dwyer, J. H.; Paul-Labrador, M. J.; Fan, J.; Shircore, A. M.; Merz, C. N.; Dwyer, K. M. Progression of carotid intima-media thickness and plasma antioxidants: The Los Angeles atherosclerosis study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2004**, *24*, 313–319.
- (41) De Pee, S.; West, C. E.; Muhilal, K. D.; Hautvast, J. G. A. J. Lack of improvement in vitamin A status with increased consumption of dark-green leafy vegetables. *Lancet* **1995**, *346*, 75–81.
- (42) Tang, G.; Qin, J.; Dolnikowski, G. G.; Russel, R. M.; Grusak, M. A. Spinach or carrots can supply significant amounts of vitamin A as assessed by feeding with intrinsically deuterated vegetables. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *82*, 821–828.

Received for review November 15, 2006. Revised manuscript received February 5, 2007. Accepted February 13, 2007.

JF063305R