

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE CAMPINAS**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA**

**VALÉRIA CRISTINA DOS SANTOS CAMARGO**

**AVALIAÇÃO IN VIVO DE RETINOL EM PRODUTOS  
(FARINHA E BOLO SEM GLÚTEN) ORIUNDOS DE  
BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas*) CULTIVAR  
BEAUREGARD BIOFORTIFICADA COM  
CAROTENOIDES**

**PUC-CAMPINAS**

**2018**

**VALÉRIA CRISTINA DOS SANTOS CAMARGO**

**AVALIAÇÃO IN VIVO DE RETINOL EM PRODUTOS  
(FARINHA E BOLO SEM GLÚTEN) ORIUNDOS DE  
BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas*) CULTIVAR  
BEAUREGARD BIOFORTIFICADA COM  
CAROTENOIDES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* Mestrado em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Vida – PUC-Campinas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Profa. Dra. Silvana Mariana Srebernich.

**CAMPINAS**

**2018**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada por Marluce Barbosa CRB 8/7313  
Sistema de Bibliotecas e Informação - SBI - PUC-Campinas

t612.399 Camargo, Valéria Cristina dos Santos.  
C172a Avaliação in vivo de retinol em produtos (farinha e bolo sem glúten) oriundos de batata-doce (*Ipomoea batatas*) cultivar Beauregard biofortificada com carotenoides / Valéria Cristina dos Santos Camargo. – Campinas: PUC-Campinas, 2018.  
174f.

Orientadora: Silvana Mariana Srebernick.  
Dissertação (mestrado) - Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Centro de Ciências da Vida, Pós-Graduação em Ciências da saúde. Inclui anexo e bibliografia.

1. Deficiência de vitamina A. 2. Avitaminose. 3. Carotenoides. 4. Batata-doce. 5. Biodisponibilidade. 6. Animais de laboratório. 7. Panificação. I. Srebernick, Silvana Mariana. II. Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Centro de Ciências da Vida. Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD – 22. Ed. t612.399

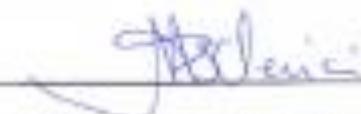
VALÉRIA CRISTINA DOS SANTOS CAMARGO

**AVALIAÇÃO IN VIVO DE RETINOL EM  
PRODUTOS (FARINHA E BOLO SEM GLÚTEN)  
ORIUNDOS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas*)  
CULTIVAR BEAUREGARD BIOFORTIFICADA  
COM CAROTENOIDES**

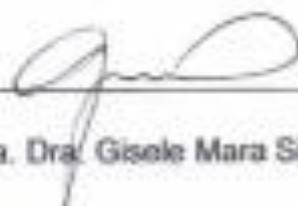
BANCA EXAMINADORA



Presidente Profa. Dra. Silvana Mariana Srebernick.



Profa. Dra. Maria Teresa Pedrosa Silva Clerici



Profa. Dra. Gisele Mara Silva Gonçalves

CAMPINAS

2018

A Deus, por não me abandonar nas dificuldades e por me fortalecer quando achava impossível continuar.

A minha amada mãe, Eni, razão da minha existência, exemplo de coragem, determinação e perseverança, por todo amor, apoio e dedicação ao longo de minha vida.

Ao meu amado pai, Antônio, por sempre ter acreditado em minha capacidade (*In Memoriam*).

A minhas amadas irmãs, Tânia, Mirian e Adriana pelo apoio, carinho e amizade incondicional.

Ao meu amado esposo, Márcio, por todo apoio, companheirismo e amor.

Aos meus amados sobrinhos Ana Carolina, Gustavo e Gabriel pela ajuda, carinho e pelo amor incondicional.

Aos meus cunhados André, Robson e Alexandre pela torcida, pelo carinho e amizade.

## **AGRADECIMENTOS**

À Pontifícia Universidade Católica de Campinas  
Pela oportunidade de aprendizado e crescimento.

À Profa. Silvana Mariana Srebernich  
Por todo conhecimento compartilhado.

À Sra. Julie Dutilh proprietária da Fazenda Pau D'Alho  
Pelo fornecimento da batata-doce utilizada para realização de testes e escolha de metodologias.

Ao Eng<sup>o</sup> Agrônomo Emerson Rogério Salviani da Fazenda Pau D'Alho  
Pela atenção e pelo conhecimento prático compartilhado.

A Dra. Marília Regini Nutti, Pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Coordenadora da Rede de Biofortificação de Alimentos para a Melhoria da Nutrição Humana no Brasil.

À Profa. Dra. Maria Tereza P. S. Clerici da Unicamp  
Por ter nos convidado a fazer parte do projeto de biofortificação.

À Michele Scarton da Unicamp  
Por ter me auxiliado com as metodologias necessárias para o desenvolvimento do projeto.

Ao Pesquisador MSc. Paulo Eduardo da Rocha Tavares do Ital  
Pelo auxílio com a metodologia de secagem.

Ao Marcelo Antônio Morgano - Ital  
Pelo auxílio com as análises.

À Kimie Alice Mizota Shiosawa da Unicamp  
Pela doação da embalagem para acomodação da farinha de batata-doce biofortificada.

Às alunas de IC Jéssica, Lais, Loihi e Nathália  
Por todo o auxílio e colaboração na realização dos testes.

Aos alunos do PIBIC Gabriela, Lucas e Luan

Pelo auxílio e colaboração na realização dos testes.

À Delma do biotério da Unicamp

Pelas informações e auxílio relativos à aquisição de Gerbils.

Aos professores Edmilson Ricardo Gonçalves e Júlia Laura Delbue Bernard

Pelas correções e sugestões proposta na qualificação.

Aos membros da banca examinadora Profa. Dra. Maria Teresa Pedrosa Silva Clerici e Profa. Dra. Gisele Mara Gonçalves

Por terem aceitado o convite para participar da banca e colaborar com este trabalho.

Ao Eng<sup>o</sup> Agrônomo Antônio César Bortoletto e Giovani Olegário da Silva da Embrapa

Pelo fornecimento das batatas-doces.

Ao Eng<sup>o</sup> Agrônomo Carlos Eduardo Garcia da IPM

Por gentilmente ter realizado o transporte das batatas de Santa Catarina até Campinas.

Ao pesquisador da Embrapa Giovani Olegário da Silva

Por toda a colaboração e conhecimento compartilhado.

A Empresa Biosys Ltda

Pela doação dos Kits da Chromsystems Diagnostics by HPLC & LC-MS / MS para a realização das análises de Vitamina A e por todo suporte técnico dado pela Rebeca Pereira.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Pedro Paulo Barros

Pelo auxílio com o Projeto encaminhado a CEUA, pela doação de materiais e pelo inestimável auxílio com a eutanásia.

Aos funcionários José Alves Correia e Rafaela Brandão Chiochetti

Pelo inestimável auxílio com a anestesia e eutanásia dos animais.

Ao funcionário José Mario Limongi

Por todo acompanhamento e auxílio com as análises de Vitamina A. Seu conhecimento e disponibilidade foi fundamental para o desenvolvimento das análises.

A Deborah Rodrigues Pinheiro

Por todo auxílio, conselhos e companheirismo.

A todos que colaboraram de forma direta ou indireta para a concretização desta etapa em minha vida. Tudo aquilo que plantamos iremos colher, desejo que toda ajuda, colaboração e ensinamento que plantaram comigo vocês possam colher em dobro.

“A natureza é o único livro que oferece um conteúdo valioso em todas as suas folhas.”

Johann Goethe

## RESUMO

CAMARGO, Valéria Cristina dos Santos. Avaliação in vivo de retinol em produtos (farinha e bolo sem glúten) oriundos de batata-doce (*Ipomoea batatas*) cultivar Beauregard biofortificada com carotenoides. 2018. 174f. Dissertação - Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu Mestrado em Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Campinas, 2018.

A batata-doce biofortificada e seus derivados, com maiores teores de carotenoides pró-vitamínicos A, foram desenvolvidos como modo alternativo e complementar as intervenções dietéticas voltadas ao combate da deficiência de vitamina A. A biodisponibilidade dos carotenoides pró-vitamínicos presentes nestes alimentos foi avaliada em Gerbils (*Meriones unguiculatus*), para se obter conhecimento se o nutriente ingerido ficará disponível ao organismo para o desempenho das funções a ele atribuídas. Foram utilizados 30 animais machos, com 35 a 41 dias de idade e peso corporal variando entre 50,94g (+/- 6,97). Durante quatro semanas os animais foram alimentados com dietas livre de vitamina A (SVA) a fim de induzir a deficiência marginal de vitamina A. Em seguida foi realizada a eutanásia de cinco animais e os demais foram distribuídos em quatro grupos, composto por cinco animais, que foram alimentados com dietas experimentais durante um período de quatro semanas. Sendo que receberam as seguintes dietas: G1: Dieta controle - AIN93G contendo 6 UI de Vitamina A; G2: Farinha de batata-doce biofortificada, G3: Bolo 1 (produzido com farinha de batata-doce) e G4: Bolo 2 (produzido com raízes *in natura*). Foi feito o controle diário de peso e consumo alimentar. Após quatro semanas de repleção o grupo 4 exibiu diferença significativa do grupo 1 ( $p < 0,001$ ) apresentando um maior consumo alimentar, e os demais grupos não diferiram entre si. Com relação ao ganho de peso os grupos 3 e 4 apresentaram um ganho maior quando comparados aos demais grupos, que apresentaram semelhança entre si. Os níveis de retinol plasmático de vitamina A não demonstraram diferença significativa entre os grupos que receberam as dietas controle e sem SVA (depleção). Entretanto, foi possível observar que os carotenoides pró-vitamínicos foram convertidos em vitamina A, ficando disponíveis ao organismo.

Demonstrando que a batata-doce biofortificada cv. Beauregard e seus derivados possuem potencial para serem utilizados no combate da deficiência de vitamina A.

Palavras-chave: Hipovitaminose A. Carotenoides. Batata-doce biofortificada. Biodisponibilidade de Vitamina A. Gerbil. Panificação.

# Sumário

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>22</b>
2.1	A fome e a deficiência de micronutrientes .....	22
2.1.1	Prevalência de hipovitaminose A.....	23
2.2	Vitamina A.....	25
2.3	Carotenoides.....	27
2.3.1	Estrutura e propriedades .....	29
2.3.2	Fatores de concentração e degradação de carotenoides.....	31
2.3.3	Funções e importância dos carotenoides .....	36
2.3.4	Principais fontes brasileiras de carotenoides .....	42
2.4	Segurança Alimentar.....	45
2.5	Programas de Combate à Deficiência de Micronutrientes .....	47
2.5.1	Suplementação.....	48
2.5.2	Fortificação de Alimentos .....	49
2.5.3	Biofortificação .....	51
2.6	Batata-doce.....	56
2.6.1	Botânica .....	58
2.6.2	Cultivo de Batata-doce .....	59
2.6.3	Composição Nutricional.....	61
2.6.4	Formas de utilização da batata-doce.....	62
2.6.5	Biofortificação da batata-doce como fonte de Provitamina A .....	64
2.6.6	Uso de farinha e demais produtos obtidos a partir da batata-doce biofortificada como fonte de Provitamina A .....	66
2.7	Agricultura Familiar .....	69
2.8	O papel da merenda escolar na prevenção da hipovitaminose A .....	71

2.9	Biodisponibilidade .....	73
2.9.1	Biodisponibilidade da vitamina A e carotenoides pró-vitamínicos A..	74
2.9.2	Fatores que afetam a biodisponibilidade de carotenoides pró-vitamínicos A .....	77
2.9.3	Métodos de avaliação da biodisponibilidade de carotenoides .....	80
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>82</b>
3.1	Objetivos específicos .....	82
<b>4</b>	<b>Material e Métodos</b> .....	<b>83</b>
4.1	Análise do Solo .....	83
4.2	Plantio e colheita.....	83
4.2.1	Obtenção da rama de batata-doce ( <i>Ipomoea batatas</i> ) cv. Beauregard	83
4.2.2	Preparo do solo, plantio e colheita .....	84
4.3	Processamento e obtenção de farinha de batata-doce biofortificada .....	85
4.3.1	Recepção e seleção das raízes .....	85
4.3.2	Amostragem .....	86
4.3.3	Lavagem e higienização.....	87
4.3.4	Escorrimento .....	87
4.3.5	Pesagem .....	87
4.3.6	Corte.....	88
4.3.7	Branqueamento.....	88
4.3.8	Secagem .....	89
4.3.9	Moagem .....	89
4.3.10	Empacotamento e Armazenamento.....	89
4.4	Rendimento.....	90
4.5	Granulometria .....	90
4.6	Preparo de bolos com batata-doce <i>in natura</i> e farinha de batata-doce biofortificada .....	90

4.6.1	Modo de preparo Bolo 1: Farinha de batata-doce .....	92
4.6.2	Modo de preparo Bolo 2: Batata-doce <i>in natura</i> .....	92
4.7	Composição Centesimal e Análise Físico-química da batata-doce <i>in natura</i> e seus derivados: farinha de batata-doce e bolos .....	93
4.7.1	Composição Centesimal.....	93
4.7.2	Análise físico-química.....	96
4.8	Valor Calórico .....	99
4.9	Quantificação de $\beta$ -caroteno da batata-doce <i>in natura</i> e seus derivados: farinha de batata-doce e bolos .....	100
4.10	Determinação do valor diário de referência (VD).....	100
4.11	Preparo das Rações .....	101
4.12	Ensaio Biológicos.....	102
4.12.1	Animais .....	102
4.12.2	Aclimação.....	102
4.12.3	Depleção .....	103
4.12.4	Repleção .....	103
4.12.5	Eutanásia e coleta de material biológico .....	104
4.12.6	Análise de vitamina A no soro/plasma e tecidos por HPLC .....	104
4.12.7	Biodisponibilidade de Vitamina A e cálculo do valor da atividade pró-vitamina A (APVA).....	107
4.12.8	Métodos de avaliação biológica .....	107
4.13	Análises Estatísticas.....	108
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>109</b>
5.1	Processamento da farinha de batata-doce biofortificada .....	109
5.1.1	Rendimento .....	109
5.1.2	Granulometria.....	109
5.2	Composição centesimal .....	110
5.2.1	Valores médios da composição centesimal.....	110

5.2.2	Comparação entre as amostras .....	112
5.3	Característica físico-química da batata-doce <i>in natura</i> e seus derivados: farinha e bolos .....	116
5.3.1	Valores médios das Características físico-químicas .....	116
5.3.2	Comparação entre as amostras .....	117
5.4	Quantificação de $\beta$ -caroteno .....	119
5.4.1	Comparação entre as amostras .....	120
5.5	Determinação do valor diário de referência (VD) .....	120
5.6	Formulação das Dietas experimentais .....	121
5.6.1	Depleção .....	121
5.6.2	Repleção .....	122
5.7	Análise de vitamina A no soro/plasma e tecidos por HPLC .....	123
5.7.1	Depleção .....	124
5.7.2	Repleção .....	125
5.8	Métodos de avaliação biológica .....	126
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>128</b>
6.1	Rendimento e granulometria da farinha de batata-doce biofortificada ...	128
6.1.1	Rendimento .....	128
6.1.2	Granulometria .....	129
6.2	Composição centesimal .....	130
6.2.1	Umidade .....	130
6.2.2	Carboidratos .....	132
6.2.3	Cinzas .....	133
6.2.4	Fibras .....	135
6.2.5	Lipídios .....	136
6.2.6	Proteína .....	137
6.3	Característica físico-química da batata-doce <i>in natura</i> e seus derivados: farinha e bolos .....	139

6.3.1	Acidez.....	139
6.3.2	Cor.....	140
6.3.3	Brix .....	142
6.3.4	pH.....	143
6.4	Valor calórico .....	144
6.5	Análise de $\beta$ -caroteno .....	146
6.6	Determinação do valor diário de referência (VD) .....	147
6.7	Biodisponibilidade .....	148
6.8	Métodos de avaliação biológica .....	150
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>153</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>154</b>
<b>9</b>	<b>ANEXO.....</b>	<b>173</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Mundialmente mais de um bilhão de pessoas ingere quantidades insuficientes de alimentos para suprir suas necessidades diárias básicas de energia e, destas, três milhões sofrem com os efeitos da deficiência de micronutrientes (fome oculta), sendo mulheres e crianças os mais vulneráveis (FAO, 2015). No Brasil, as principais deficiências nutricionais que acometem a população são a carência de vitamina A (hipovitaminose A) e de ferro (anemia) (GIORI, 2010).

A vitamina A (VA) é essencial para o bom funcionamento da visão, além de ser importante para fortalecimento do sistema imunológico, diferenciação e proliferação celular, integridade das barreiras celulares epiteliais, reprodução, crescimento, desenvolvimento e para a saúde esquelética (BERNI *et al.*, 2015; HOWE; TANUMIHARDJO, 2006). A deficiência dessa vitamina pré-dispõe os indivíduos a um maior risco de contrair doenças, ao atraso no crescimento e no desenvolvimento, maior vulnerabilidade a infecções, maior risco futuro de ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis e morte prematura (BRASIL, 2009).

No mundo, a deficiência de vitamina A (DVA) afeta 190 milhões de indivíduos, sendo que 40 milhões são crianças em idade pré-escolar, e destas 13,8 milhões apresentam sinais de danos oculares (xerofthalmia). Estima-se que, por ano, 250 a 500 mil crianças em idade pré-escolar tem perda parcial ou total da visão, e em poucos meses 2/3 vem a óbito após ficarem cegas (COZZOLINO, 2016).

A hipovitaminose A atinge principalmente populações carentes de países em desenvolvimento, que devido à falta de recursos financeiros reduzem ou eliminam o consumo de alimentos de origem animal (leite, ovos, fígado), fontes naturais de VA (GODOY, 1993), substituindo o seu consumo pela ingestão de alimentos de origem vegetal, mais acessíveis financeiramente (milho, arroz, feijão, mandioca, batata-doce, trigo), ricos em energia e proteínas (BERNI *et al.*, 2015; PIXLEY *et al.*, 2011). No entanto, alimentos de origem vegetal apresentam

compostos denominados carotenoides, que são convertidos em VA (Retinol) durante o processo digestivo (COZZOLINO, 2016).

Carotenoides são pigmentos amplamente distribuídos na natureza, produzidos por plantas e alguns microrganismos (bactérias, fungos e leveduras), responsáveis pelas cores de amarelo a laranja ou vermelho, de muitas frutas, hortaliças, gema de ovo, crustáceos e de alguns peixes. São substâncias bioativas, com efeitos benéficos à saúde, e embora sejam micronutrientes presentes em níveis muito baixos, estão entre os constituintes alimentícios mais importantes da alimentação do ser humano. Alguns são precursores de VA, sendo utilizados no combate à deficiência desta vitamina e responsáveis por atender cerca de 80% das necessidades de VA diária de um indivíduo (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). Além de precursor da VA, os carotenoides também desempenham outras funções biológicas, atuam no fortalecimento do sistema imunológico, na diminuição do risco de doenças degenerativas (doenças cardiovasculares, câncer), na prevenção da degeneração macular e formação de catarata (COLLINS, 2001).

No Brasil, estão sendo desenvolvidas estratégias preventivas que visam à redução da DVA. Essas estratégias incluem a administração de dose única de 60.000µg de acetato ou palmitato de retinol em óleo ou como comprimidos dispersáveis em água; a fortificação de alimentos, onde a vitamina A pode ser direcionada a uma variedade de alimentos; medidas de longa duração, que incentivam o consumo de vegetais verdes folhosos, frutas e vegetais amarelo-alaranjados e o encorajamento da horticultura, que é a produção doméstica de frutos ricos em carotenos alcalinos (BERNI *et al.*, 2015; COZZOLINO, 2016).

Apesar de eficazes, essas estratégias são onerosas e requerem investimentos contínuos. Mediante isso, está sendo introduzido um sistema integrado à agricultura, que visa a redução da desnutrição denominado biofortificação (PIXLEY *et al.*, 2011).

A biofortificação em melhoramento convencional, consiste na seleção e cruzamento de plantas da mesma espécie, com maior teor de nutrientes e melhores características agrônômicas, a partir do qual são obtidas culturas com

maior conteúdo nutricional de ferro, vitamina A, iodo e zinco (dependendo do alimento), denominadas biofortificadas. No Brasil a rede Biofort, coordenada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), juntamente com os programas AgroSalud e HarvestPlus, a partir de pesquisas realizadas, selecionou alimentos que compõem a base alimentar das populações carentes (arroz, feijão, batata-doce, mandioca, milho, feijão-caupi, trigo e abóbora), que são produzidos e consumidos regularmente, para participar do programa, visando o combate às deficiências nutricionais. O programa adota como estratégia o estímulo à produção de alimentos biofortificados, utilizando mecanismos de integração com os produtores rurais e a distribuição de sementes (CORNEJO *et al.*, 2011).

A introdução de produtos agrícolas biofortificados é uma ação complementar às intervenções existentes, que proporciona o acesso de populações carentes, com limitado acesso aos sistemas formais de mercado e de saúde, a alimentos mais nutritivos, de produção sustentável e de baixo custo. Esses alimentos poderão servir de veículo para suprir as necessidades nutricionais da população, em especial as crianças que são as mais afetadas (GRAHAM *et al.*, 2007; HARVESTPLUS, 2004). Assim, uma alternativa seria a utilização destes alimentos, de maior valor nutricional na alimentação escolar (NUNES *et al.*, 2011).

Dentre os alimentos selecionados está a batata-doce (*Ipomoea batatas* L.), espécie com elevado grau de rusticidade, de fácil manejo, adaptável a sistemas de baixo nível tecnológico como de pequenas propriedades voltadas à agricultura familiar, hortas escolares e comunitárias, que permite colheita prolongada e é de grande relevância na dieta de populações sujeitas à restrição alimentar, sendo, portanto, um bom meio para se melhorar a nutrição dessas pessoas.

Das variedades de batatas-doces testadas, o cultivar Beauregard foi a selecionada para participar do programa de biofortificação, devido ao seu conteúdo significativo de  $\beta$ -caroteno, que resultou em uma variedade com elevadas concentrações, cujo consumo regular pode ajudar a prevenir e combater a DVA (ALVES *et al.*, 2012; DO NASCIMENTO *et al.*, 2013).

A batata-doce biofortificada pode ser utilizada tanto *in natura*, como na forma de farinha e seus derivados, que possui maior tempo de prateleira. A produção de farinha de batata-doce a partir de raízes biofortificadas, com alto teor de  $\beta$ -caroteno, possibilita a elaboração de uma maior variedade de alimentos, pois pode substituir parcial ou integralmente a farinha de trigo na confecção de bolos, biscoitos e outros produtos utilizados na alimentação escolar e de apoio materno infantil, que também servirão de fonte de VA (CORNEJO *et al.*, 2011; MORO *et al.*, 2011).

A utilização da batata-doce biofortificada e seus derivados na alimentação escolar contribuiriam com a melhora da qualidade nutricional dos alimentos oferecidos, garantindo a qualidade e segurança nutricional e o fortalecimento da agricultura familiar. Um dos programas que pode contribuir para a adoção desses alimentos é o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), gerenciado pelo Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE), cuja meta é a melhoria das condições nutricionais; a contribuição para a aprendizagem e o rendimento escolar dos estudantes, bem como a formação de hábitos alimentares saudáveis (FNDE, 2009).

Entretanto, a adoção desses alimentos requer análises físico-químicas, testes de análise sensorial para verificar a aceitabilidade do produto e testes de biodisponibilidade com a finalidade de verificar a eficiência com que o nutriente é absorvido e convertido para sua forma ativa ou seja, como ele é utilizado sistematicamente através de vias metabólicas normais (TANUMIHARDJO, 2002).

A absorção do  $\beta$ -caroteno ou de qualquer outro nutriente é altamente variável e pode ser afetada por uma série de fatores. Portanto, mesmo com a biofortificação do alimento não é possível garantir que os nutrientes presentes estarão totalmente disponíveis ao organismo após a sua ingestão (CASTENMILLER; WEST, 1998; TANUMIHARDJO, 2002), sendo de fundamental importância obter o conhecimento desses impactos sobre a estabilidade e a biodisponibilidade dos carotenoides presentes nos alimentos biofortificados.

Existem várias metodologias que são utilizadas para verificar a biodisponibilidade de vitamina A, tais como resposta de quilomícron, células Caco-2, marcadores de isótopos e modelos animais. Os resultados obtidos para

resposta do quilomícron são altamente variáveis entre os sujeitos, o que limita o seu uso (PARKER *et al.*, 1999). A utilização de células Caco-2 não reflete a influência do fígado e dos outros órgãos que regulam a atividade de enzimas que podem causar alterações nos fatores de conversão (DURING; HARRISON, 2004; GARRETT; FAILLA; SARAMA, 1999). O método de marcadores de isótopos é o mais indicado, no entanto seu custo é muito alto e muitas vezes inviável, além da dificuldade de controle da dieta e dos níveis de VA (FURR *et al.*, 2004; KURILICH *et al.*, 2003). Uma alternativa é o uso de modelos animais apropriados, pois permite a medição direta dos níveis hepáticos de VA, que é considerado o melhor indicador do estado deste nutriente (LEE *et al.*, 1998; RIBAYA-MERCADO *et al.*, 1989).

Ratos e camundongos não são considerados modelo apropriado, devido ao fato de possuírem taxa de absorção de  $\beta$ -caroteno muito baixa (BARUA; OLSON, 2000). Estudos mostram que o Gerbil, também conhecido como Esquilo da Mongólia (*Meriones unguiculatus*), é um modelo apropriado para investigar a absorção, metabolismo e bioconversão de vitamina A, pois convertem o  $\beta$ -caroteno em vitamina A com eficiência semelhante aos humanos (LEE *et al.*, 1998, 1999). Os Gerbils conseguem absorver o  $\beta$ -caroteno intacto em doses fisiológicas e acumula  $\beta$ -caroteno no fígado, baço, rins, glândulas suprarrenais, tecido adiposo e nos pulmões (HOUSE; APGAR; SMITH, 1997) e quando o  $\beta$ -caroteno é removido da dieta, esses estoques são rapidamente esgotados (THATCHER; LEE; ERDMAN, 1998).

Até o momento não foram encontrados no Brasil, estudos realizados com animais que comprovem que a provitamina A presente na batata-doce biofortificada depois de ingerida ficará biodisponível, e se a sua ingestão poderá ajudar a suprir a carência desse micronutriente. Mediante isso, o objetivo deste trabalho foi utilizar modelos animais para avaliar a biodisponibilidade de carotenoides pró-vitamínicos A presentes em batata-doce biofortificada e seus derivados, a fim de conhecer a eficiência da sua conversão em vitamina A e sua potencialidade no combate e na prevenção a DVA.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 A fome e a deficiência de micronutrientes**

A fome afeta mais de 842 milhões de pessoas ao redor do mundo e continua a ser um dos mais importantes e difíceis desafios do século XXI (FAO, 2013).

Pouco mais de 1 bilhão de pessoas não ingere quantidades de alimentos suficientes para suprir suas necessidades básicas de energia diária e muitas vezes, mesmo ingerindo alimentos em quantidade, a ingestão de vitaminas e minerais é insuficiente, ocasionando a deficiência de micronutrientes (Ferro, zinco e vitamina A), também conhecida como fome oculta (FAO, 2010).

O consumo adequado, em quantidade e qualidade dos micronutrientes essenciais, por meio da alimentação, proporciona uma gestação saudável, o bom desenvolvimento físico, mental e o aprendizado das crianças, a capacidade de trabalho dos adultos, maior resistência às doenças e melhor qualidade de vida de todas as pessoas (OLIVEIRA, 2009). Já a ingestão inadequada pode ocasionar graves impactos no desenvolvimento infantil, pois crianças com baixo peso ao nascer tem comprometimento do seu desenvolvimento físico e mental, e também da sua imunidade, ficando mais suscetíveis a doenças (LOPES, 2011).

Nas últimas décadas foram desenvolvidas ações com o intuito de conscientizar formadores de opinião, governos e organizações de pesquisa, a investir no aumento da densidade nutricional dos alimentos e conseqüentemente na melhora da qualidade das dietas, em especial nos países menos desenvolvidos onde problemas de desnutrição são mais acentuados. Apesar destes esforços a desnutrição continua sendo uma emergência em boa parte do mundo, sendo as crianças, as mães, as lactantes e os idosos, os principais atingidos (FAO, 2015).

### 2.1.1 Prevalência de hipovitaminose A

Em Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (PNDS) realizada em 2006 (BRASIL, 2009), foi possível verificar os principais problemas nutricionais apresentados por crianças com idade inferior a cinco anos. Das crianças que participaram do estudo 20,9% apresentaram anemia, 17,4% hipovitaminose A, 7,4% excesso de peso, 6,8% déficit de altura e 1,6% déficit de peso.

Embora a vitamina A tenha sido descoberta há mais de um século, atualmente a sua deficiência ainda representa um grande desafio à segurança alimentar e nutricional (BERNI, 2014). Em mais de 60 países a deficiência deste micronutriente constitui um problema grave, sendo mais acentuada nos países em desenvolvimento. Na África, Sudeste da Ásia, e nas Américas, a prevalência de hipovitaminose A é de aproximadamente 20%, se destacando como um dos principais problemas nutricionais por atingir grande parte da população (MOURA *et al.*, 2009). Estima-se que um terço da população mundial corre o risco de desenvolver sintomas clínicos relacionados à deficiência de vitamina A, e mesmo quando não há evidência clínica da deficiência, ela pode influenciar no crescimento, saúde e sobrevivência de crianças (PEREIRA, 1997).

Segundo dados obtidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS), 9,75 milhões de gestantes apresentaram sintomas de cegueira noturna e 19,1 milhões estão com baixos níveis de retinol sérico, isso também ocorre com 40 milhões de crianças em idade pré-escolar, sendo, portanto estes os principais afetados. Criança em idade pré-escolar necessita de uma alimentação que atenda às suas necessidades diárias, pois a qualidade alimentar é importante para o amadurecimento das estruturas neurológicas que favorecem o processo de aprendizagem (FAO, 2009).

No Brasil, é comum crianças chegarem à escola com problemas de desnutrição crônica (NISKIER, 1990). A OMS e a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) classificaram o Brasil como área de carência subclínica grave de vitamina A. Em revisão realizada por Geraldo *et al.* (2003), foi constatado que a hipovitaminose A constitui um dos principais problemas de carência nutricional

com impacto na saúde pública em diversas regiões brasileiras. Este estudo demonstra que deficiências séricas de VA são as mais prevalentes, e quando em estado avançado pode causar cegueira parcial ou total. A hipovitaminose A também está associada a maior prevalência de infecções, mortalidade, retardo de crescimento, queratinização dos epitélios e comprometimento do sistema imune (BRASIL, 2009). De acordo com a Iniciativa Micronutriente (MI - Micronutriente Initiative) e a Fundo das Nações Unidas (UNICEF) para a Infância, aproximadamente 40% das crianças de países em desenvolvimento com idade inferior a cinco anos, tem o seu sistema imune comprometido devido a DVA, contribuindo com a morte de cerca de um milhão de crianças a cada ano (DE AZEVEDO PAIVA *et al.*, 2006).

Tal revisão corrobora com os resultados obtidos pelo PNDS, 2006, onde foram encontrados níveis séricos baixos de vitamina A em 17,4% das crianças abaixo de cinco anos, sendo que as maiores prevalências foram encontradas na região Nordeste (19,0%) e Sudeste (21,6%), apresentando diferenças estatisticamente significantes quando comparadas as demais regiões do país, (10,7%) Norte, (11,8%) Centro-Oeste e (9,9%) Sul. Segundo a WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), prevalências de hipovitaminose A (<0,70  $\mu\text{mol/L}$ ) entre 10 e 20% são consideradas problemas de saúde pública. Quando atinge 20% ou mais da população é considerada grave; mais de 10% é considerada moderada e menos que 10% é considerada leve. Portanto de acordo com os dados acima apresentados a única região brasileira que se apresenta na faixa de baixa prevalência é a Sul (9,9%), e mesmo assim muito próxima de atingir a faixa de 10% (BRASIL, 2009).

A hipovitaminose A é uma doença carencial que aparece principalmente em áreas com menores Índices de Desenvolvimento Humano (IDH), em situações de insegurança alimentar onde o acesso a alimentos nutritivos é restrito e em locais onde a população vive em condições sanitárias pouco satisfatórias (RONCADA, 1972). As regiões nordeste e sudeste, que apresentam a maior prevalência do país, confirmam esses dados, pois são regiões onde a base alimentar não atende as necessidades proteico/calórica e não possuem quantidades suficientes de pró-vitâmicos A para satisfazer as necessidades diárias da população (BERNI, 2014).

A OMS e a UNICEF consideram que o combate à hipovitaminose A pode ocorrer a partir do aumento do consumo de frutos e hortaliças ricas em carotenoides ou pelo consumo de alimentos enriquecidos, que tenham baixo custo e boa aceitação cultural (FERRAZ; DANELUSSI; VANNUCCHI, 2000). O Brasil possui grande variedade de alimentos ricos em carotenoides que fazem parte da matriz alimentar das populações mais carentes (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). Mediante isso são necessárias políticas públicas que viabilizem o consumo desses alimentos, ajudando a população a atingir a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitamina A e a suprir suas necessidades básicas.

## 2.2 Vitamina A

Em 1913 foi descoberto por Mc Collum e Davis, a existência de VA nos alimentos e, em 1967 George Wald descobriu sua importância para os processos fisiológicos e químicos da visão (BERNI, 2014).

Vitamina A é um termo genérico utilizado para todos os retinóides com estrutura cíclica da  $\beta$ -ionona, que são: retinol todo-trans, retinal, éster de retinila e o ácido retinóico. É um micronutriente de extrema importância para o ser humano, essencial para o bom funcionamento da visão (como grupo prostético dos pigmentos visuais e como carreador manosil). A VA faz parte dos pigmentos visuais de cones (visão das cores em luminosidade intensa) e bastonetes (visão no escuro e em baixa luminosidade), que ficam situados na retina, porção dos olhos sensível à luz; é importante para o crescimento e desenvolvimento infantil (está relacionada a diversos processos fisiológicos, tais como secreção noturna do hormônio de crescimento); para o sistema imunológico (integra diferentes ciclos metabólicos na manutenção do sistema imunológico e na prevenção e recuperação de doenças infecciosas); para a diferenciação e proliferação celular (participa no desenvolvimento de tecidos e órgãos, agindo como hormônio no núcleo, controlando essas ações); para a manutenção de mucosas saudáveis e integridade dos tecidos epiteliais (cobertura interna do corpo, que reveste alguns órgãos como nariz, garganta, boca, olhos, estômago); para a reprodução (é de

vital importância para a expressão gênica, tem ação nos testículos, útero e no desenvolvimento do embrião e feto na gestação) e para a saúde óssea (necessária para o desenvolvimento normal dos ossos) (COZZOLINO, 2016).

A deficiência prolongada dessa vitamina pode causar xeroftalmia (está envolvida na síntese de regiões hidrofóbicas de glicoproteínas, e a deficiência pode comprometer essa função, ocasionando redução na secreção de mucina e conseqüentemente, levando a "liquefação" da córnea), podendo evoluir a um quadro de cegueira irreversível, sendo responsável direta ou indiretamente pela cegueira em milhares de crianças no mundo (SOUZA; BOAS; DA COSTA, 2002). Estima-se que a cada ano, 500 milhões de pessoas ficam cegas devido a essa deficiência. Além das alterações oculares que podem levar a cegueira, pode causar a degeneração testicular (estéril), queratinização do epitélio do útero, afetar o desenvolvimento da placenta, o crescimento e desenvolvimento cognitivo em crianças (COZZOLINO, 2016) e contribuir para o aumento da incidência de morbidades e mortalidade por infecções em gestantes, puérperas, recém-nascidos e menores de 5 anos. Para esse grupo (materno-infantil) a carência de VA representa um grave risco, por ser um grupo que requer grande demanda nutricional para o seu desenvolvimento e rápido crescimento (BERNI, 2014).

A ingestão das doses diárias recomendadas da vitamina pode evitar a sua deficiência. O valor diário de ingestão é definido como a quantidade mínima de um determinado nutriente necessária para atender as funções fisiológicas dos indivíduos e varia de acordo com o critério usado para determinar sua adequação. Fatores como fase de crescimento, sexo, exposição a doenças e condições externas podem influenciar nessa determinação, podendo diferir de um país para outro (PEREIRA, 1997; SOUZA; BOAS; DA COSTA, 2002).

Nos Estados Unidos recomenda-se aos adultos a ingestão mínima de 500 a 600 µg de retinol/dia (COMMITTEE ON DIETARY ALLOWANCES, FOOD AND NUTRITION BOARD, NATIONAL RESEARCH COUNCIL, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1980), sendo esse valor considerado suficiente para garantir uma concentração sanguínea adequada e para prevenir sintomas de deficiência, enquanto que a Food and Agriculture Organization (FAO) e a OMS, recomendam que os adultos ingiram 750µg de retinol. No Brasil é recomendada a

ingestão de 600 µg de retinol para adultos, para Lactente: 0-6 meses – 375µg de retinol/d; 7-11 meses – 400µg de retinol/d e para crianças: 1-3 anos – 400µg de retinol/d; 4-6 anos – 450µg de retinol/d; 7-10 anos – 500µg de retinol/d (ANVISA, 2005). Essas são as quantidades mínimas necessárias, mas para assegurar reservas hepáticas é necessária uma ingestão maior.

Assim, uma alimentação saudável e equilibrada é a melhor maneira de garantir uma boa nutrição, pois viabiliza o acesso à quantidade e qualidade adequada de nutrientes, entre eles VA (OLIVEIRA, 2009). Porém, a VA pode ser encontrada apenas em alimentos de origem animal, que devido ao custo, são alimentos muitas vezes inacessíveis a boa parte da população, principalmente a população carente, ficando a obtenção deste micronutriente restrita ao consumo de alimentos de origem vegetal, ricos em carotenoides pró-vitamínicos A (PEREIRA, 1997).

### 2.3 Carotenoides

Carotenoides são pigmentos lipossolúveis naturais, biossintetizados por plantas, algas, fungos, leveduras e bactérias. Nas plantas, podem ser encontrados em raízes, sementes, frutas, flores, vegetais e em tecidos fotossintetizadores, associados à clorofila (SICILIANO *et al.*, 2011). Os animais são incapazes de biossintetizar carotenoides, dependendo, portanto da alimentação para sua obtenção (PEREIRA, 1997). Quando ingeridos, os carotenoides podem se converter em VA através do processo de digestão, ou podem ser absorvidos intactos e depositados em vários tecidos orgânicos, como pele, gordura, leite e sangue (SOUZA; BOAS; DA COSTA, 2002).

Os carotenoides apresentam-se em maior concentração e variedade nos vegetais, onde são encontrados em todos os tecidos fotossintéticos, junto às clorofilas e em tecidos vegetais não fotossintéticos como componentes dos cromoplastos. O desaparecimento das clorofilas, que quando presentes mascaram a cor de outros pigmentos, promove o amadurecimento dos frutos e o envelhecimento dos vegetais. Em frutas não maduras, durante o processo de

amadurecimento, os cloroplastos geralmente se transformam em cromoplastos e estimulam a síntese de novos carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Estão entre os pigmentos mais abundantes na natureza, com uma estimativa de produção de 100 milhões de toneladas por ano. As propriedades físico-químicas, funções e ações dos carotenoides estão intimamente ligadas às suas estruturas. O sistema de duplas ligações conjugadas presente em suas estruturas, confere a capacidade de absorver luz na região visível e, conseqüentemente o seu poder corante, responsável pelas cores amarelas, alaranjadas e vermelhas em frutas e vegetais. Essa é uma propriedade de importância tecnológica, uma vez que a cor é um dos atributos que mais influência na aceitação de alimentos (NASCIMENTO, 2006).

Seus efeitos benéficos à saúde tem despertado o interesse da comunidade científica em todo o mundo, pois além do poder corante, algumas funções e ações biológicas lhes são atribuídas, sendo a função fisiológica de atividade pró-vitamina A, a mais conhecida (NASCIMENTO, 2006). Nos países em desenvolvimento, produtos de origem animal (fontes de VA pré-formada) não são economicamente acessíveis a grande parte da população, e alimentos com atividade provitamina A são a principal fonte de VA da população. No entanto, das mais de 600 estruturas caracterizadas, cerca de 50, possuem a habilidade de serem precursores da VA, sendo o  $\beta$ -caroteno o mais ativo (SAINI; NILE; PARK, 2015; SICILIANO *et al.*, 2011).

Dietas ricas em carotenoides foram associadas a uma menor incidência de certos tipos de câncer, degeneração macular e formação de catarata (NASCIMENTO, 2006); já dietas pobres em carotenoides estão associadas à xeroftalmia (cegueira noturna), ulceração da córnea e cegueira irreversível, além de um aumento da mortalidade devido à baixa imunidade. Os carotenoides são importantes para o fortalecimento do sistema imunológico, além de apresentar atividade antioxidante e auxiliar na diminuição do risco de doenças degenerativas como doenças cardiovasculares, e serem importantes na comunicação intercelular. Outro fator importante, é que a ingestão de provitamina

A tem a vantagem desta ser bioconvertida pelo organismo apenas quando há carência, evitando-se assim a hipervitaminose (SAINI; NILE; PARK, 2015).

Os carotenoides são compostos versáteis, que por possuírem ampla distribuição na natureza, estrutura química diversa e funções variadas, que além de serem utilizados no combate a DVA, podem ser utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica, em cosméticos (PEREIRA, 1997).

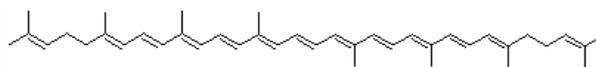
### 2.3.1 Estrutura e propriedades

A estrutura básica dos carotenoides alimentares é de um tetraterpeno ( $C_{40}$ ), usualmente composta pela união "cabeça-cauda" de oito unidades isoprenóides ( $C_5H_8$ ), cujos grupos metilas estão separados por cinco carbonos, exceto na posição central onde a junção ocorre no sentido "cauda-cauda", e os grupos metilas estão separados por seis carbonos, invertendo assim a ordem e resultando em uma molécula assimétrica (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

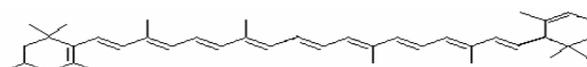
Essa estrutura pode ser modificada de diversas formas, as quais incluem hidrogenação, desidrogenação, ciclização, migração de dupla ligação, encurtamento ou extensão da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de substituintes ou combinações de processos, dando origem nas mais de 600 estruturas naturais isoladas e caracterizadas. Dessas, cerca de cem carotenoides, tem sido relatados em alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Existem dois grupos de carotenoides: as xantofilas, que contém oxigênio com funções químicas oxigenadas (luteína e zeaxantina) e os carotenos, compostos apenas por carbono e hidrogênio ( $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e o licopeno). As xantofilas apresentam geralmente como substituintes oxigenados grupamentos hidroxila ( $\beta$ -criptoxantina), cetona (astaxantina), epóxi (violoxantina), ácido (bixina) e aldeído (b-citrauro) que altera a polaridade dos carotenoides, afetando suas funções biológicas. Os carotenos podem ser acíclicos (como o

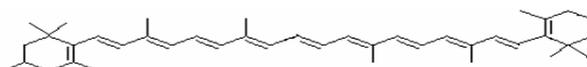
licopeno), monocíclicos (como o  $\gamma$ -caroteno) ou bicíclicos (como o  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno) (BERNI, 2014) (Figura 1).



Licopeno



$\alpha$ -caroteno



$\beta$ -caroteno

**Figura 1.** Estrutura de carotenoides acíclicos e bicíclicos.

Suas propriedades físico-químicas, funções e ações estão fortemente ligadas às suas estruturas.

A característica de maior destaque é seu extenso sistema de duplas ligações conjugadas, que constituem o sistema cromóforo, responsável por suas propriedades e funções tão especiais (atividade biológica, antioxidante). O cromóforo de um carotenoide determina a absorção de luz, e confere as suas atraentes cores e ação fotoprotetora. A cor surge quando um cromóforo absorve comprimentos de onda de luz visível e transmite ou reflete outros (SAINI; NILE; PARK, 2015). Para que um carotenoide seja colorido são necessárias pelo menos sete duplas ligações conjugadas e à medida que o sistema conjugado se estende, a cor também se intensifica, o licopeno por exemplo, possui onze duplas ligações conjugadas, conferindo a coloração vermelha ao tomate. Já a ciclização, faz com que as duplas ligações que se encontram dentro dos anéis, fiquem fora do plano daquelas da cadeia poliênica, diminuindo a sua coloração, como por exemplo o  $\gamma$ -

caroteno que possui uma dupla ligação conjugada localizada no anel, apresentando a cor laranja-avermelhado, e o  $\beta$ -caroteno, com duas destas ligações em anéis, apresentando cor laranja, embora ambos tenham onze duplas ligações conjugadas como o licopeno (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

Em plantas, os carotenoides podem ser encontrados na forma livre ou esterificadas com ácidos. A esterificação não altera as propriedades do cromóforo, ela modifica as propriedades químicas e biológicas mudando seu ambiente imediato. Esta propriedade depende do tipo de ácido ligado à molécula do carotenoide. A esterificação facilita o armazenamento do carotenoide, auxiliando na integração destas moléculas lipofílicas com os plastos, glóbulos ricos em lipídios, sendo o mecanismo biológico natural para triacilgliceróis, lipídios não saturados e outros materiais sensíveis à compostos da fotoxidação (SAINI; NILE; PARK, 2015). Os carotenoides com poucas exceções são lipofílicos e, portanto, insolúveis em água (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Na natureza existem predominantemente na forma *trans*, que é a mais estável, mas também podem ser encontradas pequenas quantidades de isômeros *cis* (BERNI, 2014). A presença de isômeros *cis* em fontes naturais tem sido cada vez mais relatada, pois as plantas são capazes de sintetizar carotenoides novamente, ocorrendo na composição de carotenoides de alimentos vegetais a presença de traços ou pequenas quantidades de precursores biossintéticos, juntamente com os principais componentes (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

### 2.3.2 Fatores de concentração e degradação de carotenoides

São diversos os fatores que influenciam na concentração e degradação dos carotenoides. O conteúdo e os tipos de carotenoides presentes nos alimentos dependem de diversos fatores como cultivar/variedade, fase de maturidade, condições climáticas, local geográfico da produção, condições durante a produção

agrícola, método de cultivo, manejo pós-colheita, processamento e armazenamento (UCHÔA *et al.*, 2016).

As diferenças entre cultivares de um mesmo alimento podem ser tanto qualitativas, como quantitativas ou apenas quantitativas. O teor médio de  $\beta$ -caroteno de cultivares de batata-doce, por exemplo, varia de 10 a 26,600 $\mu$ g/100g (UCHÔA *et al.*, 2016). Além disso, partes diferentes da mesma planta podem conter tipos e quantidades diferentes de carotenoides, por exemplo, a maioria das frutas e vegetais possui maior concentração de carotenoides na casca do que na polpa (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008), exceto frutas com coloração cor de rosa, tais como a goiaba, em que o carotenoide tem maior concentração na polpa (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

O estágio de maturidade também afeta a composição de carotenoides. A maturação em vegetais e o amadurecimento em frutas proporciona um aumento da carotenogênese, pois à medida que a clorofila se decompõe os cloroplastos são transformados em cromoplastos. Folhas jovens e maduras possuem carotenoides qualitativos, mas com diferentes concentrações. Por exemplo, folhas de alface aumentam de três a quatro vezes os níveis de carotenoides durante a maturação. Em frutos, ocorre um aumento de número e quantidade durante a maturação (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). Já em frutas que mantem a sua cor quando maduram, por exemplo, o Kiwi, as concentrações de carotenoides diminuem com a maturação. Portanto, a maturação promove grandes variações nos níveis de carotenoides (aumentar ou diminuir), pois a biossíntese de carotenoides ocorre ao longo de toda a vida útil, podendo continuar mesmo após a colheita enquanto a fruta ou o vegetal permanecer intacto (UCHÔA *et al.*, 2016).

As condições climáticas são muito importantes nas concentrações de carotenoides. Locais com temperatura elevada e maior exposição à luz solar promovem um aumento da carotenogênese nas frutas. Assim, frutas de um mesmo cultivar, quando produzidas em regiões quentes (favorecem a biossíntese de carotenoides) apresentam maior teor de carotenoide que as produzidas em regiões de clima temperado (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

Devido ao alto conteúdo de água e baixa resistência a danos mecânicos, frutas e vegetais são bastante perecíveis. A fim de garantir sua estabilidade, fazer com que permaneçam disponíveis o ano todo, inclusive ao alcance de regiões distante do local de produção, torna-se necessária a utilização de técnicas de processamento e estocagem dos alimentos (NASCIMENTO, 2006). No entanto, o processamento e estocagem dos alimentos ocasionam a degradação de carotenoides (isomerização, oxidação e apoxidação) devido a sua estrutura altamente insaturada (SAINI; NILE; PARK, 2015), sendo necessária a aplicação de boas práticas em ambos os processos, que visem à redução da degradação e, ao mesmo tempo, acentuem a biodisponibilidade (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Alguns fatores contribuem para o aumento da degradação de carotenoides durante o processamento e a estocagem de alimentos, tais como: o descascamento, a destruição da estrutura celular dos alimentos, aumento da área superficial, aumento da porosidade, período ou severidade das condições de processamento, tempo e temperatura de estocagem, exposição à luz e permeabilidade da embalagem ao oxigênio. Portanto, os métodos de embalagem e processamento possuem grandes influencia no teor de carotenoides presente em produtos alimentares processados (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

Os carotenoides se encontram naturalmente protegidos no tecido vegetal. O corte e a trituração de frutas e hortaliças durante o processamento promove a liberação de enzimas que catalisam a oxidação, e aumentam a exposição dos carotenoides ao oxigênio. A oxidação pode ser enzimática e não enzimática, depende da disponibilidade de oxigênio e da estrutura química do carotenoide, podendo ser estimulada pela luz, calor, metais, enzimas, lipídeos, podendo ser inibida por antioxidantes (ALVES *et al.*, 2012). Caracteristicamente, a perda por oxidação enzimática ocorre rapidamente durante as etapas de preparo da matéria-prima, logo após a ruptura das estruturas celulares, antes do tratamento térmico, e a não enzimática, ocorre em alimentos processados. Mas, seja ela enzimática ou não, é a principal causa de perda ou destruição de carotenoides durante o processamento ou a estocagem (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008; UCHÔA *et al.*, 2016).

A isomerização de *trans* para *cis* carotenoides, ocorre em condições de pH baixo, a partir da liberação de ácidos orgânicos provocada pelo corte, fatiamento, ralagem ou trituração (embora ocorra em maior extensão durante o tratamento térmico e exposição à luz), diminui a cor, e reduz a potencialidade como precursor vitamínico A. Geralmente não na mesma extensão que a oxidação (ALVES *et al.*, 2012).

A formação de epóxidos e apocarotenoides (carotenoide com esqueleto de carbono reduzido) é o estágio inicial da oxidação, as fragmentações subsequentes produzem compostos com baixo peso molecular, semelhantes aos produzidos na oxidação de ácidos graxos. Com isso, ocorre a perda total de cor e da atividade biológica conhecida (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

A remoção da casca e a elaboração de sucos promovem perdas substanciais de carotenoides ultrapassando as perdas que ocorrem durante o tratamento térmico. O tempo e a temperatura do método de processamento influenciam na retenção de carotenoides, havendo uma maior retenção em temperaturas e tempos de tratamentos térmico reduzidos, entre o tempo transcorrido do descasque, cortes ou homogeneização e o aquecimento ou consumo (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Das técnicas existentes de conservação de alimentos, a secagem é uma das mais utilizadas. Esta técnica está embasada na redução da disponibilidade de água, tanto para o desenvolvimento de microrganismos quanto para reações químicas deteriorativas. É uma técnica simples que permite a obtenção de produtos com maior tempo de prateleira, com menores custos de acondicionamento, armazenamento e transporte, devido à redução do volume (NASCIMENTO, 2006).

Em todos os métodos disponíveis utilizados no processamento de frutas e vegetais haverá a degradação significativa de carotenoides, mas nos métodos que envolvem processos térmicos (secagem por calor), são maiores que as que utilizam processos não térmicos (alta pressão, campo elétrico pulsado, secagem por ultrassom) (SAINI; NILE; PARK, 2015). Pois, quando ocorre o processamento térmico nota-se uma maior presença de isômeros *cis*

comparados aos isômeros *trans*. Isso proporciona uma redução da atividade pró-vitamínica em produtos alimentícios processados, tendo em vista que os isômeros *cis* dos carotenoides exibem menor atividade pró-vitamínica quando comparados aos isômeros *trans* (CASTENMILLER; WEST, 1998).

Existem métodos mais avançados de processamento que reduzem a perda de carotenoides, como a liofilização, mas que não são utilizados em países em desenvolvimento devido ao custo de execução (SAINI; NILE; PARK, 2015). Devido a isso, métodos de processamento não térmico estão surgindo e no futuro podem desempenhar importante papel na preservação de compostos bioativos (NASCIMENTO, 2006).

A estabilidade dos carotenoides depende da matriz alimentar e difere de alimento para alimento, mesmo quando o processamento ou a estocagem são realizados nas mesmas condições. Pelo fato da oxidação enzimática ocorrer antes do processamento térmico, ou seja, durante o descascamento, fatiamento, trituração ou despulpamento, recomenda-se a utilização de técnicas que reduzam a perda de carotenoides ou que os produtos sejam consumidos imediatamente após essas operações. O branqueamento e o congelamento são técnicas empregadas com o intuito de reduzir a degradação de carotenoides. O branqueamento inativa enzimas oxidativas, prevenindo perdas durante o tempo de espera entre o preparo da matéria prima e o processamento térmico, durante o processamento lento e durante a estocagem de material não processado; e o congelamento, de um modo geral preserva os carotenoides, no entanto, o descongelamento lento pode ser prejudicial se o branqueamento não for adequadamente executado (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Além destas técnicas, o emprego de antioxidantes (naturais ou sintéticos), a sulfitação e a adoção de práticas que excluem o oxigênio (o acondicionamento a vácuo ou a quente, a utilização de embalagens impermeáveis ao oxigênio ou a aplicação de atmosferas inertes), que realizam a proteção contra a luz e o armazenamento dos produtos em baixas temperaturas, são todas práticas que evitam consideravelmente a degradação dos carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

### 2.3.3 Funções e importância dos carotenoides

São diversas as funções desempenhadas pelos carotenoides, importantes tanto para as plantas, quanto para a dieta e saúde humana. Além de precursores de vitamina A, possui atividade antioxidante e de desativação de radicais livres, o que propicia um menor desenvolvimento de doenças degenerativas, tais como o câncer, doenças cardiovasculares, cataratas, proteção da mucosa contra úlceras gástricas e aumento da resposta imunológica a determinados tipos de infecção (BERNI, 2014). Suas principais funções serão abordadas a seguir.

#### 2.3.3.1 Para as plantas

Nos vegetais superiores, possuem a função de proteger o cloroplasto (impede a fotossensitização das clorofilas evitando assim a destruição dos cloroplastos); de atrativo visual para insetos, animais polinizadores e dispersores de sementes; e de proteger o vegetal da ação de microrganismos invasores (fitoalexina) (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

#### 2.3.3.2 Para a indústria

Existe grande interesse tecnológico pela cor dos alimentos. A cor está relacionada a qualidades que transmitem um conceito de frescor, saúde e prontidão aos consumidores, havendo assim uma maior aceitação por parte dos consumidores que compra ou não um determinado produto em primeira instância pela aparência visual (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

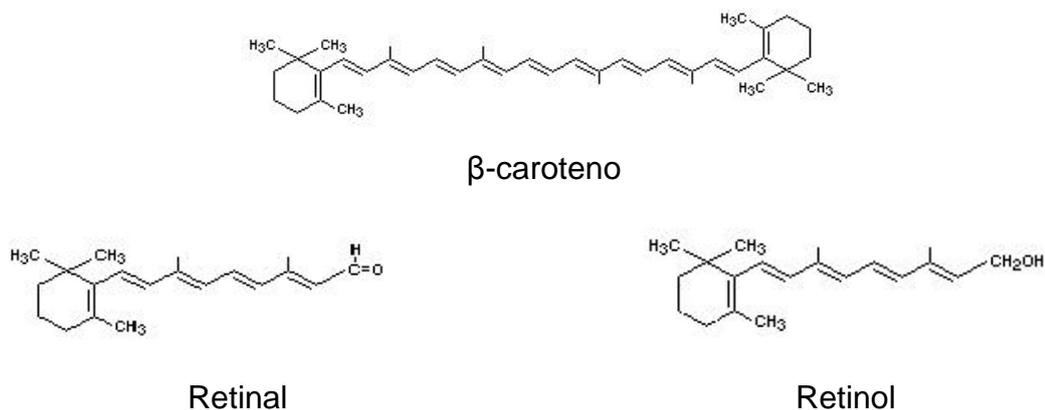
Os alimentos são coloridos tecnologicamente devido ao fato de não possuírem coloração natural suficiente, em razão da destruição ou alteração dos pigmentos causada pelo processamento ou estocagem, por variações sazonais

ou geográficas. O  $\beta$ -caroteno é um dos pigmentos responsável pela cor de diversos produtos, incluindo manteiga, queijo, certos grãos de cereais, buriti e azeite de dendê (PEREIRA, 1997).

#### 2.3.3.3 Atividade Provitamina A

São diversas as funções dos carotenoides na dieta e saúde humana. Uma das mais estudadas é a sua atividade pró-vitáminica A. Alguns carotenoides presentes nos alimentos podem ser convertidos em vitamina A, mas das mais de 600 estruturas descritas de carotenoides, apenas 50 são precursores da VA. Para atuar como provitamina o carotenoide depende de sua conversibilidade para retinol e da presença de um anel  $\beta$ -ionona não substituído na molécula, ligado a uma cadeia lateral poliênica conjugada de no mínimo onze carbonos (NASCIMENTO, 2006). Carotenoides acíclicos, desprovidos de anéis  $\beta$ -ionona, e as xantofilas, em que os anéis  $\beta$ -ionona tem hidróxi, epóxi e carbonilo substituinte, não possuem atividade pró-vitáminica A (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

O  $\beta$ -caroteno é considerado o carotenoide com maior potencial pró-vitáminico. A proporção do  $\beta$ -caroteno alimentar reduzido a retinol varia de acordo com a ingestão e com a espécie animal. A bioconversão envolve a hidrólise de carotenos no intestino para produzir vitamina na forma de retinal. São propostos dois mecanismos de conversão dos carotenoides pró-vitáminicos A em VA, através de clivagem central (mecanismo principal), onde o carotenoide é dividido ao meio, dando origem a molécula de retinal que, posteriormente é transformada em retinol (Figura 2) e através da clivagem excêntrica, onde são retirados segmentos de uma das extremidades da molécula do carotenoide, dando origem a apocarotenoides e eventualmente retinal (BERNI, 2014).



**Figura 2.** Transformação de  $\beta$ -caroteno em vitamina A

Estruturalmente, a vitamina A (retinol) é essencialmente uma metade da molécula de  $\beta$ -caroteno com a adição de uma molécula de água na extremidade do polietileno lateral da cadeia. Portanto, o  $\beta$ -caroteno dá origem a duas moléculas de retinol, sendo a mais potente provitamina A, à qual é atribuída 100% de atividade. Enquanto que o  $\gamma$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -zeacaroteno,  $\beta$ -criptoxantina e  $\alpha$ -criptoxantina, todos os quais com um anel não substituído, dão origem a uma molécula de retinol, apresentando metade da bioatividade do  $\beta$ -caroteno, ou seja, 50% de atividade (BERNI, 2014).

A atividade vitamínica A em alimentos é corretamente expressa em equivalentes de retinol. No qual, um equivalente de retinol é definido como 1 $\mu$ g de trans retinol, 6 $\mu$ g de todo trans  $\beta$ -caroteno ou 12 $\mu$ g de quaisquer outros carotenoides pró-vitamínicos A (SAINI; NILE; PARK, 2015).

O fato de ser precursor de vitamina A, torna os carotenoides extremamente importantes na nutrição humana (CORNEJO *et al.*, 2011), pois são a principal fonte de VA de populações carentes, com acesso restrito a alimentos de origem animal. No entanto, embora sejam amplamente encontrados em frutas, legumes e verduras, a quantidade e a variedade do consumo de carotenoides ainda são muito baixas. De acordo com Berni *et. al.* (2015) e dados divulgados pela Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009, a baixa ingestão de carotenoides ocorre em todo o país, principalmente nas populações rurais e nas

populações com baixo IDH, que priorizam uma alimentação que seja rica em alimentos calóricos, de baixo custo e fácil cultivo (arroz, feijão, trigo, mandioca, batata-doce, milho e os derivados desses produtos), e geralmente estes alimentos não possuem as quantidades necessárias de carotenoides pró-vitamínicos que satisfaçam suas necessidades diárias de vitamina A, ficando abaixo dos valores considerados seguros. A ingestão de carotenoides é um dos indicadores de uma alimentação saudável, pois dietas ricas em carotenoides, que supra a IDR - Ingestão Diária Recomendada de VA, auxiliam no combate a DVA e propicia diversos benefícios à saúde (MOURA *et al.*, 2009), tornando a sua baixa ingestão preocupante do ponto de vista de saúde pública.

Os demais carotenoides como a luteína, zeaxantina e o licopeno, que não possuem atividade pró-vitáminica A, atuam como compostos bioativos, que possuem outras funções fisiológicas (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

#### 2.3.3.4 Atividade relacionada à visão

A catarata e a degeneração macular associadas à idade, são doenças comuns em todo mundo. O consumo de carotenoides específicos pode auxiliar na redução dessas doenças, atuando na extinção de espécies de oxigênio ativo.

A luteína e a zeaxantina, estão presentes na mácula dos olhos e são responsáveis pela proteção dos danos induzidos pela luz, eliminando os radicais formados nos fotorreceptores, atuando como antioxidante e como filtro da luz azul de alta energia (SAINI; NILE; PARK, 2015).

De acordo com estudos realizados, a ingestão destes carotenoides na dieta mostrou um risco de catarata em homens abaixo de 19%, cuja cirurgia de extração é uma das mais realizada em idosos. O consumo também reduz o risco de degeneração macular, que é uma das principais causas da perda da visão do idoso (NASCIMENTO, 2006).

Assim, o aumento do consumo de frutas e hortaliças ricas em carotenoides (luteína e zeaxantina), pode aumentar seus níveis na mácula dos

olhos ou no sangue e auxiliar na redução e prevenção do risco de doenças relacionadas à visão (NASCIMENTO, 2006).

### 2.3.3.5 Atividade antioxidante e pró-oxidante

Antioxidantes exógenos são vitaminas, minerais e fitoquímicos que atuam retardando ou inibindo o início ou a propagação das reações de oxidação em cadeia. A ingestão de alimentos como frutas e hortaliças, especialmente as folhosas verde escuras e as amarelas alaranjadas, como a batata-doce de polpa alaranjada (RAMOS *et al.*, 2009), ricas nestes compostos, que possui atividade antioxidante, contribui na prevenção de doenças crônico-degenerativas, tais como: doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e hipertensão (PIEADADE *et al.*, 2011).

A atividade antioxidante dos carotenoides, ocorre mediante a capacidade de sequestrar o oxigênio singleto devido ao seu extenso sistema de duplas ligações conjugadas (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). Os carotenoides que possuem nove ou mais duplas ligações apresentam maior proteção. Mas, embora o  $\beta$ -caroteno tenha onze duplas ligações conjugadas como o licopeno, foi constatado que o licopeno sendo acíclico, é mais eficiente que o  $\beta$ -caroteno que é dicíclico (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; OTHERS, 2004).

Existem duas formas do carotenoide efetuar o sequestro do oxigênio singleto: por transferência física da energia de excitação do oxigênio singleto para o carotenoide, que dá origem ao carotenoides tripleto, e possui a capacidade de retornar ao estado não excitado após dissipar o seu excesso de energia como calor, ou por meio de uma reação química entre o oxigênio singleto e o carotenoide, que promove a destruição irreversível do carotenoide (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

O aumento da incidência de câncer de pulmão em fumantes e trabalhadores expostos ao amianto, mesmo com o consumo de altas doses suplementares de  $\beta$ -caroteno, fez com que fosse levada em consideração a

possibilidade desse carotenoide manifestar algum efeito pró-oxidante. A passagem de antioxidante para pró-oxidante depende do potencial redox da molécula e do seu ambiente biológico, vários fatores poderiam influenciar a atividade pró-oxidante, tais como a pressão parcial de oxigênio, a concentração do carotenoide e a interação com outros antioxidantes (PALOZZA, 1998). No entanto, estudos posteriores não encontraram evidência direta que comprovasse a hipótese de que os carotenoides pudessem se comportar como pró-oxidantes dentro de um sistema biológico (YOUNG; LOWE, 2001)

Posteriormente, foi possível verificar que a ação pró-oxidante pode ter ocorrido devido a altas doses de  $\beta$ -caroteno administradas (20-30mg), muito maiores que os níveis recomendados de ingestão diária (aproximadamente 4mg), outro fator é que o  $\beta$ -caroteno poderia agir em conjunto com os demais carotenoides presentes nas dietas oferecidas e demais constituintes alimentícios. Além disso, os participantes do estudo que apresentaram aumento na incidência de câncer eram fumantes excessivos ou pessoas com longo histórico de exposição ao amianto (cancerígeno conhecido), podendo o processo de estresse oxidativo e/ou câncer estar em um estágio avançado no qual o carotenoide não seria mais efetivo (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Estudos mostram que dieta rica em produtos de tomate ajudam na redução da sensibilidade de lipoproteínas a danos oxidativos do DNA do leucócito e danos oxidativos nos tecidos da próstata em pacientes com diagnóstico de câncer de próstata, comprovando a atividade antioxidante do carotenoide e a sua eficácia no tratamento e prevenção do câncer de próstata (NASCIMENTO, 2006).

#### 2.3.3.6 Carotenoides, doenças cardiovasculares e câncer

Estudos comprovam que a ingestão de carotenoides contribui para reduzir a incidência de câncer e de doenças cardiovasculares (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Além da atividade antioxidante, da desativação de radicais livres, foram descobertos outros mecanismos de ação dos carotenoides contra doenças

crônicas, tais como a modulação do metabolismo de substâncias cancerígenas, inibição da proliferação celular, realce da diferenciação celular, estimulação da comunicação intercelular e a filtragem da luz azul (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001).

O licopeno tem recebido grande atenção, pois a sua ingestão está associada à prevenção do câncer de pulmão, esôfago e próstata e doenças cardiovasculares (NASCIMENTO, 2006). No entanto, tem sido dada ênfase maior na sua ação contra o câncer de próstata, pois participa de diferentes mecanismos que levam a redução da proliferação de células epiteliais normais e cancerosas da próstata, redução do dano no DNA e melhora a defesa contra estresse oxidativo. Também foi relatado o efeito benéfico da ingestão do licopeno na diminuição do câncer de mama (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Estudos epidemiológicos que correlacionaram o consumo de carotenoides (especialmente o  $\beta$ -caroteno) e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Estudos demonstraram que o baixo licopeno sérico está relacionado ao aumento do risco de ocorrência de arteriosclerose vascular em homens de meia idade, evidenciando seu potencial preventivo (NASCIMENTO, 2006).

#### 2.3.4 Principais fontes brasileiras de carotenoides

Alimentos ricos em VA pré-formada na forma ativa são os de origem animal, sendo as fontes mais ricas o fígado, ovos e leite e seus derivados. Mas, devido ao custo elevado destes alimentos, em países em desenvolvimento a VA é obtida através de carotenoides pró-vitamínicos A metabolizada de alimentos de origem vegetal. Diferentemente de países desenvolvidos, que possui uma maior oferta de produtos cárneos e produtos enriquecidos com VA, ficando o consumo de carotenoides responsável pelo provimento de 35% de retinol da dieta. Assim, para os países em desenvolvimento alimentos de origem vegetal fonte de

carotenoides pró-vitâmicos A são de grande importância para a saúde pública (SOUZA; BOAS; DA COSTA, 2002).

O Brasil, devido ao seu extenso território, é um país que possui uma variedade extraordinária de alimentos ricos em carotenoides, em especial nas áreas tropicais e subtropicais, onde o clima promove a biossíntese de carotenoides. Essa grande diversidade e os altos teores encontrados nas fontes, o tornam um dos países mais rico do mundo em recursos de carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Os principais carotenoides com efeitos benéficos à saúde são o  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina. O tipo e a disponibilidade de carotenoides em frutas e vegetais variam consideravelmente, sendo que o carotenoide encontrado em maiores concentrações é o  $\beta$ -caroteno, mas também podem ser encontrados conteúdos significativos de  $\alpha$ -caroteno (SAINI; NILE; PARK, 2015).

As principais fontes brasileiras de  $\beta$ -caroteno são: o buriti (360  $\mu\text{g/g}$ ), batata-doce variedade Acadian e Centennial (218 e 149 $\mu\text{g/g}$ , respectivamente), abóbora variedade Baianinha (150  $\mu\text{g/g}$ ), caruru (110  $\mu\text{g/g}$ ) e tucumã (107  $\mu\text{g/g}$ ), além da cenoura, outras variedades de abóbora no estado maduro (Menina Verde e Goianinha), bocaiúva e verduras nativas como a taioba, serralha e mentruz (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Frutos nativos da Amazônia, buriti (*Mauritia vinifera*), Mamey (*Mammea americana*), Marimari (*Geoffroia striata*), Pessegueiro Palma (*Bactris gasipaes*), Physalis (*Physalis angulata*) e Tucumã (*Astrocaryum aculeatum*), possuem uma grande diversidade de carotenoides. Esses carotenoides foram quantificados e foi encontrado um total de 60 tipos, sendo que o  $\beta$ -caroteno foi o principal carotenoide encontrado em todos os frutos e o teor de carotenoides variou de 38  $\mu\text{g/g}$  em Marimaria 360  $\mu\text{g/g}$  em Buriti (SAINI; NILE; PARK, 2015).

Frutas palmáceas como o buriti, tucumã, bocaiúva, bacuri e umari (mari) são ricas fontes de  $\beta$ -caroteno. Os lipídeos presentes na dieta estimulam a absorção intestinal dos carotenoides, mediante isso, frutas palmáceas apresentam a vantagem adicional de possuírem elevada biodisponibilidade destes

compostos. O buriti é o alimento que possui a maior concentração conhecida de  $\beta$ -caroteno dentre os alimentos brasileiros analisados, e também possui quantidades substanciais de  $\alpha$ -caroteno e  $\gamma$ -caroteno, além de zeaxantina. Frutas não palmáceas tais como, melão de polpa amarela e a acerola, altamente rica em vitamina C, também são fontes de  $\beta$ -caroteno. Embora presente em baixos níveis, nas frutas caju amarelo e vermelho, nêspera e marolo o  $\beta$ -caroteno é o principal carotenoide (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Em muitos países, especialmente na África, a batata-doce é uma importante fonte de  $\beta$ -caroteno. Já no Brasil, não é muito consumida e as variedades comercializadas, possuem baixo conteúdo de carotenoides. A mandioca, que é um alimento amplamente consumido no Brasil, também contém níveis muito baixos de  $\beta$ -caroteno. Outra raiz que apresenta baixos níveis de  $\beta$ -caroteno é a mandioquinha-salsa (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Conteúdos significativos de  $\alpha$ -caroteno, que algumas vezes acompanha o  $\beta$ -caroteno, geralmente em concentrações menores, pode ser encontrada no buriti, na cenoura, em algumas variedades de abóbora e no azeite de dendê vermelho (SOUZA; BOAS; DA COSTA, 2002).

A pró-vitamina A,  $\beta$ -criptoxantina, é o principal carotenoide de muitas frutas de polpa alaranjada, tais como a pitanga (49  $\mu\text{g/g}$ ), cajá (16 $\mu\text{g/g}$ ), mamão (9,7 $\mu\text{g/g}$ ), nectarina, laranja, pêsego e tamarilho (tomate arbóreo) (NASCIMENTO, 2006).

O licopeno considerado como o carotenoide com maior poder antioxidante, está presente em elevadas quantidades na pitanga, goiaba vermelha, mamão Tailândia, melancia e tomate (72  $\mu\text{g/g}$ , 66  $\mu\text{g/g}$ , 40  $\mu\text{g/g}$ , 36  $\mu\text{g/g}$  e 35  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente) (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Vegetais verdes folhosos, como a rúcula (76  $\mu\text{g/g}$ ), espinafre (68  $\mu\text{g/g}$ ), almeirão (57  $\mu\text{g/g}$ ) e agrião (56  $\mu\text{g/g}$ ), além de conter  $\beta$ -caroteno, são as mais importantes fontes de luteína. A luteína também está presente em altas

concentrações nas pétalas comestíveis da flor do nastúrtio ou capuchinha (NASCIMENTO, 2006).

O buriti, a abóbora moranga, o pequi e o milho apresentam quantidades significativas de zeaxantina, que juntamente com a luteína desempenha importante papel na prevenção da degeneração macular e da formação de catarata (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

## 2.4 Segurança Alimentar

De acordo com o Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA), a segurança alimentar e nutricional da população consiste no direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos com qualidade e em quantidades suficientes. Para assegurar esse direito são promovidas práticas alimentares que além de ter por objetivo a promoção da saúde, devem respeitar a diversidade cultural e não pode comprometer o acesso a outras necessidades essenciais (SILVA, 2007).

A segurança alimentar, está relacionada a uma boa nutrição, onde os indivíduos possuem uma alimentação equilibrada, através da ingestão de alimentos em quantidade e qualidade necessárias para o bom funcionamento de seu corpo, não havendo nem reservas e nem a deficiência de micronutrientes. Isso não ocorre com a população em estado de insegurança alimentar, que muitas vezes não tem acesso a determinado nutriente devido a questões relativas ao custo da aquisição, hábitos e educação alimentar (SILVA, 2007).

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em pesquisa nacional por amostra de domicílios desenvolvida em 2002/2003, realizou a classificação da população com relação à segurança alimentar. Nessa pesquisa os indivíduos foram considerados em situações de insegurança alimentar moderada ou grave, de acordo com a ausência de recursos dos moradores para a aquisição de alimentos, caracterizada pela limitação de acesso quantitativo aos alimentos, com ou sem o convívio com a situação de fome. No entanto, os dados obtidos retratam a fome e os problemas inerentes a ela, mas não dimensionam a

aspectos ligados a má alimentação, tais como o consumo exagerado de alimentos calóricos, e as deficiências de vitaminas e minerais causadores de grandes prejuízos à saúde.

Os dados obtidos mostram que 65,2% dos 52 milhões de domicílios brasileiros, se encontram em segurança alimentar (com acesso a alimentos em quantidade e qualidade), e os demais 34,8% em situação de insegurança alimentar. Destes, 12,3% apresentam insegurança alimentar moderada e 6,5% insegurança alimentar grave. A região brasileira que apresenta os piores índices de insegurança alimentar é a nordeste, com 46,4% dos domicílios em estado de insegurança alimentar, e destes 12,4% considerados como submetidos à insegurança alimentar grave (SILVA, 2007).

Para que o indivíduo obtenha segurança alimentar, é necessário que tenha acesso a todos os nutrientes indispensáveis ao bom funcionamento fisiológico do organismo, sendo imprescindível uma alimentação diversificada. São diversos os fatores que não permitem o acesso de populações carentes a uma alimentação diversificada, tais como: a) falta de água para irrigação nas propriedades rurais ou em hortas urbanas; b) indisposição ou falta de mão-de-obra na família para cultivar hortas domésticas; c) falta do conhecimento das técnicas de plantio; d) falta de conscientização e educação alimentar; e) priorização pelo volume de comida em detrimento da qualidade; f) perdas pela dificuldade de armazenamento doméstico com refrigeração; g) indisponibilidade dos produtos diversificados para a venda; h) custo; i) hábitos alimentares; j) questões culturais. Esses fatores, fazem com que a população baseie sua alimentação quase que exclusivamente em mandioca, arroz, milho e feijão, e mesmo que tenham alimento em quantidade, não possuem uma alimentação de qualidade, ocasionando deficiências nutricionais e se encontrando em estado de insegurança alimentar (SILVA, 2007).

O governo tem dispensado esforços, criando programas de educação alimentar, suplementação com medicamentos e de fortificação de alimentos, cujo intuito é o equilíbrio e a garantia de uma alimentação saudável destas populações. No entanto, são programas que necessitam de investimentos e acompanhamento constantes, e a maioria da população carente não tem acesso,

em especial as famílias que produzem seu próprio alimento. Recentemente está sendo implantado no Brasil, o programa de biofortificação de alimentos cuja ação irá complementar os programas existentes e auxiliará no combate à insegurança alimentar (SILVA, 2007).

## 2.5 Programas de Combate à Deficiência de Micronutrientes

Mesmo com as mudanças observadas no quadro epidemiológico desde a década de sessenta do século XX, ainda é possível observar a prevalência de deficiências de micronutrientes, tais como: vitamina A, ferro, ácido fólico e iodo. Estas deficiências constituem as principais preocupações das políticas públicas na área de nutrição e alimentação (DE AZEVEDO PAIVA *et al.*, 2006).

No Brasil, as principais deficiências nutricionais são a carência de vitamina A (hipovitaminose A) e ferro (Anemia) (COZZOLINO, 2016). Na década de 1980 foram definidos alguns parâmetros para o combate à hipovitaminose A pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pelo Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF), que ainda podem ser aplicados nos dias atuais (BRASIL, 2009).

Os parâmetros para o combate a Hipovitaminose A se dividiram em longo, médio e de curto prazo. Longo prazo: propor mudança dos hábitos alimentares da população, com o acréscimo na dieta de alimentos ricos em vitamina A. A introdução seria realizada através de educação nutricional, do estímulo ao cultivo de hortas caseiras e estímulo ao aleitamento. Recentemente, com a possibilidade da introdução de alimentos biofortificados na dieta básica da população, não será necessária a mudança dos hábitos alimentares, mas sim do incentivo a adoção por parte dos agricultores e da população desses alimentos, com maiores teores nutricionais e ótimas características agronômicas. Médio prazo: promover o enriquecimento de determinados alimentos com vitamina A, sendo necessário a escolha de alimentos com baixo custo, boa aceitação, que mantenha o sabor apropriado mesmo após o enriquecimento e que seja consumido em quantidades adequadas a fim de evitar problemas de toxicidade.

Curto prazo: realizar a cada 6 meses, a suplementação de VA na forma de cápsulas gelatinosas de 200.000 UI de VA (SOUZA; BOAS; DA COSTA, 2002).

São várias as estratégias utilizadas para prevenir a deficiência de vitamina A, todas possuem suas próprias qualidades e limitações, mas eficazes quando realizadas de forma complementar. Essas estratégias incluem a suplementação de VA (geralmente administradas na forma de cápsulas), a fortificação dos alimentos, estímulo ao plantio e consumo de fontes de VA ou outro recurso para a melhoria da alimentação consumida e recentemente a biofortificação de alimentos (BRASIL, 2002).

### 2.5.1 Suplementação

A suplementação consiste na aplicação de grandes doses de vitamina A, na forma líquida, nas concentrações de 100.000 UI e 200.000 UI, diluídas em óleo de soja e acrescida de vitamina E, que pode ser voltada para toda a população, ou direcionada para grupos específicos (BRASIL, 2002).

No Brasil, a portaria do Ministério da Saúde nº 729, de 13 de Maio de 2005, que institui o programa nacional de suplementação de vitamina A, com o intuito de prevenir e/ou controlar essa deficiência nutricional, destina-se às crianças de seis meses a quatro anos de idade e puérperas no pós-parto imediato, pertencentes à Região Nordeste, ao Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais, ao Vale do Ribeira em São Paulo e nas demais regiões, identificadas por meio de pesquisa científica com evidências direta ou indireta. A população selecionada faz parte de regiões com dificuldade no acesso a alimentos fontes de vitamina A, devido à seca e alto índice de pobreza da população (BRASIL, 2002).

Para a implantação do programa de suplementação foi levado em consideração: a prevalência da DVA em crianças menores de cinco anos (particularmente nas regiões e segmentos mais carentes da população do Brasil); a sua significativa influência no quadro de morbimortalidade materno-infantil, estando comprovadamente ligado ao surgimento de manifestações oculares e ao comprometimento do sistema imunológico (a suplementação em crianças de seis

meses a cinco anos reduz as taxas de mortalidade infantil em 23% nas regiões de risco); ao fato de as puérperas no pós-parto imediato necessitarem de repor suas reservas corporais e dispor de quantidades suficientes de VA no leite materno para atender às necessidades da criança amamentada; e que o governo brasileiro assumiu, junto às Nações Unidas, o compromisso de controlar a DVA e suas consequências, em curto espaço de tempo (BRASIL, 2002).

No entanto, é uma estratégia de prevenção a curto prazo, imediata e pontual, sendo necessário ação complementar que vise a melhora da dieta desta população a longo prazo (SOUZA; BOAS; DA COSTA, 2002), viabilizando a inserção deste micronutriente em sua alimentação.

### 2.5.2 Fortificação de Alimentos

A alimentação é o melhor meio de obter os índices diários recomendados de energia e nutrientes necessários para o atendimento das demandas nutricionais. No entanto, a utilização de recursos tecnológicos, como a fortificação ou enriquecimento de alimentos, tem sido uma das estratégias mais indicadas quando o objetivo é evitar situações que podem resultar num dano social elevado, como a carência de iodo, de vitamina A, de ferro, entre outros (SILVA, 2007).

De acordo com a Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) de 1978 (Resolução nº 12/46) alimento enriquecido é: "todo alimento ao qual for adicionada substância nutriente, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo, seja repondo quantitativamente os nutrientes destituídos durante o processamento do alimento, seja suplementando-os com nutrientes em nível superior ao seu conteúdo normal". Esta suplementação deve obedecer a uma relação entre o consumo médio diário recomendado e a necessidade diária recomendada desse nutriente. O enriquecimento de vitamina A, pode ser feito com o retinol ou outra substância com ação pró-vitáminica A (PEREIRA, 1997).

Deve conter no rótulo do alimento o valor total da vitamina que contém, expressa em Unidades Internacionais (UI) por 100g ou 100mL do alimento. O

rótulo deve conter a expressão "Enriquecido de vitaminas" ou "vitaminado". No caso do alimento enriquecido de vitamina A fornecer, na porção média diária, quando preparado ou utilizado conforme indicação no rótulo, o teor de 1.200 UI de vitamina A, não é permitido utilizar, expressões tais como "excelente fonte de vitamina" ou "ótima fonte de vitamina" (PEREIRA, 1997).

Existem três formas de aumentar o conteúdo nutritivo de um alimento: a restauração, que corresponde à adição de nutrientes a um alimento com a finalidade de compensar perdas ocorridas durante o processamento e estocagem; a fortificação, que é a adição de nutrientes a um alimento em níveis superiores ao encontrado normalmente e o enriquecimento, que é a adição de nutrientes que não estão presentes naturalmente no alimento (PEREIRA, 1997).

Para que a fortificação seja viável, é necessário encontrar um veículo adequado. É considerado como veículo ideal o alimento que possui as seguintes características: tecnicamente fortificável; amplamente consumido pela população alvo, em quantidades que trariam benefícios à dieta; produto com pouca variação de consumo entre os indivíduos; não apresente alterações em suas características sensoriais após a adição da vitamina A e a fortificação ser economicamente viável em escala industrial. Também é importante que a adição de nutrientes, não crie desequilíbrio entre os nutrientes essenciais; o nutriente adicionado deve ser estável quando exposto ao processamento, preparo e estocagem; deve ser fisiologicamente disponível no alimento e no caso de ingestão em excesso deve permitir razoável segurança contra o risco de toxidez (PEREIRA, 1997).

A vantagem da fortificação está no fato de atingir uma grande quantidade de pessoas em um curto espaço de tempo, não ser necessária a mudança de hábitos alimentares e apresentar baixo risco de toxicidade; no entanto, há dificuldades que estão relacionadas a problemas de viabilização da adição do nutriente ao alimento, em relação à quantidade, compatibilidade e preservação; quantidade consumida do alimento fortificado, a distribuição e o custo (SILVA, 2007).

Produtos fortificados com carotenoides ou retinol pela indústria têm demonstrado resultados positivos. No Brasil, foi realizado um estudo sobre os

possíveis efeitos da vitamina A hidromissível no retinol sérico de crianças alimentadas com leite desengordurado, e os resultados obtidos, somados a outros fatores, subsidiaram a portaria do Ministério da Saúde, que tornou obrigatório a adição de VA ao leite em pó desnatado (FILHO, 2009).

Em países onde a ciência, tecnologia e distribuição dos alimentos são avançadas, as estratégias de fortificação de alimentos têm produzido resultados positivos, tanto econômico quanto de melhoria pública. No entanto, em países em desenvolvimento, onde a maioria da população vive em regiões com infraestrutura de mercado insuficiente, muitas vezes até inexistente, o acesso aos alimentos fortificados fica comprometido, sendo necessárias medidas complementares, tais como recentemente a introdução da biofortificação de alimentos. A biofortificação representa um novo e importante papel, no qual o sistema produtivo gera cultivares mais nutritivos, de consumo regional, favorecendo a disponibilização do nutriente sem alterar a dieta da população (SILVA, 2007).

### 2.5.3 Biofortificação

O combate à desnutrição em países em desenvolvimento tem sido feito através de suplementos vitamínicos e minerais para mulheres grávidas e crianças, através da fortificação de alimentos e mais recentemente (2002) está sendo introduzida a biofortificação de alimentos como um programa complementar e alternativo. A biofortificação consiste no desenvolvimento de alimentos naturais com maior teor de nutrientes, que seja capaz de suprir a necessidade diária da população quando inserido em sua dieta (SILVA, 2007).

Os alimentos biofortificados são obtidos a partir do melhoramento genético convencional, que consiste na seleção no campo das cultivares mais promissoras, com melhores características agronômicas (produtividade, resistência à seca, pragas e doenças) e maior conteúdo de nutrientes e encaminhamento para a etapa de melhoramento. Na etapa de melhoramento genético convencional, que não é transgenia, pois não há incorporação de genes de outro organismo ao genoma da planta; ocorre o cruzamento entre as plantas

selecionadas (da mesma espécie) até a obtenção de uma cultivar mais nutritiva (com maior teor de ferro, zinco,  $\beta$ -caroteno), com boas qualidades agronômicas, e boa aceitação de mercado (NUTTI, 2009).

Técnicas de melhoramento genético já são aplicadas há certo tempo, mas passaram a ter legitimidade quando as deficiências de micronutrientes foram reconhecidas globalmente como problemas significativos de saúde pública, se tornando o grande desafio de desenvolvimento do século 21; a partir daí começaram a ser desenvolvidos trabalhos conjuntos que utilizam estas técnicas de forma integrada e abrangente (PFEIFFER, 2009).

Para a implantação de um programa de biofortificação, são necessários que o alimento faça parte da base alimentar da população; que a produtividade do cultivar seja mantida ou aumentada a fim de atender as expectativas dos produtores; que os nutrientes do cultivar seja estável às condições ambientais; que tragam uma significativa melhora a saúde da população; que os nutrientes ingeridos tenham alta biodisponibilidade em condições tradicionais de preparo do alimento e que a aparência, sabor e textura sejam bem aceitos pelo consumidor. Quando o cultivar atende a esses itens eles são encaminhados para os testes de aceitação, visando a sua implantação e consumo (NUTTI, 2009).

Em 2002 o Consultive Group for International Agricultural Research (CGIAR) priorizou seu projeto de biofortificação, e no ano de 2004 lançou o programa HarvestPlus, que reunia pesquisadores do mundo todo que atuavam no melhoramento nutricional dos alimentos. Atualmente o programa é coordenado pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) e pelo Instituto Internacional de Pesquisa sobre Políticas Alimentares (IFPRI). No Brasil é coordenado pela Embrapa, composto por uma ampla rede nacional de instituições chamada de Biofort (SILVA, 2007).

O programa se apresenta como uma tecnologia eficaz na redução das principais carências nutricionais, entre elas a vitamina A, pois dá acesso à população carente, rural, com limitado acesso a sistemas formais de mercado e saúde e que pratica a agricultura de subsistência, a alimentos com alta concentração de nutrientes, sem a necessidade da mudança de hábitos

alimentares e culturais; havendo assim, uma maior probabilidade de adoção dos cultivares pelos produtores e consumidores (HARVESTPLUS, 2004).

A vantagem do consumo de alimentos biofortificados é que as concentrações não são tóxicas ou cumulativas e evita o consumo de medicamentos para solucionar problemas nutricionais. O uso de medicamentos (cápsulas de vitamina A e sulfato ferroso) tem custo elevado, e muitas vezes não atinge a população onde acesso ao sistema de saúde é precário (NUTTI, 2009).

A adoção dos cultivares biofortificados e o amplo cultivo, proporcionará uma produção autossustentável, melhoria nutricional e de saúde da população carente, podendo apresentar a longo prazo resultados positivos na redução da desnutrição, na prevenção e no tratamento de distúrbios nutricionais (SILVA *et al.*, 2011).

#### 2.5.3.1 Biofortificação no Brasil

São diversas as pesquisas que estão sendo desenvolvidas, com a finalidade de garantir uma maior segurança alimentar a populações carentes, mediante o oferecimento de alimentos com alto teor de nutrientes, que supram suas necessidades nutricionais, sem a exigência da mudança dos hábitos de consumo (NUTTI, 2009).

No Brasil, a Embrapa coordena projetos de biofortificação, intitulado de Rede Biofort, cujos projetos contam com o financiamento da Embrapa, CNPq e de diversas fundações estaduais de suporte a pesquisa (FAPERJ, FAPESP, FAPEMIG), reunindo pesquisadores de diferentes áreas do conhecimento, em quatorze estados brasileiros. A rede interage com universidades, centros de pesquisa nacionais e internacionais, associações de produtores, governo, prefeituras e organizações não governamentais e tem o apoio dos programas internacionais AgroSalud, apoiado pela CIDA - Agência Canadense para o Desenvolvimento Internacional e Harvest Plus, uma aliança de instituições de pesquisa que atuam na América Latina, África e Ásia com o aporte financeiro da

Fundação Bill e Melinda Gates, do Banco Mundial, e de agências internacionais de desenvolvimento (NUTTI, 2009).

Treze centros de pesquisa da Embrapa, fazem parte da rede de biofortificação, e é a única em todo o mundo a conduzir trabalhos de biofortificação com oito cultivos diferentes: arroz, feijão, batata-doce, mandioca, milho, feijão-caupi, trigo e abóbora, que fazem parte da dieta básica dos brasileiros (MARQUES; MANOS; AVILA, 2011).

Para o desenvolvimento destes cultivos foi levado em consideração: os hábitos alimentares da população, a aceitação dos produtos pelos consumidores, a retenção de nutrientes após o processamento e preparo dos alimentos e, as boas características agronômicas; são características que propiciam o cultivo de alimentos mais nutritivos, com benefícios tanto ao produtor rural quanto aos consumidores dos seus produtos (SILVA *et al.*, 2009).

A Rede Biofort foi implantada no Brasil a cerca de 10 anos e em oito anos, alcançou resultados significativos, desenvolvendo alimentos biofortificados com quantidades superiores de micronutrientes que podem ser ótimas ferramentas no combate à desnutrição (Quadro 1).

Cultivares	Convencional	Cultivares dos projetos da Rede de Biofortificação no Brasil
<b>Milho</b>	Em média, 4,5mcg de pró-vitamina A por grama de milho em base seca.	Até 9mcg de pró-vitamina A por grama de milho em base seca.
<b>Batata-doce</b>	Em cultivares de polpa branca, até 10mcg de $\beta$ -caroteno por grama de raízes frescas.	Na cultivar Beauregard, média de 115mcg de $\beta$ -caroteno por grama de raízes frescas.
<b>Abóbora</b>	Em avaliação.	Média de 186mcg de carotenoides por grama de produto fresco.
<b>Trigo</b>	Em média, 30mg de ferro e 30mg de zinco por quilo em trigo integral.	Média superior a 40mg de ferro e 40mg de zinco por quilo de trigo integral.
<b>Feijão-caupi</b>	Média de 50mg de ferro e 40mg de zinco por quilo de produto.	Na BRS Xiquexique, média de 77mg de ferro e 53mg de zinco por quilo de produto.
<b>Mandioca</b>	Em variedades de polpa branca não há teores expressivos de $\beta$ -caroteno.	Até 9mcg de $\beta$ -caroteno por grama de raízes frescas.
<b>Feijão</b>	Em média, 50mg de ferro e 30mg de zinco por quilo de feijão carioca.	Em média, 90mg de ferro e 50mg de zinco por quilo de cultivar BRS Pontal.
<b>Arroz</b>	Em média, 12mg de zinco e 2mg de ferro por quilo de arroz branco polido.	Média de 18mg de zinco e 4mg de ferro por quilo de arroz branco polido.

**Quadro 1:** Comparação do teor de micronutrientes entre os cultivares convencionais e os biofortificados (Embrapa, 2010)

Além do melhoramento convencional, da aferição da concentração de micronutrientes presentes nos alimentos biofortificados, estão sendo desenvolvidas pesquisas, nos laboratórios da Embrapa e das Universidades vinculadas ao projeto, sobre: biodisponibilidade de micronutrientes (para estimar se o organismo humano consegue absorver os micronutrientes presentes nos cultivares melhorados); aceitabilidade dos alimentos (aprovadas pelos Comitês de Ética das Universidades); desenvolvimento de produtos com maior valor agregado (pães, snacks e farinhas pré-cozidas para sopas instantâneas e mingaus), cuja

finalidade é ampliar a oferta de alimentos mais nutritivos, além da busca de soluções tecnológicas (embalagens) que garantam a conservação dos micronutrientes nos produtos processados (NUTTI, 2009).

Visando alcançar toda a população, a Rede Biofort tem promovido eventos, tais como: palestras, seminários e dias de campo para produtores rurais, empresários e pesquisadores, no qual os principais resultados e atividades são divulgados na mídia (rádio, televisão, jornais, revistas e internet). Essas ações têm contribuído para o estabelecimento de novas parcerias, na transferência de tecnologia, na sensibilização do público de interesse do programa de biofortificação e na empatia de formadores de opinião (NUTTI, 2011).

Até o momento mais de 4.500 crianças já se beneficiam de alimentos biofortificados. Cidades como Itaguaí e Magé já recebem alimentos biofortificados (batata-doce e o feijão), que são distribuídos na alimentação escolar. Em Itaguaí, a prefeitura realiza o plantio, a colheita e repassa para as escolas, e algumas escolas realizam o seu próprio cultivo integrando assim os alunos na agricultura familiar. Em Magé, as sementes são repassadas pela prefeitura aos agricultores familiares, que realizam a multiplicação do produto (NUTTI, 2011).

Segundo dados da Pesquisa de Orçamentos familiares (POF), 2008-2009, a aquisição domiciliar per capita anual de mandioca, abóbora e batata-doce, foram de 1,766Kg, 1,187Kg, 0,639Kg, respectivamente. São, portanto, alimentos que fazem parte da base alimentar dos brasileiros, constituindo a sua biofortificação uma excelente opção para promover o aumento no consumo de nutrientes pelas populações carentes, podendo a sua ingestão suprir as quantidades diárias recomendadas e ser eficaz na redução de deficiências nutricionais (BERNI, 2014).

## 2.6 Batata-doce

O Brasil possui diversos alimentos ricos em carotenoides precursores de vitamina A, entre eles a batata-doce (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). A batata-doce (*Ipomoea batatas*), originária das

Américas Central e do Sul é uma cultura rústica, típica de regiões tropicais e subtropicais, que vem sendo cultivada em diferentes regiões do mundo (mais extensivamente na África, Ásia e Américas), por apresentar ampla adaptação climática (BERNI, 2014).

A China é o maior produtor mundial atingindo 100 milhões t.ano<sup>1</sup> e o Brasil o maior produtor da América Latina. De acordo com o IBGE (2011), no ano de 2009 a produção de batata-doce totalizou 477,5 mil t.ano<sup>1</sup>, ocupando uma área de 42,3 mil hectares. O país apresenta variabilidade de tipos e formas de batata-doce e parte do seu território é considerado como centro secundário de diversidade da espécie (SANTOS; CARVALHO; SILVA, 2009). É uma cultura antiga, bastante disseminada e cultivada em todos os estados, principalmente por pequenos produtores rurais em sistemas agrícolas com reduzida entrada de insumos (NASCIMENTO, 2006).

O cultivo da batata-doce se desenvolve melhor em áreas tropicais (onde se concentra a maior parte da população carente), e noventa por cento de sua produção provem de países em desenvolvimento, no qual é um alimento de extrema importância que serve principalmente como fonte de energia (MELO *et al.*, 2011).

Esse cultivo além de oferecer diversas vantagens agronômicas, como boa resistência à seca (sua capacidade para uso eficiente da água permite seu cultivo em regiões de seca prolongada); adaptação a diferentes climas (mas com melhor rendimento em regiões tropicais); boa resistência a pragas, doenças e pouca resposta ao uso de fertilizantes; alta eficiência na produção de energia (consegue se adaptar a solos degradados, com baixa fertilidade e converter de maneira eficiente energia solar em carboidratos, sem competir com outros cultivos que demandam uma maior necessidade de nutrientes no solo); proteção do solo; baixo custo de produção; cultivo fácil e mecanizável e, colheita que pode ser feita em diferentes períodos; também apresenta vantagens nutricionais, por ser fonte de energia, fibras, vitamina e minerais. São esses fatores que contribuem para que este alimento faça parte da dieta de populações sujeitas à restrição alimentar, podendo ser um importante meio para melhorar a sua nutrição (NUNES *et al.*, 2011).

A presença de carotenoides pró-vitâmicos A nessa espécie, é de extrema importância para a saúde da população carente, que muitas vezes não possui acesso a outras fontes de vitamina A. Um indicativo da presença dos carotenoides pró-vitâmicos A é a coloração da polpa que, varia do amarelo ao laranja, e quanto mais alaranjada for à tonalidade, maior será a sua concentração nessa raiz. Deste modo, o consumo das variedades de polpa alaranjada (difícil de encontrar) torna-se muito mais interessante do ponto de vista nutricional, que o consumo dos demais cultivares (polpa branca, amarela e creme), que por sua vez são as variedades mais comercializadas no Brasil (MELO *et al.*, 2011).

Visando um maior acesso a esse cultivar, a Embrapa Hortaliças (Brasília – DF), no âmbito do programa Biofort, selecionou novas variedades de batata-doce de polpa alaranjada (com maior teor de  $\beta$ -caroteno), entre elas a variedade Beauregard, para participar do programa de melhoramento genético convencional, e após o processo de melhoramento será disponibilizada aos agricultores e, conseqüentemente aos consumidores (SICILIANO *et al.*, 2011).

O consumo regular desse cultivar, além de continuar a proporcionar energia (carboidratos), também poderá contribuir com o combate e prevenção da DVA (NASCIMENTO, 2006).

### 2.6.1 Botânica

A batata-doce é uma planta dicotiledônea que pertence à família botânica *Convolvulaceae*, gênero *Ipomoea* e espécie *Ipomoea batatas* Lam. Essa família botânica possui aproximadamente 50 gêneros e mais de 1000 espécies, mas a batata-doce é a única cujo cultivo tem expressão econômica (BERNI, 2014).

É uma raiz tuberosa, classificada segundo o formato, tamanho, cor interna, doçura, precocidade, cor das folhas e das flores (SICILIANO *et al.*, 2011).

Seu caule é herbáceo de hábito prostrado, com ramificações de tamanho, cor e pilosidade variáveis; as folhas são largas, com formato, cor e recortes variáveis; o pecíolo é longo e as flores hermafroditas (mas de

fecundação cruzada devido à sua autoincompatibilidade); os frutos são do tipo cápsula deiscente com duas, três ou quatro sementes de 6 mm de diâmetro e cor castanho-claro (BERNI, 2014).

Possui dois tipos de raiz, a tuberosa/reserva e a absorvente. A raiz tuberosa, se forma a partir dos “nós” (presente desde o início do desenvolvimento da planta), possui maior espessura, pouca presença de raízes secundárias, e é a responsável por absorver água e extrair nutrientes do solo. A raiz absorvente se forma no meristema cambial, nos nós e entrenós, são abundantes e com muitas ramificações o que favorece a absorção de nutrientes (SILVA, 2007).

### 2.6.2 Cultivo de Batata-doce

Para o plantio da batata-doce, o solo da área deve ser, preferencialmente, areno-argiloso, com boa estruturação, drenagem e aeração e necessita do preparo de leiras com 20 a 25 cm de altura, com a distância de 1 m entre uma e outra (SICILIANO *et al.*, 2011).

No cultivo geralmente são utilizadas ramas de aproximadamente 25 a 30 cm de comprimento, com segmentos de cinco a seis nós (as folhas podem ou não ser removidas) retirados de plantas em lavouras com aproximadamente 90 dias de cultivo. A rama deve ser plantada na parte superior da leira e enterrada até a metade do seu comprimento, deixando-a transversal (sobre a leira), conservando uma distância de 30 cm entre uma e outra. Após o plantio é recomendável que o solo seja umedecido, a fim de facilitar o pegamento das ramas (FERNANDES *et al.*, 2014).

Se houver necessidade de adubação, ela deverá ser feita levando em consideração a análise do solo, de acordo com sua fertilidade e o manejo da cultura. No caso da realização de adubação orgânica, orienta-se que seja incorporado em cada metro de leira de 0,5 a 1,5 Kg de composto orgânico, dependendo do teor de matéria orgânica do solo. Para a adubação química, é recomendado fornecer fósforo e parte do potássio e nitrogênio no momento do plantio, sendo a parte restante (de potássio e nitrogênio) disponibilizada na

adubação de cobertura. Deve-se tomar cuidado com o excesso de nitrogênio, pois ele favorece o desenvolvimento da parte vegetativa (FERNANDES *et al.*, 2014).

Para um adequado desenvolvimento vegetativo a planta exige temperatura média superior a 24°C, alta luminosidade, longo período de fotoperíodo e umidade do solo suficiente, enquanto para o adequado desenvolvimento de raízes tuberosas são necessárias temperaturas médias, entre 20 e 24°C, combinadas com menor luminosidade, curto período de fotoperíodo e menor umidade do solo (SILVA, 2007).

Após o plantio, na primeira semana é recomendado que o solo seja mantido úmido até o desenvolvimento de novas folhas. Depois, a irrigação deve ser realizada conforme necessidade hídrica e condições de solo e clima. O controle de plantas daninhas e de mato pode ser feito através de capinas mensais, com cuidado para não desmanchar as leiras e somente até o início do desenvolvimento de raízes tuberosas. Ramas longas se entrelaçam rapidamente, dificultando a capina e renovação das leiras, promovendo uma maior competição entre as plantas (FERNANDES *et al.*, 2014).

Existem cultivares em que as batatas se formam junto à planta, o que facilita sua localização no momento da colheita. Mas existem outros que formam raízes distantes da base da planta, dificultando sua localização e possibilitando a chance de serem cortadas ou danificadas na colheita. Raízes com maior valor comercial são as lisas, retas, de formato alongado, com cerca de 20cm de comprimento e peso de aproximadamente 300g. Raízes muito longas, tortuosas, com veias, e danificadas por insetos ou por cortes e esfolamentos, são menos aceitas pelos consumidores e comerciantes (SILVA, 2007).

Se houver necessidade as leiras deverão ser refeitas (em média, entre 45 a 60 dias pós-plantio), pois as raízes devem sempre estar cobertas por terra. Um manejo adequado é fundamental para a prevenção ao ataque de pragas ou doenças, pois não existe registro de agrotóxico recomendado para essa cultura (FERNANDES *et al.*, 2014).

A batata-doce pode ser plantada durante quase todo o ano em diversas regiões do país, desde que tenha irrigação. No entanto, em regiões mais frias,

como as regiões sudeste e sul, recomenda-se o cultivo entre os meses de setembro a abril, pois o frio compromete o desenvolvimento da planta (MOURA *et al.*, 2009).

O ciclo de 90 a 150 dias, propicia um fluxo regular de capital na produção, no qual os produtores podem fazer ajustes dentro de sua unidade para atender a demanda e as oportunidades de mercado, entretanto a colheita é feita de acordo com o desenvolvimento das raízes tuberosas que é variável, e depende das condições de solo e clima. Pode ser realizada de forma manual, com enxadas ou semi-mecanizada, sendo esperada uma produtividade de 2 a 5 Kg por metro de leira ou de 20 a 50 t/ha por safra, mas isso depende da adubação, irrigação, manejo e controle de pragas e doenças (FERNANDES *et al.*, 2014).

Para o cultivo de alimentos biofortificados é muito importante à qualidade do material de propagação, para que seja assegurada a qualidade genética e fitossanitária, sendo aconselhável a renovação das mudas periodicamente por mudas certificadas. Esse cuidado deve ser tomado especialmente no cultivo de batata-doce que possui propagação vegetativa e requer cuidados relativos à questão fitossanitária, para que o material não perca a produtividade ao longo de sucessivas multiplicações sem renovação do material de propagação (MELO *et al.*, 2011).

### 2.6.3 Composição Nutricional

A composição nutricional da batata-doce pode variar de acordo com as condições climáticas, tipo de solo, nutrientes presentes no solo, sistema de cultivo, época de colheita, tempo, armazenamento e tipos de cultivares (DA SILVEIRA *et al.*, 2011).

É composta principalmente por carboidratos (variando de 25% a 30%, dos quais, 98% são facilmente digestíveis). De acordo com a Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO), a composição centesimal média da batata-doce é de 69,5% de umidade, 1,3% de proteína, 0,1% de lipídeos, 28,2% de carboidrato, 2,6% de fibra alimentar e 0,9% de cinzas. A cada 100g do alimento

apresenta: 118 Kcal / 495 KJ de energia, e teores de 21 mg de cálcio, 17 mg de magnésio, 0,18 mg de manganês, 36 mg de fósforo, 0,4 mg de ferro, 9 mg de sódio, 340 mg de potássio, 0,11 mg de cobre, 0,2 mg de zinco, 0,06 mg de tiamina, possui traços de riboflavina, 0,10 mg de piridoxina, traços de niacina e 16,5 mg de vitamina C (NEPA - UNICAMP, 2011).

Dados relativos a retinol não foram encontrados na tabela TACO, entretanto segundo dados da Embrapa, o cultivar de polpa branca pode apresentar até 10mcg de  $\beta$ -caroteno por grama de raízes frescas e no cultivar biofortificada Beauregard, esse valor é maior, apresentando uma média de 115mcg de  $\beta$ -caroteno por grama de raízes frescas, podendo a ingestão diária desse cultivar (biofortificado) ajudar no combate e prevenção da DVA (NASCIMENTO, 2006).

#### 2.6.4 Formas de utilização da batata-doce

Por ser uma planta que possui grande capacidade de produzir energia por unidade de área e tempo ( $\text{Kcal} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ ), apresenta um alto potencial de produção. Suas ramas e raízes tuberosas possui diversos usos, podendo ser utilizadas na alimentação humana, animal e como matéria-prima nas indústrias de alimento, tecido, papel, cosméticos, na preparação de adesivos e álcool carburante (SICILIANO *et al.*, 2011).

É um alimento que faz parte da base alimentar da população brasileira, altamente nutritivo que, além de fonte de energia (conteúdo elevado de carboidrato), é fonte de vitaminas (A, do complexo B e C), sais minerais (manganês, potássio, cálcio, sódio, zinco, ferro) e fibras. A ingestão diária de uma unidade média é o suficiente para suprir a necessidade diária de vitamina A, de quase um terço da vitamina C, de quase 15% de fibras alimentares e 10% do potássio (NASCIMENTO, 2006; NEPA - UNICAMP, 2011).

No Brasil, o uso da batata-doce é restrito basicamente ao consumo direto, apresentando uma industrialização rudimentar, cujo produto industrializado mais conhecido é o doce em pasta "marrom-glacê". No entanto, a sua

composição nutricional e o seu potencial agrícola, possibilita o seu uso como matéria-prima na obtenção de produtos industrializados de maior valor agregado, como por exemplo, farinhas, cereais, "snacks", sucos, doces, pães, bolos e outros derivados (SILVA, 2010).

O amido e os açúcares (sacarose, glicose, frutose, maltose) presentes na batata-doce, possibilita o seu uso pela indústria de alimentos na melhora de propriedades funcionais dos produtos elaborados, como sopas, molhos de carne, na formação de gel para balas, pudins, como estabilizante em molhos de salada, na elaboração de materiais termoplásticos biodegradáveis, podendo também ser utilizada na elaboração de compostos farmacêuticos (SICILIANO *et al.*, 2011).

Suas ramas e raízes podem ser oferecidas frescas a animais ruminantes e as folhas e brotos a aves e peixes. Raspas constituídas de raízes picadas e secas, podem ser utilizadas como complemento alimentar energético, sendo adicionadas à ração de animais, tanto de ruminantes como não ruminantes, mas neste caso o custo envolvido na secagem das raízes é um fator limitante (SILVA, 2010).

O uso de chips alaranjados, provenientes de cultivares com polpa alaranjada, despertou o interesse de indústrias de rações avícolas, cuja finalidade é o aumento do teor de vitamina A dos ovos. Também foi comprovada a eficiência da substituição parcial do milho pela farinha de batata-doce de polpa alaranjada na alimentação de frangos de corte. Esta farinha é preparada a partir de resíduos provenientes de plantações, considerados impróprios para o consumo humano, que passam pelo processo de trituração, secagem ao sol, moagem e embalagem, possibilitando o seu armazenamento por até dois anos, tornando a sua aquisição pelo agricultor mais apropriada do que a aquisição do milho ou até mesmo do plantio (SOUSA, 2015).

Além desses usos a batata-doce pode ser utilizada na produção de álcool, mas no Brasil devido à existência de matéria-prima mais econômica essa prática não é comum (NASCIMENTO, 2006).

### 2.6.5 Biofortificação da batata-doce como fonte de Provitamina A

A DVA está presente em todas as regiões brasileiras, atingindo principalmente idosos, gestantes, lactantes, lactentes e crianças em idade pré-escolar. Após estudo dos hábitos alimentares da população brasileira, alguns alimentos foram selecionados (arroz, feijão, batata-doce, mandioca, milho, feijão-caupi, trigo e abóbora) e inseridos no programa de melhoramento genético convencional, com o objetivo de se obter cultivares mais nutritivos e com melhores características agronômicas, a fim de suprir as necessidades nutricionais desta população, sem a mudança dos hábitos alimentares, de forma saudável e autossustentável (DA SILVEIRA *et al.*, 2011).

Em 1981, foi desenvolvido pela Louisiana Agricultural Experiment Station - EUA, um cultivar altamente produtivo, de polpa laranja intenso (com maior teor de carotenoides pró-vitâmicos A), chamado de Beauregard (Figura 3). Em 2008, foram introduzidos cento e dois clones de batata-doce Beauregard no Brasil, por meio do CIP - Centro Internacional de La Papa, como parte das atividades do programa AgroSalud (UCHÔA *et al.*, 2016).



**Figura 3.** Batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*) cultivar Beauregard (Fonte: Google).

Após passar por cultura de tecidos para limpeza de doenças, foram deixadas em quarentena antes do início do processo de multiplicação. A multiplicação das ramas ocorreu em ambiente protegido, para avaliação dos clones. Foram desenvolvidos experimento em duas épocas de plantio em Brasília

– DF e selecionados 15 clones, considerando o formato e aparência das raízes, para serem avaliados em diferentes regiões produtoras, sendo que o foco foi regiões onde a população apresentava maior carência de vitamina A. Em 2010, a batata-doce Beauregard foi recomendada para as condições brasileiras como cultivar testado e indicado. Em Brasília – DF foi implantada na Embrapa Hortaliças um campo de plantas matrizes, para produção e distribuição aos agricultores de mudas certificadas inscritos no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MELO *et al.*, 2011).

Mesmo sendo uma cultura recomendada, ainda é necessário o desenvolvimento de pesquisas relativas à composição da sua matriz alimentar, do efeito do processamento e cocção que são tradicionalmente utilizados, a fim de verificar quais os mais adequados, compreender em quais formas e concentrações os carotenoides se encontram e, qual a biodisponibilidade destes carotenoides após a ingestão, bem como avaliar as dimensões de receptividade dos produtores nas comunidades rurais em relação ao novo cultivar, os ganhos nutricionais, a aceitabilidade pelo consumidor, as vantagens agrônômicas e comerciais (BERNI, 2014).

Pesquisas já desenvolvida demonstram que quando comparadas às outras espécies de batata, são inúmeras as vantagens do consumo da batata-doce biofortificada. O cultivar Beauregard possui em sua raiz fresca uma média de  $115\mu\text{g.g}^{-1}$  de  $\beta$ -caroteno/g e  $185\mu\text{g.g}^{-1}$  de carotenoides totais, sendo que em batata-doce comum, a quantidade de  $\beta$ -caroteno varia de  $<1\mu\text{g.g}^{-1}$  (raiz branca) a  $130\mu\text{g.g}^{-1}$  de raiz fresca (BERNI, 2014). Esses valores são superiores aos encontrados em cenoura, que é o alimento mais citado como fonte de caroteno (SILVA, 2007). Portanto, além de fornecer energia e minerais que fazem bem a saúde, possui um maior teor de vitaminas quando comparadas aos cultivares de polpa branca ou creme, cujos teores de vitaminas não são significativos (ALVES *et al.*, 2012).

Em algumas regiões do país não existe o hábito do consumo de batata-doce de polpa alaranjada, somente de polpa branca ou roxa, sendo necessário que o programa Biofort atue na inclusão deste cultivar nos sistemas alimentares atuais (BERNI *et al.*, 2015). De acordo com Melo *et al.* (2011), o consumo diário

de uma batata média desse cultivar atende as quantidades de ingestão diária preconizada para crianças de cinco anos, sendo assim, a sua inclusão na alimentação diária de comunidades carentes, seria um meio de disponibilizar compostos pró-vitâmicos A, que aliada às facilidades do ponto de vista agrônômico (SILVA, 2007) seria de extrema importância na obtenção de resultados positivos de redução da DVA. Em alguns países, tais como Moçambique e Uganda, o consumo de batata-doce de polpa alaranjada proporcionou um aumento do consumo de Vitamina A entre mulheres e crianças, sendo 78% do total de vitamina A consumida por crianças de 6 a 35 meses em Moçambique provenientes da batata-doce biofortificada (NUTTI, 2011).

Economicamente é um cultivar muito importante, pois após a sua adoção pelos produtores, há a possibilidade da manutenção autossustentável, não sendo necessário gastos com fiscalização e manutenção do processo, como ocorre com a fortificação tradicional (MELO *et al.*, 2011).

#### 2.6.6 Uso de farinha e demais produtos obtidos a partir da batata-doce biofortificada como fonte de Provitamina A

Apesar de a batata-doce ser uma cultura com boa perspectiva de abrangência de mercado, ainda é uma cultura de subsistência, sendo sua maior parcela de produção a nível nacional, proveniente da agricultura familiar.

Sua comercialização ainda está restrita a forma de raízes cruas, o que torna inviável a sua inclusão em cestas básicas ou em programas alimentares devido à facilidade de deterioração durante seu armazenamento, apresentando curto tempo de vida para o consumo sem qualquer tipo de conservação. Não sendo a comercialização de produtos *in natura* suficiente para a sustentação das atividades da produção agropecuária (MACHINI *et al.*, 2009).

Uma alternativa a esses problemas é agregar valor ao produto, industrializando a matéria-prima, através de medidas pouco dispendiosas e simples que resultem num maior benefício financeiro e conseqüentemente uma

melhoria do ponto de vista social, proporcionando uma melhor qualidade de vida aos agricultores familiares.

Atualmente estão sendo empregados processos físicos de conservação, como a secagem, o armazenamento em baixas temperaturas e o tratamento térmico, com a finalidade de aumentar o tempo de vida deste alimento. Dos métodos citados a secagem é a que mais se destaca, podendo ser utilizada na solução de problemas como superprodução, excesso de oferta e alta perecibilidade de frutas e hortaliças, pois reduz a atividade de água, previne a deterioração ao longo do armazenamento e transporte, auxiliando assim na solução de problemas relacionados à estabilidade aumentando a vida de prateleira. Além de apresentar menor volume, proporcionando uma redução no custo de acondicionamento, armazenamento e transporte. A secagem também promove a concentração de nutrientes tais como: proteínas, lipídios, carboidratos, se encontrando em maior quantidade por unidade de peso nos produtos secos, que nos *in natura* (SOUSA, 2015).

A composição nutricional, o alto teor de pró-vitâmicos A e as excelentes características agrícolas da batata-doce biofortificada, indica seu grande potencial de uso como matéria prima pela indústria na formulação de novos produtos alimentícios com maior valor agregado (farinha, sopa, dentre outros) fontes de carotenoides pró-vitâmicos A (VOLZ ORTOLAN *et al.*, 2016).

A produção de farinha a partir da batata-doce aumenta a sua vida útil e facilita sua incorporação em diversos produtos (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). De acordo com a Resolução normativa RDC nº 263 de 22/09/2005, farinhas são os produtos obtidos de partes comestíveis de uma ou mais espécies de cereais, leguminosas, frutos, sementes, tubérculos e rizomas por moagem e ou outros processos tecnológicos considerados seguros para produção de alimentos. A farinha de batata-doce ainda não possui legislação específica referente à classificação, mas sua produção pode basear-se na produção da farinha de mandioca, podendo ser transformada em amido ou farinha de acordo com a legislação de fabricação de alimentos estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que coordena, supervisiona e controla as atividades de registro, informação, inspeção, controle de riscos e

estabelecimento de normas e padrões para a produção de alimentos (SILVA, 2010).

A produção de farinha também pode servir como incremento a economia local, pois a localização de fábricas de médio e pequeno porte próximas às fontes de alimentos *in natura*, estimula a agricultura, a implantação de indústrias alimentícias, a criação de novos empregos, propiciando um aumento da renda per capita (SILVA *et al.*, 2011).

A farinha produzida poderá ser utilizada em rações para animais e suplementos; introduzida em diversas formulações alimentícias, geralmente em substituições a farinha de trigo misturadas a outras farinhas (milho, trigo, mandioca ou soja) e permite a indústria alimentícia o oferecimento de produtos diversificados, com maior conteúdo de carotenoides pró-vitâmicos A, principalmente produtos dietéticos, alimentos infantis e de panificação (bolos, biscoitos, pães, tortas), que também podem vir a ser produzidos em pequenas agroindústrias (MACHINI *et al.*, 2009).

Bolos e tortas são a segunda categoria motivacional de compra em padarias, ficando atrás somente do pão. A utilização desses alimentos (batata-doce e farinha de batata-doce) na produção de bolos e produtos panificados, que são de fácil preparo e que possui uma boa aceitação por qualquer faixa etária aumenta o seu potencial de implantação (VOLZ ORTOLAN *et al.*, 2016).

São, portanto, produtos que serão atrativos ao consumo e que irão auxiliar na aceitação do alimento biofortificado. A sua utilização na merenda escolar poderá contribuir com a redução de carências nutricionais em crianças, pois a fase escolar representa o período em que as crianças apresentam maior demanda nutricional, podendo o consumo desses alimentos proporcionar uma alimentação mais nutritiva e auxiliar no combate à DVA (SILVA *et al.*, 2011).

Para que os produtos biofortificados sejam introduzidos e abranjam de forma rápida e efetiva a população alvo, são necessárias ações conjuntas de programas sociais, como Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA), Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), com entidades sociais, organizações não governamentais, como a Pastoral da Criança

e Caritas do Brasil, que busca atender as necessidades nutricionais da comunidade carente, principalmente crianças e adolescentes (SILVA, 2007).

Porém, para que o produto seja bem aceito é imprescindível que tenha um custo de fabricação competitivo, sendo necessário o investimento em unidade de fabricação, para que os custos reais sejam quantificados. No entanto, o processamento e as características da matéria-prima são semelhantes às da farinha de mandioca, amplamente consumida pelas populações de baixa renda (SILVA, 2010), havendo grande chance de viabilidade de sua produção.

## **2.7 Agricultura Familiar**

A desnutrição é um problema que atinge a população como um todo, mas principalmente crianças em idade pré-escolar. Para a redução do problema foram adotadas diversas medidas: estímulo ao aleitamento materno; acompanhamento e controle do crescimento e desenvolvimento de crianças; melhor acesso a sistemas de saúde; educação alimentar, entre outros. Dentre as ações adotadas a educação alimentar é de suma importância, pois propicia uma melhor qualidade de vida a partir do oferecimento e consumo de alimentos com maior valor nutritivo, acessíveis e de baixo custo (MARQUES; MANOS; AVILA, 2009).

A agricultura familiar, apoiada por iniciativas governamentais e por diversas instituições (entre elas a Embrapa), tem sido considerada como uma das principais formas de reverter esse quadro de desnutrição, pois tem a possibilidade de oferecer produtos com melhor qualidade nutritiva, por preços mais acessíveis e com maior agilidade. De acordo com a lei nº 11.326, de 24 de julho de 2006, considera-se agricultor familiar e empreendedor familiar rural aquele que pratica atividades no meio rural, que não possua área maior que quatro módulos fiscais; que utilize mão de obra da própria família nas atividades econômicas desenvolvidas em seu estabelecimento ou empreendimento; cuja renda familiar seja oriunda predominantemente de atividades econômicas vinculadas ao próprio

estabelecimento ou empreendimento; e o estabelecimento ou empreendimento seja dirigido exclusivamente pela família (MARQUES; MANOS; AVILA, 2009).

A biofortificação é um programa voltado à agricultura familiar e se preocupa com todo processo de alimentação do cidadão, desde a produção até o consumo. A implantação dos produtos biofortificados depende de uma boa receptividade dos novos cultivares pelos produtores nas comunidades rurais, sendo necessário, portanto que esses cultivares apresentem além de ganhos nutricionais, vantagens agronômicas e comerciais. Apesar de ter uma boa perspectiva de abrangência de mercado, a batata-doce é um cultivo que ocorre em locais com reduzida entrada de insumos e pouca tecnologia, sendo ainda uma cultura de subsistência, de grande importância social e econômica, no qual a agricultura familiar é sua maior fonte de produção (SILVA, 2010).

O princípio de Segurança Produtiva é a adoção de medidas para reduzir o risco de perda de produção e que permitam ao produtor rural produzir seu próprio alimento com garantia de colheita. Quando comparado ao cultivar convencional, o cultivar biofortificado apresenta altos índices de produtividade, fácil adaptação, bons resultados de colheita, e mesmo passando por adversidades (chuva, seca, doenças) apresentam safras acima da média. Em 2011-2012 foram realizadas pesquisas em Moçambique e Uganda, que demonstraram que mais de 60% das famílias adotaram os cultivares biofortificados, havendo em Uganda um crescimento de 9% para 44% da área de produção dedicada à batata-doce biofortificada (NUTTI, 2009).

No Brasil a maior parte da comercialização de batata-doce é realizada por meio de agentes intermediários, com menor margem de lucro para os agricultores, havendo a desestimulação do plantio, devido à percepção que a comercialização de produtos *in natura* não será suficiente para o sustento das atividades agropecuárias. Assim, existem vários estímulos para a implantação do cultivo de batata-doce biofortificada na agricultura familiar, dentre eles as excelentes características agronômicas e nutritivas, a ótima produtividade, o baixo custo de produção e a possibilidade de utilização como matéria prima na indústria (SILVA, 2007).

Os alimentos biofortificados podem ser comercializados na forma *in natura*, minimamente processados, como matéria prima para indústria de alimentos, ou como subprodutos desses alimentos (farinha de batata-doce, bolos, pães). Outro atrativo a agricultura familiar é a sua implantação na merenda escolar, por oferecer o consumo de alimentos naturais, ou seus subprodutos, com excelentes vantagens nutricionais (alto teor de carotenoides pró-vitamínicos A) e, proporcionando a redução do consumo de alimentos industrializados (CAMARGO, 2013).

De acordo com a Embrapa, está sendo estruturada parceria entre a Embrapa e prefeituras de diversos municípios com a finalidade de inserir alimentos biofortificados na Merenda Escolar e incentivar a multiplicação de sementes biofortificadas. Essa ação beneficiará alunos, que muitas vezes, tem na merenda escolar sua única fonte de alimentação e agricultores familiares que irão fornecer os produtos. O projeto tem amparo legal no PNAE e na Lei Federal nº 11.947, de julho de 2008, que prevê que 30% dos produtos utilizados na merenda devem ser provenientes da agricultura familiar local; sendo este mais um espaço de produção e comercialização para a agricultura familiar (VASCONCELLOS *et al.*, 2011).

Além disso, a adoção do cultivo de batata-doce biofortificada pelo agricultor familiar, proporcionará acesso a alimentos mais nutritivos a população carente, consistindo num importante passo para uma nutrição mais saudável e contribuindo para a prevenção e tratamento de deficiência de vitamina A, pois o seu consumo diário deve conferir a gestantes e crianças entre 4-6 anos de idade um valor adicional de 30-50% da média diária requerida desse micronutriente (OLIVEIRA, 2009).

## **2.8 O papel da merenda escolar na prevenção da hipovitaminose A**

A merenda escolar foi à primeira forma de suplementação alimentar, cuja finalidade era reduzir a fome de crianças que chegavam à escola sem ter ingerido qualquer alimento. Nessa época não havia preocupação com o estado

nutricional, pois não se tinha conhecimento da deficiência proteico-energética, que só foi identificada em 1930. Desde então, através de campanhas e do programa permanente de merenda escolar, são oferecidas a milhares de crianças brasileiras uma alimentação balanceada, que visa atender suas necessidades diárias básicas através da merenda escolar. Muitas vezes essa será sua única refeição diária e serve de incentivo para a sua presença na escola (SOUZA; BOAS; DA COSTA, 2002).

A adoção de alimentos biofortificados e seus derivados na merenda escolar, em conjunto com as demais políticas existentes (fortificação e suplementação), poderá contribuir com a redução e em longo prazo até mesmo com a erradicação da hipovitaminose A, tendo em vista que serão consumidos alimentos com maior conteúdo deste nutriente (VASCONCELLOS *et al.*, 2011).

A escola além do oferecimento de alimentos ricos em vitamina A, também poderá servir como veículo de informação sobre a vitamina A, enfatizando a sua importância para a saúde infantil, quais alimentos são fontes de vitamina A e qual a importância do seu consumo, pois muitas vezes, além da população não possuir acesso a alimentos fontes de vitamina A, ainda existe a falta de informação com relação aos danos causados pela sua deficiência (RAMOS, 2011).

A municipalização do programa de alimentação escolar no Brasil, proporciona as crianças cardápios regionalizados, no qual professores e alunos podem participar do planejamento das refeições, e ter acesso a informações nutricionais dos alimentos e sua relação com uma boa saúde (SOUZA; BOAS; DA COSTA, 2002).

De acordo com Niskier (1990), crianças em idade pré-escolar, de 1 a 5 anos, que sofrem de desnutrição, são apáticas, fisicamente doentes, com dificuldades mentais, além de desajustadas socialmente. Portanto, a adoção do cultivar biofortificado pelo agricultor familiar, pela população e a sua implantação na merenda escolar, trará diversos benefícios a comunidade. E a escola como órgão formador, poderá promover a integração entre escola e comunidade, entre a teoria e prática, através da disseminação do conhecimento técnico e do estímulo a soluções para questões nutricionais, promovendo o conhecimento

sobre o valor nutricional dos alimentos e a importância de sua ingestão, proporcionando assim uma melhor qualidade de vida e auxiliando no combate a hipovitaminose A.

## 2.9 Biodisponibilidade

A palavra biodisponibilidade provém da junção de dois termos: disponibilidade e biológica. A princípio o termo biodisponibilidade foi proposto para uso da farmacologia, com a finalidade de estabelecer a proporção em que determinada substância ativa era absorvida na forma farmacêutica, alcançava a corrente sanguínea e se tornava disponível no sítio de ação, e também de descobrir a forma como esse processo ocorria. Mas, a partir da década de 80 passou a ser utilizado pela área da nutrição, quando começou a se ter a percepção que a presença do nutriente no alimento ingerido não significava que seria utilizado pelo organismo; a sua utilização dependeria da sua forma química, da quantidade ingerida, da presença de agentes ligantes, de outros nutrientes ingeridos ao mesmo tempo, e no caso dos micronutrientes, dos mecanismos homeostáticos que regulam a absorção, prevenindo concentrações tóxicas (COZZOLINO, 2016).

Diversas foram as definições para o termo biodisponibilidade, mas em 1997 na Conferência Internacional de Biodisponibilidade, em Wageningen, Holanda, foi proposto que a biodisponibilidade “refere-se à fração de qualquer nutriente ingerido que tem o potencial para suprir demandas fisiológicas em tecidos-alvos”. Também foi proposto por West e De Pee, a adoção do termo *slamanghi*, como um mnemônico de fatores que devem ser considerados nos estudos de biodisponibilidade: S= Species (especificação do nutriente); L= Linkage (ligação molecular); A= Amount consumed in a meal (quantidade consumida na refeição); M= Matrix in which the nutrient is incorporated (matriz onde o nutriente é incorporado); A= Attenuators of absorption and bioconversion (atenuantes da absorção e bioconversão); N= Nutrient status of the host (estado nutricional do hospedeiro); G= Genetic factors (fatores genéticos); H= Host related factors

(fatores relacionados com hospedeiro) e I= Interaction (interações) (WEST; DE PEE, 1996).

No ano de 2001, em congresso realizado em Interlaken, na Suíça, foi concluído que estudos relativos à biodisponibilidade devem avaliar três aspectos: bioconversão, bioeficácia e bioeficiência. Sendo a bioconversão definida como a quantidade de nutriente ingerido que estará disponível para a conversão em sua forma ativa; a bioeficácia como a eficiência com o qual os nutrientes ingeridos são absorvidos e convertidos em forma ativa do nutriente e a bioeficiência como a proporção da forma ativa do nutriente absorvido que atingirá o tecido alvo (COZZOLINO, 2016).

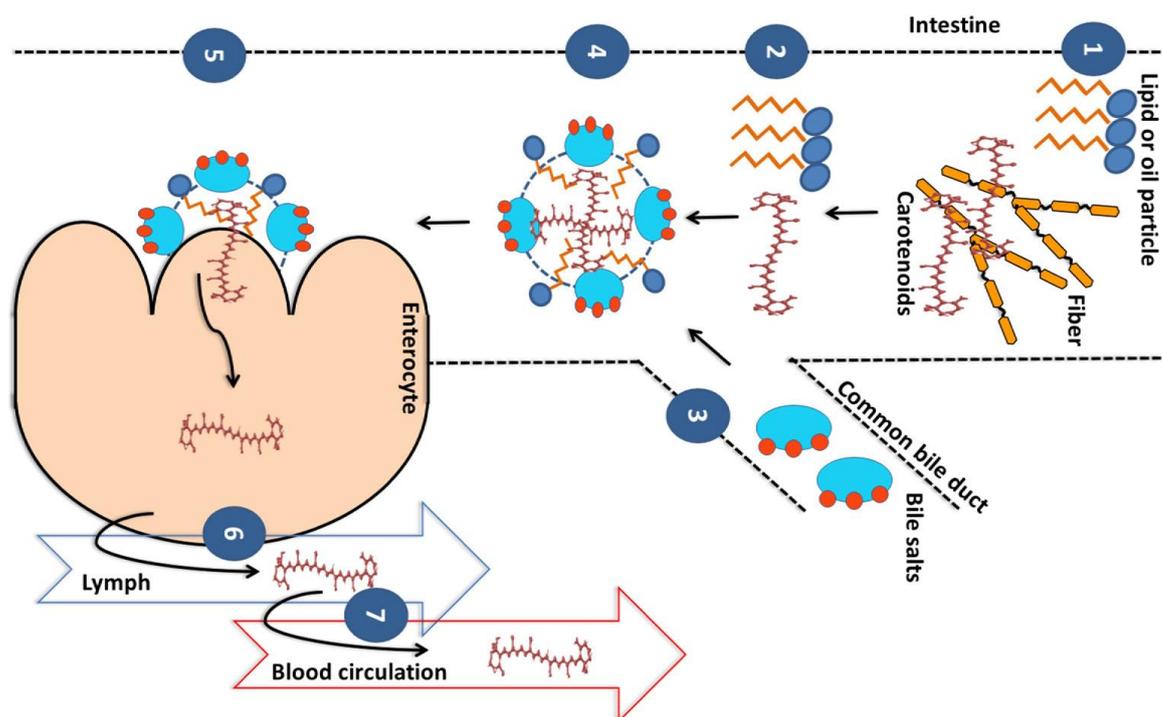
Assim, para definir biodisponibilidade de micronutrientes, devem ser avaliados todos os fatores que a influenciam, como também precisar as taxas de utilização do nutriente absorvido, de suas trocas e excreção (COZZOLINO, 2016).

### 2.9.1 Biodisponibilidade da vitamina A e carotenoides pró-vitamínicos A

A absorção do retinol presente na dieta (70 a 90%) é mais eficiente que a absorção de carotenoides pró-vitamínicos A, cuja absorção ocorre em torno de 10 a 50%. A absorção da vitamina A, retinol, tem início com a ingestão de alimentos. Os alimentos ingeridos sofrem processos físicos (mastigação, peristaltismo) e químicos (ação do ácido clorídrico do estômago e ação enzimática da amilase, pepsina e lipases) que liberam os ésteres de retinila ou carotenoides da sua matriz celular. Os carotenoides liberados são incorporados à gotículas de lipídeos em emulsão no estômago, e sofrem a ação das lipases gástricas. Posteriormente no duodeno, sofrem a ação de lipases pancreáticas e sais biliares, ocorrendo a formação de micelas mistas (sais biliares e produtos da hidrólise de lipídios). As micelas mistas são responsáveis pela solubilização de nutrientes lipossolúveis no lúmen intestinal (COZZOLINO, 2016). No caso da vitamina A, na superfície das células da mucosa intestinal ocorre a ação da fosfolipase B dando origem ao retinol, esse retinol livre é absorvido via difusão (facilitada, quando em concentrações fisiológicas e simples, quando em

concentrações farmacológicas) pelos enterócitos, onde se liga à CRBP-II (*cellular retinol binding protein type - II*), sofre a ação da enzima LRAT (*lecitin-retinol acil transferase*) e secretado como componente de quilomícrons no sistema linfático. Os quilomícrons atingem a corrente sanguínea através do duto torácico, onde desempenham a função de carreador de ácidos graxos (na forma de triacilgliceróis) para os diversos tecidos, até o momento que ficam pobres em triacilgliceróis, passando a ser chamados de quilomícrons remanescentes. São os ésteres de retinila presentes nos quilomícrons remanescentes que entram no fígado pela veia portal e são captados por receptores específicos, por células do parênquima hepático, sendo hidrolisados a retinol. Esse retinol se une à *apo-RBP* (proteína ligadora de retinol) para que seja secretado. Se as reservas hepáticas da vitamina apresentarem nível adequado, a maior parte do retinol recém-ingerido é transferida para células estelares e armazenadas como ésteres de retinila (BLOMHOFF, 1994). Nos carotenoides pró-vitâmicos A, após a ingestão o alimento passa por processos físicos (mastigação, peristaltismo), propiciando a liberação dos carotenoides da matriz celular.

Os carotenoides polares esterificados sofrem a ação das enzimas colesterol estearase e triglicérido lipase pancreática e são convertidos em carotenoides livres, que juntamente com os sais biliares formarão micelas lipídicas, que serão difundidas através da fase aquosa do quimo até a superfície apical da mucosa intestinal, onde serão absorvidas pelos enterócitos por difusão simples e por transporte via *SR-BI scavengerreceptor B type I* (COZZOLINO, 2016). No interior da mucosa intestinal serão hidrolisados pela enzima  $\beta$ -caroteno 15, 15' dioxigenase, dando origem ao retinal, que é complexado por meio da CRBP-II. O complexo retinal-CRBP-II é reduzido a retinol-CRBP-II pela enzima retinal redutase (A conversão da pró-vitamina A em retinol é chamada de bioconversão). Posteriormente a essa conversão a enzima LRAT - lecitina retinol acil transferase irá converter retinol em retinil éster, e incorporados em quilomicras (formadas no complexo de golgi dos enterócitos). Essas quilomicras realizarão o transporte da vitamina A através do plasma sanguíneo até o fígado, no qual poderá ser utilizada, armazenada ou secretada novamente na corrente sanguínea (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008) (Figura 4).



**Figura 4:** Processo de absorção de carotenoides da matriz de alimentos. 1-2) Perturbação da matriz alimentar; 3) liberação de sais biliares a partir do ducto biliar comum; 4) absorção da molécula carotenoide em gotícula lipídica e formação de micelas; 5) captação de molécula de carotenoide no enterócito e 6) liberação da molécula do carotenoide na circulação sanguínea (Fonte: SAINI, 2015).

O retinol é liberado do fígado para a circulação ligado a globulina RBP (albumina), que é responsável pela manutenção da vitamina A em solução aquosa e pelo seu transporte para os tecidos periféricos. As células dos tecidos-alvo possuem receptores que captam o retinol, entretanto alguns tecidos podem não utilizá-la por já terem atingido o estágio de saturação, podendo uma parte dessa vitamina circulante ser excretada ou armazenada no tecido para uso futuro. Apesar de grande variação de um indivíduo para outro, na maioria dos tecidos a concentração de retinol é de 1 a 5 $\mu$ mol/kg e nas reservas hepáticas essa concentração é de aproximadamente 70 a 140 $\mu$ mol/kg. Sendo assim, o principal órgão de reserva de vitamina A é o fígado, com cerca de 50 a 80% do total da vitamina existente no corpo, que é o suficiente para vários meses (COZZOLINO, 2016).

A mobilização da vitamina A do estoque hepático ocorre com a hidrólise dos ésteres de retinila, e da associação do retinol resultante com a RBP e a transtirretina (TTR) e sua liberação na circulação na forma de complexo retinol-RBP-TTR. Diversas células do corpo possuem receptores que reconhecem a RBP e assim podem captar o retinol da circulação. A RBP-TTR são secretadas somente após ligar-se com o retinol, mediante isso, quando as reservas hepáticas estão baixas, ocorre o acúmulo de RBP no fígado (sendo portanto indicativo do estado carencial de retinol) (DURING; HARRISON, 2007).

Também existe um mecanismo catabólico que permite a excreta do excesso de retinol. Quando as concentrações no fígado são superiores a 70  $\mu\text{mol/kg}$ , o retinol recentemente absorvido nas células do parênquima hepático, é transformado em vários metabólitos polares pela citocromo P450 microsomal - dependente de oxidação, permitindo a sua excreção na urina e na bile. Entretanto, a alta ingestão pode saturar esse sistema ocorrendo a toxicidade (COZZOLINO, 2016).

Assim para uma melhor compreensão da biodisponibilidade de carotenoides pró-vitamínicos A torna-se necessária à compreensão integrada das estruturas químicas, disponibilidade para absorção, absorção propriamente dita e bioconversão em retinol (RODRIGUEZ-AMAYA; OMNI (PROJECT), 2001), sendo possível a partir da relação entre todos esses fatores estimar a bioequivalência, ou seja, estimar seu potencial de ação como retinol equivalente (RE). Para cálculo do retinol equivalente, assume-se que 33% do  $\beta$ -caroteno estará disponível para absorção e a sua conversão em vitamina A é de 50% para o trans- $\beta$ -caroteno é de 25% para o cis- $\beta$ -caroteno, essa é a metodologia utilizada pela FAO. A conversão de carotenoides pró-vitamínicos A em retinol não é de 100%, pois a atividade de vitamina A dos carotenoides é inferior à do retinol (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

## 2.9.2 Fatores que afetam a biodisponibilidade de carotenoides pró-vitamínicos A

São vários os fatores que influenciam na biodisponibilidade de carotenoides pró-vitamínicos A e sua bioconversão em vitamina A. Esses fatores podem ser intrínsecos do alimento, como: a concentração de carotenoides ingerida (aumenta a absorção e concentração plasmática de carotenoides e retinol), características físico-químicas (perfil dos carotenoides, estrutura cristalina vs. líquida/lipídeos, formas trans vs. isômeros cis, livres vs. esterificados vs. ligados a proteínas), fonte, matriz e processos (localização subcelular: cloroplasto vs. Cromoplastos), folhas vs. flores/sementes, tamanho das partículas (purê>picado>folhas/partes inteiras), crus vs. alimentos processados, dieta (Quantidade e tipo de lipídeos, proteínas e fibras, interações com outros carotenoides); ou podem ser fatores fisiológicos dos indivíduos (saúde gastrointestinal; status nutricional; genótipo). Esses fatores estão interligados e atuam desde a ingestão do alimento rico em carotenoides pró-vitamínicos A, até sua conversão em retinol (BERNI, 2014).

A transferência de carotenoides da matriz alimentícia para as micelas no trato gastrointestinal (ficando disponível para absorção) recebe o nome de bioacessibilidade e representa o potencial de absorção ou biodisponibilidade deste micronutriente. Mas, a liberação dos carotenoides depende da digestão e degradação da matriz alimentar e a forma como estão armazenados dentro das estruturas celulares (associados a proteínas ou emulsionados em lipídios). Alimentos provenientes de plantas, geralmente apresentam baixa biodisponibilidade, sendo absorvido pelo organismo apenas 10% do total ingerido. Isso ocorre porque fibra dietética, proteínas solúveis e células das paredes vegetais, principais componentes de frutas e vegetais, exercem resistência à liberação dos carotenoides, podendo inibir a sua incorporação na emulsão gástrica e sais biliares e na formação de micelas (SAINI; NILE; PARK, 2015).

Uma forma de facilitar essa liberação é através do processamento dos alimentos, que atua nas estruturas físico-química das matrizes alimentares, amplia a superfície de contato das lipases pancreáticas e sais biliares, facilitando a liberação dos carotenoides. No entanto, o processamento faz com que os carotenoides fiquem suscetíveis à degradação. A principal causa de degradação dos carotenoides durante o processamento e o armazenamento é a oxidação enzimática e não enzimática, devido a destruição das estruturas celulares e da

redução de partículas, que deixa os carotenoides expostos a ação de altas temperaturas, baixo pH, enzimas, presença de luz e oxigênio. Nesse processo também ocorre à isomerização dos carotenoides *trans* a isômeros *cis*, responsável pela redução da atividade pró-vitáminica A tanto quanto a oxidação (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Assim como o conteúdo de provitamina A tem grande variabilidade entre um alimento e outro, pode ocorrer grande variação em um mesmo alimento com relação ao: estágio de maturação, entre cultivares, variedades, em cultivos de regiões e climas diferentes, a parte consumida do alimento, manejo pós-colheita, cocção, processamento e armazenamento. A absorção de diferentes carotenoides promove a competição dos mesmos: pela incorporação nas micelas, absorção celular, eficiência da enzima responsável pela conversão em retinol e incorporação nas quilomicras. Portanto, a quantidade, o tipo e a forma dos carotenoides também podem variar e afetar na biodisponibilidade do nutriente (COZZOLINO, 2016).

A composição da dieta também é um fator muito importante, pois pode retardar ou aumentar a absorção de vitaminas. O consumo de lipídios é um exemplo, pois tanto a vitamina A, quanto os carotenoides são substâncias lipossolúveis, ficando a sua absorção condicionada à sua liberação da matriz celular, incorporação em emulsão e a sua liberação junto às micelas, que são compostas por produtos da digestão de lipídios e sais biliares. Portanto, a sua formação está vinculada a presença de lipídios no intestino. A presença de lipídios estimula a liberação de bilis (o que facilita a formação de micelas) e aumenta a solubilização dos carotenoides nas micelas. Mediante isso, para que haja uma melhora na biodisponibilidade de carotenoides é recomendável à ingestão de lipídios conjunta com a ingestão de carotenoides ou o acréscimo de gordura dietética durante o processamento, pois a maioria de frutos e vegetais apresentam baixo teor lipídico, no entanto é necessário cautela pois proporcionam um aumento no teor energético dos alimentos (SAINI; NILE; PARK, 2015).

Assim, fatores relacionados à bioacessibilidade como tratamento térmico, barreiras estruturais (matriz, integridade da parede, bio-encapsulação) e

a adição de lipídios, são fundamentais na determinação da biodisponibilidade dos carotenoides (SAINI; NILE; PARK, 2015).

Outro fator que pode influenciar no processo de absorção das vitaminas de um alimento particular ou de uma refeição, é a fisiologia do indivíduo. O estado nutricional do indivíduo, suas condições fisiológicas (baixa capacidade de absorção de lipídios, infecções, diarreias, problemas gastrointestinais, infestações parasitárias) e fatores genéticos (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Isso pode ser observado em indivíduos com hipovitaminose A, pois não possuem a mesma eficiência que indivíduos sadios na bioconversão dos carotenoides pró-vitamínicos A em retinol. A desnutrição energético-proteica também afeta a biodisponibilidade de vitamina A / carotenoides pró-vitamínicos, pois mesmo com as reservas hepáticas de retinol adequadas, a síntese de RBP pelo fígado é prejudicada e pode ocorrer dificuldade de liberação do retinol das reservas hepáticas. Outro fator que pode prejudicar a síntese da RBP é a deficiência de zinco e é através da ligação de uma RBP intracelular que o retinol é captado na superfície das células de vários tecidos. A captação do ácido retinóico do plasma sanguíneo também se dá por uma proteína ligadora de ácido retinóico intracelular encontrada em diversos tecidos (DUESTER, 2000).

### 2.9.3 Métodos de avaliação da biodisponibilidade de carotenoides

Os métodos utilizados para determinar a biodisponibilidade de carotenoides, são:

Soro/plasma: Por ser um procedimento simples a resposta sérica ou plasmática, após a ingestão de carotenoides tem sido bastante utilizada. Entretanto, essa resposta pode ser altamente variável, os carotenoides presentes no soro representam o balanço da absorção intestinal e da liberação do estoque corporal, o soro humano possui carotenoides endógenos e a provitamina A pode ser metabolizada para éster de retinila durante a absorção intestinal (COZZOLINO, 2016).

Quilomícrons: A concentração de carotenoides é feita a partir da concentração em frações de lipoproteínas ricas em triacilgliceróis (quilomícrons e VLDLs). Esse método permite a diferenciação de carotenoides recém-absorvidos dos carotenoides endógenos. Esta técnica é utilizada para estimar a variabilidade inter e intrapessoal de absorção de  $\beta$ -caroteno e a conversão intestinal em éster de retinila (BERNI, 2014)

Balanço: Compara o consumo de carotenoides e a excreção fecal, estimando a absorção de carotenoides, particularmente dos alimentos. Tem como limitante a secreção de carotenoides endógenos e a degradação dos carotenoides (COZZOLINO, 2016).

Isótopos estáveis: São utilizados biomarcadores ( $^{13}\text{C}$ ), e a partir do rastreamento dos carotenoides marcados é possível entender a dinâmica corporal do metabolismo da vitamina A. Esse método permite distinguir os carotenoides de fonte alimentares, dos secretados por via endógena, permite avaliar a extensão da conversão intestinal dos carotenoides em vitamina A, estimar a absorção absoluta e o metabolismo pós-absortivo e a utilização de baixas doses, evitando influências de carotenoides endógenos (COZZOLINO, 2016).

Célula Caco-2: São estudos *in vitro* que utilizam células do intestino (Caco-2) para avaliar a absorção em enterócitos. Esse método fornece a biodisponibilidade relativa a um padrão comparado às preparações contendo carotenoides e vitamina A em alimentos e matrizes artificiais. No entanto, podem oferecer resultados que nem sempre condiz com os resultados obtidos em humanos (BERNI, 2014).

Digestão *in vitro*: Consiste na simulação *in vitro* das fases gástrica e intestinal da digestão (COZZOLINO, 2016).

*Estudos in vivo*: Estudos *in vivo* procuram obter resultados mais próximos da realidade, levando em consideração fatores fisiológicos e são necessários para determinar a biodisponibilidade e atividade de vitamina A (COZZOLINO, 2016).

### 3 OBJETIVOS

A partir da batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*), cultivar Beauregard, produzir e caracterizar farinha e formulações de bolo, bem como avaliar a biodisponibilidade de carotenoides pró-vitamínicos A em modelo animal.

#### 3.1 Objetivos específicos

- Realizar a caracterização da batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*) cv. Beauregard *in natura* quanto aos parâmetros físico-químicos e conteúdo de carotenoides pró-vitamínicos A;
- Realizar a caracterização da farinha e bolos produzidos a partir da batata-doce biofortificada com relação aos parâmetros físico-químicos e conteúdo de carotenoides pró-vitamínicos A;
- Determinar a biodisponibilidade de carotenoides pró-vitamínicos A em batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*) cv. Beauregard e em seus derivados: farinha e bolos, a partir de estudos *in vivo*;
- Verificar o depósito de vitamina A nos diferentes órgãos e tecidos (fígado, pulmão, glândulas suprarrenais e rins).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental foi dividida em três etapas.

Primeira etapa: Análise do solo, plantio; colheita; processamento; obtenção da farinha de batata-doce biofortificada e preparo dos bolos.

Segunda etapa: Análise físico-química e de carotenoides da batata-doce biofortificada e seus derivados: farinha e bolos e cálculo da composição das rações que foram oferecidas aos Gerbils durante o experimento.

Terceira etapa: Ensaio biológico; coleta de materiais para análise da biodisponibilidade de carotenoides pró-vitamínicos A e análise estatística.

### 4.1 Análise do Solo

Não foi necessário realizar a análise do solo pois já era conhecida a sua classificação e se haveria ou não necessidade de adubação antes do plantio.

### 4.2 Plantio e colheita

#### 4.2.1 Obtenção da rama de batata-doce (*Ipomoea batatas*) cv. Beauregard

Foram utilizadas neste estudo ramos de batata-doce de polpa alaranjada (*Ipomoea batatas*) cv. Beauregard, fornecidas pelo programa de melhoramento genético da Embrapa Hortaliças, sediada em Brasília - DF, no Núcleo Rural Vargem da Benção - Gama.

As ramos foram multiplicadas e plantadas no campo experimental do Escritório de Canoinhas da Secretaria de Inovação e Negócios da Embrapa, sediada em Canoinhas – SC (26°10'38" S, 50°23'24" W, 839 m de altitude).

#### 4.2.2 Preparo do solo, plantio e colheita

O município de Canoinhas (SC) encontra-se situado no Planalto Norte de Santa Catarina, a uma latitude de 26°10'38"S, longitude de 50°23'24"W de Greenwich e altitude de 765 metros acima do nível do mar. Possui clima mesotérmico úmido, com predomínio de uma temperatura média de 17°C, sendo que nos meses de junho, julho e agosto são frequentes as geadas. Não possui estação seca e os verões são frescos. A precipitação pluviométrica média é de 1.473,3 mm. anuais.

Está inserido em uma região de floresta ombrófila mista (floresta com araucária ou pinheiro brasileiro) e nos sub-bosques ocorre o predomínio da erva-mate, que historicamente é uma das maiores riquezas econômica de Canoinhas. O relevo é constituído por planalto com superfícies planas a onduladas e montanhosas com denudação periférica que favorece a agricultura (PREFEITURA CANOINHAS, 2018).

O solo do local do plantio foi classificado de acordo com o sistema brasileiro de classificação de solos como Latossolo Vermelho Distrófico (Embrapa, 2006). Não foi realizada adubação no plantio, pois a área havia sido cultivada na safra anterior com batata quando foram aplicadas 2,5 toneladas por hectare de adubo químico NPK na fórmula 04-14-08, atendendo a todas as especificações recomendadas para a cultura.

O plantio foi realizado em 20 de março de 2017. Foram plantadas ramas com duas gemas, uma sob o solo e outra deixada sobre o solo, em camalhão, com espaçamento de 0,35 m entre mudas e 0,75 m entre linhas ou camalhões (Figura 5).



**Figura 5:** Modo como as ramas foram dispostas no terreno.

Após o plantio o solo foi umedecido e os tratos culturais (capinas e irrigações) foram feitos manualmente sempre que necessários.

A colheita foi realizada em 03 de agosto de 2017 e os tubérculos foram encaminhados ao Laboratório de Nutrição e Dietética da PUC Campinas - Pontifícia Universidade Católica de Campinas para processamento.

### **4.3 Processamento e obtenção de farinha de batata-doce biofortificada**

Todo o procedimento foi realizado sem o uso de iluminação artificial e com baixa incidência de iluminação natural.

#### **4.3.1 Recepção e seleção das raízes**

No transporte das raízes ao laboratório de Nutrição e Dietética da PUC Campinas, foram adotados todos os cuidados necessários, a fim de evitar danos físicos, que poderiam acelerar a sua deterioração (SILVA, 2010).

Antes de serem processadas, as raízes foram dispostas sobre uma superfície plana e passaram por uma seleção visual, no qual foram avaliadas suas condições exteriores, como: cor, danos físicos ocasionados durante o transporte, podridões, ferimentos causados por patógenos, estado de maturação, cheiro, textura, estado da casca e tamanho (SOUSA, 2015).

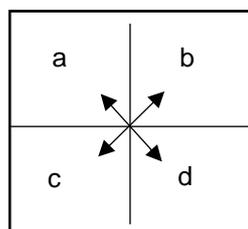
Essa seleção serviu para evitar que raízes danificadas ou estragadas devido à ação de microrganismos, viessem a alterar o sabor da farinha e de seus produtos finais, pois são fatores que proporcionam um sabor amargo à farinha e conseqüentemente características sensoriais indesejáveis aos produtos finais. Também serviu para eliminar o material residual que geralmente acompanha as raízes (SILVA, 2010).

### 4.3.2 Amostragem

Após a recepção e seleção das raízes foi realizada uma amostragem, com o intuito de separar amostras representativas do lote para a realização das análises físico-químicas e de carotenoides.

Para obter a quantidade de amostra necessária que representasse verdadeiramente a composição média do todo, foi realizada a contagem da quantidade total de raízes (115 unidades); a partir dessa contagem foram coletadas amostras correspondentes a  $\sqrt{x}+1$ , sendo x igual ao número de unidades do lote, conforme orientação do Instituto Adolfo Lutz (2008) chegando-se ao valor de 12 unidades de batata-doce.

Para a seleção das 12 unidades realizou-se o processo de quarteamento. As raízes foram misturadas e espalhadas de maneira homogênea sobre uma cartolina branca dividida em quatro partes iguais (quatro quartis) com o auxílio de um barbante. Cada quartil foi identificado com as letras a, b, c e d, de modo que a e d, b e c eram opostos (Figura 6).



**Figura 6:** Disposição dos quartis na cartolina.

Foram retiradas as raízes alocadas nos quartis a e d, o restante das raízes presentes nos quartis b e c foram misturadas e dispostas novamente sobre a cartolina para a repetição do processo de quarteamento. Esse procedimento foi repetido até a obtenção das 12 raízes.

As raízes foram lavadas, higienizadas (conforme descrito no item 4.3.3), foi retirada a casca e a massa fresca (polpa) foi fatiada em cubos de aproximadamente 1 cm. Para representar a amostragem padrão, foi realizado

novamente o quarteamento, onde os cubos foram espalhados de forma homogênea sobre a cartolina. Os cubos de batata-doce dos quartis b e c foram retirados e foi misturado 300g do “quartil a” com 300g do “quartil d”. A massa resultante foi homogeneizada em liquidificador doméstico, até a obtenção de uma massa densa e uniforme e, encaminhada para a realização das análises.

Após a realização da amostragem foi iniciado o processamento das batatas-doces para a obtenção da farinha de batata-doce biofortificada.

#### 4.3.3 Lavagem e higienização

Com o auxílio de uma esponja foi realizada uma primeira lavagem do material em água corrente, para retirada de terra e focos de contaminação provenientes do campo.

Em seguida as batatas-doces foram mergulhadas em balde plástico de 20L contendo hipoclorito de sódio a 200ppm por 15 minutos e posteriormente foram enxaguadas três vezes em água corrente.

#### 4.3.4 Escorrimento

As batatas-doces foram acondicionadas em esteiras de inox perfuradas para escorrer o excesso de água e enxugadas com papel toalha para retirada do excesso de umidade externa. Esse procedimento é importante, pois diminui o tempo de secagem e economiza energia no processo de retirada de umidade do alimento (SILVA, 2010).

#### 4.3.5 Pesagem

Após o processo de escorrimento as raízes foram pesadas em balança digital (precisão de 1g) para obtenção do peso bruto (PB). Posteriormente, com o

auxílio de um descascador de legumes, foi feita a remoção da casca e de defeitos que atingiam a polpa, tais como: ataques de brocas, qualquer injúria sofrida pela raiz e a ponta (por ser uma região endurecida com deposição celulósica e lignificada), posteriormente foram pesadas novamente para obtenção do peso líquido (PL).

#### 4.3.6 Corte

Utilizando uma faca, as batatas-doces foram cortadas transversalmente em três ou quatro pedaços, em seguida em fatias finas, com aproximadamente 10mm. As fatias foram cortadas em cubos menores com auxílio de cortador manual de vegetais metálico, modelo tripé com navalha de 10 mm, para tornar o processo de secagem mais eficiente.

Após o corte os cubos foram imediatamente acondicionados em panelas de inox com tampa de modo a minimizar o contato com o oxigênio e luz ambiente.

#### 4.3.7 Branqueamento

O branqueamento como etapa que antecede a secagem tem por finalidade a inativação de enzimas que aceleram a degradação dos compostos carotenoides durante a estocagem, além de ser um procedimento vantajoso por propiciar a gelatinização do amido presente, fixação da cor e desinfecção do produto.

Para esse procedimento foi utilizada uma panela de inox, na qual os cubos foram submetidos ao vapor na temperatura de ebulição da água ( $95^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) por um período de 2 minutos, seguido de drenagem, resfriamento em temperatura ambiente e remoção de água com papel absorvente.

Após esse processo foram acondicionados em embalagens de Laminado Multi Camada (LMC) composto por 3 camadas, impermeável a oxigênio

e com barreira à luz, embalados a vácuo e submetidos a congelamento rápido em temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , durante 2 horas, sendo estocadas a esta temperatura até a realização da secagem.

#### 4.3.8 Secagem

Os cubos de batatas-doces foram distribuídos em bandejas de inox (aproximadamente 2,5 kg por bandeja) e submetidos a secagem no secador de bandeja Proctor & Scharz a temperatura de  $60^{\circ}\text{C}$  por 6 horas.

#### 4.3.9 Moagem

Após secagem, os cubos de batatas-doces foram moídos em moinho de martelo TREU. A moagem foi realizada em duas etapas. Na primeira moagem utilizou-se peneira de abertura de 3,2mm e na segunda moagem foi utilizada peneira de 1,5mm.

A farinha obtida foi pesada, a fim de obter informações de rendimento no processo de obtenção da farinha.

#### 4.3.10 Empacotamento e Armazenamento

A farinha foi acondicionada em embalagem de Laminado Multi Camada (LMC), composto de poliolefinas para termossoldagem com copolímero barreira ao oxigênio e com camada interna pigmentada de preto para proteção contra a luz e radiação ultravioleta, seladas a vácuo e armazenadas em local fresco ( $10^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ).

Foi retirada uma amostra de 200g para as análises físico-químicas e de carotenoides pró-vitamínicos A.

#### 4.4 Rendimento

A batata-doce utilizada para o preparo da farinha, foi pesada antes do processo de secagem e após a obtenção do produto. Para o cálculo do rendimento foi utilizado a seguinte equação (SILVA, 2010):

$$R = (PAS/PIN) \times 100.$$

Onde: R = rendimento (%), PAS = peso após secagem, PIN = peso inicial

#### 4.5 Granulometria

Para determinar o tamanho das partículas (classificação granulométrica) utilizou-se um agitador de peneiras.

Foram peneiradas 100 g da farinha de batata-doce biofortificada durante 10 minutos em conjunto de peneiras com 35 (0,50mm de abertura), 40 (0,425mm de abertura), 45 (0,35mm de abertura), 60 (0,250mm de abertura), 80 (0,180mm de abertura), 120 (0,125mm de abertura), 140 (0,105mm de abertura), 170 (0,088mm de abertura) ABNT e a base. As quantidades retidas em cada peneira e na base foram pesadas e expressas em porcentagens de retenção (GERMANI, BENASSI e CARVALHO, 1997).

Para o cálculo da granulometria foi utilizado a seguinte fórmula:

$$(N \times 100) / P = \text{Retenção na peneira por cento}$$

Onde: N = nº de grama da amostra retida na peneira; P = nº de grama da amostra.

#### 4.6 Preparo de bolos com batata-doce *in natura* e farinha de batata-doce biofortificada

Foram desenvolvidas preparações “piloto” com o objetivo de definir quais ingredientes seriam utilizados e em qual proporção, de modo que, conferissem ao produto final boas características físicas, sensoriais (aparência e cor) e palatáveis (sabor e textura).

A partir destes testes optou-se pelas formulações descritas da Tabela 1 e os ingredientes utilizados na elaboração dos bolos, exceto a batata-doce e a farinha de batata-doce, foram adquiridos em supermercados localizados no município de Campinas, SP.

Na formulação do Bolo 1 foi utilizada a farinha de batata-doce e na formulação do Bolo 2 a batata-doce *in natura*. A batata-doce *in natura* e a farinha de batata-doce foram a única fonte de vitamina A deste alimento.

Após o preparo dos bolos foram separados 200g de amostra do Bolo 1 e 200g de amostra do Bolo 2 para análise físico-químicas e de carotenoides e o restante foi encaminhado para a produção das rações que foram oferecidas as cobaias durante o período de ensaios biológicos.

**Tabela 1** Ingredientes e proporções utilizados nas formulações de bolo preparado com batata-doce *in natura* e com a farinha de batata-doce.

Ingrediente	Bolo1		Bolo 2	
	Farinha de batata-doce		Batata-doce <i>in natura</i>	
	g	%	g	%
Açúcar Mascavo	195	19,81	195	20,59
Água	192	19,51	48	5,07
Batata-doce <i>in natura</i>	-	-	186	19,64
Chocolate em pó	115	11,68	115	12,14
Clara	123	12,50	127	13,41
Farinha de Arroz	152	15,45	152	16,05
Farinha de Batata-doce	83	8,44	-	-
Fermento em pó químico	15	1,52	15	1,58
Óleo de soja	109	11,08	109	11,51
Sal	0,1	0,01	0,1	0,01

#### 4.6.1 Modo de preparo Bolo 1: Farinha de batata-doce

Inicialmente todos os ingredientes foram pesados em balança digital. Em uma tigela foram peneirados os ingredientes secos: açúcar, chocolate em pó, farinha de arroz, farinha de batata-doce biofortificada e a pitada de sal, misturados e reservados.

No liquidificador doméstico foram batidos por 5 minutos as claras e o óleo até obter uma mistura homogênea. Em seguida essa mistura foi acrescentada aos ingredientes secos e homogeneizados manualmente com o auxílio de um batedor por 2 minutos.

Por último foi acrescentado água quente, fermento e misturados suavemente até obter uma massa homogênea. A massa foi colocada em uma assadeira previamente untada com óleo de soja e farinha de arroz e levada ao forno combinado pré-aquecido a uma temperatura de 180°C por 30 minutos.

#### 4.6.2 Modo de preparo Bolo 2: Batata-doce *in natura*

Inicialmente todos os ingredientes foram pesados em balança digital. As batatas-doces foram lavadas de acordo com o item 4.3, descascadas e picadas em pedaços menores. Em uma tigela foram peneirados os ingredientes secos: açúcar, chocolate em pó, farinha de arroz e a pitada de sal, misturados e reservados.

Em seguida foram batidos em liquidificador doméstico por 5 minutos: as claras, a batata-doce picada e o óleo até obter uma mistura homogênea. Essa mistura foi adicionada aos ingredientes secos e homogeneizada manualmente com o auxílio de um batedor por 2 minutos.

Por último foi acrescentado água quente, fermento e mexidos suavemente até obter uma massa homogênea. A massa foi colocada em uma assadeira previamente untada com óleo de soja e farinha de arroz e levada ao forno combinado pré-aquecido a uma temperatura de 180°C por 30 minutos.

#### **4.7 Composição Centesimal e Análise Físico-química da batata-doce *in natura* e seus derivados: farinha de batata-doce e bolos**

A batata-doce *in natura*, a farinha de batata-doce e os bolos produzidos, foram caracterizados com relação aos parâmetros físico-químicos: umidade, carboidratos, cinzas, fibras, lipídios, proteínas, acidez titulável, cor, pH, sólidos solúveis e o valor calórico.

As análises foram realizadas nos Laboratórios de Nutrição e Dietética, de Nutrição Experimental e Ensaio Biológicos, de Micronutrientes e de Química Analítica Instrumental do Centro de Ciências da Vida (CCV) da PUC Campinas, em triplicata e todos os reagentes empregados apresentaram pureza analítica (PA).

##### **4.7.1 Composição Centesimal**

###### **4.7.1.1 Umidade**

A umidade foi determinada por meio do método gravimétrico com emprego de calor segundo metodologia descrita pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1996).

Foram pesados 5g da amostra em cápsula de porcelana, previamente tarada e submetida a uma pré-secagem a 65°C em estufa, por 3 horas, após esse período foi resfriada em dessecador até temperatura ambiente e pesada.

Em seguida foi submetida à secagem definitiva a 105°C durante 3 horas, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Essa operação de aquecimento e resfriamento foi repetida a cada 1 hora até peso constante.

A quantificação da Umidade foi calculada através da seguinte equação:

$$\text{Umidade da Amostra a } 105^{\circ}\text{C (\%)} \text{ m/m} = 100 \times N / P$$

Onde: N = n° de gramas de umidade (perda de massa em g) e P = n° de gramas da amostra.

#### 4.7.1.2 Carboidratos

Foram estimados por diferença segundo a Equação:  $CT (\%) = (100 - [\% \text{ umidade} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ fibras} + \% \text{ lipídeos} + \% \text{ proteínas}])$ , na qual foi considerada a matéria integral. O resultado foi expresso em  $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  na base seca, conforme método descrito pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1996).

#### 4.7.1.3 Cinzas

O resíduo mineral fixo (cinzas) foi determinado por incineração da amostra em forno tipo mufla de acordo com metodologia descrita pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1996).

Foi pesado 5g de amostra em cápsula de porcelana, previamente tarada e levada a mufla, regulada a  $550^{\circ}\text{C}$  durante 4 a 5 horas. Após esse período foi resfriada em dessecador até temperatura ambiente e pesada. Esta operação foi repetida a cada uma hora até peso constante.

Para quantificação das cinzas foi utilizado a seguinte equação:

$$\text{Cinzas (\%)} \text{ m/m} = 100 \times N / P$$

Onde: N = n° de gramas de cinzas e P = n° de gramas da amostra.

#### 4.7.1.4 Fibras

As fibras foram determinadas por digestão ácida e básica e quantificadas por diferença de pesagem, conforme metodologia descrita pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1996).

#### 4.7.1.5 Lipídios

Para a determinação de gordura foi utilizado o método de Soxhlet conforme descrito pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1996).

Foi anotado o peso do balão de fundo chato, do cartucho de extração e pesado 5g de amostra diretamente no cartucho. Com o auxílio de uma pinça foi preenchido o espaço vazio do cartucho com um chumaço de algodão, o cartucho foi acondicionado dentro do tubo sifonado e encaixado ao balão de fundo chato. Após a montagem do aparelho para extração foi adicionado éter de petróleo suficiente para 2 refluxos, acionada a circulação de água pelo condensador e ligada a chapa de aquecimento. A extração foi realizada durante 6 horas.

Após esse período foi feita a retirada do éter de petróleo e o balão foi colocado sobre a chapa de aquecimento por um período de 15 minutos para evaporação. Em seguida o balão foi colocado em estufa a 105°C por 1 hora, resfriado em dessecador até a temperatura ambiente e pesado.

Para o cálculo de lipídeos foi utilizado a seguinte equação:

$$\text{Lipídeos \%} = (100 \times N)/P$$

Onde: N = n° de gramas de lipídeos e P = n° de gramas da amostra.

#### 4.7.1.6 Proteína

A proteína foi obtida pela determinação da porcentagem de nitrogênio da amostra pelo método de Kjeldahl descrito pela AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS (AACC) (AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL

CHEMISTS, 2010) e o valor de nitrogênio total foi multiplicado por um fator geral de conversão de nitrogênio em proteína de 6,25.

Foram pesados 200mg de amostra em tubo de ensaio próprio para digestão de proteína, juntamente com 1,5g de mistura catalítica (Sulfato de sódio e sulfato de cobre) e 5mL de ácido sulfúrico. Os tubos foram colocados em bloco digestor de proteína, a uma temperatura inicial de 100°C aumentada gradativamente até atingir 400°C. Após a viragem de cor (preta para verde) foi acrescentado às amostras 5 mL de água destilada. Também foi feita uma prova em branco somente com a mistura catalítica e o ácido sulfúrico.

As amostras resfriadas foram encaminhadas ao destilador de nitrogênio, foi adicionado ao tubo de digestão solução de hidróxido de sódio 50% até coloração preta e o conteúdo destilado foi coletado em Erlenmeyer de 200 mL contendo ácido bórico 2% e indicador misto (verde de bromocresol e vermelho metila). A captação da amônia no ácido bórico modificou o pH, fazendo com que a coloração do indicador mudasse de rosa para verde. O destilado coletado foi titulado com ácido clorídrico 0,02N, fatorado, até a coloração rósea.

Para a determinação da porcentagem de proteína utilizou-se o seguinte cálculo:

$$\% \text{ Nitrogênio (Proteína bruta)} = (V_a - V_b) \times f \times N \times 6,25 \times 0,0014 \times 100 / P$$

Onde:  $V_a$  = Volume de HCl empregado na titulação da amostra;  $V_b$  = Volume de HCl empregado para o branco;  $f$  = fator de correção do HCl;  $N$  = Normalidade do HCl; 6,25 = Fator de conversão do Nitrogênio em Proteína; 0,0014 = Miliequivalente grama do Nitrogênio e  $P$  = Peso da amostra.

## 4.7.2 Análise físico-química

### 4.7.2.1 Acidez

#### 4.7.2.1.1 Farinha de batata-doce

A acidez da farinha de batata-doce foi realizada conforme normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Em um pesa filtro de 25mL foi pesado 2,5g da amostra e transferida com o auxílio de 50mL de álcool, medido com pipeta volumétrica, para um frasco Erlenmeyer de 125mL com tampa. O frasco foi agitado algumas vezes e deixado em repouso por 24horas. Após esse período foi transferido 20mL, medido com pipeta volumétrica, do sobrenadante para um frasco Erlenmeyer de 125mL, adicionado duas gotas da solução de fenolftaleína e titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1N até coloração rósea persistente. Também foi feito uma prova em branco usando 20mL do mesmo álcool.

Para o cálculo da acidez foi utilizado a seguinte fórmula:

$$\text{Acidez em mL de solução N por cento v/m} = (V - V') \times f \times 100 / P \times c$$

Onde: V = nº de mL de hidróxido de sódio gasto na titulação da amostra; V' = nº de mL da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação do branco; f = Fator da solução de hidróxido de sódio 0,1N; P = nº de g da amostra usada na titulação e c = Fator de correção 10 para solução de hidróxido de sódio 0,1N.

#### 4.7.2.1.2 Batata-doce *in natura* e Bolos

Devido à coloração da batata-doce e dos bolos, para a determinação da acidez foi utilizado o método potenciométrico, conforme normas analíticas do IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). O método baseia-se na titulação potenciométrica da amostra com solução de hidróxido de sódio onde se determina o ponto de equivalência pela medida do pH da solução.

Foi utilizado pHmetro calibrado com as soluções tampão de 6,86 e 4,01 de acordo com as instruções do fabricante. Foram pesados 5g da amostra e diluídas com 100 mL de água em um béquer de 300 mL. Após homogeneização da amostra o eletrodo foi mergulhado na solução e foi realizada a titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1N até a faixa de pH de 8,2 a 8,4.

Para o cálculo da acidez foi utilizado a seguinte equação:

$$\text{Acidez em mL de solução, por cento, v/m} = (V \times f \times 100) / P \times c$$

Onde: V = nº de mL da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação; f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio; P = massa da amostra em g e c = Fator de correção (10 para solução de hidróxido de sódio 0,1N e 100 para solução de hidróxido de sódio 0,01N).

#### 4.7.2.2 Cor

Foi determinada utilizando espectrofotômetro Konica Minolta CM-5, iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, com resultados apresentados no sistema CIELab (L\* [luminosidade], a\* [intensidade; -a/+a, verde/vermelho], b\* [tonalidade ou matriz; -b/+b, azul/amarelo]).

#### 4.7.2.3 pH

A determinação do pH foi realizada utilizando o método eletrométrico 02-52.01, descrito pela AACCC. (AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS, 2010).

Foram pesados 10g de amostras em frasco Erlenmeyer e adicionado 100mL de água destilada. O frasco foi agitado até que as amostras ficassem em suspensão e livre de pedaços. A suspensão foi mantida sob agitação, por 15 min para farinha de batata-doce e batata-doce *in natura* e 30 min para os bolos, em agitador magnético. Após esse tempo foi mantido em repouso por 10 minutos.

Em seguida o eletrodo do potenciômetro previamente calibrado foi introduzido no líquido sobrenadante para determinar o pH. Os resultados foram expressos em unidades de pH.

#### 4.7.2.4 Sólidos solúveis (Brix)

##### 4.7.2.4.1 Batata-doce *in natura*

Para a análise de sólidos solúveis foi necessário obter o extrato da batata-doce com o auxílio de um Mixer doméstico. Foram pesados 2g do extrato e colocados em uma seringa de 10mL contendo um pedaço de algodão no orifício de saída, e efetuada uma pressão no êmbolo da seringa para que ocorresse o gotejamento. As gotas foram coletadas e analisadas em refratômetro portátil com capacidade para 30 Brix a 20°C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

##### 4.7.2.4.2 Farinha de batata-doce e bolos

Para a análise de sólidos solúveis foram pesados em um béquer 10g da farinha de batata-doce e bolos, adicionado 50mL de água destilada e homogeneizados. Foram pesados 2g da amostra e colocados em uma seringa de 10mL contendo um pedaço de algodão no orifício de saída, e efetuada uma pressão no êmbolo da seringa para que ocorresse o gotejamento. As gotas foram coletadas e analisadas em refratômetro portátil, com capacidade para 30 Brix a 20°C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

### 4.8 Valor Calórico

A determinação do valor calórico (Kcal/100) foi efetuada com base na composição da batata-doce biofortificada e de seus derivados: farinha e bolos, utilizando os fatores de conversão de Atwater (ou calor de combustão) para proteínas 4 kcal/g; carboidratos 4 kcal/g e lipídios 9 kcal/g (ATWATER; WOODS, 1896).

#### 4.9 Quantificação de $\beta$ -caroteno da batata-doce *in natura* e seus derivados: farinha de batata-doce e bolos

O  $\beta$ -caroteno foi determinado segundo Carvalho, Collins e Rodriguez-Amaya (1992).

Os carotenoides contidos em cerca de 5g do produto foram extraídos com 30mL de acetona em desintegrador, de forma sequencial, até a amostra ficar de coloração amarelo palha ou incolor. As frações foram combinadas e transferidas para éter de petróleo e o volume ajustado para 50mL.

A detecção e quantificação do  $\beta$ -caroteno foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em inglês High performance liquid chromatography (HPLC) em sistema de eluição isocrático, com fase móvel composta por acetonitrila: metanol: acetato de etila: trietilamina (72, 95:20:07:0,05, v/v/v/v), vazão de 1,5mL min<sup>-1</sup>, e monitoração a 450nm.

As análises foram realizadas no cromatógrafo, com a coluna analítica LiChrospher 100 RP-18. 125x4mm, 5 $\mu$ m. A padronização externa foi realizada com  $\beta$ -caroteno, artigo C4582.

#### 4.10 Determinação do valor diário de referência (VD)

O valor diário de referência foi calculado em relação a uma porção de 50g da batata-doce *in natura* e seus derivados: farinha e Bolo 1 e 2, com base nos valores médios preconizados pelo FNDE (2009) para crianças com idade entre 6 a 10 anos.

De acordo com o PNAE são seis os micronutrientes que devem ser priorizados na alimentação escolar, sendo 4 minerais e 2 vitaminas: cálcio, ferro, magnésio, zinco, vitaminas A e C. Estes micronutrientes foram selecionados pelo fato da do ferro e vitamina A serem considerados carências endêmicas no Brasil; a vitamina C por ajudar na absorção do ferro; o cálcio por estar envolvido no crescimento ósseo; e o magnésio e zinco por serem participantes do

desenvolvimento cognitivo. Para o cálculo dos valores diários foram utilizados os valores de referência e a metodologia preconizados pelo Institute of Medicine (FNDE, 2009).

Para o cálculo dos macronutrientes foi utilizado as faixas da porcentagem de macronutrientes em relação a quantidade de energia a ser consumida sugeridas pela OMS em seu relatório sobre dieta, nutrição e prevenção de doenças crônicas (WHO, 2003) e adotadas para a população brasileira pelo Ministério da Saúde, por meio do Guia Alimentar para a População Brasileira (BRASIL, 2006). Onde foi preconizado para o público beneficiário do PNAE: Carboidratos (%): 55-75 (65); Proteínas (%): 10-15 (12,5) e Lipídios (%): 15-30 (22,5).

Neste trabalho foi utilizado as médias da faixa percentual: CHO = 65%, PTN = 12,5%, LIP = 22,5%, conforme orientação do PNAE (FNDE, 2009).

#### 4.11 Preparo das Rações

As concentrações de carotenoides alvo na dieta foram estimadas de acordo com: 1) a utilização estimada de VA, taxa de 3,1 mg / (100 g de corpo. dia) para Gerbils; 2) o pressuposto de que a eficiência de conversão de  $\beta$ -caroteno para VA de Gerbils estão inseridos no intervalo dos seres humanos (LEE *et al.*, 1998); 3) uma margem de segurança para perdas durante a granulação e armazenamento; e 4) a média/ quantidade de alimento consumido por Gerbils (8-10g/(100g corpo. dia)).

House *et al.* (1997) demonstraram que Gerbils machos crescem normalmente quando alimentados com a dieta de roedores AIN-93G. Mediante isso, as dietas experimentais foram preparadas segundo as especificações da dieta padrão AIN-93G (REEVES; NIELSEN; FAHEY JR., 1993), exceto pela concentração de Vitamina A que foram de 6 UI, ao invés das 4 UI recomendadas. Também foram usadas misturas vitamínicas (AIN-93-VX) e de minerais (AIN-93G-MX) recomendadas pelo “American Institute of Nutrition” (AIN) e descritas por Reeves, Nielsen, Fahey Jr., (1993) no preparo das dietas. Exceto na dieta do

período de depleção que foi modificada para não conter vitamina A (incluindo carotenoides de pró-vitâmicos A). Todas as dietas, exceto a dieta sem vitamina A, tiveram atividades estimadas equivalentes de vitamina A (6 UI) e foram ajustadas para serem isocalóricas e isoprotéicas.

Foram preparadas seis dietas experimentais (rações) assim constituídas: 1) Dieta padrão AIN93G com 6UI de Vitamina A; 2) A fonte de vitamina A foi a farinha de batata-doce biofortificada; 3) A fonte de vitamina A foi o bolo de farinha de batata-doce e 4) A fonte de vitamina A foi o bolo de batata-doce *in natura*. Exceto na ração controle (AIN93G), a única fonte de VA das rações foram os alimentos biofortificados.

#### 4.12 Ensaios Biológicos

Todos os procedimentos de manuseio de animais foram aprovados pela CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica de Campinas, parecer nº 038/2017 (Anexo 1).

##### 4.12.1 Animais

Foram utilizados vinte e cinco Gerbils, Esquilo da Mongólia (*Meriones unguiculatus*), machos, nascidos em 17, 18 e 22/01/2018, com 35 a 41 dias de idade, desmamados em 16/02/2018 e com pesos corporais de 50,94g (+/- 6,97).

##### 4.12.2 Aclimação

Os animais foram encaminhados ao Laboratório de Nutrição Experimental da PUC-Campinas, pesados e acondicionados em gaiolas metabólicas onde receberam água e ração *ad libitum*. Foi oferecida dieta peletizada livre de VA,  $\beta$  e  $\alpha$ -caroteno.

Foram mantidos na temperatura de 22°C +/- 2°C; umidade entre 40-60% constante e iluminação em ciclos de 12h luz:12h escuro.

Esse período teve duração de uma semana e teve por finalidade a adaptação dos Gerbils à dieta, ao meio ambiente laboratorial e estabilização dos níveis de VA no sangue e tecidos corporais (DEMING *et al.*, 2000). Durante esse período os animais foram monitorados diariamente com relação ao estado geral de saúde, peso e ingestão do alimento.

#### 4.12.3 Depleção

Posteriormente a aclimatação os animais continuaram a receber durante quatro semanas dieta peletizada livre de VA,  $\beta$  e  $\alpha$ -caroteno, que de acordo com Sulaeman *et al.* (2002) são necessárias para que os animais (Gerbils) produzam estado marginal de vitamina A.

Durante esse período foram mantidas as condições ambientais, Os animais tinham acesso a água e dieta *ad libitum* e foram monitorados diariamente com relação ao estado geral de saúde, peso e ingestão do alimento.

Após esse período, um grupo de 5 animais, foi selecionado aleatoriamente e foi realizada a eutanásia (descrito no item 4.11.4) para determinar os níveis basais de VA,  $\beta$  e  $\alpha$ -caroteno no sangue e tecidos.

#### 4.12.4 Repleção

Os Gerbils restantes foram pesados e classificados em grupos de tratamento de acordo com o peso (de forma que os pesos corporais não fossem diferentes) e passaram a receber suas respectivas dietas. Para que os resultados tivessem significância estatística foi necessário que cada grupo tivesse um N de 5 animais (ECKELMAN *et al.*, 2007). Mediante isso, foram utilizados 5 animais em cada tipo de tratamento, perfazendo um total de 20 animais.

O grupo 1 (G1) foi o grupo controle e recebeu dieta comercial (AIN93G); o grupo 2 (G2) recebeu dieta preparada com farinha de batata-doce biofortificada; o grupo 3 (G3) dieta preparada com bolo elaborado com farinha de batata-doce biofortificada e o grupo 4 (G4) dieta preparada com bolo elaborado com batata-doce *in natura*. Os animais receberam de 10g a 15g de dieta/dia e a água foi oferecida *ad libitum*.

Essa fase teve duração de quatro semanas e os animais foram monitorados diariamente com relação às condições de saúde, peso e ingestão de alimentos.

#### 4.12.5 Eutanásia e coleta de material biológico

Transcorrido esse período, foi realizada a eutanásia com Quetamina/Xilazina (95:5, v/v), através de aplicação intraperitoneal de 0,2mL/100g de peso corporal. Na noite anterior os animais foram privados de alimentação e pela manhã foram pesados para quantificação da dose.

As amostras de sangue foram colhidas em Vacuette Tube, contendo 5mL Z Serum Sep. Clot Activator e 5mL Z Soro Ativador de Coag. Gel, por punção cardíaca. O sangue coletado foi centrifugado durante 15 minutos a 3400rpm para isolamento do soro. O soro obtido foi colocado em microtubo âmbar e armazenado em temperatura < -20°C.

Posteriormente, foi procedida a remoção total do fígado, pulmão, glândulas suprarrenais e rins. Os tecidos foram enxaguados com água destilada, secos e imediatamente colocados sob refrigeração. Logo após foram transferidos para o freezer a uma temperatura de -20°C para análises subsequentes.

#### 4.12.6 Análise de vitamina A no soro/plasma e tecidos por HPLC

O preparo e análise das amostras foram realizados sem o uso de iluminação artificial e com baixa incidência de iluminação natural.

A análise de Vitamina A no soro/plasma e nos tecidos por HPLC foi realizada com Kit para análise de vitamina A/E da Chromsystems Diagnostics by HPLC & LC-MS / MS gentilmente doado pela empresa Biosys Ltda.

O Kit permite a determinação simultânea das vitaminas A e E em sistema HPLC isocrático com detecção UV. O kit é composto de: fase móvel, reagente de precipitação 1 e 2, padrão interno e frascos de reação âmbar.

Também são utilizados: Padrão de calibração de Vitaminas A/E em soro (liofilizado). Controle de Vitamina A/E Soro, Bi-Nível (I+II)

Depois de reconstituído, o calibrador foi submetido ao mesmo processo de preparo das amostras. Para reconstituir o soro calibrador liofilizado, foi pipetado 1mL de água destilada no frasco, agitado gentilmente até o conteúdo ficar homogêneo e deixado de repouso em temperatura ambiente por cerca de 15 minutos.

Os controles de soro nível I + nível II também foram submetidos ao mesmo processo de preparo das amostras e foram incluídos em cada série analítica, para monitorar a exatidão e precisão do sistema. Foram reconstituídos com 2mL de água destilada, agitados gentilmente até o conteúdo ficar homogêneo e deixados 15 minutos em repouso na temperatura ambiente para permitir a completa reconstituição.

Todas as amostras de soro foram preparadas em frasco âmbar, da seguinte forma:

- a) Foi pipetado 200 $\mu$ L de amostra (soro/plasma, calibrador, controle) + 20 $\mu$ L de Padrão Interno + 25 $\mu$ L de Reagente de Precipitação I e agitados por 30s no vórtex da marca Marconi.
- b) Em seguida foram adicionados 400 $\mu$ L do reagente de Precipitação II e novamente agitados por 30s no vórtex.
- c) Após esse processo foram centrifugadas em centrifuga da marca MiniSpin por 10 minutos a 9.000g (11.626rpm).
- d) Foi utilizado 50 $\mu$ L de sobrenadante no sistema de HPLC.

Para a leitura foi utilizado o equipamento de HPLC da marca ProStar, e a coluna Cromatográfica Equilibrada da Chromsystems, ajustado para um volume

de injeção de 50µL, tempo de corrida analítica de 9min, razão de fluxo de 1,5mL/min., temperatura da coluna entre 20 e 25°C. O detector de UV foi programado para iniciar em  $\lambda_{\max} = 325\text{nm}$ , após 3,5 min. mudar para 295nm.

Para os cálculos foi utilizado a seguinte fórmula:

$$C_{\text{Analito, amostra}} [\text{mg/L}] = (A_{\text{Amostra}} \times I_{\text{S}_{\text{Calibrador}}}) / (A_{\text{Calibrador}} \times I_{\text{S}_{\text{Amostra}}}) \times C_{\text{Calibrador}}$$

Onde:  $A_{\text{Amostra}}$  = Altura do pico do analito A no cromatograma da amostra;  $A_{\text{Calibrador}}$  = Altura do pico do analito A no cromatograma do calibrador;  $I_{\text{S}_{\text{Amostra}}}$  = Altura do pico do padrão interno no cromatograma da amostra;  $I_{\text{S}_{\text{Calibrador}}}$  = Altura do pico do padrão interno no cromatograma do calibrador;  $C_{\text{Calibrador}}$  = Concentração C do analito A no calibrador (Informação vem junto com o calibrador).

Para os cálculos foram utilizadas as concentrações do Calibrador e Soro I e II apresentadas na Tabela 2:

**Tabela 2:** Concentrações de calibrador e Soro I e II do Kit para Análise de Vitamina A/E da Chromsystems.

	Substância	Unidade	Valor	DP
Calibrador	Retinol	mg/L	0,65	
		µmol/L	2,26	
	A - Tocopherol	mg/L	10,5	
		µmol/L	24,3	
Soro I	Retinol	mg/L	0,43	0,34 – 0,51
		µmol/L	1,49	1,19 – 1,79
	A - Tocopherol	mg/L	8,13	6,51 – 9,76
		µmol/L	18,9	15,1 – 22,7
Soro II	Retinol	mg/L	1,33	1,06 – 1,59
		µmol/L	4,62	3,70 – 5,55
	A - Tocopherol	mg/L	17,5	14,0 – 21,0
		µmol/L	40,7	32,5 – 48,8

#### 4.12.7 Biodisponibilidade de Vitamina A e cálculo do valor da atividade pró-vitamínica A (APVA)

Foi analisada através da comparação da quantidade de vitamina A dos grupos com dietas biofortificadas e a quantidade de vitamina A do grupo controle. Como a biodisponibilidade é a proporção absorvida do nutriente proveniente do alimento ou dieta usada pelo organismo, o aumento do valor de vitamina A (carotenoides) torna-se a medida da biodisponibilidade do elemento na dieta. Os resultados foram expressos como valor biológico relativo ou biodisponibilidade relativa.

O cálculo do valor da atividade pró-vitamínica A (APVA) foi realizado considerando-se o teor de vitamina A como equivalente de retinol (RE) conforme a Resolução RDC nº269/2005 (BRASIL, 2005b) e segundo as novas recomendações do IOM (2002) que utiliza equivalentes de atividade de retinol (EAR).

#### 4.12.8 Métodos de avaliação biológica

##### 4.12.8.1 Determinação de ganho de peso (GP)

O ganho de peso (GP) foi determinado no 28º dia do experimento, no qual:

$$\text{GP} = \text{Peso do animal no final do experimento} - \text{Peso do animal no início do experimento}$$

##### 4.12.8.2 Determinação do consumo alimentar (CA)

O consumo alimentar foi determinado por meio da somatória em gramas (g) da dieta (ração) consumida durante os 28 dias de experimento.

$CA = \Sigma$  do consumo da dieta (g) do grupo teste

#### 4.12.8.3 Determinação da proteína consumida (PC)

A proteína consumida (PC) foi determinada através da somatória da dieta consumida durante os 28 dias de experimento multiplicado pela porcentagem de proteína da dieta (17%).

$PC = \text{Dieta consumida pelo grupo teste} \times \text{porcentagem de proteína da dieta do grupo teste}$

#### 4.12.8.4 Coeficiente de eficácia alimentar (CEA)

O coeficiente de eficácia alimentar (CEA) determina quanto um grama da dieta (ração) ingerida promove em aumento de peso corporal. Foi determinado pela relação entre ganho de peso (GP) dos animais e a ração (dieta) consumida (CA) entre os dias zero e o 28º dia.

$$CEA = GP / CA$$

#### 4.12.8.5 Determinação do Coeficiente de Eficácia Proteica (CEP)

Foi determinado pela relação entre o ganho de peso (GP) dos animais e o consumo de proteína (CP) destes entre o dia zero e o 28º dia. Para o cálculo do CEP foi utilizada a seguinte fórmula (HEGSTED, 1977):

$CEP = \text{ganho de peso (g) do grupo-teste} / \text{proteína consumida (g) pelo grupo-teste.}$

### 4.13 Análises Estatísticas

Foi realizada análise exploratória dos dados através de média, desvio padrão, mínimo, mediana e máximo. Os grupos foram comparados através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn. O nível de significância considerado foi de 5% (CONOVER, 1999).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Processamento da farinha de batata-doce biofortificada

#### 5.1.1 Rendimento

Para o processamento da farinha de batata-doce foram utilizados 72,217 Kg de batata-doce com casca (PB), com peso médio de 331,7g, após a higienização e a retirada de aparas resultaram em 62,412 Kg de batata-doce (PL) empregados na produção da farinha de batata-doce. Ao final do processo de secagem e moagem foi obtido 6,886 Kg de farinha de batata-doce apresentando um rendimento de 9,53% em relação a matéria-prima (Tabela 3).

**Tabela 3** . Rendimento da batata-doce *in natura* no processamento de farinha de batata-doce.

Peso Bruto (PB)	Peso Líquido (PL)	Peso da Farinha	Rendimento
72,217Kg	62,412Kg	6,886Kg	9,53%

#### 5.1.2 Granulometria

A tabela 4 apresenta a análise granulométrica da farinha de batata-doce biofortificada utilizada na elaboração dos bolos.

**Tabela 4.** Distribuição percentual do tamanho de partículas da Farinha de Batata-doce biofortificada (FBDB)

ABNT	Abertura (mm)	FBDB (%)
35	0,500	9
40	0,425	4
45	0,350	9
60	0,250	12
80	0,180	24
120	0,125	18
140	0,105	3
170	0,088	4
Base > 170	>0,088	17

A FBDB alcançou um percentual de 66% de partículas com tamanho menor que 60 ABNT (0,250mm de abertura).

## 5.2 Composição centesimal

### 5.2.1 Valores médios da composição centesimal

Os resultados apresentados nas Tabelas 5, 6 e 7 referem-se a composição centesimal e valor calórico da batata-doce *in natura*, da farinha de batata-doce e dos bolos. Esses foram utilizados para se determinar a composição das dietas experimentais (rações) utilizadas no ensaio biológico onde foram avaliadas a biodisponibilidade de carotenoides pró-vitamínicos A desses produtos.

**Tabela 5.** Composição centesimal da batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*), cv. Beauregard.

<b>Parâmetro (g/100g)</b>	<b>Base Úmida (BU)</b>	<b>Base Seca (BS)</b>
<b>Umidade</b>	85,19 (0,09)	-
<b>Cinzas</b>	0,78 (0,07)	5,27 (0,07)
<b>Proteínas</b>	0,83 (0,02)	5,61 (0,02)
<b>Lipídios</b>	0,15 (0,04)	1,04 (0,04)
<b>Carboidratos</b>	12,26 (0,08)	82,77 (0,08)
<b>Fibras</b>	0,79 (0,05)	5,31 (0,05)
<b>(Kcal/100)</b>	53,71	362,88

Cada valor foi obtido por meio da média  $\pm$  desvio padrão de três repetições.

**Tabela 6.** Composição centesimal da farinha de batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*), cv. Beauregard.

<b>Parâmetro (g/100g)</b>	<b>Base Úmida (BU)</b>	<b>Base Seca (BS)</b>
<b>Umidade</b>	10,51 (0,05)	-
<b>Cinzas</b>	3,96 (0,05)	4,43 (0,05)
<b>Proteínas</b>	7,14 (0,07)	7,98 (0,07)
<b>Lipídios</b>	0,64 (0,02)	0,71 (0,02)
<b>Carboidratos</b>	74,68 (0,07)	83,45 (0,07)
<b>Fibras</b>	3,07 (0,04)	3,43 (0,04)
<b>(Kcal/100)</b>	333,04	372,11

Cada valor foi obtido por meio da média  $\pm$  desvio padrão de três repetições.

**Tabela 7.** Composição centesimal do bolo elaborado com farinha de batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*), cv. Beauregard (B1) e do bolo elaborado com a batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*), cv. Beauregard *in natura* (B2).

Parâmetro (g/100g)	Formulação	Base Úmida (BU)	Base Seca (BS)
<b>Umidade</b>	<b>B1</b>	26,61 (0,08)	-
	<b>B2</b>	26,93 (0,09)	-
<b>Cinzas</b>	<b>B1</b>	2,05 (0,03)	2,8 (0,03)
	<b>B2</b>	2,12 (0,04)	2,9 (0,04)
<b>Proteínas</b>	<b>B1</b>	4,08 (0,04)	5,56 (0,04)
	<b>B2</b>	4,15 (0,04)	5,68 (0,04)
<b>Lipídios</b>	<b>B1</b>	10,39 (0,07)	14,16 (0,07)
	<b>B2</b>	11,84 (0,07)	16,21 (0,07)
<b>Carboidratos</b>	<b>B1</b>	53,02 (0,04)	72,25 (0,04)
	<b>B2</b>	50,09 (0,07)	68,55 (0,07)
<b>Fibras</b>	<b>B1</b>	3,84 (0,06)	5,23 (0,06)
	<b>B2</b>	4,87 (0,09)	6,66 (0,09)
<b>Valor Calórico (Kcal/100)</b>	<b>B1</b>	321,91	438,68
	<b>B2</b>	323,52	442,81

Cada valor foi obtido por meio da média  $\pm$  desvio padrão de três repetições.

### 5.2.2 Comparação entre as amostras

As medidas descritivas das variáveis matéria seca, umidade, carboidrato, cinzas, fibra, lipídios e proteína bruta e resultado da análise estatística entre as amostras encontram-se nas tabelas 8 a 14.

**Tabela 8** – Comparação entre as amostras para a variável de matéria seca

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
<b>Matéria Seca</b>	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	14,81 <sup>B</sup>	0,02	14,80	14,81	14,83	0,016
	Bolo 1	3	73,39 <sup>AB</sup>	0,04	73,36	73,38	73,44	Farinha
	Bolo 2	3	73,07 <sup>AB</sup>	0,08	72,99	73,08	73,15	>
	Farinha de batata-doce	3	89,49 <sup>A</sup>	0,03	89,47	89,48	89,53	Batata

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

**Tabela 9** – Comparação entre as amostras para a variável de umidade

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
<b>Umidade</b>	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	85,19 <sup>A</sup>	0,09	85,09	85,21	85,26	0,016
	Bolo 1	3	26,61 <sup>AB</sup>	0,08	26,54	26,61	26,69	Batata
	Bolo 2	3	26,93 <sup>AB</sup>	0,09	26,84	26,93	27,01	>
	Farinha de batata-doce	3	10,51 <sup>B</sup>	0,05	10,47	10,49	10,56	Farinha

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

**Tabela 10** – Comparação entre as amostras para a variável de carboidratos

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
<b>Carboidrato</b>	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	82,77 <sup>AB</sup>	0,08	82,68	82,79	82,84	0,016
	Bolo 1	3	72,25 <sup>AB</sup>	0,04	72,21	72,26	72,28	Farinha
	Bolo 2	3	68,55 <sup>B</sup>	0,07	68,48	68,57	68,61	>
	Farinha de batata-doce	3	83,45 <sup>A</sup>	0,07	83,38	83,47	83,51	Bolo2

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

**Tabela 11** – Comparação entre as amostras para a variável de cinzas

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
<b>Cinzas</b>	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	5,27 <sup>A</sup>	0,07	5,21	5,25	5,35	0,016
	Bolo 1	3	2,80 <sup>B</sup>	0,03	2,78	2,79	2,83	Batata
	Bolo 2	3	2,90 <sup>AB</sup>	0,04	2,86	2,89	2,94	>
	Farinha de batata-doce	3	4,43 <sup>AB</sup>	0,05	4,39	4,42	4,49	Bolo 1

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

**Tabela 12** – Comparação entre as amostras para a variável de fibras

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
<b>Fibras</b>	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	5,31 <sup>AB</sup>	0,05	5,26	5,31	5,35	0,018
	Bolo 1	3	5,23 <sup>AB</sup>	0,06	5,17	5,24	5,29	Bolo 2
	Bolo 2	3	6,66 <sup>A</sup>	0,09	6,56	6,67	6,74	>
	Farinha de batata-doce	3	3,43 <sup>B</sup>	0,04	3,38	3,45	3,45	Farinha

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

**Tabela 13** – Comparação entre as amostras para a variável de lipídios

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
<b>Lipídios</b>	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	1,04 <sup>AB</sup>	0,04	0,99	1,05	1,07	0,016
	Bolo 1	3	14,16 <sup>AB</sup>	0,07	14,08	14,18	14,21	Bolo 2
	Bolo 2	3	16,21 <sup>A</sup>	0,07	16,15	16,19	16,29	>
	Farinha de batata-doce	3	0,71 <sup>B</sup>	0,02	0,69	0,71	0,73	Farinha

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

**Tabela 14** – Comparação entre as amostras para a variável de proteínas

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
Proteínas	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	5,61 <sup>AB</sup>	0,02	5,59	5,62	5,63	0,017
	Bolo 1	3	5,56 <sup>B</sup>	0,04	5,51	5,57	5,59	Farinha
	Bolo 2	3	5,68 <sup>AB</sup>	0,04	5,64	5,68	5,72	>
	Farinha de batata-doce	3	7,98 <sup>A</sup>	0,07	7,91	7,97	8,05	Bolo 1

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

### 5.3 Característica físico-química da batata-doce *in natura* e seus derivados: farinha e bolos

#### 5.3.1 Valores médios das Características físico-químicas

Na Tabela 15 apresentam-se os valores médios encontrados para as características físico-químicas da batata-doce *in natura* e seus derivados (farinha e bolos). E os resultados relativos à cor estão apresentados na Tabela 16 expressa valores relativos à cor.

**Tabela 15:** Valores médios das características físico-químicas (acidez, brix e pH) da batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*), cv. Beauregard e seus derivados: farinha e bolos.

Parâmetro	Batata-doce	Farinha	Bolo 1	Bolo 2
Acidez	0,94 (0,01)	0,24 (0,04)	1,37 (0,03)	0,54 (0,03)
Brix	12,97 (0,06)	6,13 (0,06)	3,93 (0,12)	3,2 (0,10)
pH	6,07 (0,04)	5,57 (0,03)	7,50 (0,08)	7,96 (0,02)

Cada valor foi obtido por meio da média  $\pm$  desvio padrão de três repetições.

**Tabela 16:** Valores médios relativa à cor da batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*), cv. Beaugard e seus derivados: farinha e bolos.

	<b>Amostra</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
<b>Batata-doce in natura</b>	1	51,46	19,39	28,22
	2	49,74	17,4	27,89
	3	51,23	22,15	31,97
<b>Média</b>		50,81	19,65	29,36
<b>Desvio Padrão</b>		0,93	2,39	2,27
<b>Farinha de Batata- doce</b>	1	69,94	14,93	25,33
	2	69,79	15,09	25,66
	3	70,35	14,49	24,87
<b>Média</b>		70,03	14,84	25,29
<b>Desvio Padrão</b>		0,29	0,31	0,40
<b>Bolo 1</b>	1	26,23	2,02	1,25
	2	26,05	1,93	1,47
	3	26,12	2,05	1,24
<b>Média</b>		26,13	2,00	1,32
<b>Desvio Padrão</b>		0,09	0,06	0,13
<b>Bolo 2</b>	1	26,81	2,92	1,87
	2	26,53	2,69	1,67
	3	26,19	2,08	1,22
<b>Média</b>		26,51	2,56	1,59
<b>Desvio Padrão</b>		0,31	0,43	0,33

### 5.3.2 Comparação entre as amostras

As medidas descritivas das variáveis acidez, brix e pH e resultado da comparação entre as amostras encontram-se nas tabelas 17 a 19.

**Tabela 17** – Comparação entre as amostras para a variável de acidez

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
<b>Acidez</b>	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	0,94 <sup>AB</sup>	0,01	0,93	0,94	0,95	0,016
	Bolo 1	3	1,37 <sup>A</sup>	0,03	1,34	1,37	1,39	Bolo 1
	Bolo 2	3	0,54 <sup>AB</sup>	0,03	0,52	0,54	0,57	>
	Farinha de batata-doce	3	0,24 <sup>B</sup>	0,04	0,20	0,24	0,28	Farinha

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

**Tabela 18** – Comparação entre as amostras para a variável de Brix

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
<b>Brix</b>	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	12,97 <sup>A</sup>	0,06	12,90	13,00	13,00	0,015
	Bolo 1	3	3,93 <sup>AB</sup>	0,12	3,80	4,00	4,00	Batata
	Bolo 2	3	3,20 <sup>B</sup>	0,10	3,10	3,20	3,30	>
	Farinha de batata-doce	3	6,13 <sup>AB</sup>	0,06	6,10	6,10	6,20	Bolo 2

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

**Tabela 19** – Comparação entre as amostras para a variável de pH

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
pH	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	6,07 <sup>AB</sup>	0,04	6,03	6,08	6,10	0,016
	Bolo 1	3	7,50 <sup>AB</sup>	0,08	7,45	7,47	7,59	Bolo 2
	Bolo 2	3	7,96 <sup>A</sup>	0,02	7,94	7,96	7,98	>
	Farinha de batata-doce	3	5,57 <sup>B</sup>	0,03	5,54	5,56	5,60	Farinha

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

#### 5.4 Quantificação de $\beta$ -caroteno

Os resultados apresentados na Tabela 20 referem-se ao teor de  $\beta$ -caroteno da batata-doce *in natura*, da farinha de batata-doce e dos bolos. Esses valores foram utilizados para se determinar a composição das dietas experimentais (rações) utilizadas no ensaio biológico onde foram avaliadas a sua biodisponibilidade.

**Tabela 20** – Valores médios relativos ao teor de  $\beta$ -caroteno da batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*), cv. Beauregard e seus derivados: farinha e bolos e a quantidade equivalente de vitamina A.

	$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )			Média	Desvio Padrão	Vitamina A (UI / 100g)
	1	2	3			
Batata-doce <i>in natura</i>	8008	7657	7564	7743	+/- 234	4302
Farinha de batata-doce	24732	25086	24279	24699	+/- 404	13722
Bolo 1	3411	2984	2991	3129	+/- 244	1738
Bolo 2	1764	1578	1796	1713	+/- 118	952

UI = Unidade Internacional

#### 5.4.1 Comparação entre as amostras

Os resultados da análise estatística para o teor de  $\beta$ -caroteno e resultado da comparação entre as amostras encontram-se na Tabela 21.

**Tabela 21** – Comparação entre as amostras do teor de  $\beta$ -caroteno

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
$\beta$ - caroteno	Batata-doce " <i>in natura</i> "	3	7743 <sup>AB</sup>	234	7564	7657	8008	0,016
	Bolo 1	3	3129 <sup>AB</sup>	245	2984	2991	3411	Farinha
	Bolo 2	3	1713 <sup>B</sup>	118	1578	1764	1796	>
	Farinha de batata-doce	3	24699 <sup>A</sup>	405	24279	24732	25086	Bolo 2

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

#### 5.5 Determinação do valor diário de referência (VD)

De acordo com o FNDE (2009) para a alimentação de crianças em idade escolar, é recomendada a distribuição do valor energético total entre as refeições diárias de forma homogênea. Sendo feita a seguinte sugestão de percentuais: 20% do VET oferecido no Desjejum; 30% no Almoço; 30% no Jantar e 20% na alimentação oferecida pela escola.

A Tabela 22 apresenta os valores recomendados de macronutrientes e vitamina A preconizados pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) e os teores encontrados neste trabalho, em uma porção de 50g dos alimentos.

**Tabela 22** – Teores de macronutrientes e vitamina A de uma porção de batata-doce biofortificada (*Ipomoea batatas*), cv. Beauregard e seus derivados: farinha e bolos (50 g), comparados às recomendações preconizadas pelo PNAE.

	CHO (%) <sup>1</sup>	PTN (%) <sup>2</sup>	LIP (%) <sup>3</sup>	VIT. A (µg) <sup>4</sup>
Batata-doce	41,38	2,8	0,52	645,3
Farinha de batata-doce	41,72	3,99	0,35	2.058,3
Bolo 1	36,12	2,78	7,08	260,7
Bolo 2	34,27	2,84	8,10	142,8
PNAE 20%	65	12,5	22,5	120

1. Carboidrato; 2. Proteína; 3. Lipídeos e 4. Vitamina A

## 5.6 Formulação das Dietas experimentais

### 5.6.1 Depleção

A composição percentual dos ingredientes utilizados no preparo da dieta livre de vitamina A oferecida aos animais na fase de depleção encontra-se na Tabela 23.

**Tabela 23.** Composição da dieta oferecida aos Gerbils na fase de depleção (%)

<b>Ingredientes</b>	<b>g/Kg de Dieta (%)</b>
Caseína	20,0
Maltodextrina	13,2
Sacarose	10,0
Óleo de soja	7,0
Celulose microfina	5,0
Mistura vitamínica	1,0
Mistura mineral (sem ferro)	3,5
L-cistina	0,3
Bitartarato de Colina	0,25
Amido de milho	39,75

Fonte: Reeves, Nielsen, Fahey Jr. (1993).

A composição da mistura mineral teve por base a dieta AIN-93G-MX e a composição vitamínica teve por base a dieta AIN-93-VX (REEVES, NIELSEN, FAHEY Jr., 1993), porém livre de vitamina A.

### 5.6.2 Repleção

Na fase de repleção foram fornecidas aos diferentes grupos de animais as dietas descritas a seguir:

- G1 - dieta AIN-93G (controle);
- G2 - dieta contendo farinha de batata-doce biofortificada;
- G3 - dieta contendo bolo de farinha de batata-doce (Bolo 1);
- G4 - dieta contendo bolo de batata-doce *in natura* (Bolo 2);

As dietas oferecidas aos grupos G2, G3 e G4 foram preparadas com os diferentes alimentos-testes previamente secos e triturados e com base na dieta padrão para roedores AIN-93G (REEVES, NIELSEN, FAHEY Jr., 1993), utilizada no experimento como dieta controle ou de referência (grupo G1).

Todas as dietas preparadas eram isocalóricas e isoprotéicas e as quantidades dos ingredientes utilizados nas mesmas foram estabelecidas em base seca. Uma vez definidas as quantidades dos ingredientes (Tabela 24), estes foram devidamente misturados obtendo-se as rações ou dietas-testes.

**Tabela 24:** Composição das dietas oferecidas aos Gerbils na fase de repleção

Ingredientes	g/Kg de Dieta			
	AIN-93G	Farinha	Bolo1 <sup>1</sup>	Bolo 2 <sup>2</sup>
Amido de Milho	397,486	358,1	117,9	-
Caseína (≥ 85% de proteína)	200	197,4	183,4	169,2
Amido Dextrinizado (90-94% Tetrassacarídeos)	132	132	132	30,7
Sacarose	100	100	100	100
Óleo de Soja	70	69,6	34,2	-
Fibra (Celulose)	50	48,7	36,8	19,3
Mix Minerais (AIN-93G-MX)	35	35	35	35
Mix Vitaminas (AIN-93-VX)	10	-	-	-
Mix Vitaminas – 0% Vit. A (AIN-93-VX)	-	10	10	10
L-cistina	3	3	3	3
Bitartrato de colina (41,1% colina)	2,5	2,5	2,5	2,5
Tetra-butilhidroquinona (TBHQ)	0,014	0,014	0,014	0,014
Alimento Teste <sup>3</sup>	-	43,73	345,2	630,3

1. Bolo 1: elaborado com farinha de batata-doce; 2. Bolo 2: elaborado com batata-doce *in natura*; 3. Vitamina A 6 UI/g de dieta

## 5.7 Análise de vitamina A no soro/plasma e tecidos por HPLC

### 5.7.1 Depleção

As Tabelas 25 a 28 apresentam os valores médios encontrados de vitamina A no soro/plasma e nos tecidos: fígado, pulmão e rim após as quatro semanas de depleção.

**Tabela 25.** Concentração de Vitamina A no Soro/Plasma de Gerbils após quatro semanas de depleção.

<b>Amostra</b>	<b>Total (mg/L)</b>	<b>Total (<math>\mu</math>mol/L)</b>	<b>Média (mg/L)</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Média (<math>\mu</math>mol/L)</b>	<b>Desvio Padrão</b>
SVA - D01	0,33	1,15				
SVA - D02	0,36	1,26				
SVA - D03	0,16	0,56	0,25	0,08	0,87	0,29
SVA - D04	0,25	0,87				
SVA - D05	0,17	0,59				

**Tabela 26.** Concentração de Vitamina A nos Fígados de Gerbils após quatro semanas de depleção.

<b>Amostra</b>	<b>Total (mg/L)</b>	<b>Total (<math>\mu</math>mol/L)</b>	<b>Média (mg/L)</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Média (<math>\mu</math>mol/L)</b>	<b>Desvio Padrão</b>
SVA - D01	3,58	12,49				
SVA - D02	3,88	13,54				
SVA - D03	4,03	14,06	3,53	0,41	12,32	1,42
SVA - D04	2,94	10,26				
SVA - D05	3,54	12,35				

**Tabela 27.** Concentração de Vitamina A nos Pulmões de Gerbils após quatro semanas de depleção.

<b>Amostra</b>	<b>Total (mg/L)</b>	<b>Total (<math>\mu</math>mol/L)</b>	<b>Média (mg/L)</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Média (<math>\mu</math>mol/L)</b>	<b>Desvio Padrão</b>
SVA - D01	6,70	23,38				
SVA - D02	4,28	14,94				
SVA - D03	5,69	19,86	4,96	1,01	17,31	3,53
SVA - D04	4,38	15,29				
SVA - D05	4,48	15,64				

**Tabela 28.** Concentração de Vitamina A nos Rins e Adrenais de Gerbils após quatro semanas de depleção.

<b>Amostra</b>	<b>Total (mg/L)</b>	<b>Total (<math>\mu</math>mol/L)</b>	<b>Média (mg/L)</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Média (<math>\mu</math>mol/L)</b>	<b>Desvio Padrão</b>
SVA - D01	0,56	1,95				
SVA - D02	0,47	1,64				
SVA - D03	0,22	0,77	0,35	0,14	1,22	0,49
SVA - D04	0,28	0,98				
SVA - D05	0,35	1,22				

### 5.7.2 Repleção

A Tabela 29 mostra as medidas descritivas da Vitamina A no plasma sanguíneo dos diferentes grupos após o período de repleção.

**Tabela 29:** Valores de Vitamina A no Plasma Sanguíneo dos diferentes grupos após o período de repleção.

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
Total (mg/L)	SVA	5	0,248 <sup>A</sup>	0,082	0,160	0,235	0,360	0,102
	Grupo1	5	0,328 <sup>A</sup>	0,072	0,240	0,320	0,410	
	Grupo2	5	0,366 <sup>A</sup>	0,094	0,300	0,340	0,530	
	Grupo3	5	0,384 <sup>A</sup>	0,092	0,300	0,360	0,500	
	Grupo4	5	0,392 <sup>A</sup>	0,091	0,290	0,390	0,510	
Total (µmol/L)	SVA	5	0,867 <sup>A</sup>	0,287	0,558	0,820	1,256	0,110
	Grupo1	5	1,150 <sup>A</sup>	0,258	0,840	1,120	1,440	
	Grupo2	5	1,277 <sup>A</sup>	0,328	1,047	1,187	1,850	
	Grupo3	5	1,340 <sup>A</sup>	0,321	1,047	1,256	1,745	
	Grupo4	5	1,368 <sup>A</sup>	0,316	1,012	1,361	1,780	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

## 5.8 Métodos de avaliação biológica

Os dados referentes ao Ganho de Peso, Consumo Alimentar, Proteína Consumida, Balanço de Proteína Ingerida, Coeficiente de Eficácia Alimentar e Coeficiente de Eficácia Proteica dos animais após o final do experimento encontram-se na Tabela 30.

**Tabela 30:** Valores médios (desvio padrão) das variáveis Ganho de Peso (GP), Consumo Alimentar (CA), Proteína Consumida (PC), Balanço de Proteína Ingerida, Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA) e Coeficiente de Eficácia Proteica (CEP).

	GP	DP	CA	DP	PC	Balanço	CEA	CEP
Depleção*	17,4	3,2	190,4	17,6	32,4	-	0,09	0,54
Grupo 01*	5,5	1,1	150,2	8,4	25,5	25,50	0,04	0,22
Grupo 02*	5,3	2,3	160,5	9,0	27,3	27,25	0,03	0,19
Grupo 03*	8,5	1,4	186,9	5,6	31,8	31,71	0,05	0,27
Grupo 04*	7,2	3,0	189,9	5,5	32,3	32,19	0,04	0,22

\* Depleção: Animais alimentados com dieta livre de VA; Grupo 1: Animais alimentados com dietas controle AIN-93G; Grupo 2: Animais alimentados com dietas contendo farinha de batata-doce; Grupo 3: Animais alimentados com dietas contendo bolo 1 e Grupo 4: Animais alimentados com dietas contendo o bolo 2.

A Tabela 31 apresenta as medidas descritivas de consumo e ganho de peso de acordo com os grupos.

**Tabela 31:** Comparação entre os grupos para as variáveis de consumo e ganho de peso

Variável	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor
<b>Consumo Total</b>	SVA	30	190,38 <sup>A</sup>	17,33	127,10	191,85	217,40	<0,001
	Grupo1	5	150,20 <sup>C</sup>	9,12	135,00	154,60	157,60	
	Grupo2	5	160,46 <sup>C</sup>	9,39	152,70	158,50	175,50	SVA>G1, G2
	Grupo3	5	186,94 <sup>AC</sup>	6,20	179,30	185,40	195,80	
	Grupo4	5	189,90 <sup>A</sup>	6,13	179,30	191,90	194,40	G4>G1
<b>Média Semanal</b>	SVA	30	47,95 <sup>A</sup>	3,31	42,23	47,97	54,35	<0,001
	Grupo1	5	37,55 <sup>C</sup>	2,28	33,75	38,65	39,40	
	Grupo2	5	40,12 <sup>C</sup>	2,35	38,18	39,63	43,88	SVA>G1, G2
	Grupo3	5	46,74 <sup>AC</sup>	1,55	44,83	46,35	48,95	
	Grupo4	5	47,48 <sup>A</sup>	1,53	44,83	47,98	48,60	G4>G1

<b>Média Diária</b>	SVA	30	6,87 <sup>A</sup>	0,45	6,03	6,85	7,76	<0,001
	Grupo1	5	5,80 <sup>C</sup>	0,38	5,20	5,93	6,19	
	Grupo2	5	6,20 <sup>AC</sup>	0,37	5,83	6,13	6,82	SVA>G1
	Grupo3	5	7,04 <sup>A</sup>	0,22	6,75	7,02	7,35	G3,
	Grupo4	5	7,02 <sup>A</sup>	0,22	6,64	7,05	7,21	G4>G1
<b>Ganho de Peso</b>	SVA	30	17,40 <sup>A</sup>	3,07	12,90	17,10	24,60	<0,001
	Grupo1	5	5,50 <sup>B</sup>	1,16	4,10	5,10	7,10	
	Grupo2	5	5,34 <sup>B</sup>	2,42	3,00	4,90	8,50	
	Grupo3	5	8,52 <sup>AB</sup>	1,41	6,90	8,60	10,70	SVA>
	Grupo4	5	7,22 <sup>B</sup>	3,30	3,60	6,10	12,20	G1,G2,G4

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn com nível de significância de 5%.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Rendimento e granulometria da farinha de batata-doce biofortificada

#### 6.1.1 Rendimento

A farinha de batata-doce cultivar Beauregard apresentou um rendimento de 9,53% e as principais fontes de perdas foram as cascas, o alto teor de umidade da batata-doce e perdas relativas ao processo de obtenção da farinha. De acordo com Sousa (2015) podem ocorrer perdas de até 1/3 da matéria-prima utilizada para o processamento da polpa, estando as perdas (13,58%) ocorridas neste estudo durante o descascamento e separação dentro do limite aceitável.

Em estudo realizado por Silva (2010) com batata-doce cultivares Brazlândia Branca e Brazlândia Rosa foi encontrado, respectivamente, rendimento de aproximadamente 26,3 e 24%, semelhantes aos encontrados por

Araújo (2015) que apresentou 25,25%, 24,11% e 18,43% em diferentes temperaturas, 40°C, 50°C e 60°C respectivamente, resultados superiores à média de rendimento obtida nesse estudo. As variações de rendimento podem ter ocorrido devido ao tipo de processamento e secagem realizada e da temperatura a que foi submetida.

### 6.1.2 Granulometria

A granulometria da farinha constitui aspecto relevante na elaboração de massas alimentícias e produtos de panificação, pois a distribuição adequada de partículas propicia maior uniformidade do produto elaborado.

Os dados obtidos demonstram que 66% da FBDB apresentou uma granulometria pequena, menor que 60 ABNT (abertura de 0,250 mm), demonstrando a possibilidade de se obter a FBDB com granulometria próxima à estipulada para a farinha de trigo, que de acordo com a Portaria n. 354, de 18 de julho de 1996 (ANVISA, 2006) deve apresentar um percentual de 98% de partículas passando pela peneira com abertura de malha de 250  $\mu$ m.

A FBDB apresentou maior granulometria quando comparada com a farinha de trigo, entretanto esses resultados encontram-se de acordo com os dados relatados por Coelho e Woslacki (2010) que elaboraram farinha com bagaço de maçã e obtiveram 59,26% de partículas com granulometria menor que 60 mesh (0,250 mm). Já Perez e Germani (2004) obtiveram 87,7% de partículas menores que 60 mesh (0,250 mm) na farinha de berinjela, resultado superior ao encontrado neste trabalho.

As partículas da FBDB apresentaram distribuição relativamente homogênea, característica tecnológica importante, pois a absorção de água é altamente influenciada pela granulometria da matéria prima. Partículas finas e uniformes promovem uma maior dispersão da farinha na massa alimentícia e propiciam a absorção de água pelo alimento de forma homogênea resultando no cozimento uniforme e na elaboração de um produto final de melhor qualidade sensorial (BORGES *et al.*, 2009; PEREZ; GERMANI; 2004).

## 6.2 Composição centesimal

### 6.2.1 Umidade

Em alimentos a umidade consiste num dos índices mais importantes e avaliados, por refletir o teor de sólidos e a perecibilidade de um produto. Quando fora dos padrões estabelecidos resulta em perdas da estabilidade química, na deterioração microbiológica, em alterações fisiológicas e na qualidade geral dos alimentos, afetando itens como estocagem, processamento e embalagem (SOUSA, 2015).

Igualmente a outras raízes e tubérculos, a batata-doce possui um alto teor de umidade e baixa concentração de matéria seca (cerca de 30%). Cacace *et al.* (1994) agrupou cultivares de batata pelo teor de matéria seca, onde teores de 20% corresponde a um alto teor de matéria seca, 18 a 19% corresponde a um teor intermediário e < 17,9% baixo teor de matéria seca. Segundo essa classificação o cultivar em estudo pode ser enquadrada na classe de tubérculos com baixo teor de matéria seca apresentando uma média de  $14,81 \pm 0,02\%$  de matéria seca. Do ponto de vista industrial, existe um maior interesse em variedades que apresentem maior teor de matéria seca, pois resultam num maior rendimento do processo e menor quantidade de água residual (SILVA, 2010).

Na Tabela 8 nota-se que há diferença significativa entre as amostras para a Matéria Seca ( $p$ -valor = 0,016), sendo que a farinha de batata-doce apresentou maior valor (89,49%) que a batata-doce *in natura* (14,81%). Valores esperados tendo em vista a grande quantidade de água presente nos tubérculos.

O teor de umidade encontrado na batata-doce em estudo foi de  $85,19 \pm 0,09\%$ , superior aos valores obtidos por Velho (2016) e Wartha *et al.* (2015) de  $72,16 \pm 0,65\%$  e  $72,6 \pm 0,1\%$  respectivamente e dos  $72,9 \pm 1,4\%$  encontrados por Rautenbach *et al.* (2010), para um cultivar de polpa e pele cremes. Provavelmente tal diferença seja decorrente dos distintos cultivares avaliados, condições do solo e do clima (FONTES *et al.*, 2009).

De acordo com Fernandes *et al.* (2010), batatas-doces com baixo teor de matéria seca e alto valor de umidade podem ser indicadas para o cozimento, onde o elevado teor de umidade confere firmeza e manutenção da forma do tubérculo durante o preparo.

A farinha de batata-doce apresentou teor de umidade de  $10,51 \pm 0,05\%$ , estando de acordo com a Resolução RDC nº263 de 22 de setembro de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que estabelece um limite de 15% de umidade para farinhas (BRASIL, 2005).

Esse resultado corrobora com o resultado observado por Araújo (2015) que obteve teores de umidade em farinha de batata-doce integral variando entre 10,21%, 8,33% a 7,37% nas temperaturas de 40°C, 50°C e 60°C, respectivamente. Daron, Hojo e Silva (2017) em experimento realizado com diferentes cultivares de batata-doce, detectou valores inferiores ao encontrado neste trabalho para os cultivares Amélia (3,68%), Beauregard (6,06%) e Rubissol (1,53%); sendo que a variedade Beauregard foi a que apresentou maior teor de umidade. Mariano e Arruda (2015) trabalhando com o mesmo cultivar também apresentou valores médio de umidade inferiores (2,74%) demonstrando que o tipo de secagem empregado e a metodologia analítica podem ter influenciado nos diferentes teores de umidade encontrado.

Nos bolos preparados foram encontrados teor de umidade semelhantes, sendo de  $26,61 \pm 0,08$  para o Bolo 1 e de  $26,93 \pm 0,09$  para o Bolo 2. Quando comparada a umidade dos bolos de chocolate do presente estudo com o bolo de chocolate enriquecido com fígado bovino desenvolvido por Tiengo *et al.* (2015), é possível observar semelhança entre os teores de umidade (20,6%). Valor semelhante também foi verificado por Veit *et al.* (2012) que encontrou teor de umidade de  $23,38 \pm 1,26$  e por Poletto *et al.* (2015) que obteve média de  $20,06 \pm 0,018$  para os bolos de chocolate preparados. Entretanto, Rosa *et al.* (2009) relata valores de umidade de 37,66% e 35,17% para bolos elaborados com farinha de *Yacon*, superiores aos observados no presente estudo.

Apesar dos bolos apresentarem um maior valor de umidade que a farinha de batata-doce devido a adição de água em sua composição, a batata-doce apresenta um maior teor de umidade. Na Tabela 9 observa-se que a batata-

doce *in natura* apresentou maior valor (85,19%) que a farinha de batata-doce (10,51%) (p-valor = 0,016). Tal fato é esperado devido ao processo de secagem pelo qual a farinha é submetida.

## 6.2.2 Carboidratos

Dos sólidos presentes no alimento, o carboidrato foi o componente que apresentou maior concentração, evidenciando o seu uso pela população como fonte de energia. É constituído por extratos não nitrogenado, como os açúcares, o amido, as dextrinas, as hemiceluloses, as pectinas e a lignina, que são substâncias variáveis em quantidade, mas possuem alta digestibilidade e são fontes inespecíficas de energia (SILVA, 2010).

A batata-doce biofortificada apresentou teores de  $12,26 \pm 0,08$  %, inferiores aos encontrados em batata-doce comum 28,2% (NEPA - UNICAMP, 2011), semelhantes aos  $13,58 \pm 0,02$  % obtidos por Nolêto *et al.* (2015) em batata-doce biofortificada e superiores aos de 7,65% e 8,7% encontrados por Hacineaza *et al.* (2010) para cultivares de polpa alaranjada e polpa amarela, respectivamente.

A farinha de batata-doce apresentou valores médios de  $74,68 \pm 0,07$ % de carboidratos. Valor próximo ao encontrado por Mariano e Arruda (2015) que observaram um teor de carboidratos de 84,31%. Silva (2010) em estudo realizado com as cultivares Brazlândia branca e rosa observou valores médios de carboidratos de 67% e 58,7%, respectivamente.

Observa-se que o cultivar Beauregard apresenta uma maior concentração de carboidratos e essas variações podem ocorrer devido a influência do solo, clima, cultivar e da metodologia empregada na avaliação.

Os bolos apresentaram quantidades semelhantes,  $53,02 \pm 0,04$  no Bolo 1 e  $50,09 \pm 0,07$  no Bolo 2. O valor um pouco mais alto no Bolo 1 pode estar relacionado ao fato da farinha de batata-doce apresentar maior teor de carboidrato que a batata-doce *in natura*.

Tiengo *et al.* (2015) observaram médias de carboidratos semelhantes em bolos de chocolate enriquecido com fígado bovino ( $55,4 \pm 8,0$ ). Todavia Ortolan *et al.* (2016) apresentaram teor de carboidratos de  $44,39 \pm 0,31$  para cupcakes elaborados com farinha de baru.

O valor de carboidratos está relacionado a composição e secagem dos alimentos. Foi possível observar (Tabela 10) uma diferença significativa no teor de carboidratos entre a farinha de batata-doce e o Bolo 2, no qual a farinha de batata-doce apresentou maior valor de carboidrato que o Bolo 2 ( $p$ -valor = 0,016). Possivelmente isso ocorreu porque o Bolo 2 foi elaborado com a batata-doce *in natura* que possui menor concentração de carboidratos, devido ao alto teor de água em sua composição.

### 6.2.3 Cinzas

Os minerais desempenham diversas funções no organismo, agindo como íons dissolvidos em fluidos corpóreos, regulando as atividades de muitas enzimas, mantendo o equilíbrio ácido-base e a pressão osmótica (POLETTO *et al.*, 2015).

A determinação de cinzas indica a riqueza da amostra em elementos minerais. A batata-doce *in natura* apresentou uma média de  $0,78 \pm 0,07\%$ . Em comparação com os valores encontrados nesta pesquisa, foi verificado que os percentuais de matéria seca achados na literatura variaram tanto para valores inferiores ( $0,57\%$  (Santos *et al.*, 2014) para o cultivar de polpa alaranjada Lamark), quanto para valores superiores ( $0,90$  a  $1,41\%$  na estação seca e de  $1,86\%$  a  $0,59$  na estação chuvosa (Silveira *et al.*, 2011) em estudos realizados com variedades de polpa alaranjadas).

Provavelmente, tais diferenças sejam decorrentes das condições do solo, do clima, do cultivar avaliada e maturação das raízes (FONTES *et al.*, 2012).

Na farinha de trigo o teor de cinzas é utilizado como índice de pureza, sendo que teores de cinzas baixos indicam uma melhor qualidade, pois quanto maior o conteúdo de cinzas maior será a presença de farelo e,

consequentemente, maior teor de fibras que implicará em uma farinha de baixa qualidade, gerando produtos panificáveis com volume reduzido.

Geralmente farinhas oriundas de vegetais como a farinha de batata-doce possuem uma maior concentração de cinzas que as farinhas de trigo. No presente estudo foi verificado um teor de cinzas de  $3,96 \pm 0,05\%$  superior ao limite máximo estipulado para farinha de trigo tipo 1 e 2 (0,8%, 1,4%) e para a farinha de trigo integral (2,5%) (Brasil, 2005). Daron, Hojo e Silva (2017) analisaram farinhas de diferentes cultivares de batata-doce e observaram teor de 2,54% para o cultivar Amélia, 2,26% para o cultivar Rubissol e 3,23% para o cultivar Beauregard, que é o mesmo cultivar utilizada neste estudo. Mariano e Arruda (2015) também encontraram teor de cinza de 4,13% em farinha do cultivar Beauregard o que indica que esse cultivar apresenta uma maior concentração de minerais.

Os resultados da matéria mineral dos bolos de chocolate foram semelhantes entre si,  $2,05 \pm 0,03$  e  $2,12 \pm 0,04$ . Valores superiores ao encontrado por Veit *et al.* (2012) que observou 0,91% em bolo de chocolate padrão. Essa diferença pode ser justificada pelo fato de no estudo o bolo ter sido elaborado com farinha de trigo cujo padrão de qualidade está relacionado ao baixo teor de cinzas e os bolos do presente estudo terem sido elaborados com a farinha de batata-doce que apresenta maior teor de cinzas justificando maior concentração de minerais. Tal fato também pode ser observado na pesquisa desenvolvida por Poletto *et al.* (2005) que registrou um teor de cinzas de  $3,40 \pm 0,008$  para bolo de chocolate modificado em que utiliza a farinha integral em sua composição.

A batata-doce e a farinha de batata-doce apresentam maior concentração de minerais que os bolos elaborados mesmo com a adição do açúcar mascavo que é rico em minerais em sua composição. Houve diferença significativa entre o teor de cinzas da batata-doce *in natura* e o Bolo1 (p-valor = 0,016), no qual a batata-doce apresentou um maior teor de minerais que o Bolo 1. Isso pode estar relacionado ao fato do bolo 1 ter sido elaborado com farinha de batata-doce que possui uma menor concentração de cinzas que a batata-doce *in natura*.

#### 6.2.4 Fibras

A fibra bruta corresponde a porção do alimento em que são encontradas as frações de celulose e lignina. Importantes por servir de complemento a alimentação humana e trazer benefícios gastrointestinais, reduzindo a absorção de nutrientes, estimulando os movimentos peristálticos do intestino, aumentando a massa fecal, reduzindo o nível de colesterol do plasma sanguíneo e reduzindo a resposta glicêmica (GARCIA, 2013). No entanto, não constituem fonte de energia, por não poderem ser hidrolisadas pelas enzimas do intestino humano (SILVA, 2010).

Santos *et al.* (2014) encontraram na batata-doce valores médios de 1,21%, que são superiores aos encontrados neste estudo,  $0,79 \pm 0,05$ , em base úmida. Entretanto, segundo NEPA-UNICAMP (2011), a batata-doce, em base seca, possui 2,6% de fibra alimentar, valor este inferior à média de  $5,31 \pm 0,05$ , em base seca, observadas para o cultivar deste experimento.

Na farinha de batata-doce o valor de fibras totais encontrado foi de  $3,07 \pm 0,04$ , próximo ao relatado por Silva (2010) para os cultivares Brazlândia Branca e Rosa que foram respectivamente de 3,78% e 3,72% e por Borba *et al.* (2005) que relatou valor médio de 4,3%. Esses resultados corroboram com estudo realizado por Wosiacki *et al.* (1988) que encontrou valores homogêneos de fibras para as farinhas elaboradas com diferentes cultivares estudados.

O Bolo 1 apresentou teores de  $3,84 \pm 0,06$  inferior ao valor obtido no Bolo 2 que foi de  $4,87 \pm 0,09$ . Todavia, tanto o Bolo 1 quanto o Bolo 2 apresentaram valores superiores aos da NEPA-UNICAMP (2011) que indica teor de 1,4% de fibra em bolo de chocolate e aos encontrados por Ortolan *et al.* (2016) que verificaram 1,88% de fibra em cupcake elaborados com farinha de baru.

O Bolo 1 e o Bolo 2 apresentam maior concentração de fibra quando comparados a batata-doce e a farinha de batata-doce, possivelmente devido ao acréscimo a massa da farinha de arroz que possui fibras em sua composição.

O Bolo 2 apresentou uma diferença significativa de fibra com relação a farinha de batata-doce (p-valor = 0,018), apresentando uma maior concentração

de fibras que a farinha. Tal diferença provavelmente está relacionada ao fato de ter sido elaborado com a batata-doce *in natura* que possui uma maior quantidade de fibras, em base seca, que a farinha de batata-doce.

### 6.2.5 Lipídios

O presente estudo revelou teor de  $0,15 \pm 0,04\%$  na batata-doce *in natura*, semelhante ao conteúdo da batata-doce comum de 0,1% apresentado na NEPA - UNICAMP (2011). Freitas *et al.* 2007 encontrou taxas de lipídeos para batata-doce comum variando entre 0,3 a 0,8%, superiores aos encontrados nesse estudo e semelhantes aos encontrados por Santos *et al.* (2014) que observou teor de lipídios de 0,45%. O baixo teor de lipídios tem influência na biodisponibilidade dos carotenoides presentes na batata-doce, que por serem lipossolúveis necessitam da gordura para serem convertidos à vitamina A.

Na farinha o teor de lipídios observado foi de  $0,64 \pm 0,02\%$ . Quando comparado com outros estudos realizados com o cultivar Beauregard, encontra-se inferior aos 1,55% observados por Monteiro e Arruda (2015), se assemelha aos valor de 0,22% observado por Daron, Hojo e Silva (2017) e é superior ao encontrado por Remonato *et al.* (2017) cujo valor médio foi inferior a  $0,1 \pm 0,01\%$ , demonstrando grande variação de valores para o mesmo cultivar. Tal fato pode ocorrer devido a influência do clima e do solo aos quais os cultivares estudados foram expostos.

De acordo com Poletto *et al.* (2015), nos produtos de panificação, a gordura é utilizada para aumentar o volume da massa e melhorar a qualidade de conservação, mantendo a consistência da massa, evitando o ressecamento dos produtos, além de proporcionar maior sabor e aroma. O bolo de chocolate modificado elaborado em seu experimento apresentou um teor de lipídios de 4,74%, inferior ao encontrado no Bolo 1 de  $10,39 \pm 0,07\%$  e no Bolo 2 de  $11,84 \pm 0,07\%$ , segundo autores o valor baixo se deve ao fato de não ter sido adicionado gordura a mistura da massa, sendo que os lipídios observados foram oriundos dos demais ingredientes utilizados, tais como a gema do ovo e o chocolate.

No entanto, o bolo de chocolate enriquecido com fígado bovino também apresentou teor de lipídios inferior ( $7,1 \pm 0,3\%$ ) ao dos bolos elaborados neste experimento. Todavia o bolo de chocolate elaborado por Veit *et al.* (2012) apresentou valores superiores de  $16,03 \pm 0,32\%$ .

A batata-doce e a farinha de batata-doce possuem baixa concentração de lipídios, sendo que neste estudo a farinha apresentou uma concentração ainda menor que a batata-doce *in natura*. O Bolo 2 apresentou diferença significativa ( $p = 0,016$ ) com relação a farinha de batata-doce, exibindo uma maior concentração de lipídios que a farinha de batata-doce. O bolo apresenta maior teor de lipídios devido ao acréscimo de óleo de soja a massa.

#### 6.2.6 Proteína

Além da função nutricional, as proteínas apresentam propriedades organolépticas e de textura nos alimentos, podendo estar combinadas com lipídios e carboidratos. O termo proteína bruta contempla um grande grupo de substâncias com estruturas semelhantes, porém com distintas funções fisiológicas (SILVA, 2010).

De acordo com Filgueira (1982) pode ocorrer variações de 1 a 5% no teor de proteínas da batata-doce, valores próximos aos encontrados por Garcia (2013) que apresentou variações de 1,40 a 2,45%, respectivamente, para os cultivares Colorado e Harley Beckhell e inferior ao resultado encontrado neste estudo de  $0,83 \pm 0,02\%$  que também encontra-se abaixo do valor médio descrito na tabela brasileira de composição de alimento de 1,3% para cultivares brasileiras (NEPA - UNICAMP, 2011).

São diversos os fatores que influenciam a concentração de proteína nos tubérculos, entre eles o cultivar, a localização, a adubação e a maturidade dos tubérculos. Mas, ainda que a batata-doce não seja considerada uma fonte proteica importante do ponto de vista quantitativo, em termos nutricionais apresenta proteína com qualidade elevada, pois é constituída de aminoácidos essenciais como a metionina e a cisteína (BÁRTOVÁ, BÁRTA, 2009).

De acordo com Garcia (2013) o aumento de massa média e o acúmulo de amido durante a formação dos tubérculos podem contribuir para um menor teor de proteína.

Na farinha o teor de proteína foi de  $7,14 \pm 0,07$  estando acima dos observados por Silva (2010) para farinhas produzidas com o cultivar Brazlândia branca e rosa com valores de 3,14% e de 6,62%, respectivamente e de Remonato *et al.* (2017) que relatou teor médio de 1,70% para o cultivar Beauregard. Todavia o valor proteico encontrado se aproximou dos apresentados por Araújo (2015) cujos valores variaram entre  $6,81 \pm 0,33$ ,  $6,57 \pm 0,12$  e  $6,32 \pm 0,35$  de acordo com a temperatura ao qual foram submetidos, 40°C, 50°C e 60°C respectivamente. Mariano e Arruda (2015) encontraram um valor proteico médio de 7,28% muito próximo ao observado neste trabalho.

Daron, Hojo e Silva (2017) em estudo com de farinhas derivadas dos cultivares Amélia, Beauregard e Rubissol, encontrou teor proteico de 3,72%, 8,76% e 5,07%, respectivamente, evidenciando que dentre os cultivares estudados o cultivar Beauregard apresentou um maior valor proteico.

Os bolos elaborados apresentaram teor de proteína semelhantes, sendo que no Bolo 1 foi observado  $4,08 \pm 0,04\%$  e no Bolo 2 um teor de  $4,15\% \pm 0,04\%$ . Veit *et al.* (2012) relata uma maior concentração de proteínas de  $5,36 \pm 0,09\%$  no bolo de chocolate desenvolvido em seus estudos, assim como a NEPA - UNICAMP (2011) que apresenta valores de 6,2% para proteínas em bolo de chocolate. Tal fato, pode estar relacionado à baixa concentração de proteína no cultivar estudado.

Quando comparado os quatro alimentos (Tabela 14), observa-se que devido a secagem a farinha apresenta uma maior concentração de proteínas, seguida pela batata-doce *in natura* e dos Bolos 1 e 2 cujo acréscimo de outros ingredientes promove a diluição das proteínas na massa e conseqüentemente uma menor concentração. Mediante isso, a farinha de batata-doce apresentou diferença significativa do Bolo 1 (p-valor = 0,017), exibindo uma maior concentração de proteína. Tendo em vista que o Bolo 1 foi elaborado com a farinha de batata-doce, possivelmente o acréscimo de água a massa do bolo contribuiu com a redução do seu teor.

### 6.3 Característica físico-química da batata-doce *in natura* e seus derivados: farinha e bolos

#### 6.3.1 Acidez

A acidez mede a concentração total de ácido presente num alimento, sendo normalmente expressa em termos do ácido predominante. Nos vegetais é a presença de ácidos orgânicos, como o ácido cítrico, málico, láctico, tartárico e acético nos vacúolos das células na forma livre ou combinada com sais de ésteres que atribui sua acidez, além de interferir no aroma característico, na cor, na estabilidade microbiana, na conservação, e principalmente impactam no sabor dos alimentos (SADLER; MURPHY, 2010). Todavia, com a maturação ocorre uma diminuição do teor de ácidos orgânicos, pois são utilizados como substrato no processo respiratório ou convertidos em açúcar (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A batata-doce *in natura* apresentou um teor médio de acidez de  $0,94 \pm 0,01\%$  e encontra-se dentro da faixa máxima de 2,0% estipulada pelo Regulamento técnico para fixação dos padrões de Identidade e Qualidade para tubérculos (Brasil, 1996).

Valor inferior foi apresentado por Velho (2016),  $0,22 \pm 0,02\%$  para batata-doce *in natura* e Araújo (2015) que encontrou uma média de  $0,20 \pm 0,02\%$ . Santos *et al.* (2014) em estudo com a batata-doce biofortificada cultivar Lamark relatou valores de acidez de 2,69%, superiores ao encontrado neste estudo.

Nas farinhas o valor médio da acidez total titulável observado neste experimento foi de  $0,24 \pm 0,04$ , estando abaixo do limite máximo de 5% estabelecido por lei para farinhas (Brasil, 2005). Também é inferior ao valor encontrado por Araújo *et al.* (2016) que obteve valores de pH  $0,64 \pm 0,097$ ,  $0,60 \pm 0,036$  e  $0,52 \pm 0,073$  nas temperaturas 40°C, 50°C e 60°C, respectivamente e por Dos Santos (2012) que obteve valores médios de acidez titulável de 10,85% para a farinha de batata-doce.

Segundo Sousa (2015) a partir do teor de acidez nas farinhas é possível obter informações sobre o processo de fermentação ao qual foi submetido. Sendo que quanto menor a intensidade da fermentação ou tempo de processamento menor será o valor de acidez. Portanto, o resultado obtido para a acidez da farinha produzida nesta pesquisa indica que está armazenada adequadamente e sem qualquer indício de processo fermentativo.

O Bolo 1 apresentou acidez de  $1,37 \pm 0,03\%$  e o Bolo 2 de  $0,54 \pm 0,03\%$ . Não foi localizado estudos relacionados ao parâmetro de acidez em bolos para efeitos de comparação. No entanto o Bolo 1 apresentou maior acidez que o Bolo 2 indicando o início de um processo fermentativo. Devido a isso foi observado diferença significativa entre o Bolo 1 que apresentou maior acidez que a farinha de batata-doce ( $p$ -valor = 0,016).

### 6.3.2 Cor

A cor é um dos mais importantes atributos dos alimentos, pois serve como indicador da qualidade e aceitação do consumidor (Velho, 2016). Para a avaliação deste atributo de qualidade foram utilizados os parâmetros de cor instrumental por meio das coordenadas  $L^*$  (luminosidade) indicando brilho em uma escala que varia do branco ( $L = 100$ ) ao preto ( $L = 0$ ),  $a^*$  indicando intensidade no qual  $-a =$  verde e  $+a =$  vermelho e  $b^*$  indicando a tonalidade ou matriz com a faixa de cor entre  $-b =$  azul e  $+b =$  amarelo. Valores próximos a zero são indicativos de cores neutras (branco e/ou cinza).

Na batata-doce o valor médio encontrado para a coordenada  $L^*$  foi de  $50,81 \pm 0,93$ , para a coordenada  $a^*$   $19,65 \pm 2,39$  e para a coordenada  $b^*$   $29,36 \pm 2,27$  (Tabela 16), revelando um valor mediano de luminosidade e tendência para as cores vermelhas e amarela, que são característicos de carotenoides (CHITARRA, CHITARRA, 2005). O que condiz com a cor laranja de sua polpa devido ao alto teor de carotenoides.

O valor de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  encontrados neste estudo são distintos dos encontrados por Araújo *et al.* (2016), que acharam  $L^*$   $89,54 \pm 0,05$ ,  $a^*$   $-2,27 \pm 0,03$

e  $b^*$   $12,89 \pm 0,22$ , para o cultivar Rubissol, de polpa levemente amarelada, uma vez que os cultivares analisados são diferentes. Para o cultivar Rubissol o valor de  $L^*$  encontrado indica alta luminosidade da amostra (resultante de amostras claras), e o de  $a^*$  (negativo) e  $b^*$  (positivo) demonstram que a amostra tendeu para as cores verde e amarela, devido a característica amarelada de sua polpa.

Velho (2016) analisando a polpa de diversas cultivares, verificou que todos os cultivares apresentaram polpas claras com alto índice  $L^*$  ( $>76$ ), sendo que o cultivar Beacon Chipper demonstrou maior luminosidade (82,49) e o cultivar Pirassu o menor (76,61). Para a coordenada  $a^*$  todos os cultivares apresentaram valores negativos, evidenciando a intensa presença do componente de cor verde. A coordenada  $b^*$  foi maior para o cultivar Pirassu, diferindo das demais, mas todos os cultivares apresentaram alta fração do componente de cor amarela nas polpas.

Na farinha de batata-doce a luminosidade encontrada foi mais intensa apresentando valor de  $70,03 \pm 0,29$  e as coordenadas  $a^*$  e  $b^*$  apresentaram valores de  $14,84 \pm 0,31$  e  $25,29 \pm 0,40$ , respectivamente, evidenciando a predominância da cor laranja. Pagani *et al.* (2015) em estudos com farinhas branca e roxa relatou para os atributos de luminosidade ( $L^*$ ), respectivamente, valor médio de 67,06 e 50,53, que se assemelharam aos encontrados. No entanto para as coordenadas de  $a^*$  e  $b^*$  foram encontrados valores médios de 2,8 e 5,9 para  $a^*$  e 18,26 e 17,9 para  $b^*$ , inferiores aos verificados no presente estudo.

Isso pode ter ocorrido devido ao estudo ter sido realizado com farinhas de diferentes cultivares no qual os cultivares branco e roxo possuem polpas com coloração esbranquiçada intensa e o cultivar Beauregard polpa alaranjada.

Os valores de luminosidade ( $L^*$ ) encontrados para os bolos 1 e 2 foram semelhantes, sendo respectivamente  $26,13 \pm 0,09$  e  $26,51 \pm 0,31$ , demonstrando baixa luminosidade devido ao fato de conter chocolate em sua composição, fator que contribuiu para os valores de  $a^*$  e  $b^*$ , onde foram verificados,  $2,00 \pm 0,06$  (Bolo 1) e  $2,56 \pm 0,31$  (Bolo 2) para a coordenada  $a^*$  e  $1,32 \pm 0,13$  (Bolo 1) e  $1,59 \pm 0,33$  (Bolo 2) para a coordenada  $b^*$ , indicando a cor marrom de ambas as amostras. Não foram encontradas análise de cor de bolos de chocolate para serem comparados a esse estudo.

### 6.3.3 Brix

Os valores de sólidos solúveis são utilizados para verificar de forma indireta o teor de açúcares, que podem variar de 2 a 25% dependendo da espécie das raízes, do estágio de maturação e do clima.

Foram verificados na batata-doce teores de sólidos solúveis de  $12,97 \pm 0,06^\circ\text{Brix}$  próximos aos resultados apresentados por Silveira *et al.* (2011) em estudos com cultivares de polpa alaranjada, que encontrou variação de  $12,33^\circ\text{Brix}$  a  $9^\circ\text{Brix}$  nestes cultivares.

Nas farinhas o valor médio de sólidos solúveis ( $^\circ\text{Brix}$ ) encontrado foi de  $6,13 \pm 0,06^\circ\text{Brix}$ , não se enquadrando com as argumentações de CHITARRA; CHITARRA, (2005), de que os valores de sólidos solúveis tendem a aumentar quando passam pela secagem, devido à retirada da umidade que promove a concentração dos açúcares que se encontram diluídos, pois antes da secagem foi observado um teor de  $12,97 \pm 0,06^\circ\text{Brix}$ .

Araújo *et al.* (2016) encontrou valores de  $17,50 \pm 0,001^\circ\text{Brix}$ ,  $18,33 \pm 0,003^\circ\text{Brix}$  e  $19,01 \pm 0,004^\circ\text{Brix}$ , em farinha de batata-doce com secagem em diferentes temperaturas, semelhantes aos resultados encontrados por Pagani *et al.* (2015) de  $28 \pm 0,008^\circ\text{Brix}$  para farinha de batata-doce branca e  $22 \pm 0,002^\circ\text{Brix}$  para farinha de batata-doce roxa, todos superiores aos observados nesta pesquisa.

Tal fato pode ter ocorrido devido a diferença de cultivar e metodologia analítica.

Para os Bolos 1 e 2, respectivamente foram encontrados valores de  $3,93^\circ\text{Brix}$  e  $3,2^\circ\text{Brix}$ . Também não foram encontrados estudos relativos a esse parâmetro para efeitos de comparação. No entanto os resultados foram semelhantes e abaixo dos valores encontrados para a batata-doce *in natura* e para a farinha de batata-doce. Indicando baixa concentração de sólidos solúveis nos bolos. No entanto, era esperado um valor maior tendo em vista que foi adicionado açúcar mascavo a massa.

Foi encontrado diferença significativa entre a batata-doce *in natura* e o Bolo 2 (p-valor = 0,015), indicando que a concentração de açúcares na batata é maior que a do Bolo 2.

#### 6.3.4 pH

As amostras de batata-doce apresentaram um valor médio de pH de  $6,07 \pm 0,04$ , próximo ao pH encontrado por Fontes *et al.* (2012) que relataram um valor médio de  $6,17 \pm 0,00$  para cultivar de polpa amarela e de Araújo (2015) que apresentou uma média de  $6,63 \pm 0,66$  para batata-doce integral. Valores superiores foram verificados por Koubala *et al.* (2014), que encontraram pH  $6,90 \pm 0,03$  em cultivar de casca branca e polpa amarela.

As variações de pH observada podem ser decorrentes do consumo dos ácidos orgânicos durante o processo respiratório. É devido a essas variações que a medida do pH nos alimentos pode ser empregada para determinar a deterioração do alimento com crescimento de microrganismos, atividades de enzimas, verificação do estado de maturação de frutas, escolha da embalagem, dentre outros. Devido a sua importância para a limitação dos tipos de microrganismos capazes de se desenvolverem no alimento, foi elaborada uma classificação dos alimentos em função do pH, sendo divididos em pouco ácidos ( $\text{pH} > 4,5$ ), ácidos ( $4 > \text{pH} < 4,5$ ) e muito ácido ( $\text{pH} < 4,0$ ).

Os vegetais são considerados alimentos pouco ácidos, pois em sua maioria apresentam pH superior a 4,5 estando suscetíveis a deterioração por bactérias, bolores e leveduras (JAY, 2005). De acordo com Evangelista *et al.* (2011) tubérculos com pH acima de 6,0 apresentam bom estado de maturação e conservação.

Segundo Giori (2010), pH ácido interfere diretamente no processo de isomerização das ligações duplas conjugadas dos carotenoides, fazendo com que ocorra perda da configuração original trans e para a forma cis. Tal processo ocasiona a perda da intensidade da cor e da atividade pró-vitáminica A do alimento. O cultivar estudado apresentou valores de pH próximos à neutralidade,

que é o esperado para esse tipo de alimento, e adequado para a manutenção dos carotenoides presentes.

Para a farinha o valor médio de pH registrado neste trabalho foi de  $5,57 \pm 0,03$ , ratificando alguns estudos, tais como, o trabalho desenvolvido por Daron, Hojo e Silva (2017), com farinhas de diferentes cultivares que constataram valores de pH de 5,79, 5,09 e 5,25 para o cultivar Amélia, Beaugard e Rubissol, respectivamente e com estudos realizados por Silva (2010) com os cultivares Brazlândia Branca e Rosa que encontraram valores de pH de 5,4 e 5,5 respectivamente.

Em pesquisa realizada por Pagani *et al.* (2015), sobre a composição de farinhas de batata-doce branca e roxa foi verificado pH de 6,11 e 6,45, respectivamente, corroborando com os resultados encontrados por Araújo *et al.* (2016) que obteve pH de 6,02 para a farinha de batata-doce do cultivar Rubissol.

Neste sentido, tendo em vista os efeitos tóxicos que os microrganismos sofrem quando estão em um pH desfavorável (JAY, 2005), podemos constatar que o pH 6,07 verificado neste experimento é benéfico ao produto final, propiciando uma maior vida de prateleira.

Nos bolos 1 e 2 respectivamente foi verificado pH de  $7,5 \pm 0,08$  e de  $7,96 \pm 0,02$ . Estes resultados estão próximos aos encontrados por Poletto *et al.* (2015) que relatou uma média de  $7,05 \pm 0,065$  para bolo de chocolate integral. Pode-se considerar que o pH básico dos bolos indica uma curta vida de prateleira dos mesmos, sendo propício a proliferação de microrganismos. Tal fato, corroborando com os resultados de acidez que indicam uma propensão a fermentação.

Devido a isso houve diferença significativa de pH do Bolo 2 com o pH da farinha ( $p$ -valor = 0,016). O pH mais alto do Bolo 2 indica que possui menor tempo de prateleira que a farinha, o que é esperado, tendo em vista que possui maior quantidade de água em sua composição.

#### 6.4 Valor calórico

Constatou-se na batata-doce biofortificada valor calórico médio de 53,71 kcal/100g em base úmida e de 362,88 Kcal/100g em base seca. Santos *et al.* (2014) encontraram para a batata-doce biofortificada cultivar Lamark valores superiores de 110,17 Kcal / 100g. Também estão abaixo dos valores encontrados pela NEPA - UNICAMP (2011) para batata-doce comum de 118 Kcal/100g. Entretanto se levar em consideração o valor calórico da batata-doce em base seca este fornece três vezes mais energia que a da batata-doce comum.

Foi encontrado valor médio de 372,11 Kcal/100g para farinha de batata-doce cultivar Beauregard, resultado similar foi encontrado por Mariano e Arruda (2015) que obtiveram um valor calórico de 337,24 Kcal/100g para este mesmo cultivar e 369,58 Kcal/100g para farinha elaborada a partir de um cultivar Roxo.

Silva (2010) relatou valores inferiores de 282,31 Kcal/100g para farinhas elaboradas com o cultivar Brazlândia Branca e 262,58 Kcal/100g para farinhas obtidas a partir do cultivar Brazlândia Rosa. Esses valores demonstram que farinhas obtidas à partir de cultivares de batata-doce são excelentes fonte de energia, sendo que o cultivar Beauregard apresentou valor superiores aos demais cultivares.

O valor calórico do Bolo 1 foi de 438,68 Kcal/100g e do Bolo 2 de 442,81 Kcal/100g não divergiram entre si, apesar de no Bolo 1 ter sido acrescentado maior quantidade de água, devido a higroscopicidade da farinha de batata-doce, que no Bolo 2 que utilizou a batata-doce *in natura*, rica em água, em sua composição propiciando uma menor adição da mesma, este apresentaram valores calóricos muito próximos.

Valor aproximado foi encontrado na NEPA - UNICAMP (2011) que indica uma média de energia de 410 Kcal/100g para bolo de chocolate. Esses valores indicam que tanto a batata-doce *in natura*, quanto a farinha de batata-doce são boa fonte de energia e que quando adicionadas a bolos pode melhorar o seu valor nutritivo devido a presença de carotenoides pró-vitamínicos A.

## 6.5 Análise de $\beta$ -caroteno

A batata-doce *in natura* apresentou uma concentração média de 7743 $\mu$ g/100g o que equivale a 4302 UI de Vitamina A. Moura *et al.* (2009) relataram valores ainda mais elevados para o estudo de carotenoides realizado com oito cultivares de polpa alaranjada que variaram de 18.051,5  $\mu$ g/100g de  $\beta$ -caroteno a 54.198,5  $\mu$ g/100g de  $\beta$ -caroteno. Wartha *et al* (2015), avaliou batatas-doces convencionais e biofortificadas *in natura* relatou a ausência de carotenoides nas batatas *in natura*. Demonstrando que a batata-doce cultivar Beauregard é uma excelente fonte de carotenoides e que os níveis de carotenoides podem variar de acordo com a cor, variedade e cultivar analisados.

Na farinha ocorre a mesma variação, dependendo do cultivar os valores são ínfimos. No cultivar estudado foi encontrado um teor médio de 24699 $\mu$ g/100g o que equivale a 13722 UI de Vitamina A, valor muito superior ao relatado por Pagani *et al.*, 2015 que observou valores de 50,56 $\mu$ g/100g e 62,5 $\mu$ g/100g para as farinhas dos cultivares branco e roxo, respectivamente.

Siciliano *et al.* (2015) relatou valores de 1340 $\mu$ g/100g de  $\beta$ -caroteno em bolo preparado com farinha de batata-doce de polpa alaranjada. Resultado inferior ao verificado neste estudo para o Bolo1 preparado com a farinha de batata-doce (3129 $\mu$ g/100g ou 1738 UI de Vitamina A) e para o Bolo 2 preparado com a batata-doce *in natura* (1713 $\mu$ g/100g ou 952 UI de Vitamina A).

É possível observar que houve perda de carotenoides durante o processo de cozimento tanto para o Bolo 1 quanto para o Bolo 2, o que corrobora com o que diz Oliveira *et al.* (2010) de que temperaturas próximas ou superiores a 40°C promovem a degradação de carotenoides. Mesmo com a degradação apresentada os Bolos continuam sendo uma boa fonte de carotenoides vitamínicos A, principalmente quando comparado ao Bolo de chocolate da NEPA - UNICAMP (2011), que apresenta apenas traços de vitamina A. Cabe salientar que a única fonte de vitamina A dos Bolos foi a farinha de batata-doce (no Bolo 1) e a batata-doce *in natura* (no Bolo2).

No Bolo 2 outro fator que pode ter influenciado na degradação é no momento do preparo quando as batatas-doces são descascadas e cortadas, esse procedimento expõe o seu conteúdo ao meio ambiente (oxigênio), facilitando o processo oxidativo.

Devido a esses fatores verificou-se uma diferença significativa ( $p$ -valor = 0,016) entre a farinha, alimento com maior concentração de carotenoides pró-vitamínicos A e o Bolo 2.

## 6.6 Determinação do valor diário de referência (VD)

O crescimento infantil, seu desenvolvimento físico, intelectual, emocional e social são indicadores da saúde pública e estão associados a uma alimentação nutritiva. Muitas por consumirem somente o que gostam não tem acesso a todos os nutrientes, tornando sua ingestão alimentar inadequada e deficiente em vitaminas e minerais, principalmente o ferro e a vitamina A (FNDE, 2009).

Com o intuito de desenvolver um alimento mais nutritivo como alternativa alimentar na prevenção da hipovitaminose A e ao mesmo tempo agradável ao paladar infantil, desenvolveu-se no presente trabalho um bolo de chocolate rico em carotenoides pró-vitamínicos A.

A vitamina A obtida do bolo de chocolate com a farinha de batata-doce (Bolo 1) e com a batata-doce *in natura* (Bolo 2) foi expressiva (Tabela 22), onde uma porção de 50g oferece teores de vitamina A acima da recomendação diária do PNAE para a faixa etária de 7 a 10 anos (120 $\mu$ g).

Apesar dos teores de proteínas, carboidratos e lipídios terem ficado abaixo do preconizado pelo PNAE, essa preparação poderia fazer parte da alimentação escolar, uma vez que podem ser oferecidos sucos ou outro alimento para complementar a ingestão.

Outro alimento nutritivo que poderia ser incorporado à alimentação é a batata-doce biofortificada onde uma porção de 50g ofereceria cinco vezes a mais

do valor preconizado no PNAE, no entanto é um alimento que apresenta grande facilidade de deterioração, sendo portanto a farinha uma alternativa que facilitaria acesso e conseqüentemente maior consumo, pois permitiria o armazenamento por um período de tempo maior e uma maior facilidade de uso (Silva, 2010), além de oferecer um alto teor de vitamina A.

## 6.7 Biodisponibilidade

O crescimento dos animais não foi um bom indicador para a avaliação da biodisponibilidade e bioconversão de carotenoides, pois os grupos apresentaram valores similares entre si, não sendo verificado sinais visíveis de deficiência nos animais em depleção. Este fato também foi observado por Sulaeman *et al.* (2002), Lee *et al.* (1998) e Thatcher *et al.* (1998).

A variável mais utilizada para analisar a conversão de carotenoides pró-vitâmicos A em Vitamina A é a sua concentração hepática. Segundo Sulaeman *et al.* (2002) em indivíduos saudáveis ocorre o armazenamento de aproximadamente 90% da Vitamina A no fígado havendo uma redução de 50% ou mais desse valor em indivíduos deficientes. Devido a isso, valores hepáticos de vitamina A são utilizados para verificar a adequação desse nutriente para atender as necessidades fisiológicas, sendo excluído fatores que impedem sua liberação na circulação.

No período de depleção foi possível observar reservas hepáticas de Vitamina A de 12,32 $\mu$ mol/L o que de acordo com Lee *et al.* (1998) é um indicativo que os animais não apresentavam risco de hipovitaminose A. Segundo os autores para que os animais apresentassem reservas hepáticas de retinol abaixo do recomendado deveriam apresentar valores séricos de vitamina A <0,7 $\mu$ mol/L ou <0,35 $\mu$ mol/L para deficiência de vitamina A.

De acordo com Sulaeman *et al.* (2002) somente quando as reservas hepáticas atingem valores aproximados de 0,7 $\mu$ mol/L ocorre a diminuição dos níveis de retinol plasmático. Não sendo portanto a concentração plasmática um bom indicador de deficiência de vitamina A. Segundo Sulaeman *et al.* (2002) e

Lee *et al.* (1998) seriam necessárias quatro semanas para que os animais entrassem em depleção ou atingissem deficiência marginal de vitamina A, entretanto os resultados encontrados demonstraram que as quatro semanas não foram suficientes para induzir a deficiência marginal de Vitamina A dos animais utilizados neste experimento.

A diferença da metodologia analítica empregada nos dois experimentos pode ter sido um dos fatores que influenciaram nos valores obtidos de vitamina A. Tendo em vista que, o Kit para determinação de Vitamina A/E exige menor manipulação das amostras, podendo apresentar um valor mais elevado de vitamina A que os obtidos nos estudos mencionados. De acordo com Rodriguez-Amaya *et al.* (2004) a manipulação de amostras é um dos principais fatores de perda de carotenoides.

Como não foi possível analisar a concentração de retinol no fígado, pulmão, rins e adrenal não é possível aferir se houve ou não incremento nas reservas de vitamina A nos tecidos dos grupos com dietas testes quando comparados ao grupo de animais que não receberam vitamina A na dieta.

Baseado nos valores de carotenoides pró-vitamínicos A presentes na batata-doce *in natura*, na farinha de batata-doce, uma porção de 47g da batata-doce *in natura* e 15g da farinha de trigo possui atividade de vitamina A suficientes para satisfazer os valores preconizados para crianças com idade de 7-10 anos (600 $\mu$ mol) e 70g de batata-doce *in natura* e 22g de farinha de batata-doce para atender as necessidades de indivíduos adultos (homens) cuja indicação é de 900 $\mu$ mol dia.

O objetivo deste trabalho foi verificar a biodisponibilidade dos carotenoides presentes nesses alimentos a partir de seus níveis no soro/plasma. Os níveis de vitamina A (retinol) no soro e plasma sanguíneo refletem a quantidade de Vitamina A e carotenos ingeridos e absorvidos.

As concentrações médias de retinol plasmático dos grupos 1, 2, 3 e 4 após quatro semanas de repleção foram: 1,15 $\mu$ mol/L, 1,27 $\mu$ mol/L, 1,34 $\mu$ mol/L e 1,36 $\mu$ mol/L, respectivamente (Tabela 31), que não diferiram entre si (p-valor =

0,110) e nem do grupo sem vitamina A que apresentou um valor inferior discreto de 0,867 $\mu$ mol/L.

Esses resultados corroboram com os encontrados por Sulaeman *et al.* (2002) que após 4 semanas de repleção observou valores de concentrações plasmáticas que variaram de 1,33 $\mu$ mol/L a 1,40 $\mu$ mol/L para os grupos com diferentes tratamentos.

Segundo Underwood (1998) concentrações plasmáticas de <0,7 $\mu$ mol/L são indicativos de inadequação subclínica de Vitamina A ou deficiência marginal de Vitamina A. Valor próximo ao observado nos animais no período de depleção (0,867 $\mu$ mol/L). Os demais grupos apresentam concentrações dentro dos limites recomendados. Sendo que para crianças de 1 a 6 anos é recomendado 0,2 – 0,4mg/L (0,698 – 1,396  $\mu$ mol/L); de 7 a 12 anos: 0,3 - 0,5 mg/L (1,047 – 1,745 $\mu$ mol/L) e a partir dos 13 anos e adultos: 0,3 - 0,7 mg/L (1,047 – 2,443 $\mu$ mol/L).

Quando comparado com o grupo controle que recebeu a dieta padrão AIN-93, que utiliza retinol em sua composição, os animais do grupo G2, G3 e G4, apresentaram níveis de vitamina A no soro muito próximos, indicando que os carotenoides foram absorvidos e convertidos em vitamina A ficando biodisponíveis ao organismo.

Portanto, a batata-doce *in natura* e seus derivados apresentaram boa biodisponibilidade de carotenoides pró-vitamínicos A podendo ser utilizada em conjunto com os demais programas no combate a Hipovitaminose A.

## 6.8 Métodos de avaliação biológica

Verifica-se pelos dados da Tabela 25 que os animais que receberam a dieta sem vitamina A (Depleção) na fase de depleção apresentaram GP médio de 17,4g, superior aos animais dos grupos na fase de repleção com dieta controle, exibindo uma diferença significativa com p-valor < 0,001. Esse resultado era esperado tendo em vista que os animais na fase de depleção eram filhotes em fase de crescimento.

Ao comparar os resultados das dietas formuladas com as diferentes fontes de vitamina A com a dieta padrão AIN-93 verifica-se que não houve diferença significativa. Isso demonstra a eficiência das proteínas presentes nas dietas experimentais na promoção do crescimento e no ganho de peso dos animais. Portanto, estas dietas se comportaram de forma semelhante à dieta padrão (AIN-93), que é considerada nutricionalmente completa e indicada para animais em crescimento.

Os resultados obtidos demonstram que o ganho de peso dos grupos G1 (AIN-93) (5,5g) e G2 (5,3g) foram muito próximos entre si. Da mesma forma, os grupos, G3 (8,5g) e G4 (7,6g) também apresentaram valores muito semelhantes, porém superior ao dos demais grupos. Entretanto não houve diferença significativa entre todos os grupos com dieta controle. Contudo, todos os grupos apresentaram a mesma tendência de aumento crescente do peso corporal e de consumo alimentar durante o estudo.

As dietas testadas levaram a um bom ganho ponderal, pelo fato de terem sido elaboradas para serem isocalóricas e isoprotéicas em relação à dieta padrão caseína (AIN-93).

Os pesos obtidos no presente estudo são superiores aos encontrados por Sulaeman *et al.* (2002), quando estudaram a biodisponibilidade de carotenoides pró-vitâmicos A de chips de cenoura, mas estes também não encontraram significativa entre os grupos.

O GP não é considerado, de maneira isolada, um indicador da qualidade de uma proteína, embora seus resultados sejam refletidos no Coeficiente de Eficácia Proteica (CEP) e CEA, do mesmo modo que o consumo de dieta e de proteína. Entretanto, sabe-se que o GP pode estar relacionado à retenção de água e produção de lipídio no organismo, devido a composição do alimento recebido (FONTES, 2006).

No caso do CA, os animais que receberam dieta contendo bolo 1 apresentaram maior consumo alimentar quando comparados com os animais que foram alimentados com a dieta AIN-93 (Padrão) visto que houve diferença significativa ( $P > 0,001$ ) entre os valores observados. Os valores obtidos para o

consumo diário variou de 5,8 a 7,0g de dieta por dia entre os grupos, correspondendo aos valores considerados normais para os animais, já que de acordo com o Comitê de Nutrição Animal (1995) a média diária de ingestão alimentar de Gerbils, nesta idade, é de 5-6 g/dia. No caso da dieta padrão o consumo diário foi de 5,8g apresentando diferença estatística com os grupos 3 e 4 ( $p$ -valor < 0,001) evidenciando uma leve preferência pelas dietas teste. No estudo de Sulaeman *et al et al.* (2002) anteriormente citado não se observou diferença significativa para os valores de CA entre os grupos.

Em relação à PC, os grupos G3 (31,8g) e G4 (32,3g) apresentaram valores discretamente superiores ao G1 (25,5g) e G2 (27,3g), sendo que todos os grupos apresentaram valores discretos, mas superiores ao grupo padrão AIN-93. Fato que pode estar relacionado a maior palatabilidade e aceitabilidade das dietas com alimentos testes.

Referente aos valores de CEA verifica-se que este foi semelhante em todos os grupos G1 (0,04), G2 (0,03), G3 (0,05) e G5 (0,04) sendo o maior valor encontrado no grupo G3 (0,05), evidenciando que a dieta contendo bolo de farinha de batata-doce foi capaz de promover um GP por grama de dieta consumida maior que o do padrão AIN-93 durante o período de experimentação. Entretanto, o CEA não diferiu entre os grupos experimentais indicando que as dietas isocalóricas utilizadas foram capazes de promover ganho de peso semelhante por grama de dieta consumida. O fato de terem sido encontrados valores semelhantes de CEA ao final do experimento demonstrou que a proteína das dietas experimentais foi tão bem aproveitada biologicamente quanto a proteína padrão de AIN-93 (caseína) administrada no G1.

Ao avaliar a qualidade proteica pelo CEP observa-se que o grupo G1 com dieta AIN-93 (controle) apresentou o mesmo valor que o G4 (0,22) com dieta contendo bolo 2, ou seja, a formulação G4 apresentou similaridade com a formulação G1 enquanto que a formulação G2 apresentou valores inferiores (0,19) e a formulação G3 valor superior (0,27). Sendo que a formulação G3 foi a que apresentou os melhores resultados seguida da formulação G4.

Tal fato pode ser explicado pelo maior consumo alimentar e consequente aumento no valor de proteína consumida do G3 e G4, interferindo

nos valores de CEP, uma vez que as variáveis PC e GP são utilizadas no cálculo deste método de avaliação biológica.

## **7 CONCLUSÃO**

Os teores de carotenoides pró-vitâmicos A encontrados na batata-doce cultivar Beauregard e seus derivados: farinha e bolos são elevados sendo fontes promissoras de vitamina A, tendo em vista que o consumo de batata-doce principalmente por populações carentes é elevado e que uma porção de 70g atende ao valor diário recomendado para adultos (homens) e 47g ao valor preconizado para crianças de 06 a 10 anos.

A partir dos parâmetros analisados é possível concluir que a batata-doce cultivar Beauregard e seus derivados (farinha de batata-doce e bolos) apresentaram padrões desejáveis em sua composição e são uma rica fonte de carotenoides pró-vitâmicos A.

A batata-doce cultivar Beauregard é viável para o processo de obtenção da farinha, visando o enriquecimento dos alimentos ou a substituição parcial da farinha de trigo. O seu aproveitamento na elaboração de produtos alimentícios pode contribuir para o aumento do teor de vitamina A na dieta, melhora na qualidade nutricional do cardápio e criação de novas receitas.

A batata-doce e seus derivados apresentaram boa biodisponibilidade de carotenoides pró-vitâmicos A podendo ser utilizada em conjunto com os demais programas no combate a Hipovitaminose A.

## 8 REFERÊNCIAS

ALVES, R. M. *et al.* Stability of biofortified sweet potato flour. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 1, p. 59-71, 2012.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods of Analysis of AACC**. 11th ed., 2010.

ARAÚJO, C. S. P. **Processamento de batata-doce para utilização em produtos de panificação**. 2015. 32f. Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Humanas e Agrárias, Catolé da Rocha, PB, 2015.

ARAÚJO, C. S. P.; ANDRADE, F. H. A.; GALDINO, P. O.; CALDAS, M. S. P. Desidratação de batata-doce para fabricação de farinha. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 11, n. 4, p. 33-41, 2016.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Arlington: A.O.A.C, 1996.

ATWATER, W. O.; WOODS, C. D. **The Chemical Composition of American Food Materials**, U. S. Department of Agriculture; Office of Experiment Stations; Bulletin n.º 28, 1896.

BÁRTOVÁ, V.; BÁRTA, J. Chemical Composition and nutritional value of protein concentrates isolated from potato (*Solanum tuberosum* L.) fruit juice by precipitation with ethanol or ferric chloride. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 19, p. 9028-9034, 2009.

BARUA, A. B.; OLSON, J. A.  $\beta$ -Carotene is converted primarily to retinoids in rats in vivo. **Nutrient Metabolism**, v.130, n. 8, p. 1996-2001, 2000.

BERNI, P. R. DE A. **Biodisponibilidade de  $\beta$ -caroteno em mandiocas e batatas-doces biofortificadas: estudos dos efeitos de genótipos e processamentos**. 2014. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

BERNI, P. R. DE A. *et al.* Comparison of content and in vitro bioaccessibility of provitamin A carotenoids in home cooked and commercially processed orange fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam). **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 70, n. 1, p. 1–8, 2015.

BLOMHOFF, R. Transport and metabolism of vitamin A. **Nutr. Rev.**, v. 137, n. 12, p. S13–S23, 1994.

BORBA, A. M.; SARMENTO, S. B. S.; LEONEL, M. Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades funcionais de extrusados da farinha de batata-doce. **Ciência e tecnologia de alimentos**. v. 25, n. 4, Campinas, 2005.

BORGES, A. M.; PEREIRA, J.; LUCENA, P., MARLÔNIO, E. Caracterização da farinha de banana verde. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n.2, p. 333-339, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria nº 354, de 18 de julho de 1996. **Norma técnica referente a farinha de trigo**. Brasília, DF. Diário Oficial da União, de 22 de julho de 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Projeto suplementação de mega dose de vitamina “A” no pós-parto imediato nas maternidades/hospitais**. Brasília, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 263, 22 de setembro de 2005. **Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos**. Brasília, DF. Diário Oficial da União, de 23 set. 2005a.

BRASIL. Agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. Brasília, DF. Diário oficial da união nº 184, de 23 de setembro de 2005b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia Alimentar para a População Brasileira – Promovendo a alimentação saudável**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. **Pesquisa nacional de demografia e saúde da criança e da mulher: PNDS 2006, dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança**. 1. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde: Centro Brasileiro de Análise e Planejamento, 2009.

CACACE, J. E.; HUARTE, M. A.; MONTI, M. C. Evaluation of potato cooking quality in Argentina. **American Potato Journal**, Orono, v. 71, n. 3, p. 145-153, 1994.

CAMARGO, L. K. P. **Caracterização de acessos de batata-doce do banco de germoplasma da Unicentro, PR**. 2013. 141f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

CARVALHO, P. R. N.; COLLINS, C. A.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Comparison of provitamin A determination by normal-phase gravity flow column chromatography and reversed phase high performance liquid chromatography. **Chromatographia**, v. 33, n. 2, p. 133-137, 1992.

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

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras, MG: UFLA, 2005. 783p.

COELHO, L. M.; WOSIACKI, G. Avaliação sensorial de produtos panificados com adição de farinha de bagaço de maçã. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 582-588, 2010.

COLLINS, A. R. Carotenoids and genomic stability. **Mutation Research**, v. 475, p. 21-28, 2001.

COMMITTEE ON DIETARY ALLOWANCES, FOOD AND NUTRITION BOARD, NATIONAL RESEARCH COUNCIL, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Recommended dietary allowances**. 9th. ed. Washington, DC: National Academy Press, 1980.

CONOVER, W. J. **Practical Nonparametric Statistics**. 3. ed. John Wiley & Sons Inc. Nova Iorque.1999.

CORNEJO, F. E. P. *et al.* **Desenvolvimento de um equipamento para a secagem de batata doce com elevada concentração de beta-caroteno**. In.: IV Reunião de Biofortificação -Teresina-Piauí, Piauí, 2011.

COZZOLINO, S. M. F. (ED.). **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 5. ed. rev. e atual. Barueri, SP: Manole, 2016.

DA SILVEIRA, L. R. *et al.* Caracterização físico-química e clones de batata-doce de polpa alaranjada nas condições de Palmas -TO. **Estudos**, v. 38, n. 2, p. 365–380, 2011.

DARON, T. C.; HOJO, E. T. D.; SILVA, S. Z. S. Caracterização físico química da farinha biofortificada de diferentes cultivares de batata-doce em Cascavel, Paraná. **Revista cultivando o saber**. Edição Especial, p. 11 – 20, 2017.

DE AZEVEDO PAIVA, A. *et al.* Prevalência de deficiência de vitamina A e fatores associados em pré-escolares de Teresina, Piauí, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 22, n. 9, p. 1979–1987, 2006.

DEMING, D. M. *et al.* Amount of Dietary Fat and Type of Soluble Fiber Independently Modulate Postabsorptive Conversion of b-Carotene to Vitamin A in Mongolian Gerbils. **Nutrient Metabolism**, v. 130, n. 11, p. 2789 – 2796, 2000.

DO NASCIMENTO, K. DE O. *et al.* Caracterização química e informação nutricional de fécula de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) orgânica e biofortificada. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 132 – 138, 2013.

DOS SANTOS, J. C. Estudo da cinética de secagem de batata-doce (*Ipomoea batatas*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, n.4, p. 323-328, 2012.

DUESTER, G. M. Families of retinol dehydrogenases regularing vitamin A function - production of visual pigment and retinoic acid. **Eur. J. Biochem**, v. 267, p. 4315 – 4324, 2000.

DURING, A.; HARRISON, E. H. Intestinal absorption and metabolism of carotenoids: insights from cell culture. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 430, n. 1, p. 77–88, 2004.

DURING, A.; HARRISON, E. H. Mechanisms of provitamin A (carotenoid) and vitamin A (retinol) transport into and out of intestinal Caco-2 cells. **J. Lipid Res.**, v. 48, n. 10, p. 2283 – 2294, 2007.

ECKELMAN, W. C. *et al.* Justifying the number for each experiment. **Nucl. Med. Biol.**, v. 34, p. 229–232, 2007.

EVANGELISTA, R. M.; NARDIN, I; FERNANDES, A.M; SORATTO, R. P. Qualidade nutricional e esverdeamento pós colheita de tubérculos de cultivares de batata: Qualidade físico-química e esverdeamento pós-colheita de batata. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 8, p. 953 - 960, 2011.

FAO (ED.). **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005: Who global database on vitamin A deficiency**. Rome: FAO, 2009.

FAO (ED.). **Addressing food insecurity in protracted crises**. Rome: FAO, 2010.

FAO (ED.). **The multiple dimensions of food security**. Rome: FAO, 2013.

FAO (ED.). **Meeting the 2015 international hunger targets: taking stock of uneven progress**. Rome: FAO, 2015.

FERNANDES, A. M.; SORATTO, R. P.; EVANGELISTA, R. M.; NARDINI, I. Qualidade físico-química e de fritura de tubérculos de cultivares de batata na safra de inverno. **Horticultura Brasileira**, v.28, p. 299 - 304, 2010.

FERNANDES, F. R. *et al.* **Biofortificação batata-doce Beauregard**. Brasília, DF: Embrapa, 2014.

FERRAZ, I. S.; DANELUSSI, J. C.; VANNUCCHI, H. Vitamin A deficiency in children aged 6 to 24 months in Sao Paulo State, Brazil. **Nutrition Research**, v. 20, p. 757 - 768, 2000.

FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura: cultura e comercialização de hortícolas (Olericultura Especial, 2)**. 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 357p., 1982.

FILHO, M. B. **Fortificação de alimentos: Breve depoimento.** In: 3ª REUNIÃO ANUAL DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Aracaju - Sergipe, 2009

FNDE. **Referências nutricionais para o Programa Nacional de Alimentação Escolar – PNAE.** 2009.

FONTES, L. C. B. *et al.* Efeito das condições operacionais no processo de desidratação osmótica de batata-doce. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 15, p. 167 - 174, 2009.

FONTES, L. C. B. *et al.* Efeito das condições operacionais no processo de desidratação osmótica de batata-doce. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.14, p.1-13, 2012.

FONTES, P. R. **Valor protéico, Biodisponibilidade de Ferro e aspectos toxicológicos de mortadelas formuladas com sangue tratado com monóxido de carbono.** Viçosa, 2006, 168f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, UFV, Viçosa, 2006.

FREITAS, G. M.; BUENO, G. S.; FERREIRA, J. F.; FILHO, T. H. G.; CANCIAM, C. A. **Elaboração e análise sensorial de doce de batata-doce com casca (Ipomoea batatas L.).** In: V Semana de Tecnologia em Alimentos, 2006. Ponta Grossa-MG. Anais. V Semana de Tecnologia em Alimentos. Ponta Grossa, 2007, 2, 21-25.

FURR, H. *et al.* **Appropriate uses of vitamin A tracer (stable isotope) methodology.** Vitamin A Tracer Task Force. p. 6, 2004.

GARCIA, E. L. **Composição dos tubérculos, extração e caracterização de amidos de diferentes cultivares de batata.** Botucatu: [s. n.], 2013. 82f. Dissertação de mestrado Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2013.

GARRETT, D. A.; FAILLA, M. L.; SARAMA, R. J. Development of an in Vitro Digestion Method to Assess Carotenoid Bioavailability from Meals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 4301 – 4309, 1999.

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

GERMANI, R.; BENASSI, V. T.; CARVALHO, J. L. V. **Métodos de avaliação de grão e farinha de trigo**. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997. 84 p. (Documentos, n. 28).

GIORI, F. P. **Adaptação de metodologia de digestão in vitro e determinação da bioacessibilidade in vitro de  $\beta$ -caroteno em três variedades de batata doce de polpa alaranjada**. 2010. 71f. Dissertação—Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, 2010.

GODOY, H. T. **Estudo de carotenoides e pró-vitaminas A em alimentos**. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos). 1993. 210f. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, 1993.

GOUVEIA, A. M. S. *et al.* Qualidade de raízes de batata doce em função da adubação nitrogenada e conservação. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu, v. 10, p. 57-64, 2014.

GRAHAM, R. D. *et al.* **Nutritious Subsistence Food Systems**. In: *Advances in Agronomy*. [s.l.] Elsevier, v. 92, p. 1 – 74, 2007.

HACINEAZA E.; Vasanthakalam, H.; Ndirigwe J.; Mukwantali, C. Comparative study on the  $\beta$ -carotene content and its retention in yellow and orange fleshed Sweet Potato flours. **Association for Strengthening Agricultural Research in Eastern and Central Africa**, p. 5 – 8, 2010.

HARVESTPLUS. **Desenvolvendo produtos agrícolas mais nutritivos.** Washington, 2004.

HEGSTED, D. M. **Protein quality and determination.** Westport: AVI Publishing, 1977.

HOUSE, W. A.; APGAR, J.; SMITH, J. C. The gerbil: A model for studying the metabolism of beta-carotene and minerals. **Nutrition Research**, v. 17, n. 8, p. 1293 – 1302, 1997.

HOWE, J. A.; TANUMIHARDJO, S. A. Carotenoid-biofortified maize maintains adequate vitamin A status in Mongolian gerbils. **The Journal of nutrition**, v. 136, n. 10, p. 2562 – 2567, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para análise de alimentos.** 2008. p. 1020.

IOM / Institute of Medicine. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, Zinc.** Washington: National Academy Press, 2002, 800p.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos.** 6 ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2005. 711p.

KOUBALA, B. B. Effect of fermentation time on the physicochemical and sensorial properties of gari from sweet potato (*Ipomoea batatas*). **British Journal of Applied Science & Technology**. v.4, p. 3430 - 3444, 2014.

KURILICH, A. C. *et al.* Isotopic Labeling and LC-APCI-MS Quantification for Investigating Absorption of Carotenoids and Phylloquinone from Kale (*Brassica oleracea*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 17, p. 4877 – 4883, 2003.

LEE, C. M. *et al.* Review of animal models in carotenoid research. **The Journal of nutrition**, v. 129, n. 12, p. 2271 – 2277, 1999.

LEE, C. M. *et al.* The Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) is an appropriate animal model for evaluation of the conversion of  $\beta$ -carotene to vitamin A. **The Journal of nutrition**, v. 128, n. 2, p. 280 – 286, 1998.

LOPES, M. A. **Alimentação, nutrição, saúde e inovação agropecuária: convergências e oportunidades**. In: IV REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO. Teresina, Piauí, 2011.

MACHINI, W. D. B. *et al.* **Avaliação da qualidade nutricional e microbiológica da farinha de batata-doce durante o armazenamento**. In: 3ª REUNIÃO ANUAL DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Aracaju, Sergipe, 2009.

MARIANO, R. S. M.; ARRUDA, S. G. B. **Avaliação bromatológica e microbiológica de farinha, pão de caixa e biscoitos elaborados a partir de batata-doce (*Ipomoea batatas*) de cultivares roxa e Beauregard**. XXXIII CONIC, VII CONITI E IV ENIC, 2015.

MARQUES, D. V.; MANOS, G. L.; AVILA, A. F. D. **Avaliação da adoção de produtos biofortificados**. In: IV REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Teresina, Piauí, 2011.

MELO, W. F. DE. *et al.* **Biofortificação no Brasil (BioFORT): Avaliação preliminar de clones de batata-doce ricos em betacaroteno em duas épocas de plantio**. In: IV REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Teresina, Piauí, 2011.

MORO, T. DE M. A. *et al.* **Perfil sensorial e aceitação pelo consumidor de massa alimentícia à base de farinha de batata-doce de polpa alaranjada.** 2011. Portal Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/916250/perfil-sensorial-e-aceitacao-pelo-consumidor-de-massa-alimenticia-a-base-de-farinha-de-batata-doce-de-polpa-alaranjada>>. Acesso em: 5 jun. 2017.

MOURA, L. S. DE M. *et al.* **Perfil de carotenóides em farinhas de batata-doce de polpa alaranjada (*Ipomoea batatas*).** In: 3ª REUNIÃO ANUAL DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009.

NASCIMENTO, P. DO. **Avaliação da retenção de carotenoides de abóbora, mandioca e batata doce.** 2006. 79f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, 2006.

NEPA - UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos.** 4. ed. Rev. e Ampl. Campinas, SP: NEPA - UNICAMP, 2011.

NISKIER, A. Escola ou restaurante? **Rev Bras Saude Esc**, v. 1, p. 41 – 43, 1990.

NOLÊTO, D. C. S.; SILVA, C. R. P.; COSTA, C. L. S.; UCHÔA, V. T. Caracterização físico-química de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) comum e Biofortificada. **Ciência Agrícola**, Rio Largo, v. 13, n. 1, p. 59 - 68, 2015.

NUNES, E. D. *et al.* **Avaliação do teor de carotenoides totais em acessos de abóbora procedentes de estados da região Nordeste.** IV Reunião de BIOFORTIFICAÇÃO. Teresina, Piauí, 2011.

NUTTI, M. R. **Biofortificação no Brasil: os projetos Harvestplus, Agrosalud e Biofort.** In: 3ª REUNIÃO ANUAL DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Aracaju, Sergipe, 2009.

NUTTI, M. R. **Os avanços da pesquisa em biofortificação no Brasil**. In: IV REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Teresina, Piauí, 2011.

OLIVEIRA, J. E. D. **A biofortificação, a fortificação de alimentos e a deficiência de micronutrientes**. In: 3ª REUNIÃO ANUAL DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Aracaju, Sergipe, 2009.

OLIVEIRA, J. E. D. **A biofortificação, a fortificação de alimentos e a deficiência de micronutrientes**. In: 3ª REUNIÃO ANUAL DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Aracaju, Sergipe, 2009. Disponível em: <<http://biofort.com.br/download/a-biofortificacao-a-fortificacao-de-alimentos-e-a-deficiencia-de-micronutrientes-2009/>>. Acesso em: 14 maio. 2016.

ORTOLAN, V. A.; EING, K. K. C.; SANTOS, M. M. R.; CANDIDO, C. J.; SANTOS, E. F.; NOVELLO, D. Adição de farinha de baru em cupcakes: caracterização físico-química e sensorial entre crianças. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, p. 213 – 220, 2016.

OSBORNE, D. R.; VOOGT, P. **The analysis of nutrient in foods**. London: Academic Press, 1978. 251 p.

PAGANI, A. A. C.; SIQUEIRA, A. C. P.; SANTOS, A. M.; SANTOS, J.M.; BERY, C. C.S.; SILVA, G.F. **Caracterização nutricional de farinha de duas variedades de batata doce e enriquecida com ácido ascórbico**. Universidade Federal de São Carlos. XXXVII ENEMP 18 a 21 de outubro de 2015. Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados, 2015.

PALOZZA, P. Prooxidant actions of carotenoids in biologic systems. **Nutrition Reviews**, v. 56, p. 257 – 265, 1998.

PARKER, R. S. *et al.* Bioavailability of carotenoids in human subjects. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, n. 01, p. 155 – 162, 1999.

PEREIRA, M. R.  **$\beta$ -caroteno em macarrão fortificado e avaliação da metodologia analítica**. Dissertação—Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, 1997.

PEREZ, P. M. P.; GERMANI, R. **Farinha mista de trigo e berinjela: características físicas e químicas**. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, [S.l.], 2004. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/1176/977>>. Acesso em: 20 jun. 2018.

PFEIFFER, W. H. **Breeding crops for better nutrition**. In: 3<sup>a</sup> ANNUAL BIOFORTIFICATION MEETING IN BRAZIL. Aracaju, Sergipe, 2009.

PIEIDADE, J. *et al.* **Compostos fenólicos: capacidade antioxidante de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) E BIOFORTIFICADO**. In: IV REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO. Teresina, Piauí, 2011.

PINHEIRO, A. B. V. P., LACERDA, E. M. A., BENZECRY, E. H., GOMES, M. C. S., COSTA, V. M. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. 5. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. 75p.

PIXLEY, K. *et al.* **Maize Harvest Plus: biofortifying maize with provitamin A carotenoids**. IV REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO. Teresina, Piauí, 2011.

POLETTI, B. O.; Santos, R.D.; Ribeiro, E. T.; Minetto, F. M. B.; Racoski, B. Avaliação físico-química de bolo de chocolate modificado. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**. v. 6, n. 2, p.77-91, 2015.

POLLACK, J. *et al.* Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) absorb beta-carotene intact from a test meal. **The Journal of nutrition**, v. 124, n. 6, p. 869, 1994.

**PREFEITURA DE CANOINHAS.** Disponível em:  
<<http://www.pmc.sc.gov.br/cms/pagina/ver/codMapaltem/25981>>. Acesso em:  
12/04/2018.

RAMOS, S. J. **Importância e perspectivas para uso de elementos-traço na biofortificação agrônômica.** In: IV REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Teresina, Piauí, 2011.

RAMOS, S. R. R. R. *et al.* **Avaliação preliminar de acessos locais de abóbora para teores de carotenoides totais e sólidos solúveis.** [s.l.] Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009.

RAUTENBACH, F. *et al.* Antioxidant Capacity and Antioxidant Content in Roots of 4 sweet potato Varieties. **Journal of Food Science**, v. 75, p. C400 - C405, 2010.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR., G. C. F. AIN-93 purified diet of laboratory Rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodents Diet. **J. Nutr**, v. 123, n. 6, p. 1939 –1951, 1993.

REMONATO, J. *et al.* Qualidade de macarrão tipo talharim elaborado com farinha de batata-doce Beauregard. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 38, n. 2, p. 91-95, 2017.

RIBAYA-MERCADO, J. D. *et al.* Dietary  $\beta$ -Carotene Absorption and Metabolism in Ferrets and Rats. **Journal of Nutrition**, v. 119, n. 4, p. 665 – 668, 1989.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; OMNI (PROJECT). **A guide to carotenoid analysis in foods.** Washington, D.C.: ILSI Press, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; *et al.* **HarvestPlus handbook for carotenoid analysis**. [s.l.] International Food Policy Research Institute (IFPRI) Washington, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenoides tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, Departamento de Conservação da Biodiversidade, 2008.

RONCADA, M. J. Hipovitaminose A. Níveis séricos de vitamina A e caroteno em populações litorâneas do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 6, p. 3–18, 1972.

ROSA, C. S. O.; VIEIRA, V. R.; GRESSLER, V. B., VIEGA, C. Elaboração de bolo com farinha de Yacon. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1869 – 1872, 2009.

SADLER, G. D.; MURPHY, P. A. **pH and titratable acidity**. In: **Nelsen, S. S. Food analysis**. 4th ed. New York: Springer, 2010. 602p.

SAINI, R. K.; NILE, S. H.; PARK, S. W. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, v. 76, p. 735 – 750, 2015.

SANTOS, A. M.; CARVALHO, J. L. V.; SILVA, J. B. C. **Banco de germoplasma de batata-doce com alto teor de beta caroteno (provitamina A) no estado do Maranhão**. In: 3ª REUNIÃO ANUAL DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Aracaju, Sergipe, 2009.

SANTOS, A. V. **Obtenção e incorporação de farinha de casca de maracujá na produção de bolos de chocolate**. 2008. 105f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) - Universidade Tiradentes, Aracajú, 2008.

SANTOS, F. *et al.* Avaliação da inserção de alimentos orgânicos provenientes da agricultura familiar na alimentação escolar, em municípios dos territórios rurais do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 5, p. 1429–1436, 2014.

SANTOS, M. N. G.; ORSINE, J. V. C.; PEREIRA, A.; CAÑETE, R.; NOVAES, M. R. C. G. Evaluación sensorial y físico- química de *Ipomoea batatas* enriquecida con provitamínicos *in natura* o processada. **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, v. 2, n. 4, p. 110 – 118, 2014.

SICILIANO, I. *et al.* **Teor de carotenoides em massa alimentícia à base de arroz e farinha de batata-doce de polpa alaranjada.** In: IV REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO. Teresina, Piauí, 2011.

SILVA, C. C. O. *et al.* **Caracterização física e química de produtos de panificação elaborados com farinha de raspa de mandioca (*Manihot esculenta*, L.).** In: IV REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO. Teresina, Piauí, 2011.

SILVA, J. B. C. **Batata-doce biofortificada.** Associação brasileira de horticultura. Disponível em: <[http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev\\_1/pal16.pdf](http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev_1/pal16.pdf)>. Acesso em: 7 out. 2016.

SILVA, J. *et al.* Batata-doce vitaminada cultive essa idéia!. **Embrapa Hortaliças-Folders/Folhetos/Cartilhas (INFOTECA-E)**, 2009.

SILVA, R. G. V. **Caracterização físico-química de farinha de batata-doce para produtos de panificação.** Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga, Bahia, 2010.

SILVEIRA, L. R., CHIESA, V. B., TAVARES, I. B.; SOUZA, R. C., SILVEIRA, M. A., ALVES, D. G., JUNIOR, W. P. O. Caracterização físico-química e clones de batata-doce de polpa alaranjada nas condições de Palmas - TO. **Estudos**, Goiânia, v. 38, n. 2, p. 365-380, 2011.

SOUSA, G. L. S. **OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA DA BATATA - DOCE**. Campinas Grande - PB, 2015.

SOUZA, W. A. DE; BOAS, V.; DA COSTA, O. M. G. A deficiência de vitamina A no Brasil: um panorama. **Rev Panam Salud Publica / Pan Am J Public Health**. v. 12, n. 3, 2002.

SULAEMAN, A. *et al.* Mongolian Gerbils can utilize provitamin-A carotenoids in deep-fried carrot Chips. **The Journal of Nutrition**, v. 132, p. 211-217, 2002.

TANUMIHARDJO, S. A. Factors influencing the conversion of carotenoids to retinol: bioavailability to bioconversion to bioefficacy. **International Journal for vitamin and nutrition research**, v. 72, n. 1, p. 40 – 45, 2002.

THATCHER, A. J.; LEE, C. M.; ERDMAN, J. W. Tissue Stores of  $\beta$ -Carotene Are Not Conserved for Later Use as a Source of Vitamin A during Compromised Vitamin A Status in Mongolian Gerbils (*Meriones unguiculatus*). **The Journal of Nutrition**, v. 128, n. 7, p. 1179 – 1185, 1998.

TIENGO, A.; PEREIRA, H. C. R. P.; ARAÚJO, C. S. S. Aceitabilidade de bolo de chocolate enriquecido com fígado bovino por crianças com idades entre 6 e 10 anos. **Revista Ciências em Saúde**, v.5, n. 1, 2015.

UCHÔA, V. T. *et al.* Caracterização físico-química de batata-doce (*Ipomoea batatas*) comum e biofortificada. **Revista Ciência Agrícola**, v. 13, n. 1, p. 53 – 60, 2016.

UNDERWOOD, B. A. **Prevention of vitamin A deficiency.** In: **Prevention of Micronutrient Deficiencies, Tools for Policy makers and Public Health Workers.** National Academy Press, Washington, DC. 1998. p. 103 – 165.

VASCONCELLOS, J. H. *et al.* **Introdução de alimentos biofortificados na merenda escolar de municípios mineiros.** In: IV REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Teresina, Piauí, 2011.

VEIT, J. C.; FREITAS, M. B.; REIS, E. S.; MOORE, O. Q.; FINKLER, J. K.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Desenvolvimento e caracterização de bolos de chocolate e de cenoura com filé de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Alim. Nutr.**, Araraquara. v. 23, n. 3, p. 427- 433, 2012.

VELHO, L. C. F. L. **Avaliação da retenção de nutrientes, aspectos sensoriais e microbiológicos de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) submetida a diferentes métodos de cocção.** 2016. 112f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

VOLZ ORTOLAN, A. *et al.* Adição de farinha de baru em cupcakes: caracterização físico-química e sensorial entre crianças. **O Mundo da Saúde**, v. 40, n. 2, p. 213 – 220, 2016.

WARTHA, E. R. *et al.* **Características químicas, tecnológicas, nutricional e sensorial de batata-doce biofortificada.** In.: REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL. Brasília, DF: Embrapa, 2015. T308. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/132583/1/t308.pdf>>. Acesso em: 05 de maio 2017.

WEST, C. E.; DE PEE, S. Dietary carotenoids and their role in combating vitamin A deficiency: a review of the literature. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 50, p. 38S–53S, 1996.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases.** WHO technical Report Series – 916. WHO: Geneva, 2003.

WHO (World Health Organization). *et al.* **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005: WHO global database on vitamin A deficiency.** 2009.

WOSIACKI, G.; CEREDA, M. P.; BRITO, O. R.; CÉSAR, E. O. **Avaliação de doze cultivares de batata doce (*Ipomea batatas*, L) colhidas na área experimental da universidade estadual de Londrina.** Boletim Ceppa. Curitiba. 1988.

YOUNG, A. J.; LOWE, G. M. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 385, p. 20 – 27, 2001.

## **9 ANEXO**

**Anexo 1 – Parecer da CEUA – Projeto de Pesquisa Protocolo nº 038/2017**