

BIODISPONIBILIDADE DOS CAROTENÓIDES DO BURITI (*Mauritia flexuosa* L.) EM RATOS.

Lúcia K. O. YUYAMA¹, Lina YONEKURA², Jaime P. L. AGUIAR¹, Risonilce F. S. SOUSA¹.

RESUMO — Considerando a magnitude da hipovitaminose A como problema de saúde pública no mundo e a disponibilidade de frutos ricos em pró-vitamina A na região Amazônica, determinou-se a biodisponibilidade dos carotenóides do Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) em ratos. Quarenta e oito ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*, Rodentia: Mammalia) recém-desmamados, com peso médio inicial de $33,8 \pm 1,7$ g, foram distribuídos em cinco grupos, ou seja, Grupos: Deficiente, Controle 1200, Controle 2400, Buriti 1200 e Buriti 2400. As rações foram elaboradas de acordo com a recomendação do Committee on Laboratory Animal Diets (1993). Após o período experimental de 28 dias, todos os animais foram sacrificados para a determinação de vitamina A e caroteno no plasma e no fígado. A menor concentração de vitamina A hepática e plasmática foi observada no Grupo Deficiente. Por sua vez, as reservas hepáticas de vitamina A dos animais dos grupos Buriti 1200 e 2400 foram significativamente superiores quando comparados com os grupos Controle 1200 e 2400, respectivamente. Os resultados desse estudo demonstraram ser o buriti uma fonte de pró-vitamina A altamente biodisponível, com eficiência relativa de 254,6% (1200ER/Kg ração) e 179,4% (2400 ER/Kg ração) quando comparado com os respectivos grupos controle, indicando a maior biodisponibilidade dos carotenóides em doses próximas à recomendada.

Palavras-chave: Carotenóides; buriti; biodisponibilidade; ratos.

Bioavailability of Carotenoids from Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) in Rats.

ABSTRACT — Vitamin A deficiency is a serious public health problem in the world. In Brazilian Amazonia, some native fruits may be pointed as good sources of this vitamin, provided their abundant pro-vitamin A present high bioavailability. The present study evaluated the bioavailability of carotenoids from Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) in rats. Forty eight recently weaned male Wistar rats (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*, Rodentia: Mammalia), mean weight 33.8 ± 1.7 g, were separated into five groups as follows: Deficient, Control 1200, Control 2400, Buriti 1200 and Buriti 2400. All diets were prepared according to the Committee on Laboratory Animal Diets (1993). After 28 days, the liver and plasma contents of all animals were analysed for Vitamin A and carotene levels. The lowest plasmatic and hepatic levels of Vitamin A were observed in the Deficient Group, while hepatic Vitamin A reserves of the animals from the Buriti 1200 and Buriti 2400 Groups were significantly higher than the Control 1200 and Control 2400 Groups respectively. The results of the study showed that buriti is a highly bioavailable source of pro-vitamin A, with a relative efficiency of 254.6% (1200ER/Kg diet) and 179.4% (2400/Kg diet) when compared with the respective control groups, indicating a higher carotenoids bioavailability, near recommended doses.

Key words: carotenoids; buriti fruit; bioavailability; rats.

INTRODUÇÃO

A vitamina A exerce papel fundamental na visão, crescimento, desenvolvimento ósseo e manutenção do tecido epitelial. É também fator importante para a integridade do sistema imunológico, a

reprodução e a lactação (Who, 1995).

A deficiência de vitamina A tem sido reportada como carência nutricional freqüente em vários estudos abrangendo a população amazonense (Nagahama *et al.*, 1990; Marinho, 1989).

¹ Coordenação de Pesquisas em Ciências da Saúde - INPA. Av. André Araújo, 1756 - 69083-040 - Manaus - AM

² Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica - INPA. Av. André Araújo, 1756 - 69083 - Manaus - AM

Paradoxalmente, a região Amazônica possui enormes reservas nativas de oleaginosas que fornecem frutos com alto teor de pró-vitamina A, dentre as quais se destaca a palmeira buriti (*Mauritia flexuosa L.*), cujos frutos são portadores do maior potencial pró-vitamínico A que se conhece (Aguilar *et al.*, 1980).

A polpa comestível do buriti é constituída de uma massa de cor amarelo-avermelhada, com sabor ligeiramente ácido e adocicado, sendo consumido na forma de sucos e doces (Cavalcante, 1996). A matéria corante do buriti é na quase totalidade constituída de carotenos. Em adição às suas propriedades corantes, β -caroteno e outros carotenóides são nutricionalmente importantes como pró-vitamina A, sendo a principal fonte dietética dessa vitamina (Britton, 1991).

É possível determinar o teor de carotenóides, com precisão aceitável, por meio de métodos espectrofotométricos e um manuseio cuidadoso da amostra, evitando a degradação desses pigmentos. Porém, isso não é suficiente para a caracterização nutricional de um alimento. Há necessidade de se conhecer não só a quantidade consumida, mas também a biodisponibilidade, isto é, a proporção desse nutriente que é absorvida e utilizada.

Tendo em vista a magnitude da hipovitaminose A como problema de saúde pública no mundo, assim como na região Norte, os fatores interferentes na absorção de vitamina A e a disponibilidade de frutos ricos em pró-vitamina A, como o buriti, avaliou-se a biodisponibilidade dos carotenóides do mesmo por meio de ensaios biológicos, utilizando o rato como modelo experimental.

MATERIAL E MÉTODOS

Um *pool* de 1000 frutos foi adquirido na feira do Coroado, Manaus-AM, no período de fevereiro a março de 1997. No laboratório, os frutos foram lavados e transferidos para recipientes plásticos com água à 37°C, onde permaneceram por 24 horas. Em seguida, retirou-se a casca e separou-se a polpa, que foi homogeneizada em liquidificador, acondicionada em placas de Petri, cobertas com filme de PVC e papel alumínio, e armazenadas a -20°C até o momento da secagem.

A polpa congelada foi liofilizada e pulverizada, obtendo-se a farinha de buriti. Amostras foram coletadas para a determinação de lipídios e proteína, a fim de efetuar as correções necessárias para a elaboração das rações.

A determinação da composição centesimal do buriti e rações seguiu a metodologia da AOAC (1995), e o teor de carotenóides na farinha de buriti, o método de Rodriguez *et al.* (1976), que consiste em uma extração dos pigmentos com solvente, saponificação, separação em coluna cromatográfica aberta e leitura em espectrofotômetro UV/VIS. O valor de vitamina A foi calculado de acordo com NAS-NRC (1989), considerando somente as formas ativas de carotenóides (β e α).

As rações, à base de caseína, foram elaboradas de acordo com as recomendações do Committee on Laboratory Animal Diets (Reeves *et al.*, 1993), com mistura vitamínica sem vitamina A, adicionada de palmitato de retinila ou farinha de buriti (Tab. 1). As quantidades de caseína e óleo de soja das rações Buriti

Tabela 1. Composição básica das rações (g/kg de ração). *

Componentes	Rações				
	Deficiente	Controle 1200	Controle 2400	Buriti 1200	Buriti 2400
Caseína	200	200	200	196,96	193,92
Sacarose	100	100	100	100	100
Óleo de soja	70	70	70	44,02	18,04
Celulose	50	50	50	50	50
Mistura salina	35	35	35	35	35
Mistura vitamínica sem vitamina A	10	10	10	10	10
L - cistina	3	3	3	3	3
Bitartrato de colina	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Palmitato de retinila (μg de retinol)	—	1200	2400	—	—
Farinha de buriti	—	—	—	60,73	121,46
Amido de milho	529,50	529,50	529,50	497,79	466,08

* AIN-93 (REEVES *et al.*, 1993)

1200 e Buriti 2400 foram reduzidas, com base no teor de proteína e lipídios da farinha adicionada, de modo a obter rações isoprotéicas e isocalóricas.

Para o ensaio biológico foram utilizados 48 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*, Rodentia Mammalia), recém-desmamados com peso médio inicial de $33,8 \pm 1,7$ g. O delineamento foi inteiramente casualizado, consistindo de cinco tratamentos com oito ratos cada, assim distribuídos: Grupo Deficiente (ração completa à base de caseína sem adição de vitamina A na mistura vitamínica), Grupo Controle 1200 (ração completa à base de caseína com adição de 1200 ER/kg oriunda do palmitato de retinila), Grupo Controle 2400 (ração completa à base de caseína com adição de 2400 ER/kg oriunda do palmitato de retinila), Grupo Buriti 1200 (ração completa à base de caseína com adição de 1200 ER/kg oriunda da farinha de buriti)

e Grupo Buriti 2400 (ração completa à base de caseína com adição de 2400 ER/kg oriunda da farinha de buriti). No início do experimento foram sacrificados oito animais a fim de avaliar as reservas iniciais de Vitamina A no fígado e plasma.

Os animais foram mantidos por 28 dias em gaiolas individuais, com ração e água *ad libitum* em ambiente com temperatura e umidade controlada e um ciclo de luz de doze horas. O consumo de ração foi acompanhado diariamente, e o crescimento, por meio da pesagem semanal dos animais. Ao final do ensaio todos os animais foram sacrificados para coleta de sangue e fígado. A coleta de sangue foi efetuada por punção cardíaca, com seringa descartável e heparinizada, no animal previamente anestesiado com éter etílico. Logo após a coleta, o sangue foi transferido para tubos de centrifuga com 0,20 mL de EDTA 5%, homogeneizado e centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos. O

plasma obtido foi transferido para microtubos de centrifuga, identificados e armazenados em *freezer* até o momento da análise. O fígado foi removido, lavado com solução de NaCl 0,9 %, enxuto em papel de filtro e pesado. A seguir, foi envolto em papel alumínio e armazenado em *freezer* até as análises. Todo o procedimento após a coleta foi realizado sob luz difusa ou protegendo-se as amostras com papel alumínio.

Foram determinadas as concentrações de Vitamina A e carotenóides totais, no plasma e fígado, pelo método espectrofotométrico proposto por Bessey *et al.* (1946) modificado por Araújo & Flores (1978).

Para análise estatística utilizou-se o teste de Tukey a nível de 0,05 de significância (Pimentel Gomes, 1987).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises da farinha de buriti apresentaram um teor de carotenóides de 16,71 $\mu\text{g/g}$ (fração alfa) e 110,46 $\mu\text{g/g}$ (fração beta), perfazendo um total de vitamina A de 1976 ER/100g e 42,78 \pm 0,44 % de lipídios, que são importantes no processo de absorção da vitamina A atuando tanto como carreadores bem como estimuladores do fluxo biliar (Bielsalski, 1997).

O consumo de ração não apresentou diferença significativa entre os grupos (Tab. 2). O grupo com menor ganho de peso foi o Deficiente, podendo ser o reflexo da deficiência de vitamina A, já que as composições centesimais das rações foram isocalóricas e isototéicas (Tab. 3). Segundo Bondi & Sklan (1984), ratos alimentados com ração deficiente em

Tabela 2. Consumo total médio de ração, ganho de peso dos animais e peso do fígado dos animais dos diferentes grupos ao final do ensaio.

Grupos	Consumo total de ração (g)	Ganho de peso (g)	Peso do fígado (g)
Deficiente	351,1 \pm 30,0 a	132,9 \pm 11,1 b	6,01 \pm 0,70 c
Controle 1200	351,2 \pm 21,7 a	144,3 \pm 8,5 ab	7,86 \pm 0,67 ab
Controle 2400	347,4 \pm 31,6 a	143,8 \pm 10,6 ab	6,61 \pm 0,85 c
Buriti 1200	369,4 \pm 25,2 a	151,7 \pm 8,5 a	8,56 \pm 0,71 ab
Buriti 2400	354,5 \pm 34,3 a	148,4 \pm 14,9 ab	7,00 \pm 0,96 bc

Os valores com a mesma letra no sentido vertical não diferem significativamente ao nível de 0,05 pelo teste de Tukey

Tabela 3. Composição centesimal das rações

Rações	Umidade	Lipídios	Proteína	Cinza
Deficiente	6,49 \pm 0,29	7,13 \pm 0,09	18,37 \pm 0,32	2,73 \pm 0,04
Controle 1200	6,88 \pm 0,01	7,14 \pm 0,06	18,47 \pm 0,09	2,70 \pm 0,02
Controle 2400	6,57 \pm 0,32	7,09 \pm 0,03	18,85 \pm 0,04	2,72 \pm 0,03
Buriti 1200	6,68 \pm 0,09	5,78 \pm 0,08	19,54 \pm 0,42	2,75 \pm 0,04
Buriti 2400	7,25 \pm 0,10	8,11 \pm 0,06	18,53 \pm 0,03	2,94 \pm 0,10

vitamina A crescem até que as reservas iniciais de vitamina A se esgotem, atingindo nesse ponto o platô de crescimento. De fato, a tendência de redução no ganho de peso do Grupo Deficiente se tornou mais evidente na última semana (Figura 1).

O peso médio do fígado dos animais do Grupo Deficiente (Tab. 2) foi o menor entre os grupos. Não houve diferença entre as médias dos grupos Controle 1200 e Buriti 1200, e da mesma forma, entre os grupos Controle 2400 e Buriti 2400. Observou-se que os animais dos grupos Buriti 1200 e Controle 1200 alcançaram pesos de fígado significativamente maiores quando comparados com os grupos

Controle 2400 e Buriti 2400.

A concentração de caroteno no plasma não foi detectada, e no fígado foram encontradas concentrações muito próximas ao limite de detecção do método utilizado (3 µg/g).

Os grupos apresentaram concentrações plasmáticas de Vitamina A que não diferiram significativamente, com exceção do Grupo Deficiente cuja média foi inferior à dos demais grupos (Tab. 4). Esses resultados coincidem com os encontrados por Fávoro (1982) e Yuyama *et al.* (1991), ou seja, a independência entre o nível plasmático e a ingestão de vitamina A, exceto em caso de redução drástica na reserva hepática após um período recebendo

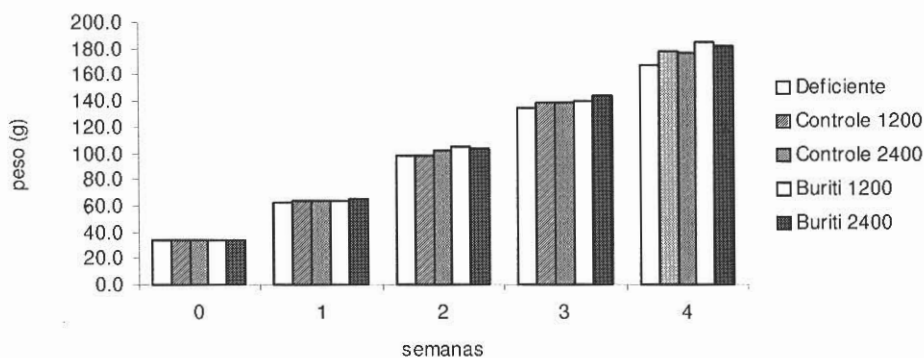


Figura 1. Evolução ponderal média dos animais dos diferentes grupos durante o período experimental.

Tabela 4. Concentração de vitamina A no plasma e no fígado dos animais.

Grupos	Vitamina A no plasma (mg/dL)	Vitamina A no fígado (mg/g)
Deficiente	12,61 ± 4,88 b	4,53 ± 1,44 d
Controle 1200	34,74 ± 5,81 a	24,64 ± 0,93 c
Controle 2400	33,42 ± 6,42 a	69,09 ± 3,93 b
Buriti 1200	36,94 ± 6,01a	62,74 ± 3,75 b
Buriti 2400	35,91 ± 4,34 a	124,15 ± 12,37 a

Os valores com a mesma letra no sentido vertical não diferem significativamente ao nível de 0,05 pelo teste de Tukey

ração deficiente em vitamina A.

As reservas hepáticas de vitamina A dos grupos Buriti 1200 e Buriti 2400 foram significativamente superiores em comparação aos grupos Controle 1200 e Controle 2400, respectivamente (Tab. 4).

Com base nas reservas hepáticas de vitamina A, e considerando 100% de biodisponibilidade para os grupos Controle 1200 e Controle 2400, a biodisponibilidade de vitamina A do buriti foi de 254,6% para o grupo Buriti 1200 e de 179,4% para o Buriti 2400. Segundo Bondi & Sklan (1984) observa-se uma redução na eficiência de conversão de carotenóides em vitamina A à medida que se aumenta a ingestão dos mesmos. Isso poderia explicar a menor biodisponibilidade de Vitamina A no grupo Buriti 2400.

A nível de recomendação, considerando apenas a concentração de carotenóides e não a biodisponibilidade, um indivíduo adulto teria que consumir 45,5 frutos a fim de atender as necessidades nutricionais diárias de vitamina A, 1000 ER, de acordo com a RDA (1989). Para se chegar a esses números de frutos, utilizou-se o teor de vitamina A de 668,5 ER em 100g da polpa do buriti, assim como o peso médio do buriti de 14,1g (Aguiar *et al.*, 1980) e percentual da parte comestível de 23,3 (Aguiar *et al.*, 1980). O fruto tem a sua relevância, pela concentração em carotenóides, fonte de energia e pelo consumo na forma de "vinho de buriti" e doces, necessitando ainda da comprovação quanto a efetividade dos carotenóides em humanos. Salienta-se que a alimentação de um indivíduo é mais abrangente, constituída de produtos de origem animal

e vegetal, o que permite maior diversidade e possibilidade de adequação.

CONCLUSÕES

O buriti revelou-se uma fonte de vitamina A concentrada e altamente biodisponível, com a vantagem de possuir alto teor de lipídios, importantes no carreamento da vitamina A.

No modelo experimental utilizado, houve redução na eficiência da conversão de carotenóides em vitamina A quando a dose recomendada foi dobrada, o que indica a maior biodisponibilidade de vitamina A do buriti na forma preventiva e em doses próximas às recomendadas.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e ao INPA pelo apoio financeiro.

Bibliografia citada

- Aguiar, J.P.L.; Marinho, H.A.; Rebelo, Y.S.; Shrimpton, R. 1980. Aspectos nutritivos de alguns frutos da Amazônia. *Acta Amazônica*, 10(4):755-758.
- AOAC. 1995. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. 17 ed. 1141p.
- Araújo, C.R.C.; Flores, H. 1978. Improved spectrophotometric vitamin A assay. *Clin. Chem.* 24:386.
- Bessey, O.A.; Lowry, O.H.; Brick, M.F.; Lopez J.A. 1946. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. *J. Biol. Chem.*, 166:177-179.
- Bielsalski, H.K. 1997. Bioavailability of vitamin A. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51(S1):S71-S75.
- Bondi, A.; Sklan, D. 1984. Vitamin A and carotene in animal nutrition. *Progr. Food Nutr. Sci.*, 8:165-191.
- Britton, G. 1991. Carotenoids. In: Goodwin, T.W.(ed). *Methods in Plant Pigments*. v.7. London, Academic Press, p. 473-515.

- Cavalcante, P. B. 1996. *Frutas comestíveis da Amazônia*. 6 ed. Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi, p. 168-171.
- Fávaro, R.M.D. 1982. *Estudo da interação da Neomicina e hidróxido de alumínio com a vitamina A. Efeito sobre a biodisponibilidade em ratos*. Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. São Paulo, 112 p.
- Marinho, H.A. 1989. *Influência da verminose intestinal (Ascaris lumbricoides e/ou Giardia lamblia) sobre níveis séricos de vitamina A*. Dissertação de mestrado. INPA/FUA, Manaus, Amazonas, 114 p.
- Nagahama, D.; Marinho, H. A.; Rocha, Y.; Ferraroni, M. J. R.; Silva, N. B.; Castro, J. S.; Onety, J. A. 1990. Avaliação nutricional em alimentos de pré-escolares de uma creche de Manaus e a influência da entidade no estado nutricional da população. *Acta Amazônica*, 20:119-129.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE/NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1989. *Recommended Dietary Allowances*. 10 ed. Washington, 284p.
- Pimentel Gomes, F. 1987. *Curso de estatística experimental*. 12ª ed. Piracicaba, 467p.
- Reeves, P.G.; Forrest, M.N.; Fahey JR., G.C. 1993. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76 Rodent Diet. *J. Nutr.*, 123:1939-1951.
- Rodriguez, D.B.; Raymundo, L.C.; TUNG-Cheng Lee, Simpsons, K.L.; Chichester C.O. 1976. Carotenoid pigment changes in ripening *Monordia charantia* fruits. *Ann. Bot.*, 40:615-624.
- Yuyama, L.K.O.; Fávaro, R.M.D.; Yuyama, K.; Vannucchi, H. 1991. Bioavailability of vitamin A from peach palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.) and mango (*Mangifera indica* L.) in rats. *Nutr. Res.*, 11:1167-1175.
- Who. 1995. *Global Prevalence of Vitamin A Deficiency*. Geneva, World Health Organisation, p.1-11.