

JAILANE DE SOUZA AQUINO

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E EXPERIMENTAL DO
ÓLEO DE BURITI (*Mauritia Flexuosa L.*) EM RATOS E DA
SUA UTILIZAÇÃO EM FORMULAÇÃO DE BISCOITOS**

RECIFE
2011

JAILANE DE SOUZA AQUINO

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E EXPERIMENTAL DO
ÓLEO DE BURITI (*Mauritia Flexuosa L.*) EM RATOS E DA
SUA UTILIZAÇÃO EM FORMULAÇÃO DE BISCOITOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor em Nutrição.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Tânia Lúcia Montenegro Stamford

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa

RECIFE
2011

1 Aquino, Jailane de Souza

Avaliação físico-química e experimental do óleo de buriti (*Mauritia Flexuosa* L.) em ratos e da sua utilização em formulação de biscoitos / Jailane de Souza Aquino. – Recife: O Autor, 2011.

192 folhas: il., fig.; 30 cm.

Orientador: Tânia Lúcia Montenegro Stamford

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Nutrição, 2011.

Inclui bibliografia, apêndices e anexos.

1. Antioxidantes. 2. Biscoito. 3. Estresse oxidativo.
4. Lipídios. 5. Óleo refinado 6.vitamina A. I. Stamford,
Tânia Lúcia Montenegro. II.Título.

JAILANE DE SOUZA AQUINO

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E EXPERIMENTAL DO ÓLEO DE
BURITI (*Mauritia Flexuosa L.*) EM RATOS E DA SUA UTILIZAÇÃO
EM FORMULAÇÃO DE BISCOITOS**

Aprovada em 17 de junho de 2011

BANCA EXAMINADORA


Professor Dr. Antonio Gouveia de Souza
Universidade Federal da Paraíba – Departamento de Química


Professor Dr. João Andrade da Silva
Universidade Federal da Paraíba – Departamento de Produtos de Origem
Animal


Professora Dra. Maria do Carmo Medeiros
Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Nutrição


Professora Dra. Tania Lúcia Montenegro Stamford
Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Nutrição


Professora Dra. Thayza Christina Montenegro Stamford
Universidade Federal da Paraíba – Departamento de Fisiologia e Patologia

Recife
2011

A Jairo e Marlene, meus pais
A Jailene e Jairo Jr, meus irmãos
A Beatriz, Jairo Lucas, Louise e Luiz, meus sobrinhos
A Erick Thomaz, meu esposo
A Tânia Stamford e Débora Nepomuceno, mestres e amigas

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Jairo e Marlene, por me ensinar que o estudo é uma das maiores riquezas que se pode oferecer a um filho. Agradeço por nunca me deixarem desistir deste sonho de infância.

Aos meus irmãos Jairo Jr e Jailene, aos sobrinhos Beatriz, Louise, Luiz Gustavo, Jairo Lucas e a cunhada Elaine pelo amor e torcida para a chegada deste dia...

Ao meu esposo Erick, por me acompanhar com tanta compreensão desde a graduação e por entender que amo a Ciência e a Pesquisa com tanta intensidade como o amo.

As professoras Dra. Tânia Stamford e Dra. Debora Nepomuceno, orientadora e co-orientadora respectivamente, com as quais aprendi muito não só da ciência, mas da humildade, do compromisso, do carinho e do amor à pesquisa e ao próximo. O meu muito obrigado, pois ao lado de vocês cresci como profissional e como pessoa.

Ao Programa de Pós Graduação em Nutrição/ UFPE, na pessoa da coordenadora Dra. Monica Osório, através da qual agradeço a todos os professores e as funcionárias Cecília Arruda e Neci Nascimento.

A professora Maria do Carmo Medeiros pelas valiosas considerações e sugestões na qualificação e as graduandas em Nutrição – UFPE: Hanni Mesquita e Mariana Ramalho pela total colaboração nos experimentos com os animais.

Aos funcionários da UFPE: Ao Sr. Anisberto, Sr. Roberto e em especial a Ana França, Sr. José Paulino (*in memorian*), Sr. Ediones França com quem tanto aprendi a gostar da Nutrição Experimental.

Aos colegas de doutorado Marina, Marcos, Raquel, Rafael, Simone e em especial a Geíza, Elieidy e Juliana, minhas grandes companheiras de caminhada que tanto contribuíram para o desenvolvimento desta tese.

A Universidade Federal do Piauí (UFPI) onde me orgulho em ter trabalhado e onde este projeto foi idealizado.

A Secretaria de educação Municipal e as escolas municipais de Picos – PI, sempre parceiras.

As futuras nutricionistas Cinthya Rocha, Ellaine Satana, Tatiane Araújo e Alana Fernanda pela imensa ajuda nas avaliações com os escolares de Picos - PI.

Aos amigos Giceli, Fernanda Moura, Hugo Moura e professoras da UFPI: Patrícia Bellini e Gilvana Pessoa, agradeço pela amizade e pelo envio das amostras de óleo de buriti.

A todos os voluntários que participaram desta pesquisa no Piauí.

Ao professor Dr. João Andrade da Silva, mestre desde a graduação e grande amigo, pelo acompanhamento desde o início do projeto, assim como a sua equipe formada pela MSc. Mayara Queiroga e alunas de PIBIC Camila e Larissa.

Ao professor Dr. Antônio Gouveia de Sousa por abrir as portas do Laboratório de Biocombustíveis para a realização das análises físico-químicas e termo-oxidativas no óleo de buriti.

Ao professor Dr. Alcides Diniz e sua equipe do CIMICRON: Rejane, João e Margarida pelo empenho e por possibilitar a determinação de retinol sérico e hepático dos animais.

Aos amigos Robson Mascarenhas e Eduardo Vasconcelos, grandes conhecedores da estatística e colaboradores desde sempre de tantas pesquisas.

A João Paulo Prado e professor Marcelino Cavalheiro por tornar possível a análise de vitamina A nas dietas e no biscoito por HPLC.

Ao laboratório Labimulti da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN na pessoa da Profa. Dra. Maria das Graças Almeida e dos amigos Naira Brito e Gabriel Araújo, sem vocês não teria conseguido realizar o experimento sobre antioxidantes, não tenho palavras para agradecer a disponibilidade e solicitude de todos, bem como a atitude nobre de ajudar a uma desconhecida, simplesmente pelo amor a pesquisa.

As alunas de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFPB: Kassandra Gadelha, Poliana Epaminondas, Fátima Azevedo, Maíra Felinto e Érica Menezes pelo companheirismo, ajuda constante em várias fases de meu experimento e acima de tudo pela amizade.

Ao professor Dr. Alexandre Schuler - UFPE pela atenção dispensada as análises cromatográficas.

Aos professores do Centro de Tecnologia da UFPB Dra. Janeeyre Maciel e Dr. Ricardo Targino por facilitarem a produção do biscoito e as análises sensoriais.

Aos colegas de trabalho da UFCG: Flavia Negromonte, Nilcimelly Rodrigues, Danielly Albuquerque, Danielle Sousa, Maíra Felinto, Egberto Santos e Marília Frazão pelo incentivo diante das grandes dificuldades de cursar o doutorado simultaneamente ao trabalho.

Ao professor Dr. Jorge Lopez, agradeço a grande contribuição no artigo sobre antioxidantes.

Aos amigos Apolônia, Alex, Danielly e Nadja por entenderem minha ausência na busca por esta grande conquista.

“A alegria não chega apenas no encontro do achado, mas faz parte do processo da busca. E ensinar e aprender não pode dar-se fora da procura, fora da boniteza e da alegria.”

Paulo Freire

RESUMO

O buriti (*Mauritia flexuosa L.*) é utilizado para elaboração de bebidas, doces, sorvetes, sucos, geléias e extração de óleo. Objetivou-se avaliar o efeito do consumo do óleo de buriti sobre o *status* nutricional e de enzimas antioxidantes em ratos e incentivar o desenvolvimento de novos produtos que contenham este óleo. O óleo bruto e o refinado a partir deste, em laboratório, foram avaliados quanto à viscosidade, densidade, índices de: refração, acidez, ácidos graxos livres, peróxido e de iodo, grau de oxidação, termogravimetria, calorimetria, capacidade antioxidante *in vitro*, teor de vitamina A e perfil de ácidos graxos. Foram produzidas três formulações de biscoitos: uma contendo 15% de óleo de soja e duas com 7,5 e 15% de óleo de buriti, respectivamente. Estas foram avaliadas quanto à composição centesimal, teor de vitamina A e a qualidade microbiológica. Experimentalmente foram determinados os parâmetros biológicos e murinométricos, o perfil lipídico sérico, as transaminases, o hemograma, a glicemia, bem como o *status* de vitamina A e de enzimas antioxidantes em ratos induzidos ou não ao estresse que receberam dietas adicionadas de óleo de buriti ou do biscoito adicionado deste. Realizaram-se testes de aceitação sensorial por potenciais consumidores e por escolares. Em escolares, avaliaram-se os índices: peso/ idade (P/I), altura/idade (A/I) e índice de massa corporal/ idade (IMC/I) bem como o consumo de alimentos fontes de vitamina A. Mediante o refino conseguiu-se diminuir o grau de oxidação do óleo bruto, com pouca interferência no valor nutricional deste. O consumo de óleo refinado de buriti resultou em maior coeficiente de eficácia alimentar, diminuiu o colesterol total e frações como também as aminotransferases em ratos não estressados. Porém, o consumo de dieta adicionada de óleo de buriti refinado ocasionou aumento de triglicerídeos e de VLDL-C em ratos induzidos ao estresse por gavagem e sobrecarga de ferro. Esta sobrecarga afetou o consumo de dieta e o ganho de peso. O grupo controle apresentou melhor atividade antioxidante de superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPx) no sangue. Contudo, o grupo que consumiu dieta adicionada de óleo de buriti apresentou maior atividade antioxidante de SOD no fígado do que os grupos com sobrecarga de ferro. A ingestão de dieta com óleo de buriti ou complementada com biscoito adicionado deste, aumentou o retinol sérico e o hepático de ratos. A formulação de biscoito contendo 15% de óleo de buriti obteve boa aceitação, além do maior percentual de proteínas, minerais e de vitamina A. As crianças entre 7 e 8 anos apresentaram a maior prevalência de eutrofia para todos os índices antropométricos avaliados, enquanto que meninos entre 8 e 9 anos apresentaram os maiores percentuais de sobrepeso e de obesidade, sendo observada uma baixa frequência de consumo de alimentos fontes de vitamina A. Conclui-se que o óleo refinado de buriti é uma fonte lipídica considerada funcional devido as suas propriedades físico-químicas e nutricionais, o que lhe dá vantagem diante dos vários óleos e gorduras utilizados em alimentos, sendo os biscoitos adicionados deste óleo considerados uma fonte alternativa de vitamina A na alimentação humana.

Palavras chave: antioxidantes, biscoito, estresse oxidativo, lipídios, óleo refinado, vitamina A.

ABSTRACT

Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) is used for the manufacturing of beverages, candies, ice creams, juices, jams and oil extraction. The objective of this study was to evaluate the effect of the consumption of buriti oil on the nutritional status and content of antioxidant enzymes in rats and encourage the development of new products containing this oil. Crude and refined buriti oil were evaluated in laboratory for viscosity, density, and the following indexes: refraction, acidity, free fatty acids, peroxide and iodine, as well as oxidation degree, thermogravimetry, calorimetry, *in vitro* antioxidant capacity, vitamin A content and fatty acid profile. Three cookie formulations were produced: one containing 15% of soybean oil and two with 7.5 and 15% of oil buriti, respectively. These were evaluated for proximate composition, vitamin A and microbiological quality. Biological and murinometric parameters were experimentally determined, as well as serum lipid profile, transaminases, blood count, blood glucose and vitamin A status and antioxidant enzymes in rats induced or not to stress fed with diets added of buriti oil or with cookie containing this oil. Sensory acceptance tests were carried out with potential consumers and schoolchildren. Among schoolchildren, the following indexes were evaluated: weight / age (W/A), height / age (H/A) and body mass index / age (BMI / A) and the consumption of foods rich in vitamin A. By refining, the oxidation degree of the crude oil was reduced, with little interference in its nutritional value. The consumption of refined buriti oil resulted in higher food efficiency ratio, decreased total cholesterol and fractions as well as the content of aminotransferases in rats not induced to stress. However, the consumption of diet added to refined buriti oil increased triglycerides and VLDL-C in rats induced to stress by gavage and iron overload. This overload has affected the diet intake and weight gain. The control group showed better antioxidant activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) in blood. However, the group that consumed diet added of buriti oil showed higher antioxidant activity of superoxide dismutase in the liver than groups with iron overload. The ingestion of diet added of buriti oil or supplemented with cookie added of this oil increased the serum and liver retinol of rats. The formulation of cookies containing 15% of buriti oil, containing higher percentage of protein, minerals and vitamin A, obtained good acceptance. Children from 7 to 8 years of age had the highest eutrophy prevalence for all indexes studied, while boys from 8 to 9 years of age had the highest overweight and obesity percentages, with low frequency of consumption of foods rich in vitamin A. It could be concluded that the refined buriti oil is a source of lipid considered functional due to its physicochemical and nutritional properties, which gives it advantages in relation various oils and fats used in foods, and cookies added of this oil are considered an alternative source of dietary vitamin A.

Keywords: antioxidants, cookie, oxidative stress, lipids, refined oil, vitamin A.

SUMÁRIO

1 Apresentação.....	12
Hipótese.....	15
Objetivos	16
Geral.....	16
Específicos	16
2 Revisão de literatura.....	17
2.1 Óleos vegetais	17
2.2 Óleo de buriti.....	19
2.3 Oxidação lipídica e avaliação da qualidade de óleos	22
2.4 Antioxidantes e pro-oxidantes na saúde humana	23
2.5 Importância da vitamina A no crescimento e desenvolvimento de crianças	26
2.6 Inclusão de alimentos fontes de vitamina a na merenda escolar	27
2.7 Fabricação e consumo de biscoitos	28
3 Métodos.....	31
3.1 Processo de extração e refino do óleo de buriti.....	31
3.2 Análises físico-químicas e térmicas dos óleos bruto e refinado de buriti	33
3.3 Determinação de ácidos graxos do oleo de buriti.....	36
3.4 Determinação de vitamina A do óleo de buriti.....	36
3.5 Determinação do potencial antioxidante <i>in vitro</i> do óleo de buriti	37
3.6 Processamento de biscoitos contendo óleo de buriti e avaliação da qualidade nutricional e das características físico-químicas.....	38
3.6.1 Determinação do conteúdo de vitamina A	40
3.6.2 Determinação de ácidos graxos nos biscoitos	41
3.6.2 Análise microbiológica	42
3.6.3 Aceitação sensorial de biscoitos.....	42
3.7 Avaliação nutricional e do consumo de alimentos fontes de vitamina A por escolares.....	44
3.8 Ensaio biológico.....	45
3.8.1 Experimento 1	45
3.8.1.1 Composição das dietas	46
3.8.1.2 Determinação do conteúdo de vitamina A nas dietas e ingestão de β caroteno pelos ratos	48
3.8.1.3 Avaliação do ganho de peso e do consumo de dieta	48
3.8.1.4 Coeficiente de eficácia alimentar (CEA) e coeficiente de conversão alimentar (CCA)	49
3.8.1.5 Parâmetros murinométricos.....	49
3.8.1.6 Eutanásia dos animais	49
3.8.1.7 Dosagens bioquímicas.....	50
3.8.1.8 Determinação do retinol sérico e hepático	50
3.8.2 Experimento 2	52
3.8.2.1 Composição das dietas	53
3.8.2.2 Parâmetros murinométricos.....	55
3.8.2.3 Eutanásia dos animais	55
3.8.2.4 Mensuração da atividade de enzimas antioxidantes.....	55
3.8.2.5 Dosagem das frações lipídicas	56
3.9 Análise estatística.....	56
4 Resultados – artigos originais	58
5 Considerações finais.....	163
6 Perspectivas.....	165
Referências	166
Apêndice.....	178
Anexo.....	186

2 Apresentação

Os óleos vegetais continuam sendo alguns dos mais importantes derivados de plantas, a maioria destes contém uma grande quantidade de ácidos graxos mono ou poliinsaturados. O buriti (*Mauritia flexuosa L.*) é colhido entre os meses de dezembro e junho e o óleo extraído do fruto pode ser usado para a síntese de biodiesel, apresentando também utilização na medicina popular e sendo consumido como alimento. Para uma média de 200 Kg de fruto é possível obter 20 kg de óleo (FREITAS et al, 1996).

Pesquisas a respeito de caracterização da composição de carotenóides do buriti revelam que o óleo obtido de sua polpa tem altíssimo teor de β -caroteno e faz desse fruto a maior fonte já estudada desse pigmento (RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). Sua concentração de β -caroteno corresponde a 90% dos carotenóides presentes no óleo extraído da polpa do fruto e seu teor supera em dez vezes a quantidade apresentada pelo óleo de palma (*Notalea cochenillifera*, Salm-Dick), que é uma fonte reconhecidamente rica (MARIATH et al, 1989) e cenoura (*Daucus carota L.*) que é a mais consumida (BRASIL, 2005). O óleo da polpa de buriti, além do alto teor de carotenóides, apresenta uma quantidade elevada de tocoferóis principalmente alfa e beta tocoferol (CHEMYUNION, 2002).

Em pesquisa realizada por Yuyama et al (1998) com ratos *Wistar*, sobre a biodisponibilidade de carotenóides em frutos do buriti (*Mauritia flexuosa L.*), demonstrou-se que este fruto é uma fonte de pró-vitamina A altamente biodisponível. Os estudos relacionados à biodisponibilidade de carotenóides referenciados até o presente (MARIATH et al., 1989; YUYAMA et al., 1998; ROSSO; MERCADANTE, 2007) foram realizados especificamente com o fruto de buriti, seja na forma de doces ou polpa.

No Brasil ainda não se realizou pesquisas a respeito da biodisponibilidade de precursores da vitamina A no óleo de buriti como também ainda são escassas as pesquisas a respeito da biodisponibilidade destes nutrientes em produtos fabricados com este óleo. Outros estudos foram realizados contemplando a utilização do óleo de buriti como componente de cosméticos, fármacos (ZANATTA et al., 2008) e materiais poliméricos (DURÃES et al., 2008; SCHLEMMER; SALES, 2010). Embora a flora brasileira seja constituída por muitas espécies que possuam conteúdo significativo de β -caroteno, poucos trabalhos foram realizados visando aproveitar essa riqueza para fins alimentícios, quer como pró-vitamina A, quer como corante, em substituição ao β -caroteno sintético, largamente utilizado na indústria para fins tecnológicos e/ou nutricionais (SOARES, 1999).

A vitamina A é um potente antioxidante que apresenta ação protetora contra o câncer e doenças cardiovasculares (AMBRÓSIO et al., 2006), sua deficiência além de provocar alterações oculares (xerofthalmia e cegueira nutricional) pode causar retardo de crescimento e aumento da susceptibilidade à infecções (SOMMER; DAVIDSON, 2002). Além disso, inicia o impulso nervoso, participa da síntese de glicoproteínas, oferece resistência às infecções mediadas pela ação moduladora da resposta imune, também age como reguladora e moduladora do crescimento e da diferenciação celular (MACHZAK et al., 2006).

A deficiência de vitamina A (DVA) constitui um problema de saúde pública em várias regiões brasileiras (RAMALHO et al., 2002), principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste. As crianças estão, reconhecidamente, sob maior risco para o desenvolvimento de DVA devido ao seu rápido crescimento e desenvolvimento, com conseqüente aumento de necessidades da vitamina (MILAGRES et al, 2007) .

O uso de alimentos localmente disponíveis, ricos em pró-vitamina A e retinol, bem como a fortificação de alimentos, apresentam resultados conhecidos na melhora do estado nutricional em relação a esse nutriente. O Ministério da Saúde tem estimulado a implementação de programas de educação alimentar para incentivar o consumo de alimentos ricos em vitamina A e em outros nutrientes. Muitos destes alimentos, como as frutas nativas, apresentam custo acessível, mesmo para as populações mais carentes (MARTINS et al, 2007).

O aumento do consumo desses alimentos poderia suprir as necessidades de vitamina A da população vulnerável. Ao mesmo tempo, a suplementação (LIN et al, 2009) e a fortificação de alimentos industrializados na forma sintética ou natural de pró-vitamina A poderia contribuir para uma adequação mais rápida da quantidade de vitamina A ingerida em muitas partes de nosso país. O enriquecimento de alimentos tem sido considerado por muitos, como método mais efetivo para prevenir a deficiência de micronutrientes em países em desenvolvimento (BUTT et al, 2007).

Os produtos obtidos a partir do buriti ainda são produzidos em baixa escala e em sua maioria de forma doméstica, no caso do óleo, este é pouco utilizado na alimentação. A aplicação de tecnologias de processamento e conservação propicia a sua comercialização durante todo o ano, uma vez que este é um fruto sazonal o que também movimentaria a economia local.

Por esse motivo, é importante realizar a caracterização físico-química e térmica deste óleo, principalmente as análises referentes à degradação e estabilidade objetivando melhorar os parâmetros de estocagem e de processamento, reduzindo as perdas. A partir destas análises

é possível determinar a estabilidade do material, que é um fator determinante no controle de qualidade de óleos e gorduras durante o processamento, estocagem e utilização industrial.

Tendo em vista a demanda da indústria alimentícia pelo desenvolvimento de novos produtos, com ênfase no mercado consolidado de biscoitos e no interesse dos consumidores por produtos com alto valor nutricional e que traga benefícios para à saúde, a produção de biscoitos adicionados com óleo de buriti, seria mais uma alternativa na dieta de escolares para o combate a deficiência de vitamina A ou mesmo como uma complementação para que se atinjam as recomendações diárias deste nutriente, disponibilizando um alimento regional não só na merenda, mas também na alimentação humana com um todo.

Hipótese

O refino do óleo de buriti pode melhorar o estado de oxidação do óleo em seu estado bruto, além disso, poderá apresentar ação antioxidante *in vitro* e *in vivo* devido a sua composição físico-química e nutricional. A produção de biscoitos contendo este óleo está incentivando o consumo de um alimento regional e fonte de carotenóides.

Objetivos

Geral

Avaliar o efeito do consumo do óleo de buriti sobre o *status* nutricional e de enzimas antioxidantes em ratos e incentivar o desenvolvimento de novos produtos que contenham este óleo.

Específicos

- Comparar os parâmetros físico-químicos e nutricionais entre os óleos bruto e refinado de buriti;
- Determinar os parâmetros murinométricos, o perfil lipídico e o *status* de vitamina A em ratos alimentados com dieta adicionada de óleo de buriti;
- Investigar o comportamento das enzimas antioxidantes em ratos alimentados com dieta adicionada de óleo refinado de buriti;
- Desenvolver formulações de biscoitos adicionados de óleo de buriti, avaliando sua qualidade microbiológica e nutricional;
- Avaliar o efeito do consumo de biscoitos adicionados de óleo de buriti sobre os parâmetros murinométricos e bioquímicos de ratos;
- Analisar a aceitação sensorial dos biscoitos por adultos e crianças;
- Determinar os parâmetros antropométricos de escolares bem como o consumo de alimentos fontes de vitamina A por estas crianças.

3 Revisão de literatura

3.1 Óleos vegetais

Do ponto de vista físico, os óleos são definidos como compostos lipídicos que em temperatura de 20 °C estão na forma líquida. As gorduras são definidas como compostos lipídicos que em temperatura ambiente se encontram na forma sólida ou pastosa (ANDRADE, 2006). Esta diferença deve-se, exclusivamente, à natureza do ácido ou ácidos graxos aos quais o glicerol está esterificado (DAMODARAN et al, 2010). O perfil de ácidos graxos de óleos vegetais varia de acordo com o tipo de cultivar, o clima, o solo, ano entre outros (DUBOIS et al, 2007).

Os óleos vegetais são a principal fonte de ácidos graxos essenciais, ou seja, que não podem ser sintetizados pelo organismo humano, sendo necessário serem introduzidos na dieta. Os três principais ácidos graxos presentes no reino vegetal são o palmítico, o oléico e o linoléico, acompanhados algumas vezes do ácido esteárico e linolênico (Tabela 1) (GUNSTONE, 2005). A procura por óleos mais ricos em ácidos graxos insaturados tem aumentado, em detrimento ao consumo de gorduras saturadas (DUBOIS et al., 2007).

Tabela 1 – Principais ácidos graxos encontrados em óleos vegetais, segundo Gunstone (2005)

Principais ácidos graxos	Óleos vegetais
Láurico (C12:0)	Coco e palma
Palmítico (C16:0)	Palma e algodão
Oléico (C18:1) /linoléico (C18:2)	Girassol, gergelim, algodão, canola, soja
Alto teor de oléico (C18:1)	Oliva, girassol, canola e soja
Linolênico (C18:3)	Linhaça, canola e soja

Embora seja conveniente classificar os óleos por sua composição em ácidos graxos, é importante lembrar que este não é o único indicador de seu valor nutricional e estabilidade oxidativa, sendo importantes também os componentes minoritários do óleo bruto e os compostos remanescentes após o refino (GUNSTONE, 2005). Além de ácidos graxos, os óleos e gorduras apresentam como componentes substâncias que são denominadas não-

glicerídeos como os fosfatídeos, esteróis, ceras, hidrocarbonetos insolúveis, clorofila, vitaminas lipossolúveis, etc. (FARIA et al, 2002).

O manuseio pós-colheita inadequado de oleaginosas pode levar a diminuição do ponto de fumaça, oxidação de vitaminas e níveis elevados de acidez (hidrólise de triacilgliceróis) (GUNSTONE, 2005), o que reduz a estabilidade oxidativa do óleo (SILVA et al, 2009). Nesse contexto, faz-se necessário a realização do refino de óleos vegetais brutos, no qual incluem as etapas de degomagem, neutralização, clarificação e desodorização (BRASIL, 2006), devendo resultar em um produto com qualidade físico-química, nutricional e sensorial desejáveis.

O refino de óleos brutos deve remover impurezas assim como reduzir o teor de ácidos graxos livres a um nível aceitável recomendado pela legislação em vigor. Contudo, podem remover antioxidantes tais como flavonóides, tocoferóis e vitamina A (BELITZ; GROSCH, 1997), o que deve ser monitorado pela indústria de alimentos uma vez que há uma tendência a perdas ainda maiores dos antioxidantes durante o aquecimento de óleos, ou seja, em temperaturas de fritura ou cozimento (VALAVANIDIS et al, 2004).

Óleos vegetais são utilizados em produtos industriais, como margarinas, cremes vegetais, óleos para saladas, maioneses, e também em alimentos preparados manualmente (FOSTER et al, 2009), contribuindo para o sabor, cremosidade, aparência, palatabilidade e textura dos alimentos (SABERI et al, 2011). Geralmente, os consumidores tendem a preferir o óleo que é produzido ou está disponível na região (RAVI et al., 2005). Embora o óleo mais consumido no Brasil seja o óleo de soja, a demanda por óleos vegetais com composição especial vem aumentando, tais como os óleos de oliva, girassol, palma e linhaça, os quais têm apresentado valor comercial elevado, devido à presença de componentes funcionais e por serem os que dominam o mercado mundial em termos de quantidades produzidas (FOSTER et al, 2009).

Várias pesquisas em animais têm demonstrado a utilização de óleos considerados alimentos funcionais na dieta e o impacto sobre o perfil lipídico e o *status* antioxidante. Ohara et al (2009) estudaram o consumo de óleo de canola na dieta de ratos hipertensos, tendo como resultados o aumento do colesterol total e dos triglicerídeos e uma diminuição da enzima antioxidante glutathione peroxidase (GPx) em relação ao grupo controle. Nagaraju e Lokesh (2007) estudaram o efeito de *blends* de óleo de coco com azeite de oliva ou com óleo de amendoim sobre o perfil lipídico de ratos, demonstrando a eficiência destes na redução do colesterol. Gorestein et al (2003) avaliaram o efeito dos óleos de girassol, colza e semente de uva na dieta de ratos, observando que o óleo de colza obteve maior efeito

hipocolesterolêmico. Asadi et al (2010) determinaram o efeito do consumo, a longo prazo, de óleos vegetais (canola, semente de uva e milho) e manteiga de iogurte no colesterol de ratos, demonstrando que os ratos que receberam óleo de canola apresentaram as menores concentrações de triglicerídeos, HDL e LDL. Porém, o efeito da mudança na qualidade da gordura da dieta sobre a síntese de colesterol é controversa (ASADI et al, 2010), assim como sobre as enzimas antioxidantes.

3.2 Óleo de buriti

O buriti (*Mauritia flexuosa*) é uma palmeira de grande porte (Figura 1), com nome derivado do tupi-guarani que significa “o que contém água” estando distribuída não apenas no Brasil, mas em países como Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Peru, Suriname, Trinidad e Venezuela (MARTIN, 1990).



Figura 1 – Palmeira de buriti (Fonte: Jailane de S. Aquino)

No Brasil são encontrados nos estados do Acre, Amazonas, Rondônia, Mato Grosso, Goiás, Pará, Minas Gerais, São Paulo, Piauí e Maranhão. Encontra-se em lugares alagados, cada palmeira pode produzir de 150 a 200 Kg de fruto por safra (MARTIN, 1990). Das 11 espécies disseminadas no Brasil, as duas mais importantes são *Mauritia flexuosa* L. e *Mauritia vinifera* Mart. (TAVARES et al., 1996).

O buriti é um fruto ovóide cujo peso varia de 25 a 40 g, sendo 32 % de polpa, 48 % de casca e 20 % de semente (Figura 2), possui uma casca escamosa e vermelha que recobre uma massa oleaginosa de cor vermelho-amarelada com consistência amilácea e oleosa. O caroço é duro e lenhoso, separado da polpa por um envoltório celulósico (FERREIRA, 2005). O fruto buriti é extraído entre os meses de dezembro e junho (SALAY, 2005), sendo utilizado para elaboração de bebidas, fermentadas ou não, doces, sorvetes, sucos e geléias; extração de óleo, elaboração da farinha a partir da polpa, fibras da epiderme das folhas para confecção de tecidos, chá, cordas, redes, chapéus e bolsas (GALEANO, 1991; MEJIA, 1992; DUARTE, 2007).



Figura 2 – Fruto do buriti (Fonte: Jailane de S. Aquino)

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2005), incluiu a produção de buriti no Anuário Estatístico do Brasil a partir do ano de 2000, que foi de 381 toneladas, dando ênfase que essa quantidade colhida foi destinada à produção de fibras para confecção de barbante, pano de saco e redes de pesca e de dormir, que não inclui o uso de frutos. Desde que a polpa de frutos dessa palmácea foi considerada oleaginosa, ela tem sido estudada quanto sua à composição em ácidos graxos e identidade do óleo (ALBUQUERQUE et al, 2005; SILVA et al, 2009; RIBEIRO et al, 2010), visando o seu aproveitamento devido ao aspecto nutricional e rendimento, que justificariam sua produção em escala industrial.

Analisando a proporção de ácidos graxos em vegetais oleaginosos do Norte-Nordeste, foi encontrado alto teor de ácido oléico (60,3%) e ácido linoléico (44,3%) nas polpas de buriti, sendo que o balanceamento de ômega-6 com ômega-3 está dentro das recomendações da Organização Mundial de Saúde (VIEIRA, 2004). Albuquerque et al (2005) relatam que o processo de formação das moléculas de triglicérides no óleo de buriti é muito similar ao da

treolina, que tem uma ação contra lipoproteínas de baixa densidade (LDL), podendo se associar a utilização do óleo de buriti para esta finalidade.

O buriti constitui uma das principais fontes de pró-vitamina A encontradas na biodiversidade brasileira (RODRIGUEZ – AMAYA, 2008). Segundo Manhães (2007), a polpa de buriti contém em média de 62,93 % de umidade, 8,25 % de carboidratos totais, sendo 5,17 % desta fração de fibra alimentar total, 2,10 % de proteína com predominância dos aminoácidos sulfurados e do triptofano, o que é surpreendente por ser uma proteína de origem vegetal. A fração lipídica da polpa corresponde a 13,85%, tendo o ácido oléico como principal ácido graxo. Contém ainda 0,94% de minerais totais, predominando os elementos K, Ca, Na, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Se, Cr e I. A pesquisa determinou ainda o poder antioxidante dessa polpa, em função dos resultados de carotenóides, polifenóis totais e ácido ascórbico, onde 100 g de polpa contém 23 mg de carotenóides totais, sendo que o teor de β -caroteno foi 13,71 mg/100g polpa e 9,47 mg de polifenóis/100g de polpa, ambos resultados superiores aos encontrados na couve e na cenoura. Além de 56 mg de ácido ascórbico/ 100g de polpa. Em virtude de sua riqueza nutricional, a polpa *in natura* de buriti é considerada um alimento funcional (MANHÃES, 2007).

Segundo Albuquerque et al. (2005), o óleo de buriti contém 800 ppm de tocoferóis, entre 73 e 78 % de ácido oléico, 2 a 3,9 % de ácido linoléico e 2,2 % de ácido linolênico. Sendo que este óleo é considerado uma das maiores fontes de pró-vitamina A (18.339 microgramas de retinol equivalente por 100 gramas de óleo) (VIEIRA, 2004), superando os valores encontrados em qualquer outro óleo. A polpa, a castanha e o óleo de buriti podem ser classificadas tanto como fontes de vitamina E, como de vitamina A (SUGIMOTO, 2007) e pró-vitamina A (KLEMM et al, 2008), que têm importância nutricional bastante reconhecida como antioxidante (SEN et al, 2006) .

Atualmente, a população extrai o óleo de forma artesanal a partir do cozimento dos frutos e assim o utiliza, o que pode não ser recomendado devido à presença de impurezas e submissão do óleo a temperaturas não controladas podendo ocasionar oxidação e perda do seu valor nutricional. A extração caseira do óleo é feita por imersão dos frutos em água e aquecimento, sem fervura, por 4 a 5 horas, até o amolecimento da polpa. A polpa raspada é aquecida em água, até a separação do óleo, que é recolhido e aproveitado para fritura (VIEIRA et al, 2006).

Uma forma menos agressiva para extrair o óleo de buriti seria a extração à frio que é realizada por prensagem dos frutos ou grãos sem casca em prensas hidráulicas seguida do refino (MORETO; FETT, 1989), ambos processos comuns realizados na indústria de

alimentos para os óleos consumidos pela população em geral tais como o de soja, o óleo de canola, o óleo de milho, entre outros. Nestes processos não se utilizam altas temperaturas o que certamente diminui o grau de oxidação do óleo, possibilitando portanto a maior vida de prateleira e maior tempo de conservação deste produto.

3.3 Oxidação lipídica e avaliação da qualidade de óleos

Os métodos de determinação da estabilidade oxidativa surgiram numa tentativa de prever a vida de prateleira de óleos e gorduras, visto que a deterioração oxidativa nos alimentos contendo lipídios é responsável pela formação de sabores estranhos que reduzem a qualidade dos mesmos, além de produzir outros compostos com implicações nutricionais indesejáveis (MALACRIDA, 2009).

A estabilidade oxidativa, parâmetro global para avaliação da qualidade de óleos e gorduras, não depende apenas da composição química, estando também relacionada à qualidade da matéria-prima, as condições a que foi submetido o produto durante o processamento e condições de estocagem (HILL, 1994).

Nas últimas décadas, as técnicas termo-analíticas adquiriram importância crescente em todas as áreas de conhecimento na química básica e aplicada. Esse incremento na utilização dessa metodologia, realmente dotada de grande potencialidade, foi favorecido pela disponibilidade de instrumentos controlados por microprocessadores, capazes de fornecer informações quanto ao comportamento térmico dos materiais de forma precisa e num tempo relativamente curto. Estes métodos são largamente usados no controle de qualidade de óleos vegetais, visto que fornecem, com rapidez, dados sobre a estabilidade do óleo, perante seu comportamento térmico (OCHOCKA et al, 1990).

Encontram-se na literatura investigações sobre o ponto de fusão, cristalização e a oxidação de óleos e gorduras vegetais comestíveis por vários métodos: a) Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), b) Termogravimetria (TG), Termogravimetria Derivada (DTG) e c) Análise Térmica Diferencial (DTA), através destes é possível realizar o controle de qualidade de óleos por TG, DTG, DTA, PDSC, rancimat e petroxi (DANTAS, 2006).

Além destes, métodos físico-químicos mais simples são utilizados para medir a estabilidade oxidativa de um óleo tais como índice de refração, índice de peróxido, índice de

acidez, características sensoriais entre outros, os quais estão descritos no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de óleos vegetais refinados (BRASIL, 2006).

3.4 Antioxidantes e pro-oxidantes na saúde humana

As propriedades antioxidantes de óleos vegetais são estudadas devido aos benefícios à saúde dos consumidores como também, devido ao uso destes na indústria de alimentos (SEN et al, 2006; GUNSTONE, 2002). A estabilidade oxidativa de um óleo pode estar sob influência da quantidade de antioxidantes naturalmente presentes ou adicionados neste produto (ARAIN et al, 2009).

A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Os radicais livres estão entre as principais fontes primárias de catalisadores que iniciam a oxidação *in vivo* e *in vitro* (NIKI, 2010). Radical livre é uma terminologia dada a todo átomo ou molécula que possui elétrons desemparelhados em seu orbital mais externo. A instabilidade eletrônica que resulta da presença destes elétrons desemparelhados torna essas espécies mais reativas (VALKO et al, 2007).

Os radicais livres podem ser formados a partir de espécies reativas de oxigênio tais como oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ânion superóxido ($\text{O}_2^- \bullet$), hidroxil ($\bullet\text{OH}$), radicais alcoxil ($\text{RO}\bullet$) e peroxil ($\text{RO}_2\bullet$) ou em função de espécies reativas de nitrogênio (HALLIEWLL; GUTTERIDGE, 2007). Os radicais livres podem ser gerados por fontes endógenas ou exógenas. Por fontes endógenas, originam-se de processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo, tais como: redução de flavinas e tióis; resultado da atividade de oxidases, cicloxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases; presença de metais de transição no interior da célula e de sistemas de transporte de elétrons. As fontes exógenas geradoras de radicais livres incluem tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas, radiações, consumo de bebidas alcoólicas e hábitos alimentares inadequados (BLOCK et al, 2002; SOARES, 2002).

O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo (HALLIEWLL; GUTTERIDGE, 2007). O estresse oxidativo tem sido associado ao desenvolvimento de muitas doenças crônicas e degenerativas, incluindo o câncer, doenças cardíacas, diabetes, inflamações crônicas, doenças degenerativas como Alzheimer, doenças auto – imunes e

inflamatórias, bem como está envolvido no processo de envelhecimento (CHRISTEN, 2000; BUJISSE et al, 2007; ASARE et al, 2009).

Tanto o excesso como a deficiência de micronutrientes podem potencializar danos oxidativos ao DNA, lipídios e proteínas. A perda da homeostase de micronutrientes pode ocorrer devido a erros inatos do metabolismo e/ou consumo excessivo de micronutrientes (BLOCK et al, 2002). Assim, embora o ferro seja essencial para os processos bioquímicos vitais, ele também catalisa a produção de espécies reativas de oxigênio (BUJISSE et al, 2007), o que significa que a sobrecarga de ferro pode aumentar o estresse oxidativo celular. Entre a população adulta e idosa, ocorre um aumento natural da quantidade de radicais livres presentes no organismo (SZWEAD et al, 2002), além de um aumento do consumo de alimentos fortificados com ferro nos últimos anos (AKHTAR et al, 2011) e de suplementos de minerais (HAMRICK; COUNTS, 2008).

A sobrecarga de ferro (DAL-PIZZOL et al, 2001; DOMITROVIĆ et al, 2008; YU et al, 2011), de chumbo (MONEIM et al., 2011), bem como o consumo de dietas hiperlipídicas (BURNEIKO et al, 2006; ZAMBONIN et al, 2008), testes com exercícios físicos (CHANG et al 2007; SUN et al, 2010), imobilização (ZAIDI; BANU, 2004) são alguns dos modelos utilizados para induzir o estresse oxidativo em animais, com a finalidade de testar o potencial antioxidante de substâncias específicas ou alimentos *in vivo*.

As células apesar de produzirem continuamente radicais livres e espécies reativas de oxigênio durante o metabolismo aeróbico, produzem simultaneamente antioxidantes para combatê-los, evitando assim o estresse oxidativo (HALLIEWELL; GUTTERIDGE, 2007). As lesões causadas pelos radicais livres nas células podem ser prevenidas ou reduzidas por meio da atividade de antioxidantes, sendo estes encontrados em muitos alimentos. Os antioxidantes podem agir diretamente na neutralização da ação dos radicais livres ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função (SHAMI; MOREIRA, 2004). Esses agentes que protegem as células contra os efeitos dos radicais livres podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos (catalase, superóxido dismutase, glutatona peroxidase, enzimas de reparo e NADPH-quinona oxidoreductase) ou não-enzimáticos (ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides, flavonóides, selênio, entre outros.) (SIES, 1993). Outros efeitos fisiológicos da ação de compostos antioxidantes seriam atuar como anticancerígenos e antimutagênicos, considerando que estes problemas ocorram por ação de radicais livres (MORAES; COLLA, 2006).

Em adição aos efeitos protetores dos antioxidantes endógenos, a inclusão de antioxidantes na dieta é de grande importância e o consumo de frutas e vegetais está

relacionado com a diminuição do risco do desenvolvimento de doenças associadas ao acúmulo de radicais livres (POMPELLA, 1997).

Os alimentos contendo substâncias antioxidantes naturais são amplamente estudados, visando a prevenção de doenças crônica – degenerativas (DILLIS; TRICHOPOULOU, 2010; JACOMELLI et al, 2010; RUFINO et al, 2011). A preservação destes compostos é importante para a conservação e a estabilidade de alimentos, além de oferecer fontes exógenas de antioxidantes para os consumidores (RODRIGUEZ-AMAYA, 2010).

A capacidade antioxidante de alimentos *in vitro* pode ser medida pela utilização de vários métodos, envolvendo desde ensaios químicos com substratos lipídicos a ensaios mais complexos utilizando as mais diversas técnicas instrumentais (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Segundo Alves (2010), os principais métodos são por seqüestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), método da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico, análise por fluorescência – ensaio fluorimétrico, seqüestro do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), seqüestro do radical peroxil (método ORAC), dentre outros. Em muitos destes métodos, a capacidade antioxidante é baseada no IC 50 calculado com base na concentração final em $mg.mL^{-1}$ do extrato seco presente na cubeta, requerido para decrescer a concentração inicial do reagente (gerador de radicais) em 50%. VANZANI et al (2011) desenvolveram o *oxygraphic method* que é baseado em um rigoroso modelo cinético, permitindo medir a eficiência com que o radical peroxil é inibido pelo antioxidante, o que permite melhor comparação entre o potencial antioxidante de diversos alimentos.

Devido à crescente busca por substâncias bioativas que substituam os produtos sintéticos e diminuam os efeitos colaterais, um grande número de testes *in vitro* têm sido desenvolvido para avaliar a atividade antioxidante, porém muitos desses métodos não têm demonstrado correlação com a habilidade dos compostos em inibir o estresse oxidativo *in vivo*. Isto se deve ao fato de que a atividade antioxidante depende não somente da reatividade química do antioxidante, mas também de fatores como localização física, interação com outros componentes e condições ambientais (ALVES et al, 2010).

Os estudos sobre os antioxidantes *in vivo* têm ressaltado, principalmente, o uso de nutrientes mediante suplementação no tratamento e prevenção de doenças. Vários modelos experimentais com animais vêm utilizando a suplementação de dietas com vitaminas ou minerais, sendo que alguns testes são realizados com um tipo de micronutriente ou com associação entre dois ou mais micronutrientes (ZAIDI; BANU, 2004; BLOCK et al, 2008). Entretanto, nos alimentos são encontrados uma grande variedade de substâncias que podem atuar em sinergismo na proteção das células e tecidos (JACOB, 1995; HERCBERG et al,

1998). Jun et al (2009) ressaltam que há perspectivas de que antioxidantes dietéticos possam ser usados futuramente na prevenção de doenças cuja gênese envolva processos oxidativos.

Os carotenóides fazem parte do sistema de defesa antioxidante em humanos e animais (STAHL; SIES, 2003). Segundo Faulks e Southow (2001) os carotenóides são capazes de interromper as reações de radicais livres que podem oxidar lipídios poliinsaturados e de proteger o DNA contra ataque de radicais livres. Os carotenóides são responsáveis pela prevenção de câncer (NISHINO et al, 2009), diabetes, doenças cardiovasculares (SUZUKI et al, 2011) entre outras doenças crônicas provavelmente devido as suas propriedades antioxidantes (RAO; RAO, 2007).

A vitamina A apresenta uma capacidade antioxidante direta *in vitro*, no entanto, sua ação antioxidante *in vivo*, assim como o seu efeito sobre biomarcadores de estresse oxidativo, ainda não são bem estabelecidos (LARS, 2008). Arruda et al (2009), observaram que ratos com deficiência de vitamina A apresentaram maiores níveis de estresse oxidativo, e que o estresse foi reduzido quando receberam alguma fonte de vitamina A. Com base neste fato, foi proposto um mecanismo de ação antioxidante direto, no qual a vitamina A seria capaz de reduzir moléculas radicalares ou formar um complexo com espécies radicalares, estabilizando os elétrons desemparelhados por ressonância (PERES et al, 2003).

3.5 Importância da vitamina A no crescimento e desenvolvimento de crianças

A necessidade média de vitamina A estimada para crianças de até 10 anos varia entre 300 e 500 µg/dia (IOM, 2001). Sendo que os pré-escolares e escolares estão, reconhecidamente, sob maior risco para o desenvolvimento de hipovitaminose A devido ao seu rápido crescimento e desenvolvimento, com conseqüente aumento de necessidades da vitamina, além das múltiplas patologias a que estão expostos, principalmente as infecções respiratórias e gastrintestinais (RAMALHO et al, 2002).

Estima-se que o número de crianças com carência marginal de vitamina A seja entre cinco a dez vezes maiores do que o das que apresentam manifestações visíveis da deficiência (KOBORI; AMAYA, 2008). A forma subclínica assintomática aumenta a morbidade e a mortalidade por infecções, diarréia, doenças do trato respiratório (KABAT et al, 2009) e anemia (WEST Jr, 2003).

Em estudo realizado por Ramalho et al (2001), com pré-escolares no Rio de Janeiro, observou-se que as taxas de prevalência de DVA encontradas indicaram que as crianças desta faixa etária são um grupo de risco para o desenvolvimento de hipovitaminose A. Em estudo realizado por Graebner et al (2007) no Distrito Federal com crianças e adolescentes de 5 a 18 anos, observou-se que 33,55 % dos escolares pesquisados apresentavam DVA, com prevalência de 35,44 % entre crianças de 5 a 9 anos de idade. Na Bahia, em crianças residentes em áreas rurais, foi determinado nível inadequado de retinol sérico (nível deficiente: < 10,0 µg/dL; nível baixo: < 20 µg/dL) em 45 % das crianças (PRADO et al., 1995).

A causa primária das deficiências vitamínicas é a falta ou aporte deficiente dessas substâncias na dieta (WHO, 1996). A ausência do hábito ou baixa frequência do consumo de frutas, hortaliças e legumes na infância (CRUZ et al, 2001), ressalta a importância e a urgência da viabilização de um programa de educação nutricional junto a essa população, destacando a importância destes alimentos na dieta assim como as potencialidades dos alimentos regionais (COZZOLINO, 2005).

3.6 Inclusão de alimentos fontes de vitamina a na merenda escolar

O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) ganha uma dimensão social maior, à medida que, em face da pobreza de significativa parcela da população brasileira, cresce o número de crianças que vão à escola em jejum e/ou que se alimentam em casa de maneira inadequada. Para muitos alunos das escolas brasileiras, a merenda é sua única refeição diária (FNDE, 2002). A importância da alimentação para a criança em idade escolar reside no fato de ser uma fase de crescimento contínuo e em virtude disto, as exigências nutricionais devem ser atendidas em todos os parâmetros (energéticos, protéicos, lipídicos, vitamínicos, minerais e de fibras) (JACOBSON, 1998).

O cardápio da merenda escolar é planejado de acordo com a verba disponível, que é repassada com base no censo escolar, sendo orientado para dar preferência aos alimentos regionais, possibilitando, assim, uma maior aceitação da merenda, bem como maior incremento na renda local pela produção de alimentos regionais (FLAVIO et al, 2004). A Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição, realizada no Estado do Piauí em 1991, com 2. 262

crianças mostrou que 23,1 % das crianças piauienses menores de 5 anos não atingiam níveis normais de crescimento em termos de estatura/idade (UNICEF..., 1992).

Em estudo realizado por Cruz et al. (2001) com crianças menores de 6 anos no estado do Piauí sobre o valor nutricional de refeições servidas em creches, observou-se pouca variedade de alimentos (cerca de 33 tipos), apesar da grande diversidade de frutos tropicais na região. Frutas como buriti, manga, acerola, goiaba, mamão, abacaxi, cajú, ata, jaca, carambola, cajá, entre outras frutas regionais de fácil aquisição e preços acessíveis, que são ricas em fibras, vitamina A e vitamina C, raramente são integradas ao cardápio. Observou-se ainda que o conteúdo de vitamina A mostrou-se inferior às recomendações nutricionais da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição para todas as crianças. Portanto, é sugerido que os alimentos fontes desta vitamina sejam introduzidos nos cardápios como forma de evitar as graves conseqüências decorrentes da carência alimentar de vitamina A.

A utilização de alimentos regionais, ricos em pró-vitamina A e retinol, bem como a fortificação de alimentos, apresentam resultados conhecidos na melhora do estado nutricional em relação a esse nutriente (BUTT et al, 2007). Segundo Cozzolino (2005), o enriquecimento de alimentos é um dos quatro programas para a prevenção e controle da hipovitaminose A, sendo que do ponto de vista da saúde pública recomenda-se que os alimentos enriquecidos sejam direcionados aos grupos vulneráveis da população. Tanto o enriquecimento de alimentos como o estímulo à produção e consumo de alimentos fontes de vitamina A ou precursores desta são diretrizes para o combate à hipovitaminose A e fazem parte da Política Nacional de Alimentos e Nutrição (PNAN, 2003).

3.7 Fabricação e consumo de biscoitos

O biscoito é o produto obtido pelo amassamento e cozimento conveniente de massas preparadas com farinhas, amidos e féculas, fermentadas ou não. Outras substâncias alimentícias, tais como a gordura, também são utilizadas como matéria-prima (MORETTO; FETT, 1999). A produção do segmento de biscoitos em 2010 atingiu 1,24 milhões de toneladas, o Brasil permanece como segundo maior produtor mundial deste alimento, atrás apenas dos Estados Unidos, que produz cerca de 1,5 milhões de toneladas. O consumo *per capita* de biscoitos no Brasil é em média 6,0 kg/hab/ano (ABIMA, 2011).

Existem vários tipos de classificação dos biscoitos: baseados na textura, na modificação do formato no assamento, na extensibilidade da massa, ou nos vários modos como a massa é manuseada antes da formação do biscoito. Outra classificação mais abrangente baseia-se nas proporções de gordura, açúcar e água, onde maiores proporções de gordura e açúcar tornam a consistência destes produtos mais macia e uma maior proporção de água torna a consistência mais estruturada e de acordo com o formato, produzindo-se biscoitos dos tipos: prensado (maisena), formado por rolo, cortado por fio, depositado (wafer e champanhe) e o cracker (SOUZA et al, 2001 citando MATIZ, 1968).

Vitti (1992) dividem os ingredientes dos biscoitos em materiais de estrutura ou endurecimento (farinha, sal, leite, água e ovos) e de amaciamento (açúcar, gordura e fermento), dependendo da sua ação no produto acabado. Podem ser adicionados ainda, ácidos, bicarbonato de sódio, farinha de aveia e farinha de soja como material de endurecimento e uva passa, tâmaras, farinha de milho e outros como material de amaciamento.

A gordura utilizada em biscoitos pode ser de origem animal ou vegetal, na forma sólida ou líquida, conforme o produto a ser obtido. Tem a finalidade de reduzir o tempo de mistura, visto que envolve os grânulos de açúcar e as partículas de trigo, controla o desenvolvimento do glúten, tornando o produto final mais macio. Outras funções da gordura são a aeração e o melhoramento da expansão dos biscoitos. A aeração ocorre na fase da mistura o que leva ao aumento do volume do biscoito, textura uniforme e macia (EL DASHI; GERMANI, 1994).

Diversos produtos alimentícios são elaborados empregando como ingrediente gordura vegetal hidrogenada, rica em ácidos graxos *trans*; a exemplo dos biscoitos, consumidos principalmente por crianças e adolescentes (AUED-PIMENTEL, 2003). Campos e Zuanon (2004) observaram um consumo de 33,4 % de biscoitos nos lanches de escolares, dos quais principalmente os biscoitos recheados apresentaram consumo diário (DIAS; GONÇALVES, 2009).

Diante deste contexto, os cereais são ótimos veículos para a fortificação, uma vez que nos países em desenvolvimento 95 % da população consomem cereais, estes são relativamente baratos (RANUM, 2000), estão prontos para o consumo e apresentam relativamente longa vida de prateleira (ARSHAD et al, 2006). Além disso, o enriquecimento de produtos de panificação tais como pães, biscoitos, *croissants* e *muffins* com vitamina A não afeta a aparência e nem o sabor destes alimentos (QUÍLEZ et al, 2006).

Foi observado que a vitamina A na forma de retinil acetato é estável em produtos como pães, bolos e biscoitos porque são assados em condições moderadas (BUTT et al,

2007). De acordo com Zhang et al (2010), biscoitos fortificados com pelo menos 30 % da ingestão diária recomendada (DRI) de vitamina A, diminuíram a Deficiência de Vitamina A (DVA) em pré-escolares (3 a 6 anos) quando consumidos por nove meses, fazendo o mesmo efeito que a administração de suplementos vitamínicos com doses maciças de vitamina A e que o consumo destes biscoitos pode não só evitar a DVA mas também melhorar os escores de estatura/idade e peso/idade, o que é reconhecidamente uma das funções primordiais desta vitamina no organismo.

Entretanto, é importante salientar que a maior parte das pesquisas, que envolve a análise sensorial de biscoitos por crianças (CAVALHEIRO et al, 2001; SAYDELLES et al, 2010; GRANITO et al, 2010), obteve notas sensoriais elevadas, porém estes utilizam essências para mascarar o sabor dos biscoitos o que contribui de forma substancial para este resultado. Segundo Brug et al (2008), o sabor é um dos maiores determinantes na escolha alimentar das crianças.

Tendo em vista que o biscoito faz parte da dieta de crianças, pode ser um alimento enriquecido/fortificado com vitamina A ou precursores e, neste caso, com o óleo de buriti, com objetivo de somar-se aos outros alimentos consumidos durante o dia para atingir as recomendações nutricionais diárias desta vitamina.

4 Métodos

4.1 Processo de extração e refino do óleo de buriti

O óleo bruto de buriti foi adquirido no comércio popular da cidade de Picos – PI, Brasil. As amostras de óleo foram extraídas de forma artesanal a partir de frutos maduros mediante o cozimento em água por 20 min. na temperatura de ± 60 °C, separando-se posteriormente a fração oleosa da aquosa. Para todos os experimentos foram utilizados 15 L de óleo bruto de diferentes lotes, para cada litro de óleo destinado ao refino, 200 mL era armazenado e 800 mL era refinado para efeito de comparação das variáveis físico-químicas, termo-oxidativas e nutricionais entre as amostras antes e após o processo de refino. Utilizou-se óleo de soja de uma mesma marca comercial, sendo adquirido em supermercado local para ser utilizado como controle.

A Figura 3 representa o fluxograma do refino de óleo bruto de buriti. Para tanto, inicialmente o óleo bruto foi submetido ao processo de degomagem mediante a adição de 3,0 % de água em relação ao volume do óleo, com posterior aquecimento a 60 °C e agitação durante 30 min., de acordo com a metodologia proposta por Moretto e Fett (1989).

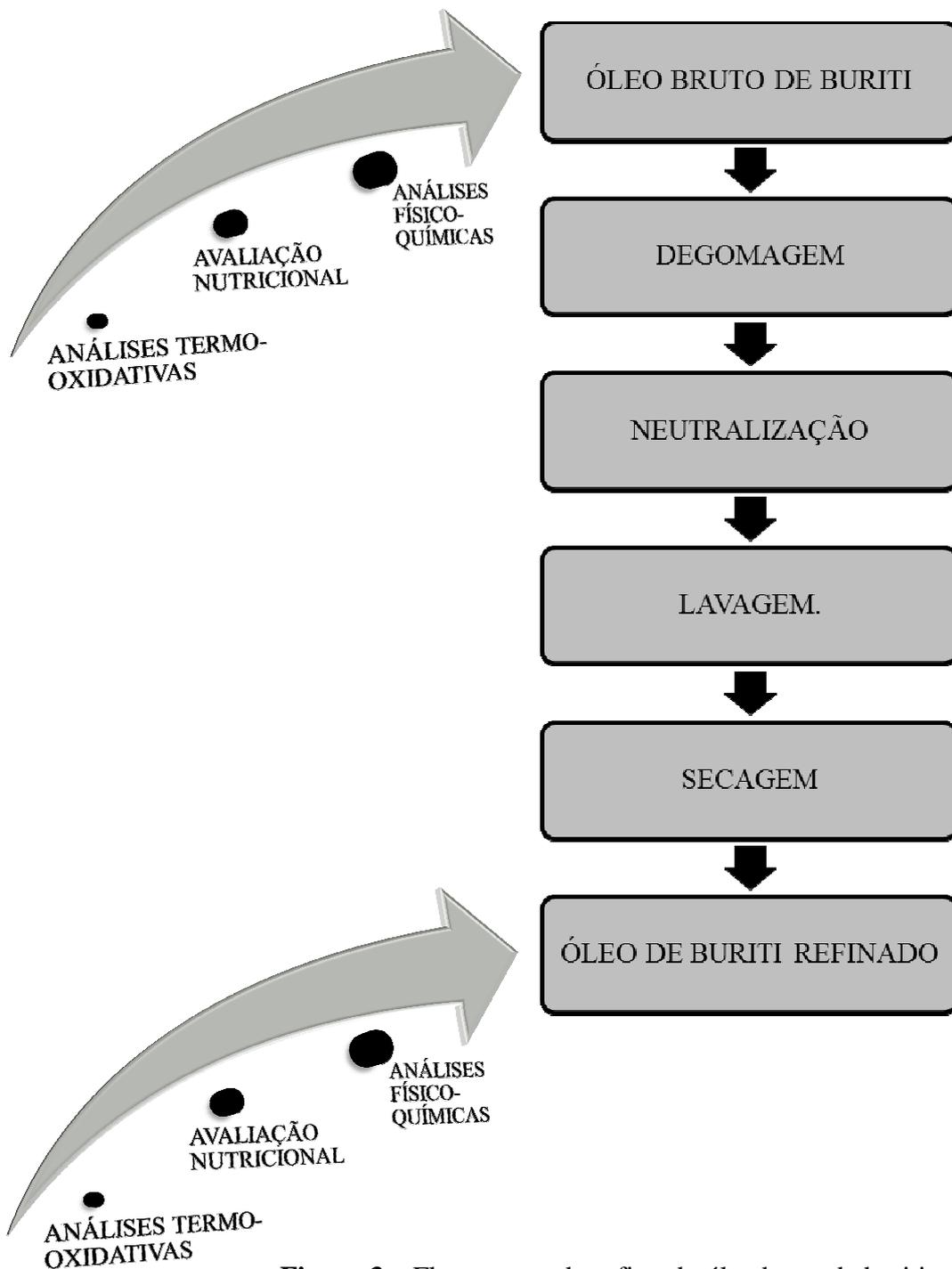


Figura 3 – Fluxograma do refino do óleo bruto de buriti

Em seguida, o óleo foi neutralizado segundo a metodologia descrita por Moraes et al (2001) sob temperatura de 50 °C e agitação por 30 minutos, adicionando-se 5,0 % da solução de hidróxido de sódio em relação ao volume do óleo, sendo esta solução com concentração de 12 %. Posteriormente, o óleo foi centrifugado a 5.000 rpm, para a retirada de impurezas sólidas presentes no produto. Logo após, o óleo foi transferido para um funil de separação

onde foi realizada a etapa de sucessivas lavagens. As lavagens foram realizadas com intervalos de 30 minutos cada, adicionando-se ao óleo neutralizado água a temperatura ambiente e água à temperatura de 90- 95 °C de forma alternada e sempre submetendo à agitação manual no próprio funil de separação e retirada de gás. Em cada etapa de lavagem, após a separação das fases, a água foi descartada e a ela adicionaram-se os indicadores fenolftaleína e, posteriormente, nas últimas lavagens, o verde de bromotimol, com objetivo de detectar algum resquício de hidróxido de sódio usado na neutralização. As lavagens continuaram até que os indicadores não mais detectassem alcalinidade na água.

O óleo foi seco em evaporador rotativo a temperatura de 60 ° C, sob pressão de vácuo por 20 min. e agitação branda e logo em seguida, resfriado. Estas amostras de óleo foram armazenadas em frascos âmbar com capacidade de 1litro cada, devidamente codificadas e mantidas sob refrigeração entre 7 e 10 °C. A Figura 4 representa o desenho experimental de todo o estudo.

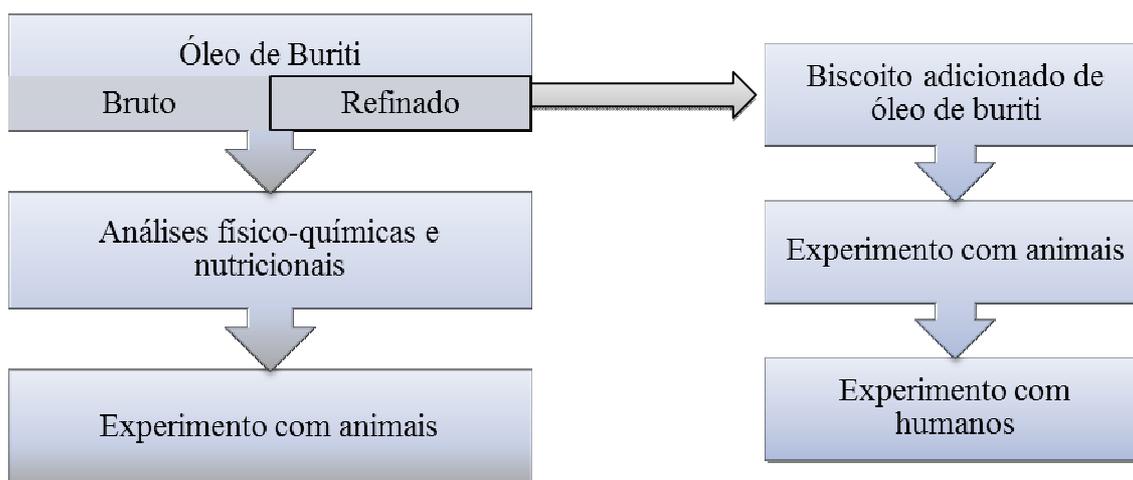


Figura 4 – Desenho experimental do estudo

4.2 Análises físico-químicas e térmicas dos óleos bruto e refinado de buriti

A avaliação da qualidade físico-química consistiu nas determinações do índice de acidez, determinação dos ácidos graxos livres, índice de peróxido, índice de refração, determinação da viscosidade e da densidade relativa, grau de oxidação lipídica por espectroscopia na região UV-VIS e análise térmica. Para todas as análises físico-químicas utilizaram-se três amostras de óleo de bruto buriti e três de óleo refinado de buriti a partir das

respectivas amostras brutas, para efeito de comparação das variáveis físico-químicas entre as amostras antes e após o processo de refino. Todas as análises foram realizadas em triplicata no Laboratório de Combustíveis e Materiais – LACOM do Departamento de Química da Universidade Federal da Paraíba - UFPB.

Os ácidos graxos livres foram determinados por titulometria, pesando-se aproximadamente 2 g de óleo e a ele adicionando-se 50 mL de álcool etílico a 95 % que foi previamente neutralizado com solução aquosa de hidróxido de sódio 0,1 N, utilizando a fenolftaleína como indicador (AOCS, 1997). O índice de acidez em ácido oléico foi determinado pesando-se aproximadamente 2 g de óleo e adicionando-se 25 mL de solução éter-álcool (2:1). Posteriormente, foi realizada a titulação da amostra utilizando-se o indicador fenolftaleína, com a solução de hidróxido de sódio 0,1M até o aparecimento da cor rósea persistente, de acordo com a metodologia da AOCS Cd 5-40 (1997)

Para a determinação do índice de peróxido foram pesadas 5 e 1 g, respectivamente de cada amostra refinada e bruta de óleo de buriti. Em seguida, adicionou-se 30 mL de solução de ácido acético-clorofórmio (3:2), com leve agitação, seguida da adição de 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio, a mistura foi deixada em repouso ao abrigo da luz por 1 min. Posteriormente, adicionou-se 30 mL de água destilada. Este conteúdo foi titulado com tiosulfato de sódio 0,1 N, em constante agitação até o desaparecimento da cor amarela, quando foi adicionado 0,5 mL de solução de amido 1%, continuando a titulação até o desaparecimento da cor azul, conforme a metodologia proposta pela AOCS Cd 8-53 (1997).

Determinou-se o índice de refração das amostras brutas e refinadas do óleo de buriti, seguindo a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005). As leituras foram realizadas em refratômetro Abbe (marca Analytik Jena), o qual foi inicialmente ajustado com água destilada a um índice de refração conhecido de 1,333. As amostras foram filtradas e a leitura foi realizada colocando-se duas gotas de cada amostra no prisma do aparelho. Entre cada leitura, o aparelho foi limpo com auxílio de álcool e algodão. As leituras foram realizadas a temperatura de 30 °C e os valores das leituras foram corrigidos para uma temperatura padrão de 40 °C, conforme a fórmula:

$$R = R' + K (T' - T)$$

Em que:

R – leitura à temperatura padrão

R' - leitura à temperatura ambiente

T – temperatura padrão (40 °C)

T' - temperatura ambiente na qual a leitura R' foi realizada (° C)

K – 0,0003650 para gorduras e 0,0003885 para óleos

As amostras de óleo bruto e refinado de buriti foram avaliadas quanto à viscosidade em viscosímetro cinemático manual (marca Julabo), ajustado na temperatura de 40 °C. Para tanto, mediu-se 10 mL da amostra do óleo de buriti em proveta, a mesma foi acrescentada ao tubo em U de capacidade de 150 mL, o tubo foi acoplado ao viscosímetro já com temperatura estabilizada em 40 °C. Com auxílio de uma seringa, a amostra contida no tubo foi succionada até acima da primeira marca do tubo. O cronômetro foi acionado quando a amostra escoou da primeira marca até a segunda, anotando-se o tempo de escoamento. O cálculo da viscosidade foi feito a partir da seguinte equação:

$$V_{1,2} = C \times t_{1,2}$$

C = constante de calibração do viscosímetro (0,03301)

$V_{1,2}$ = viscosidade cinemática (mm²/s)

$t_{1,2}$ = Tempo de fluxo para t_1 e t_2 em segundos

Determinou-se a densidade relativa, de acordo com a metodologia recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005), estabilizando-se a temperatura das amostras a 25 °C, utilizando banho com água natural e um termômetro. Primeiramente, pesou-se o picnômetro vazio, depois encheu-se o mesmo com água e anotou-se o valor. Outro picnômetro foi pesado vazio e depois cheio com a amostra, anotando-se o peso. O cálculo da densidade relativa foi realizado a partir da fórmula:

$$D_{\text{relativa}} = \frac{(\text{pic amostra}) - (\text{pic})}{(\text{pic} + \text{água}) - (\text{pic})}$$

As amostras de óleo bruto e refinado de buriti foram analisadas em espectrômetro UV – visível (UV-2550 Shimadzu) em comprimento de onda de 200 a 900 nm, utilizando-se 1µL do óleo diluído em diclorometano, sendo o volume completado em balão para 10 mL com o mesmo solvente e posteriormente transferido este volume para uma cubeta de quartzo para a

realização da leitura no espectrômetro. Antes da leitura das amostras, o espectrômetro foi calibrado com duas cubetas contendo diclorometano.

As curvas termogravimétricas (TG) e calorimétricas (DSC - calorimetria exploratória diferencial) foram obtidas utilizando-se analisador SDT 2960 (*TA Instruments*) e analisador térmico DSC 2920 (*TA Instruments*), respectivamente. O método não-isotérmico foi aplicado, utilizando-se 10 mg de amostra aquecida a $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $900\text{ }^{\circ}\text{C}$, para TG, e até $600\text{ }^{\circ}\text{C}$, para DSC. As análises foram realizadas utilizando-se porta-amostras de platina e ar sintético a uma vazão de fluxo de 110 mL min^{-1} . Foram obtidas a temperatura de oxidação *onset* (OT_{onset}), que corresponde à temperatura relativa ao aumento brusco de produtos de oxidação, como também a temperatura de oxidação inicial (OT_i), correspondente ao início do processo oxidativo.

4.3 Determinação de ácidos graxos do óleo de buriti

Inicialmente obteve-se o extrato lipídico pelo método de Folch et al (1957). A partir do extrato, foram obtidos os ésteres metílicos mediante esterificação realizada de acordo com a metodologia de Hartman e Lago (1973). A identificação e quantificação dos ésteres metílicos foram realizadas em cromatógrafo a gás de marca Ciola & Gregori Ltda (modelo CG-Master), com um detector de ionização por chama. As condições cromatográficas foram: coluna de polietilenoglicol (Carbowax 20M), de sílica fundida, com 30 m de comprimento, 0,53 mm de diâmetro e 0,25 μm de espessura da película de fase estacionária. As temperaturas utilizadas foram respectivamente para o vaporizador e detector 150 e $200\text{ }^{\circ}\text{C}$. A programação do forno consistiu da seguinte seqüência de trabalho: $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 min., aumentando-se $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, permanecendo em $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 6 min, posteriormente decaindo $3\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $180\text{ }^{\circ}\text{C}$. A fase móvel foi hidrogênio, com uma vazão de 5 mL min^{-1} . O volume injetado foi de $1\text{ }\mu\text{l}$, com uma razão de divisão de 1:25. A caracterização dos ácidos graxos foi realizada por comparação do espectro de massas obtido com aquele de padrões que também foram injetados no CG-MS.

4.4 Determinação de vitamina A do óleo de buriti

As amostras foram saponificadas a frio com solução de hidróxido de potássio metanólico a 10 %. Ao extrato adicionou-se éter de petróleo que foram lavados com água até pH neutro, em seguida o volume foi ajustado e o extrato filtrado em membrana de 0,45 µL para injeção. A identificação e quantificação do β caroteno foram realizadas em HPLC class 10 de marca Shimadzu com arranjo de diodos e injetor manual, com comprimento de onda de 450 nm. As condições cromatográficas foram: coluna de lichrospher 100 RP (Merck), C18, com 125 m de comprimento, 4 mm de diâmetro e 5 µm de espessura da película de fase estacionária. A fase móvel foi metanol:clorofórmio (95:5), com uma vazão de 1 mL min⁻¹. O volume injetado foi de 200 µL. O resultado de β caroteno foi convertido para vitamina A com uso do fator 1,8 (CARVALHO et al, 1992).

4.5 Determinação do potencial antioxidante *in vitro* do óleo de buriti

Para a realização desta análise, em 5 g do óleo foi adicionado 40 mL de hexano 50 % que foi homogeneizado e deixado em repouso por 60 min. à temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 15.000 rpm por 15 min. e o sobrenadante transferido para um balão volumétrico de 100 mL. A partir do resíduo da primeira extração, adicionou-se 40 mL de acetona 70 %, homogeneizou-se, deixado em repouso por 60 min. à temperatura ambiente. Posteriormente a amostra foi centrifugada novamente a 15.000 rpm por 15 minutos e transferido o sobrenadante para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante, sendo o volume completado para 100 mL com água destilada.

Diferentes concentrações de extrato foram utilizadas na avaliação (de 0,4; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg mL⁻¹). Alíquotas de 0,1 mL do extrato foi adicionado a 3,9 mL de solução metanólica de DPPH• (60 µM). A mistura foi homogeneizada, incubando-se no escuro por 30 min. A leitura foi feita a 517 nm em espectrofotômetro Shimadzu UV-VIS modelo 1650-PC (Tokyo, Japão). Utilizou-se álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Soluções de *Carduus marianus* e de catequina foram utilizadas como padrões antioxidantes, nas mesmas concentrações do extrato. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em % de seqüestro de radicais livres (% SRL), através da seguinte equação:

$$\% \text{ SRL} = \frac{(\text{Abs a} - \text{Abs b}) \times 100}{\text{Abs b}}$$

SRL= % de seqüestro de radicais livres

Abs b = absorbância do branco

Abs a = absorbância da amostra

O valor de IC₅₀ foi calculado com base na concentração final em mg.mL⁻¹ do extrato seco presente na cubeta, requerido para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50 % (ROESLER et al, 2007).

4.6 Processamento de biscoitos contendo óleo de buriti e avaliação da qualidade nutricional e das características físico-químicas

Os biscoitos tipo *cookie* foram produzidos a partir das seguintes formulações descritas na Tabela 2, adaptadas da metodologia proposta por Moretto e Fett (1999).

Tabela 2 - Formulações* dos três tipos de biscoito.

Ingredientes/ Formulações	15% de óleo de Soja	7,5% de óleo de buriti	15% de óleo de buriti
Farinha de trigo	100	100	100
Óleo de buriti	---	7,5	15
Óleo de soja	15	---	---
Lecitina	3,0	1,5	3,0
Açúcar	30	30	30
Xarope de milho	7,5	7,5	7,5
Sal	0,75	0,75	0,75
Bicarbonato de amônia	0,5	0,5	0,5
Bicarbonato de sódio	1,0	1,0	1,0
Água	12,5	25	12,5

* Quantidades em porcentagem com base no total da farinha de trigo

Na Figura 5 tem-se o fluxograma com as etapas da produção dos três tipos de biscoito. A partir da mistura do óleo, açúcar, xarope, água e lecitina, formou-se um creme em que posteriormente, foram adicionados farinha de trigo e os agentes químicos dissolvidos em água, misturando-se durante 3 a 5 min. e a massa foi deixada descansando por 20 min. Os biscoitos foram formados por rolo moldador e o cozimento ocorreu em temperatura de 210 °

C por 15 min., em seguida foram resfriados à temperatura ambiente de 25 ± 3 ° C e acondicionados em embalagens metalizadas, resistentes a troca gasosa e vapor d'água.

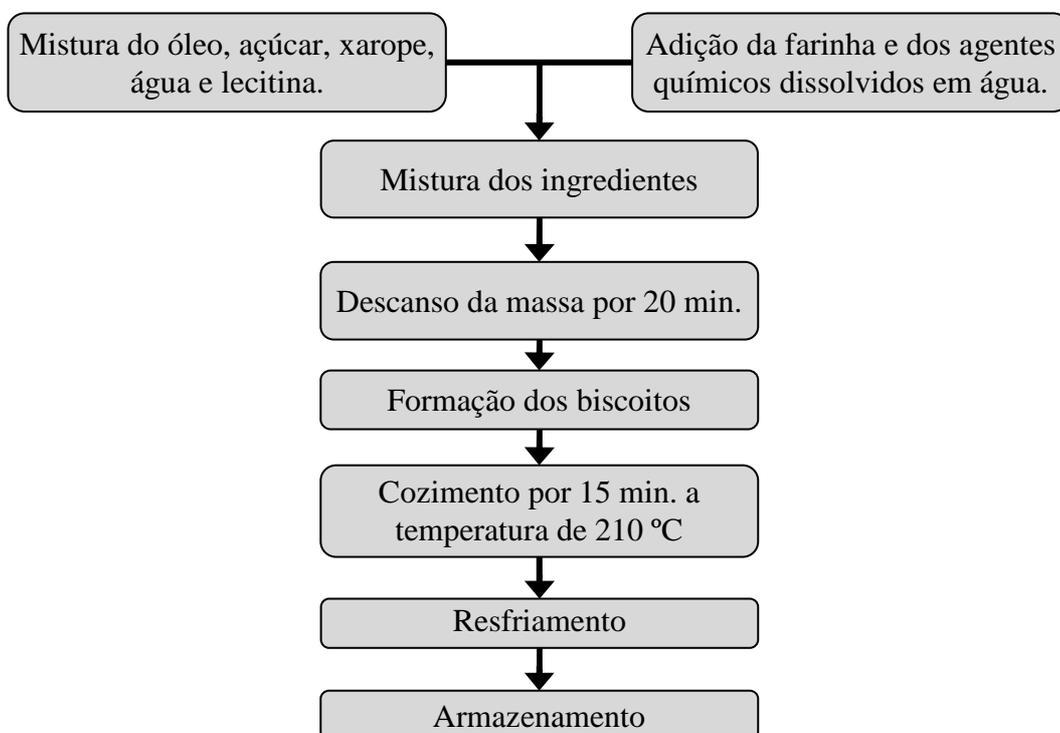


Figura 5 – Fluxograma de elaboração das formulações de biscoitos adicionados de óleo de buriti ou de soja.

A determinação de umidade, resíduo mineral fixo, proteínas, carboidratos totais, foram realizadas de acordo com as normas da Association Official Analytical Chemists - AOAC (2002). A determinação de lipídios totais, pH e acidez titulável foi realizada conforme recomendação do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005) e o valor energético total foi calculado seguindo recomendação da RDC n. 94 (BRASIL, 2000).

Para as análises de quantificação de vitamina A, determinação de ácidos graxos, bem como para o ensaio biológico, os biscoitos foram transformados em farinha. Após a produção dos biscoitos, estes foram triturados em liquidificador doméstico para a obtenção da farinha do biscoito que foi adicionada nas dietas experimentais dos ratos.

amostras foram centrifugadas a 1000 rpm por 3 min. Retirou-se o extrato hexânico e acondicionou-se em frasco âmbar. Os procedimentos de lavagem com hexano e retirada do extrato citados foram realizados cinco vezes. O extrato hexânico foi evaporado com nitrogênio e, posteriormente, foi resuspenso em 3 mL de metanol padrão HPLC. Esta amostra foi filtrada em membrana Minlipore Fluoropore com 0,5 µm de diâmetro para ser injetada no HPLC.

O HPLC utilizado foi da marca Varian, modelo 2699, composto por bomba isocrática, com injetor manual Reody, com alça de amostragem de 20 µL, acoplado a detector de arranjo de diodo (DAD) e coluna cromatográfica C₁₈ (Chrompack-Varian, Inerstisil – 150 x 4,6 mm 5ODS-2) com 5 µm de diâmetro de partícula. As condições cromatográficas do HPLC foram: fase móvel, metanol:água (98:2), a um fluxo de 1 mL min⁻¹ com detecção em 325 nm. Para identificação, utilizou-se a comparação dos tempos de retenção obtidos com os padrões nas mesmas condições cromatográficas e os espectros de absorção obtidos no detector de arranjo de diodos (DAD). A quantificação foi realizada pelo método de padronização externa.

No experimento com animais, a ingestão de vitamina A na forma de β caroteno que é o principal carotenóide encontrado no óleo de buriti, foi calculada a partir da quantidade de β caroteno determinada nos três tipos de dieta em função da quantidade de ração consumida por cada grupo de ratos.

3.6.2 Determinação de ácidos graxos nos biscoitos

Foi realizado com as amostras de biscoitos trituradas, obtendo-se o extrato lipídico pelo método de Folch et al. (1957). A partir do extrato, foram obtidos os ésteres metílicos mediante esterificação realizada de acordo com a metodologia de Hartman e Lago (1973). A identificação e quantificação dos ésteres metílicos foram realizadas em cromatógrafo à gás de marca Ciola & Gregori Ltda (modelo CG-Master), com um detector de ionização por chama. As condições cromatográficas foram: coluna de polietilenoglicol (Carbowax 20M), de sílica fundida, com 30 m de comprimento, 0,53 mm de diâmetro e 0,25 micrômetros de espessura da película de fase estacionária. As temperaturas utilizadas foram: vaporizador: 150 °C, detector: 200 °C e programação do forno: 80°C por 3 min., 10 °C.min⁻¹ até 120 °C. Permanecendo em 200 °C durante 6 min., posteriormente decaindo 3 °C. min⁻¹ até 180°C. A fase móvel foi hidrogênio, com uma vazão de 5 mL/min. O volume injetado foi de 1 µL,

com uma razão de divisão de 1:25. A caracterização dos ácidos graxos foi realizada por comparação do espectro de massas obtido com aquele de padrões que também foram injetados no CG-MS.

4.6.3 Análise microbiológica

Previamente a análise de aceitação sensorial, foi realizada a avaliação microbiológica do biscoito, baseada na RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) a qual recomenda que as análises para biscoitos sem recheios incluam a determinação de *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* e coliformes totais. As análises foram realizadas segundo a metodologia descrita por Vandezant e Splittstoesser (1992).

4.6.4 Aceitação sensorial de biscoitos

Participaram do teste de aceitabilidade 72 provadores, potenciais consumidores que foram recrutados por meio de questionário, com base na disponibilidade e interesse de participar do teste sensorial. O referido teste foi realizado no laboratório de análise sensorial pertencente ao Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba – UFPB. O questionário para o recrutamento conteve perguntas fechadas referentes aos hábitos e periodicidade de consumo de biscoitos, o que permitiu a realização de uma triagem dos consumidores. Em todas as avaliações, as amostras foram servidas na temperatura usual de consumo (temperatura ambiente), em pratos plásticos devidamente codificados com números de três dígitos aleatórios, acompanhados de um copo com água mineral para ser ingerido entre uma amostra e outra. Esta análise obteve prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da UFPB, sob o número CEP/HULW n. 146/09 (Anexo A).

Realizou-se o teste de aceitação global, quanto aos atributos de aparência, aroma, textura e sabor por meio de escala hedônica de 9 pontos (1 = desgostei extremamente, 5 = Indiferente, 9 = gostei extremamente), além disso, foram avaliadas a intenção de compra e a preferência entre as amostras de acordo com a metodologia preconizada por Meilgaard et al (1988), utilizando-se ficha sensorial (Apêndice A).

A análise sensorial de biscoitos também foi realizada com crianças na cidade de Picos – PI – Brasil, a qual foi selecionada em virtude da elevada produção e comercialização do óleo de buriti, levando-se em consideração o hábito de consumo do produto pela população.

Tanto a análise sensorial como a avaliação do estado nutricional e do consumo de vitamina A, foram realizadas com 201 escolares na faixa etária de 7 a 10 anos de escolas municipais da cidade de Picos –PI – Brasil. O número de crianças foi estipulado com base na população de escolares matriculados na rede municipal de ensino da cidade de Picos – PI-Brasil, em 2009, considerando-se as recomendações de amostragem da WHO (1996). Foram sorteadas cinco escolas municipais de acordo com as diferentes áreas de localização e a pesquisa foi autorizada pela Secretaria de Educação. Para a realização deste estudo, obteve-se prévia aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (protocolo CEP/UFPE n. 430/10) (Anexo B).

Após o sorteio das escolas, os pesquisadores visitaram as mesmas para o esclarecimento da pesquisa aos professores e diretores. Posteriormente, foi realizado um convite aos pais ou responsáveis legais que tivessem crianças na faixa etária de interesse, para que estes comparecessem a uma reunião na própria escola com objetivo de descrever e informar sobre o estudo.

Os critérios de inclusão foram: idade entre 7 e 10 anos; autorização dos pais ou responsáveis legais e hábito de consumir biscoitos. Os critérios de exclusão foram: apresentar sintomas de gripe ou resfriado na data dos testes definitivos.

Previamente aos testes definitivos pelo método afetivo, foram realizadas sessões de treinamento com três amostras de biscoitos de marcas comerciais conhecidas. Os testes definitivos foram realizados com as formulações desenvolvidas nesta pesquisa, em sessões com grupos de até 30 crianças, que provaram uma amostra de cada formulação de biscoito. As amostras foram codificadas por cores (vermelho, azul e amarelo) de acordo com Rodrigues et al (2007) e o julgamento consistiu em marcar uma das opções na escala hedônica facial de sete pontos para cada amostra (RE, 2006). Para a análise dos resultados, foram atribuídas as notas 1 para horrível, 4 mais ou menos e 7 para ótimo (Apêndice B).

No estudo envolvendo crianças, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice C) foi assinado pelos pais/ responsáveis, enquanto que no estudo envolvendo adultos acima de 18 anos de idade, os próprios participantes assinaram este termo (Apêndice D).

4.7 Avaliação nutricional e do consumo de alimentos fontes de vitamina A por escolares

No mesmo dia da realização da análise sensorial de biscoitos, foram realizadas a avaliação nutricional e do consumo de alimentos fontes de vitamina A, com objetivo de evitar perdas na amostragem.

Para a avaliação do estado nutricional, as medidas de peso e altura foram realizadas por alunos treinados do curso de Nutrição. Para a tomada do peso, utilizou-se balança digital marca Tanita, com capacidade de até 150 Kg e precisão de 100 g, sendo pesadas descalças e com indumentária mínima. Aferiu-se a altura com o uso de fita métrica aderida a uma parede sem rodapés e um esquadro de madeira, observando-se as recomendações de Lohman et al (1988). Para esta medida, a fita foi fixada na parede e as crianças colocadas em posição ereta, descalças, com os membros superiores pendentes ao longo do corpo, os calcanhares, o dorso e a cabeça tocando a parede. As crianças foram classificadas quanto ao estado nutricional, conforme recomendação da OMS (2007), pelo uso dos índices altura/idade (A/I), peso/idade (P/I) e Índice de Massa Corporal/Idade (IMC/I). Foram consideradas obesas crianças com índices superiores a 2,0 escores Z acima da mediana da população de referência e com excesso de peso com índices superiores a 1,0 escore Z acima da mediana da população de referência e baixo peso aquelas com índices inferiores a 2,0 escores Z abaixo da mediana de referência.

O questionário de Frequencia Alimentar (QFA) (Apêndice E) foi aplicado aos pais/responsáveis no mesmo dia da realização da antropometria e análise sensorial dos biscoitos. Pôde-se estimar o consumo de alimentos fontes de vitamina A por meio de um QFA semi-quantitativo contendo uma lista de 28 itens alimentares considerados fontes da referida vitamina, adaptado do questionário validado por Prado et al (1995) que foi baseado na proposta do International Vitamin A Consultative Group (IVACG, 1989). Este questionário classifica os alimentos conforme o conteúdo de retinol equivalente (RAE), em baixo (<250 µg RAE), moderado (50 –250 µg RAE) e alto (> 50 µg RAE), microgramas de equivalentes de atividade de retinol-RAE (µg RAE) do consumo. Ao questionário, acrescentaram-se alimentos como o óleo, o doce e a polpa de buriti, pequi, murici e bacuri que são frutos fontes de vitamina A (RODRIGUEZ -AMAYA, 2008), localmente disponíveis e consumidos no estado do Piauí.

4.8 Ensaio biológico

Foram realizados dois ensaios biológicos separadamente, utilizando-se nos experimentos 1 e 2, respectivamente 40 e 30 ratos machos da linhagem *Wistar* e recém-desmamados, nas idades de ± 21 dias e ± 90 dias, respectivamente. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com água e ração *ad libitum*, temperatura 22 ± 1 ° C, umidade relativa entre 50 e 55 % e ciclo claro/escuro de 12 horas.

4.8.1 Experimento 1

Neste experimento, foram determinados os parâmetros murinométricos, os biológicos e os bioquímicos tais como a dosagem de vitamina A no sangue e fígado dos animais, o perfil lipídico, a dosagem das transaminases, o hemograma e a glicemia. Na primeira etapa do experimento, os animais foram distribuídos em três grupos: (CS) Grupo Controle (caseína + óleo de soja), (EBB) Grupo Experimental (caseína + óleo bruto de buriti), (EBR) Grupo Experimental (caseína + óleo refinado de buriti). Na segunda etapa, os animais foram distribuídos em dois grupos: grupo controle com biscoito adicionado de óleo de soja (BS) e grupo experimental com biscoito adicionado de óleo de buriti (BB). As dietas foram administradas por um período de 28 dias a partir do desmame e os teores de macro e micronutrientes das dietas dos grupos CS (controle), EBB (experimental) e EBR (experimental), foram calculados e equilibrados seguindo as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN 93 –G) (REEVES et al, 1993). As dietas dos grupos BS e BB também foram calculadas seguindo o AIN- 93G (REEVES et al, 1993), porém modificadas mediante a adição de biscoito contendo óleo de soja ou biscoito contendo óleo de buriti, respectivamente. Após o período experimental (28 dias), os animais foram eutanasiados para a realização das dosagens bioquímicas. Todo o protocolo experimental foi procedido mediante a aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa Animal – CEPA – UFPE sob o número 23076.015472/2009-25 (Anexo C).

4.8.1.1 Composição das dietas

As dietas destinadas aos grupos CS, EBB e EBR (Tabela 3) e BS e BB (Tabela 4) foram preparadas semanalmente no Laboratório de Nutrição Experimental/UFPE e oferecidas diariamente em quantidade suficiente para garantir o consumo *ad libitum*.

Tabela 3 – Composição centesimal das dietas oferecidas aos grupos controle contendo óleo de soja (CS) e experimentais contendo óleo bruto de buriti (EBB) ou refinado (EBR) de acordo com as recomendações da AIN – 93G.

Ingredientes	Quant. g/100g	CS					EBB					EBR				
		PTN	CHO	LIP	Fibra	Energia Kcal	PTN	CHO	LIP	Fibra	Energia Kcal	PTN	CHO	LIP	Fibra	Energia Kcal
Amido de milho	52,9	0,53	46,0	-	-	186,10	0,53	46,0	-	-	186,10	0,53	46,0	-	-	186,10
Caseína	20,0	17,0	-	-	-	68,00	17,0	-	-	-	68,0	17,0	-	-	-	68,0
Sacarose	10,0	-	10,0	-	-	40,00	-	10,0	-	-	40,00	-	10,0	-	-	40,0
Óleo de soja ou óleo de buriti	7,0	-	-	7,0	-	63,0	-	-	7,0	-	63,0	-	-	7,0	-	63,0
Celulose	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mix minerais	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mix vitamínico	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-L metionina	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bitartarato de colina	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	100,0	17,53	56,0	7,0	-	357,10	17,53	56,0	7,0	-	357,10	17,53	56,0	7,0	-	357,10

AIN – 93G (Reeves et al., 1993)

Os biscoitos com adição de 15 % óleo de buriti ou 15% de óleo de soja foram triturados até a obtenção de farinhas. Os ingredientes utilizados na produção dos biscoitos foram: farinha de trigo, óleo de buriti, lecitina, açúcar, sal, bicarbonato de sódio, bicarbonato de amônia, xarope de milho e água, produzidos de acordo com o item 3.6. O biscoito com adição de 15% de óleo de buriti, foi destinado à complementação da dieta dos ratos do grupo experimental (BB) e o biscoito contendo 15% de óleo de soja foi destinado ao grupo controle (BS) (Tabela 4).

Tabela 4 – Composição centesimal das dietas oferecidas ao grupo controle com dieta AIN – 93G modificada pela adição de biscoito contendo óleo de soja (BS) ao grupo experimental com dieta AIN – 93-G modificada pela adição de biscoito contendo óleo de buriti (BB).

Ingredientes	Quant g/100g	BS							BB						
		PTN	CHO	LIP	MIN	FIB	VIT	Energia Kcal	PTN	CHO	LIP	MIN	FIB	VIT	Energia Kcal
Farinha do biscoito	50,0	4,01	35,75	5,52	2,62	-	-	208,72	4,2	37,6	3,35	2,60	-	-	197,35
Caseína	15,3	13,0	-	-	-	-	-	52,0	13,0	-	-	-	-	-	52,0
Sacarose	10,0	-	10,0	-	-	-	-	40,0	-	10,0	-	-	-	-	40,0
Amido	15,7	-	15,7	-	-	-	-	62,8	-	15,7	-	-	-	-	62,8
Fibra	5,0	-	-	-	-	5,00	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-
Óleo de soja	1,5	-	-	1,5	-	-	-	13,5	-	-	3,65	-	-	-	32,85
Mix minerais	0,9	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-
Mix vitamínico	1,0	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	1,0	-
D-L metionina	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bitartarato de colina	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	100,00	17,01	61,45	7,02	3,5	5,0	1,0	377,02	17,2	63,3	7,0	3,6	5,0	1,0	385,00

AIN – 93G (Reeves et al., 1993)

4.8.1.2 Determinação do conteúdo de vitamina A nas dietas e ingestão de β caroteno pelos ratos

O conteúdo de vitamina A das dietas foi determinado seguindo-se a mesma metodologia usada para a determinação de vitamina A dos biscoitos (BERBEL, 2007), de acordo com figura 5. A ingestão de vitamina A sob forma de β caroteno, que é o principal carotenóide encontrado no óleo de buriti, foi calculada a partir da quantidade de β caroteno determinada nos três tipos de dieta em função da quantidade de dieta consumida por cada grupo de animais.

4.8.1.3 Avaliação do ganho de peso e do consumo de dieta

Os animais foram pesados semanalmente, no horário de 7 as 9 da manhã, utilizando-se balança eletrônica digital com capacidade para 4 Kg, para avaliação da curva ponderal e do ganho de peso. Foram ofertados diariamente 20 g de dieta/animal, peletizada específica para cada um dos grupos. O rejeito limpo (RL) e o rejeito sujo (RS) foram quantificados a cada dois dias. O consumo da dieta foi quantificado semanalmente, de acordo com a equação:

$$C = DO - (RL + RS)$$

Em que:

C = Consumo de dieta semanal (g)

DO = Dieta oferecida(g)

RL = Rejeito limpo(g)

RS = Rejeito sujo(g)

4.8.1.4 Coeficiente de eficácia alimentar (CEA) e coeficiente de conversão alimentar (CCA)

O coeficiente de eficácia alimentar (CEA) foi calculado dividindo-se o ganho de peso (g) pela ingestão de dieta (g) e coeficiente de conversão alimentar (CCA) foi calculado dividindo-se a ingestão de dieta (g) pelo ganho de peso (g) (CAMPBELL,1963).

$$\text{CEA} = \frac{\text{PF} - \text{PI}}{\text{QI}}$$

$$\text{CCA} = \frac{\text{QI}}{\text{PF} - \text{PI}}$$

Em que:

PF = peso corporal do animal no final do experimento (g)

PI = peso corporal do animal no início do experimento (g)

QI = quantidade total de alimento ingerido semanalmente (g)

4.8.1.5 Parâmetros murinométricos

Os parâmetros murinométricos foram realizados com os animais anestesiados, antes da eutanásia, utilizando-se fita métrica foram aferidas: a circunferência abdominal (AC), imediatamente anterior a pata traseira e a circunferência torácica (TC), imediatamente posterior a pata dianteira, além do comprimento corporal que é medido do nariz até a base da cauda e do peso corporal. O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso corporal (g) pelo comprimento ao quadrado (cm²) e o Índice de Lee (IL) foi calculado pela raiz cúbica do peso corporal (g) dividido pelo comprimento (cm). Todos os parâmetros seguiram a metodologia preconizada por Novelli et al (2007).

4.8.1.6 Eutanásia dos animais

Ao final dos 28 dias do experimento e após o jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados via intraperitoneal, com 1mL cloridrato de quetamina e 1mL cloridrato de xilasina para cada Kg de peso do animal e eutanasiados. Todos os animais foram perfundidos através do ventrículo esquerdo (punção cardíaca) para a realização das análises bioquímicas como também se retirou o fígado para a dosagem do retinol hepático.

4.8.1.7 Dosagens bioquímicas

As dosagens de glicose, colesterol e frações (HDL-c, VLDL-c e LDL-c) e triglicerídeo foram realizadas ao final de todas as análises nos animais *in vivo*. Após terem sido anestesiados, o tórax foi aberto bilateralmente ao osso esterno desde o músculo diafragma até a altura das clavículas para evidenciar o coração. Em seguida, foi realizada a punção cardíaca direta para retirada de 4 ml de sangue de cada animal. O sangue coletado foi centrifugado a 3000 rpm durante 10 min. Após a centrifugação, o soro obtido foi mantido à temperatura ambiente (25°) para dosagem de glicose (enzimático), colesterol (enzimático), HDL-c (Polietilenoglicol-PEG), LDL-c (Polietilenoglicol-PEG), VLDL-c (Polietilenoglicol-PEG) e triglicerídeos (enzimático). Estas análises foram realizadas com a utilização de kits Dolles. Também foram quantificadas as transaminases alanina-aminotransferase (ALT) e a aspartato-aminotransferase (AST) assim como o hemograma.

4.8.1.8 Determinação do retinol sérico e hepático

As concentrações hepáticas e séricas de retinol foram realizadas no Centro de Investigação em Micronutrientes – CIMICRON, localizado no Hospital Universitário Lauro Wanderley em João Pessoa – PB. As análises foram realizadas em HPLC marca Dionex, contendo coluna C₁₈ medindo 4,6 x 2,50mm x 5 µm, pré-coluna, detector ajustado em 325 nm, fluxo da fase móvel (metanol) de 1,5 ml/ min e retenção do pico em 3,6 min (Apêndice F e G).

Para a quantificação de retinol sérico foi seguida a metodologia recomendada por Furr et al (1992) que utiliza amostras de 2 mL de sangue, as quais foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos para retirada do soro com auxílio de uma micropipeta. Foram pipetados 100

μL de amostra para tubos cônicos de vidro, sendo adicionados $100\ \mu\text{L}$ de etanol para a precipitação de proteínas, agitando-se por 10 segundos. A seguir, foram adicionados $200\ \mu\text{L}$ de hexano, agitou-se por 45 segundos e posteriormente foi centrifugado a $3.000\ \text{rpm}$ por 5 minutos. Após este procedimento, extraiu-se $100\ \mu\text{L}$ do sobrenadante, transferindo-o para um tubo de ensaio para evaporação com nitrogênio. As amostras foram readissolvidas com $100\ \mu\text{L}$ de metanol, de onde foram retirados $20\ \mu\text{L}$ para a injeção no HPLC (Figura 6).

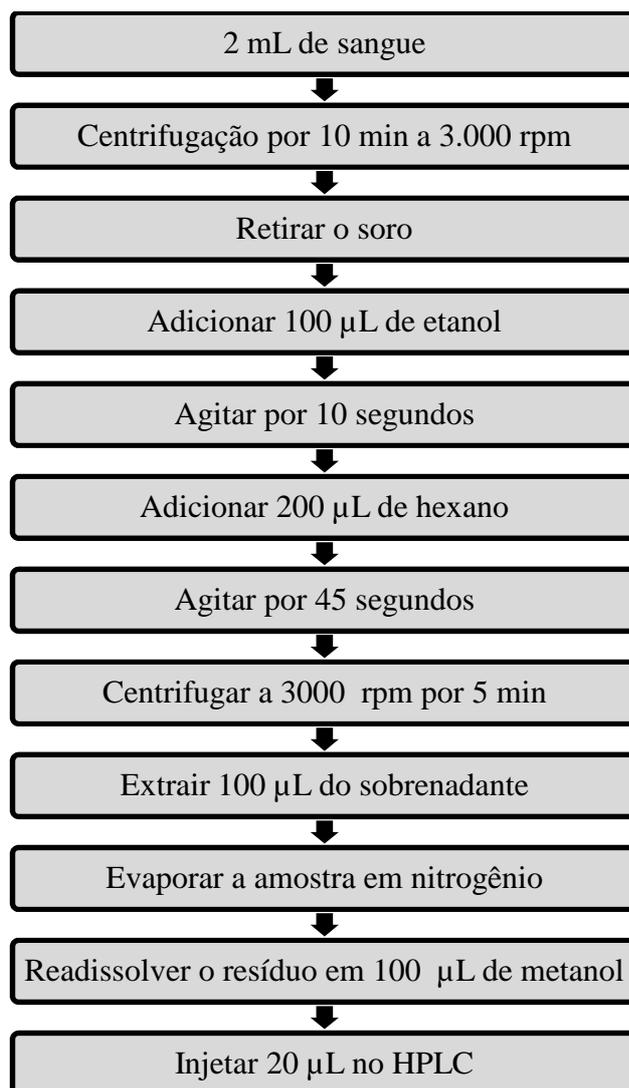


Figura 6 – Etapas de extração e determinação de vitamina A a partir de soro sanguíneo

Na quantificação de retinol hepático utilizou-se o procedimento adaptado de Stahl et al (1993), em que as amostras foram extraídas de $1\ \text{g}$ de fígado com $2\ \text{mL}$ de etanol e homogeneizadas em agitador mecânico por $2\ \text{min}$. Em seguida foram agitadas em vórtex por $2\ \text{min}$., acrescentando-se $2\ \text{mL}$ de hexano. Posteriormente foram centrifugadas a $10.000\ \text{rpm}$ por $10\ \text{min}$., ocorrendo a secagem do sobrenadante em atmosfera de nitrogênio e ressuspensão

em 100 μL de metanol (padrão HPLC), de onde foram retirados 20 μL para a injeção no HPLC (Figura 7).

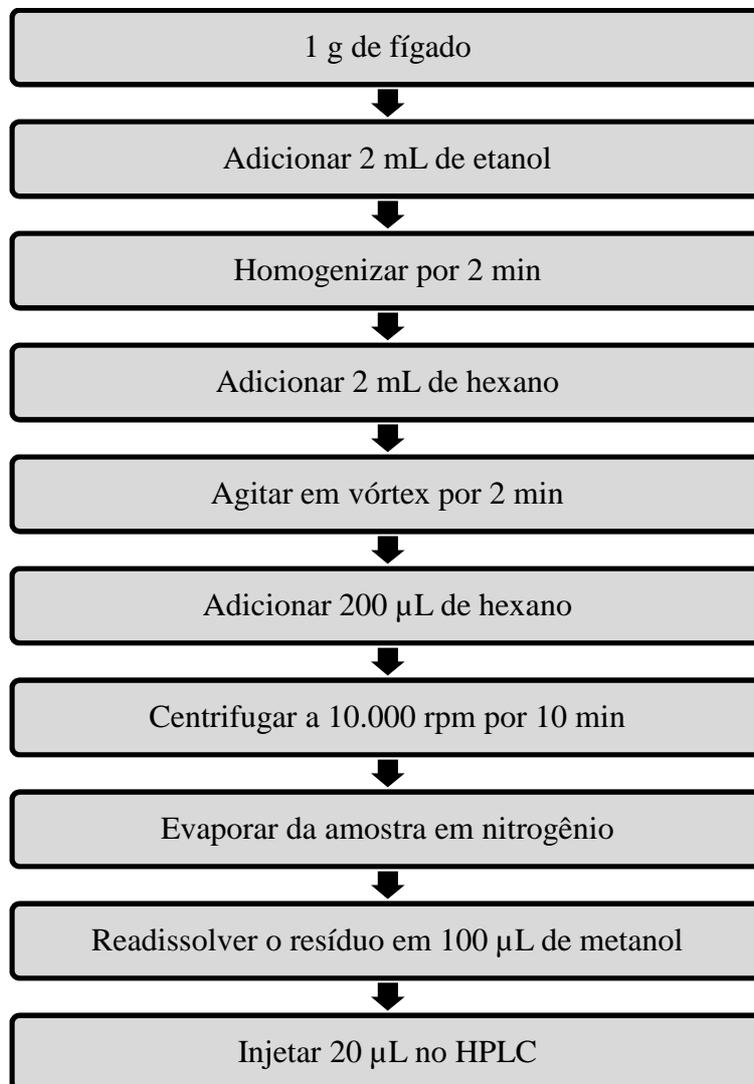


Figura 7 – Etapas de extração e determinação de vitamina A a partir de amostras de fígado

4.8.2 Experimento 2

O experimento foi iniciado com 32 ratos machos da linhagem *Wistar*, porém um animal de cada grupo controle e dois animais de cada grupo experimental foram a óbito devido ao procedimento de gavagem que é uma técnica bastante agressiva ao organismo do animal e provoca aumento do estresse no animal (ÕKVA et al, 2006). Portanto, neste experimento foram utilizados 26 ratos machos da linhagem *Wistar*, com idade \pm 90 dias e

peso inicial de ± 335 g, contudo as dosagens bioquímicas só foram realizadas em 5 animais de cada grupo devido às perdas por coagulação de algumas amostras de sangue.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com água e ração *ad libitum*, temperatura 22 ± 1 ° C, umidade relativa entre 50 e 55 % e ciclo claro/escuro de 12 h. Avaliou-se o *status* das enzimas antioxidantes a partir da indução ao estresse fisiológico que foi provocado por gavagem (Ökva et al, 2006) diária durante 17 dias, com quantidade de 2 mL de solução salina para os grupos controle ou 2 mL de sulfato de ferro II para os grupos experimentais (MENDES et al, 2009).

Os teores de macro e micronutrientes das dietas foram calculados e equilibrados seguindo as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN) (REEVES et al, 1993). Os animais foram distribuídos em quatro grupos: grupo controle com gavagem com solução salina e dieta AIN 93M contendo óleo de soja (CS; $n = 5$), grupo controle com gavagem diária com solução salina e dieta AIN 93M modificada contendo óleo de buriti (CB; $n = 5$), grupo experimental com gavagem com sulfato de ferro II e dieta AIN 93M contendo óleo de soja (FS; $n = 5$) e grupo experimental com gavagem com sulfato de ferro II e dieta AIN 93M modificada contendo óleo de buriti (FB; $n = 5$). Todo o protocolo experimental foi procedido mediante a aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa Animal – CEPA – UFPE sob o número 23076.001000/2010-29 (Apêndice D).

4.8.2.1 Composição das dietas

As dietas destinadas aos grupos CS, FS, CB e FB (Tabela 5) foram preparadas semanalmente no Laboratório de Nutrição Experimental/UFPE e oferecidas diariamente em quantidade suficiente para garantir o consumo *ad libitum*.

Tabela 5 – Composição centesimal das dietas oferecidas aos grupos controles (CS e CB) e experimentais (FS e FB) acordo com as recomendações da AIN – 93M

Ingredientes	Quant g/100g	CS e FS					CB e FB				
		PTN	CHO	LIP	Fibra	Energia Kcal	PTN	CHO	LIP	Fibra	Energia Kcal
Amido de milho	61,9	0,62	53,83	-	-	247,60	0,62	53,83	-	-	247,60
Caseína	14,0	12,0	-	-	-	48,00	12,0	-	-	-	48,00
Sacarose	10,0	-	10,0	-	-	40,00	-	10,0	-	-	40,00
Óleo de soja ou óleo de buriti	4,0	-	-	4,0	-	36,0	-	-	4,0	-	36,0
Celulose	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mix minerais	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mix vitamínico	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-L metionina	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bitartarato de colina	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	100,0	12,62	63,83	4,0	-	341,80	12,62	63,83	4,0	-	341,80

AIN – 93M (Reeves et al., 1993)

4.8.2.2 Parâmetros murinométricos

Os parâmetros murinométricos foram realizados com os animais anestesiados, antes da eutanásia, utilizando-se fita métrica foram aferidas: a circunferência abdominal (AC), imediatamente anterior a pata traseira e a circunferência torácica (TC), imediatamente posterior a pata dianteira, além do comprimento corporal que é medido do nariz até a base da cauda e do peso corporal. O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso corporal (g) pelo comprimento ao quadrado (cm^2) e o Índice de Lee (IL) foi calculado pela raiz cúbica do peso corporal (g) dividido pelo comprimento (cm). Todos os parâmetros seguiram a metodologia preconizada por Novelli et al (2007).

4.8.2.3 Eutanásia dos animais

Ao final dos 17 dias do experimento 2 e após o jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados via intraperitoneal, com 1 mL cloridrato de quetamina e 1 mL cloridrato de xilasina para cada Kg de peso do animal e eutanasiados. Todos os animais foram perfundidos através do ventrículo esquerdo (punção cardíaca) para a realização das análises bioquímicas como também se retirou o fígado para a dosagem das enzimas antioxidantes.

4.8.2.4 Mensuração da atividade de enzimas antioxidantes

Após 24 h do último tratamento, os animais foram eutanasiados e laparotomizados. Amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca e centrifugadas ($825g / 4^\circ C/10$ min) para obter soro e hemácias, utilizadas para determinar as enzimas antioxidantes, superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx), além do hemograma. O fígado de cada rato foi removido e lavado para determinar a atividade antioxidante em homogenato deste tecido. As determinações foram realizadas em triplicata.

O hemolisado foi preparado, separando-se os eritrócitos do plasma, sendo lavado três vezes com tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,4) e centrifugado a $825g / 4^\circ C/10$ min.

Para 0.2 mL do sedimento foi adicionado 1.8 mL de 0.4 % β -mercaptoetanol (v / v) e em seguida as amostras foram congeladas a -20 ° C por 20 min. O hemolisado foi centrifugado a 8274g / 4 ° C/40min e o sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade das enzimas antioxidantes.

O homogenato de fígado foi preparado a partir da homogeneização do tecido hepático em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) em um homogeneizador Potter-Elvehjem a 10 % (w / v) de homogenato de fígado. Após centrifugação (8274g / 4 ° C/4min), o sobrenadante foi utilizado para avaliação das enzimas antioxidantes.

A atividade antioxidante da SOD e da GPx foram determinadas no sangue e no fígado dos animais. A atividade da SOD (E.C. 1.15. 1.1) foi determinada utilizando Kit RANSOD (Randox Laboratories Crumlin, UK), sendo a absorvância medida a 505 nm (SPLITZ; OBERLEY, 1989), enquanto a atividade antioxidante da GPx (E.C. 1.11.1.9) foi determinada utilizando Kit RANSEL kit (Randox Laboratories) de acordo com metodologia descrita por Paglia e Valentine (1967). A leitura espectrofotométrica foi efetuada a 340 nm (UV-Visible Shimadzu 1650-PC, Tokyo, Japan). As atividades de SOD e de GPx foram expressas em IU/mg de hemoglobina para o sangue ou IU/mg de proteína para o fígado.

4.8.2.5 Dosagem das frações lipídicas

O sangue foi coletado por punção cardíaca direta para retirada de 4 ml. O soro foi obtido após centrifugação (3000 rpm/10 min) e mantido à temperatura ambiente (25°) para a realização das dosagens de colesterol (enzimático), HDL-C (Polietilenoglicol-PEG), LDL-C (Polietilenoglicol-PEG), VLDL-C (Polietilenoglicol-PEG) e triglicerídeos (enzimático) (Kit Dolles). O conteúdo de hemoglobina e hematócrito foram determinados em analisador automatizado (ABX micro 60, Tokyo, Japão). Após a coleta de sangue, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical.

4.9 Análise estatística

Aos resultados das análises térmicas e físico-químicas dos óleos aplicou-se o teste *t* de Student considerando a probabilidade de erro (*p*) menor ou igual (\leq) a 5 %, utilizando-se

programa *SPSS for Windows Evaluation Edition* – 14.0 (SPSS. INC., 2005). Os dados obtidos a partir das curvas TG e DSC foram inicialmente tratados utilizando-se os programas *TA 60* e *TA Universal Analysis 2000*, respectivamente, sendo posteriormente plotados por meio do programa *OriginPro 8.0*.

Para o experimento com ratos sobre o consumo de dieta adicionada de óleo bruto ou refinado de buriti, os dados foram submetidos a testes estatísticos utilizando-se programa *SPSS for Windows Evaluation Edition* – 14.0 (SPSS. INC., 2005). Utilizou-se delineamento casualizado, em todos os testes realizados conforme as recomendações de Maroco (2003). Com vistas a atender as pressuposições metodológicas dos testes paramétricos e obter resultados consistentes, aplicou-se teste de homogeneidade amostral. Os valores obtidos de três ou mais variáveis independentes foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) pelo teste *F*, porém, para os sem homogeneidade entre amostras, utilizou-se o teste de Robustez de *Welch*, para os que apresentaram significância, aplicou-se o teste de Tukey para múltiplas comparações.

Para o experimento com ratos adultos sobre a atividade antioxidante *in vivo*, todos os valores foram expressos como média e desvio padrão, calculados por análise estatística de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey-Kramer, utilizando o Graph Pad Prism Software versão 5.0, considerando a significância estatística de $p \leq 0,05$.

Para o experimento com ratos jovens sobre o consumo de dieta adicionada de biscoito, os dados foram submetidos a testes estatísticos utilizando-se programa *SPSS for Windows Evaluation Edition* – 14.0 (SPSS. INC., 2005). Aplicou-se o teste *t* de Student para duas amostras independentes, considerando a probabilidade de erro (*p*) menor ou igual (\leq) a 5 %. Com vistas a explorar as forças pontuais de correlações e respectivas probabilidades de erros ($p \leq 5 \%$), efetuou-se o teste de correlação de Pearson (*r*), no qual as forças das correlações foram classificadas em desprezível (0,01 a 0,09), baixa (0,10 a 0,29), a moderada (0,30 a 0,49), a substancial (0,5 a 0,69) e a correlação muito forte ($\geq 0,70$), conforme sugestões de Davis (1976).

Os resultados da composição centesimal, ácidos graxos e teor de vitamina A dos biscoitos foram submetidos a testes estatísticos utilizando-se *SPSS for Windows Evaluation Edition* – 14.0 (SPSS. INC., 2005). Aos resultados do teste de aceitação sensorial do biscoito aplicou-se ANOVA e teste de Tukey para múltiplas comparações ao nível de significância de 5%. A avaliação estatística referente ao teste de ordenação das amostras de biscoito foi realizada utilizando o teste de Friedman e a tabela de Newell. Para análise dos dados antropométricos dos escolares, utilizou-se o programa *Anthro-Plus* versão 3.2.2.

5 Resultados – artigos originais

A partir do presente estudo, seis artigos originais foram elaborados. Deste total, cinco serão ou já foram submetidos a revistas internacionais e um foi submetido à revista nacional. Os mesmos serão apresentados em ordem cronológica.

O artigo intitulado **“Refining of buriti oil (*Mauritia flexuosa L.*) originated from in the Brazilian Cerrado: physicochemical, thermal-oxidative and nutritional implications”** foi submetido à revista internacional Journal of the Brazilian Chemical Society (JBCS), que apresenta fator de impacto 1,458, sendo classificada como quails internacional B1 na área de medicina II, pela CAPES 2010 (Anexo E).

O artigo intitulado **“Efeito da dieta com óleo de buriti (*Mauritia flexuosa L.*) sobre o perfil lipídico, os parâmetros murinométricos e o *status* de vitamina A em ratos”** está sendo traduzido e editorado para submissão à revista Journal of Agricultural and Food Chemistry, que apresenta fator de impacto 2,469, sendo classificada como qualis internacional A2 na área de medicina II, pela CAPES 2010.

O artigo intitulado **“Consumo de óleo de buriti originário do Cerrado Brasileiro e sua implicação no *status* antioxidante de ratos”** está sendo traduzido e editorado para submissão à revista Food Chemistry, que apresenta fator de impacto 3,146, sendo classificada como qualis internacional A2 na área de medicina II, pela CAPES 2010.

O artigo intitulado **“Efeito do consumo de biscoito adicionado de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa L.*) sobre o *status* de vitamina A, perfil lipídico, glicemia e parâmetros murinométricos de ratos jovens”** está sendo traduzido e editorado para submissão à revista The Journal of Agricultural and Food Chemistry, que apresenta fator de impacto 2,414, sendo classificada como qualis B1 na área de medicina II, pela CAPES 2010.

O artigo intitulado **“Viabilidade do processamento de biscoito doce adicionado de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa L.*)”** foi submetido à revista nacional Acta Amazônica, que é classificada como quails nacional B3 na área de medicina II, pela CAPES 2010 (Anexo F).

O artigo intitulado **“Processamento de biscoitos adicionados de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa L.*): uma alternativa para o consumo de alimentos regionais, fontes de vitamina A na merenda escolar”** será submetido à revista internacional Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN), que apresenta fator de impacto 0,481, sendo classificada como quails nacional B2 na área de medicina II, pela CAPES 2010.

**Refining of buriti oil (*Mauritia flexuosa*) originated from in the Brazilian Cerrado:
physicochemical, thermal-oxidative and nutritional implications**

**Jailane de Souza AQUINO*^a, Tânia Lúcia Montenegro STAMFORD^b, Débora Catarine
Nepomuceno de Pontes PESSOA^b, Kassandra de Lourdes Gadelha Veloso ARAÚJO^c,
Poliana Sousa EPAMINONDAS^c, Alexandre Ricardo Pereira SCHULER^d, Antônio
Gouveia de SOUZA^e**

^a *Doutoranda em nutrição pela UFPE. Departamento de Nutrição /CCS. Universidade Federal da Paraíba. Campus I- Cidade Universitária, s/n. Castelo Branco, 58051-900, João Pessoa – PB, Brazil.*

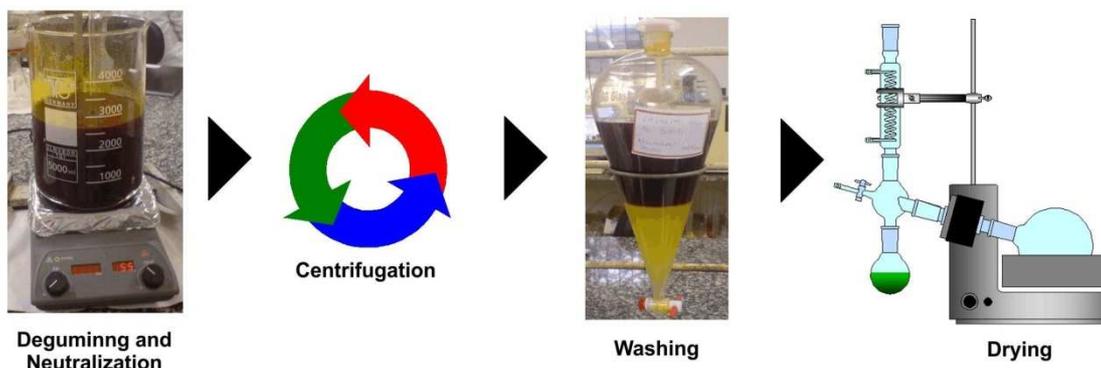
^b *Departamento de Nutrição/CCS. Universidade Federal de Pernambuco. Campus Recife, s/n, Cidade Universitária, 50670901, Recife – PE, Brazil.*

^c *Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela UFPB. Universidade Federal da Paraíba, Campus I, s/n. Castelo Branco, 58051-970, João Pessoa- PB, Brazil.*

^d *Laboratório de Cromatografia Instrumental. Departamento de Engenharia Química/CTG. Universidade Federal de Pernambuco. Rua Thereza Mellia, s/n - Campus Recife, Cidade Universitária, 50670901, Recife – PE, Brazil*

^e *Laboratório de Combustíveis e Materiais – LACOM, Departamento de Química/CCEN, Universidade Federal da Paraíba, Campus I, s/n. Castelo Branco, 58059-900, João Pessoa- PB, Brazil.*

Graphical Abstract



This figure shows the steps of the refining of buriti oil (*Mauritia flexuosa*).

Abstract

The objective of this study was to compare the physicochemical, thermo-oxidative and nutritional characteristics of crude and refined buriti oil. Crude and refined oil samples were evaluated for viscosity, relative density, refraction, acidity, free fatty acids, peroxide and iodine, lipid oxidation degree by UV-VIS, thermogravimetry, calorimetry, *in vitro* antioxidant capacity, Vitamin A content and fatty acids profile. The refining process decreased the free fatty acids percentage and acidity, peroxide and iodine indexes, with greater thermal-oxidative stability, which is critical for its use in cooking food. However, its antioxidant capacity, vitamin A and unsaturated fatty acids contents were reduced compared to crude oil. Therefore, it is suggested to optimize the refining process to minimize nutritional losses in buriti oil, which due to its characteristics, can be considered a functional food.

Keywords: fatty acids, antioxidants, stability, thermal-oxidative stability, vitamin A

Introduction

Vegetable oils are used in industrial products such as margarine, vegetable creams, salad dressings, mayonnaise, and also in foods manually prepared,¹ contributing to flavor, appearance and creamy texture of foods.² There has been an increasing demand for vegetable oils with special composition such as olive, sunflower, palm and linseed oils, which have shown high commercial value due to the presence of functional components.¹

Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) has functional properties due to its high concentration of monounsaturated fatty acids (MUFA), nutrient with hypocholesterolemic action.³ In addition, it has tocopherols⁴ and carotenes,⁵ which are nutritionally important and well recognized as antioxidants⁶ and pro-vitamin A.⁷

The antioxidant properties of vegetable oils have been widely studied due to the health benefits to consumers and their use in the food industry.^{6,8} The oxidative stability of a vegetable oil can be influenced by the amount of antioxidants naturally present or added to this product.⁹

The composition and consequently the nutritional value of crude buriti oil may vary with season and extraction process. Improper post-harvest handling of this fruit may lead to decreased smoke point, oxidation of vitamins and high acidity levels (hydrolysis of triacylglycerols), which reduces the oxidative stability of this oil.¹⁰ In this context, the refining of crude vegetable oils should be performed, which includes degumming, neutralization, clarification and deodorization steps,¹¹ resulting in a product with desirable physicochemical, nutritional and sensory characteristics.

Due to the use of crude buriti oil in foods, cosmetics, drugs,¹² in polymeric materials,^{13,14} among others, this study aimed to compare the physicochemical and thermo-oxidative characteristics of crude and refined buriti oils and also determine the vitamin A content, lipid profile and antioxidant potential of these oils.

Experimental

Material

Crude buriti oil was purchased in the local trade of the city of Picos - PI, Brazil. Oil samples were manually extracted from ripe fruits by boiling in water for 20 minutes at $\pm 60^{\circ}\text{C}$, then separating the oily fraction from the aqueous fraction. For all experiments, 10

liters of crude oil from different batches were used, and for each liter of oil aimed at refining, 200 mL were stored and 800mL were refined for comparison of the physicochemical, thermo-oxidative and nutritional characteristics between samples before and after the refining process.

Extracting and refining processes

Figure 1 shows the flowchart for the refining of crude buriti oil. The oil underwent degumming process by adding 3.0 % of water in relation to the oil mass, with subsequent heating at 60 °C and stirring for 30 min., in accordance with methodology proposed by Moretto and Fett.¹⁵

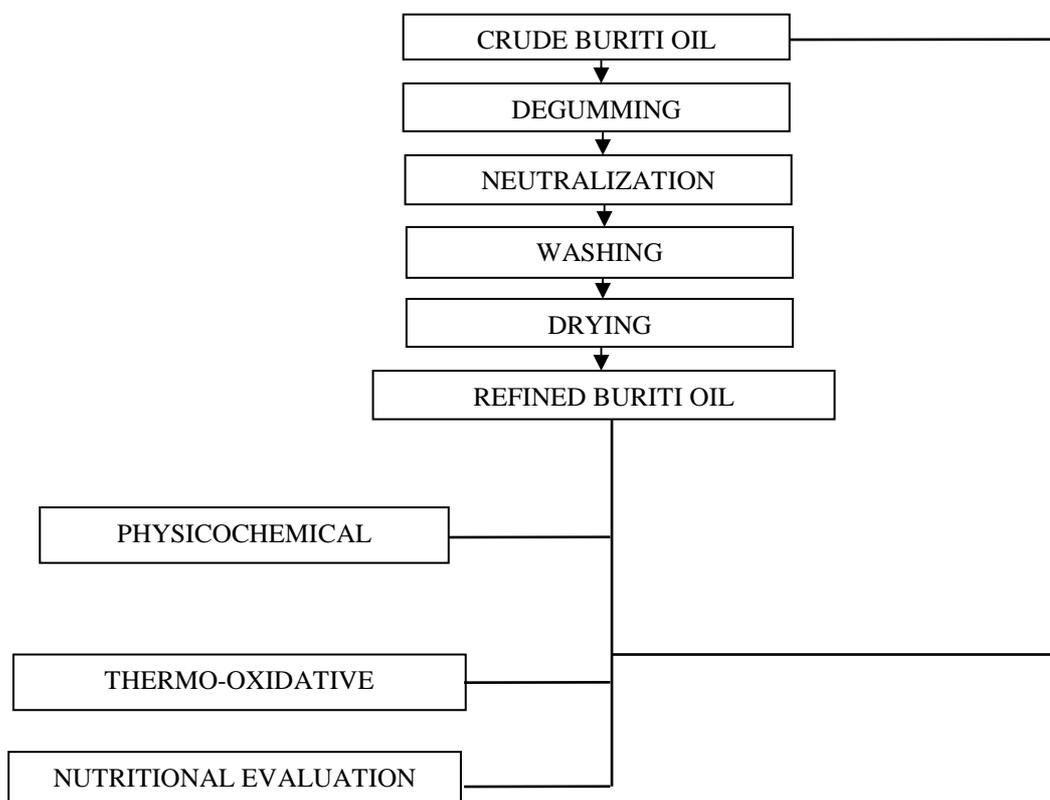


Figure 1. Flowchart for the refining of crude buriti oil.

Then, the oil was neutralized using methodology of Morais¹⁶ at temperature of 50 °C and stirring for 30 minutes, by adding 5.0 % of sodium hydroxide solution in relation to the oil mass, and this solution had concentration of 12 %. Subsequently, the oil was centrifuged at 5000 rpm for the removal of solid impurities from the product. Soon after, the oil was

transferred to a separatory funnel where successive washes were performed. The washings were carried out at intervals of 30 minutes each, and the neutralized oil was added of water at room temperature and water at temperature of 90-95 °C in rotation, always submitting it to manual shaking in the separatory and gas removal funnel. In each washing step, after the separation phase, the water was discarded and phenolphthalein was added and then, in the last wash, bromothymol green was added in order to detect any trace of sodium hydroxide used in neutralization. The washings continued until the indicators no longer detected alkalinity in the water.

The oil was dried in a rotary evaporator at 60 °C with vacuum pressure for 20 minutes under mild agitation and cooled. These oil samples were stored in amber glass containers with capacity of 1 liter each, properly coded and kept under refrigeration between 7 and 10 °C.

Physicochemical and thermal analyses

The physicochemical evaluation of crude and refined buriti oils consisted of determining viscosity, relative density, refractive index,¹⁷ acidity index, free fatty acids, peroxide index, iodine index, lipid oxidation level by spectroscopy at the UV-VIS region in spectrometer model UV-2550 Shimadzu, with wavelengths between 200 and 900 nm, using 1 µL oil diluted in dichloromethane.¹⁸

The thermogravimetric (TG) and calorimetric curves (DSC - differential scanning calorimetry) were obtained using analyzer SDT 2960 (TA Instruments) and thermal analyzer DSC 2920 (TA Instruments), respectively. The non-isothermal method was applied using 10 mg of sample heated at 10 °C min⁻¹ up to 900 °C, for TG, and up to 600 °C for DSC. Analyses were performed using platinum sample holder and synthetic air at flow rate of 110 mL min⁻¹. The onset oxidation temperature was obtained (OT_{onset}), which is the temperature corresponding to the sudden increase in oxidation products, as well as the initial oxidation temperature (OT_i), corresponding to the beginning of oxidation.

Lipid profile

Initially, the lipid extract was obtained by the method of Folch *et al.*¹⁹ From this extract, the methyl esters were obtained by esterification carried out in accordance with the method of Hartman and Lago.²⁰ The identification and quantification of methyl esters were performed using gas chromatograph label Ciola & Gregori Ltda (model CG-Master) with

flame ionization detector. The chromatographic conditions were: polyethylene glycol column (Carbowax 20M) made of fused silica 30 m long, 0.53 mm in diameter and 0.25 μm of film thickness of stationary phase. The temperatures used were 150 and 200 $^{\circ}\text{C}$ for vaporizer and detector, respectively. The furnace programming consisted of the following operation sequence: 80 $^{\circ}\text{C}$ for 3 minutes, increasing 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ up to 120 $^{\circ}\text{C}$, remaining at 200 $^{\circ}\text{C}$ for 6 minutes, and then decreasing 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ up to 180 $^{\circ}\text{C}$. The mobile phase was hydrogen, with flow rate of 5 mL min^{-1} . The injected volume was 1 μl , with split ratio of 1:25. The fatty acids profile characterization was performed by comparison of the mass spectra obtained with that of standards that were also injected into the GC-MS.

Vitamin A determination

Samples were cold saponified with 10 % potassium hydroxide solution in methanol. The extract was added of petroleum ether and washed with water until neutral pH, then the volume was adjusted and the extract was filtered through a 0.45 μL membrane for injection. The beta carotene identification and quantification was performed in a Shimadzu class 10 HPLC with diode array and manual injector and wavelength of 450nm. The chromatographic conditions were: lichrospher 100 RP column (Merck), C18, 125 m long, 4 mm in diameter and 5 μm of film thickness of stationary phase. The mobile phase was methanol: chloroform (95:5), at flow rate of 1 mL min^{-1} . The injected volume was 200 μL . The beta carotene result was converted into vitamin A using factor 1.8.²¹

Antioxidant potential of in vitro crude and refined buriti oils

For this analysis, 5 g of oil was added of 40 mL of hexane 50 %, being homogenized and left to rest for 60 minutes at room temperature. The mixture was centrifuged at 15.000 rpm for 15 minutes and the supernatant transferred to a 100 mL volumetric flask. From the residue after the first extraction, 40 mL of 70 % acetone were added, homogenized and left to rest for 60 minutes at room temperature. Subsequently, the sample was once again centrifuged at 15.000 rpm for 15 minutes and the supernatant was transferred to the flask containing the first supernatant, and the volume was completed to 100 mL with distilled water.

Different extract concentrations were used in the evaluation (0.4, 1.0, 2.0, 3.0 and 4.0 mg mL^{-1}). Aliquot of 0.1 mL of extract was added to 3.9 mL of DPPH • methanol solution (60 μM). The mixture was homogenized and incubated in the dark for 30 minutes. The results

were read at 517 nm on Shimadzu UV-VIS spectrophotometer model 1650-PC. Methyl alcohol was used as white to calibrate the spectrophotometer.²² *Carduus marianus* and catechin solutions were used as antioxidant standards in the same concentration. Analyses were performed in triplicate and the results expressed in % scavenging of free radicals (SFR), using the following equation:

$$\% \text{ SFR} = \frac{(\text{Abs w} - \text{Abs s}) \times 100}{\text{Abs w}}$$

SFR = % scavenging of free radicals

Abs w = white absorbance

Abs s = sample absorbance

The IC₅₀ value was calculated based on the final concentration in mg.mL⁻¹ of dry extract required to decrease the initial DPPH concentration by 50 %.²³

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using the SPSS (SPSS INC. 14.0 for Windows Evaluation Version).²⁴ Averages were submitted to the *t*-Student test, $p \leq 0.05$ was considered statistically significant.

Results and Discussion

Physicochemical and thermal analyses

Table 1 shows the comparison between the physicochemical characteristics of crude and refined buriti oils. The crude buriti oil showed higher density, higher percentage of free fatty acids, higher acidity, peroxide and iodine indexes ($p \leq 0.05$).

Table 1. Physicochemical characterization of crude and refined buriti oils

Variables	Samples	
	Crude buriti oil Average \pm standard deviation	Refined buriti oil Average \pm standard deviation
Viscosity (mm^2s^{-1})	43.29 ^a \pm 1.45	42.31 ^a \pm 2.50
Density (mg mL^{-1})	0.92 ^a \pm 0.02	0.90 ^b \pm 0.02
Refractive index	1.47 ^a \pm 0.00	1.47 ^a \pm 0.00
Free fatty acids (%)	4.30 ^a \pm 0.31	0.31 ^b \pm 0.04
Acidity index (%)	4.27 ^a \pm 0.43	0.21 ^b \pm 0.04
Peroxide index (mEq Kg^{-1})	14.82 ^a \pm 0.72	7.80 ^b \pm 0.91
Iodine index	90.00 ^a \pm 0.54	81.10 ^b \pm 0.32

Same letters in same column represent significant difference at 5 % for the *t*-Student test

In a study by Silva *et al.*,¹⁰ the acidity of refined buriti oil ranged from 2.01 to 6.22 and crude buriti oil from 1.14 to 1.77, whose results are different from those obtained in this study. The higher the acidity of the crude oil, the greater the losses of pigments will be, since greater amounts of NaOH will be required in the neutralization step during the refining process. According to Sá²⁵, corn (4 %), rice bran (8 %), palm (4 %) and cotton oils (3 %) show high acidity indexes; therefore, crude buriti oil can be considered as having high acidity, 4.27 %.

According to Ribeiro,²⁶ the maximum free fatty acids content should be 5% for crude buriti oil and 1 % for refined buriti oil, and it was observed that the oils analyzed in this study are within the standards recommended. During the refining process, the free fatty acids content must be reduced to an acceptable level recommended by current legislation, and this occurred after the refining process. Free fatty acids occur naturally in crude oils and their content can rise during storage or handling. Some crude oils have higher free fatty acids contents due to enzymatic hydrolysis or poor conditions during transport and/or storage of grains. The FFA content is good indicator of the quality of crude and refined oils.²⁷

The iodine index measures the degree of unsaturation of oils, revealing that there was degradation of unsaturated fatty acids during the refining process. Nevertheless, both samples showed acceptable iodine index between 115 and 150 for crude oil and between 80 and 150 for refined buriti oil.²⁶ The refractive index of 1.47 and density between 0.90 and 0.92 mg mL^{-1} were very close to values obtained by García-Quiroz *et al.*²⁸ and by Silva *et al.*¹⁰ for a blend of homemade and industrialized oils.

There was a 50 % reduction in the peroxide index of crude buriti oil after refining, and these results are satisfactory according to the *Codex Alimentarius*, which establishes that

peroxide index values of up to 15 mEq kg⁻¹ for unrefined oils are acceptable, since at this stage, the rancidity taste is noticeable.²⁹ However, according to parameters reported by Ribeiro *et al.*³⁰ and Shahidi,³¹ the maximum peroxide index for crude oil must be 10 mEq kg⁻¹ and for refined buriti oil 7 mEq kg⁻¹.

Figure 2 shows the mass spectra, with a high absorption in the spectral region between 280 and 360 nm, which increases with the thermal oxidation of oils.

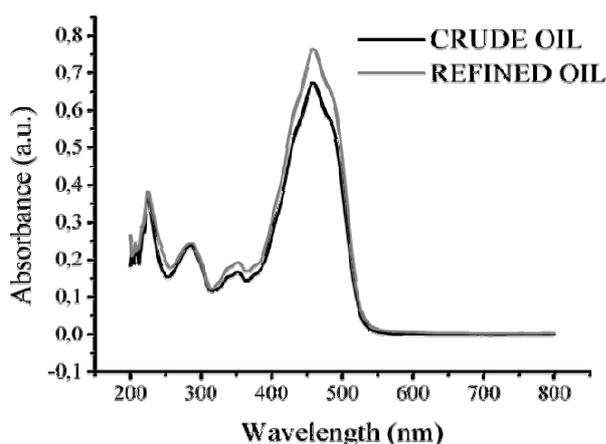


Figure 2. Absorption spectra of buriti oils in UV / Vis

These absorption regions can be attributed to the oxidation of the oils tested, since the primary compounds from the oxidation process show absorbance regions around 240 and 320 nm (conjugated dienes). Furthermore, secondary compounds (trienes, aldehydes, β -unsaturated, conjugated α ketones) have absorption peaks around 280 and 320nm.³² In oils, when there is any type of change, as that induced by thermal oxidation, for example, the generated spectrum shows a band shift (bathochromic effect) and increased absorption intensity.³³ This result may be associated with a decrease of the iodine index previously reported (Table 1), showing the importance of combining analytical techniques in the search for more accurate results.

A higher absorption peak of about 459 nm could be observed in the refined buriti oil due to oxidative cleavage of carotenoids into apocarotenoids during the refining process,³⁰ which showed absorbance regions around 410 and 476 nm.³⁴

It was found that crude and refined buriti oil samples showed similar TG profiles, with three common steps of mass variation (Table 2 and Figure 3a).

Table 2. Thermogravimetric and calorimetric data of buriti oil samples in an oxidizing atmosphere (synthetic air).

Samples	Step	TG				DSC		
		T_{initial} (°C) ^a	T_{final} (°C) ^b	T_{peak} DTG (°C) ^c	Δm (%) ^d	OT_i (°C) ^e	OT_{onset} (°C) ^f	
Buriti oils	Crude	1 st	174	372	352	48	196	223
		2 nd	372	469	421	40		
		3 rd	469	560	560	12		
	Refined	1 st	232	375	361	51	203	263
		2 nd	375	475	419	37		
		3 rd	475	573	532	12		

^a Initial temperature, ^b final temperature, ^c Peak temperature; ^d Mass loss; ^e Initial oxidation temperature and ^f Oxidation temperature.

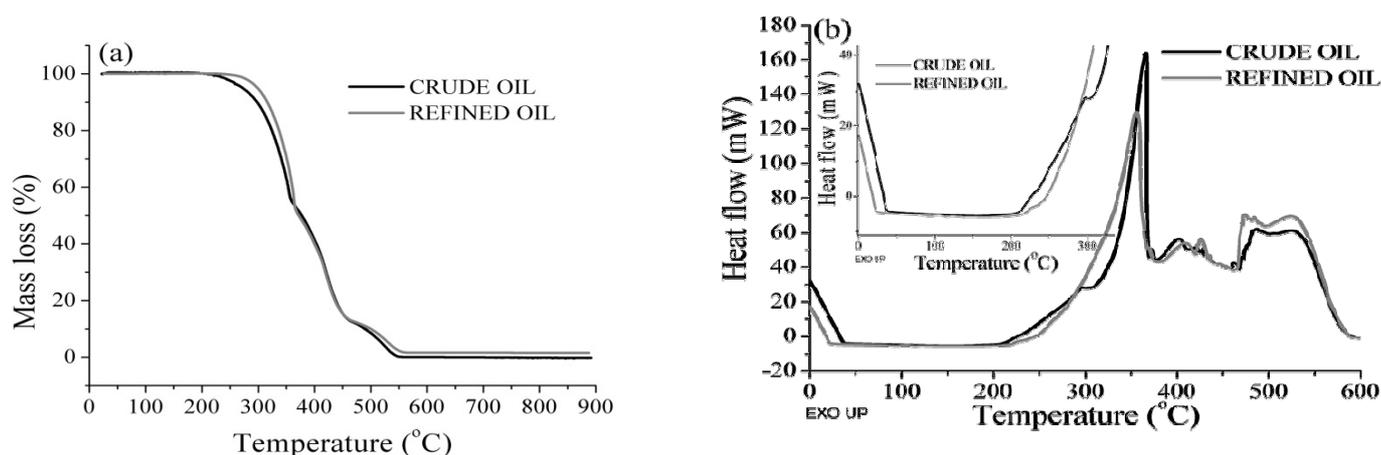


Figure 3. Thermogravimetric (a) and calorimetric curves (b) for crude and refined buriti oil samples.

The DSC curves (Figure 3), as well as data extracted from these curves (Table 2) highlight the oxidation temperatures (OT). In this study, it was chosen to determine the oxidative stability of buriti oils from the initial oxidation temperature (OT_i), since in the case of products for food production, it is more convenient to consider parameters corresponding to the onset of the oxidation process than those related to the stage where there is a sudden increase in the formation of oxidation products (onset oxidation temperature obtained from the extrapolation of the tangent to the curve).

A difference in oxidative stability between crude and refined buriti oils was observed, considering the results of OT_i of 196 °C and OT_i of 203°C, respectively, which determined the onset of the oxidation process. Refined buriti oils had higher OT and are more stable due to the formation of compounds of greater stability, resulting from the reduction in the free fatty acids contents after the refining process, as discussed in the physicochemical analysis (Table 1). Besides the reduction in the free fatty acids contents, the refining process is aimed at removing other impurities such as phospholipids and pigments,³⁵ despite the favorable antioxidant action of some pigments such as carotenoids and tocopherols of natural occurrence in these oils.

Oxidation propagation temperatures (OT_{onset}) were lower for crude buriti oils, corroborating the greater thermo-oxidative fragility of crude oils compared to refined oils. Tan *et al.*³⁶ analyzed the oxidative stability of oil samples with high polyunsaturated fatty acids content such as olive, corn, sunflower, peanut and soybean oils, among others, with OT_{onset} of 169, 167, 132, 127 and 124°C, respectively, in pure oxygen atmosphere and other analytical conditions similar to those in this study, and observed that the oxidation propagation temperatures (OT_{onset}) were higher for both crude and refined buriti oil samples, showing the higher oxidative stability of buriti oils over other vegetable oils. Pardauil *et al.*³⁷ evaluated the oxidative stability of buriti oil using DSC and Rancimat techniques and found that buriti oil is highly stable and is very useful for the food industry.

Lipid profile

Table 3 shows the fatty acid composition of crude and refined buriti oils. A decrease in the amount of unsaturated fatty acids and an increase in the saturated fatty acids contents were observed after the refining process, which was also confirmed by the decrease of the iodine index (Table 1). It is suggested that the neutralization and washing steps may interfere with the breaking of double bonds, since unsaturated fatty acids are more reactive and more susceptible to oxidation.³⁸

Table 3. Fatty acids present in crude and refined buriti oils

Fatty acids	Samples	
	Crude buriti oil	Refined buriti oil
Miristic acid - C 14:0	0.5 ^a	0.5 ^a
Margaric acid - C 17:0	0.3 ^a	0.2 ^a
Stearic acid - C18:0	2.3 ^b	3.9 ^a
Total saturated fatty acids – SFA (%)	3.1^b	4.6^a
Palmitoleic acid - C16:1	19.6 ^a	19.4 ^a
Oleic acid - C18:1	72.7 ^a	72.2 ^b
Total monounsaturated fatty acids – MUFA (%)	92.3^a	91.6^a
Linoleic acid - C 18:2	2.6 ^a	2.3 ^b
Linolenic acid - C 18:3	2.0 ^a	1.5 ^b
Total polyunsaturated fatty acids – PUFA (%)	4.6^a	3.8^a

Different letters on same row represent significant difference at 5 % level by *t*-Student test.

The fatty acid composition results of crude and refined buriti oils corroborate those found by Schlemmer and Sales¹⁴ and Albuquerque *et al.*,³⁹ who observed in crude buriti oil, 2 % of stearic acid, 73.3 to 78.73 % of oleic acid, 2.4 % of linoleic acid, and 2.20 % of linolenic acid. Higher linoleic acid values (4.94 %) were found in the buriti oil by Silva *et al.*¹⁰ and Ceriani *et al.*⁴⁰. This variation in results may be influenced by season, extraction and refining processes. Moreover, buriti oil showed a high unsaturated fatty acids content (over 90 %), being suitable as functional food as reported by Ribeiro.²⁶

The buriti oil is classified as an oleic oil, which is the same as olive oil, canola oil and peanut oil, since this fatty acid is present in quite high amounts, about 75 % in buriti oil.⁴ However, it could be observed that the buriti oil analyzed has monounsaturated fatty acid content higher than olive oil and Brazil nut oil, widely recognized by its capacity of favorably changing the lipid profile, reducing total cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides, preventing cardiovascular diseases.³ Moreover, the saturated fatty acids content is comparable to olive oil, soybean oil and Brazil nut oil. It is noteworthy that the fatty acids composition reported in this study for refined buriti oil is the first report in literature.

Vitamin A determination

A statistically significant decrease ($p \leq 0.05$) in vitamin A and beta carotene contents of refined oil in relation to crude oil was observed in this study. Crude buriti oil showed 50636 IU of vitamin A and 911.4 ± 2.4 mg kg⁻¹ of beta carotene, while refined buriti oil showed 44006 IU of vitamin A and 792.1 ± 4.54 mg kg⁻¹ of beta carotene. According to

Gunstone,³⁵ during the refining process, unsaponifiables are partially removed or degraded during neutralization, bleaching and deodorizing stages. According to Ribeiro *et al.*,³⁰ in the degradation of carotenoids, β -carotene is transformed into apocarotenoids, especially 10-apo- β -carotenal, which explains the reduced vitamin A and carotenoid contents in crude buriti oil compared to refined buriti oil. However, the apocarotenoid formed could be used in the manufacturing of margarine as a substitute for synthetic dyes such as canthaxanthin and 8-apo- β -carotenal. This fact was also observed in the absorption spectra of UV-VIS, which was confirmed by the decrease in carotenoids.

The carotenoid contents determined by HPLC in this study was higher for refined oil samples than those reported by Silva *et al.*,¹⁰ which ranged from 252 to 664 mg kg⁻¹ for industrialized buriti oil, using the same technique. However, the carotenoid contents found in this study for crude buriti oil were lower than 1706 \pm 54 mg kg⁻¹ reported by Garcia-Quiroz *et al.*²⁸ and 1700 mg kg⁻¹ reported by Albuquerque *et al.*,³⁹ both carried out by spectrophotometry and similar to that reported by Silva *et al.*,¹⁰ which averaged 900 \pm 10 mg kg⁻¹ of carotenoids for homemade buriti oil, determined by HPLC.

Even with the decrease in vitamin A and carotenoid contents from crude to refined buriti oils, this level still exceeds the carotenoid contents of tucumã, bocaiuva bacuri and umari (mari) palm fruits, because, according to Rodriguez-Amaya,⁴¹ buriti is the food product showing the highest known beta carotene concentration among the wide range of Brazilian foods already analyzed.

Antioxidant potential

The potential of crude and refined buriti oils to scavenge free radicals was expressed as the final extract concentration required to inhibit the oxidation of the DPPH radical by 50 % (IC₅₀), and results are shown in Table 4.

Table 4. Antioxidant activities of crude and refined Buriti oils.

Buriti oils	Radical DPPH scavenging activity			
	15.62 mg mL ⁻¹ (%)	31,25 mg mL ⁻¹ (%)	62,50 mg mL ⁻¹ (%)	IC ₅₀ (mg mL ⁻¹)
Crude	42.55 ± 4.02	57.86 ± 1.99	61.37 ± 2.20	25.19 ± 5.42 ^b
Refined	27.38 ± 1.00	43.56 ± 1.64	45.35 ± 3.20	50.98 ± 3.31 ^a

Value expressed in means ± standard derivation. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa ao nível de 5 % pelo teste *t* de Student. IC₅₀ = concentration required to inhibit the oxidation of the DPPH radical by 50 %

The lowest IC₅₀ values were obtained in crude buriti oils, indicating a higher antioxidant potential in relation to refined oils. An extract showing high potential to scavenge free radicals has low IC₅₀.²³ It was observed that crude buriti oil showed lower IC₅₀ when compared to corn, sunflower and soybean oils analyzed by Valavanidis *et al.*,⁴² thus presenting higher antioxidant activity. However, it showed higher IC₅₀ when compared to olive oil.

Refined buriti oil showed higher antioxidant activity than soybean oil (IC₅₀ = 52 mg mL⁻¹) and lower antioxidant activity compared to *in natura* sunflower, corn and olive oils, which showed IC₅₀ of 45, 48 and 22 mg mL⁻¹, respectively.⁴² This is explained by losses of antioxidants such as flavonoids, tocopherols and vitamin A⁴³ during the refining process, which should be controlled by the food industry since there is a tendency to even greater losses of antioxidants during the heating of oils, i.e., at frying or baking temperatures.⁴²

Conclusions

The analysis techniques used in this study complemented each other, and it could be inferred that the refining process of buriti oil decreased the amounts of vitamin A, unsaturated fatty acids and its antioxidant activity in relation to crude buriti oil. Nevertheless, an improvement in physicochemical characteristics of the refined oil was observed, providing it high thermal-oxidative stability against oils usually edible. Therefore, the refining process should be improved to minimize nutritional losses in buriti oil, which can be considered a functional food.

References

1. Foster, R.; Williamson, C.S.; Lunn, J. *Nutr. Bull.* **2009**, *34*, 4.
2. Saberi, A.H., Kee, B.B., Oi-Ming, L., Miskandar, M.S. *Food Chemistry*, **2011**, in press.
DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.01.076
3. Binkoski, A.E.; Kris-Etherton, P.M.; Wilson, T.A.; Mountain, M.L.; Nicolosi, R.J. *J. Am. Diet. Assoc.* **2005**, *105*, 1080.
4. Albuquerque, M.L.S.; Guedes, I.; Alcantara J.R.P.; Moreira, S.G.C.; Barbosa Neto, N.M.; Correa, D.S.; Zilio S.C. *J Braz Chem Soc.* **2005**, *16*, 1113
5. De Rosso, V.V.; Mercadante, A.Z. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 5062.
6. Sem, C.K.; Khanna, S.; Roy, S. *Life Sci.* **2006**, *78*, 2088.
7. Klemm, R.D.W.; Labrique, A.B.; Christian, P.; Rashid, M.; Shamim, A.A.; Katz, J.; Sommer, A.; West, K.P. *Pediatrics.* **2008**, *122*, 242.
8. Gunstone, F.D.; *Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses*, Blackwell Publishing: Oxford, 2002.
9. Arain, S.; Sherazi, S.T. H.; Bhangar, M. I.; Talpur, F. N.; Mahesar, S. A. *Thermochim. Acta.* 2009, *484*, p. 1.
10. Silva, S.M.; Sampaio, K.A.; Taham, T.; Rocco, S.A.; Ceriane, R.; Meirelles, A.J. *J Am. Oil Chem. Soc.* **2009**, *86*, 611.
11. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento *Técnico de Identidade e Qualidade de Óleos Vegetais Refinados. Instrução Normativa n. 49 de 22 de dezembro de 2006.* DOU 26/12/ 2006.
12. Zanatta, C.F.; Ugartondo, V.; Mitijans, M.; Rocha-Filho, P.A.; Vinardell, M.P. *Food Chem. Toxicol.* **2008**, *46*, 2776.

13. Durães, J.A.; Drummond, A.L.; Pimentel, T.A.P.F.; Murta, M.M.; Moreira, S. G.C.; Sales, M.J.A. *J Therm Anal Calorim.* **2008**, *92*, 529.
14. Schlemmer, D.; Sales, M.J.A. *J Therm Anal Calorim.* **2010**, *99*, 675.
15. Moretto, E.; Fett, R.; *Tecnologia de óleos e gorduras vegetais*, 2ed.; Varela: Rio de Janeiro, 1989.
16. Morais, M.M.; Pinto, L.A.A.; Ortiz, S.C.A.; Crexi, V.T.; Silva, R.L., Silva, J. D. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* **2001**, *60*, 23.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, *Métodos físico químicos para análise de alimentos*, 4. ed.; Ministério da Saúde: Brasília, 2005.
18. AOCS. American Oil Chemists' Society. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*, 4th ed; Association of Official Analytical Chemists: Champaign, IL., 1997.
19. Folch, J.; Less, M.; Stanley, S. A. *J. Biol. Chem.* **1957**, *226*, 497.
20. Hartman, L.; Lago, R.C.A. *Lab. Pract.* **1973**, *22*, 475.
21. Carvalho, P.R.N.; Collins, C.H.; Rodriguez-Amaya, D.B. *Chromatographia.* **1992**, *33*, 133.
22. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* **1995**, *28*, 25.
23. Roesler, R.; Malta, L.G.; Carrasco, L.C.; Holanda, R.B.; Sousa, C.A.S.; Pastore, G.M. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2007**, *27*, 53.
24. SPSS SPSS. Inc. *14.0 for Windows Evaluation Version [Computer program]*. LEAD Technologies SPSSInc., 2005.
25. Sá, LA. Desacidificação de óleo de soja por extração líquido-líquido. <http://cutter.unicamp.br/document/?code=vtls000411735>, accessed in June 2010.

26. Ribeiro, B.D. Aplicação de tecnologia enzimática na obtenção de β -caroteno a partir de óleo de buriti (*Mauritia vinifera*). <http://www.eq.ufrj.br/sipeq/download/beta-caroteno-a-partir-de-oleo-de-buriti.pdf>, accessed in January 2010.
27. O'Brien R.D.; *Fats and oils: formulating and processing for applications*, 2 th ed CRC Press: New York, 2004.
28. Garcia-Quiroz, A.; Moreira, S. G. C.; Morais, A. V.; Silva, A. S.; Rocha, G. N.; Alcantara, P. *Instrum Sci.Technol.* **2003**, *31*, 93.
29. Verleyen, T.; Van Dyck S.; Adams, C.A.; *Accelerated stability tests: Analysis of lipid oxidation*, 5 th ed; AOCS Press: Champaign, 2005.
30. Ribeiro, B.D.; Nascimento R.F., Barreto, D.W.; Coelho, M.A.S.; Freitas, S.P. *Rev. Bras. Frutic.* **2010**, *32*, 657.
31. Shahidi F.; *Quality assurance of fats and oils*, 6th ed. Wiley: New York, 2005.
32. Cella, R.C.F.; Regitano-D'arce, M.A.B.; Spoto, M.H.F. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2002**, *22*, 111.
33. Lima, S. M.; Bannwart, E. S.; Oliveira, R. G.; Andrade, L. H.C.; Del Ré, P. V.; Jorge, N.; Pedrochi, F.; Constantini, R.; Medina, A. N.; Baesso, M. L. *Eur. Phys. J.* **2008**, *153*, 531.
34. Zanatta, CF; Mercadante, A.Z. *Food Chemistry.* **2006**, *101*, 1526.
35. Gunstone, F.D. *Rapeseed and Canola Oil - Production, Processing, Properties, and Uses*. Oxford: CRC Press, 2004.
36. Tan, C.P.; Che Man Y.B.; Selamat, J.; Yusoff, M.S.A. *Food Chem.* **2002**, *76*, 385.
37. Pardauil, J.J.R.; Souza, L.K.C.; Molfetta, F.M.; Zamian, J.R.; Geraldo N.; Rocha Filho, G.N.; Da Costa, C.E.F.. *Bioresour. Technol.* **2011**. [doi:10.1016/j.biortech.2011.02.022](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.022)
38. McClements, D.J.; Decker, E.A.. *J. Food Sci.* **2000**, *65*, 1270.

39. Albuquerque, M.L.S.; Guedes, I.; Alcantara Jr., P.; Moreira, S.G.C.; *Vib. Spectrosc.* **2003**, *33*, 127.
40. Ceriani, R.; Paiva, F.R.; Gonçalves, C.B.; Batista, E.A.C; Meirelles, A.J.A. *J Chem Eng Data.* **2008**, *53*, 1846.
41. Rodriguez-Amaya, D. B. *Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos*. Brasília: MMA/SBF, 2008.
42. Valavanidis, A; Nisiotou, C.; Papageorgiou, Y.; Kremli, I.; Satravelas, N.; Zinieris, N.; Zygalki, H. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 2358.
43. Berlitz, H.-D.; Grosch, W. *Food Chem.* **1999**, *2*, 222.

Efeito da dieta com óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) sobre o perfil lipídico, os parâmetros murinométricos e o *status* de vitamina A em ratos

Jailane de Souza AQUINO*^a, Tânia Lúcia Montenegro STAMFORD^b, Débora Catarine Nepomuceno de Pontes PESSOA^b, Juliana Késsia Barbosa Soares^c, João Paulo de Sousa Prado^d, Robson de Jesus Mascarenhas^e

^a *Doutoranda em nutrição pela UFPE. Departamento de Nutrição /CCS. Universidade Federal da Paraíba. Campus I, s/n. Castelo Branco, 58051-900, João Pessoa – PB, Brazil.*

^b *Departamento de Nutrição/CCS. Universidade Federal de Pernambuco. Campus Recife, s/n, Cidade Universitária, 50670-901, Recife – PE, Brazil.*

^c *Departamento de Nutrição/CES. Universidade Federal de Campina Grande. Olho d'agua da Bica, s/n, 58175-000, Cuité-PB, Brazil*

^d *Doutorando em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela UFPB. Universidade Federal da Paraíba, Campus I, s/n. Castelo Branco, 58051-970, João Pessoa- PB, Brazil.*

^e *Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano. Campus Petrolina. BR 407, km 08, Jd. São Paulo, 56314-520 -Petrolina - Pernambuco.*

Resumo

Objetivou-se comparar os parâmetros bioquímicos, murinométricos bem como o *status* de vitamina A em ratos jovens alimentados com dietas adicionadas de óleo bruto ou refinado de buriti. Utilizaram-se 30 ratos randomizados em três grupos: controle (CS) recebeu dieta adicionada de óleo de soja e os experimentais que receberam dietas adicionadas de óleo bruto de buriti (EBB) ou refinado de buriti (EBR). Após 28 dias de experimento, foram determinados os parâmetros biológicos, murinométricos e bioquímicos assim como o teor de vitamina A das dietas e a quota ingerida de β caroteno. O consumo de óleo refinado de buriti resultou em maior coeficiente de eficácia alimentar, diminuiu o colesterol total e frações como também as aminotransferases séricas. O óleo de buriti seja bruto ou refinado não alterou os parâmetros murinométricos e aumentou o retinol sérico e as reservas hepáticas dos animais. Conclui-se que o óleo de buriti é uma fonte lipídica considerada funcional desde que seja refinado, pois este processo melhorou todos os parâmetros bioquímicos analisados.

Palavras chave: lipídios, *Mauritia flexuosa* L, óleo refinado, retinol

Introdução

A demanda de óleos vegetais com composição especial vem aumentando, tais como os óleos de oliva, de girassol, de palma e de linhaça, os quais têm apresentado valor comercial elevado, devido à presença de componentes funcionais (Foster et al, 2009). A indústria de alimentos tem investido em óleos e gorduras com o perfil lipídico contendo proporções mais equilibradas de ácidos graxos para a saúde humana (Dubois et al, 2007). Segundo Asadi et al (2010), o consumo de ácidos graxos insaturados como o ácido oléico tem efeito hipocolesterolêmico (Binkoski et al, 2005; Noori et al, 2009) este apresenta alta estabilidade (Séverac et al, 2011) sendo o principal componente de diversos óleos vegetais, incluindo os óleos de oliva, canola (Dubois et al, 2007) e o de buriti (*Mauritia flexuosa*) (Silva et al., 2009) que também é fonte de carotenóides (De Rosso e Mercadante, 2007) e pró-vitamina A (Rodriguez Amaya et al, 2008).

O manuseio pós-colheita inadequado pode reduzir a estabilidade oxidativa do óleo de buriti (Silva et al, 2009). Além disso, materiais indesejáveis como fosfolipídios, monoacilgliceróis, diacilgliceróis, ácidos graxos livres, pigmentos, materiais oxidados, componentes de sabor e compostos de enxofre podem estar presentes em óleos brutos (Gunstone, 2002). Nesse contexto, faz-se necessário o refino de óleos vegetais para melhorar suas características físico-químicas e conseqüentemente aumentar sua estabilidade. Porém, o refino do óleo pode acarretar a degradação de tocoferóis (Gunstone, 2002) e de carotenóides (Ribeiro et al, 2010) que são responsáveis pela prevenção de diversas patologias (Nishino et al, 2009; Suzuki et al, 2011; Rao e Rao, 2007). Além disso, a deficiência de vitamina A em grupos vulneráveis como as crianças é considerado um problema de saúde pública em muitos países (Ferraz et al, 2004; Tanumihardjo, 2004; Klemm et al, 2008; Jiang et al, 2008).

O governo brasileiro estimula o consumo de alimentos fontes desta vitamina disponíveis regionalmente (Brasil, 2011), sendo o fruto do buriti considerado a maior fonte de carotenóides da flora brasileira (Rodriguez -Amaya, 2008). O óleo de buriti é empregado na alimentação na forma de óleo bruto, não sendo produzido em escala industrial.

Neste sentido, objetivou-se comparar os parâmetros bioquímicos, murinométricos bem como a concentração de vitamina A sérica e hepática em ratos jovens alimentados com dietas adicionadas de óleo bruto ou refinado de buriti.

Material e métodos

Obtenção dos óleos

O óleo bruto de buriti foi adquirido no comércio popular da cidade de Picos – PI, Brasil. As amostras de óleo foram extraídas de forma artesanal a partir de frutos maduros mediante o cozimento em água por 20 minutos na temperatura de ± 60 °C, separando-se posteriormente a fração oleosa da aquosa. Para todos os experimentos foram utilizados 4 litros de óleo bruto de diferentes lotes, para cada litro de óleo destinado ao refino, 200 mL era armazenado e 800 mL era refinado de acordo com as etapas de degomagem, neutralização, lavagem e secagem segundo a metodologia adaptada de Moretto e Fett (1989). O óleo de soja de uma mesma marca comercial foi utilizado na dieta controle sendo adquirido em supermercado.

Animais e dietas

Foram utilizados 30 ratos machos da linhagem *Wistar*, recém-desmamados, com ± 21 dias de idade oriundos do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com água e ração *ad libitum*, temperatura 22 ± 1 °C, umidade relativa entre 50 e 55 % e ciclo claro/escuro de 12 horas. O peso e o consumo da dieta foram calculados semanalmente durante os 28 dias de ensaio para a determinação do coeficiente de eficácia alimentar de acordo com equação proposta por Campbell (1963). Os animais foram randomizados em três grupos, cada um com 10 animais.

Os teores de macro e micronutrientes das dietas foram calculados e equilibrados seguindo as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN) (Reeves et al., 1993). O grupo controle (CS) recebeu dieta contendo caseína e óleo de soja, o grupo experimental recebeu dieta contendo caseína e óleo bruto de buriti (EBB) e o grupo experimental recebeu dieta contendo caseína e óleo refinado de buriti (EBR). As dietas foram administradas por 28 dias a partir do desmame. Ao final dos 28 dias do experimento e após o jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados com 1 mL de cloridrato de quetamina e 1 mL cloridrato de xilasina para cada Kg de peso corporal do animal e perfundidos através do ventrículo esquerdo (punção cardíaca) para a realização das medidas antropométricas e análises bioquímicas. O fígado foi retirado para a dosagem da vitamina A, sendo lavado em solução de NaCl 0,9% e congelado até a realização desta dosagem. Todo o protocolo experimental foi procedido mediante a aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa Animal – CEPA – UFPE sob o número 23076.015472/2009-25.

As dietas destinadas aos grupos CS, EBB e EBR (Tabela 1) foram preparadas semanalmente no Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de

Pernambuco (UFPE) e oferecidas diariamente em quantidade suficiente para garantir o consumo *ad libitum*.

Tabela 1- Composição das dietas dos grupos controle contendo óleo de soja (CS) e experimentais contendo óleo bruto de buriti (EBB) ou refinado (EBR)

Ingredientes	Quantidades (g/100g)	CS	EBB	EBR
		Energia (Kcal)	Energia (Kcal)	Energia (Kca)
Amido de milho	52.9	186,10	186,10	186,10
Caseína	20.0	68,00	68,0	68,0
Sacarose	10.0	40,00	40,00	40,0
Fibra	7.0	63,0	63,0	63,0
Óleo de soja ou óleo de buriti	10.0	-	-	-
Mix minerais	5.0	-	-	-
Mix vitamínico	1.0	-	-	-
D-L metionina	0.3	-	-	-
Bitartarato de colina	0.3	-	-	-
Total	100	357,10	357,10	357,10

AIN – 93G (Reeves et al., 1993).

Parâmetros murinométricos

Os parâmetros murinométricos foram realizados com os animais anestesiados, antes da eutanásia, utilizando-se fita métrica mediu-se: a circunferência abdominal (CA), imediatamente anterior a pata traseira e a circunferência torácica (CT), imediatamente posterior a pata dianteira, além do peso corporal e do comprimento corporal que é medido do nariz até a base da cauda. O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso corporal (g) pelo comprimento ao quadrado (cm²) e o Índice de Lee (IL) foi calculado pela raiz cúbica do peso corporal (g) dividido pelo comprimento (cm). Todos os parâmetros seguiram a metodologia preconizada por Novelli et al (2007).

Determinação de vitamina A nas dietas e ingestão de β caroteno pelos ratos

O método para a determinação de vitamina A na dieta foi adaptado de Berbel (2007). Foram pesadas 5 g de amostra em tubo de ensaio e adicionou-se 10 mL de etanol com 0,25% do antioxidante BHT, 5 mL de água destilada e 0,5g de cloreto de sódio. Os tubos foram colocados em estante, adicionou-se 10 mL de hexano a cada amostra, e estes foram agitados ao banho em ultra-som por 3 min. para homogeneização. Logo em seguida, as amostras foram

centrifugadas a 1000 rpm por 3 min. Retirou-se o extrato hexânico e acondicionou-se em vidro âmbar. Os procedimentos de lavagem com hexano e retirada do extrato citados foram realizados cinco vezes. O extrato hexânico foi evaporado com nitrogênio e, posteriormente, foi resuspendido em 3 mL de metanol padrão HPLC. Esta amostra foi filtrada em membrana Minipore Fluoropore com 0,5 µm de diâmetro para ser injetada no HPLC.

O HPLC utilizado foi da marca Varian, modelo 2699, composto por bomba isocrática, com injetor manual Reody, com alça de amostragem de 20 µL, acoplado a detector de arranjo de diodo (DAD) e coluna cromatográfica C₁₈ (Chrompack-Varian, Inerstisil – 150 x 4,6mm 5ODS-2) com 5 µm de diâmetro de partícula. As condições cromatográficas do HPLC foram: fase móvel, metanol:água (98:2), a um fluxo de 1 mL min⁻¹ com detecção em 325 nm. Para identificação, utilizou-se a comparação dos tempos de retenção obtidos com os padrões nas mesmas condições cromatográficas e os espectros de absorção obtidos no detector de arranjo de diodos (DAD). A quantificação foi realizada pelo método de padronização externa.

A ingestão de vitamina A na forma de β caroteno que é o principal carotenóide encontrado no óleo de buriti, foi calculada a partir da quantidade de β caroteno determinada nos três tipos de dieta em função da quantidade de ração consumida por cada grupo.

Determinação do retinol sérico e hepático

As concentrações hepáticas e séricas de retinol foram realizadas em HPLC marca Dionex, contendo coluna C₁₈ medindo 4,6 x 2,50 mm x 5 µm, pré-coluna, detector ajustado em 325 nm, com metanol como fase móvel, fluxo 1,5 ml min⁻¹ e retenção do pico em 3.6 minutos.

Para a quantificação de retinol sérico, foi seguida a metodologia recomendada por Furr et al (1992) que utiliza amostras de 2 mL de sangue, as quais foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos para retirada do soro com auxílio de uma micropipeta. Foram pipetados 100 µL de amostra para tubos cônicos de vidro, sendo adicionados 100 µL de etanol para a precipitação de proteínas, agitando-se por 10 segundos. A seguir, foram adicionados 200 µL de hexano, agitou-se por 45 segundos e posteriormente foi centrifugado a 3.000 rpm por 5 minutos. Após este procedimento, extraiu-se 100 µL do sobrenadante, transferindo-o para um tubo de ensaio para evaporação com nitrogênio. As amostras foram readissolvidas com 100 µL de metanol, de onde foram retirados 20 µL para a injeção no HPLC.

A quantificação de retinol hepático utilizou o procedimento adaptado de Stahl et al (1993), em que as amostras foram extraídas de 1g de fígado com 2 mL de etanol e

homogeneizadas em agitador mecânico por 2 minutos. Em seguida foram agitadas em vórtex por 2 minutos, acrescentando-se 2 mL de hexano. Posteriormente foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos, ocorrendo a secagem do sobrenadante em atmosfera de nitrogênio e ressuspensão em 100 µL de metanol (padrão HPLC), de onde foram retirados 20 µL para a injeção no HPLC.

Parâmetros bioquímicos

Após terem sido anestesiados, o sangue foi coletado por punção cardíaca direta para retirada de 4 ml de sangue de cada animal, que foi centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos e o soro obtido foi mantido à temperatura de 25° para dosagem de colesterol (enzimático), HDL-c (Polietilenoglicol-PEG), LDL-c (Polietilenoglicol-PEG), VLDL-c (Polietilenoglicol-PEG) e triglicerídeos (enzimático). Estas análises foram realizadas com a utilização de kits Dolles. Foram realizadas também as seguintes dosagens bioquímicas: hemoglobina e hematócrito, AST e ALT

Tratamento estatístico

Utilizou-se delineamento casualizado, em todos os testes realizados conforme as recomendações de Maroco (2003). Assim, os cálculos foram efetuados utilizando o programa *SPSS for Windows Evaluation Edition – 14.0* (SPSS. INC., 2005), considerando a probabilidade de erro (p) menor ou igual (\leq) a 5 %. Com vistas a atender as pressuposições metodológicas dos testes paramétricos e obter resultados consistentes, aplicou-se teste de homogeneidade amostral. Os valores obtidos de três ou mais variáveis independentes foram submetidos à Análise de Variância (Anova) pelo teste F , porém, para os sem homogeneidade entre amostras, utilizou-se o teste de Robustez de *Welch*, para os que apresentaram significância, aplicou-se o teste de Tukey para múltiplas comparações.

Resultados e Discussão

Avaliação de ganho de peso, consumo de dieta e coeficiente de eficácia alimentar (CEA)

O ganho de peso e o consumo da dieta não diferiram estatisticamente entre os grupos ($p \leq 0,05$) (Tabela 2), corroborando com o resultado obtido por Berger et al (2003) em que hamsters alimentados com óleo bruto ou refinado de amaranto também não apresentaram diferenças quanto ao ganho de peso e consumo de dieta.

Tabela 2 – Consumo de dieta, ganho de peso e coeficiente de eficácia alimentar de ratos *Wistar* alimentados com dietas adicionadas de óleo de soja ou de óleo bruto ou refinado de buriti.

Variáveis	CS (n=10)	EBB (n = 10)	EBR (n = 10)
Ganho de peso (g)	104.98 ± 14.53 ^a	91.37 ± 13.41 ^a	110.36 ± 18.16 ^a
Consumo de dieta (g)	336.9 ± 36.72 ^a	344.25 ± 25.67 ^a	336.55 ± 21.04 ^a
CEA	0.30 ± 0.07 ^{ab}	0.26 ± 0.03 ^b	0.34 ± 0.07 ^a

Abreviações: CEA = coeficiente de eficácia alimentar. Grupos: CS = grupo controle com dieta AIN-93G; EBB = grupo experimental com dieta AIN-93G com óleo bruto de buriti; EBR = grupo experimental com dieta AIN-93G com óleo refinado de buriti.

Porém, o coeficiente de eficácia alimentar (CEA) foi menor para o grupo que recebeu dieta com óleo bruto de buriti, sendo o resultado justificado pela quantidade de impurezas encontradas neste tipo de óleo (Gunstone, 2002), as quais podem ter dificultado a conversão alimentar. Logo, o consumo de óleo refinado resultou nos maiores CEA entre os grupos.

Parâmetros murinométricos

No presente estudo, as diferentes fontes lipídicas presentes nas dietas não influenciaram os parâmetros murinométricos dos animais, exceto a circunferência abdominal que foi menor ($p \leq 0,05$) para o grupo controle (Tabela 3).

Tabela 3 – Variáveis antropométricas de ratos *Wistar* alimentados com dietas adicionadas de óleo de soja ou de óleo bruto ou refinado de buriti.

Dados murinométricos	CS (n=10)	EBB (n = 10)	EBR (n = 10)
CT (cm)	10.55 ± 1.23 ^a	11.14 ± 0.45 ^a	10.9 ± 0.46 ^a
CA (cm)	10.86 ± 1.43 ^b	12.41 ± 1.07 ^a	12.25 ± 0.75 ^a
CA/CT	1.03 ± 0.05 ^a	1.11 ± 0,03 ^a	1.12 ± 0.05 ^a
CC (cm)	18.27 ± 1.42 ^a	18.09 ± 1.04 ^a	18.40 ± 0.97 ^a
MC (g)	136.16 ± 31.38 ^a	146.20 ± 20.09 ^a	146.23 ± 24.05 ^a
IMC (g cm ⁻²)	0.40 ± 0.05 ^a	0.45 ± 0.04 ^a	0.43 ± 0.04 ^a
Índice de Lee	0.28 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.01 ^a	0.26 ± 0.09 ^a

Abreviações: CT= circunferência torácica; CA= circunferência abdominal; CC= comprimento corporal; MC = massa corporal; IMC =índice de massa corporal Grupos: CS = grupo controle com dieta AIN-93G; EBB = grupo experimental com dieta AIN-93G com óleo bruto de buriti; EBR = grupo experimental com dieta AIN-93G com óleo refinado de buriti.

Apesar de uma menor AC no grupo controle, os resultados de CT, CA e da relação CA/CT estão de acordo com os obtidos na pesquisa realizada por Novelli et al. (2007) em que ratos foram alimentados com dieta padrão e suas medidas antropométricas foram avaliadas aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias de idade.

O IMC dos animais variou entre 0,40 e 0,45 g cm⁻², sendo considerada normal a faixa entre 0,38 e 0,68 g/cm⁻² para animais entre 30 e 150 dias de idade. Em estudo realizado por

Santillán et al (2010), o IMC de camundongos alimentados com rações contendo óleo de soja ou de girassol variou de 0.50 a 0.57, estando acima do observado neste estudo em ratos alimentados com dietas adicionadas de óleo de soja ou de óleo bruto ou refinado de buriti.

O IMC é um índice mais sensível do que o índice de Lee para detectar obesidade e gordura de carcaça, vale salientar que anteriormente apenas o índice de Lee era utilizado como parâmetro murinométrico para ratos, tendo Novelli et al (2007) introduzido e validado esses novos parâmetros murinométricos.

Conteúdo e ingestão de β caroteno na dieta, retinol sérico e hepático

O conteúdo de vitamina A presente nas dietas diferiu estatisticamente ($p < 0,05$). A dieta contendo óleo bruto de buriti apresentou o maior conteúdo de vitamina A com 3230 IU/Kg de dieta o que equivale a 5814 μg de β caroteno. A dieta com óleo refinado de buriti apresentou 3010 IU/Kg (5418 μg de β caroteno) e a menor concentração de vitamina A foi encontrada na dieta contendo óleo de soja, apresentando 2470 IU/ Kg (4446 μg de β caroteno) (Tabela 4).

Tabela 4 – Conteúdo e ingestão de β caroteno das dietas e de retinol sérico e hepático de ratos *Wistar* alimentados com dietas adicionadas de óleo de soja ou óleo bruto ou refinado de buriti.

Variáveis	CS (n=10)	EBB (n = 10)	EBR (n = 10)
β caroteno da dieta(μg / Kg)	4446 ± 45.44 ^c	5814 ± 42.55 ^a	5418 ± 43.64 ^b
β carotene ingerido (μg)	1497.86 ± 62.00 ^c	2001.47 ± 60.43 ^a	1823.43 ± 65.44 ^b
Plasma (μg/dL)	31.28 ± 4.70 ^c	81.76 ± 1,94 ^a	54.88 ± 1.99 ^b
Nível de Retinol hepático (μg/g)	168.48 ± 22.01 ^b	1155.28 ± 25.85 ^a	1165.49 ± 28.36 ^a

Abreviações: Groups: CS = grupo controle com dieta AIN-93G; EBB = grupo experimental com dieta AIN-93G com óleo bruto de buriti; EBR = grupo experimental com dieta AIN-93G com óleo refinado de buriti.

As dietas adicionadas de óleo de buriti apresentaram conteúdo de vitamina A maior do que os encontrados por Ramos et al (2007) e Siqueira et al (2007) que utilizaram dietas contendo polpa de bociúva e cassava, respectivamente para avaliar a biodisponibilidade de vitamina A nestes alimentos.

A ingestão de β caroteno foi maior no grupo que recebeu a dieta adicionada de óleo bruto de buriti, este resultado pode ser justificado pela observação realizada por Gunstone (2002) de que o refino do óleo ocasiona perdas de pigmentos e vitaminas.

A maior concentração de vitamina A no plasma foi encontrada nos animais que consumiram dieta com óleo bruto de buriti, enquanto que os níveis hepáticos de vitamina A

foram significativamente maiores nos animais, cuja dieta foi adicionada de óleo bruto ou refinado de buriti, confirmando assim a eficiência da utilização deste óleo como fonte de vitamina A.

Este resultado é justificável devido ao retinol plasmático ser homeostaticamente controlado, isto é, a concentração de retinol plasmático não diminui até que as reservas hepáticas sejam esgotadas, ocasionando erros de interpretação de dados (Siqueira et al, 2007). Assim, a medida direta das reservas hepáticas de vitamina A é considerada como método padrão ouro (Tanumihardjo, 2004), sendo este indicador amplamente utilizado para avaliar se um alimento é eficaz na melhoria dos níveis desta vitamina (Howe e Howe e Tanumihardjo, 2006).

Apesar do grupo EBR ter ingerido menor quantidade de β caroteno, o acúmulo deste no fígado foi estatisticamente igual ao do grupo EBB que ingeriu maior quantidade de β caroteno entre os grupos. O grupo EBR apresentou maior eficiência na conversão de β caroteno da dieta nas reservas corporais dos animais. Comparando-se o retinol sérico e hepático do grupo EBR (54.88 $\mu\text{g/dL}$ e 1165.49 $\mu\text{g/g}$) com os resultados obtidos por Yuyama et al (1998) que foram 35.21 $\mu\text{g/dL}$ e 124.15 $\mu\text{g/g}$ para ratos alimentados com polpa liofilizada de buriti, observa-se que o óleo de buriti apresentou maior eficiência na conversão dos β carotenos ingeridos do que a polpa o que resultou em maiores concentrações de retinol plasmático e hepático. As reservas hepáticas dos grupos que receberam óleo de buriti adicionado na dieta foram 92.5% maiores do que as reservas hepáticas encontradas por Ramos et al (2007) de 91.4 $\mu\text{g/g}$ para ratos alimentados com dieta adicionada de polpa de bocaiúva que também é uma palmácea assim como o fruto do buriti.

Dosagens bioquímicas

Em relação aos dados da série vermelha do sangue, foi observado um maior percentual de hematócrito, ou seja, maior quantidade de glóbulos vermelhos sanguíneos no grupo que recebeu ração contendo óleo bruto de buriti, porém não houve diferença estatística quanto à concentração de hemoglobina (Tabela 5).

Tabela 5 – Dados bioquímicos de ratos *Wistar* alimentados com rações adicionadas de óleo de soja ou de óleo bruto ou refinado de buriti.

Dados Bioquímicos	CS (n=10)	EBB (n = 10)	EBR (n = 10)
Hemoglobina (g/dL)	10.55 ± 1.23 ^a	11.14 ± 0.45 ^a	10.9 ± 0.46 ^a
Hematócrito (%)	41.38 ± 8.4 ^{ab}	48.25 ± 3.11 ^a	35.25 ± 10.24 ^b
TC (mg/dL)	96.83 ± 13.97 ^b	131,51 ± 15.52 ^a	52.25 ± 6.88 ^c
HDL – C (mg/dL)	24.38 ± 11.6 ^a	23.64 ± 2.04 ^a	13.41 ± 1.59 ^b
TC /HDL- C (mg/dL)	3.91 ± 0.64 ^b	5.44 ± 0.46 ^a	3.96 ± 0.31 ^b
VLDL (mg/dL)	16.18 ± 6.36 ^a	19.88 ± 2.35 ^a	8.86 ± 0.86 ^b
LDL -C (mg/dL)	57.88 ± 3.86 ^b	87.49 ± 5.28 ^a	30.84 ± 5.24 ^c
TAG (mg/dL)	81.50 ± 32.33 ^a	99.38 ± 11.75 ^a	44.25 ± 4.68 ^b
AST (IU/L)	10.75 ± 1.58 ^{ab}	12.75 ± 1.91 ^a	10.00 ± 2.78 ^b
ALT (IU/L)	12.13 ± 1.81 ^a	14.38 ± 2.00 ^a	11.75 ± 2.55 ^a

Abreviações: TAG =triacilglicerol; TC = colesterol total; lipoproteína de alta densidade (HDL-C); LDL-C = lipoproteína de baixa densidade; VLDL = lipoproteína de muito baixa densidade; ALT = alanina aminotransferase; AST = aspartato aminotransferase. Groups: CS = grupo controle com dieta AIN-93G; EBB = grupo experimental com dieta AIN-93G com óleo bruto de buriti; EBR = grupo experimental com dieta AIN-93G com óleo refinado de buriti.

O consumo de alimentos fontes de carotenóides aumenta a concentração de hemoglobina e diminuiu a prevalência de anemia (Maramag et al, 2010). De acordo com García-Casal (2006), o consumo de β caroteno aumenta a absorção de ferro no organismo humano, justificando os resultados do presente estudo em ratos, em que o maior percentual de hematócrito foi encontrado no grupo que ingeriu maior quantidade de vitamina A na forma de óleo bruto de buriti, conforme análise das dietas por HPLC.

O consumo de óleo de buriti refinado diminuiu o conteúdo de triglicerídeos bem como o colesterol total e suas frações (HDL - C, LDL-C e VLDL). Apesar da diminuição do HDL – C neste grupo, Langlois e Balanton (2006), mencionam que a dosagem do HDL continua a ser um grande desafio na prática clínica e laboratorial, sendo alvo de limitações devido às metodologias de dosagens existentes. Além disso, a prevenção primária e secundária bem como o tratamento de doenças cardiovasculares estão focados na redução do LDL- C (Langlois e Balanton, 2006), o que foi alcançado com o consumo de óleo refinado de buriti.

Apenas o grupo de animais que recebeu óleo refinado de buriti apresentou-se com CT, HDL-C e LDL – C próximos aos resultados obtidos por Asadi et al (2010) em ratos alimentados com dieta contendo óleo de milho, de semente de uva e de canola que apresentaram HDL-C de 16.75, 14.59 e 18.26 (mg/dL); LDL-C de 11.28, 28.06 e 22.86 (mg/dL) e colesterol total (CT) de 45.03, 59.60 e 55.81(mg/dL), respectivamente. O grupo que recebeu dieta adicionada de óleo bruto de buriti foi o que apresentou maior CT, demonstrando que o consumo de óleo bruto pode ser prejudicial à saúde humana (Yeh et al, 2010), devido a presença de produtos oxidados e impurezas. Porém, observaram-se menores

concentrações de TAG, CT e HDL –C nos grupos que se alimentaram com dieta adicionada de óleo de buriti quer seja bruto (EBB) ou refinado (EBR) comparando-se aos resultados obtidos por Tzang et al (2009) em estudo com hamsters alimentados com óleo de linhaça que obtiveram TAG entre 100 e 200 mg/dL, TC de 177.59 mg/dL e HDL-C próximo a 70 mg/dL.

Houve diminuição de todos os parâmetros lipídicos séricos analisados dos animais que receberam dieta com óleo refinado em relação aos que receberam dieta com o óleo bruto. Este resultado corrobora com o obtido por Berger et al (2003) que compararam o perfil lipídico no sangue de ratos alimentados com óleo bruto e refinado de amaranto, sendo observado que o CT, HDL-C e o TAG foram menores para o grupo que recebeu óleo refinado em relação ao grupo que recebeu óleo bruto de amaranto.

O grupo EBB apresentou o maior valor de AST, entretanto a concentração de ALT não apresentou diferença estatística entre os grupos ($p \leq 0,05$). Os níveis séricos de aminotransferases são indicadores confiáveis de alteração funcional ou estrutural da célula hepática (Plaa, 2010), justificando que o óleo bruto de buriti devido à presença de impurezas e substâncias oxidadas pode ter ocasionado este aumento na AST, pois as aminotransferases ALT e AST aumentam à medida que aumenta o consumo de óleo oxidado (Yeh et al, 2010). Além disso, de acordo com estudo realizado em humanos por Sugiura et al (2006), a concentração sérica de carotenóides está inversamente associada a concentração sérica das aminotransferases, o que também foi observado no grupo de animais que foi alimentado com óleo refinado de buriti o qual apresentou as menores concentrações de aminotransferases.

Os resultados obtidos de ALT entre 11.75 e 14.38 IU e de AST de 10.00 e 12.75 IU para todos os grupos foram menores do que os obtidos por Ohara et al (2009) para ratos alimentados com dieta adicionada de óleo de canola de 18.1 IU de ALT e 59.8 IU de AST, levando-se em consideração que o ácido graxo majoritário nos óleos de buriti e de canola é o oléico (Ohara et al, 2009; Silva et al, 2009)

Conclusão

O consumo de óleo refinado de buriti resultou em maior coeficiente de eficácia alimentar, diminuiu o colesterol total e frações como também as aminotransferases séricas. O óleo de buriti seja bruto ou refinado não alterou os parâmetros murinométricos e aumentou o retinol sérico e mais do que duplicou as reservas hepáticas dos animais. Conclui-se que o óleo de buriti é uma alternativa de fonte lipídica considerada funcional desde que seja refinado, pois este processo melhorou todos os parâmetros bioquímicos analisados.

Referencias

- Asadi, F.; Shahriari, A.; Chahardah-Cheri, M. (2010). Effect of long-term optional ingestion of canola oil, grape seed oil, corn oil and yogurt butter on serum, muscle and liver cholesterol status in rats. *Food and Chemical Toxicology* 48, 2454–2457
- Berbel, M.M. Composição nutricional e determinação simultânea de vitaminas lipossolúveis em rações para frango de corte. (2007). Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos UNICAMP.
- Berger, A; Monnard, I; Dionisi, F.; Gumy, D; Hayes, KC; Lambelet, P Cholesterol-(2003) lowering properties of amaranth flakes, crude and refined oils in hamsters. *Food Chemistry* 81 119–124
- Brasil 2011. Disponível em: <http://www.fomezero.gov.br/noticias/parceria-preve-incentivo-ao-uso-de-alimentos-biofortificados-na-merenda-escolar-1> Acesso em: 10 fev. 2011
- Campbell, J.A. Method for determination of PER and NPR. In: *Food and nutrition board. Committee on Protein Quality. Evaluation of protein quality*. Washington: [s.n.], p.31-32, 1963.
- De Rosso VV, Mercadante AZ (2007) Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 5062–5072
- Dubois, V; Breton, S; Linder, M.; Fanni, J.; Parmentier, M. (2007) Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109 710–732
- Klemm RDW, Labrique AB, Christian P, Rashid M, Shamim AA, Katz J, Sommer A, West KP (2008) Newborn Vitamin A supplementation reduces infant mortality in rural Bangladesh. *Pediatrics* 122, 242–250
- Ferraz, IS; Daneluzzi, JC; Vannuchi, H; Jordão JR, AA; Ricco, RG; Del Ciampo, LA; Martinelli JR, CE; Engelberg, AAD; Bonilha, LRCM; Flores, H. (2004) Detection of vitamin A deficiency in Brazilian preschool children using the serum 30-day dose–response test. *European Journal of Clinical Nutrition* 58, 1372–1377
- Foster, R. ; Williamson, C.S; Lunn, J. (2009) Briefing paper: Culinary oils and their health effects. *Nutrition Bulletin*, 34,1, 4-47.
- Furr, H.C., Tranuminardjo, S.A., & Olson, J.A. (1992). *Training manual for assessing vitamin A status by use of the modified relative dose response and the relative dose response assays*. Washington: Office of Nutrition Bureau for Research na Development.

- Gunstone, F.D. *Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses*. Oxford: Blackwell Publishing, 2002.
- Howe, J.A., Tanumihardjo, S.A. (2006). Carotenoid-biofortified maize maintains adequate vitamin A status in Mongolian gerbils. *Journal of Nutrition*. 136, 2562–2567.
- Jiang, JX; Lin, LM; Lian, GL; Greiner, T. (2008) Vitamin A deficiency and child feeding in Beijing and Guizhou, China. *World Journal of Pediatrics*, 4, 1, 20-25.
- Maramag, CC; Ribaya-Mercado, JD; Rayco-Solon, P; J A A Solon, JAA ; Tengco, LW; Blumberg, JB ; Solon, FS. (2010). Influence of carotene-rich vegetable meals on the prevalence of anaemia and iron deficiency in Filipino schoolchildren. *European Journal of Clinical Nutrition* 64, 468-474.
- Maroco, J. *Análise estatística – com utilização do SPSS*. Lisboa: Ed. Sílabo, 2003.
- Moretto, E., & Fett, R. (1989) *Tecnologia de óleos e gorduras vegetais* (pp. 52-70). Rio de Janeiro: Varela, 1989.
- Nishino, H.; Murakoshi, M.; Tokuda, H; Satomi, Y. Cancer prevention by carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 483 (2009) 165–168.
- Noori, M., Darabi, M., Rahimipour, A., Rahbani, M., & Abadi, N. A. (2009). Fatty acid composition of HDL phospholipids and coronary artery disease. *Journal of Clinical Lipidology*, 3, 39–44.
- Novelli, E.L.B., Diniz Y.S., Galhardi C.M., Ebaid G.M.X., Rodrigues H.G., Mani F., Fernandes A., Cicogna A.C., & Novelli Filho J.L.V.B. (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals*, 41, 111–119.
- Ohara, N., Naito, Y., Kasama, K., Shindo, T., Yoshida, H., Nagata, T., Okuyama, H. (2009). Similar changes in clinical and pathological parameters in Wistar Kyoto rats after a 13-week dietary intake of canola oil or a fatty acid composition-based interesterified canola oil mimic. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 157–162.
- Plaa, GL. (2010). Evaluation of Hepatotoxicity: Physiological and Biochemical Measures of Hepatic Function in Animals. *Comprehensive Toxicology*, Chapter 9.06, 129-140
- Rao, AV; Rao, LG. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 55 207–216.
- Ramos, M.I.L., Siqueira, E.M.A., Isomura, C.C. Barbosa, A.M.J., & Arruda, S.F. (2007). Bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd) Improved Vitamin A Status in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3186-3190
- Reeves, P.G, Nielsen, F.H., & Fahey, G.C. AIN- 93. (1993). Purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition and the writing committee on the

- reformulation of the American Institute of Nutrition (AIN) -76^a rodent diet. *The Journal of Nutrition*, 123, 1939-1951.
- Ribeiro, J., Antunes, L., Darin, J., Mercadante, A., & Bianchi, M.D.L. (2010) Buriti (*Mauritia flexuosa*) oil: Evaluation of the mutagenic and antimutagenic potential by the micronucleus test in vivo. *Toxicology Letters* 196S, S37–S351.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2008) *Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos*. Brasília: MMA/SBF.
- Santillán, M.A., Vincenti, L.M., Martini, A.C., de Cuneo, M.F., Ruiz, R.D., Mangeaud, A., & Stutz, G. (2010). Developmental and neurobehavioral effects of perinatal exposure to diets with different u-6:u-3 ratios in mice. *Nutrition*, 26, 423–431.
- Séverac, E; Galy, O.; Turon, F; Monsan, P.; Marty, A. (2011) .Continuous lipase-catalyzed production of esters from crude high-oleic sunflower oil. *Bioresource Technology*, 102, 4954–4961
- Silva, S.M., Sampaio, K.A., Taham, T., Rocco, S.A., Ceriane, R., & Meirelles, A.J. (2009). Characterization of Oil Extracted from Buriti Fruit (*Mauritia flexuosa*) Grown in the Brazilian Amazon Region. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 86, 611–616
- Siqueira, E.M.A., Arruda, S.F., Vargas, R.M., & Souza, E.M.T. (2007). β -Carotene from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves improves vitamin A status in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 146, 235–240.
- Stahl, W., Sundquist, A.R., Hanusch, M., Schwarz, W., & Sies, H. (1993). Separation of beta-carotene and lycopene geometrical isomers in biological samples. *Clinical Chemistry*, 39, 5, 810-814.
- Suzuki, K; Ito, Y; Inoue, T ; Hamajima, N.(2011). Inverse association of serum carotenoids with prevalence of metabolic syndrome among Japanese. *Clinical Nutrition xxx* (2011) P.1-7.
- Minoru Sugiura, M., Nakamura M., Ikoma Y., Yano M, Ogawa K, Matsumoto H, Kato M, Ohshima M, Nagao, A (2006). Serum carotenoid concentrations are inversely associated with serum aminotransferases in hyperglycemic subjects. *Diabetes Research and Clinical Practice* 71 , 82–91
- Tanumihardjo, S.A.(2004). Assessing Vitamin A Status: Past, Present and Future. *The Journal of Nutrition*. 134, 1, 290S-293S.

- Tzang, B-S., Yang, S-F., Fu, S-G., Yang, HC., Sun, HL., Chen, Y-C. (2009) Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters. *Food Chemistry*, 114, 1450–1455
- Yeh, Y-H; Lee, Y –T; Hsieh, HS; Hwang, D-F. (2010). Effect of red yeast rice on toxicity of oxidized cholesterol and oxidized fish oil in rats. *The European Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, 5, 230- 237.
- Yuyama, L.K.O, Yonekura, L., Aguiar, J.P.L, & Sousa, R.F.S. (1998). Biodisponibilidade dos carotenóides do Buriti (*Mauritia flexuosa L.*) em ratos. *Acta Amazonica*, 28, 4, 409-15.

Consumo de óleo de buriti originário do Cerrado Brasileiro e sua implicação no *status* antioxidante de ratos

Jailane de Souza AQUINO^{*a}, Tânia Lúcia Montenegro STAMFORD^b, Débora Catarine Nepomuceno de Pontes PESSOA^b, Naira Josele Neves de BRITO^c, Gabriel ARAUJO SILVA^d, João Andrade da SILVA^e, Jorge LOPEZ^f
Maria das Graças ALMEIDA^d

^a Programa de Pós - Graduação em Nutrição pela UFPE. Departamento de Nutrição /CCS. Campus I- Cidade Universitária, s/n. Castelo Branco, 58059-900, João Pessoa – PB, Brasil.

^b Departamento de Nutrição/CCS. Universidade Federal de Pernambuco. Campus Recife, s/n, Cidade Universitária, 50670901, Recife – PE, Brasil.

^c Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Laboratório Multidisciplinar/ CCS. R. Gal Cordeiro de Farias, s/n, Petrópoles, 59012-570, Natal – RN, Brasil

^d Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Laboratório Multidisciplinar/ Faculdade de Farmácia. R. Gal Cordeiro de Farias, s/n, Petrópoles, 59012-570, Natal – RN, Brasil

^e Departamento de Produtos de Origem Animal/CDTR. Universidade Federal da Paraíba. Campus –I Cidade Universitária, s/n. Castelo Branco, 58059-900, João Pessoa – PB, Brasil

^f Departamento de Biotecnologia/ CCBS. Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Rua Imaculada Conceição, 1155, Prado Velho, 80215-901, Curitiba – PR, Brasil

Resumo

Objetivou-se avaliar o impacto da ingestão de vitamina A sobre os parâmetros murinométricos, bioquímicos e a atividade das enzimas antioxidantes em ratos. Durante 17 dias, 20 ratos receberam gavagem com solução salina e ração controle (CS) ou com óleo de buriti (CB) ou gavagem com sulfato ferroso e ração controle (FS) ou com óleo de buriti (FB). A dieta com óleo de buriti apresentou maior conteúdo de β caroteno. O consumo de dieta e o ganho de peso foram afetados pela sobrecarga de ferro. Os grupos CS e FS apresentaram menor concentração de triglicérides em relação aos CB e FB. As enzimas antioxidantes séricas e hepáticas dos grupos controle apresentaram seus níveis diminuídos. O grupo controle CS apresentou melhor atividade antioxidante de SOD e GPx no sangue. Contudo, o grupo CB apresentou maior atividade antioxidante de SOD no fígado do que os grupos FS e FB. A maior ingestão de β caroteno veiculado na dieta através do óleo de buriti não melhorou a atividade das enzimas antioxidantes no sangue, porém a atividade de SOD hepática foi aumentada. Sugerem-se mais estudos com maior duração e com outros modelos experimentais de estresse.

Palavras chave: enzimas antioxidantes, lipídios, óleo, vitamina A, estresse oxidativo

Abstract

The objective of this study was to evaluate the impact of vitamin A intake on murinometric and biochemical parameters and the antioxidant enzyme activity in rats. For 17 days, 20 rats received gavage with saline and control diet (CS) or with buriti oil (CB) or gavage with iron sulfate and control diet (FS) or with buriti oil (FB). The diet with buriti oil showed higher β carotene contents. The diet intake and weight gain were affected by iron overload. CS and FS groups had lower concentrations of triglycerides in relation to CB and FB groups. Control group showed reduced levels of serum and liver antioxidant enzymes. CS group showed better antioxidant activity of SOD and GPx in the blood. However, BC group showed higher antioxidant activity of SOD in liver than FS and FB groups. The higher intake of β carotene conveyed by diet with buriti oil did not improve the activity of antioxidant enzymes in the blood; however, the hepatic SOD activity was increased. Further studies of longer duration and with other experimental stress models should be conducted.

Keywords: antioxidant enzymes, lipids, oil, vitamin A, oxidative stress

1. Introdução

A etiologia do câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e envelhecimento tem sido associada à danos oxidativos no DNA, proteínas e lipídios, sendo catalisados por espécies reativas de oxigênio (Buijsse et al, 2007). Os radicais livres estão entre as principais fontes primárias de catalisadores que iniciam a oxidação *in vivo* e *in vitro* (Niki, 2010). Embora seja essencial para os processos bioquímicos vitais, o ferro também catalisa a produção de espécies reativas de oxigênio (Buijsse et al, 2007), o que significa que a sobrecarga de ferro pode aumentar o estresse oxidativo celular. Entre a população adulta e idosa, ocorre um aumento natural da quantidade de radicais livres presentes no organismo (Szwead et al, 2002), além de um aumento do consumo de alimentos fortificados com ferro nos últimos anos (Akhtar et al, 2011) e de suplementos de minerais (Hamrick e Counts, 2008).

Visando a prevenção de doenças crônica - degenerativas, os alimentos ou substâncias antioxidantes naturais neles contidos são amplamente estudados (Dillis e Trichopoulou, 2010; Rufino et al, 2010), utilizando principalmente modelos animais (Jacomelli et al, 2010; Block et al, 2008). A preservação destes compostos é importante para a conservação e a estabilidade de alimentos, além de oferecer fontes exógenas de antioxidantes para os consumidores (Rodriguez-Amaya, 2010).

As frutas e os óleos obtidos a partir delas são ricos em antioxidantes, tais como polifenóis e vitaminas C, A, B e E (Fleuriet e Macheix, 2003). Com base nestas informações, foi proposto um mecanismo de ação antioxidante direto, no qual a vitamina A seria capaz de reduzir moléculas radicalares ou formar um complexo com espécies radicalares, estabilizando os elétrons desemparelhados por ressonância (Peres et al, 2003). O óleo extraído da polpa do buriti (*Mauritia flexuosa*) é fonte de tocoferóis (Albuquerque et al, 2005) e carotenos (Rodríguez Amaya et al, 2008), os quais têm importância nutricional bastante reconhecida como antioxidante (Sen et al, 2006), além de apresentar potencial antimutagenico (Ribeiro et al, 2010) e alta concentração de ácidos graxos monoinsaturados (AGM), nutriente com ação hipocolesterolêmica (Wahrburg, 2004). O óleo de buriti apresenta alta estabilidade (Pardauil et al, 2011), podendo ser utilizado como ingrediente de outros alimentos e em frituras (García et al, 2007).

O objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto da ingestão de vitamina A sobre os parâmetros murinométricos, o perfil lipídico, o hemograma bem como a atividade das enzimas antioxidantes em ratos alimentados com dieta adicionada de óleo de buriti refinado.

2. Material e Métodos

2.1. Obtenção dos óleos

O óleo bruto de buriti foi adquirido no comércio popular da cidade de Picos – PI, Brasil. As amostras de óleo foram extraídas de forma artesanal a partir de frutos maduros mediante o cozimento em água por 20 minutos na temperatura de ± 60 °C, separando-se posteriormente a fração oleosa da aquosa. Para todos os experimentos foram utilizados 3 L de óleo bruto que foi refinado de acordo com as etapas de degomagem, neutralização, lavagem e secagem segundo a metodologia adaptada de Moretto e Fett (1989). Utilizou-se óleo de soja de uma mesma marca comercial, para ser adicionado na dieta controle, sendo adquirido em supermercado local.

2.2. Tratamento dos animais e dietas

Foram utilizados 20 ratos machos da linhagem *Wistar*, com idade ± 90 dias e peso inicial de ± 335 g que foram mantidos em gaiolas individuais com água e ração *ad libitum*, temperatura 22 ± 1 ° C, umidade relativa entre 50 e 55 % e ciclo claro/escuro de 12 h. Avaliou-se o *status* das enzimas antioxidantes a partir da indução ao estresse fisiológico que

foi provocado por gavagem (Ökva et al, 2006) diária durante 17 dias, com quantidade de 2 mL de solução salina para os grupos controle ou 2 mL de sulfato de ferro II para os grupos experimentais (Mendes et al., 2009).

Os teores de macro e micronutrientes das dietas foram calculados e equilibrados seguindo as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN) (Reeves et al, 1993). Os animais foram distribuídos em quatro grupos: grupo controle com gavagem com solução salina e dieta AIN 93M com óleo de soja (CS; $n = 5$), grupo controle com gavagem diária com solução salina e dieta AIN 93M contendo óleo de buriti (CB; $n = 5$), grupo experimental com gavagem com sulfato de ferro II e dieta AIN 93M contendo óleo de soja (FS; $n = 5$) e grupo experimental com gavagem com sulfato de ferro II e dieta AIN 93M contendo óleo de buriti (FB; $n = 5$). Todo o protocolo experimental foi procedido mediante a aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa Animal – CEPA – UFPE sob o número 23076.001000/2010-29

As dietas destinadas aos grupos CS, FS, CB e FB (Tabela 1) foram preparadas semanalmente e oferecidas diariamente em quantidade suficiente para garantir o consumo *ad libitum*, durante os 17 dias de experimento. O peso e o consumo da dieta foram avaliados a cada dois dias durante os 17 dias de ensaio.

Tabela 1 – Composição centesimal das dietas oferecidas aos grupos controles e experimentais

Ingredientes	Quantidades (g/100g)	CS e FS	CB e FB
		Energia (Kcal)	Energia(Kcal)
Amido de milho	61.9	247.60	247.60
Caseína	14.0	48.00	48.00
Sacarose	10.0	40.00	40.00
Óleo de soja ou de buriti	4.0	36.0	36.0
Celulose	5.0	-	-
Mix minerais	3.5	-	-
Mix vitamínico	1.0	-	-
D-L metionina	0.3	-	-
Bitartarato de colina	0.3	-	-
Total	100.00	341.80	341.80

Abreviaturas: grupos controle contendo óleo de soja e gavagem com solução salina (CS) e óleo de buriti e gavagem com solução salina (CB) e experimentais contendo óleo de soja e gavagem com sulfato ferroso (FS) e óleo de buriti e gavagem com sulfato ferroso (FB) de acordo com as recomendações da AIN – 93M.

2.3.Determinação de vitamina A nas dietas e ingestão de β caroteno pelos ratos

O método para a determinação de vitamina A na dieta foi adaptado de Berbel (2007). Foram pesadas 5 g de amostra em tubo de ensaio e adicionou-se 10 mL de etanol com 0.25% de BHT, 5 mL de água destilada e 0.5g de cloreto de sódio. Em seguida foram adicionados

10 mL de hexano a cada amostra. Após, agitação, o sistema reacional foi sonificado por 3 min. As amostras foram centrifugadas a 1000 rpm por 3 min para a retirada do extrato hexânico que foi acondicionado em frascos âmbar. Os procedimentos de lavagem com hexano e retirada do extrato citados foram realizados cinco vezes. A fração hexânica foi evaporada com nitrogênio e resuspensa em 3 mL de metanol padrão HPLC. Esta amostra foi filtrada em membrana Minlipore Fluoropore 0.5 μm e injetada no HPLC (Varian mod. 2699), acoplado a um detector de arranjo de diodo (DAD), sendo a coluna cromatográfica C_{18} (Chrompack-Varian, Inerstisil – 150 x 4,6mm 5ODS-2). A análise foi executada sob as seguintes condições cromatográficas: fase móvel: metanol:água (98:2), fluxo de 1 mL min^{-1} com detecção em 325 nm. A identificação foi efetuada por comparação aos tempos de retenção de substâncias padrão sob as mesmas condições experimentais. A quantificação foi realizada pelo método de padronização externa.

A ingestão de vitamina A sob forma de β caroteno que é o principal carotenóide encontrado no óleo de buriti, foi calculada a partir da quantidade de β caroteno determinada nos três tipos de dieta em função da quantidade de ração consumida por cada grupo de animais.

2.4. Parâmetros murinométricos

Os parâmetros murinométricos foram realizados com os animais anestesiados, antes da eutanásia, conforme metodologia descrita por Novelli et al (2007). Utilizando-se fita métrica aferiu-se: a circunferência abdominal (CA), imediatamente anterior a pata traseira e a circunferência torácica (CT), imediatamente posterior a pata dianteira, além do comprimento corporal (CC) que é medido do nariz até a base da cauda e do peso corporal. O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso corporal (g) pelo comprimento ao quadrado (cm^2) e o Índice de Lee (IL) foi calculado pela raiz cúbica do peso corporal (g) dividido pelo comprimento (cm).

2.5. Parâmetros bioquímicos

Após o período experimental de 17 dias e um jejum de 12 h, os animais foram anestesiados, o sangue foi coletado por punção cardíaca direta para retirada de 4 ml de cada animal. O soro foi obtido após centrifugação (3000 rpm/10 min) e mantido à temperatura de 25 °C para a realização das dosagens de colesterol (enzimático), HDL-C (Polietilenoglicol-PEG), LDL-C (Polietilenoglicol-PEG), VLDL-C (Polietilenoglicol-PEG) e triglicérides

(enzimático) (Kit Dolles). O conteúdo de hemoglobina e hematócrito foram determinados em analisador automatizado (ABX micro 60, Tokyo, Japão). Após a coleta de sangue, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical.

2.6. Atividade das enzimas antioxidantes

Após 24 h do último tratamento, os animais foram eutanasiados e laparotomizados. Amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca e centrifugadas (825g / 4 ° C/10 min) para obter soro e hemácias, utilizadas para determinar as enzimas antioxidantes, superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx), além do hemograma. O fígado de cada rato foi removido e lavado para determinar a atividade antioxidante em homogenato deste tecido. As determinações foram realizadas em triplicata.

O hemolisado foi preparado, separando-se os eritrócitos do plasma, sendo lavado três vezes com tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,4) e centrifugado a 825g / 4 ° C/10min. Para 0.2 mL do sedimento foi adicionado 1.8 mL de 0.4% β-mercaptoetanol (v / v) e em seguida as amostras foram congeladas a -20 ° C por 20 min. O hemolisado foi centrifugado a 8274g / 4 ° C/40min e o sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade das enzimas antioxidantes. O homogenato de fígado foi preparado a partir da homogeneização do tecido hepático em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) em um homogeneizador Potter-Elvehjem a 10% (w / v) de homogenato de fígado. Após centrifugação (8274g / 4 ° C/4min), o sobrenadante foi utilizado para avaliação das enzimas antioxidantes.

A atividade antioxidante da SOD e da GPx foram determinadas no sangue e no fígado dos animais. A atividade da SOD (E.C. 1.15. 1.1) foi determinada utilizando Kit RANSOD (Randox Laboratories Crumlin, UK), sendo a absorbância medida a 505 nm, enquanto a atividade antioxidante da GPx (E.C. 1.11.1.9) foi determinada utilizando Kit RANSEL kit (Randox Laboratories) de acordo com metodologia descrita por Paglia e Valentine (1967). A leitura espectrofotométrica foi efetuada a 340 nm em espectrofotômetro Shimadzu UV-VIS modelo 1650-PC (Tokyo, Japão). As atividades de SOD e de GPx foram expressas em IU/mg de hemoglobina para o sangue ou IU/mg de proteína para o fígado.

2.7. Análise Estatística

Todos os valores foram expressos como média e desvio padrão, calculados por análise estatística de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey-Kramer, utilizando o Graph Pad Prism Software versão 5.0, considerando a significância estatística de $p \leq 0,05$.

3. Resultados e Discussão

3.1. Avaliações do ganho de peso, consumo de dieta e ingestão de β caroteno

Não houve diferença estatística para o ganho de peso entre os grupos, contudo foi observada uma diminuição do consumo de dieta entre os grupos experimentais em relação ao consumo dos respectivos grupos controle (Tabela 2).

Tabela 2– Ganho de peso, consumo de dieta e ingestão de β caroteno por ratos *Wistar* alimentados com dieta adicionada de óleo de soja ou óleo de buriti e que receberam gavagem com solução salina ou sulfato de ferro II.

Variáveis	CS (n=5)	FS (n =5)	CB (n =5)	FB (n=5)
Ganho de peso (g)	38.75 \pm 18.21	26.00 \pm 18.88	40.38 \pm 15.82	33.43 \pm 16.11
Consumo de dieta (g)	355,52	282.68	372.62	356.61
β caroteno da dieta (μ g/ Kg)	4098 \pm 42.42	4098 \pm 42.42	4996 \pm 41.04 ^{a,c*}	4996 \pm 41.04 ^{a,c*}
β caroteno ingerido (μ g)	1457 \pm 22.42	1158.42 \pm 22.42	1861 \pm 20.9 ^{a,c*}	1781 \pm 21.01 ^{a,c*}

Abreviações: Grupos: CS =solução salina e óleo de soja; FS = sulfato ferroso e óleo de soja; CB= solução salina e óleo de buriti; FB= Sulfato ferroso e óleo de buriti . . ^a comparado com óleo de soja; ^b comparado com o óleo de buriti; ^c compared com o óleo de soja + SO₄Fe; ^d comparado com óleo de Buriti + SO₄Fe

O consumo de dieta e o ganho de peso foram afetados pela sobrecarga de ferro no organismo murino. Este resultado está de acordo com aqueles apresentados por Yu et al (2011) que avaliaram a influência da suplementação de ferro sobre o estresse oxidativo em ratos.

A dieta adicionada de óleo de buriti oferecida aos grupos CB e FB apresentou maior conteúdo de β caroteno em relação à dieta adicionada de óleo de soja oferecida aos grupos CS e FS. Os grupos FS e FB ingeriram menores quantidades de β caroteno quando comparados aos grupos controle devido a um menor consumo de dieta apresentado por estes grupos provavelmente em função do recebimento de gavagem com sulfato de ferro II.

As dietas adicionadas de óleo de buriti apresentaram conteúdo de vitamina A maior que aquelas descritas por Ramos et al (2007) e Siqueira et al (2007) que utilizaram dietas contendo polpa de bociúva e cassava, respectivamente para avaliar a biodisponibilidade de vitamina A nestes alimentos.

3.2. Parâmetros murinométricos

Os resultados experimentais indicaram que as diferentes fontes lipídicas presentes nas dietas não influenciaram os parâmetros murinométricos dos animais (Tabela 3).

Tabela 3– Parâmetros murinométricos de ratos *Wistar* alimentados com dieta adicionada de óleo de soja ou óleo de buriti e que receberam gavagem com solução salina ou sulfato ferro II

Parâmetros murinométricos	CS (n=5)	FS (n=5)	CB (n=5)	FB (n=5)
TC	15.13 ± 1.05	15.79 ± 0.93	15.94 ± 1.05	15.36 ± 0.94
AC	16.88 ± 1.09	16.93 ± 0.60	17.29 ± 1.13	17.06 ± 1.29
AC/TC	1.11 ± 1.00	1.07 ± 0.77	1.08 ± 1.05	1.11 ± 1.10
BL	33.13 ± 1.55	33.31 ± 1.19	33.04 ± 1.94	33.86 ± 1.74
BW	332.1 ± 38.16	345.4 ± 35.93	370.1 ± 59.5	372.0 ± 50.32
BMI	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.32 ± 0.02
Índice de Lee	0.20 ± 0	0.21 ± 0	0.21 ± 0	0.21 ± 0

Abreviações: TC= circunferência torácica; AC= circunferência abdominal; BL= comprimento corporal; BW = peso corporal; BMI =índice de massa corporal Grupos: CS =solução salina e óleo de soja; FS = sulfato ferroso e óleo de soja; CB= solução salina e óleo de buriti; FB= Sulfato ferroso e óleo de buriti .

Os resultados de TC, AC e da relação AC/TC estão de acordo com os obtidos por Novelli et al (2007) em que ratos foram alimentados com dieta padrão e suas medidas murinométricas foram avaliadas aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias de idade.

Quanto ao BMI dos animais, houve uma variação entre 0.30 e 0.33 g cm⁻², sendo considerada como faixa normal aquela onde há uma variação entre 0,38 e 0,68 g/cm⁻² para animais entre 30 e 150 dias de idade para ratos que não sofreram estresse. Em estudo realizado por Santillán et al. (2010), o BMI de camundongos que foram alimentados com rações contendo óleo de soja ou de girassol variou de 0.50 a 0.57; valores estes acima dos observados neste estudo, em que foram utilizados ratos alimentados com dietas adicionadas de óleo de soja ou com óleo bruto ou refinado de buriti.

O BMI é um índice mais sensível do que o índice de Lee para detectar obesidade e gordura da carcaça, vale salientar que anteriormente apenas o índice de Lee era utilizado como parâmetro antropométrico para ratos, tendo Novelli et al (2007) introduzido e validado esses novos parâmetros murinométricos.

3.3 Parâmetros bioquímicos

O grupo CS apresentou menor concentração sérica de VLDL-C em comparação ao grupo FB ($p < 5\%$). Os grupos CS e FS que receberam dieta adicionada de óleo de soja apresentaram menor concentração de triglicerídeos em relação aos grupos CB e FB que receberam dieta adicionada de óleo de buriti (Tabela 3).

Tabela 3 – Parâmetros bioquímicos de ratos *Wistar* alimentados com dieta adicionada de óleo de soja ou óleo de buriti e que receberam gavagem com solução salina ou sulfato de ferro II

Parâmetros	CS (n=5)	FS (n =5)	CB (n =5)	FB (n=5)
Colesterol total	58.71 ± 13.76	53.75 ± 15.75	54.00 ± 6.43	67.86 ± 16.92
VLDL	7.30 ± 1.30 ^{d**}	14.57 ± 3.90	12.54 ± 3.79	19.00 ± 6.11
HDL	30.86 ± 2.79	26.76 ± 7.0	33.83 ± 4.49	30.53 ± 3.73
LDL	21.94 ± 14.35	20.00 ± 5.00	9.60 ± 4.00	12.31 ± 3.00
TAG	31.86 ± 10.07 ^{d**}	51.50 ± 22.99 ^{d*}	62.71 ± 18.98	94.75 ± 30.18
Hemoglobina	14.63 ± 1.1	15.43 ± 1.00	15.73 ± 1.4	15.23 ± 1.00
Hematócrito	45.18 ± 4.5	43.51 ± 3.2	45.03 ± 5.3	43.20 ± 3.3

Abreviações: TAG =triacilglicerol; TC = colesterol total; lipoproteína de alta densidade (HDL-C); LDL-C = lipoproteína de baixa densidade; VLDL = lipoproteína de muito baixa densidade Grupos: CS =solução salina e óleo de soja; FS = sulfato ferroso e óleo de soja; CB= solução salina e óleo de buriti; FB= Sulfato ferroso e óleo de buriti. ^a comparado com óleo de soja; ^b comparado com o óleo de buriti; ^c compared com o óleo de soja + SO₄Fe; ^d comparado com óleo de Buriti + SO₄Fe

Segundo Nakajima et al (2011), uma alta concentração de VLDL – C no sangue pode indicar uma alta taxa de triglicerídeo, uma vez que os triglicerídeos são transportados para a corrente sanguínea via VLDL – C. A maior concentração de triglicerídeos observada nos grupos FB e FS, quando comparada aos grupos controle, pode estar relacionada à sobrecarga de ferro no organismo murino (Silva et al, 2008). Por outro lado, de acordo com Brizzi et al (2003), concentrações aumentadas de triglicerídeos têm sido associadas a concentrações diminuídas do LDL-C, o que pode ser observado no presente estudo, em que os grupos SB e FB apresentaram menores concentrações de LDL-C, embora não tenha sido observada nenhuma diferença estatística entre os grupos.

O estudo realizado por Gorestein et al (2003) com ratos induzidos ao estresse mediante o consumo de dieta hiperlipídica e alimentados com 10g de óleo de canola ou de girassol por 100g de dieta, apresentaram concentrações de colesterol total entre 108.07 e 109.62 mg/dL, LDL-C entre 45.76 e 46.54 mg/dL, HDL entre 65.2 e 64.4 e triglicerídeos entre 61.76 e 62.64 mg/dL, todas estas variáveis apresentaram maior concentração quando comparadas aos resultados do presente estudo em que os ratos foram alimentados com 4 g de óleo de soja (CS e FS) ou de buriti (CB e FB).

Em relação aos dados da série vermelha do sangue, as taxas de hematócrito e a hemoglobina foram semelhantes entre os grupos, logo não foram afetadas pela sobrecarga de ferro recebida pelos grupos FS e FB ($p < 5\%$), provavelmente pelo curto espaço de tempo de sobrecarga. O resultado é justificável uma vez que a sobrecarga de ferro tanto em humanos como em camundongos, aumenta a expressão da hepcidina que inibe a exportação de ferro do enterócitos e reduz a absorção de ferro no lúmen intestinal e somente a partir de uma

sobrecarga prolongada é que seria percebido o aumento na concentração de hemoglobina e hematócrito assim como no fígado, pâncreas e coração (Beard e Okheen, 2009).

3.3. Atividade das enzimas antioxidantes

As enzimas antioxidantes séricas e hepáticas dos grupos controle (CS e CB) apresentaram seus níveis diminuídos em relação aos grupos experimentais (FS e FB) (Tabela 4) que foram induzidos ao estresse oxidativo pela sobrecarga de ferro.

Table 4- Comparação dos efeitos do óleo de buriti com o óleo de soja sobre os parâmetros antioxidantes de ratos induzidos ao estresse oxidativo

Grupos/ Tratamentos	SOD		GPx	
	Sangue IU/mg Hb	Fígado IU/mg proteína	Sangue IU/mg Hb	Fígado IU/mg proteína
CS	5.2 ± 1.1 ^{c*}	1.19 ± 0.38	160.4 ± 2.27 ^{c**}	18.31 ± 2.69 ^{bd*}
FS	2.56 ± 0.95	0.95 ± 0.07	136.1 ± 11.71	14.66 ± 1.47
CB	4.74 ± 1.8	1.73 ± 0.65 ^{c*d**}	152.2 ± 12.42	13.93 ± 2.60
FB	4.09 ± 0.99	0.62 ± 0.11	142.5 ± 11.51	13.71 ± 1.59

n = 5. Valores expressos como médias ± SD. ANOVA-Tukey * p<0.05, ** p<0.01. ^a comparado com óleo de soja; ^b comparado com o óleo de buriti; ^c comparado com o óleo de soja + SO₄Fe; ^d comparado com óleo de Buriti + SO₄Fe

Em modelos experimentais com ratos (Cockell et al, 2005; Ohara et al, 2009; Moneim et al, 2011), observou-se que o estresse oxidativo ocasiona a diminuição das concentrações das enzimas antioxidantes em relação aos grupos controle.

O grupo controle CS apresentou estatisticamente melhor atividade antioxidante de SOD no sangue do que o grupo FS. Contudo, o grupo CB apresentou maior atividade antioxidante de SOD no fígado em comparação aos grupos FS e FB, sendo este resultado importante, pois a enzima antioxidante SOD constitui a primeira linha de defesa do organismo contra os radicais livres (Rosa, 2009). A maior parte dos estudos avaliam a atividade antioxidante de SOD e GPx no fígado, músculo ou cérebro de animais, pois estes órgãos possuem alta atividade destas enzimas.

Quanto à atividade de GPx, o grupo controle CS apresentou melhores resultados a nível sanguíneo do que o grupo FS, submetido a uma sobrecarga de ferro. Resultado análogo foi observado quanto à atividade da GPx no fígado em comparação aos grupos (CB e FB) que receberam dieta adicionada de óleo de buriti.

De acordo com Ohara et al (2009), a maior atividade de SOD e de GPx foi observada em fígado de ratos submetidos a uma dieta contendo 10 g óleo de canola/ Kg de dieta durante 13 semanas quando comparada com a atividade antioxidante determinada no presente estudo. Animais que receberam 10 g de óleo de soja durante 28 dias apresentaram atividade antioxidante de SOD e de GPx no fígado (Shireen et al, 2008) similar a de ratos que consumiram 4 g de dieta adicionadas de óleo de soja (CS e FS) ou de buriti (CB e FB), avaliada no presente estudo

Apesar de uma maior ingestão de vitamina A pelos grupos que consumiram dieta adicionada de óleo de buriti (CB e FB), não foi observada uma melhor atividade antioxidante, pois a vitamina A apresenta uma capacidade antioxidante direta *in vitro*, no entanto, sua ação antioxidante *in vivo*, assim como o seu efeito sobre biomarcadores de estresse oxidativo, ainda não são bem estabelecidos (Lars, 2008). Em cérebro de ratos induzidos ao estresse oxidativo, observou-se um aumento da atividade antioxidante de SOD e de GPx nos grupos que receberam dieta adicionada de azeite de oliva e suplementada com 15 mg de vitamina A por Kg de peso do animal, em relação ao animais do grupo controle que não receberam suplementação com vitamina A (Zaidi e Banu, 2004).

Em todos os estudos citados, foi utilizada uma maior quantidade de fontes lipídicas na dieta, assim como houve uma maior duração do tempo de experimento. Logo, a quantidade e qualidade dos lipídios adicionados às dietas assim como o tempo de duração do consumo destes pelos animais influenciam a atividade das enzimas antioxidantes principalmente no fígado e no cérebro. Além disso, foi observada que a suplementação de vitaminas por gavagem ocasiona aumento na atividade das enzimas antioxidantes. Interessante observar que em nenhum dos estudos (Shireen et al, 2008; Zaidi e Banu, 2004), a vitamina A foi veiculada na dieta, o que seria mais indicado para avaliar *in vivo* a capacidade antioxidante de alimentos. Segundo Jun et al (2009), há perspectivas de que antioxidantes dietéticos possam ser usados futuramente na prevenção de doenças cuja gênese envolva processos oxidativos.

4. Conclusão

O estresse oxidativo induzido mediante gavagem e sobrecarga de ferro, não alterou os parâmetros murinométricos dos ratos alimentados com dieta adicionada de óleo de buriti ou de soja, apesar de ter ocasionado a diminuição do consumo de ração nestes grupos. Contudo, a sobrecarga de ferro pode ter alterado a concentração de triglicérides e VLDL – C. A maior ingestão do antioxidante β caroteno veiculado na dieta através do óleo de buriti não melhorou

a atividade das enzimas antioxidantes no sangue, porém a atividade de SOD hepática foi aumentada no grupo que não tinha sobrecarga de ferro e que recebeu dieta com óleo de buriti. Sugerem-se mais estudos com maior duração e com outros modelos experimentais de estresse.

Referencias

- Akhtar, S., Anjum, F.M., & Anjum, M.A. (2011). Micronutrient fortification of wheat flour: Recent development and strategies. *Food Research International*, 44, 652–659.
- Albuquerque, M.L.S, Guedes, I., Alcantara Junior, P., Moreira, S.G.C, Barbosa Neto, N.M., Correa, D.S., & Zilio, S.C. (2005). Characterization of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) Oil by Absorption and Emission Spectroscopies. *Journal Brazilian Chemical Society*, 16, 6A, 1113-1117.
- Beard, J., & Okheem, H. Systemic iron status. (2009). *Biochimica et Biophysica Acta*, 1790, 584-588.
- Berbel, M.M. Composição nutricional e determinação simultânea de vitaminas lipossolúveis em rações para frango de corte. (2007). Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos UNICAMP.
- Block, G., Jensen, C.D., Morrow, J.D., Holland, N., Norkus, E.P., Milne, G.L., Hudes, M., Dalvi, T.B, Crawford, P.B., Fung, E.B., Schumacher, L., & Harmatz, P. (2008). The effect of vitamins C and E on biomarkers of oxidative stress depends on baseline level. *Free Radical Biology & Medicine*, 45, 377–384.
- Buijsse B, Feskens EJ, Moschandreas J, Jansen EH, Jacobs DR Jr, Kafatos A, et al. (2007). Oxidative stress, and iron and antioxidant status in elderly men: differences between the Mediterranean south (Crete) and northern Europe (Zutphen). *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007, 14:495–500.
- Brizzi, P., Tonolo, G., Carusillo F., Malaguarnera M., Maioli M., & Musumeci S. (2003) Plasma lipid composition and LDL oxidation. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 41, 56–60.
- Cockell, K.A., Andrew, T., Wotherspoona, A.T.L, Belonjea, B., Fritza, M.E., Madérea, R., Nick Hidiogloua, Louise J. Plouffea, Ratnayakea, W.M. N., & Kubow, S. (2005). Limited effects of combined dietary copper deficiency/iron overload on oxidative stress parameters in rat liver and plasma. *Journal of the Nutritional Biochemistry*, 16, 750-756.

- Dilis, V., & Trichopoulou, A. (2010) Antioxidant intakes and food sources in Greek adults. *Journal do Nutrition*, 140, 7, 1274-9.
- Fleuriet, & Macheix., J.J. (2003). Phenolic acids in fruits and vegetables. In: C.A. Rice-Evans and L. Packer, Editors, *Flavonoids in health and disease* (pp. 32-34), Marcel Dekker Inc. (2003).
- Hamrick, I., & Counts, S.H. (2008). Vitamin and mineral supplements. *Wellness and Prevention*, 35, 4, 729-747.
- Garcia, C.C., Franco, P.I.B.M., Zuppa, T.O., Antoniosi Filho, N.R., & Leles, M.I.G., (2007). Thermal stability studies of some cerrado plant oils. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 87, 645–648.
- Gorinstein, S.; Leontowicz, H.; Leontowicz, M.; Lojek, C.I.Z., Krzeminski, R.; Zachwiejad, Z.; Jastrzebskie, Z.; Delgado-Liconf, E.; Martin-Belloso, O.; Trakhtenbergh, S. (2003). Seed oils improve lipid metabolism and increase antioxidant potential in rats fed diets containing cholesterol. *Nutrition Research*, 23, 317–330.
- Jacomelli, M., Pitozzi, V., Zaid, M., Larrosa, M., Toninib, G., Martini,A., Urbani, S., Taticchi, A., Servili, M., Dolara, P., & Giovannelli, L. (2010). Dietary extra-virgin olive oil rich in phenolic antioxidants and the aging process: long-term effects in the rat. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21, 290–296
- Jun L., Tian, Y.X., Yang, F., Ping-Zhang, J., Skibisted, L.H. (2009). Antioxidant synergism between carotenoids in membranes. Astaxanthin as a radical transfer bridge. *Food Chemistry*, 115, 4, 1437-1442.
- Mendes, J.F.R., Arruda, S.F., Siqueira, E.M.A., Ito, M.K., & Da Silva, E.F. (2009). Iron status and oxidative stress biomarkers in adults:A preliminary study. *Nutrition*, 25, 379–384.
- Lars, O. Biomarkers of exposure to vitamins A, C and E and their relation to lipid and protein oxidation markers (2008). *European Journal of Nutrition*, 47,2, 3-18.
- Moneim, A.E.A., Dkhil, M., & Al-Quraishy, S. Effects of Flaxseed Oil on Lead Acetate-Induced Neurotoxicity in Rats. *Biological Trace Element Research*. 2011, In Press.
- Moretto, E., & Fett, R. (1989) *Tecnologia de óleos e gorduras vegetais* (pp. 52-70). Rio de Janeiro: Varela, 1989.
- Nakajima, k., Takamitsu Nakano; T., Tokita, Y., Nagamine, T., Inazu; A., Kobayashi, J., Mabuchi, M., Stanhope, K.L., Havel, P.J., Okazaki, M., Ai, M., & Tanaka, A.(2011). Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. *Clinica Chimica Acta*, 412, 15-16, 1306-1318.

- Niki, E. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. (2010). *Free Radical Biology & Medicine*, 49, 503–515.
- Novelli, E.L.B., Diniz Y.S., Galhardi C.M., Ebaid G.M.X., Rodrigues H.G., Mani F., Fernandes A., Cicogna A.C., & Novelli Filho J.L.V.B. (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals*, 41, 111–119.
- Ohara, N., Naito, Y., Kasama, K., Shindo, T., Yoshida, H., Nagata, T., Okuyama, H. (2009). Similar changes in clinical and pathological parameters in Wistar Kyoto rats after a 13-week dietary intake of canola oil or a fatty acid composition-based interesterified canola oil mimic. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 157–162.
- Õkva, K., Tamoseviciute, E., Ciziute, A., Pokk, P., Ruksenas, O., & Nevalainen, T. (2006). Refinements for Intragastric Gavage in Rats. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*. 33, 4, 243-252.
- Paglia, D.E.; Valentine, W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory Clinical and Medicine*, v. 70, 158-169, 1967.
- Pardaul, J.J.R.; Souza, L.K.C.; Molfetta, F.M.; Zamian, J.R.; Geraldo N.; Rocha Filho, G.N.; & Da Costa, C.E.F. (2011). *Bioresource and Technology*. doi:10.1016/j.biortech.2011.02.022, In press.
- Peres, W.A.F., Paula, T.P., Sailva, R.A.N.R., & Coelho, H.S.M. (2003). A atuação da vitamina A e carotenóides na hepatocarcinogênese. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 49, 2, 113-120.
- Ramos, M.I.L., Siqueira, E.M.A., Isomura, C.C. Barbosa, A.M.J., & Arruda, S.F. (2007). Bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd) Improved Vitamin A Status in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3186-3190
- Reeves, P.G, Nielsen, F.H., & Fahey, G.C. AIN- 93. (1993). Purified diers for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition and hoe writing comitee on the reformulation of the American Institute of Nutrition (AIN) -76^a rodent diet. *The Journal of Nutrition*, 123, 1939-1951.
- Ribeiro, J., Antunes, L., Darin, J., Mercadante, A., & Bianchi, M.D.L. (2010) Buriti (*Mauritia flexuosa*) oil: Evaluation of the mutagenic and antimutagenic potential by the micronucleus test in vivo. *Toxicology Letters* 196S, S37–S351.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2008) *Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos*. Brasília: MMA/SBF.

- Rodriguez-Amaya, D.B. (2010). Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids—A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 726–740
- Rosa, F.R. Deficiência de vitamina A altera o *status* de ferro e de estresse oxidativo de ratos. (2009). Brasília: Universidade de Brasília.
- Rufino, M.S.M., Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Alves, R.E., de Brito, E.S., Oliveira, M.S.P., & Saura-Calixto, F.(2011). Açai (Euterpe oleraceae) ‘BRS Pará’: A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. *Food Research International*, 2011, In press.
- Santillán, M.A., Vincenti, L.M., Martini, A.C., de Cuneo, M.F., Ruiz, R.D., Mangeaud, A., & Stutz, G. (2010). Developmental and neurobehavioral effects of perinatal exposure to diets with different u-6:u-3 ratios in mice. *Nutrition*, 26, 423–431.
- Sen, C.K., Khanna, S., & Roy, S. (2006). Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Science*, 78, 2088–2098.
- Shireen, K.F., Pace, R.D., Mahboob, M., & Khan, A.T. (2008). Effects of dietary vitamin E, C and soybean oil supplementation on antioxidant enzyme activities in liver and muscles of rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3290–3294
- Siqueira, E.M.A., Arruda, S.F., Vargas, R.M., & Souza, E.M.T. (2007). β -Carotene from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves improves vitamin A status in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 146, 235–240.
- Silva, M., Marcelo E. Silva, M.E., & de Paula, H., Carneiro, C.M., & Pedrosa, M.L. (2008). Iron overload alters glucose homeostasis, causes liver steatosis, and increases serum triacylglycerols in rats. *Nutrition Research*, 28, 391–398.
- Szweda, P.A., Friguet, B., & Szweda, L.I. (2002). Proteolysis, free radicals, and aging. *Free Radical Biology & Medicine*, 33, 1, 29–36.
- Zaidi, S.M.K.R.; & Banu, N. (2004). Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta*, 340 229–233.
- Wahrburg, U. (2004). What are the health effects of fat? *European Journal of Nutrition*, 43(Suppl. 1), I/6–11.
- Yu, S., Feng, Y., Shen, Z., & Li, M. (2011). Diet supplementation with iron augments brain oxidative stress status in a rat model of psychological stress. *Nutrition*, 1–5, In press.

Title page

Title: Efeito do consumo de biscoito adicionado de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa L.*) sobre o status de vitamina A, perfil lipídico, glicemia e parâmetros murinométricos de ratos jovens

Authors:

Jailane de Souza Aquino*^a, Tânia Lúcia Montenegro Stamford^b, Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa^b, Juliana Késsia Barbosa Soares^c & Robson de Jesus Mascarenhas^d

^a Doutoranda em nutrição pela UFPE. Departamento de Nutrição /CCS. Universidade Federal da Paraíba. Campus I, s/n. Castelo Branco, 58051-900, João Pessoa – PB, Brazil. E-mail: *lalaquino@hotmail.com

^b Departamento de Nutrição/CCS. Universidade Federal de Pernambuco. Campus Recife, s/n, Cidade Universitária, 50670-901, Recife – PE, Brazil. E-mail: tlmstamford@yahoo.com.br; deboranepomuceno@gmail.com

^c Departamento de Nutrição/CES. Universidade Federal de Campina Grande. Olho d'água da Bica, s/n, 58175-000, Cuité-PB, Brazil. E-mail: julianakessia@hotmail.com

^d Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano. Campus Petrolina. BR 407, km 08, Jd. São Paulo, 56314-520 -Petrolina - Pernambuco. E-mail: robsonjm@ig.com.br

***Corresponding author: Jailane de S. Aquino**

Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências da Saúde. Campus I, s/n. Castelo Branco, 58051-900, João Pessoa – PB, Brazil. E-mail: *lalaquino@hotmail.com Telephone 55-83-3216- 7499 55-83-8838-9213

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito do consumo de biscoitos adicionados de óleo de buriti sobre os coeficientes de eficácia (CEA) e de conversão alimentar (CCA) e sobre os parâmetros murinométricos e bioquímicos em ratos jovens. Vinte animais foram divididos em dois

grupos que receberam dietas adicionadas de biscoito com óleo de soja ou com óleo de buriti durante 28 dias. Quantificou-se o conteúdo de vitamina A dos biscoitos e o ingerido pelos animais. Foram avaliados o CEA, o CCA, o perfil lipídico, o *status* de vitamina A, a glicemia além dos parâmetros murinométricos. O maior ganho de peso assim como uma maior circunferência torácica foi registrado no grupo controle, porém não foram observadas diferenças estatísticas para os outros parâmetros murinométricos, o consumo de dieta, CEA, CCA, glicemia e nem para o perfil lipídico. A ingestão de dieta complementada com biscoito adicionado de óleo de buriti aumentou o retinol sérico ($54.72 \pm 7.78 \mu\text{g/dL}$) e o hepático ($1277.33 \mu\text{g/g}$) de ratos, respectivamente duas e seis vezes mais em relação ao grupo controle. O retinol sérico apresentou forte correlação com o retinol hepático e ambos apresentaram correlação moderada com o CEA e o CCA, com o ganho de peso, com o peso final dos animais. Conclui-se que o biscoito contendo óleo de buriti pode ser considerado uma fonte alternativa de vitamina A o que lhe dá vantagem diante dos vários óleos e gorduras adicionados em biscoitos, sugerindo-se novos estudos para a inserção deste produto na alimentação humana.

Keywords: cookie, lipídeos, *Mauritia flexuosa*, HPLC, retinol

Abstract

The objective of this work was to evaluate the effect of the consumption of cookies added of buriti oil on food efficiency ratio (FER), food conversion ratio (FCR) and anthropometric and biochemical parameters of young rats. Twenty animals were divided into two groups, being fed with diets added of cookies containing soybean oil or buriti oil for 28 days. The vitamin A contents in cookies and those ingested by animals were evaluated. FER, FCR, lipid profile, vitamin A status, blood glucose and anthropometric parameters were quantified. The greatest weight gain and thoracic circumference were recorded in the control group; however, no statistical differences were observed for the other anthropometric parameters such as diet intake, FCR, FER, blood glucose, and lipid profile. The intake of diet supplemented with cookies added of buriti oil increased serum ($54.72 \pm 7.78 \mu\text{g/dL}$) and hepatic retinol (1277.33 g / g) of rats, respectively two and six times more than that of the control group. The serum retinol contents showed strong correlation with hepatic retinol and both showed moderate correlation with FER and FCR, weight gain and with the final weight of animals. It was concluded that cookie added of buriti oil can be considered an alternative source of vitamin A, which gives it advantages over the various oils and fats added to cookies,

and further studies on its inclusion in the human diet should be conducted.

Keywords: cookie, lipids, *Mauritia flexuosa*, HPLC, retinol

1. Introdução

A baixa ingestão de micronutrientes vem ocorrendo devido à industrialização e mudanças no estilo de vida da população (Visioli & Hagen, 2007) o que acarreta deficiências nutricionais que são um grave problema de saúde pública global. A deficiência de vitamina A (DVA) é prevalente nos países em desenvolvimento (Bhutta, 2008), principalmente nas crianças e nas mulheres em idade fértil (WHO, 2006).

Dentre as várias estratégias para controlar a deficiência de vitamina A, a fortificação de alimentos, parece ser a abordagem mais prática (Winger et al 2008) como também tecnologicamente e economicamente eficaz (WHO, 2006). A decisão sobre quais alimentos são enriquecidos, a quantidade de fortificação, bem como a forma de vitamina A que é usada não é regulamentada (Penniston et al., 2003) porém uma série de fatores, incluindo interações com nutrientes, a estabilidade dos micronutrientes, condições do armazenamento e processamento podem ter uma influência sobre a concentração da vitamina (Pretorius & Schönfeldt, 2011).

Biscoitos são amplamente aceitos e consumidos em muitos países e, portanto, oferecem um valioso veículo de suplementação nutricional através da fortificação (Arshad et al., 2007), uma vez que apresentam longa vida de prateleira e estabilidade microbiológica (Škrbic' & Cvejanov, 2011), além de permitir a estabilidade da vitamina A ao longo da cocção e do armazenamento neste produto (Butt, 2007).

A gordura é um dos componentes básicos das formulações de biscoitos e está presente em níveis relativamente altos (Jacob et al., 2007), contribuindo para as características relativas ao sabor e à textura (Seker et al , 2010). Contudo, a adição de gorduras trans e saturadas nestes produtos são comuns (Goldstein & Seetharaman, 2011) o que é preocupante em razão da associação do consumo destas à doenças cardiovasculares e metabólicas (Micha & Mozaffarian, 2008). Segundo Albers et al (2008), novas tecnologias e matérias primas têm sido utilizadas para reduzir o teor de gorduras trans na fabricação de produtos alimentícios.

Neste sentido, o óleo de buriti torna-se uma alternativa para a fortificação de alimentos como biscoitos, por ser rico em ácidos graxo insaturados (Silva et al, 2009), em vitamina A (De Rosso & Mercadante, 2007) e pró vitamina A (Rodriguez - Amaya et al, 2008). Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar em ratos jovens, o efeito do consumo de biscoitos

adicionados de óleo de buriti sobre os parâmetros murinométricos e bioquímicos tais como glicemia, perfil lipídico e status de vitamina A.

2. Material e métodos

2.1 Animais e composição das dietas

Foram utilizados 20 ratos machos da linhagem *Wistar*, recém-desmamados, com ± 21 dias de idade, com peso médio de 56 ± 3 g, oriundos do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), sendo estes randomizados em dois grupos, cada um com 10 animais. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com água e ração *ad libitum*, à temperatura de 22 ± 1 ° C, com umidade relativa entre 50 e 55 % e ciclo claro/escuro de 12 horas. Todo o protocolo experimental foi procedido mediante a aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa Animal – CEPA – UFPE sob o número 23076.015472/2009-25.

Os teores de macro e micronutrientes das dietas foram calculados e equilibrados seguindo as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN) (REEVES et al., 1993). O grupo controle (CS) recebeu dieta AIN – 93G adicionada de biscoito contendo óleo de soja e o grupo experimental recebeu dieta AIN – 93G adicionada de biscoito contendo óleo de buriti (CB). As dietas foram oferecidas por 28 dias a partir do desmame e ao final deste período, após o jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados com 1 mL de cloridrato de quetamina e 1 mL cloridrato de xilasina para cada Kg de peso corporal do animal para a realização das medidas antropométricas e perfundidos através do ventrículo esquerdo (punção cardíaca) para a realização das análises bioquímicas. O fígado foi retirado para a dosagem da vitamina A, sendo lavado em solução de NaCl 0,9% e congelado até a realização desta dosagem.

Previamente a preparação das dietas, foram produzidos os biscoitos contendo óleo de soja ou óleo de buriti para obtenção das respectivas farinhas e posterior adição nas dietas. O peso e o consumo da dieta foram avaliados semanalmente durante os 28 dias de ensaio para a determinação do coeficiente de eficácia alimentar (CEA) calculado dividindo-se o ganho de peso (g) pela ingestão de dieta (g) e coeficiente de conversão alimentar (CCA) calculado dividindo-se a ingestão de dieta (g) pelo ganho de peso (g) (Campbell,1963).

2.2.Fabricação dos biscoitos e obtenção da farinha

Para a fabricação dos biscoitos foi utilizado óleo de soja de uma mesma marca comercial ou o óleo de buriti adquirido na cidade de Picos- PI, Brasil, posteriormente foi refinado em laboratório de acordo com as etapas de degomagem, neutralização, lavagem e secagem, conforme a metodologia adaptada de Moretto e Fett (1989). Para a formulação dos biscoitos foram utilizados os seguintes ingredientes: 100 g farinha de trigo, 15 mL de óleo de soja ou óleo de buriti, 3 g de lecitina de soja, 30 g de açúcar, 7.5 g de xarope de milho, 0.75 g de sal, 0.5 g de bicarbonato de amônia, 1g de bicarbonato de sódio e 12.5 mL de água, sendo formulados a partir da metodologia adaptada de Moretto e Fett (1999). Os biscoitos foram moldados e cozidos em temperatura de 210 °C por 15 minutos. Após o resfriamento até temperatura ambiente, estes foram triturados para a obtenção de farinhas e em seguida, adicionados às dietas destinadas aos grupos CS e CB. As dietas (Tabela 1) foram preparadas semanalmente no Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e oferecidas diariamente em quantidade suficiente para garantir o consumo *ad libitum*.

TABELA 1

2.3 Avaliação do teor de vitamina A das dietas adicionadas de biscoitos com óleo de soja ou de buriti

O estudo simulou uma dieta normal adicionada de um alimento enriquecido com vitamina A, logo o conteúdo desta vitamina em IU/Kg de dieta foi avaliado, levando-se em consideração a quantidade de vitamina A presente no mix de vitaminas habitualmente adicionado a dieta que é de 4000 IU/Kg (Reeves et al., 1993) e o teor de vitamina A em IU/Kg presente no biscoito sendo este determinado por HPLC. Como o β caroteno é o carotenóide majoritário presente no óleo de buriti, o conteúdo total de vitamina A da dieta foi transformado em caroteno multiplicando-se pelo fator 1.8 (Siqueira et al, 2007) e o β caroteno ingerido foi calculado de acordo com a quantidade de dieta consumida por cada grupo.

O método para a determinação de vitamina A nos biscoitos foi adaptado de Berbel (2007). Assim, peou-se 5 g de amostra em tubo de ensaio e adicionou-se 10 mL de etanol com 0,25% do antioxidante BHT, 5 mL de água destilada e 0,5g de cloreto de sódio. Os tubos foram colocados em estante, adicionou-se 10 mL de hexano a cada amostra, e estes foram agitados ao banho em ultra-som por 3 min. para homogeneização. Logo em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1000 rpm por 3 min. Retirou-se o extrato hexânico e

acondicionou-se em vidro âmbar. Os procedimentos de lavagem com hexano e retirada do extrato citados foram realizados cinco vezes. O extrato hexânico foi evaporado com nitrogênio e, posteriormente, foi resuspendido em 3 mL de metanol padrão HPLC. Esta amostra foi filtrada em membrana Minlipore Fluoropore com 0,5 µm de diâmetro para ser injetada no HPLC.

O HPLC utilizado foi da marca Varian, modelo 2699, composto por bomba isocrática, com injetor manual Reody, com alça de amostragem de 20 µl, acoplado a detector de arranjo de diodo (DAD) e coluna cromatográfica C₁₈ (Chrompack-Varian, Inerstisil – 150 x 4,6mm 5ODS-2) com 5 µm de diâmetro de partícula. As condições cromatográficas do HPLC foram: fase móvel, metanol:água (98:2), a um fluxo de 1 mL min⁻¹ com detecção em 325 nm. Para identificação, utilizou-se a comparação dos tempos de retenção obtidos com os padrões nas mesmas condições cromatográficas e os espectros de absorção obtidos no detector de arranjo de diodos (DAD). A quantificação foi realizada pelo método de padronização externa.

2.4 Parâmetros murinométricos

Os parâmetros murinométricos foram realizados com os animais anestesiados, antes da eutanásia, conforme metodologia descrita por Novelli et al (2007). Utilizando-se fita métrica aferiu-se: a circunferência abdominal (CA), imediatamente anterior a pata traseira e a circunferência torácica (CT), imediatamente posterior a pata dianteira, além do comprimento corporal (CC) que é medido do nariz até a base da cauda e do peso corporal. O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso corporal (g) pelo comprimento ao quadrado (cm²) e o Índice de Lee (IL) foi calculado pela raiz cúbica do peso corporal (g) dividido pelo comprimento (cm).

2.5 Parâmetros bioquímicos

Após terem sido anestesiados, o sangue foi coletado por punção cardíaca direta para retirada de 4 ml, o qual foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos e o soro obtido foi mantido à temperatura ambiente (25°) para dosagem de glicose (enzimático), colesterol (enzimático), do HDL-C (Polietilenoglicol-PEG), do LDL-C (Polietilenoglicol-PEG), do VLDL-C (Polietilenoglicol-PEG) e dos triglicerídeos (enzimático). Estas análises foram realizadas com a utilização de kits Dolles.

As concentrações hepáticas e séricas de retinol foram realizadas em HPLC marca Dionex, contendo coluna C₁₈ medindo 4,6 x 2,50 mm x 5 µm, pré-coluna, detector ajustado

em 325 nm, com metanol como fase móvel, fluxo 1,5 ml min⁻¹ e retenção do pico em 3.6 minutos.

Para a quantificação de retinol sérico, foi seguida a metodologia recomendada por Furr et al. (1992) a qual utiliza amostras de 2 mL de sangue, que foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos para retirada do soro com auxílio de uma micropipeta. Foram pipetados 100 µL de amostra para tubos cônicos de vidro, sendo adicionados 100 µL de etanol para a precipitação de proteínas, agitando-se por 10 segundos. A seguir, foram adicionados 200 µL de hexano, agitou-se por 45 segundos e posteriormente foi centrifugado a 3.000 rpm por 5 minutos. Após este procedimento, extraiu-se 100 µL do sobrenadante, transferindo-o para um tubo de ensaio para evaporação com nitrogênio. As amostras foram readissolvidas com 100 µL de metanol, de onde foram retirados 20 µL para a injeção no HPLC.

A quantificação de retinol hepático utilizou o procedimento adaptado de Stahl et al. (1993), em que as amostras foram extraídas de 1g de fígado com 2 mL de etanol e homogeneizadas em agitador mecânico por 2 minutos. Em seguida foram agitadas em vórtex por 2 minutos, acrescentando-se 2 mL de hexano. Posteriormente foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos, ocorrendo a secagem do sobrenadante em atmosfera de nitrogênio e ressuspensão em 100 µL de metanol (padrão HPLC), de onde foram retirados 20 µL para a injeção no HPLC.

2.6. Tratamento estatístico

Todas as análises estatísticas foram realizadas conforme as recomendações de Maroco (2003), através do *software SPSS for Windows Evaluation Edition – 14.0* (SPSS. INC., 2005), aplicando-se o teste *t* de Student para duas amostras independentes e considerando a probabilidade de erro (*p*) menor ou igual (\leq) a 5 %.

Com vistas a explorar as forças pontuais de correlações e respectivas probabilidades de erros ($p \leq 5\%$), efetuou-se o teste de correlação de Pearson (*r*), no qual as forças das correlações foram classificadas em desprezível (0,01 a 0,09), baixa (0,10 a 0,29), a moderada (0,30 a 0,49), a substancial (0,5 a 0,69) e a correlação muito forte ($\geq 0,70$), conforme sugestões de Davis (1976).

3. Resultados e discussão

3.1 Avaliações de ganho de peso, consumo de dieta, coeficiente de eficácia alimentar (CEA) e coeficiente de conversão alimentar (CCA)

O maior ganho de peso foi registrado no grupo controle (CS), porém para o consumo de dieta, o coeficiente de eficácia alimentar (CEA) e coeficiente de conversão alimentar (CCA) não foram observados diferenças estatísticas ($p < 0.05$) (Tabela 2).

TABELA 2

Apesar do maior ganho de peso apresentado pelo grupo controle ($p < 0.05$), este parâmetro isoladamente, não é considerado um indicador de qualidade nutricional da dieta (Esteves et al, 2010). De acordo com Lima et al. (2002), os coeficientes que representam a relação entre ganho de peso e a ingestão de alimentos podem representar melhor a qualidade nutricional de uma dieta.

Esteves et al (2010) obtiveram 0.18 de CEA e 5.21 de CCA para ratos que consumiram farinha de copaíba que também é uma oleaginosa originária do Cerrado Brasileiro. Resultados do presente estudo apresentaram um maior CEA (0.30) e um menor CCA (3.28), indicando que a farinha de biscoitos adicionados de óleo de soja ou de buriti apresentaram uma melhor qualidade nutricional do que a dieta adicionada de farinha de copaíba, pois um maior CEA (ganho de peso g / g de ingestão de alimentos) e um menor CCA (g de ingestão de alimentos/ ganho de peso g), significa que o animal foi eficiente e eficaz na conversão de ração em peso.

3.2. Comparação do teor de vitamina A entre as dietas adicionadas de biscoitos com óleo de soja ou de buriti

O biscoito com óleo de buriti e conseqüentemente, a dieta complementada com este ingrediente apresentou quase o dobro do conteúdo de vitamina A em relação ao biscoito com óleo de soja e sua respectiva dieta (Tabela 3).

TABELA 3

A quantidade de β caroteno ingerida pelos grupos depende das quantidades de caroteno presentes nas dietas. Assim, o grupo controle CS consumiu 1.5 vezes menos β caroteno do que o grupo CB, pois foi observada uma maior contribuição de carotenóides provenientes do biscoito com óleo de buriti, apresentando-se superior aos 4000 IU/Kg recomendados pela AIN (Reeves et al, 1993).

A quantidade de vitamina A presente no biscoito adicionado de óleo de buriti (528 UI/100g equivalente a 158 µg RE/100g) está dentro da média de vitamina A determinada por Petrorius e Scöfneldt (2011), para farinhas de milho de diferentes marcas (entre 19 e 261 µg RE/100g). Caso 100g do biscoito adicionado de óleo de buriti fosse consumido por humanos, este consumo supriria 17.6% da ingestão recomendada de vitamina A (DRI) para adultos do sexo masculino equivalente a 700 µg RAE/dia e 22.63% da DRI para adultos do sexo feminino equivalente a 900 µg RAE/dia.

3.3. Parâmetros murinométricos

Os diferentes tipos de biscoitos que foram adicionados às dietas não influenciaram os parâmetros murinométricos, exceto a circunferência torácica que foi maior no grupo controle (Tabela 4).

TABELA 4

Apesar de uma maior circunferência torácica (TC) encontrada no grupo controle (CS), os resultados de TC, AC e da relação AC/TC estão de acordo com os obtidos no estudo de Novelli et al. (2007) em que ratos foram alimentados com dieta padrão e suas medidas murinométricas foram avaliadas aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias de idade.

O BMI dos animais variou entre 0.49 e 0.50 g cm⁻², sendo considerada normal a faixa entre 0,38 e 0,68 g/cm⁻² para animais entre 30 e 150 dias de idade. Em estudo realizado por Santillán et al (2010), o BMI de camundongos alimentados com rações contendo óleo de soja ou de girassol variou de 0.50 a 0.57, resultado muito semelhante ao observado neste estudo em ratos alimentados com dietas adicionadas de biscoitos contendo óleo de soja ou de óleo de buriti. Vale salientar que o BMI é um índice mais sensível do que o índice de Lee para detectar obesidade e gordura da carcaça em ratos e que anteriormente apenas o índice de Lee era utilizado como parâmetro murinométrico para ratos, tendo Novelli et al (2007) introduzido e validado esses novos parâmetros murinométricos.

3.4. Parâmetros bioquímicos

Não houve diferença estatística ($p \leq 5\%$) no perfil lipídico dos animais que consumiram biscoito com óleo de soja ou com óleo de buriti, porém os níveis de retinol sérico e hepático foram significativamente maiores no grupo de animais que recebeu dieta adicionada de biscoito com óleo de buriti (Tabela 5).

TABELA 5

O grupo de ratos que consumiu dieta adicionada de biscoito com óleo de buriti (CB) apresentou teores médios de: colesterol total (57.67 mg/dL), HDL - C (14.86 mg/dL), LDL - C (36.13 mg/dL), VLDL (11.52 mg/dL) e triglicerídeos (51.78 mg/dL) inferiores aos determinados por Esteves et al (2010) para ratos que consumiram farinha de copaíba, os quais apresentaram teores médios de: colesterol total (96.6 mg/dL), HDL - C (45.6 mg/dL), LDL - C (41.3 mg/dL), VLDL (14.7 mg/dL) e triglicerídeos (73.7 mg/dL). Butt et al (2007), observaram que o retinol sérico desempenha um papel importante na manutenção da relação LDL / HDL, a qual desempenha um papel crucial na prevenção de doenças cardiovasculares doenças.

Observou-se que a glicemia dos animais com dieta adicionada de biscoito com óleo de buriti (CB) foi em média 90.67 mg/dL, mostrando-se superior a glicemia média 56.7 mg/dL de ratos que consumiram dieta adicionada de farinha de copaíba de (Esteves et al., 2010), provavelmente pela grande quantidade de fibras presente neste tipo de farinha.

O retinol plasmático nos animais que receberam dieta adicionada de biscoito contendo óleo de buriti foi quase o dobro do determinado nos animais que receberam dieta adicionada de biscoito contendo óleo de soja, entretanto estes resultados foram inferiores ao nível de retinol sérico 148.64 µg / dL determinado por Butt et al (2007) em ratos alimentados com 69.1 g de cookies adicionados de 257.85 µg retinil acetato, sendo este resultado justificado porque o retinil acetato é uma forma sintética mais ativa da vitamina A. A determinação do retinol sérico como parâmetro isolado pode ocasionar erros de interpretação de dados uma vez que este parâmetro é homeostaticamente controlado, ou seja, a concentração de retinol plasmático não diminui até que as reservas hepáticas sejam esgotadas (Siqueira et al, 2007).

A ingestão de biscoito com óleo de buriti aumentou o retinol hepático no grupo CB em aproximadamente seis vezes em relação ao retinol hepático dos animais do grupo controle CS. Sendo este resultado de suma importância uma vez que a determinação do retinol hepático é considerada como método padrão ouro (Tanumihardjo, 2004), sendo este indicador amplamente utilizado para avaliar se um alimento é eficaz na melhoria dos níveis de vitamina A (Howe e Tanumihardjo, 2006).

O grupo CB apresentou uma maior concentração de retinol sérico (54.72 µg/dL) quando comparado com os resultados obtidos por Yuyama et al (1998) de 35.21 µg/dL, para ratos alimentados com polpa de buriti. Observam-se reservas hepáticas de vitamina A dez vezes maior no grupo que recebeu biscoito contendo o óleo de buriti (CB) de 1277.33 µg/g quando comparado ao retinol hepático de 124.15 µg/g, determinado por Yuyama et al(1998).

O teste de correlação de Pearson (r), mostrou uma forte correlação entre o peso final do animais com o comprimento (0.73) e a circunferência torácica (0.76), correlação substancial com a circunferência abdominal (0.64) e com o consumo de dieta (0.52), correlação moderada com Colesterol total (0.48) e HDL – C (0.49). O comprimento corporal apresentou forte correlação com o peso (0.73), correlação substancial com a circunferência abdominal (0.52) e com o consumo de ração (0.57) e uma correlação moderada com a circunferência torácica (0.42). O BMI apresentou correlação substancial com a glicemia (0.62), enquanto que o Índice de Lee correlacionou-se moderadamente com a circunferência torácica (0.45).

Os parâmetros murinométricos analisados apresentaram correlação positiva entre si, destacando-se as circunferências abdominal e torácica, sendo que esta ultima apresentou correlação também com o VLDL-C e o HDL-C. Sabe-se que em humanos a relação cintura/quadril é considerada um bom preditor de acúmulo de gordura abdominal e doenças cardiovasculares (Cheng et al., 2010), partindo do mesmo princípio, em animais a relação circunferência torácica /abdominal também pode ser utilizada para este fim (Novelli et al., 2007), logo a correlação destes parâmetros com os parâmetros bioquímicos de HDL-C e VLDL-C é justificável.

Em estudo realizado por Novelli et al (2007) foi demonstrado que o tipo de dieta interfere diretamente na gordura da carcaça, na massa corporal e no BMI assim como no perfil lipídico de roedores. Já o aumento de idade dos animais tem correlação positiva com o aumento da circunferência abdominal (AC) e do BMI.

O Colesterol total (CT) apresentou forte correlação com o HDL-C (0.74) que por sua vez apresentou correlações moderadas com o peso (0.49) e a circunferência torácica (0.42). Os triglicerídeos apresentaram correlação substancial com o VLDL-C (0.50) e correlação moderada com a circunferência torácica (0.42). O LDL apresentou-se correlacionado moderadamente com os triglicerídeos (0.41), CEA (0.40) e CCA (0.40).

Segundo Nakajima et al (2011), os triglicerídeos são transportados para a corrente sanguínea pelo VLDL – C e a depender da quantidade de carboidratos ingeridos com a dieta podem ser estocados como gordura no tecido adiposo, logo uma alta concentração de VLDL – C no sangue pode indicar uma alta taxa de triglicerídeo. Por outro lado, de acordo com Brizzi et al (2003), concentrações aumentadas de triglicerídeos têm sido associadas a concentrações diminuídas do LDL-C. Contudo, Nakajima et al (2010), demonstraram não haver correlação entre triglicerídeos e LDL-C.

De acordo com Novelli et al (2007), o HDL e o LDL apresentam correlação inversa uma vez que apresentam papéis opostos na regulação do colesterol sérico total (Sirtori e Fumagalli, 2006). O HDL apresenta forte correlação negativa com o peso corporal (Sirtori e Fumagalli, 2006) o que não foi evidenciado neste estudo.

O retinol sérico apresentou forte correlação com o retinol hepático e ambos apresentaram correlação moderada com o CEA (0.46) e o CCA (0.40). O retinol sérico (0.57) e o hepático (0.49) apresentaram correlação moderada com o ganho de peso. Estas correlações podem ser justificadas pelas diferenças do conteúdo de vitamina A nas dietas consumidas pelos ratos. Butt et al (2007) citam que a vitamina A afeta significativamente o crescimento e o funcionamento do organismo murino, principalmente em relação ao aumento do peso de órgãos tais como fígado, pulmão, rins, coração, baço, cérebro e testículos, demonstrando a interferência no peso dos animais como também nos coeficientes CEA e CCA.

4. Conclusão

Os biscoitos adicionados de óleo de buriti apresentaram melhor qualidade nutricional, tendo em vista que os animais apresentaram maior coeficiente de eficácia alimentar e menor coeficiente de conversão alimentar. O consumo de biscoitos adicionados de óleo de buriti não alterou a glicemia, o perfil lipídico e nem os parâmetros murinométricos dos ratos, exceto a circunferência torácica. A ingestão de dieta complementada com biscoito adicionada de óleo de buriti aumentou significativamente o retinol sérico e o hepático de ratos, respectivamente duas e seis vezes em relação ao grupo controle. Além disso, as concentrações de retinol sérico e hepático estão correlacionadas ao peso e aos coeficientes de conversão e eficácia alimentar, demonstrando a importância desta vitamina no crescimento e desenvolvimento de animais. Logo, este produto pode ser considerado uma fonte alternativa de vitamina A o que lhe dá vantagem diante dos vários óleos e gorduras adicionados em biscoitos, sugerindo-se novos estudos para a inserção de seu consumo na alimentação humana.

Referencias

- Albers, M.J., Harnack, L.J; Steffen, L.M., & Jacobs Jr, D.R. (2008). 2006 Marketplace Survey of Trans-Fatty Acid Content of Margarines and Butters, Cookies and Snack Cakes, and Savory Snacks. *Journal of the American Diet Association*, 108, 367-370.
- Arshad, M.U., Anjum, F.M., & Zahoor, T. (2007). Nutritional assessment of cookies supplemented with defatted wheat germ. *Food Chemistry*, 102, 123–128.
- Berbel, M.M. Composição nutricional e determinação simultânea de vitaminas lipossolúveis em rações para frango de corte. (2007). Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos UNICAMP.

- Bhutta, Z. A. (2008). Micronutrient needs of malnourished children. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 11, 309–314.
- Butt, M.S., Arshad, M.U., Alam, M.S., & Nadeem, M.T. (2007). Bioavailability and storage stability of vitamin A fortificant (retinyl acetate) in fortified cookies. *Food Research International*, 40, 1212–1219.
- Brizzi, P., Tonolo, G., Carusillo F., Malaguarnera M., Maioli M., & Musumeci S. (2003) Plasma lipid composition and LDL oxidation. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 41, 56–60.
- Campbell, J.A. Method for determination of PER and NPR. In: *Food and nutrition board. Committee on Protein Quality. Evaluation of protein quality*. Washington: [s.n.], p.31-32, 1963.
- Cheng, C-H, Hob, C-C, Yangc, C-F, Huangd, Y-C Laie, C-H & Liawc, Y-P. (2010). Waist-to-hip ratio is a better anthropometric index than body mass index for predicting the risk of type 2 diabetes in Taiwanese population. *Nutrition Research*, 30, 585–593.
- Davis, J. A. (1976). *Levantamento de dados em sociologia*. Rio de Janeiro: Zahar.
- De Rosso V.V., & Mercadante A.Z. (2007) Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5062–5072.
- Esteves, E.A., Oliveira, L.G., Pires, S.T., Batista, A.G., Dessimoni-Pinto, N.A.V., & Santana, R.C.. (2010). Nutritional composition of *Copaifera langsdorffii* Desf. aril flour and its effect on serum lipids and glucose in rats. *Food Research International*, doi: 10.1016/j.foodres.2010.12.005
- Furr, H.C., Tranuminardjo, S.A., & Olson, J.A. (1992). *Training manual for assessing vitamin A status by use of the modified relative dose response and the relative dose response assays*. Washington: Office of Nutrition Bureau for Research na Development.
- Goldstein, A., & Seetharaman, K. (2011). Effect of a novel monoglyceride stabilized oil in water emulsion shortening on cookie properties. *Food Research International*, 44, 5, 1476-1481.
- Howe, J.A., & Tanumihardjo, S.A. (2006). Carotenoid-biofortified maize maintains adequate vitamin a status in Mongolian gerbils. *The Journal fo Nutrition*, 136, 2562–2567.
- Lima, H. M., Barcelos, M. F. P., Sousa, R. V., & Morais, A. R. (2002). *Efeitos do consumo de carboidratos simples e complexos associados à atividade física em parâmetros bioquímicos de ratos*. *Ciência e Agrotecnologia* (pp. 1521–1533). (edição especial).
- Maroco, J. (2003). *Análise estatística – com utilização do SPSS*. Lisboa: Ed. Sílabo.
- Micha, R., & Mozaffarian, D. (2008). Trans fatty acids: Effects on cardiometabolic health and implications for policy. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 79 3-5, 147-152
- Moretto, E., & Fett, R. (1989) *Tecnologia de óleos e gorduras vegetais* (pp. 52-70). Rio de Janeiro: Varela, 1989.
- Moretto, E., Fett, R. (1999). *Processamento e análise de biscoitos* (pp. 48-60). São Paulo: Varela.
- Nakajima K., Kobayashi J., Mabuchi H., Nakano T., Tokita Y., Nagamine T., Imamura S., Ai M., Otokozawa S., & Schaefer E.F. (2010). Association of angiopoietin-like protein 3 with hepatic triglyceride lipase and lipoprotein lipase activities in human plasma. *Annals of Clinical Biochemistry*, 47, 5, 423–31.
- Nakajima, k., Takamitsu Nakano; T., Tokita, Y., Nagamine, T., Inazu; A., Kobayashi, J., Mabuchi, M., Stanhope, K.L., Havel, P.J., Okazaki, M., Ai, M., & Tanaka, A.(2011). Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. *Clinica Chimica Acta*, 412, 15-16, 1306-1318.

- Novelli, E.L.B., Diniz Y.S., Galhardi C.M., Ebaid G.M.X., Rodrigues H.G., Mani F., Fernandes A., Cicogna A.C., & Novelli Filho J.L.V.B. (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals*, 41, 111–119.
- Penniston, K.L., & Sherry R.D., Tanumihardjo, A. (2003). Vitamin A in dietary supplements and fortified foods: Too much of a good thing?. *Journal of the American Diet Association*, 103, 1185-1187.
- Pretorius, B., & Schönfeldt, H.C. (2011). Vitamin A content of fortified maize meal and porridge as purchased and consumed in South Africa. *Food Research International* doi: 10.1016/j.foodres.2011.03.033
- Reeves, P.G, Nielsen, F.H., & Fahey, G.C. AIN- 93. (1993). Purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition and the writing committee on the reformulation of the American Institute of Nutrition (AIN) -76^a rodent diet. *The Journal of Nutrition*, 123, 1939-1951.
- Santillán, M.A., Vincenti, L.M., Martini, A.C., de Cuneo, M.F., Ruiz, R.D., Mangeaud, A., & Stutz, G. (2010). Developmental and neurobehavioral effects of perinatal exposure to diets with different u-6:u-3 ratios in mice. *Nutrition*, 26, 423–431.
- Seker, I. T., Ozboy-Ozbas, O., Gokbulut, I., Ozturk, S., & Koksel, H. (2010). Utilization of apricot kernel flour as fat replacer in cookies. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34, 1, 15–26.
- Silva, S.M., Sampaio, K.A., Taham, T., Rocco, S.A., Ceriane, R., & Meirelles, A.J. (2009). Characterization of Oil Extracted from Buriti Fruit (*Mauritia flexuosa*) Grown in the Brazilian Amazon Region. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 86, 611–616
- Siqueira, E.M.A., Arruda, S.F., Vargas, R.M., & Souza, E.M.T. (2007). β -Carotene from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves improves vitamin A status in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 146, 235–240.
- Sirtori, C.R., & Fumagalli, R. (2006). LDL-cholesterol lowering or HDL-cholesterol raising for cardiovascular prevention A lesson from cholesterol turnover studies and others. *Atherosclerosis*, 186, 1–11.
- Škrbic, B., & Cvejanov, J. (2011). The enrichment of wheat cookies with high-oleic sunflower seed and hull-less barley flour: Impact on nutritional composition, content of heavy elements and physical properties. *Food Chemistry*, 124, 1416–1422.
- Stahl, W., Sundquist, A.R., Hanusch, M., Schwarz, W., & Sies, H. (1993). Separation of beta-carotene and lycopene geometrical isomers in biological samples. *Clinical Chemistry*, 39, 5, 810-814.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2008) *Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos*. Brasília: MMA/SBF.
- Tanumihardjo, S.A. (2004). Assessing Vitamin A Status: Past, Present and Future. *The Journal of Nutrition*, 134, 1, 290S-293S.
- Visioli, F., & Hagen, T. M. (2007). Nutritional strategies for healthy cardiovascular aging: Focus on micronutrients. *Pharmaceutical Research*, 55, 199–206.
- Winger, R. J., König, J., & House, D. A. (2008). Technological issues associated with iodine fortification of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 19, 94–101.
- WHO - World Health Organization. (2006). *Guidelines on food fortification with micronutrients*. Geneva:World Health Organization.
- Yuyama, L.K.O, Yonekura, L., Aguiar, J.P.L, & Sousa, R.F.S. (1998). Biodisponibilidade dos carotenóides do Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) em ratos. *Acta Amazonica*, 28, 4, 409-15.

Tabela 1

Dieta AIN – 93G adicionada de biscoito contendo óleo de soja (CS) ou biscoito contendo óleo de buriti (CB)

Ingredientes	Quantidades (g/100g)	CS	CB
		Energia (Kcal)	Energia (Kcal)
Farinha de biscoito adicionado de óleo de buriti ou de soja	50,0	208,72	197,35
Caseína	15,3	52,0	52,0
Sacarose	10,0	40,0	40,0
Amido	15,7	62,8	62,8
Fibra	5,0	-	-
Óleo de soja	1,5	13,5	32,85
Mix minerais	0,9	-	-
Mix vitamínico	1,0	-	-
D-L metionina	0,3	-	-
Bitartarato de colina	0,3	-	-
Total	100,00	377,02	385,00

AIN – 93G (Reeves et al., 1993).

Tabela 2

Consumo de dieta, ganho de peso, coeficientes de conversão alimentar (CCA) e de eficácia alimentar (CEA) de ratos jovens alimentados com dietas adicionadas de biscoito contendo óleo de soja ou óleo de buriti.

Variáveis	CS (n=10)	CB (n = 10)
Mass gain (g)	109.57 ± 9.33 ^a	100.21 ± 8.49 ^b
Diet intake (g)	331.09 ± 25.07 ^a	333.90 ± 20.92 ^a
CCA	3.12 ± 0.10 ^a	3.28 ± 0.09 ^a
CEA	0.33 ± 0.04 ^a	0.30 ± 0.03 ^a

Médias seguidas de letras diferentes entre as colunas indicam diferença significativa com probabilidade de erro $p \leq 5\%$, conforme o Teste 't' de Student. Abreviações: CEA = coeficiente de eficácia alimentar. CCA = coeficiente de conversão alimentar. Grupos: CS = grupo controle com dieta AIN-93G adicionada de biscoito com óleo de soja; CB = grupo experimental com dieta AIN-93G adicionada de biscoito com óleo de buriti.

Tabela 3

Conteúdo e ingestão de vitamina A das dietas adicionadas de biscoito contendo óleo de soja ou óleo de buriti consumidas por ratos jovens.

Variáveis	CS (n=10)	CB (n = 10)
β carotene mix vitaminas (UI/Kg)	4000	4000
β carotene no biscoito (UI / Kg)	2100 ± 20.00 ^b	5280 ± 23.00 ^a
β caroteno total da dieta (μg / Kg)	10980 ± 21.06 ^b	16704 ± 21.12 ^a
β carotene intake (μg)	3635.37 ± 25.07 ^b	5577.47 ± 20.92 ^a

Médias seguidas de letras diferentes entre as colunas indicam diferença significativa com probabilidade de erro $p \leq 5\%$, conforme o Teste 't' de Student. Abreviações: Grupos: CS = grupo controle com dieta AIN-93G adicionada de biscoito com óleo de soja; CB = grupo experimental com dieta AIN-93G adicionada de biscoito com óleo de buriti.

Tabela 4

Parâmetros murinométricos de ratos *jovens* alimentados com dietas adicionadas de biscoito contendo óleo de soja ou óleo de buriti.

Dados murinométricos	CS (n=10)	CB (n = 10)
TC (cm)	11.55 ± 0,80 ^a	11.22 ± 0,42 ^b
AC (cm)	12.65 ± 0.67 ^a	12.45 ± 0.69 ^a
AC/TC	1.1 ± 0.72 ^a	1.11 ± 0.57 ^a
BL (cm)	20.1 ± 0.99 ^a	19.85 ± 0,58 ^a
BW (g)	189.29 ± 25.61 ^a	174.36 ± 15.30 ^a
BMI (g cm ⁻²)	0.50 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.14 ^a
Índice de Lee	0.28 ± 0.01 ^a	0.28 ± 0.01 ^a

Médias seguidas de letras diferentes entre as colunas indicam diferença significativa com probabilidade de erro $p \leq 5\%$, conforme o Teste 't' de Student. Abreviações: TC= circunferência torácica; AC= circunferência abdominal; BL= comprimento corporal; BW = peso corporal; BMI =índice de massa corporal. Grupos: CS = grupo controle com dieta AIN-93G adicionada de biscoito com óleo de soja; CB = grupo experimental com dieta AIN-93G adicionada de biscoito com óleo de buriti.

Tabela 5

Parâmetros bioquímicos de ratos *jovens* alimentados com dietas adicionadas de biscoito contendo óleo de soja ou óleo de buriti.

Dados Bioquímicos	CS (n=10)	CB (n = 10)
TC (mg)	61.62 ± 11.19 ^a	57.67 ± 16.88 ^a
HDL - C (mg/dL)	14.96 ± 2.57 ^a	14.86 ± 2.16 ^a
TC /HDL- C (mg/dL)	4.02 ± 0.43 ^a	4.02 ± 0.30 ^a
VLDL (mg/dL)	10.35 ± 1.75 ^a	11.52 ± 2.34 ^a
LDL -C (mg/dL)	41.79 ± 12.97 ^a	36.13 ± 6.36 ^a
TAG (mg/dL)	54.00 ± 7.79 ^a	51.78 ± 2.54 ^a
Glicemia (mg/dL)	90.00 ± 7.34 ^a	90.67 ± 9.19 ^a
Plasma Retinol (µg/dL)	28.83 ± 2.89 ^b	54.72 ± 7.78 ^a
Hepatic Retinol Level (µg/g)	221.50 ± 44.48 ^b	1277.33 ± 36.55 ^a

Médias seguidas de letras diferentes entre colunas indicam diferença significativa com probabilidade de erro $p \leq 5\%$, conforme o Teste 't' de Student. Abreviações: triacylglycerol (TAG); Colesterol sérico total (TC); lipoproteínas de alta densidade (HDL-C); lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C); lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) Grupos: CS = grupo controle com dieta AIN-93G adicionada de biscoito com óleo de soja; CB = grupo experimental com dieta AIN-93G adicionada de biscoito com óleo de buriti.

Viabilidade do processamento de biscoito doce adicionado de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.)

Jailane de Souza AQUINO, Débora Catarine Nepomuceno de Pontes PESSOA, Ricardo Targino MOREIRA, Maíra Felinto LOPES, João Paulo de Sousa PRADO, Tânia Lúcia Montenegro STAMFORD

RESUMO

Diante da popularidade do consumo de biscoitos e das propriedades físico-químicas e nutricionais do buriti, objetivou-se desenvolver biscoito doce adicionado de óleo de buriti analisando suas características físico-químicas e microbiológicas e sua aceitação sensorial. Foram formulados três tipos de biscoito: 15% de óleo de soja / sem adição de óleo de buriti – formulação controle (F1), 7,5% de óleo de buriti / sem adição de óleo de soja (F2) e 15% de óleo de buriti / sem adição de óleo de soja (F3). Para todas as formulações determinou-se a composição centesimal, pH, acidez e ácidos graxos além das seguintes análises microbiológicas: *Salmonella* sp., coliformes e *Staphylococcus coagulase positiva*. Em seguida, foi realizada a análise sensorial das formulações por 72 provadores, avaliando-se: aroma, sabor, textura, aparência e aceitação global além da intenção de compra e do teste de preferência por ordenação. Comparando-se a formulação F3 com o controle, observou-se maior pH, acidez e maior percentual de umidade, cinzas e proteínas e menor percentual de lipídios. Todas as formulações apresentaram qualidade microbiológica satisfatória. Os ácidos graxos monoinsaturados estão presentes em maior percentual, nos biscoitos contendo óleo de buriti, predominando o oléico em ambos. A amostra F1 apresentou melhor textura e sabor. Não houve diferença estatística entre as amostras para os atributos de aroma e aparência. As formulações F1 e F3 obtiveram maior aceitação global, preferência e intenção de compra. Os biscoitos elaborados com óleo de buriti apresentaram boa aceitação e com possibilidade de comercialização, além de apresentar qualidade nutricional e microbiológica desejáveis.

PALAVRAS CHAVE: análise microbiológica, composição centesimal, índice de aceitabilidade, preferência sensorial.

ABSTRACT

Considering the great popularity of cookies consumption and the physical-chemical and nutritional characteristics of buriti, we aimed to develop a sweet cookie in which buriti oil was added and test its physical and chemical and microbiological characteristics and its acceptance. Three types of cookies were made: 15% soy oil without buriti oil addition, control formulation (F1), 7,5 % of buriti oil without soy oil (F2) and 15% of buriti oil, 5% buriti oil without soy oil addition (F3). For all the formulations the centesimal composition was determined, pH acidity and fatty acids besides the following microbiological analysis: *Salmonella* sp., coliforms and *Staphylococcus coagulase positiva*. Then a sensorial analysis of the formulations was made by 72 experimenters where it was evaluated: the smell, taste, texture, appearance and its global acceptance, and still buying intentions and preferences ordination. Comparing the formulation F3 with the control one, we noticed a higher pH, acidity and higher humidity percentage, ashes and proteins and lower percentage of lipids. All formulations presented satisfying microbiological quality. The monounsaturated fatty acids are present in higher percentage, in the cookies containing buriti oil, predominating the oleic in both. The sample F1 presented better texture and taste. There was no statistical difference between the samples for the smell and appearance tributes. The formulations 1 and F3 obtained the higher global acceptance, preference and buying intentions. The cookies prepared with buriti oil presented a good acceptance and good possibility of commercialization, besides presenting great nutritional and biological qualities.

KEY WORDS: microbiological analysis, centesimal composition, rate of acceptability, sensorial preference.

INTRODUÇÃO

O biscoito, também chamado de bolacha, é o produto obtido pelo amassamento e cozimento conveniente de massas preparadas com farinhas, amidos e féculas, fermentadas ou não (Brasil, 2005a; Acorsi *et al.*, 2009). Existem vários tipos de classificação de biscoitos: baseados na textura, no ingrediente que o caracteriza, na modificação do formato no assamento, na extensibilidade da massa, ou nos vários modos como a massa é manuseada antes da formação do biscoito (Souza *et al.*, 2001), como exemplos, os biscoitos salgados, doces, recheados, revestidos, “waffle” e etc.

O biscoito é um produto consumido e aceito por todas as idades e sua longa vida de prateleira permite que sejam produzidos em grande quantidade e largamente distribuídos (El-Dashi e Germani 1994; Gandhi *et al.* 2001). De acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Massas Alimentícias – ABIMA, o consumo *per capita* de biscoitos no Brasil é de 6,0 kg/hab/ano enquanto que a média mundial é de 7,5 kg/hab/ano. Segundo o Programa de Apoio a Panificação – PROPAN (2010) houve um crescimento de 2,5% no volume de biscoitos produzidos em 2009 em relação ao ano de 2008.

A gordura utilizada em biscoitos pode ser de origem animal ou vegetal, na forma sólida ou líquida, conforme o produto a ser obtido. Tem a finalidade de reduzir o tempo de mistura, pois envolve os grânulos de açúcar e as partículas de trigo, controla o desenvolvimento do glúten, tornando o produto final mais macio. Outras funções da gordura são a aeração e o melhoramento da expansão dos biscoitos (El-Dashi e Germani, 1994). Embora o óleo mais consumido no Brasil seja o óleo de soja, a demanda de óleos vegetais com composição especial vem aumentando (Turatti, 2000). Dentre estes, pode ser citado o óleo de buriti que se apresenta com 800 ppm de tocoferóis, entre 73 e 78% de ácido oléico, 2 a 3,9% de ácido linoléico e 2,2% de ácido linolênico (Albuquerque *et al.*, 2005), 1.181 µg de

beta-caroteno (Chemunion, 2002), podendo este óleo ser incorporado em receitas de biscoitos.

A análise sensorial é reconhecidamente um importante instrumento para a determinação da aceitabilidade de um produto alimentício, podendo prever a viabilidade da adequação tecnológica utilizada na elaboração do mesmo. Suas aplicações para a indústria de alimentos são várias, destacando-se o desenvolvimento e o melhoramento de produtos, o controle de qualidade, a estabilidade no armazenamento, a seleção de novas matérias primas, entre outras.

Diante da popularidade do consumo de biscoitos e das propriedades físico-químicas e nutricionais do buriti, o objetivo do presente estudo foi desenvolver biscoito doce utilizando o óleo de buriti analisando sua aceitação sensorial e suas características físico-químicas e microbiológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram adquiridos três litros de óleo de buriti bruto no comércio da cidade de Picos – PI, que foram transportados em recipiente tipo “pet” a ± 26 °C até a Universidade Federal da Paraíba – UFPB, onde uma amostra de dois litros foi refinada de acordo com metodologia recomendada por Moretto e Fett (1989). Para a fabricação dos biscoitos foram utilizados o óleo de buriti refinado e o óleo de soja refinado comercial, a partir das formulações descritas na Tabela 1, adaptadas da metodologia proposta por Moretto e Fett (1999). A formulação F1 contém 15% de óleo de soja e não contém óleo de buriti, sendo esta a formulação controle. As formulações F2 e F3 contêm respectivamente, 7,5% e 15% de óleo de buriti e não contêm óleo de soja. Na Figura 1 tem-se o fluxograma com as etapas da produção das três formulações de biscoito.

Tabela 1

Figura 1

Inicialmente misturou-se o óleo, açúcar, xarope, água e lecitina, formando um creme. Posteriormente, adicionou-se ao creme, farinha de trigo e os agentes químicos dissolvidos em água, misturando-se durante 3 a 5 minutos. Os biscoitos foram formados por rolo moldador e o cozimento ocorreu em temperatura de 210 ° C por 15 minutos. Estes, então, foram resfriados à temperatura ambiente de 25 ± 3 ° C, acondicionados em embalagens metalizadas com revestimento de polietileno, resistentes a troca gasosa e vapor d'água.

Análises físico-químicas

As determinações de umidade, resíduo mineral fixo, proteínas e carboidratos totais foram realizadas de acordo com as normas da Association Official Analytical Chemistry - AOAC (2002). As determinações de lipídios totais, pH e acidez titulável foram realizadas conforme recomendação do Instituto Adolfo Lutz (Brasil 2005b), o valor energético total foi calculado seguindo recomendação da RDC n.94 (Brasil, 2000).

Determinação de ácidos graxos

Inicialmente obteve-se o extrato lipídico pelo método de Folch *et al.* (1957). A partir do extrato, foram obtidos os ésteres metílicos mediante esterificação realizada de acordo com a metodologia de Hartman e Lago (1973). A identificação e quantificação dos ésteres metílicos foram realizadas em cromatógrafo a gás de marca Ciola & Gregori Ltda (modelo CG-Master), com um detector de ionização por chama. As condições cromatográficas foram: coluna de polietilenoglicol (Carbowax 20M), de sílica fundida, com 30 m de comprimento, 0,53 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura da película de fase estacionária. As

temperaturas utilizadas foram respectivamente para o vaporizador e detector 150 e 200 °C. A programação do forno consistiu da seguinte seqüência de trabalho: 80 °C por 3 minutos, aumentando-se 10 °C/min até 120 °C, permanecendo em 200 °C durante 6 minutos, posteriormente, decaindo 3 °C /min até 180 ° C. A fase móvel foi hidrogênio, com uma vazão de 5 mL /min. O volume injetado foi de 1 µl, com uma razão de divisão de 1:25. A caracterização dos ácidos graxos foi realizada por comparação do espectro de massas obtido com aquele de padrões que também foram injetados no CG-MS.

Análise microbiológica

Previamente a análise de aceitação sensorial, foi realizada a avaliação microbiológica do biscoito, baseada na RDC nº 12 de janeiro de 2001 a qual recomenda que as análises para biscoitos sem recheios incluam a determinação de *Salmonella sp.*, *Staphylococcus coagulase positiva* e coliformes totais. As análises foram realizadas segundo a metodologia descrita por Vandezant e Splittstoesser (1992).

Avaliação sensorial

Os testes foram realizados em cabines individuais do Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos da UFPB. A equipe foi composta por professores, alunos e funcionários da Universidade acima mencionada. Participaram do teste 72 apreciadores do produto, recrutados por meio de questionário de avaliação quanto à afetividade, com base na disponibilidade e interesse de participar do teste sensorial. O questionário para o recrutamento conteve perguntas fechadas referentes aos hábitos e periodicidade de consumo de biscoitos, o que permitiu a realização de uma triagem dos consumidores.

O estudo não levou em consideração o consumo de buriti nem de seus subprodutos, apenas se os potenciais consumidores conheciam ou não o fruto. Este fato foi intencional na pesquisa, uma vez que o mesmo não é nativo da região, sendo desejado apresentar aos provadores não acostumados ao consumo deste alimento, uma fonte lipídica alternativa ao óleo de soja já habitualmente consumida. Em todas as avaliações, as amostras foram servidas na temperatura usual de consumo (temperatura ambiente de 25 ± 3 °C), em pratos plásticos devidamente codificados com números de três dígitos aleatórios, acompanhados de um copo com água mineral.

Realizou-se o teste de aceitação global, quanto aos atributos de aparência, aroma, textura e sabor por meio de escala hedônica de nove pontos (1 = desgostei extremamente, 9 = gostei extremamente), além disso, foram avaliadas a intenção de compra e a preferência por ordenação entre as amostras de acordo com a metodologia preconizada por Meilgaard *et al.* (1988), utilizando-se ficha sensorial (Figura 2).

Figura 2

Calculou-se o índice de aceitabilidade (IA), onde a nota máxima (9) correspondeu a 100% de aceitabilidade, e a média definiu o índice de aceitabilidade (Ishimoto *et al.* 2007).

Por se tratar de uma pesquisa envolvendo seres humanos, o teste foi realizado com prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da UFPB, sob o número CEP/HULW n° 146/09.

Análise estatística

Os resultados da pesquisa foram submetidos a testes estatísticos utilizando-se o SPSS - Statistical Package for the Social Science versão 11.0 (SPSS 2001). Aos resultados da análise foram aplicados análise de variância – ANOVA e teste de Tukey para múltiplas comparações.

RESULTADOS e DISCUSSÃO

Análises físico-químicas

Observa-se na Tabela 2 que o percentual de umidade é maior em F2 do que nas demais formulações, tendo em vista a utilização do dobro de água para compensar a diminuição do óleo pela metade na referida formulação (Tabela 1). Apesar disto, o percentual de umidade em todas as formulações está abaixo da média do apresentado por biscoitos comerciais de maisena, recheados, *wafers*, salgados e *cookies* que possuem umidade de 1 a 8,43% em 100 g de biscoito (NEPA 2006).

Na formulação F1 em que há adição de 15% de óleo de soja, foi observado um maior percentual de lipídios, assim como um maior valor calórico. Este fato pode ser explicado devido ao óleo de buriti ser extraído por cozimento do fruto e conseqüente mistura de água na composição do óleo. O mesmo não acontece com o óleo de soja que é extraído por prensagem e refinado nas indústrias em larga escala. Em análise de rótulos de biscoitos tipo *cookie* comerciais, o teor de lipídios varia de 15 a 25 g/100 g. Todas as formulações estão com a quantidade de calorias abaixo da média de calorias de biscoitos tipo *cookie* comerciais que é de 450 Kcal (Peres 2010)

Tabela 2

O maior percentual de cinzas e proteínas foi encontrado na formulação do biscoito F3, o que também é justificável devido a um maior percentual de umidade no óleo de buriti, uma vez que nas matrizes alimentares tanto os minerais como as proteínas se encontram ligados à água (Bobbio e Bobbio 1992). Além disso, de acordo com a resolução RDC n° 269 (Brasil 2005a), o consumo de 100 g do biscoito adicionado de 15% de óleo de buriti (F3) supri 16,86% da IDR de proteína para adultos. Desta forma, o produto pode ser considerado fonte de proteínas para adultos, uma vez que 100 g deste biscoito suprem mais que 15% da IDR (Brasil, 1998). Não foram encontrados na literatura padrões para acidez e pH de biscoitos.

Análise de ácidos graxos

Os biscoitos contendo óleo de buriti apresentaram maior proporção de ácidos graxos monoinsaturados e menor percentual de ácidos graxos saturados que os biscoitos contendo óleo de soja ($p < 0,05$) (Tabela 3), corroborando com as proporções de ácidos graxos encontrados nos respectivos óleos. Segundo Durães *et al.* (2008) e Albuquerque *et al.* (2005), o óleo de buriti apresenta alta proporção de ácido oléico (73,3-78,7%).

Tabela 3

O ácido oléico é um ácido graxo monoinsaturado, considerado fundamental pelas propriedades benéficas na redução da oxidação do LDL-colesterol, a forma aterogênica (Visioli e Galli, 2000). É importante salientar que um dos óleos mais usados na dieta humana e com grande apelo como alimento saudável é o azeite de oliva, que contém em sua fração lipídica 72,50% de ácido oléico. O óleo de buriti, apesar de apresentar níveis mais elevados desse ácido (73,32%), até o presente momento não foi incorporado na dieta habitual, talvez por falta de incentivo a produção em escala industrial ou carência de pesquisas sobre o assunto.

Análise microbiológica

Os resultados do controle microbiológico dos biscoitos apresentou ausência de *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella sp.* em 25g e coliformes a 45 °C/g < 10 UFC/g, estando todas as amostras dentro do preconizado pela RDC nº 12/01/2001 onde o máximo permitido para coliformes 45 °C/g é 10 UFC/g e para *Staphylococcus coagulase positiva* é 5×10^2 UFC/g e ausência de *Salmonella sp.* A partir dos resultados obtidos, percebe-se que houve um monitoramento de todas as etapas, desde a extração artesanal e refino do óleo de buriti até a elaboração dos biscoitos, sendo todas estas etapas realizadas de

acordo com as Boas Práticas de Fabricação. A sanidade microbiológica do biscoito mostra o correto método no seu preparo e a manutenção do controle de qualidade tanto da matéria prima que é o óleo de buriti como do produto final, o biscoito.

Avaliação sensorial

Dos 72 provadores, 54,2% eram do gênero feminino e 45,8% do gênero masculino, 86,1% eram alunos de graduação ou pós-graduação e 51,4% estão na faixa etária de 20 a 25 anos.

Os atributos avaliados no presente estudo (Tabela 4) apresentaram notas sensoriais que variaram entre gostei moderadamente a gostei muito. O índice de aceitabilidade (IA) quando acima de 70% é considerado de repercussão satisfatória no mercado consumidor (Chaves e Sproesser 2005; Dutcosky 1996).

A amostra controle (F1), foi a que apresentou as maiores médias para todos os atributos avaliados como também a que apresentou a maior média para aceitação global. O biscoito F3 com 15% de óleo de buriti apresentou melhores notas sensoriais que o biscoito F2 com 7,5% de óleo de buriti para o atributo textura apresentando também maior aceitação global que o mesmo, demonstrando com isso que a gordura é realmente um fator preponderante na maciez do produto.

Tabela 4

Os atributos aparência e aroma não diferiram estatisticamente entre as amostras, o que demonstra que a textura e o sabor foram os atributos que mais contribuíram para a aceitação global do biscoito. Em estudo realizado por Peres (2010) com biscoitos adicionados de diferentes percentuais de óleo de canola, os que obtiveram as maiores notas sensoriais foram aqueles com maior percentual deste óleo. A formulação de biscoito com maior teor de lipídios foi a de melhor aceitação, considerada também a de melhor crocância e sabor pelos provadores, o que corrobora com os resultados obtidos no presente estudo.

Segundo Vitti (1992) a água é considerada material estruturante e a gordura, um material de amaciamento, logo os diferentes percentuais destes ingredientes interferem diretamente nas notas sensoriais atribuídas a cada formulação.

Os provadores se mostraram indecisos quanto à intenção de compra de todas as formulações de biscoitos (Tabela 5), porém este resultado corrobora com a aceitação global dos produtos, onde a formulação F2 apresentou a menor aceitação global como também a menor intenção de compra. A formulação de biscoito controle (F1) é a de maior teor de lipídeos conforme o apresentado em sua composição centesimal sabe-se que os produtos se tornam crocantes e mais agradáveis em sua textura ao serem mordidos quando adicionados de maior quantidade de gordura.

Tabela 5

Segundo Shukla (1995), ingredientes como gordura e açúcar conferem aos produtos de panificação importantes características de textura, maciez, sabor e conservação. Philippi (2006) aponta os alimentos com alto percentual de gordura como os mais preferidos pelos consumidores por proporcionarem uma palatabilidade mais agradável.

O óleo de soja é considerado um alimento essencial na dieta da população brasileira e ainda que, o consumo de óleo de buriti seja comum em vários estados brasileiros, o óleo de soja é preferido para uso em produtos devido ao seu sabor neutro e sua tradição de uso.

As características sensoriais bastante neutras da formulação utilizada como controle, de certa forma, agradam mais os provadores que os biscoitos não usualmente consumidos, entretanto, esses últimos, alcançaram níveis de aceitação bastante satisfatórios e competitivos. O biscoito F3 pode ser comercialmente viável sendo o mais indicado para a elaboração de biscoitos, devido ao maior percentual de proteínas, minerais e uma composição adequada de ácidos graxos, sendo este rico em ácido oléico.

Em estudos com derivados dos frutos do cerrado tais como biscoitos adicionados de farinha de casca de baru (Soares Junior *et al.* 2007), farinha de casca de pequi (Soares Junior *et al.* 2009) e farinha de bocaiúva (Kopper *et al.* 2009) e sequilhos adicionados de azeite de dendê (Rodrigues 2009), apresentaram como resultados notas sensoriais entre 5 = “Indiferente” e 7 = “gostei moderadamente”.

Diante dos referidos resultados, observou-se a dificuldade em introduzir produtos contendo ingredientes pouco comuns ou não usuais na alimentação cotidiana, como o caso do biscoito contendo óleo de buriti que apesar disto, apresentou desempenho com notas sensoriais entre 7 = “gostei moderadamente” e 8 = “gostei muito” para os atributos aparência, aroma, textura e sabor, sendo estas notas superiores às obtidas nos estudos supracitados. Vale salientar que este estudo foi realizado com provadores que em sua maioria não costumavam consumir o fruto do buriti e nem seus derivados, constituindo um ponto positivo para a comercialização e consumo do biscoito adicionado de óleo de buriti.

Observa-se na figura 3 que em relação à preferência, a amostra controle (F1) foi a mais preferida seguida da amostra contendo 15% de óleo de buriti (F3) e 7,5% de óleo de buriti (F2).

Figura 3

De uma maneira geral, as pessoas sempre aceitarão melhor os alimentos preparados a partir de ingredientes tradicionalmente estabelecidos e próximos aos seus hábitos alimentares, uma vez que, estes hábitos e até mesmo o comportamento alimentar individual são resultados do relacionamento sinérgico entre os fatores ambientais, biológicos, ecológicos e socioculturais (Parraga 1990).

CONCLUSÃO

A adição de óleo de buriti no biscoito doce não interferiu, de forma marcante na sua aceitação. Os biscoitos foram bem aceitos pelos provadores, pois atingiram um índice de aceitabilidade satisfatório para todos os atributos avaliados, indicando que é um produto com possibilidade de comercialização, além de apresentar qualidade nutricional e microbiológica desejáveis, o que demonstra a viabilidade de sua produção.

REFERÊNCIAS

- ABIMA. Associação Brasileira da Indústria de Massas Alimentícias. 2003. Disponível em <http://www.lafis.com.br/lafis/portugues/Demos/DemosMassas.pdf>. Acesso em: 29/10/2007.
- Acorsi, D.M.; Bezerra, J.R.M.V.; Barão, M.Z.; Rigo, M. 2009. Viabilidade do processamento de biscoitos com farinha de pinhão. *Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais*, 5(2): 207-212.
- Albuquerque, M.L.S; Guedes, I.; Alcantara Junior, P.; Moreira, S.G.C; Barbosa Neto, N.M.; Correa, D.S. Zilio, S.C. 2005. Characterization of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) Oil by Absorption and Emission Spectroscopies. *Journal Brazilian Chemical Society*, 16 (6A): 1113-1117.
- A.O.A.C. Association Official Analytical Chemistis. 2002. *Official methods of analysis of the Association Chemistis*, 17 ed. Washington, 1115p.

- Bobbio, P. A.; Bobbio, F. O. 1992. *Química do processamento de alimentos*. 2. ed. Ed. Varela, São Paulo. 151p.
- Brasil. 1998. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Portaria n. 31 de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes). *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 16 jan. 1998.
- Brasil. 2000. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 94 de 01 de novembro de 2000. Regulamento Técnico para Rotulagem Nutricional Obrigatória de Alimentos e Bebidas Embalados. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 03 nov. 2000.
- Brasil. 2001. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 02 jan. 2001.
- Brasil. 2005a. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 269 de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 23 set. 2005.
- Brasil. 2005b. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4. ed., Ministério da Saúde, Brasília, 1018 pp.
- Chemunion - Catálogo Técnico “Chemeforest”. 2002. *Ativos Tropicais com Eficiência Comprovada*. Chemunion Química Ltda, Sorocaba, 21pp.
- Chaves, J. B. P.; Sproesser, R. L. 2005. *Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas*. 3. ed. Viçosa, UFV, 91 pp.
- El Dash, A.; Germani, R. 1994. *Tecnologia de frainhas mistas na produção de biscoitos*. Brasília: Embrapa, v.6, 47 pp.
- Dutcosky, S.D. 1996. *Análise sensorial de alimentos*. Curitiba, Champagnat, 123 pp.

- Durães, J. A.; Drummond, A.L.; Pimentel, T. A. P. F.; Murta, M. M.; Moreira, S. G. C. ; Sales, M.J.A. 2008. Thermal and structural behavior of buriti oil/ poly(methyl methacrylate) and buriti oil/polystyrene materials. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 92 (2): 529–534
- Folch, J.; Less, M.; Stanley, S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological. Chemistry*, 226(1): 497-509.
- Gandhi, A.P.; Kotawaliwale, N.; Kawalkar, J.; Srivastava, D.C.; Parihar, V.S.; Raghu Nadh, P. 2001. Effect of incorporation of defatted soy flour on the quality of sweet biscuits. *Journal of Food Science and Technology*, 38 (1), 502-503.
- Hartman, L.; Lago, R.C.A. 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*. 22(8): 47.
- Ishimoto, F.Y.; Harada, A.I.; Branco, I.G.; Conceição, W.A.S.; Coutinho, M.R. 2007. *Revista Ciências Exatas e Naturais*, 9 (2): 279-292
- Kopper, A.C.; Saravia, A.P.K.; Ribani, R.H.; Lorenzi, G.M.AC. 2009. Utilização tecnológica da farinha de bociuiva na elaboração de biscoitos tipo *cookie*. *Alimentos e Nutrição*, 20(3): 463-469.
- Meilgaard, M.; Civille, G.V.; Carr, B.T. 1988. Consumer test and in-house panel acceptance tests. p. 119-141. In: Meilgaard, M.; Civille, G.V.; Carr, B.T. (Eds.). *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press Inc, Florida.
- Moretto, E.; Fett, R.. 1989. *Tecnologia de óleos e gorduras vegetais*. Varela, Rio de Janeiro. 150pp.
- Moretto, E.; Fett, R. 1999. *Processamento e análise de biscoitos*. Varela, São Paulo. 97 pp.
- NEPA. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), 2ed., v.2, Campinas: NEPA– UNICAMP. 2006. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>. Acesso em: 01/07/ 2010.

- Parraga, I. M. 1990. Determinants of food consumption. *Journal of American Dietetic Association*, 90(5): 661-663.
- Peres, A.P. 2010. Desenvolvimento de um biscoito tipo *cookie* enriquecido com cálcio e vitamina D. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 79pp.
- Philippi, S. T. 2006. *Nutrição e Técnica Dietética*. Barueri, Manole, 228pp.
- PROPRAN. 2010. Programa de Apoio a Panificação. Perfil da Panificação. Disponível em <http://www.propan.com.br/perfilpanificacao.asp>. Acesso em: 16/07/2010.
- Rodrigues, P.H.C. 2009. *A inclusão de azeite de dendê em alimentos no controle da hipovitaminose A*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo/Faculdade de Nutrição em Saúde Pública. 93pp.
- Shukla, T.P. 1995. Problems in fat-free and sugarless baking. *Cereal Foods World*, 40(3):159-160.
- Soares Júnior, M.S.; Caliari, M.; Torres, M.C.L.; Vera, R.; Teixeira, J.S.; Alves, L.C. 2007. Qualidade de biscoitos formulados com diferentes teores de farinha de amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vog.). *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 37(1): 51-56.
- Soares Júnior, M.S.; Reis, R.C.; Bassinelo, P.Z; Lacerda, D.B.C.; Koakuzu, S.N.; Caliari, M. 2009. Qualidade de biscoitos formulados com diferentes teores de farinha de casca de pequi. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 39(2): 98-104.
- Souza, M.L.; Rodrigues, R.S., Furquim, M.F.G.; El-Dashi, A.A. 2001. Processamento de cookies de castanha-do-Brasil. *Boletim do CEPPA*, 19 (2): 381-390.
- SPSS- Statistical package for the social science. 2001. NC. 11.0 for Windows [Computer program]; LEAD Technologies SPSS Inc., 2001.
- Turatti, J.M. 2000. Óleos vegetais como fonte de alimentos funcionais. *Óleos & Grãos*, 56: 20-27.

Vanderzant, C.; Splittstoesser, D.F. 1992. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3ª ed. American Public Health Association (APHA), Washington. 1219 pp.

Visioli F.; Galli C. 2000. Olive oil: more than just oleic acid. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72:853-856.

Vitti, P. 1992. *Avaliação tecnológica dos produtos elaborados com farinha de trigo: pão, macarrão, biscoito*. ITAL, Campinas. 42 pp.

Tabela 1 - Formulações* dos três tipos de biscoito.

Ingredientes/ Formulações	F1	F2	F3
Farinha de trigo	100	100	100
Óleo de buriti	---	7,5	15
Óleo de soja	15	---	---
Lecitina	3,0	1,5	3,0
Açúcar	30	30	30
Xarope de milho	7,5	7,5	7,5
Sal	0,75	0,75	0,75
Bicarbonato de amônia	0,5	0,5	0,5
Bicarbonato de sódio	1,0	1,0	1,0
Água	12,5	25	12,5

* Quantidades em porcentagem com base no total da farinha de trigo

Tabela 2 – Características físico-químicas de biscoitos adicionados de óleo de buriti ou de óleo de soja.

Variáveis	Amostras*		
	F1	F2	F3
Umidade (%)	4,23 ^c ±0,03	6,80 ^a ±0,10	4,48 ^b ±0,03
Proteínas (%)	8,02 ^b ±0,02	8,02 ^b ±0,01	8,43 ^a ±0,05
Lipídios (%)	11,03 ^a ±0,01	4,13 ^c ±0,02	6,75 ^b ±0,05
Carboidratos (%)	71,48 ^c ±0,06	75,87 ^a ±0,08	75,09 ^b ±0,11
Cinzas (%)	5,24 ^{ab} ±0,02	5,18 ^b ±0,02	5,26 ^a ±0,05
Valor calórico (Kcal)	417,27 ^a ±0,16	373,06 ^c ±0,42	394,80 ^b ±0,10
pH	7,69 ^{ab} ±0,01	7,43 ^b ±0,02	7,72 ^a ±0,01
Acidez	1,8 ^{ab} ±0,2	1,6 ^b ±0,2	1,9 ^a ±0,1

*Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa á nível de 5% pelo teste de Tukey.

Tabela 3 – Principais ácidos graxos presentes nos biscoitos adicionados de óleo de buriti ou de óleo de soja.

Ácidos graxos*	Amostras		
	F1	F2	F3
Ácido mirístico - C 14:0	6,0	5,8	4,9
Ácido margárico - C 17:0	0	2,6	0,9
Ácido esteárico - C18:0	2,8	2,3	1,9
Total saturados – SFA (%)	8,8 ^b	10,7 ^a	7,7 ^c
Ácido palmitoléico - C16:1	13,6	27,0	20,7
Ácido oléico - C18:1	25,7	56,6	63,0
Total monoinsaturados – MUFA (%)	39,3 ^b	83,6 ^a	83,7 ^a
Ácido linoléico - C 18:2	44,8	5,5	7,7
Ácido linolênico - C 18:3	7,1	0,2	0,9
Total polinsaturados – PUFA (%)	51,9 ^a	5,7 ^c	8,6 ^b

*Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa á nível de 5% pelo teste de Tukey.

Tabela 4 – Teste de aceitação de biscoitos adicionados de óleo de buriti ou de óleo de soja.

Atributos*	Amostras		
	F1	F2	F3
Aparência	8,0 ^{a**}	8,0 ^a	7,7 ^a
Aroma	7,6 ^a	7,4 ^a	7,3 ^a
Textura	8,9 ^a	7,3 ^b	8,6 ^{ab}
Sabor	8,9 ^a	7,4 ^b	7,6 ^b
Aceitação global	8,9 ^a	7,3 ^b	7,4 ^{ab}

*Médias obtidas de 72 repetições; escala hedônica de 9 pontos desde 9= gostei extremamente a 1 = desgostei extremamente;

**Médias com letras iguais entre tratamentos não diferem significativamente ($P \geq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 5 – Média das notas de intenção de compra para os biscoitos adicionados de óleo de buriti e de óleo de soja.

Amostra*	Média das notas de intenção de compra
F1	3,90 ^a ±0,99
F2	3,4 ^b ±0,97
F3	3,6 ^{ab} ±1,02

*Médias obtidas de 72 repetições; escala hedônica de 9 pontos desde 9= gostei extremamente a 1 = desgostei extremamente;

**Médias com letras iguais entre tratamentos não diferem significativamente ($P \geq 0,05$) pelo teste de Tukey.

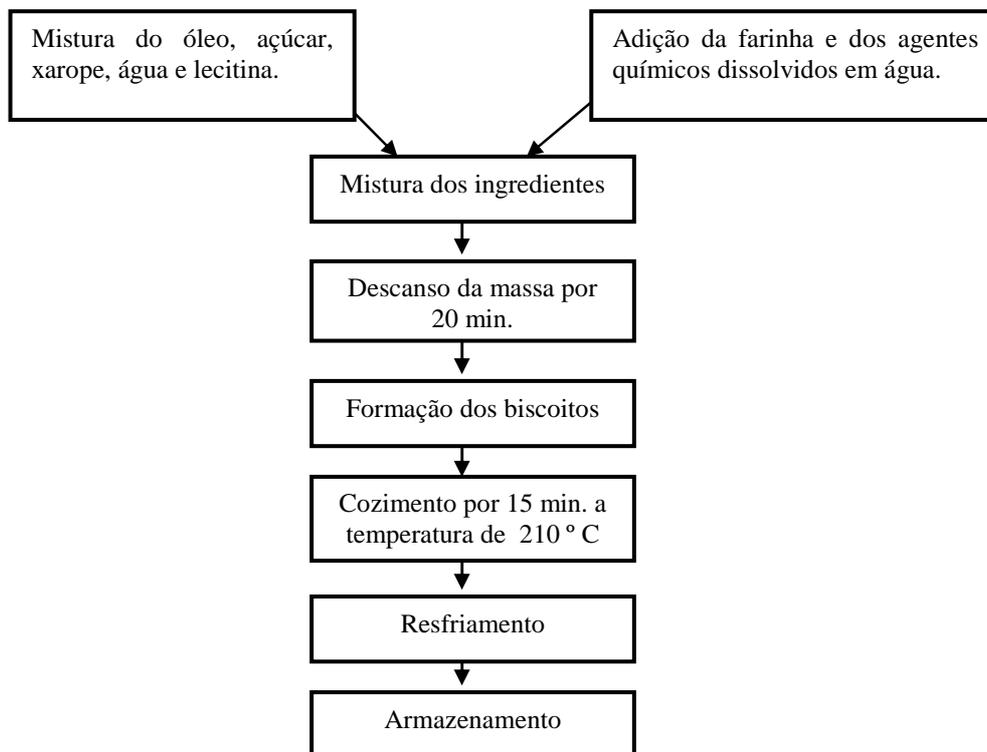


Figura 1 – Fluxograma de elaboração das formulações de biscoitos.

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE BISCOITOS ADICIONADOS DE ÓLEO DE BURITI

Teste Sensorial

Nome: _____ Data: ___/___/___

- | | | |
|---|------------------------------------|---|
| Faixa etária: | Sexo: | Ocupação: |
| <input type="checkbox"/> menos de 20 anos | <input type="checkbox"/> masculino | <input type="checkbox"/> aluno de Pós-graduação |
| <input type="checkbox"/> de 20 a 25 anos | <input type="checkbox"/> feminino | <input type="checkbox"/> aluno de graduação |
| <input type="checkbox"/> de 26 a 30 anos | | <input type="checkbox"/> professor |
| <input type="checkbox"/> de 31 a 40 anos | | <input type="checkbox"/> funcionário |
| <input type="checkbox"/> mais de 40 anos | | |

Você está recebendo amostras biscoitos. Por favor, **anote o número da amostra, prove e avalie** utilizando a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou do produto

	Amostra nº _____	Amostra nº _____	Amostra nº _____
1. Desgostei extremamente	Aparência _____	Aparência _____	Aparência _____
2. Desgostei muito	Aroma _____	Aroma _____	Aroma _____
3. Desgostei moderadamente	Textura _____	Textura _____	Textura _____
4. Desgostei ligeiramente	Sabor _____	Sabor _____	Sabor _____
5. Indiferente	Aceitação Global _____	Aceitação Global _____	Aceitação Global _____
6. Gostei ligeiramente			
7. Gostei moderadamente			
8. Gostei muito			
9. Gostei extremamente			

Após ter avaliado o biscoito, indique na escala abaixo o grau de certeza no qual você estaria disposto a comprar este biscoito, se o encontrasse à venda:

- | | | |
|---|---|---|
| Amostra nº _____ | Amostra nº _____ | Amostra nº _____ |
| <input type="checkbox"/> Certamente não compraria | <input type="checkbox"/> Certamente não compraria | <input type="checkbox"/> Certamente não compraria |
| <input type="checkbox"/> Provavelmente não compraria | <input type="checkbox"/> Provavelmente não compraria | <input type="checkbox"/> Provavelmente não compraria |
| <input type="checkbox"/> Talvez comprasse, talvez não comprasse | <input type="checkbox"/> Talvez comprasse, talvez não comprasse | <input type="checkbox"/> Talvez comprasse, talvez não comprasse |
| <input type="checkbox"/> Provavelmente Compraria | <input type="checkbox"/> Provavelmente Compraria | <input type="checkbox"/> Provavelmente Compraria |
| <input type="checkbox"/> Certamente Compraria | <input type="checkbox"/> Certamente Compraria | <input type="checkbox"/> Certamente Compraria |

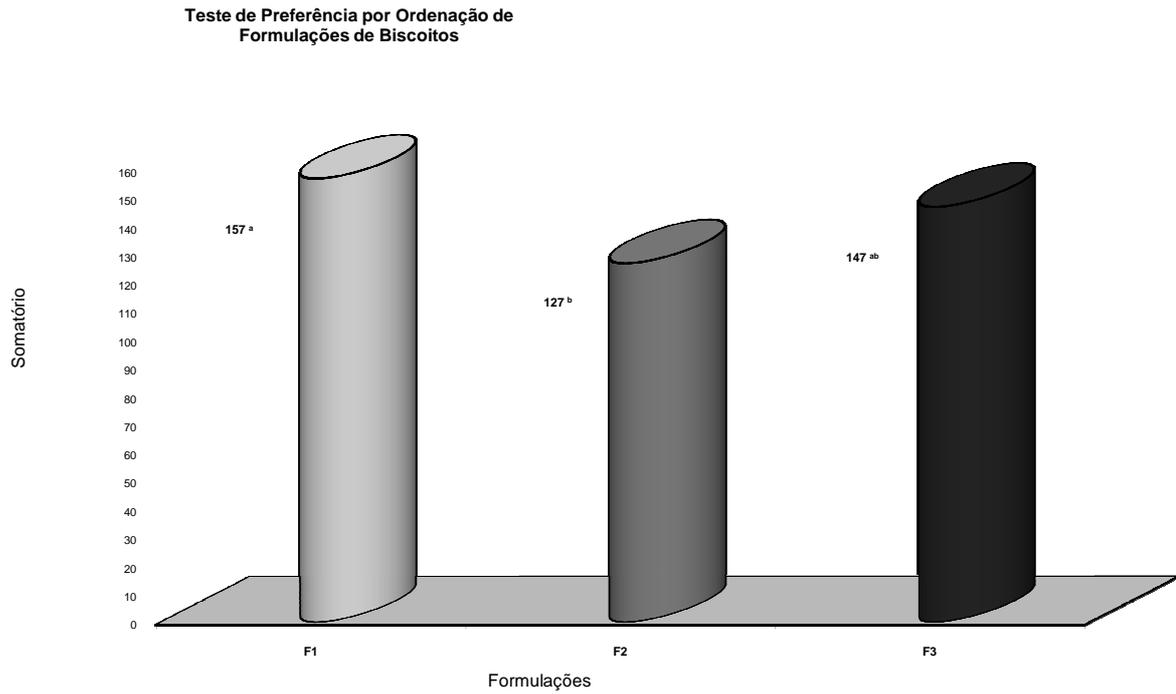
Classifique as amostras de acordo com sua **preferência**.

1º Amostra nº _____

2º Amostra nº _____

3º Amostra nº _____

Figura 2 – Ficha para avaliação sensorial de biscoitos adicionados de óleo de buriti.



Somatório com letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo Teste de Friedman e Tabela de Newelle e Mcfarlane citada por Chaves (2001).

Figura 3- Perspectiva do Somatório de notas sensoriais obtidas no teste de Preferência por Ordenação para os biscoitos adicionados de óleo de soja ou de óleo de buriti.

Processamento de biscoitos adicionados de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.): uma alternativa para o consumo de alimentos regionais, fontes de vitamina A na merenda escolar

*Jailane de Souza Aquino*¹, Tânia Lúcia Montenegro Stamford, Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa, Carlos Eduardo Vasconcelos de Oliveira, José Marcelino de Oliveira Cavalheiro*

Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

RESUMO. Objetivou-se desenvolver biscoitos tipo *cookie* adicionados de óleo de buriti, analisando sua aceitação sensorial e seu valor nutricional, o qual possa ser destinado à merenda escolar, bem como avaliar o estado nutricional e o consumo de alimentos fontes de vitamina A por escolares. Uma formulação controle (15% de óleo de soja) e duas formulações experimentais (7,5 e 15% de óleo de buriti) foram produzidas e avaliadas quanto à composição centesimal, conteúdo de vitamina A e aceitação sensorial. O estado nutricional de 201 escolares foi avaliado mediante os índices: peso/ idade (P/I), altura/idade (A/I) e índice de massa corporal/ idade (IMC/I) bem como o consumo de alimentos fontes de vitamina A. A formulação contendo 15% de óleo de buriti obteve boa aceitação, além do maior percentual de proteínas, minerais e de vitamina A. As crianças entre 7 e 8 anos apresentaram a maior prevalência de eutrofia para todos os índices antropométricos avaliados, enquanto que meninos entre 8 e 9 anos apresentaram os maiores percentuais de sobrepeso (26,7%) e de obesidade (7,7%). Observou-se uma maior frequência de consumo de alimentos com baixo teor de vitamina A. Os escolares consomem pouca variedade de alimentos fontes de vitamina A, o que pode levar a DVA a longo prazo, até mesmo nos que apresentam sobrepeso ou obesidade, podendo os biscoitos adicionados de óleo de buriti ser uma alternativa de inclusão de alimentos regionais fontes de vitamina A na dieta destas crianças.

Palavras - chave: aceitação sensorial, antropometria, consumo alimentar, escolares, vitamina A

* Autor correspondente: Programa em Nutrição pela UFPE. Universidade Federal da Paraíba. Departamento de Nutrição /CCS. Campus I- Cidade Universitária, s/n. Castelo Branco, 58059-900, João Pessoa – PB, Brazil

SUMMARY. Processing of cookies added of buriti oil (*Mauritia flexuosa*): alternative for the consumption of regional foods rich in vitamin A in school meals. The aim of this study was to develop cookie added of buriti oil, considering its sensory acceptance and nutritional value, which could be targeted for school meals, and to evaluate the nutritional status and intake of foods rich in vitamin A among schoolchildren. A control formulation (15% of soybean oil) and two experimental formulations (7.5 and 15% of buriti oil) were produced and evaluated for the chemical composition, vitamin A content and sensory acceptance. The nutritional status of 201 schoolchildren was assessed using the following indexes: weight / age (W/A), height / age (H/A) and body mass index / age (BMI / A), as well as the consumption of foods rich in vitamin A. The formulation containing 15% of buriti oil obtained good acceptance, showed higher percentage of protein, minerals and vitamin A. Children from 7 to 8 years of age had the highest eutrophy prevalence for all indexes studied, while boys from 8 to 9 years of age had the highest overweight (26.7%) and obesity (7.7%) percentages. A higher frequency of consumption of foods with low contents of vitamin A was observed. The population studied consumes very little variety of food rich in vitamin A, which can lead to long-term VAD, even among those who are overweight or obese, and cookies added of buriti oil can be an alternative for the inclusion of regional foods rich in vitamin A in the diet of these children.

Keywords: sensory acceptance, anthropometry, food consumption, schoolchildren vitamin A

INTRODUÇÃO

O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) é reconhecido pela United Nations Children's Found (UNICEF) como um dos maiores projetos de alimentação do mundo, ganhando uma dimensão social maior, devido ao número de crianças que vão à escola em jejum e/ou que se alimentam em casa de maneira inadequada (1), o que é preocupante tendo em vista que a idade escolar é uma fase de crescimento lento, porém constante (2), sendo importante a monitoração do ganho de peso e da estatura nesta fase (3).

A Deficiência de Vitamina A (DVA) vem afetando gravemente a saúde das crianças e tem sido um problema de saúde pública em muitos países em desenvolvimento (4). A prevalência de DVA foi registrada em crianças de grupos populacionais de vários estados brasileiros, principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste (5). Quanto ao consumo de alimentos fontes de vitamina A no Brasil, há apenas um inquérito realizado em todo o País, o qual verificou que a

porcentagem de ingestão de vitamina A foi inferior às necessidades em todas as regiões do País, com exceção de algumas áreas do Rio de Janeiro e da área metropolitana de Salvador (6).

Existem três principais estratégias para combater a DVA: fortificação de alimentos, a suplementação com vitamina A e a diversificação alimentar (7). Os cereais são ótimos veículos para a fortificação, pois nos países em desenvolvimento 95% da população consomem cereais e estes são relativamente baratos (8), sendo observado um consumo de 33,4% de biscoitos nos lanches de escolares (9). Foi observado que a vitamina A na forma de retinil acetato é estável em produtos como pães, bolos e biscoitos porque são assados em condições moderadas (7).

O PNAE orienta para dar preferência aos alimentos regionais, possibilitando uma maior aceitação da merenda, bem como maior incremento na renda local pela produção destes alimentos (2). O buriti (*Mauritia flexuosa L.*), assim como seu óleo é um exemplo de alimento regional, sendo considerado a maior fonte de carotenóides (β -caroteno) do reino vegetal (10). Diante das Políticas Públicas adotadas no combate a esta doença carencial, objetivou-se desenvolver biscoito tipo *cookie* adicionado de óleo de buriti, analisando sua aceitação sensorial e seu valor nutricional, o qual possa ser destinado à merenda escolar, bem como avaliar o estado nutricional e o consumo de alimentos fontes de vitamina A por escolares.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a fabricação dos biscoitos foram utilizados o óleo de buriti adquirido na cidade de Picos-PI- Brasil e refinado em laboratório para elaboração das formulações experimentais bem como o óleo de soja comercial para elaboração da formulação controle. Os biscoitos tipo *cookie* foram formulados a partir da metodologia adaptada de Moretto e Fett (11), a formulação B1 contém 15% de óleo de soja e não contém óleo de buriti, sendo esta a formulação controle. As formulações B2 e B3 contêm respectivamente, 7,5% e 15% de óleo de buriti e não contêm óleo de soja (Tabela 1).

A partir da mistura do óleo, açúcar, xarope, água e lecitina, formou-se um creme em que posteriormente, foram adicionados farinha de trigo e os agentes químicos dissolvidos em água, misturando-se durante 3 a 5 minutos e a massa foi deixada descansando por 20 minutos. Os biscoitos foram formados por rolo moldador e o cozimento ocorreu em temperatura de 210 ° C por 15 minutos, em seguida foram resfriados à temperatura ambiente de 25 ± 3 ° C e acondicionados em embalagens metalizadas, resistentes a troca gasosa e vapor d'água.

As determinações de umidade, resíduo mineral fixo, proteínas e carboidratos totais foram realizadas de acordo com as Normas da Association Official Analytical Chemistry - AOAC (12). A determinação de lipídios totais foi realizada conforme recomendação do Instituto Adolfo Lutz (13) e o valor energético total foi calculado (14).

O método para a determinação de vitamina A do biscoito tipo *cookie* foi adaptado de Berbel (15). Foram pesadas 5 g de amostra em tubo de ensaio e adicionou-se 10 mL de etanol com 0,25% do antioxidante BHT, 5 mL de água destilada e 0,5g de cloreto de sódio. Os tubos foram colocados em estante, adicionou-se 10 mL de hexano a cada amostra, e estes foram agitados ao banho em ultra-som por 3 min. para homogeneização. Logo em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1000 rpm por 3 min. Retirou-se o extrato hexânico e acondicionou-se em vidro âmbar. Os procedimentos de lavagem com hexano e retirada do extrato citados foram realizados cinco vezes. O extrato hexânico foi evaporado com nitrogênio e, posteriormente, foi resuspenso em 3 mL de metanol padrão HPLC. Esta amostra foi filtrada em membrana Minipore Fluoropore com 0,5 µm de diâmetro para ser injetada no HPLC. O HPLC utilizado foi da marca Varian, modelo 2699, composto por bomba isocrática, com injetor manual Reody, com alça de amostragem de 20 µl, acoplado a detector de arranjo de diodo (DAD) e coluna cromatográfica C₁₈ (Chrompack-Varian, Inerstisil – 150 x 4,6mm 5ODS-2) com 5 µm de diâmetro de partícula. As condições cromatográficas do HPLC foram: fase móvel, metanol:água (98:2), a um fluxo de 1 mL/min com detecção em 325 nm. Para identificação, utilizou-se a comparação dos tempos de retenção obtidos com os padrões nas mesmas condições cromatográficas e os espectros de absorção obtidos no detector de arranjo de diodos (DAD). A quantificação foi realizada pelo método de padronização externa.

O estudo foi realizado com 201 escolares na faixa etária de 7 a 10 anos de escolas municipais da cidade de Picos –PI – Brasil. O número de crianças foi estipulado com base na população de escolares matriculados na rede municipal de ensino da cidade de Picos – PI-Brasil, em 2009, considerando-se as recomendações de amostragem da WHO (16). Foram sorteadas cinco escolas municipais de acordo com as diferentes áreas de localização e a pesquisa foi autorizada pela Secretaria de Educação. Para a realização deste estudo, obteve-se prévia aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (protocolo CEP/UFPE n. 430/10).

A cidade de Picos foi selecionada em virtude da elevada produção e comercialização do óleo de buriti, levando-se em consideração o hábito de consumo do produto pela

população, contribuindo para a realização de análise sensorial de produtos alimentícios adicionados deste óleo.

Após o sorteio das escolas, os pesquisadores visitaram as mesmas para o esclarecimento da pesquisa aos professores e diretores. Posteriormente, foi realizado um convite aos pais ou responsáveis legais que tivessem crianças na faixa etária de interesse, para que estes comparecessem a uma reunião na própria escola com objetivo de descrever e informar sobre o estudo.

Os critérios de inclusão foram: idade entre 7 e 10 anos; autorização dos pais ou responsáveis legais e hábito de consumir biscoitos. Os critérios de exclusão foram: apresentar sintomas de gripe ou resfriado na data dos testes definitivos.

Previamente aos testes definitivos pelo método afetivo, foram realizadas sessões de treinamento com três amostras de biscoitos de marcas comerciais conhecidas. Os testes definitivos foram realizados com as formulações desenvolvidas nesta pesquisa, em sessões com grupos de até 30 crianças, que provaram uma amostra de cada formulação de biscoito. As amostras foram codificadas por cores (vermelho, azul e amarelo) de acordo com Rodrigues et al. (17) e o julgamento consistiu em marcar uma das opções na escala hedônica facial de sete pontos para cada amostra (18). Para a análise dos resultados, foram atribuídas as notas 1 para horrível, 4 mais ou menos e 7 para ótimo.

Para a avaliação do estado nutricional, as medidas de peso e altura foram realizadas por alunos treinados do curso de Nutrição. Para a tomada do peso, utilizou-se balança digital marca Tanita, com capacidade de até 150Kg e precisão de 100g, sendo pesadas descalças e com indumentária mínima. Aferiu-se a altura com o uso de fita métrica aderida a uma parede sem rodapés e um esquadro de madeira, observando-se as recomendações de Lohman et al. (19). Para esta medida, a fita foi fixada na parede e as crianças colocadas em posição ereta, descalças, com os membros superiores pendentes ao longo do corpo, os calcanhares, o dorso e a cabeça tocando a parede. As crianças foram classificadas quanto ao estado nutricional, conforme recomendação da WHO (20), pelo uso dos índices altura/idade (A/I), peso/idade (P/I) e Índice de Massa Corporal/Idade (IMC/I). Foram consideradas obesas crianças com índices superiores a 2,0 escores Z acima da mediana da população de referência e com excesso de peso com índices superiores a 1,0 escore Z acima da mediana da população de referência e baixo peso aquelas com índices inferiores a 2,0 escores Z abaixo da mediana de referência.

O questionário de Frequência Alimentar (QFA) foi aplicado aos pais/responsáveis no mesmo dia da realização da antropometria e análise sensorial dos biscoitos. Pôde-se estimar o

consumo de alimentos fontes de vitamina A por meio de um QFA semi-quantitativo contendo uma lista de 28 itens alimentares considerados fontes da referida vitamina, adaptado do questionário validado por Prado et al (21) que foi baseado na proposta do International Vitamin A Consultative Group (22). Este questionário classifica os alimentos conforme o conteúdo de retinol equivalente, em baixo (<250 µg RAE), moderado (50 –250 µg RAE) e alto (> 50 µg RAE), microgramas de equivalentes de atividade de retinol -RAE (µg RAE) do consumo. Ao questionário, acrescentaram-se alimentos como o óleo, o doce e a polpa de buriti, pequi, murici e bacuri que são frutos fontes de vitamina A (10), localmente disponíveis e consumidos no estado do Piauí.

Os resultados da composição centesimal e teor de vitamina A foram submetidos a testes estatísticos utilizando-se *SPSS for Windows Evaluation Edition – 14.0* (SPSS. INC., 2005). Aos resultados do teste de aceitação sensorial do biscoito aplicou-se ANOVA e teste de Tukey para múltiplas comparações ao nível de significância de 5%. Para análise dos dados antropométricos, utilizou-se o programa Anthro-Plus versão 3.2.2.

RESULTADOS

Analisando os dados contidos na Tabela 2, foi observado um maior percentual de umidade na formulação B2 em virtude da adição do dobro da quantidade de água nessa formulação, enquanto que na formulação B1 observou-se o menor percentual de umidade dentre as amostras.

Na formulação B1 em que há adição de 15% de óleo de soja, foi observado um maior percentual de lipídios, assim como um maior valor calórico.

A maior concentração de vitamina A foi determinada no *cookie* B3 contendo 15% de óleo de buriti, apresentando mais do que o dobro de vitamina A em relação aos outros biscoitos. Observou-se também que a formulação B2 que contém 7,5% de óleo de buriti apresentou conteúdo de vitamina similar da formulação B1 contendo 15% de óleo de soja ($p > 0,05$), demonstrando o maior teor de vitamina A presente no óleo de buriti.

Em relação à avaliação afetiva das amostras dos biscoitos tipo *cookies*, observou-se uma mesma aceitação entre as amostras oferecidas às crianças ($p > 0,05$). As amostras foram avaliadas com notas sensoriais entre o “mais ou menos” e o “bom”, apresentando notas próximas de cinco na escala afetiva (Tabela 3).

No que diz respeito ao estado nutricional, a maior parte das crianças avaliadas neste estudo apresentou eutrofia para os indicadores peso/idade e altura/idade. A maior prevalência

de baixo peso para a idade (17.4%) e de altura inadequada para idade (8.1%) foi observada em crianças do gênero masculino, na faixa etária entre 9 e 10 anos. Uma maior prevalência entre 13.0 e 15.4 % de peso elevado para idade foi detectada também em crianças do gênero masculino, porém na faixa etária entre 8 e 9 anos. As crianças com faixa etária entre 7 e 8 anos apresentaram a maior prevalência de eutrofia para ambos os índices P/I e A/I (Tabela 4).

A maior prevalência de obesidade e sobrepeso, segundo o índice IMC/I foi detectada em meninos, na faixa etária de 8 a 9 anos. As maiores prevalências de magreza foram encontradas na faixa etária entre 9 e 10 anos para ambos os sexos (Tabela 5).

Os alimentos de menor ingestão pelas crianças estão contidos no grupo de alimentos considerados como as maiores fontes de vitamina A (Tabela 6), com exceção do fígado e da abóbora que são consumidos por aproximadamente 30% dos escolares semanalmente.

Os escolares apresentaram baixo consumo de folhosos tais como couve, espinafre, brócolis e acelga e os alimentos de maior consumo diário foram o leite e manteiga/margarina. Alimentos como ovos, queijos amarelos e peixes apresentaram um elevado consumo semanal.

DISCUSSÃO

O maior percentual de umidade nos biscoitos adicionados de óleo de buriti é justificado em virtude da maior eficiência do processo de refino industrial do óleo de soja que é extraído por prensagem seguido de evaporação da umidade em relação ao refino em laboratório do óleo de buriti, ocorrendo a extração do óleo bruto por cozimento dos frutos havendo acréscimo de água nesta etapa e durante o refino do óleo na etapa de lavagem. Apesar disto, o percentual de umidade em todas as formulações está abaixo da média do apresentado por biscoitos comerciais de maisena, recheados, *wafers*, salgados e *cookies* que possuem umidade de 1 a 8,43% em 100 g de biscoito (23). Em análise de rótulos de biscoitos tipo *cookie* comerciais, o teor de lipídios varia de 15 a 25 g/100 g. Todas as formulações estão com a quantidade de calorias abaixo da média apresentada por biscoitos tipo *cookie* comerciais que é de 450 Kcal (24).

Além disso, de acordo com a resolução RDC nº 269 (25), o consumo de 100 g do *cookie* adicionado de 15% de óleo de buriti (B3) supre 25% da ingestão diária recomendada (DRI) de proteína assim como o consumo de 100g de *cookie* adicionado de 7,5% de óleo de buriti supre 23,59% das DRI de proteínas para crianças de sete a dez anos. Desta forma, os *cookies* adicionados de óleo de buriti podem ser considerados fonte de proteínas para crianças de todas as idades, tendo em vista que o maior IDR de proteínas para crianças é nesta faixa etária e 100 g deste biscoito suprem mais que 15% da DRI (26).

Segundo as Dietary Reference Intakes (DRI's), a ingestão recomendada de vitamina A (IDR) para crianças de sete a dez anos é de 500µg por dia (27). De acordo com a resolução RDC n° 269 (25), o consumo de 100 g do *cookie* (quatro unidades) adicionado de 15% de óleo de buriti (B3) supre 31,7% da DRI de vitamina A assim como o *cookie* contendo 7,5% de óleo de buriti (B2) que supre 15,42% das DRI de vitamina A para crianças de 7 a 10 anos. Desta forma, os *cookies* adicionados de óleo de buriti podem ser considerados fonte de vitamina A para crianças, uma vez que 100 g deste biscoito suprem mais que 15% da DRI (26), o mesmo não acontecendo para o *cookie* contendo 15% de óleo de soja que supre apenas 14,6% das DRI, não podendo ser considerado alimento fonte de vitamina A.

De acordo com Zhang et al (28), biscoitos fortificados com pelo menos 30% da DRI de vitamina A, diminuíram a Deficiência de Vitamina A (DVA) em pré-escolares (3 a 6 anos) quando consumidos por nove meses, fazendo o mesmo efeito que a administração de suplementos vitamínicos com doses maciças de vitamina A e que o consumo destes biscoitos pode não só evitar a DVA mas também melhorar os escores de estatura/idade e peso/idade, o que é reconhecidamente uma das funções primordiais desta vitamina no organismo.

Os resultados obtidos neste estudo para o teor de vitamina A foram muito superiores aos descritos pela Tabela de Brasileira de Composição de Alimentos (23) e pela Tabela de Composição Química de Alimentos (29) que descrevem respectivamente, como menor que 10 µg/100g RAE e 11 µg/100g RAE para biscoitos doces. Estes resultados são justificados porque o buriti é o produto alimentar detentor da maior concentração conhecida de beta caroteno dentro da vasta gama de alimentos brasileiros já analisados, superando o teor de vitamina A das frutas palmáceas tucumã, bocaiúva, bacuri e umari (mari) (10).

Conforme o discutido por Quílez et al (30), o enriquecimento de produtos de panificação tais como pães, biscoitos, *croissants* e *muffins* com vitamina A não afeta a aparência e nem o sabor destes alimentos. As notas sensoriais atribuídas aos biscoitos tipo *cookie* adicionados de óleo de buriti, corroboram com os obtidos por Rodrigues et al (17) em que escolares avaliaram formulações de biscoitos com diferentes percentuais de café. Saydelles et al (31) desenvolveram formulações de biscoitos sabor chocolate com maior teor de fibras e menor teor de gorduras que os comerciais, obtendo 100% de índice de aceitabilidade pelas crianças. Uma grande aceitabilidade, com notas sensoriais acima do conceito “gostei” foi observada no estudo de Cavalheiro et al (32), em que foram formulados biscoitos sabor chocolate contendo resíduo de soja, sendo observado que o sabor chocolate é bem aceito por crianças, independente da formulação oferecida.

Em estudo realizado por Granito et al (33), pode ser observado que biscoitos adicionados de farinhas de leguminosas fermentadas e não fermentadas avaliados por crianças e adolescentes com idades entre oito e doze anos, obtiveram notas sensoriais entre cinco e sete, caracterizando a aceitação entre “indiferente“ e “gostei muitíssimo”, porém também neste estudo houve a adição de essência de laranja para mascarar o aroma das farinhas, daí porque a maior aceitação de um produto não habitualmente consumido, pois segundo Brug et al (34), o sabor é um dos maiores determinantes na escolha alimentar das crianças.

Desta forma, pode ser considerado que as amostras de biscoito adicionadas de óleo de buriti foram bem aceitas, mesmo conservando o sabor original das formulações, ou seja, sem adição de essências ou sabores familiares que pudessem influenciar no sabor e aroma dos produtos desenvolvidos.

Segundo Koga (35), estudos realizados para a determinação do estado nutricional de crianças entre 7 e 10 anos são escassos na literatura, porém são de grande importância, pois antecedem a adolescência fase em que há muitas mudanças no crescimento e desenvolvimento. As crianças com faixa etária entre 7 e 8 anos apresentaram a maior prevalência de eutrofia para ambos os índices P/I e A/I, corroborando com os resultados de Boccaletto (36) que também avaliaram crianças de 7 a 10 anos.

Os resultados do IMC/I confirmam os observados no presente estudo para os índices de P/I e A/I, em que a maior prevalência de baixo peso para a altura e baixa estatura para idade foram detectadas em crianças entre 9 e 10 anos. A faixa etária entre 8 e 9 anos havia apresentado a maior prevalência de peso elevado em relação à idade, o que também foi confirmado com o índice IMC/Idade em que as crianças com sobrepeso e obesidade se concentraram nesta mesma faixa etária.

Apesar das crianças até 10 anos não apresentarem produção de grandes quantidades de hormônios que poderia interferir na distribuição de gordura corporal entre os gêneros (37), as crianças do gênero masculino apresentaram maior prevalência de sobrepeso e obesidade, sendo este um fator relevante para o indicador IMC/I determinado no presente estudo. Este resultado corrobora com os de Eriksson e Strandvik (38) que detectaram a prevalência de obesidade em 17% de crianças do gênero masculino e com os de Zimmermann et al (39) que também detectaram maior prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças de 7 a 10 anos do sexo masculino, porém diferem dos resultados de Salomons et al (40) em que as meninas apresentaram maior prevalência de obesidade.

A prevalência de baixo peso em menor proporção que o excesso de peso (obesidade/sobrepeso) determina um dos indicadores da existência da transição nutricional,

característica dos últimos anos, com diminuição da desnutrição e aumento da prevalência de excesso de peso em vários países do mundo (41, 42).

É importante salientar que não apenas as crianças com déficits de peso e altura em relação à idade ou em estado de magreza segundo o IMC/Idade se encontram em risco para o desenvolvimento da DVA, tendo em vista que os estudos de Sarni et al. (43), Strauss (44), Neuhouser et al. (45), e Ford et al. (46) relataram menores concentrações séricas de carotenóides em obesos, em comparação com os eutróficos que consumiam padrões semelhantes de ingestão de alimentos e nutrientes. Segundo Balagopal et al (47), em crianças obesas/ sobrepeso pode ser evidenciado níveis séricos elevados da proteína de ligação do retinol (RBP4) devido a excessiva produção desta proteína e não devido ao aporte necessário de vitamina A mediante o consumo de alimentos. Em estudo realizado por Silva et al (48) com crianças e adolescentes entre 7 e 17 anos no Rio de Janeiro, observou-se, a diminuição nas concentrações séricas de carotenóides com o aumento do IMC, sendo este fato possivelmente justificado pelo maior estresse oxidativo apresentado por indivíduos com sobrepeso ou obesidade (47, 49). Logo, crianças com déficit ou excesso de peso podem apresentar DVA quer seja pela ingestão insuficiente de alimentos fontes de vitamina A, quer seja por distúrbios no metabolismo desta vitamina.

Os alimentos que compõem a lista de baixo conteúdo em vitamina A (< 50 µg RAE) foram os mais consumidos diariamente corroborando com o resultado obtido por Pereira et al (50) por crianças até 7 anos em Teresina – PI, na mesma região onde foi realizado o presente estudo. Fagundes et al (51), observaram um baixo consumo de hortaliças entre crianças de 6 a 14 anos, o que também foi evidenciado no presente estudo. Segundo Levy -Costa et al (52), estima-se que o consumo de hortaliças no Brasil corresponda a menos da metade das recomendações nutricionais, sendo ainda mais deficiente em famílias de baixa renda.

No estado do Piauí, existe uma grande variedade de frutos fontes de carotenóides pró-vitamínicos A, tais como: buriti, bacuri, murici entre outros (10), entretanto, foi extremamente baixo o consumo dos mesmos pelas crianças avaliadas neste estudo, com exceção do doce de buriti que é consumido semanalmente por 18,18% dos escolares. Talvez a razão tenha sido o fato de serem frutas sazonais que não estavam no seu período de produção na época da coleta dos dados. Este resultado corrobora com os citados por Marinho e Roncada (53) que avaliaram o consumo alimentar de crianças em três capitais brasileiras e por Pinto (54) que avaliaram o consumo de frutas do cerrado por mulheres. Frutas como melão e mamão que apresentam quantidade moderada de vitamina A não são consumidas por mais de 60% dos escolares, sendo as frutas mais populares a laranja e a goiaba. Porém as crianças apresentaram

um consumo semanal elevado de queijo, peixes e manteiga, sendo o consumo de alimentos de origem animal é de extrema importância, uma vez que esta vitamina é mais biodisponível nestes alimentos, por se apresentar já em forma de retinol (55).

Entretanto, devem ser ressaltadas as limitações do método de inquérito alimentar para avaliar a DVA em virtude da biodisponibilidade de vitamina A que é variável nos alimentos (56) e da sazonalidade de alguns alimentos, além disso, as diferentes tabelas de composição de alimentos em que muitas vezes os dados da composição química dos alimentos regionais estão ausentes (57).

Diante do exposto, conclui-se que a formulação B3 contendo 15% de óleo de buriti foi a mais indicada para a elaboração de biscoitos, não só devido ao maior percentual de proteínas, minerais e de vitamina A, mas também devido a sua boa aceitação pelos escolares. Apesar da maior parte dos escolares terem apresentado medidas antropométricas em eutrofia, estes consomem pouca variedade de alimentos fontes de vitamina A o que pode levar a DVA a longo prazo, até mesmo nos que apresentam sobrepeso ou obesidade, podendo os biscoitos adicionados de óleo de buriti ser uma alternativa de inclusão de alimentos regionais fontes de vitamina A na dieta destas crianças.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Secretaria de Educação do Município de Picos-PI- Brasil e a Universidade Federal do Piauí, pelo apoio logístico como também às crianças e pais que participaram de forma voluntária nesta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. FNDE. Fundo Nacional de Desenvolvimento do Ensino. Merenda escolar: você Sabia? <<http://www.fnde.gov.br/index.php/programas-alimentacao-escolar> >. Acesso em: 17 fev. 2011.
2. Flavio EF, Barcelos MFP, Lima AL. Avaliação química e aceitação da merenda escolar de uma escola estadual de lavras–MG. Cienc Agrotec. 2004;28(4): 840-7.
3. Zeferino AMB, Barros Filho AA, Bettiol H, Barbieri MA. Acompanhamento do crescimento. J Pediatr. 2003;79 (1): 23 – 32.

4. West Jr KP. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J Nutr.* 2002;132 Suppl 2: 857S–66S.
5. Milagres RCRM, Nunes LC, Pinheiro – St’ana H.M. A deficiência de vitamina A em crianças no Brasil e no mundo. *Cienc Saúde Colet.* 2007; 12(5): 1253-66.
6. Villar S, Roncada MJ. Determinação do consumo de alimentos fontes de vitamina A por gestantes, utilizando o formulário dietético simplificado (FDS). *Arch Latinoam Nutr.* 2002; 52(1):48-54.
7. Butt MS, Arshad UM, ALAM MS, NADEEM MT. Bioavailability and storage stability of vitamin A fortificant (retinyl acetate) in fortified cookies. *Food Res Int.* 2007; 40:1212–19.
8. Ranum P. Fortification of high extraction wheat flour. *Cer Foods World.* 2000; 45(6): 267–8.
9. Campos JADB, Zuanon ACC. Merenda escolar e promoção de saúde. *Cienc Odontol Bras.* 2004; 7(3): 67-71.
10. Rodriguez-Amaya, D.B. Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. Brasília: MMA/SBF; 2008.
11. Moretto E, Fett R; Processamento e análise de biscoitos. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais. São Paulo: Varela; 1999.
12. A.O.A.C. Association Official Analytical Chemistis. 17 ed. Washington: Official methods of analysis of the Association Chemistis,; 2002
13. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos físico- químicos para análise de alimentos. 4. ed., Ministério da Saúde: Brasília; 2005.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 94 de 01 de novembro de 2000. Regulamento Técnico para Rotulagem Nutricional Obrigatória de Alimentos e Bebidas Embalados. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 03 nov. 2000.
15. Berbel, MM. Composição nutricional e determinação simultânea de vitaminas lipossolúveis em rações para frango de corte [dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2007.
16. World Health Organization (WHO). Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes Global prevalence of vitamin A deficiency. Geneva: WHO/UNICEF, 1996.
17. Rodrigues MAA, Lopes GS, França AS, Motta S. Desenvolvimento de formulações tipo cookie contendo café. *Cienc Tecnol Aliment.* 2007; 27(1): 162-9.

18. Re, R. da. Desempenho de crianças em testes sensoriais discriminativos e afetivos com escalas híbridas ilustradas [tese]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2006.
19. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometrics Standardization Reference Manual. Champaign: Human Kinetics Books; 1988.
20. World Health Organization (WHO). Child growth standards : length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weightforheight and body mass index-for-age : methods and development. The WHO Reference 2007: growth reference data for 5 – 19 years. Disponível em: <http://www.who.int/childgrowth/standards/bmi_for_age_field/en/index.html>. Acesso em 5 dez 2010.
21. Prado MS, Assis AMO, Martins MS, Nazaré MPA, Rezende IFB, Conceição MEP. Hipovitaminose A em crianças de áreas rurais do semi-árido baiano. Rev Saude Pub. 1995; 29(4): 295–300.
22. International Vitamin A Consultive Group (IVACG). Guidelines for the development of a simplified dietary assessment to identify groups at risk for inadequate intake of vitamin A: report of the international vitamin A Consultative Group. Washington: IVACG; 1989.
23. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), 2ed., v.2, Campinas: NEPA– UNICAMP. 2006. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>. Acesso em: 01/07/ 2010.
24. Peres, AP. Desenvolvimento de um biscoito tipo *cookie* enriquecido com cálcio e vitamina D [dissertação] Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2010.
25. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 269 de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 23 set. 2005.
26. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Portaria n. 31 de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes).Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 16 jan. 1998.
27. Institute of Medicine (IOM). Dietary References Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Washington: National Academic Press IOM; 2000.

28. Zhang X, Chen K, Qu P, Liu Y-X, Ting-Yu, L. Effect of biscuits fortified with different doses of vitamin A on indices of vitamin A status, haemoglobin and physical growth levels of pre-school children in Chongqing. *Pub Health Nutr.* 2010; 13(9): 1462–71.
29. Franco, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9 ed. Rio de Janeiro: Ed. Livraria Atheneu; 1999.
30. Quílez, J, Ruiz, JÁ, Brufau G, Rafecas M. Bakery products enriched with phytosterols, a-tocopherol and b-carotene. Sensory evaluation and chemical comparison with market products. *Food Chem.* 2006; 94: 399–405.
31. Saydelles BM, Oliveira VR, Viera VB, Marques CT, da Rosa, CS. Elaboração e análise sensorial de biscoito recheado enriquecido com fibras e com menor teor de gordura. *Cienc Rural.* 2010; 40(3): 644-7.
32. Cavalheiro SFL, Tininis CRCS, Tavano OL, Custodio MF, Rossi EA, Cardello, HMAB. Biscoito sabor chocolate com resíduo de soja, “Okara”: teste afetivo com crianças em idade pré-escolar. *Alim Nutr.* 2001; 12: 151-162.
33. Granito M, Valero Y, Zambrano, R. Desarrollo de productos horneados a base de leguminosas fermentadas y cereales destinados a la merienda escolar. *Arch Latinoam Nutr.* 2010; 60(1): 86-92.
34. Brug J, Tak N, Te Velde S, Bere E, Bourdeaudhuij I. Taste preferences, liking and other factors related to fruit and vegetable intakes among schoolchildren: Results from observational studies. *Brit J Nutr.* 2008; Suppl 1: S7–S14.
35. Boccaletto EMA. Estado nutricional das crianças de 7 a 10 anos de idade do Município de Vinhedo (SP) em 2005 e 2008, segundo os critérios da Organização Mundial da Saúde (2007) [dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2005.
36. Koga CR. Estado Nutricional de Escolares de 7 a 10 anos de idade: diagnóstico e comparação de métodos. [dissertação]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo ; 2005
37. Sigulem DM, Devincenzi MU, Lessa, AC. Diagnóstico do estado nutricional da criança e do adolescente. *J Pediatr.* 2000; 76(3): S275-S284.
38. Eriksson S, Strandvik B. Food choice is reflected in serum markers and anthropometric measures In healthy 8-yr-olds. *E J Clin Nutr Metabolism.* 2010; 5: 117-24.

39. Zimmermann MB, Gubelli C, Piintener C, Molinari L. Overweight and obesity in 6-12 year old children in Switzerland . *Swiss Med Wkly*. 2004; 134: 523 – 28.
40. Salomons E, Rech CR, Loch, MR. Estado nutricional de escolares de seis a dez anos de idade da rede municipal de ensino de Arapoti, Paraná. *Rev Bras Cinean Des Humano* 2007; 9(3), 243-49.
41. Vorster HH, Venter CS, Wissing MP, Margetts BM. The nutrition and health transition in the North West Province of South Africa: a review of the THUSA (Transition and Health during Urbanisation of South Africans) study. *Pub Health Nutr*. 2005; 8: 480–90.
42. Batista Filho M, De Souza AI, Miglioli TC, Dos Santos MC. Anemia e obesidade: um paradoxo da transição nutricional brasileira. Anemia and obesity: a paradox of the nutritional transition in Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 2008; 24 Sup 2:S247-S257.
43. Sarni R, Souza F, Ramalho RA, Schoeps A, Kochi C, Catherino P, et al. Serum retinol and total carotene concentrations in obese pre-school children. *Med Sci Monit*. 2005;11:510 – 4.
44. Strauss RS. Comparison of serum concentrations of α -tocopherol and β -carotene in a cross-sectional sample of obese and nonobese children (NHANES III). *J Pediatr* 1999;134:160 –5.
45. Neuhauser ML, Rock CL, Eldridge AL, Kristal AR, Patterson RE, Cooper DA, et al. Serum concentrations of retinol, alpha-tocopherol and the carotenoids are influenced by diet, race and obesity in a sample of healthy adolescents. *J Nutr* 2001;131:2184 – 91.
46. Ford ES, Gillespie C, Ballew C, Sowell A, Mannino DM. Serum carotenoid concentration in US children and adolescents. *Am J Clin Nutr* 2002;76:818 –27.
47. Silva LSV, da Veiga, G.V, Ramalho RA. Association of serum concentrations of retinol and carotenoids with overweight in children and adolescents. *Nutr*. 2007;23: 392–97.
48. Matsuoka H. Endothelial dysfunction associated with oxidative stress in human. *Diabetes Res Clin Pract* 2001;54(suppl):65–72.
49. Balagopal P, Graham TE, Kahn BB, Altomare A, Funanage V, George D. Reduction of elevated serum retinol binding protein (RBP4) in obese children by lifestyle intervention: association with subclinical inflammation. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:1971–1974

50. Pereira JA, Paiva AA, Bergamaschi DP, Rondó PHC, Oliveira GC, Lopes IBM, Illison VK, Gonçalves-Carvalho CMR. Concentrações de retinol e de beta-caroteno séricos e perfil nutricional de crianças em Teresina, Piauí, Brasil. *Rev Bras Epidemiol*. 2008; 11(2): 287-96.
51. Fagundes, ALN, Ribeiro DC, Naspitz L, Garbelini LE.B, Vieira JKP, da Silva AP, *et al*. Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares da região de Parelheiros do município de São Paulo. *Rev Paul Pediatr*. 2008; 26(3): 212-17.
52. Levy-Costa RB, Sichieri R, Monteiro CA. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). *Rev Saúde Publ*. 2005;39(4):530-40.
53. Marinho HA; Roncada MJ. Ingestão e hábitos alimentares de pré-escolares de três capitais da amazônia ocidental brasileira: um enfoque especial à ingestão de vitamina A. *Ciênc. Agrotec*. 2004; 28(4): 840-7.
54. Pinto PCR. Consumo Alimentar de frutos do Cerrado, fontes de vitamina A, por moradoras de comunidades das cidades satélites do Distrito Federal [dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília; 2006.
55. Ball G. Bioavailability and analysis of vitamins in foods. London: Chapman & Hall; 1998.
56. Azevedo MMS, Cabral PC, Diniz AS, Fisberg M, Fisberg RM, de Arruda IKG. Deficiência de vitamina A em pré-escolares da cidade do Recife, Nordeste do Brasil. *Arch Latinoam Nutr*. 2010; 60 (1): 36-41
57. Fernandes TFS, Diniz AS, Cabral PC, Oliveira RS, Lóla MMF, Silva SMM, Kolsteren P. Hipovitaminose A em pré-escolares de creches públicas do Recife: indicadores bioquímico e dietético. *Rev Nutr* 2005; 18(4): 471-80.

Tabela 1 - Formulações* dos três tipos de *cookie* adicionados de óleo de buriti ou de soja

Ingredientes/ Formulações	B1	B2	B3
Farinha de trigo	100	100	100
Óleo de buriti	---	7,5	15
Óleo de soja	15	---	---
Lecitina	3,0	1,5	3,0
Açúcar	30	30	30
Xarope de milho	7,5	7,5	7,5
Sal	0,75	0,75	0,75
Bicarbonato de amônia	0,5	0,5	0,5
Bicarbonato de sódio	1,0	1,0	1,0
Água	12,5	25	12,5

* Quantidades em porcentagem com base no total da farinha de trigo

Tabela 2 – Composição centesimal e teor de vitamina A de *cookies* adicionados de óleo de buriti ou de óleo de soja.

Variáveis	Amostras*		
	B1	B2	B3
Umidade (%)	4,03 ^c ±0,03	6,30 ^a ±0,10	4,17 ^b ±0,03
Proteínas (%)	8,02 ^b ±0,02	8,02 ^b ±0,01	8,50 ^a ±0,05
Lipídios (%)	10,58 ^a ±0,01	4,03 ^c ±0,02	6,10 ^b ±0,05
Carboidratos (%)	72,03 ^c ±0,06	76,36 ^a ±0,08	75,86 ^b ±0,11
Cinzas (%)	5,34 ^{ab} ±0,02	5,29 ^b ±0,02	5,37 ^a ±0,05
Valor calórico (Kcal)	415,42 ^a ±0,16	373,79 ^c ±0,42	392,34 ^b ±0,10
Vitamina A (µg/100g RAE)	73,0 ± 0,05 ^b	77,1 ± 0,15 ^b	158,4 ± 0,36 ^a

* Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Amostras: B1 = biscoito adicionado de 15% de óleo de soja; B2 = biscoito adicionado de 7,5% de óleo de buriti; B3 = biscoito adicionado de 15% de óleo de soja.

Tabela 3 - Médias de notas sensoriais relativas às amostras de *cookies* adicionados de óleo de buriti ou de óleo de soja avaliadas por escolares em Picos – PI- Brasil no ano de 2010.

Variáveis	Amostras e Valores Estatísticos		
	B1	B2	B3
Médias de notas	4,8 a	4,7 a	4,2 a
Desvio Padrão (±)	2,2	2,0	2,4
I.C. Limite Superior	3,8	3,8	3,1
I.C. Limite Inferior	5,7	5,6	5,2

I.C. = Limites de Intervalo de Confiança a 95 % de probabilidade de acerto.

Letras iguais, na mesma linha, indicam ausência de diferença estatística com probabilidade de erro ($p \leq 5 \%$), pelo teste de Tukey

Tabela 4 – Avaliação do estado nutricional de crianças entre 7 e 10 anos matriculadas em escolas municipais de Picos, PI – Brasil no ano de 2010, através dos índices peso/idade e altura/idade.

Sexo	Peso/Idade						Altura/Idade			
	Baixo peso		Eutrófico		Peso elevado		Baixa estatura		Altura adequada	
	Masc	Fem	Masc	Fem	Masc	Fem	Masc	Fem	Masc	Fem
Faixa Etária	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
7- 8	-	-	86,7	94,4	13,3	5,6	-	-	100	100
8 -9	7,7	8,3	76,9	91,7	15,4	-	7,7	-	92,3	100
9-10	17,4	7,4	69,6	92,6	13,0	-	8,1	2,7	91,9	97,3

*Masc = masculino; F = feminino

Tabela 5 – Avaliação do estado nutricional de crianças entre 7 e 10 anos matriculadas em escolas municipais de Picos, PI – Brasil no ano de 2010, através do índice de massa corporal (IMC) por idade.

Sexo	IMC/Idade							
	Magreza		Eutrofia		Sobrepeso		Obesidade	
	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.	Masc	Fem
Faixa Etária	%	%	%	%	%	%	%	%
7-8	6,7	5,6	60	88,9	23,1	5,6	6,7	-
8 – 9	7,7	-	61,5	83,3	26,7	16,7	7,7	-
9-10	13,5	10,8	64,9	73	2,6	16,2	-	-

*Masc = masculino; F = feminino

Tabela 6 – Frequência de consumo de alimentos fontes de vitamina A por escolares de 7 a 10 anos em Picos –PI- Brasil.

Alimentos fontes de vitamina A	Frequencia de consumo			
	Diário	semanal	Mensal	Nunca
Alimentos > 250 µg RAE/ porção	%	%	%	%
Fígado	9,7	32,2	23,7	34,4
Abóbora	2,3	30,7	21,6	45,4
Couve	0	5,1	8,2	86,7
Espinafre	0	0	0	100
Buriti (polpa)	0	1,12	5,68	93,2
Doce de buriti	1,14	18,18	1,14	79,54
Óleo de buriti	0	0	1,1	98,9
Alimentos com 50µg a 250 µg RAE/ porção				
Queijos amarelos	1	52	26	21
Peixes	1,1	45,5	35,2	18,2
Ovos e preparações	15,7	74,2	5,6	4,5
Cenoura	6,82	31,82	10,23	51,13
Brócolis	0	0	0	100
Acelga	0	0	0	100
Pimentão	19,3	10,2	1,2	69,3
Batata doce	0	25,64	43,59	30,77
Mamão	1,65	14,75	21,3	62,3
Melão	2,3	11,3	14,8	71,6
Manga	10,2	42,0	29,6	18,2
Bacuri	0	0	1,14	98,86
Alimentos com < 50 µg RAE/ porção				
Leite	77,3	15,9	0	6,8
Manteiga/margarina	45,45	31,82	5,68	17,05
Tomate	38,6	31,8	4,5	25,1
Milho e preparações	4,54	33,0	51,1	11,36
Cuscuz	34,7	54,8	5,7	4,8
Laranja	18,18	71,6	4,54	5,68
Goiaba	10,23	69,32	14,77	5,68
Abacate	1,14	34,09	22,73	42,04
Murici	0	0	0	100
Pequi	3,41	6,82	22,73	67,04

6 Considerações finais

A análise dos dados obtidos nesta tese permite as seguintes considerações finais a respeito do tema estudado:

- O processo de refino do óleo de buriti diminuiu as quantidades de vitamina A, ácidos graxos insaturados bem como sua capacidade antioxidante em relação ao óleo bruto, apesar disto, o óleo refinado apresentou alta estabilidade termo-oxidativa em relação a óleos usualmente comestíveis;
- No experimento com ratos que não foram induzidos ao estresse, o consumo de óleo refinado de buriti resultou em maior coeficiente de eficácia alimentar, diminuiu o colesterol total e frações como também as aminotransferases séricas, em comparação ao consumo de óleo bruto;
- O óleo de buriti seja bruto ou refinado não alterou os parâmetros murinométricos e aumentou o retinol sérico e hepático dos animais
- A maior ingestão do antioxidante β caroteno veiculado na dieta através do óleo de buriti não melhorou a atividade das enzimas antioxidantes no sangue, porém a atividade de SOD hepática foi aumentada em ratos.
- Ratos que consumiram biscoitos adicionados de óleo de buriti não apresentaram alterações na glicemia, no perfil lipídico e nem os parâmetros murinométricos, exceto na circunferência torácica. A ingestão de dieta complementada com biscoito adicionada de óleo de buriti aumentou significativamente o retinol sérico e o hepático de ratos;
- Biscoitos adicionados de óleo refinado de buriti foram avaliados sensorialmente, apresentando boa aceitação por potenciais consumidores e por escolares. Este produto apresentou maior percentual de proteínas, minerais e vitamina A como também qualidade microbiológica desejável;
- Apesar da maior parte dos escolares terem apresentado medidas antropométricas em eutrofia, estes consomem pouca variedade de alimentos fontes de vitamina A, o que pode levar a DVA a longo prazo, até mesmo nos que apresentam sobrepeso ou obesidade;

- O óleo refinado de buriti é uma alternativa de fonte lipídica considerada funcional devido as suas propriedades físico-químicas e nutricionais, o que lhe dá vantagem diante dos vários óleos e gorduras utilizados em alimentos, sendo os biscoitos adicionados deste óleo considerados uma fonte alternativa de vitamina A na alimentação humana;

7 Perspectivas

A partir da análise dos dados obtidos nesta tese, pode ser observado o efeito do óleo bruto e refinado de buriti assim como de um produto obtido a partir deste, nos parâmetros murinométricos e bioquímicos de ratos jovens. Além disso, a atividade antioxidante do óleo, até então desconhecida, pôde ser avaliada, demonstrando que o óleo de buriti é considerado um alimento funcional devido as suas propriedades. E que o biscoito adicionado de óleo de buriti pode ser introduzido não só na merenda escolar, mas na alimentação de toda uma população devido a sua aceitação e conteúdo de vitamina A. As análises físico-químicas e nutricionais demonstraram a necessidade de informar dos perigos à saúde da população que consome óleo bruto de buriti entre outros óleos vegetais brutos.

Assim, sugerem-se como perspectivas para estudos futuros:

- Extrair o óleo por prensagem a frio e comparar as propriedades nutricionais e físico- químicas deste com o óleo extraído por cozimento;
- Investigar o efeito do óleo bruto de buriti extraído a frio com o efeito do óleo bruto extraído por cozimento sobre os parâmetros murinométricos, *status* nutricional e atividade antioxidante em ratos;
- Comparar o efeito do óleo de buriti sobre os parâmetros murinométricos, *status* nutricional e atividade antioxidante em ratos com o efeito de outros óleos de composição semelhante como o óleo de canola e o azeite de oliva.
- Determinar a biodisponibilidade de vitamina A no óleo de buriti, realizando estudo com um dos grupos de animais sem esta vitamina na dieta
- Pesquisar o impacto do consumo deste óleo, nos órgãos através de análises histológicas
- Investigar o impacto do consumo do óleo de buriti sobre a otogenia reflexa em ratos neonatos
- Avaliar o efeito do consumo do óleo de buriti sobre o desenvolvimento somático em ratos neonatos
- Realizar um estudo de intervenção por período determinado com crianças de 7 a 10 anos consumindo biscoitos adicionados de óleo de buriti com objetivo de avaliar o retinol sérico destas;
- Desenvolver novos produtos adicionados com o óleo de buriti refinado;

Referências

ABIMA. Associação Brasileira da Indústria de Massas Alimentícias. Disponível em: <http://www.abima.com.br/na_noticias_dp.asp?cod=378>. Acesso em: 22 de jan. 2011.

AKHTAR, S.; ANJUM, F.M.; ANJUM, M.A. Micronutrient fortification of wheat flour: Recent development and strategies. **Food Research International**, v. 44, p. 652–659, 2011.

ALBUQUERQUE, M.L.S; GUEDES, I.; ALCANTARA JUNIOR, P.; MOREIRA, S.G.C; BARBOSA NETO, N.M.; CORREA, D.S. ZILIO, S.C. Characterization of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) Oil by Absorption and Emission Spectroscopies. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6A, p. 1113-1117, 2005.

ALVES, C.Q.; DAVID, J.M.; DAVI, J.P.; BAHIA, M.V.; AGUIAR, R.M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

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

ANDRADE, E.C.B. **Análise de alimentos: uma visão química da nutrição**. São Paulo: Livraria Varela, 2006.

A.O.A.C. Association Official Analytical Chemistis. **Official methods of analysis of the Association Chemistis**, 20 ed. Washington: AOAC, 2002.

AOCS. American Oil Chemists' Society. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. Champaign: AOCS, 1997.

ARAIN, S., SHERAZI, S.T.H., BHANGER, M.I., TALPUR, F.N., MAHESAR, S.A. Oxidative stability assessment of Bauhinia purpurea seed oil in comparison to two conventional vegetable oils by differential scanning calorimetry and Rancimat methods. **Thermochimica Acta**, v. 484, p. 1–3, 2009.

ARRUDA, S.F.; SIQUEIRA, E.M.A.; VALENCIA, F.F. Vitamin A deficiency increases hepcidin expression and oxidative stress in rat. **Nutrition**, v. 25, p. 472-478, 2009.

ARSHAD, M.U.; ANJUM, F.M.; ZAHOOR, T. Nutritional assessment of cookies supplemented with defatted wheat germ. **Food Chemistry**, v.102, p.123–128, 2007.

ASADI, F.; SHAHRIARI, A.; CHAHARDAH-CHEIC, M. Effect of long-term optional ingestion of canola oil, grape seed oil, corn oil and yogurt butter on serum, muscle and liver cholesterol status in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, p.2454–2457, 2010.

ASARE, G.A.; KEW, M.C.; MOSSANDA, K.S.; PATERSON, A.C.; SIZIBA, K.; KAHLER-VENTER, C.P. Effects of exogenous antioxidants on dietary iron overload. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 44, p.85-94, 2009.

AUED-PIMENTEL, S.; CARUSO, M. S. F.; CRUZ, J. M. M.; KUMAGAI, E. E.; CORREA, D. U. O. Ácidos graxos saturados versus ácidos graxos trans em biscoitos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 2, p. 131-37, 2003.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1997.

BERBEL, M.M. **Composição nutricional e determinação simultânea de vitaminas lipossolúveis em rações para frango de corte**. 2007. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

BLOCK, G.; DIETRICH, M.; NORKUS, E.P.; MORROW, J.D.; HUDES, M.; CAAN, B.; PACKER, L.; Factors associated with oxidative stress in human population. **American Journal of Epidemiology**, v.156, n.3, p.274-285, 2002.

BLOCK, G.; JENSEN, C.D.; MORROW, J.D.; HOLLAND, N.; NORKUS, E.P.; MILNE, G.L.; HUDES, M.; DALVI, T.B.; CRAWFORD, P.B.; FUNG, E.B.; SCHUMACHER, L.; HARMATZ, P. The effect of vitamins C and E on biomarkers of oxidative stress depends on baseline level. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 45, p. 377–384, 2008.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 94 de 01 de novembro de 2000. Regulamento Técnico para Rotulagem Nutricional Obrigatória de Alimentos e Bebidas Embalados. **Diário Oficial [da] União**. Brasília, DF, 03 nov. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, 02 jan. 2001. p.1-54.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed., Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018p.

BRASIL. Instrução Normativa n. 49, de 22 de dezembro de 2006. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Óleos Vegetais Refinados. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, 26 dez. 2006, Seção 1 , Página 140.

BUIJSSE B., FESKENS E.J., MOSCHANDREAS J., JANSEN E.H., JACOBS DR JR, KAFATOS A, KOK, F.J.; KROMOUT, D.. Oxidative stress, and iron and antioxidant status in elderly men: differences between the Mediterranean south (Crete) and northern Europe (Zutphen). **European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation**, v.14, p.495–500, 2007.

BURNEIKO, R.C.M.; DINIZ, Y.S.; GALHARDI, C.M.; RODRIGUES, H.G.; EBAID, GMX; FAINE, L.A.; PADOVANI, C.R.; CICOGNA, A.C.; NOVELLI, E.L.B. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 1167–1172, 2006

BUTT, M.S.; ARSHAD, U.M.; ALAM, M.S.; NADEEM, M.T. Bioavailability and storage stability of vitamin A fortificant (retinyl acetate) in fortified cookies. **Food Research International**, v.40, p. 1212–1219, 2007

CAMPBELL, J.A. Method for determination of PER and NPR. In: Food and nutrition board. Committee on Protein Quality. **Evaluation of protein quality**. Washington: [s.n.], p.31-32, 1963.

CAMPOS, J.A.D.B.; ZUANON, A.C.C. Merenda escolar e promoção de saúde. **Ciência Odontológica Brasileira**, v.7, n.3, p. 67-71, 2004.

CARVALHO, P.R.N.; COLLINS, C.H.; 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.4, p.133-137, 1992.

CAVALHEIRO, SFL; TININIS, CRCS; TAVANO, OL; CUSTODIO, MF; ROSSI, EA; CARDELLO, HMAB. Biscoito sabor chocolate com resíduo de soja, “Okara”: teste afetivo com crianças em idade pré-escolar. **Alimentos e Nutrição**, v.12, p. 151-162, 2001.

CHEMYUNION - Catálogo Técnico “Chemyforest”. **Ativos Tropicais com Eficiência Comprovada**. Sorocaba: Chemyunion Química Ltda, 2002. 21p.

CHANG, C-K; HUANG, H-Y; TSENG, H-F.; HSUUW, Y-D.; TSO, T.K. Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, p. 39–45, 2007.

CHRISTEN, Y. Oxidative stress and Alzheimer’s disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 2, p. 621S-629S, 2000.

COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. Barueri: Manole, 2005.

CRUZ, G.F.; SANTOS, R.S.; CARVALHO, C.M.R.G; MOITA, G.C. Avaliação dietética em creches municipais de Teresina, Piauí, Brasil. **Revista de Nutrição**, v.14, n.1, p. 21-32, 2001.

DAL-PIZZOL, F.; KLAMT, F.; FROTA JR, M. L.C; ANDRADES, M.E FERNANDA F. CAREGNATO, F.F.; VIANNA, M.M.R.; SCHRÖDER, N.; QUEVEDO, J.; IZQUIERDO, I.; ARCHER, T.; MOREIRA, J.C.F. Neonatal iron exposure induces oxidative stress in adult Wistar rat. **Developmental Brain Research**, v.130, p. 109–114, 2001.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R.; **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. São Paulo: Artmed, 2010.

DANTAS, H.J. Estudo termoanalítico cinético e reológico de biodiesel derivado do óleo de algodão (*Gossypium hisutum*) / Hérmesson Jales Dantas. – João Pessoa, 2006. 86p.

DIAS, J.R.; GONÇALVES, E.C.B.A Avaliação do consumo e análise da rotulagem nutricional de alimentos com alto teor de ácidos graxos *trans*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.1, p. 177-182, 2009.

DILLIS V., TRICHOPOULOU A. Antioxidant intakes and food sources in Greek adults. **Journal of Nutrition** .v.140, n. 7, p.1274-9, 2010.

DOMITROVIC, R.; TOTA, M.; MILIN, C. Differential effect of high dietary iron on α -tocopherol and retinol levels in the liver and serum of mice fed olive oil- and corn oil-enriched diets. **Nutrition Research**, v.28, p. 263–269, 2008.

DUARTE, H. **O segredo do buriti**. Rio de Janeiro: Tv Globo, 2007. Disponível em: <<http://globoreporter.globo.com/TVGlobo/Jornalismo/Semanal/Globoreporter> >. Acesso em: 14 jan. 2007.

DUBOIS, V.; BRETON, S.; LINDER, M.; FANNI, J.; PARMENTIER, M. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. **European Journal of Lipid Science Technology**, v.109, p.710–732, 2007.

DURÃES, J.A.; DRUMMOND, A.L.; PIMENTEL, T.A.P.F.; MURTA, M.M.; MOREIRA, S.G.C.; SALES, M.J.A. Thermal and structural behavior of buriti oil/ poly(methyl methacrylate) and buriti oil/polystyrene materials. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 92, v.2, p. 529-534, 2008.

EL DASH, A.; GERMANI, R. **Tecnologia de farinhas mistas na produção de biscoitos**. Brasília: Embrapa, v.6, 1994.

FARIA, E.A.; LELIS, MIG.; IONASHIRO, M.; ZUPPA, T.O; ANTONIOSI FILHO, N.R. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. **Eclética química**, v. 27, p.121-133, 2002.

FAULKUS, R.M.; SOUTHWORTH, S. **Carotenoids, metabolism and disease**. In: Handbook of nutraceuticals and functional foods. Boca Raton: CRC Press, 2002. Cap. 9, p. 143-156.

FERREIRA, E.J.L. **Uso do buriti (*Mauritia flexuosa*) para a produção de biodiesel**. Rio Branco: INPA, 2005. 35p. Disponível em: <http://www.ufac.br/homepage/noticias_2007/062_projeto_buriti/relat_buriti_eletronorte_fun_tac.pdf> Acesso em: 02 nov., 2007

FLAVIO, E.F.; BARCELOS, M.F.P.; LIMA, A.L.; Avaliação química e aceitação da merenda escolar de uma escola estadual de Lavras–MG. **Ciência Agrotécnica**, v. 28, n. 4, p. 840-847, 2004.

FUNDO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DO ENSINO. **Merenda escolar: você Sabia?** <<http://www.fnnde.gov.br/vcsabia/vcsabia0002.html>>. Acesso em: 17 fev. 2002.

FREITAS, M.A.V. et al. Biomassa Energética Renovável para o Desenvolvimento Sustentável da Amazônia. **Revista Brasileira de Energia**, v.5, n.1, p.71-97, 1996.

FOLCH, J., LESS, M., STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n.1, p. 497-509. 1957

FOSTER, R.; Williamson, C.S; LUNN, J. Briefing paper: Culinary oils and their health effects. **Nutrition Bulletin**, v. 34, n.1, p. 4-47, 2009

FURR, H.C.; TRANUMINARDJO, S.A.; OLSON, J.A. **Training manual for assessing vitamin A status by use of the modified relative dose response and the relative dose response assays**. Washington: Office of Nutrition Bureau for Research na Development, 1992. 69p.

GALEANO, G. **Las palmas de la region de Araracuara**. 2ª ed. Estudios en la Amazônia. Colômbiana I. Bogotá: Tropembos-Colômbia, 1991. 180p.

GRAEBNER, I.T.; SAITO, C.H.; SOUZA, E.M.T. Avaliação bioquímica de vitamina A em escolares de uma comunidade rural. **Jornal de Pediatria**, v.83, n. 3, p. 247-252, 2007

GRANITO, M; VALERO, Y.; ZAMBRANO, R. Desarrollo de productos horneados a base de leguminosas fermentadas y cereales destinados a la merienda escolar. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 60, n.1, p. 85-92, 2010.

GORINSTEIN, S.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; LOJEK; C.I.Z., KRZEMINSKI, R.; ZACHWIEJAD, Z.; JASTRZEBSKIE, Z.; DELGADO-LICONF, E.; MARTIN-BELLOSO, O.; TRAKHTENBERGH, S. Seed oils improve lipid metabolism and increase antioxidant potential in rats fed diets containing cholesterol. **Nutrition Research**, v. 23, p. 317–330, 2003.

GUNSTONE, F.D. Vegetable Oils In: SHAHIDI, F. (Org.) **Bailey's Industrial Oil & Fat Products** 6ª ed. v.1, John Wiley & Son, New York, p.213-268, 2005.

GUNSTONE, F.D. **Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses**. Oxford: Blackwell Publishing, 2002.

HALLIWEL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4 ed. Oxford: university Press. 2007.

HAMRICK I, COUNTS SH. Vitamin and mineral supplements. **Wellness and Prevention**, v.35, n. 4, p.729-747, 2008.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**. v.22, n.8, p.475, 1973.

HERCBERG, S., GALAN, P., PREZIOSI, P., ROUSSEL, A.M., ARNAUD, J., RICHARD, M.J., MALVY, D., PAULDAUPHIN,A., BRIANCON, S., FAVIER, A. Background and rationale behind the SU.VI. MAX study, a prevention trial using nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals to reduce cardiovascular diseases and cancers. **International Journal for Vitamins and Nutrition Research**, v.68, n.1, p.3- 20, 1998.

HILL, S.E. A comparison of modern instruments for the analysis of the oxidation stability of fats, oils and foods. **Inform**, v.5, n.1, p.104- 109, 1994.

IOM. Institute of Medicine. **Vitamin A**. In: Dietary Reference Intakes for Vitamina A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington: National Academy Press, 2001, p.82-161..

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Quantidade e valor dos produtos de extração vegetal e da sicultura**. Brasil. 2000. Disponível em: <www.ibge.gov.br.> Acesso em: 08 abr. 2007.

IVCG. International Vitamin A Consultive Group. **Guidelines for the development of a simplified dietary assessment to identify groups at risk for inadequate intake of vitamin A**. Washington: IVCG, 1989.

JACOB, R.A. The integrated antioxidant system. **Nutrition Research**, v.15, n.5, p.755-766, 1995.

JACOBSON, M. S. Nutrição na adolescência. **Anais NESTLÉ**, São Paulo, v. 55, p. 24-33, 1998.

JACOMELLI, M.; PITOZZI, V.; ZAID, M.; LARROSA, M.; TONINI, G.; MARTINI, A.; URBANI, S.; TATICCHI, A.; SERVILI, M.; DOLARA, P.; GIOVANNELLI, L. Dietary extra-virgin olive oil rich in phenolic antioxidants and the aging process: long-term effects in the rat. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.21, p. 290–296, 2010.

JUN L.; TIAN, Y.X.; YANG, F.; PING-ZHANG, J.; SKIBISTED, L.H. Antioxidant synergism between carotenoids in membranes. Astaxanthin as a radical transfer bridge. **Food Chemistry**, v.115, n. 4, p.1437-1442, 2009.

KABAT, G.C; KIM, M.; ADAMS- CAMPBELL, L.L.; CAAN, B.J.; CHLEWBOLSKI, R.T.; NEUHOUSER, M.L.; SHIKANI, J.M.; ROHAN, T.E. Longitudinal study of serum carotenoid retinol and tocopherol concentrations in relation to breast cancer risk among postmenopausal women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.90, p. 162-169, 2009.

KLEMM R.D.W.; LABRIQUE A.B.; CHRISTIAN, P.; RASHID, M.; SHAMIM A.A.; KATZ, J.; SOMMER, A.; WEST, K.P. Newborn Vitamin A supplementation reduces infant mortality in rural Bangladesh. **Pediatrics**, v.122, p. 242–250, 2008.

KOBORI, C.N.; AMAYA. D.B. Uncultivated Brazilian Green leaves are richer sources of carotenoids than are commercially produced leafy vegetables. **Food and Nutrition Bulletin**, v.29, n. 4, p.320-328, 2008.

LARS, O. Biomarkers of exposure to vitamins A, C and E and their relation to lipid and protein oxidation markers. **European Journal of Nutrition**, v.47, n.2, p.3-18, 2008.

LIN, J.; XIAQUAN, L.; QIN, J.; SONG, F.; ZHANG, Y.; YAO, P.; YANG, X; LIEGANG, L. Effect of beta-carotene supplementation on health and growth of vitamin A deficient children in China rural villages: A randomized controlled Trial. **The European Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 4, p. 17–21, 2009.

LOHMAN, T.G.; ROCHE, A. F.; MARTORELL, R. **Anthropometrics Standardization Reference Manual**. Champaign: Human Kinetics Books, 1988.

MAJCHRZACK, D.; FABIAN E., ELMADFA, I. Vitamin A content (retinol and retinyl esters) in livers of different animals. **Food chemistry**, v.98, p. 704-710, 2006.

MALACRIDA, C.R. **Caracterização de óleos extraídos de sementes de frutas: composição de ácidos graxos, tocoferóis e carotenóides**. 2009. 107f. Tese (Doutorado em Ciência e tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita, São Paulo, 2009.

MANHÃES, L.R.T. **Caracterização da polpa do buriti (*Mauritia flexuosa*, M.): um potente alimento funcional**. 2007. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

MARIATH, J.G.R.; LIMA, M.C.C.; SANTOS, M.P. Vitamin A of Buriti (*Mauritia vinifera* Mart) and its effectiveness in treatment and prevention of xerophthalmia. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 49, p. 849-853, 1989.

MARTIN, F.W. **Perennial Edible Fruits of the Tropics**. Kansas City: United Department of Agriculture, 1990.

MARTINS, M.C.; OLIVEIRA, Y.P.; COITINHO, D.C.; SANTOS, L.M.P. Panorama das ações de controle da deficiência de vitamina A no Brasil. *Revista de Nutrição*, v. 20, n.1; p. 5-18, 2007.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. Consumer test and in-house panel acceptance tests. p. 119-141. In: Meilgaard, M.; Civille, G.V.; Carr, B.T. (Eds.). **Sensory Evaluation Techniques**. Florida: CRC Press Inc, 1988.

MEJIA, C. K. Utilization of palms in eleven mestizo villages of the peruvian amazon (Ucayali river, departament of loreto). **Advances in Economic Botany**, v. 6, p: 130-136, 1988.

MENDES, J.F.R.; ARRUDA, S.F.; SIQUEIRA, E.M.A.; ITO, M.K.; DA SILVA, E.F.. Iron status and oxidative stress biomarkers in adults: A preliminary study. **Nutrition**, v.25, p. 379–384, 2009.

MILAGRES, R.C.R.M.; NUNES, L.C.; PINHEIRO – ST’ANA, H.M. A deficiência de vitamina A em crianças no Brasil e no mundo. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.12, n. 5, p.1253-1266, 2007.

MONEIM, A.E.A; DKHIL, M.; AL-QURASHY, S. Effects of Flaxseed Oil on Lead Acetate-Induced Neurotoxicity in Rats. **Biological Trace Element Research**. 2011, In Press.

MORAIS, M.M.; PINTO, L.A.A.; ORTIZ, S.C.A.; CREXI, V.T.; SILVA, R.L., SILVA, J. D. Estudo do processo de refino do óleo de pescados. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.60, n.1, p.23-33, 2001.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n.2, p. 109-122, 2006.

MORETTO, E.; FETT, R.; **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais**. Rio de Janeiro, Varela, 1989. 150p.

MORETTO, E.; FETT, R.; Processamento e análise de biscoitos. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais**. São Paulo, Varela, 1999. 97p.

NAGARAJU, A; LOKESH, B.R. Interesterified coconut oil blends with groundnut oil or olive oil exhibit greater hypocholesterolemic effects compared with their respective physical blends in rats. **Nutrition Research**, v. 27, p.580–586, 2007.

NIKI, E. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, p. 503–515, 2010.

NISHINO, H.; MURAKOSHI, M.; TOKUDA, H; SATOMI, Y. Cancer prevention by carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.483, p. 165–168, 2009.

NOVELLI E L B, DINIZ Y S, GALHARDI C M, EBAID G M X, RODRIGUES H G, MANI F, A FERNANDES A, CICOGNA A C, NOVELLI FILHO J L V B. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animal**, v. 41, p.111–119, 2007.

OCHOCKA, R. J., WESOLOWSKI, M., LAMPARCZYK, H. Thermal analysis supported by principal component analysis of essential oil samples. **Termochimica Acta**, v.173, p. 199-210, 1990.

OHARA, N; NAITO, Y.; KASAMA, K.; SHINDO, T.; YOSHIDA, H; NAGATA, T; OKUYAMA, H Similar changes in clinical and pathological parameters in Wistar Kyoto rats after a 13-week dietary intake of canola oil or a fatty acid composition-based interesterified canola oil mimic. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p.157–162, 2009.

ÕKVA, K; TAMOSEVICIUTE, E.; CIZIUTE, A.; POKK, P.; RUKSENAS, O.; NEVALAINEN, T. Refinements for Intragastric Gavage in Rats. **Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science**, v. 33, n. 4, p. 243-252, 2006

PAGLIA, D.E.; VALENTINE, W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory Clinical and Medicine*, v. 70, 158-169, 1967.

PERES, W.A.F.; PAULA, T.P.; SAILVA, R.A.N.R.; COELHO, H.S.M. A atuação da vitamina A e carotenóides na hepatocarcinogênese. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 49, n. 2, p.113-120, 2003.

PERES, A.P. **Desenvolvimento de um biscoito tipo *cookie* enriquecido com cálcio e vitamina D**. 2010. 93f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

PRADO MS, ASSIS AMO, MARTINS MS, NAZARÉ MPA, REZENDE IFB, CONCEIÇÃO MEP. Hipovitaminose A em crianças de áreas rurais do semi-árido baiano. **Revista de Saude Publica**, v. 29, n.4, p. 295–300, 1995.

POLÍTICA NACIONAL DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO. PNAN. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde. Série B- textos básicos de saúde, 2003. 48p.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, v.67, n.5, p.289-297, 1997.

QUÍLEZ, J.; RUIZ, J.A.; BRUFAU, G.; RAFECAS, M. Bakery products enriched with phytosterols, a-tocopherol and b-carotene. Sensory evaluation and chemical comparison with market products. **Food Chemistry**, v. 94, p. 399–405, 2006.

RAMALHO, R.A.; ANJOS, L.A.; FLORES, H. Valores séricos de vitamina A e teste terapêutico em pré-escolares atendidos em uma unidade de saúde do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista de Nutrição**, v. 14, n.1, p. 5-12, 2001.

RAMALHO, R.A.; FLORES, H.; SAUNDERS, C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v.12, n.2, p. 117-123, 2002.

RANUM, P. Fortification of high extraction wheat flour. **Cereal Foods World**, v.45, n. 6, p.267–268, 2000.

RAO, AV; RAO, LG. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**, v.55, p. 207–216, 2007.

RAVI, R; PRAKASH,M.; BHAT, K.K.. Sensory odour profiling and physical characteristics of edible oil blends during frying. **Food Research International**, v. 38, p. 59–68, 2005.

RE, R.. **Desempenho de crianças em testes sensoriais discriminativos e afetivos com escalas híbridas ilustradas**. 2006. 150 f. Tese (Doutorado em Ciência do Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2006

REEVES, P.G; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN- 93: Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition and the writing committee on the reformulation of the American Institute of Nutrition (AIN) -76^a rodent diet. **The Journal of Nutrition**, v. 123, p.1939-1951, 1993.

RIBEIRO, B.D.; NASCIMENTO R.F.; BARRETO, D.W.; COELHO, M.A.Z.; FREITAS, S.P. An ethanol-based process to simultaneously extract and fractionate carotenoids from *mauritia flexuosa* pulp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 657-663, 2010.

RODRIGUES, M.A.A.; LOPES, G.S.; FRANÇA, A.S; MOTTA, S. Desenvolvimento de formulações tipo cookie contendo café. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.1, p. 162-169, 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**. Brasília: MMA/SBF, 2008. 100 p.

RODRIGUEZ-AMAYA. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids—A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, p. 726–740, 2010.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.; PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

ROSSO, V.V.; MERCADANTE, A.Z. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS from Amazonian Fruits. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.55, p. 5062-5072, 2007.

RUFINO, M.S.M.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; ALVES, R.E.; DE BRITO, E.S.; OLIVEIRA, M.S.P.; SAURA-CALIXTO, F. Açai (Euterpe oleraceae) 'BRS Pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. **Food Research International**, 2011, In press.

SABERI, A.H.; KEE, B.B.; OI-MING, L.; MISKANDAR, M.S., Physico-Chemical Properties of Various Palm-Based Diacylglycerol Oils in Comparison with Their Corresponding Palm-Based Oils, **Food Chemistry**, 2011, In press.

SALAY, E. **Composição de Alimentos: Uma abordagem multidisciplinar**. Campinas, São Paulo: Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação. 2005.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. **Food Science and Technology International**, v.8, p. 121, 2002.

SAYDELLES, B. M.; OLIVEIRA, V.R; VIERA, V.B.; MARQUES, C.T.; DA ROSA, CS. Elaboração e análise sensorial de biscoito recheado enriquecido com fibras e com menor teor de gordura. **Ciência Rural**, v.40, n.3, p.644-647, 2010.

SCHLEMMER, D.; SALES, MJA. Thermoplastic starch films with vegetable oils of Brazilian Cerrado. **Journal of Thermal Analysis Calorimetry**, v. 99, p. 675–679, 2010.

SEN, C.K.; KHANNA, S.; ROY, S. Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. **Life Science**, v.78, p. 2088–2098, 2006.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**. v.17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.215, n.2, p.213- 219, 1993.

SILVA, S.M.; SAMPAIO, K.A.; TAHAM, T.; ROCCO, S.A.; CERIANE, R.; MEIRELLES, A.J. Characterization of Oil Extracted from Buriti Fruit (*Mauritia flexuosa*) Grown in the Brazilian Amazon Region. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 86, p. 611–616, 2009.

SOARES, A.G. **Extração de purificação de β -caroteno (*Mauritia flexuosa*)**. 1999. 95f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n.1, p. 71-81, 2002.

SOMMER, A.; DAVIDSON, F.R. Assessment and Control of Vitamin A Deficiency: The Annecy Accords. **The Journal of Nutrition**, v.132, p. 2845S-2850S, 2002.

SOUZA, M.L.; RODRIGUES, R.S.; FURQUIM, M.F.G.; EL-DASHI, A.A. Processamento de cookies de castanha-do-Brasil. **Boletim do CEPPA**, v. 19, n. 2, p. 381-390, 2001.

SPLITZ, D.R.; OBERLEY, L.W. An assay for Superoxide Dismmutase activity in Mammalian Tissue homogenates. **Analytical Biochemistry**, v. 179, p. 8-18, 1989.

STAHL, W.; SUNDQUIST, A.R.; HANUSCH, M., SCHWARZ, W.; SIES, H. Separation of beta-carotene and lycopene geometrical isomers in biological samples. **Clinical Chemistry**, v. 39, n.5, p. 810-814, 1993.

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, n. 6, p. 345-351, 2003.

SUGIMOTO, L. Sabores da beira do rio e da mata. **Jornal da UNICAMP**, p. 12, jul, 2007.

SZWEDA, P.A; FRIGUET, B.; SZWEDA, L.I. Proteolysis, free radicals, and aging. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 33, n. 1, p. 29–36, 2002.

SUN, L.; SHEN, W.; LIU, Z.; GUAN, S.; LIU, J.; DING, S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: Effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. **Life Sciences**, v. 86, p. 39–44, 2010.

SUZUKI, K; ITO, Y; INOUE, T ; HAMAJIMA, N. Inverse association of serum carotenoids with prevalence of metabolic syndrome among Japanese. **Clinical Nutrition**, p.1-7, 2011. In press.

TAVARES, M.; PIMENTEL, S. A.; JORGE, L. I. F.; LAMARDO, L. C. A.; CAMPOS, N. C. Composição química e estudo histológico do fruto do buriti nativo do município de Buritizal, Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 15., 1996, Poços de Caldas. **Resumos...** Poços de Caldas: SBCTA, 1996. p. 267.

UNICEF. **Crianças e adolescentes no Piauí: saúde, educação e trabalho**. Teresina, 1992. 135p.

VALAVANIDIS, A.; NISIOTOU, C; PAPAGEORGIOU, Y; KREMLI, L.; SATRAVELAS, N.; ZINIERIS, N; ZYGALAKI, H. Comparison of the Radical Scavenging Potential of Polar and Lipidic Fractions of Olive Oil and Other Vegetable Oils under Normal Conditions and after Thermal Treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n.8, p.2358-2365, 2004.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOLA, J.; CRONIN, MTD; MAZURA, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of biochemistry & Cell Biology**, v.39, p. 44-84, 2007.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3^a ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 1992, 1219p.

VANZANI, P.; ROSSETTO, M.; DE MARCO, V. RIGO, A.; SCARPA, M. Efficiency and capacity of antioxidant rich foods in trapping peroxy radicals: A full evaluation of radical scavenging activity. **Food Research International**, v. 44, p.269–275, 2011.

VIEIRA, T.A.C.R.F. Os alimentos naturais do cerrado. **Revista Economia e Desenvolvimento**. v.1, p. 92-93, 2004.

VIEIRA, R.F.; COSTA, T.S.A; DA SILVA, D.B.; FERREIRA, F.R.; SANO, S.M. **Frutas nativas da Região do Centro Oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.320 p.

VITTI, P. **Avaliação tecnológica dos produtos elaborados com farinha de trigo: pão, macarrão, biscoito**. Campinas: ITAL, 1992. 42 p.

WEST JR, J.P. Vitamin A deficiency disorders in children and women. **Food and Nutrition Bulletin**, v.24, p. S78-S90, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes**, Geneva: World Health report, 1996.

WHO: PROGRAMMES AND PROJECTS. The WHO **Reference 2007: growth reference data for 5 – 19 years**. Disponível em: <<http://www.who.int/growthref/en/>>. Acesso em 5 dez 2008.

YU, S.; YAN FENG, Y.; SHEN, Z.; LI, M. Diet supplementation with iron augments brain oxidative stress status in a rat model of psychological stress. **Nutrition**, p. 1–5, 2011, In press.

YUYAMA, L.K.O; YONEKURA, L.; AGUIAR, J. P. L; SOUSA, R. F. S. Biodisponibilidade dos carotenóides do Buriti (*Mauritia flexuosa L.*) em ratos. **Acta Amazonica**, v.28, n. 4, p. 409-15, 1998.

ZAIDI, S.M.K.R.; BANU, N. Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. **Clinica Chimica Acta**, v.340, p. 229–233, 2004.

ZAMBONIN, L.; PRATA, C.; CABRINI, L.; MARALDI, T.; FIORENTINI, D.; DALLA SEGA, F.V.; HAKIM, G.; LANDI, L. Effect of radical stress and ageing on the occurrence of trans fatty acids in rats fed a trans-free diet. **Free Radical Biology & Medicine**, v.44, p. 594–601, 2008.

ZANATTA, CF; UGARTONDO, V.; MITIJANS, M.; ROCHA-FILHO, PA.; VINARDELL, MP. Low cytotoxicity of creams and lotions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) assessed by the neutral red release test. **Food and Chemical Toxicology**, n.46, p. 2776–2781, 2008.

ZHANG, X; CHEN, K; QU P; LIU, Y-X; TING-YU, L. Effect of biscuits fortified with different doses of vitamin A on indices of vitamin A status, haemoglobin and physical growth levels of pre-school children in Chongqing. **Public Health Nutrition**, v. 13, n. 9, p.1462–1471, 2010.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Ficha de avaliação sensorial de biscoitos adicionados de óleo de buriti utilizada pelos julgadores adultos

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE BISCOITOS ADICIONADOS DE ÓLEO DE BURITI

Teste Sensorial

Nome: _____ Data: __/__/__

Faixa etária:
 menos de 20 anos
 de 20 a 25 anos
 de 26 a 30 anos
 de 31 a 40 anos
 mais de 40 anos

Sexo:
 masculino
 feminino

Ocupação:
 aluno de Pós-graduação
 aluno de graduação
 professor
 funcionário

Você está recebendo amostras biscoitos. Por favor, **anote o número da amostra, prove e avalie** utilizando a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou do produto.

	Amostra n° _____	Amostra n° _____	Amostra n° _____
1. Gostei extremamente	Aparência _____	Aparência _____	Aparência _____
2. Gostei muito	Aroma _____	Aroma _____	Aroma _____
3. Gostei moderadamente	Textura _____	Textura _____	Textura _____
4. Gostei ligeiramente	Sabor _____	Sabor _____	Sabor _____
5. Indiferente	Aceitação Global _____	Aceitação Global _____	Aceitação Global _____
6. Desgostei ligeiramente			
7. Desgostei moderadamente			
8. Desgostei muito			
9. Desgostei extremamente			

Após ter avaliado o biscoito, indique na escala abaixo o grau de certeza no qual você estaria disposto a comprar este biscoito, se o encontrasse à venda:

Amostra n° _____

Amostra n° _____

Amostra n° _____

- | | | |
|---|---|---|
| <input type="checkbox"/> Certamente não compraria | <input type="checkbox"/> Certamente não compraria | <input type="checkbox"/> Certamente não compraria |
| <input type="checkbox"/> Provavelmente não compraria | <input type="checkbox"/> Provavelmente não compraria | <input type="checkbox"/> Provavelmente não compraria |
| <input type="checkbox"/> Talvez comprasse, talvez não comprasse | <input type="checkbox"/> Talvez comprasse, talvez não comprasse | <input type="checkbox"/> Talvez comprasse, talvez não comprasse |
| <input type="checkbox"/> Provavelmente Compraria | <input type="checkbox"/> Provavelmente Compraria | <input type="checkbox"/> Provavelmente Compraria |
| <input type="checkbox"/> Certamente Compraria | <input type="checkbox"/> Certamente Compraria | <input type="checkbox"/> Certamente Compraria |

Classifique as amostras de acordo com sua **preferência**.

1° Amostra n° _____

2° Amostra n° _____

3° Amostra n° _____

APÊNDICE B - Ficha de avaliação sensorial de biscoitos adicionados de óleo de buriti utilizada por crianças

Nome: _____ Idade: _____

Série: _____ Data: _____



Horrível



Muito ruim



Ruim



Mais ou menos



Bom



Muito bom



Ótimo

Comentários: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa e precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo qualquer dúvida que você tiver. Este estudo está sendo conduzido por professores e alunos vinculados ao curso de Nutrição da Universidade Federal do Piauí e de Pernambuco. Após ser **esclarecido(a)** sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma.

ESCLARECIMENTOS SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: **Avaliação sensorial de biscoitos adicionados de óleo de buriti**

Pesquisador Responsável: **Jailane de Souza Aquino**

Telefone para contato (inclusive ligações a cobrar): (083) 9990-8225

◆ Sua criança será avaliada quanto ao consumo de alimentos fontes de vitamina A. Durante a entrevista será preenchido um formulário para posterior estudo. Não há benefício direto para o participante, pois se trata de estudo experimental.

◆ Sua criança será treinada e poderá avaliar biscoitos adicionados de óleo de buriti, dizendo se gostou ou não do novo produto.

◆ Sua criança será pesada e terá sua altura medida. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

◆ Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei ou por sua solicitação, somente o pesquisador, a equipe do estudo, representantes do patrocinador (quando presente) Comitê de Ética independente e inspetores de agências regulamentadoras do governo (quando necessário) terão acesso a suas informações para verificar as informações do estudo).

◆ O estudo terá duração de 3 meses, de março a maio de 2010, mas o senhor(a) tem o direito de retirar o **consentimento** a qualquer tempo.

◆ Nome e Assinatura do pesquisador _____

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____, RG _____, CPF _____, abaixo assinado, como pai/ mãe ou responsável por _____, concordo em deixá-lo participar do estudo, como sujeito. Fui suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **Avaliação sensorial de biscoitos adicionados de óleo de buriti**” Eu discuti com a Professora **Jailane de Souza Aquino** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos

APÊNDICE D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) utilizado na análise sensorial de biscoitos realizada por adultos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre Elaboração e Caracterização de biscoitos adicionados de óleo de buriti e está sendo desenvolvida por Jailane de Souza Aquino e Maíra Felinto Lopes, a primeira, aluna do Programa de Pós Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, a segunda aluna especial do Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Prof. Ricardo Targino Moreira.

O objetivo do estudo é o de elaborar e caracterizar os aspectos físico-químicos, e sensoriais do biscoito adicionado de óleo de buriti.

A finalidade deste trabalho é contribuir para a disseminação e melhor aceitação dos produtos derivados do fruto de buriti que são fontes de vitamina A.

Solicitamos a sua colaboração para preenchimento dos formulários de aceitabilidade dos produtos elaborados, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e alimentos, e em revistas científicas. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos ainda que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para a sua saúde.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição.

Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa

APÊNDICE E – Questionário de Frequência Alimentar (QFA) para avaliar o consumo de alimentos fontes de vitamina A por crianças de 7 a 10 anos.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

Questionário oficial de frequência de alimentos fontes de vitamina A como coleta de dados para projeto de pesquisa “Avaliação sensorial de biscoitos adicionados de óleo de buriti por crianças entre 7 e 10 anos”.

Escola: _____ **Nº do Questionário:** _____ **Data:** ___/___/___

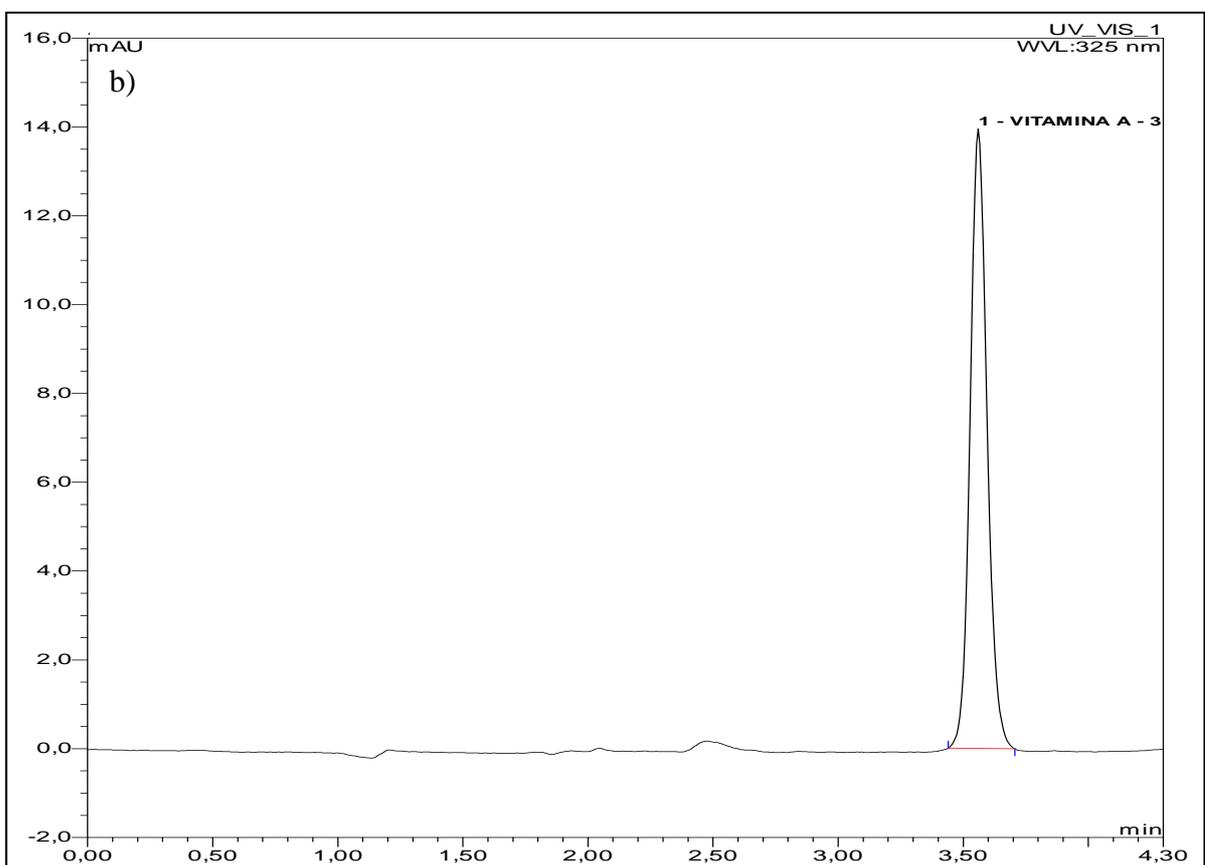
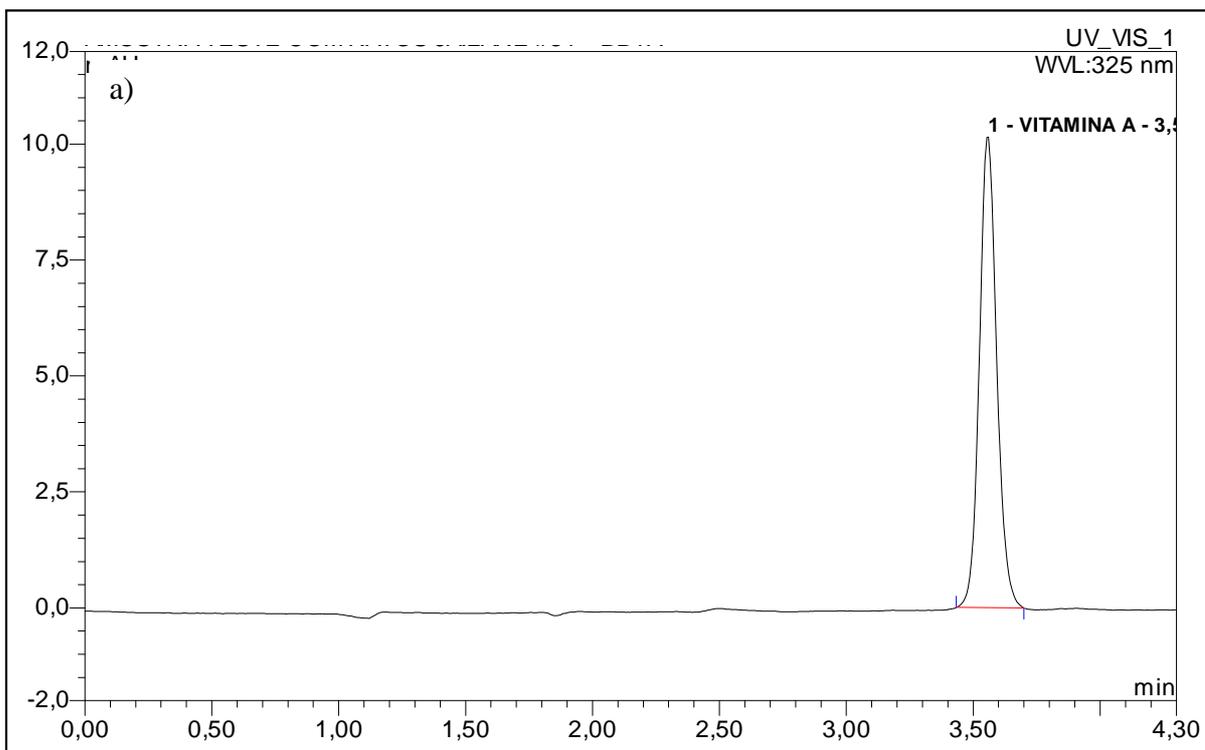
Nome da criança: _____ **Sexo:** _____ **Data nascimento:** ___/___/___

***Peso** _____ **Altura** _____

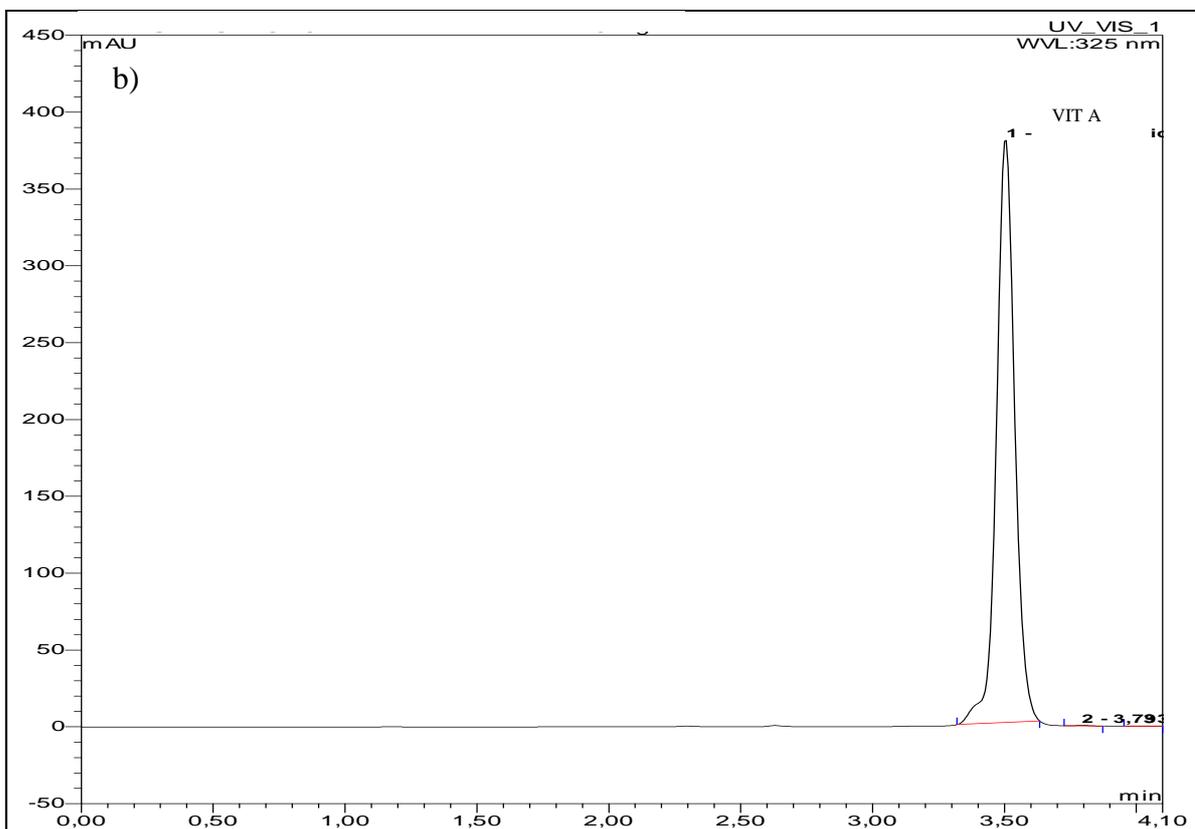
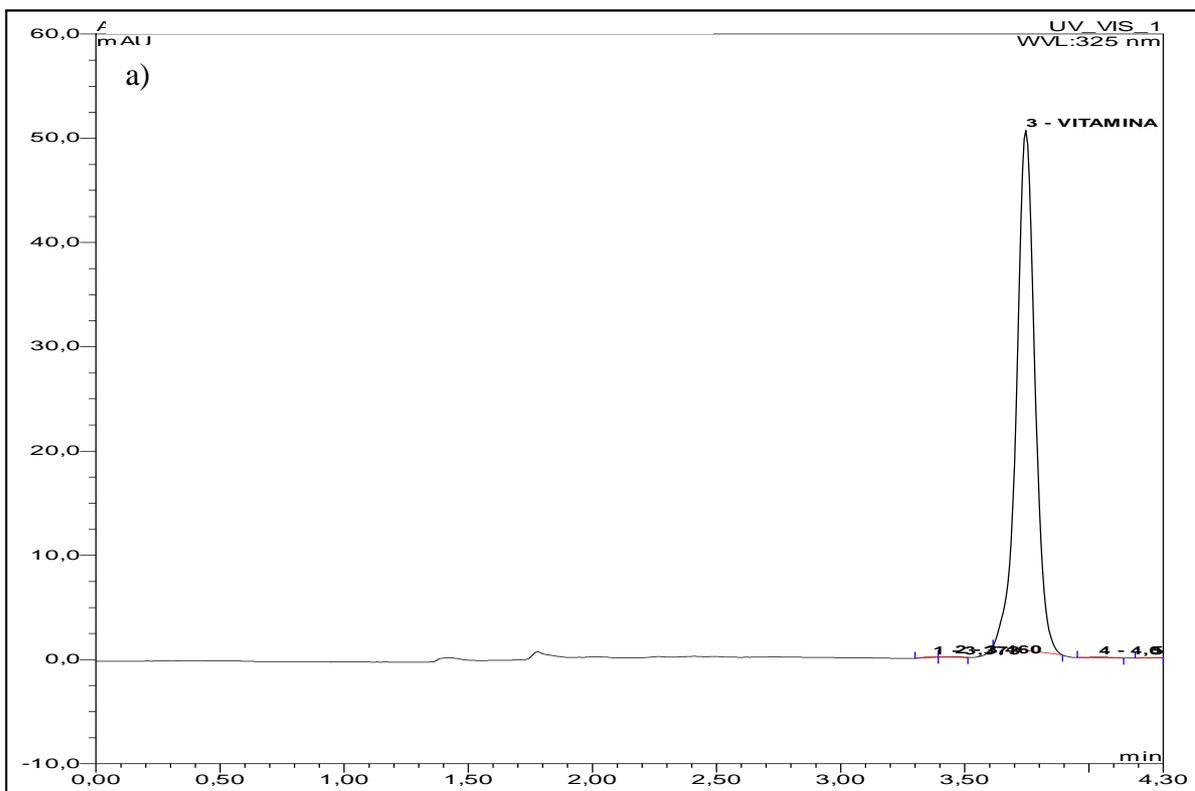
ALIMENTOS	FREQUÊNCIA DO CONSUMO						
	Nunca	1 vez/ mês	2-3 vezes/ mês	5 vezes ou mais/ semana	2-4 vezes/ semana	1 vez/ semana	1 vez / dia
Ovo – 1 unidade							
Fígado bovino – 1 fatia							
Manteiga – 1 colher de sopa							
Leite – 1 copo médio							
Queijos amarelos (prato, mussarela, de manteiga, etc.) – 1 fatia							
Peixes – 1 unidade							
Tomate – 1 unidade							
Pimentão – 1 unidade							
Cenoura – 1 unidade							
Jerimum ou abóbora -							
Brócolis – 1 xícara							
Espinafre - 1 xícara							
Couve – 1 xícara							
Acelga – 1 xícara							
Batata – doce – 1 unidade							
Milho - 1 espiga							
Cuscuz – 1 fatia média							
Manga – 1 unidade média							
Abacate – 1 fatia							
Laranja – 1 unidade							
Goiaba – 1 unidade							
Melão – 1 fatia							
Mamão – 1 fatia							
Pequi – 1 unidade							
Murici – 1 unidade							
Bacuri – 1 unidade							
Polpa de buriti – 1 copo de suco							
Doce de buriti – 1 fatia							
Óleo de buriti – 1 colher de sopa							

Nome do entrevistador: _____

APÊNDICE F – Cromatogramas típicos de vitamina A presente em amostras de sangue de ratos alimentados com óleo de soja (a) ou de buriti (b)



APÊNDICE G – Cromatogramas típicos de vitamina A presente em amostras de fígado de ratos alimentados com óleo de soja (a) ou de buriti (b)



ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA-UFPB
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY-HULW
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

CERTIDÃO

Com base na Resolução nº 196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, em sua sessão realizada dia 25/08/09, após análise do parecer do relator, resolveu considerar **APROVADO** o projeto de pesquisa intitulado **AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE BISCOITO DOCE ELABORADO COM ÓLEO DE BURITI**. Protocolo CEP/HULW Nº. 146/09, dos pesquisadores Jailane de Sousa Aquino, Máira Felinto Lopes e Ricardo Targino Moreira (Orientador).

Solicitamos enviar ao CEP/HULW; um resumo sucinto dos resultados em CD, no final da pesquisa.

João Pessoa 26 de agosto 2009.

Iaponira Cortez Costa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa - CEP/HULW

Iaponira Cortez Costa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-HULW

ANEXO B - Parecer Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos – UFPE



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 366/2010 - CEP/CCS

Recife, 21 de dezembro de 2010

Registro do SISNEP FR – 381127

CAAE – 0429.0.172.000-10

Registro CEP/CCS/UFPE N.º 403/10

Título: **Avaliação da aceitação de biscoito doce adicionado de óleo de buriti: uma proposta de inclusão de alimentos regionais na merenda escolar.**

Pesquisador Responsável: Jailane de Souza Aquino

Senhor(a) Pesquisador(a):

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, liberando-o para início da coleta de dados em 08 de dezembro 2010.

Ressaltamos que a aprovação definitiva do projeto será dada após a entrega do relatório final, conforme as seguintes orientações:

- a) Projetos com, no máximo, 06 (seis) meses para conclusão: o pesquisador deverá enviar apenas um relatório final;
- b) Projetos com períodos maiores de 06 (seis) meses: o pesquisador deverá enviar relatórios semestrais.

Dessa forma, o ofício de aprovação somente será entregue após a análise do relatório final.

Atenciosamente

Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Coordenador de CEP/ CCS / UFPE

A
Doutoranda Jailane de Souza Aquino
Programa de Pós-Graduação em Nutrição- CCS/UFPE

ANEXO C – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais - UFPE

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Ofício nº 233/09

Recife, 24 de novembro de 2009.

Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE

Para: **Tânia Lúcia Montenegro Stamford**

Departamento: Nutrição / UFPE

Processo nº 23076.015472/2009-25

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado: **“Avaliação físico-química e nutricional do óleo de burití em ratos e sua utilização em dieta para escolares.”**

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Observação: Origem dos animais: Biotério de Criação do Departamento de Nutrição da UFPE; Animais: Ratos: Linhagem: Wistar; Sexo: Machos; Idade: 21 dias; Nº de Animais previsto no projeto: 30 Ratos

Atenciosamente,

 Prof. Maria Teresa Jansen
Presidente do CEEA

ANEXO D – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais UFPE

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Recife, 10 de maio de 2010

Ofício nº 270/2010

Da Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Profa. Tânia Lucia Montenegro Stamford**
Departamento de Nutrição
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076. 001000/2010-29

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO ÓLEO DE BURITI EM RATOS.**"

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Observação:
Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição;
Animais: Ratos; Linhagem: Wistar; Sexo: Machos; Idade: 21 dias;
Número de animais previsto no projeto: 40 (quarenta) animais.

Atenciosamente,

RECEBIDO EM:
NOME:
ASSINATURA:

19/05/2010
Dr. [Handwritten Signature]

CCB: Integrar para desenvolver

Anexo E – Documentação de encaminhamento do artigo

• **[JBCS] - New Submission Reference 304/11**

13:58

[Responder ▼](#)

office@jbcs.sbq.org.br

[Adicionar a contatos](#)

Para lalaaquino@hotmail.com



Os anexos, as imagens e os links desta mensagem foram bloqueados para sua segurança.

[Mostrar conteúdo](#) | [Sempre mostrar conteúdo para office@jbcs.sbq.org.br](#)

REF. : 304/11

Prof. Aquino, Jailane,

Thank you for submitting your manuscript "Refining of buriti oil (Mauritia flexuosa) originated from in the 1 Brazilian Cerrado: 2 physicochemical, thermal-oxidative and nutritional implications" for publication in the Journal of the Brazilian Chemical Society, JBCS.

Its REFERENCE number is 304/11.

Please always use this number in any correspondence regarding this manuscript. Your manuscript will be evaluated as soon as possible and we will get in touch with you in due course.

At any stage you may check the status of your manuscript by logging onto the JBCS website (jbcs.sbq.org.br). In case of any questions, please contact our Editorial Office at office@jbcs.sbq.org.br.

Thank you for your interest in the JBCS.

Sincerely,

Angela Ramalho
Editorial Manager - JBCS
IQ - UNICAMP
CP 6154
13084-970 Campinas, SP (Brazil)

tel/fax: +55.19.3521.3151
web: <http://jbcs.sbq.org.br>
office@jbcs.sbq.org.br

ANEXO F - Documentação de encaminhamento do artigo

[AA] Agradecimento pela Submissão

De: **Ricardo Antonio Marengo** (acta@inpa.gov.br)
Enviada: terça-feira, 22 de fevereiro de 2011 2:58:25
Para: Jailane de Souza Aquino (lalaaquino@hotmail.com)

Prezado(a) autor(a) Jailane de Souza Aquino,

Agradecemos a submissão do seu manuscrito "Viabilidade do processamento de biscoito doce adicionado de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.)" para Acta Amazonica. Através da interface de administração do sistema, utilizado para a submissão, será possível acompanhar o progresso do documento dentro do processo editorial, bastando logar no sistema localizado em:

URL do Manuscrito:

<http://submission.scielo.br/index.php/aa/author/submission/51354>

Login: jailane

Em caso de dúvidas, envie suas questões para este email. Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de transmitir ao público seu trabalho.

Atenciosamente,

Ricardo Antonio Marengo

Acta Amazonica

Acta Amazonica

<http://submission.scielo.br/index.php/aa>