

## BIODISPONIBILIDADE DOS CAROTENOIDES PRÓ-VITAMÍNICOS A EM ABÓBORAS BIOFORTIFICADAS (*Cucurbita moschata* Duch)

### PRO-VITAMIN A CAROTENOIDS BIOAVAILABILITY IN BIOFORTIFIED PUMPKINS (*Cucurbita moschata* Duch)

Lucia Maria Jaeger de Carvalho<sup>1</sup>, Ediane Maria Gomes Ribeiro<sup>1</sup>, Jose Luiz Viana de Carvalho<sup>2</sup>, Dayane Cutcher Barbosa<sup>1</sup>, Amanda Antonio Fernandez<sup>1</sup>, Ingrid Maroto Karse<sup>1</sup>, Ana Paula Mascarenhas<sup>1</sup>, Ana Carolina Damasceno<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Doutora, Universidade Federal do Rio de Janeiro, luciajaeger@gmail.com

<sup>2</sup>Mestre em Ciência e Tecnologia, Embrapa Agroindústria de Alimentos, jlvcarvalho@gmail.com

<sup>4</sup>Graduanda em Farmácia – bolsista IC/FAPERJ, UFRJ, day.cutcher@globomail.com

<sup>5</sup>Graduanda - bolsista IC, UFRJ, amanduca95@hotmail.com

<sup>6</sup>Graduanda - bolsista IC, UFRJ, ingridmaroto@yahoo.com.br

<sup>7</sup>Graduanda em Farmácia – bolsista IC/FAPERJ, UFRJ, apaula.ml03@gmail.com

<sup>8</sup>Graduanda - bolsista IC/FAPERJ, UFRJ, caroldamascenosoc@gmail.com

**RESUMO** - A biofortificação é uma estratégia sustentável que visa reduzir deficiências de micronutrientes em populações vulneráveis, aumentando seu conteúdo, como por exemplo, os carotenoides, em alimentos básicos da dieta. Visando isto, a abóbora (*Cucurbita moschata* Duch) pode ser um alimento com potencial para a biofortificação por ser considerada fonte de carotenoides com atividade pró-vitamínica A. O objetivo deste estudo foi avaliar a biodisponibilidade dos carotenoides pró-vitamina A em abóboras biofortificadas, em diferentes métodos de cozimento. A bioacessibilidade e a biodisponibilidade dos carotenoides pró-vitamina A foram determinadas pela sua transferência para micelas mistas durante a digestão *in vitro* e confirmada pela sua acumulação em células intestinais humanas Caco-2. Pôde-se verificar que as abóboras contêm elevados teores de carotenoides (>200 µg/g) e a sua retenção foi superior a 78% após os métodos de cozimento, demonstrando estabilidade. A bioacessibilidade do β-caroteno e α-caroteno foi baixa (<4,8%), altamente variáveis e afetadas pela matriz alimentar e método de cozimento. Desta forma, pode-se concluir que as abóboras biofortificadas, mesmo com baixa bioacessibilidade, são fontes de vitamina A, podendo fornecer acima de 40% das necessidades diárias recomendadas, em porção de 100 gramas, para crianças de 4 à 8 anos de idade. Contudo, são necessários mais estudos a fim de melhorar a liberação dos carotenoides a partir da matriz alimentar.

**Palavras-chave:** abóbora, carotenoide, biofortificação, células Caco-2.

**ABSTRACT** - The biofortification is a sustainable strategy to reduce micronutrient deficiencies in vulnerable populations by increasing its content, as carotenoid in staple foods diet. Therefore, the pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch) can be a food with potential for biofortification, as it is considered a source of carotenoids with pro-vitamin activity A. The aim of this study was to evaluate the bioaccessibility and bioavailability of provitamin A carotenoids in biofortified pumpkins, with different cooking methods. The bioaccessibility and bioavailability of provitamin A carotenoids were determined by their transfer to mixed micelles during the *in vitro* digestion and confirmed by its accumulation in Caco-2 human intestinal cells. It could be observed pumpkins had high contents of carotenoids (> 200 µg/g) and the retention was greater than 78% after cooking methods, demonstrating stability. The bioaccessibility of β-carotene and α-carotene was low (<4.8%), highly variable and affected by food matrix and cooking method applied. It can be concluded that the biofortified pumpkins, even with low bioaccessibility of carotenoid, are sources of vitamin A, may provide over 40% of the Estimated Average Requirement (EAR) of vitamin A for children 4-8 years of age. However, more studies are needed to improve the release of carotenoids from the food matrix.

**Keywords:** pumpkin, carotenoid, biofortified, Caco-2 cells.

## INTRODUÇÃO

Os carotenoides compõem um dos grupos de pigmentos naturais mais extensamente encontrados na natureza, responsáveis pelas colorações do amarelo ao vermelho de flores, folhas, frutas, algumas raízes, gema de ovo, lagosta e outros crustáceos (QUIRÓS; COSTA, 2006; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2007). Dentre as várias funções que lhes são atribuídas destaca-se, em termos nutricionais, o fato de alguns pigmentos atuarem como precursores da vitamina A (RODRIGUES; PENTEADO, 1989). O  $\beta$ -caroteno é a mais abundante fonte de pró-vitamina A presente nos alimentos (PALOZZA et al., 2003), contudo, vários fatores afetam a biodisponibilidade dos carotenoides, como seu estado físico no alimento, o tipo de tratamento ou cozimento, a presença de outros nutrientes ou não nutrientes no alimento, bem como as variações sazonais e origem geográfica (O'CONNELL et al., 2008; AHERNE et al., 2009; FAILLA; THAKKAR; KIM, 2009). A abóbora (*Cucurbita moschata Duch*), da família Cucurbitaceae, é amplamente cultivada e consumida em muitos países no mundo e apresentam elevadas concentrações de carotenoides, principalmente  $\beta$  e  $\alpha$ -caroteno (BOITEUX et al., 2007; RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008). Tendo em vista a necessidade da população de baixa renda brasileira ter acesso a alimentos de baixo custo com elevado conteúdo de micronutrientes biodisponíveis, necessários a uma boa saúde e, conseqüentemente, que melhorem seu *status* nutricional, a introdução de novos genótipos de abóbora que apresentem elevados teores de carotenoides totais ( $\beta$ -caroteno, principalmente) se faz necessária, bem como o estudo da bioacessibilidade destes nutrientes após o cozimento.

## MÉTODOS

As amostras de abóbora foram produzidas na Embrapa Tabuleiros Costeiros (genótipos 58, 129 e 346), em Frei Paulo/Sergipe, e na Embrapa Semiárido (genótipos 12 e 13), em Petrolina/Pernambuco. Após seu recebimento, foram submetidas a três métodos de cozimento (imersão em água – 5 minutos, vapor – 7 minutos e imersão em água com adição de açúcar, correspondendo ao doce – 5 minutos). Os experimentos de cozimento foram realizados no Laboratório de Tecnologia e Análise Instrumental de Alimentos/UFRJ. A digestão *in vitro* acoplada ao modelo de célula intestinal humana Caco-2 foram realizadas na Ohio State University/EUA, de acordo com Thakkar *et. al* (2007) e, a extração dos carotenoides segundo (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, 2010) e Seo *et al.* (2005), com modificações. Os carotenoides foram separados, identificados e quantificados, como descrito por Chitchumroonchokchai et al. (2004).

Os resultados foram expressos como média ( $\pm$  desvio padrão). Para análise estatística dos resultados, utilizou-se o programa GraphPad Prism, versão 6.05 (GraphPad Software, Inc, CA, EUA). Todos os dados foram analisados pela análise de variância ANOVA, seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey, para identificar diferenças significativas entre as médias ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os carotenoides mais abundantes encontrados nos cinco genótipos de abóbora biofortificadas foram o todo-*E*- $\beta$ -caroteno e o  $\alpha$ -caroteno. As concentrações dos carotenoides precursores de vitamina A nas abóboras variaram de 209  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (genótipo 346) a 658  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (genótipo 12), em base fresca. Os percentuais de todo-*E*- $\beta$ -caroteno variaram de 52% (genótipo 13) a 90% (genótipo 129) do conteúdo de carotenoides totais. A quantidade de retinol equivalente ( $\text{RE} = \text{todo-}E\text{-}\beta\text{C} + \frac{1}{2} (\text{Z-}\beta\text{C} + \alpha\text{C})$ ) variou de 184 a 522  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Embora as abóboras estudadas apresentaram elevadas concentrações de carotenoides com atividade pró-vitáminica A, revelaram baixos valores na eficiência da micelarização após digestão *in vitro*, abaixo de 4,8%. Tal resposta é um indício de que os carotenoides presentes nas abóboras foram pouco biodisponíveis. Adicionalmente, os resultados entre os genótipos foram variáveis e afetados pela matriz alimentar e, pelo método de cozimento. Por outro lado, a captação celular foi mais elevada, atingindo valores até 24% ( $p < 0,05$ ).

## CONCLUSÃO

As abóboras biofortificadas, mesmo com baixa biodisponibilidade, são fontes de vitamina A, podendo fornecer acima de 40% das necessidades diárias recomendadas para crianças de 4 à 8 anos de idade, em porção de 100 gramas (DIETARY..., 2002). Contudo, são necessários mais estudos a fim de que se possa melhorar a liberação dos carotenoides a partir da matriz alimentar.

## AGRADECIMENTOS

HarvestPlus, FAPERJ, CAPES, EMBRAPA, BioFORT.

## REFERÊNCIAS

- AHERNE, S. A.; JIWAN, M. A.; DALY, T.; O'BRIEN, N. M. Geographical location has greater impact on carotenoid content and bioaccessibility from tomatoes than variety. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 64, n. 4, p. 250–266, 2009.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2010.
- BOITEUX, L. S.; NASCIMENTO, W. M.; FONSECA, M. E. de N.; LANA, M. M.; REIS, A.; MENDONÇA, J. L.; LOPES, J. F.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. 'Brasileirinha': cultivar de abóbora (*Cucurbita moschata*) de frutos bicolores com valor ornamental e aptidão para consumo verde. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p.103-106, 2007.
- CHITCHUMROONCHOKCHAI, C.; SCHWARTZ, S. J.; FAILLA, M. L. Assessment of lutein bioavailability from meals and a supplement using simulated digestion and Caco-2 human intestinal cells. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2280–228, 2004.
- DIETARY reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Food and Nutrition Board Institute of Medicine. Washington (DC): National Academy of Sciences, 2002.
- FAILLA, M. L.; THAKKAR, S. K.; KIM, J. Y. *In vitro* bioaccessibility of betacarotene in orange fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas*, Lam). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 10922–10927, 2009.
- MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 57, n. 2, p. 109-117, 2007.
- O'CONNELL, O. F.; O'SULLIVAN, L.; AHERNE-BRUCE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Carotenoid micellarization varies greatly between individual and mixed vegetables with or without the addition of fat or fibre. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, v. 78, p. 238–246, 2008.
- PALOZZA, P.; SERINI, S.; NICUOLO, F.; DI PICCIONI, E.; CALVIELLO, G. Prooxidant effects of  $\beta$ -carotene in cultured cells. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, p. 353-362, 2000.
- QUIRÓS, A. R. B. de; COSTA, H. S. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: a review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 97-111, 2006.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; GODOY, H. T., AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoids composition, **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 445– 463, 2008.
- RODRIGUES, R. S. M.; PENTEADO, M. de V. C. Carotenoides com atividade pró-vitamina A em hortaliças folhosas. **Revista de farmácia e bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 25, n. 1, p. 39-53, 1989.
- SEO, J. S.; BURRI, B. J.; QUAN, Z.; NEIDLINGER, T. R. Extraction and chromatography of carotenoids from pumpkin. **Journal of Chromatography A**, v. 1073, p. 371-371, 2005.
- THAKKAR, S. K.; MAZIYA-DIXON, B.; DIXON, A. G. O.; FAILLA, M. L.  $\beta$ -carotene micellarization during in vitro digestion and uptake by Caco-2 cells is directly proportional to  $\beta$ -carotene content in different genotypes of cassava. **The Journal of Nutrition**, v. 137, p. 2229-2233, 2007.