

## Efeitos da formulação láctea à base de flocos de abóbora e inulina sobre o crescimento e desenvolvimento de ratos após desmame

### Effects of milk-based formulation of pumpkin flakes and inulin on growth and development of rats after weaning

RIALA6/1365

Andréa Carla Mendonça de SOUZA<sup>1\*</sup>, Silvana Magalhães SALGADO<sup>2</sup>, Alda Verônica Souza LIVERA<sup>2</sup>, Francisca Martins BION<sup>2</sup>, Samara Alvachian Cardoso ANDRADE<sup>3</sup>, Karina Correia da SILVEIRA<sup>2</sup>, Zelyta Pinheiro de FARO<sup>4</sup>, Nonete Barbosa GUERRA<sup>2</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Departamento de Tecnologia Rural, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Estrada do Encanamento, 1326, apto 22, Casa Forte, Recife/PE, Brasil. CEP 52070-000. Tel.: 81 4141-1591. E-mail: andreacarlams@gmail.com.

<sup>2</sup>Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>3</sup>Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>4</sup>Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco.

Recebido: 21.12.2010 – Aceito para publicação: 11.05.2011

#### RESUMO

Os efeitos de uma formulação láctea à base de flocos de abóbora e inulina sobre o crescimento e desenvolvimento de ratos após desmame foram avaliados, utilizando 36 ratos machos, *albinus*, linhagem Wistar. Os animais foram divididos, aleatoriamente, em três grupos de 12: padrão de caseína (GC), experimentais – GM+FA e GM+FAI – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora, e modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora suplementada com 3% de inulina, respectivamente, durante 28 dias. Avaliou-se a composição centesimal e microbiológica dos flocos de abóbora, o ganho do peso corporal, ingestão alimentar e coeficiente de eficiência alimentar. Após o sacrifício, foram determinados o peso do fígado e os teores de provitamina A e  $\beta$ -caroteno nos grupos GC e GM+FA. Registrou-se significativo decréscimo na ingestão alimentar no GC; significativo aumento do ganho de peso corporal no GM+FAI, em comparação com os demais, e diferenças significativas entre o GC e GM+FAI quanto ao CEA. Os teores de vitamina A e  $\beta$ -caroteno foram significativamente superiores no GM+FA. Os resultados demonstram que a inulina exerce benéficos efeitos sobre o desenvolvimento e crescimento dos ratos após desmame.

**Palavras-chave.** vitamina A, suplementação, carotenoides, desenvolvimento fisiológico.

#### ABSTRACT

The effects of a milk-based formulation of pumpkin flakes and inulin on post weaning rat growth and development of 36 male white Wistar rats were evaluated. The animals were randomly divided in three groups of 12: casein experimental pattern (GC) – GM+FA and GM+FAI – modified by the addition of 6% milk-based formulation of pumpkin flakes supplemented with 3% inulin, respectively, during 28 days. We assessed the microbiological and centesimal chemical composition of pumpkin flakes, body weight gain, food intake and coefficient of food efficiency. After dissection, the liver weight and pro-vitamin A and beta-carotene levels in GC and GM + FA were registered. A significant decrease in food intake on GC; considerable body weight gain in the GM+FAI was observed, in relation to the rest of the groups, and a substantial difference between the GC and GM+FAI in relation to CEA (food coefficient). The vitamin A and beta-carotene were significantly higher in GM + FA. The results show that inulin exerts beneficial effects on the development and growth of the rats after weaning.

**Keywords.** vitamin A, supplementation, carotenoids, physiological development.

## INTRODUÇÃO

Segundo Dolinsky e Ramalho<sup>1</sup>, a desnutrição infantil constitui um problema mundial de saúde pública, por ocasionar efeitos deletérios sobre o crescimento e desenvolvimento mental de crianças, requerendo a adoção de medidas a curto prazo. Das inadequações nutricionais do período do desmame destaca-se a deficiência de vitamina A, que, além de comprometer a morbimortalidade infantil, acarreta dentre outros problemas, a xeroftalmia, maior causa de cegueira em crianças em países em desenvolvimento, podendo ainda ocasionar um quadro de imunodeficiência de origem exclusivamente nutricional. Dentre as estratégias que vêm sendo adotadas, como forma de controlar essa deficiência, inclui-se a fortificação de alimentos. Neste contexto, Fernandes et al.<sup>2</sup> e Faro<sup>3</sup> desenvolveram uma formulação láctea à base de flocos de abóbora. Além de ser fonte de carotenoides, a abóbora se destaca pela sua elevada produção, baixo custo e amplo consumo no Brasil<sup>4</sup>. A eficácia dessa formulação à base de flocos de abóbora e dos flocos isoladamente foi avaliada, tanto na prevenção como no controle da carência de vitamina A, com resultados satisfatórios, por Faro<sup>3</sup> e Ambrósio et al.<sup>5</sup>. Posteriormente, consideráveis percentuais de aceitabilidade dessa formulação foram registrados por Silveira<sup>6</sup>, em crianças da cidade do Recife.

Aos carotenoides, pigmentos naturais responsáveis pelas cores laranja, amarelo e vermelho de frutos e hortaliças<sup>7</sup>, também são atribuídas ações biológicas, das quais se destacam a atividade de provitamina A e a ação antioxidante, com benéficos efeitos sobre a resposta imune e redução do risco de degeneração macular e catarata<sup>8,9</sup>.

A evolução das pesquisas na área de funcionais tem propiciado a descoberta de outras substâncias<sup>10</sup>, dentre as quais a inulina, — fibra dietética solúvel resistente à hidrólise das enzimas digestivas humanas devido à configuração estrutural de suas ligações osídicas  $\beta$  (2±1) que, juntamente com a oligofrutose, apresenta efeitos plenamente reconhecidos pela comunidade científica. A inulina, extraída em escala industrial da raiz de chicória<sup>11</sup>, tem sido objeto de experimentos com diversos modelos animais e humanos. Os resultados alcançados demonstram benéficos efeitos sistêmicos fisiológicos e nutricionais, decorrentes da sua ação moduladora da composição e atividade metabólica da microbiota intestinal, favorecendo o desenvolvimento de bactérias bifidogênicas em detrimento de espécies consideradas patogênicas ao hospedeiro. Ademais, há

registros de efeitos sobre o metabolismo dos lipídeos e dos carboidratos e aumento da biodisponibilidade de minerais<sup>12,13</sup>.

A consistência dos resultados obtidos em estudos sobre a inulina e carotenoides, separadamente, motivou a combinação desses componentes funcionais na formulação láctea à base de flocos de abóbora, com o objetivo de avaliar possíveis efeitos sobre o desenvolvimento e crescimento dos ratos após desmame, atendendo, ainda, à crescente demanda dos consumidores por produtos alimentícios saudáveis e nutritivos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Ensaio biológico e dietas experimentais

Neste ensaio, cujo protocolo experimental foi, previamente, aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE (Nº 66/05), foram utilizados 36 ratos machos, *albinus*, linhagem Wistar, provenientes do Biotério de Criação do Departamento de Nutrição da UFPE, desmamados aos 21 dias de idade com peso médio de 45 a 55 g. Os ratos foram distribuídos, ao acaso, em 3 grupos de 12 animais cada, durante 28 dias, e mantidos em gaiolas individuais, sob condições controladas de temperatura ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e ciclo de luz de aproximadamente 12/12 horas.

**Tabela 1.** Composição das dietas experimentais (g/100g)

Constituintes (%)	GC	GM + FA	GM + FAI
Caseína	20,40	15,27	15,47
Minerais	3,50	2,41	2,37
Vitaminas	1,00	1,00	1,00
Óleo	7,00	3,64	3,35
Celulose	5,00	3,84	3,84
Colina	0,25	0,25	0,25
Amido	62,55	52,29	49,42
Cistina	0,30	0,30	0,30
Flocos de abóbora <sup>a</sup>	-	6,00	6,00
Leite <sup>b</sup>	-	12,00	12,00
Açúcar <sup>c</sup>	-	3,00	3,00
Inulina <sup>d</sup>	-	-	3,00
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>

<sup>a, b, c</sup> Obtidos no comércio local. GC = grupo controle (Reeves<sup>14</sup>).

GM + FA = grupo experimental (Reeves<sup>14</sup>) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora; GM + FAI = grupo experimental (Reeves<sup>14</sup>) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora com 3% de inulina<sup>d</sup> – Orafiti Active Food International (Clariant, São Paulo, Brasil)

Os flocos de abóbora utilizados na formulação foram obtidos em secador de tambor, marca Duprat MS, sob pressão de 6 atm, velocidade de 1 rpm e superfície de 0,75 m<sup>2</sup>, conforme Faro. A abóbora, utilizada na elaboração dos flocos, o leite e o açúcar, usados na formulação das dietas, foram obtidos no comércio local. A inulina tipo frutano-ITF (Oraft Raftilose HPX, BNEO) foi doada pela empresa Orafti-Active Food Ingredients – Bélgica.

Durante o experimento, os animais do grupo controle (GC) receberam a dieta-padrão caseína, enquanto os grupos experimentais receberam dieta de caseína acrescida de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora (GM+FA), e dieta caseína adicionada de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora suplementada com 3% de inulina (GM+FAI). A Tabela 1 expressa a composição da dieta, equilibrada de acordo com a AIN 1993, para fase de crescimento (Reeves et al.<sup>14</sup>).

A composição química dos flocos de abóbora foi determinada conforme a Association of Official Analytical Chemistry - AOAC<sup>15</sup>, abrangendo umidade (935.29), resíduo mineral fixo – cinzas (930.22-32.3.08), lipídios (963.15-31.4.02), proteínas (991.20-33.2.11), carboidratos totais por diferença, fibra alimentar (985.29-45.4.08) e carotenoides conforme Rodriguez-Amaya et al.<sup>16</sup>, cuja conversão em retinol foi efetuada de acordo com Trumbo et al.<sup>17</sup> (1:12µg). Para o cálculo do valor energético utilizou-se os fatores de Atwater<sup>18</sup> e de Roberfroid<sup>19</sup> para inulina (1,5). Também foram avaliadas

**Tabela 2.** Análises microbiológicas nos flocos de abóbora e dietas à base de flocos de abóbora e inulina

Análises microbiológicas	Flocos de abóbora	GC	GM+FA	GM+FAI
Coliformes totais e fecais em UFC/g	0	0	0	0
Contagem de bolores e leveduras UFC/g	1,8x10 <sup>2</sup>	1,2x10 <sup>2</sup>	1,3x10 <sup>2</sup>	1,5x10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella</i> spp – ausência em 25g	ausente	ausente	ausente	ausente

GC = grupo controle (Reeves<sup>14</sup>).

GM + FA = grupo experimental (Reeves<sup>14</sup>) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora; GM + FAI = grupo experimental (Reeves<sup>14</sup>) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora com 3% de inulina – Orafti Active Food International (Clariant, São Paulo, Brasil).

UFC: unidade formadora de colônia

**Tabela 3.** Análises microbiológicas nos flocos de abóbora e dietas à base de flocos de abóbora e inulina

Variáveis	Tratamento Dietético		
	GC	GM+FA	GM+FAI
Ingestão alimentar (g)	341,95±31,39 <sup>b</sup>	370,50±16,69 <sup>a</sup>	376,78±4,53 <sup>a</sup>
Peso corporal (g)	132,42±19,51 <sup>b</sup>	130,90±9,01 <sup>b</sup>	150,96±22,55 <sup>a</sup>
CEA	0,40±0,04 <sup>a</sup>	0,35±0,02 <sup>b</sup>	0,40±0,4 <sup>a</sup>

GC = grupo controle (Reeves<sup>14</sup>).

GM + FA = grupo experimental (Reeves<sup>14</sup>) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora; GM + FAI = grupo experimental (Reeves<sup>14</sup>) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora com 3% de inulina<sup>d</sup> – Orafti Active Food International (Clariant, São Paulo, Brasil). n = 12 animais por grupo. \* Letras diferentes significam que diferem significativamente ao nível de 5%, pelo teste de Duncan

as características microbiológicas, conforme a AOAC<sup>15</sup> — coliformes a 35 °C (991.14), coliformes a 45 °C (986.33), bolores e leveduras (997.02) e *Salmonella* spp (996.08 e 967.26) —, utilizando o preconizado na Resolução da Diretoria Colegiada — RDC n° 12/01<sup>20</sup>.

Os controles do peso corporal e da ingestão alimentar foram efetuados a cada 8 dias e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA) determinado pela relação entre o ganho de peso e a ingestão alimentar, ao final do experimento. As dietas e a água foram oferecidas *ad libitum*. Os animais foram observados, diariamente, quanto a possíveis anomalias na aparência e aspectos clínicos.

Aos 28 dias, após jejum de 12 horas, os ratos foram anestesiados e sacrificados para a retirada do fígado, no qual, após pesagem em balança de precisão marca Ohaus, capacidade para 2,6/0z, foi determinado o teor de provitamina A nos grupos que receberam as dietas GC e GM + FA, conforme metodologia de Bessey et al., modificada por Araújo e Flores<sup>21</sup>.

### Análises estatísticas

Os resultados da pesquisa foram expressos em média e desvio-padrão e submetidos ao teste de Duncan e ao teste t de Student, todos ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram analisados utilizando o software Statistic for Windows 6.0.

## RESULTADOS

Em relação à composição química dos flocos de abóbora, foi observado o elevado teor de β-caroteno, 106,27mg/100g. A Tabela 2, expressa os resultados

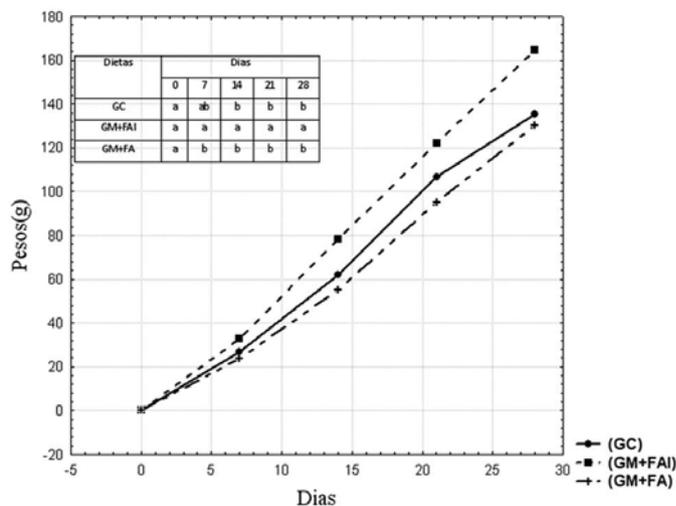
microbiológicos, que estão de acordo com a legislação em vigor.

Um significativo decréscimo ( $p < 0,05$ ) na ingestão total de alimentos foi observado nos ratos alimentados com a dieta-padrão – GC, em comparação com os demais (Tabela 3). Consta-se ainda que a inulina também afetou, de modo positivo, o peso corporal dos ratos alimentados com a GM+FAI, que foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) em relação aos demais grupos. Quanto ao CEA, não foram registradas diferenças significativas entre o GC e o GM+FAI. Ambos foram superiores ao GM+FA, o que sugere um efeito adicional da incorporação de 3% de inulina na absorção da proteína do GM+FAI. Inclusive, a dieta GM+FAI acarretou maior curva ponderal em relação a padrão e maior ainda nos animais alimentados com a GM+FA. Vale salientar que esta última manteve-se levemente abaixo da dieta-padrão em todo o experimento. Esta diferença, que, conforme a Figura 1, ocorreu a partir da primeira semana com relação ao GM+FA, foi ampliada, abrangendo, também, na segunda semana, os animais do GC.

Com relação aos fígados, não foram observadas diferenças quanto ao peso, tampouco anormalidades na aparência clínica dos animais, durante o período deste ensaio biológico, independentemente da dieta consumida. De acordo com os resultados analíticos do teor de vitamina A e  $\beta$ -caroteno nos fígados dos animais dos grupos GC e GM-FA (Figura 2), os flocos de abóbora propiciaram uma reserva de vitamina A e  $\beta$ -caroteno significativamente superior ( $p < 0,05$ ) à registrada para o grupo controle.

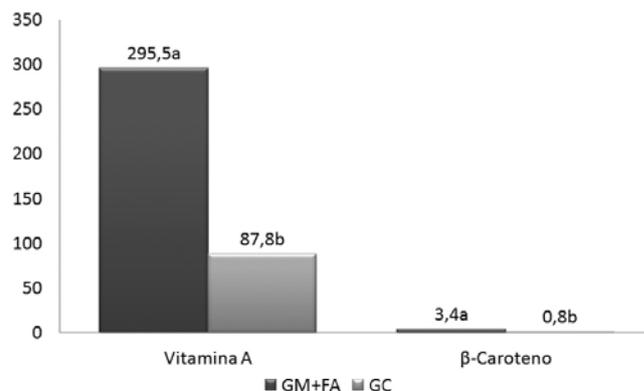
## DISCUSSÃO

Nos países em desenvolvimento, predominam deficiências alimentares de macro e micronutrientes que constituem sérios fatores de risco para a saúde e sobrevivência de grupos vulneráveis, como crianças em idade pré-escolar<sup>22</sup>. Durante a infância, o crescimento e desenvolvimento do homem são afetados por distúrbios que podem ter causalidade múltipla, das quais a deficiência de vitamina A, ainda hoje, assume graves proporções no contexto da saúde pública em todo o mundo, podendo levar à cegueira e à morte<sup>22-24</sup>. Uma nutrição preventiva, iniciada logo após o desmame e continuada ao longo de toda a vida<sup>25</sup>, utilizando uma formulação láctea à base de flocos de abóbora, rica em



GC = grupo controle (Reeves<sup>14</sup>). GM + FA = grupo experimental (Reeves<sup>14</sup>) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora; GM + FAI = grupo experimental (Reeves<sup>14</sup>) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora com 3% de inulina<sup>4</sup> – Orafiti Active Food International (Clariant, São Paulo, Brasil). n = 12 animais por grupo

**Figura 1.** Curva ponderal de ratos alimentados com dietas, acrescidas ou não de inulina



GC = grupo controle (Reeves<sup>14</sup>). GM + FA = grupo experimental (Reeves<sup>14</sup>) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora; GM + FAI = grupo experimental (Reeves<sup>14</sup>) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora com 3% de inulina – Orafiti Active Food International (Clariant, São Paulo, Brasil). n = 12 animais por grupo. \*Letras iguais não diferem significativamente, pelo teste t de Student ( $p < 0,5$ )

**Figura 2.** Teores de vitamina A e  $\beta$ -caroteno nos fígados dos animais alimentados com as dietas GC e GM+FA

carotenoides, que são responsáveis pela eficácia desta bebida na prevenção e controle da avitaminose A na população infantil<sup>3,5</sup>, certamente contribuiria para reverter esse cenário.

A eficiência da absorção dos carotenoides pode, entretanto, ser afetada pela quantidade ingerida, processamento ou cocção dos alimentos, além de outros

ingredientes presentes na dieta, que podem estimulá-la (tipo e quantidade de gordura da dieta) ou inibi-la (fibras), efeitos da matriz, interação entre carotenoides e variações individuais<sup>26,27</sup>.

Embora Krinsky et al.<sup>28</sup> tenham comprovado que roedores não acumulam carotenoides no fígado, eles apresentam um eficiente mecanismo de conversão de  $\beta$ -caroteno a retinol, conforme evidenciado pelos resultados desta pesquisa, nos ratos do grupo GM+FA, que apresentaram uma reserva de vitamina A 3,4 vezes superior à dos animais do GC.

Em relação à composição química dos flocos de abóbora, destacam-se os teores de umidade dos flocos desidratados de abóbora, aproximadamente 6,34g/100g, o que demonstra a eficiência do processo tecnológico de secagem utilizado e, também, o elevado teor de  $\beta$ -caroteno, valor próximo ao de Ambrósio<sup>24</sup>

Tanto os flocos como as formulações apresentaram resultados para coliformes a 35 °C C/g(mL), coliformes a 45 °C/g(mL) e ausência de Salmonela, em conformidade com a legislação vigente<sup>20</sup>. Esses resultados comprovaram a qualidade da matéria-prima e a utilização de boas práticas do processamento.

Nos últimos anos, vários estudos<sup>10,11,12,13</sup> têm demonstrado que a adição de inulina a alimentos infantis estimula o crescimento de bifidobactérias do cólon, com consequente aumento das funções intestinais e resistência a infecções – efeito prebiótico<sup>28</sup>. Com o objetivo de melhorar a saúde gastrointestinal, reduzir a pressão arterial e obter efeitos benéficos na lipemia, a American Dietetic Association – ADA<sup>29</sup> – recomenda uma ingestão média de 3 a 10g/dia de inulina e frutooligosacarídeos. Estudos diversos têm demonstrado que o consumo de quantidades moderadas de inulina é benéfico à saúde, principalmente pelo aumento da absorção de minerais, como o Cálcio (Ca), Ferro (Fe) e Magnésio (Mg), importantes no crescimento e desenvolvimento infantil<sup>30-32</sup>. Nesta pesquisa, a escolha do percentual de inulina a ser adicionado na formulação GM+FAI foi baseada na recomendação de Reid et al.<sup>33</sup>, que sugerem doses de 1 a 3 g/dia de prebióticos, para crianças. Esses valores, que são observados nos produtos industrializados expostos à venda, destinados a essa faixa etária, atendem às recomendações da RDC n°18/99<sup>34</sup>, para alimentos em geral.

De nosso conhecimento, esta é a primeira pesquisa que demonstra um aumento no crescimento e desenvolvimento de ratos recém-desmamados,

alimentados com uma associação de flocos de abóbora, ricos em carotenoides, com 3% de inulina. No que diz respeito ao aumento de peso corporal, registrado nos ratos do grupo GM+FAI, ele pode ter sido influenciado por diversos fatores da dieta, cuja magnitude depende da presença de inibidores e/ou promotores e da sua composição. Neste contexto, a incorporação de inulina a essa formulação pode ter sido o fator promotor desse efeito. Em contraposição, os achados de Zduńczyk et al.<sup>35</sup>, ao avaliarem a combinação inulina e polifenóis *in vivo*, e de Lobo et al.<sup>36</sup>, em dietas suplementadas com 5% de inulina, evidenciaram perda de peso. Considerando que a única diferença entre as dietas oferecidas aos grupos experimentais GM+FA e GM+FAI foi a adição de 3% de inulina à dieta consumida por este último grupo, outra hipótese plausível seria a de um possível sinergismo entre este frutano e os carotenoides naturalmente presentes nos flocos da abóbora, com repercussões sobre a crescimento e desenvolvimento dos animais<sup>7,37</sup>. Conforme Thomas et al.<sup>38</sup>, a vitamina A é essencial para o crescimento e diferenciação celular, particularmente do tecido epitelial, cujas células das vilosidades são importantes na digestão e absorção dos nutrientes.

Em relação ao CEA, parâmetro que avalia a eficácia da dieta, determinando o valor nutritivo e aproveitamento biológico da proteína, o fato de os animais GM+FAI não apresentarem diferenças em relação aos do grupo GC indica que a modificação da dieta consumida por este grupo, pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora suplementada com 3% de inulina — dieta GM+FAI —, não afetou o aproveitamento biológico das proteínas, refletindo o seu equilíbrio e qualidade.

Conhecendo que o efeito prebiótico da inulina é dependente do período de suplementação e que, para manter o crescimento das bactérias benéficas, seu consumo deve ser contínuo<sup>39</sup>, estudos mais acurados expandindo este experimento até a idade adulta deverão ser realizados, com vistas a elucidar a natureza dos mecanismos envolvidos.

Em resumo, constata-se que, além da redução do risco de hipovitaminose A, observada em trabalhos anteriores, os resultados desta pesquisa demonstram que a suplementação da formulação à base de flocos de abóbora com inulina exerce benéficos efeitos sobre o desenvolvimento e crescimento dos ratos, após desmame.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES pela bolsa de estudos, ao CNPq pelo suporte financeiro da pesquisa e à Clariant (SP/Brasil) pela doação da inulina.

### REFERÊNCIAS

1. Dolinsky R, Ramalho A. Deficiência de vitamina A: uma revisão atualizada. *Compacta Nutr*. 2003;4:1-18.
2. Fernandes ZF, Guerra NB, Diniz NMA, Salgado SM, Guerra TMM, Lopes ACS, Neta JCPS, Padilha MRF. Desenvolvimento de bebida láctea à base de flocos de abóbora. *Arch Latinoam Nutr*. 1998;48:175-8.
3. Faro ZP. Aproveitamento industrial da polpa de abóboras como estratégia para o combate à hipovitaminose A [tese de doutorado]. Recife (PE): Universidade Federal de Pernambuco; 2001.
4. Kalluf VH. Desidratação da polpa de abóbora (*Cucurbita moschata*) e seus teores em beta-caroteno [dissertação de mestrado]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2006.
5. Ambrósio CLB, Campos FACS, Faro ZP. Carotenoides como alternativa contra a hipovitaminose A. *Rev Nutr*. 2006;19(2):233-43.
6. Silveira KC. Bebida à base de flocos de abóbora com inulina: características prebióticas e aceitabilidade [dissertação de mestrado]. Recife (PE): Universidade Federal de Pernambuco; 2006.
7. Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharmacol Res*. 2007;55:207-16.
8. Sentanin MA, Rodriguez-Amaya DB. Teores de carotenoides em mamão e pêssego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. *Ciênc Tecnol Alim*. 2007;27:13-9.
9. Valtueña S, Del Rio D, Pellegrini N, Ardigò D, Franzini L, Salvatore S, et al. The total antioxidant capacity of the diet is an independent predictor of plasma  $\beta$ -carotene. *Eur J Clin Nutr*. 2007;61:69-76.
10. Roberfroid M. Prebiotics: The concept revisited. *J Nutr*. 2007;137:830S-7S.
11. Madrigal L, Sangronis E. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Arch Latinoam Nutr*. 2007;57(4):387-96.
12. Castiglia-Delavaud C, Verdier E, Besle JM, Vernet J, Boirie Y, Beaufrere, et al. Net energy value of non-starch polysaccharide isolates (sugarbeet fibre and commercial inulin) and their impact on nutrient digestive utilization in healthy human subjects. *Braz J Nutr*. 1998;80:343-52.
13. Roberfroid MB, Delzenne NM. Dietary fructans. *Ann Rev Nutr* 1998;18:117-43.
14. Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvement in the AIN-76<sup>a</sup> diet. *J Nutr*. 1993;123:1939-51.
15. Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis of official Analytical Chemist International. Washington; 2002.
16. Rodriguez-Amaya AB. A guide to carotenoid analysis in food. Washington: International Life Sciences Institute; 1999.
17. Trumbo PR, Yates AA, Renfro-Schlicker S, Sutor C. Dietary reference intakes: revised nutritional equivalent for folate, vitamin E and provitamin A carotenoids. *J Food Comp Anal*. 2003;16:379-82.
18. Buchholz AC, Schoeller DA. Is a calorie a calorie? *Amer J Clin Nutr*. 2004;79:899S-906S.
19. Roberfroid MB. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1993;33(2):103-48.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. [acesso 23 jan 2008]. Disponível em: [http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=144].
21. Araújo CRC, Flores H. Improved spectrophotometric vitamin A assay. *Clin Chem*. 1978;24(2):386.
22. Martins MC, Oliveira YP, Coitinho DC, Santos LMP. Panorama das ações de controle da deficiência de vitamina A no Brasil. *Rev Nutr*. 2007;20(1):5-1
23. Chagas MHC, Flores H, Campos FACS, Santana RA, Lins ECB. Teratogenia da vitamina A. *Rev Bras Saude Mater Infant*. 2003;3(3):247-52.
24. Ambrósio CLB. Eficácia de flocos desidratados de abóbora na prevenção e controle da carência de vitamina A [tese de doutorado]. Recife (PE): Universidade Federal de Pernambuco; 2006.
25. Angelis RC. Novos conceitos em nutrição: reflexões a respeito do elo dieta e saúde. *Arq Gastroenterol*. 2001;38(4):269-71.
26. Yeum KJ, Russel RM. Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Ann Rev Nutr*. 2002;22:483-504.
27. Scott KJ, Rodriguez-Amaya D. Pro-vitamin A carotenoid conversion factors: retinol equivalents – fact or fiction? *Food Chem*. 2000;69:125-7.
28. Krinsky NI, Roth-Mathews MM, Welankiwar S, Sehgal KP, Lausen NCG, Russett M. The Metabolism of [14C] $\beta$ -Carotene and the Presence of Other Carotenoids in Rats and Monkeys. *J Nutr*. 1990;1229: 81-7.
29. O'Neill J, Plains M. The lifelong benefits of inulin and oligofructose. *Cer Foods World*. 2008;53:65-8.
30. American Dietetic Association. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *Amer Diet Assoc*. 2008;108:1716-31.
31. Abrams SA, Griggin IJ, Hawthorne KM, Ellis KJ. Effect of prebiotic supplementation and calcium intake on body mass index. *J Ped*. 2007;151:293-8.
32. Bosscher D, Loo JV, Franck A. Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization. *Intern Dairy J*. 2006;16:1092-7.
33. Roberfroid MB. Introducing inulin-type fructans. *Braz J Nutr*. 2005;93(1):13-25.
34. Reid G, Sanders ME, Gaskins HR, Gibson GR, Mercenier A, Rastall R et al. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. *J Clin Gastroenterol*. 2003;37(2):105-18.

35. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. [acesso 23 jan 2008]. Disponível em: [<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/regutec.htm>].
36. Zduńczyk Z, Juśkiewicz J, Estrella I. Cecal parameters of rats fed diets containing grapefruit polyphenols and inulin as single supplements or in a combination. *Nutrit*. 2006;22:898-904.
37. Lobo AR, Colli C, Filisetti TMCC. Fructooligosaccharides improve bone mass and biomechanical properties in rats. *Nutr Res*. 2006;26:413-20.
38. Haulý MCO, Moscatto JA. Inulina e oligofructose: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. *Semina: Ciênc Exat Technol*. 2002;23:105-18.
39. Thomas S, Prabhu R, Balasubramanian KA. Retinoid metabolism in the rat small intestine. *Braz J Nutr*. 2005;93:59-63.
40. Wiele TV, Boon N, Possemiers S, Jacobs H, Verstraete W. Prebiotics effects of chicory inulin in the stimulator of the human intestinal microbial ecosystem. *FEMS Micr Ecol*. 2004;51:143-53.