

BIODISPONIBILIDADE DO β -CAROTENO DA FOLHA DESIDRATADA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)¹

Claudia Isabel ORTEGA-FLORES², Maria Aparecida LOPES DA COSTA²,
Marney Pascoli CEREDA², E Marilene De Vuono CAMARGO PENTEADO^{2,*}

RESUMO

Com o objetivo de verificar a biodisponibilidade do β -caroteno da folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) foi realizado um ensaio biológico baseado no modelo de esgotamento das reservas hepáticas de vitamina A em ratos. Um grupo de ratos depletados de vitamina A hepática recebeu folha desidratada de mandioca como fonte β -caroteno durante 25 dias, e foram comparados com um grupo que recebeu ração com vitamina A, outro grupo com ração sem vitamina A e um último grupo com β -caroteno. O grupo Zero foi constituído de 8 animais que receberam durante 15 dias ração à base de caseína, deficiente de vitamina A. Ao final do experimento todos os animais foram sacrificados e seus fígados e plasmas analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), sendo verificado que a biodisponibilidade do β -caroteno da folha desidratada de mandioca foi baixa.

Palavras-chave: biodisponibilidade; β -caroteno; vitamina A; folhas de mandioca.

SUMMARY

BIOAVAILABILITY OF β -CAROTENE IN DEHYDRATED CASSAVA LEAVES (*Manihot esculenta* Crantz). The biological availability of β -carotene in cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz), was verified by means of an assay based on the hepatic depletion of vitamin A reserves model in rats. Rats depleted of hepatic vitamin A received dehydrated cassava leaves as β -carotene source for 25 days and were compared to groups that received diets with vitamin A, β -carotene and without vitamin A. The Zero group was formed of 8 animals that received a diet based on casein, lacking vitamin A, during 15 days. At the end of the experiment, all animals were killed and their livers, serum and feces were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), and it was verified that the bioavailability of β -carotene of dehydrated cassava leaves was lower.

Keywords: bioavailability; β -carotene; vitamin A; cassava leaves.

1 - INTRODUÇÃO

No Brasil, as folhas e a parte aérea da mandioca encontram-se disponíveis em áreas de plantio e podem desempenhar um papel importante na nutrição humana e animal, pois como é sabido, apresentam altos teores de proteína, vitaminas (β -caroteno, vitamina C) e minerais [7].

A ocorrência de carotenóides pró-vitamínicos A em variedades de mandioca de polpa amarela tem despertado o interesse de pesquisadores já que estes poderão contribuir em regiões onde existe a deficiência de vitamina A [16, 18]. Além disso, trabalhos têm mostrado que a parte aérea da mandioca é rica em β -caroteno [1, 7].

Na literatura, tem sido questionada nos últimos anos, a biodisponibilidade e/ou bioconversão dos carotenóides em vitamina A ativa [5, 26]. Estudos têm demonstrado que em folhas verdes, o β -caroteno se encontra menos disponível que em óleos, frutas ou suplementos alimentícios. Vegetais de folhas verdes são fonte pobre em vitamina A principalmente para pessoas desnutridas que apresentam dificuldades em transformar carotenóides em vitamina A [12].

BURRI [6] em 1997, sugere programas para melhorar o estado de vitamina A através do consumo de vegetais de

folhas verdes. Entretanto, suplementação com vitamina A ou cápsulas de β -caroteno podem ser uma melhor alternativa. Desta forma, estudos de biodisponibilidade de carotenóides são necessários para fornecer informações verdadeiras sobre o valor vitamínico A dos alimentos.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Delineamento experimental

Folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) CV Branca de Santa Catarina, foram obtidas no Centro de Raízes Tropicais (CERAT) da UNESP *campus* de Botucatu, na safra de 1997. As amostras foram colhidas manualmente, com os ramos da planta toda, e destacadas junto com os pecíolos sem qualquer classificação e submetidas a desidratação à sombra (25°C) durante duas semanas.

No ensaio biológico para o estudo de biodisponibilidade do β -caroteno das folhas de mandioca foram utilizados ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar), provenientes da colônia do biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

O estudo foi baseado no modelo de esgotamento das reservas hepáticas de vitamina A em ratos sugerido por SWEENEY & MARCH [25]. As rações para o ensaio biológico foram elaboradas segundo as recomendações do "American Institute of Nutrition" AIN-93 [20]. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e o ensaio foi subdividido em 2 períodos: depleção e repleção ou testes.

¹ Recebido para publicação em 06/08/2002. Aceito para publicação em 13/05/2003 (000922). Parte da Tese de Doutorado da primeira autora

² Depto. Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 14. CEP 05508-900 - São Paulo. E-mail: devuono@usp.br

³ Centro de Raízes Tropicais (CERAT) da Unesp/Botucatu.

* A quem a correspondência deve ser enviada.

A fase de depleção durou 5 semanas e a de teste 25 dias. Para o período de depleção ratas adultas receberam ração *ad libitum* à base de caseína deficiente em vitamina A. As ratas amamentaram uma média de 10 filhotes, por um período de 21 dias. Ao final deste período os filhotes foram separados das mães e distribuídos em gaiolas individuais formando cinco grupos diferentes com 8 animais cada um, que receberam uma ração *ad libitum* à base de caseína deficiente em vitamina A, com a finalidade de eliminar possíveis reservas hepáticas desta vitamina que poderiam ter sido passadas pelas ratas aos filhotes durante a lactação. Este período durou 15 dias. No final da quinta semana os animais do “grupo Zero” foram sacrificados com a finalidade de se avaliar as reservas de vitamina A.

Os grupos formados passaram a receber diferentes fontes de vitamina A, foram constituídos quatro grupos contendo 8 ratos cada, assim: “grupo - *caroteno*”, “grupo *Vitamina A*”, “grupo *Folha de Mandioca*” recebendo por tanto β -caroteno e “grupo *sem Vitamina A*”.

O crescimento dos animais foi acompanhado durante todo o estudo por meio de pesagens semanais. A ingestão das rações, a troca de água dos bebedouros e a coleta de fezes foram acompanhadas, renovadas e coletadas a cada dois dias no mesmo horário. Ao final do experimento, todos os animais foram sacrificados para análise.

2.2 – Determinação dos carotenóides da folha de mandioca

O método utilizado para a determinação de carotenóides da folha desidratada de mandioca foi baseado no procedimento descrito por RODRIGUEZ *et al.* [23]. Todas as etapas das análises foram realizadas ao abrigo da luz e os extratos de carotenóides foram protegidos com tecido escuro e/ou papel alumínio.

2.3 – Colheita do material biológico

Para proceder a colheita do sangue e a retirada do fígado, os animais foram anestesiados por inalação com éter etílico p. a. A colheita do sangue foi feita através da artéria aorta abdominal. O sangue foi centrifugado a 3000rpm por 15 minutos a 4°C. O plasma assim obtido, armazenado em freezer a -70°C até a análise.

Os fígados foram retirados, lavados com solução salina 0,9% p/v resfriada, secos em papel filtro, pesados, subdivididos em lóbulos, utilizando-se o lóbulo direito para análise, acondicionados em papel de alumínio, congelados em nitrogênio líquido e conservados em freezer a -70°C até a análise.

As fezes foram secadas em estufa ventilada a 45°C. Após a secagem as fezes foram limpas, pesadas e pulverizadas em moinho de aço inoxidável.

QUADRO 1. Condições cromatográficas utilizadas na análise do Retinol e β -caroteno no fígado, plasma e fezes.

| Material biológico | Coluna | Fase móvel | Solvente da amostra | Detector | Fluxo | Volume de injeção | Referência |
|--------------------|---|---|---------------------|---|-----------|-------------------|--------------------------------|
| Fígado | | | | | | | |
| Retinol | Sílica (Shimadzu) partículas de 5 μ m 6mm diâmetro 15cm comprimento | Hexano: Isopropanol (99:1) | Hexano | Fluorescência λ de excitação 330nm λ de emissão 480nm | 2mL/min. | 20 μ L | RETTENMAIER & SHÜEP, [21]. |
| β -caroteno | C18 (Vydac,201TP54) partículas de 5 μ m 4,6mm diâmetro 25cm comprimento | Metanol: Acetonitrila: Água (88:9:3) | Metanol | “Photodiodo array” (UV/Visível) λ máx. = 452nm | 2mL/min. | 20 μ L | SCHMITZ <i>et al.</i> [24]. |
| Plasma | | | | | | | |
| Retinol | Sílica (Shimadzu) partículas de 5 μ m 6mm diâmetro 15cm comprimento | Acetonitrila: Metanol: Clorofórmio (47:47:6) | Hexano | Fluorescência λ de excitação 330nm λ de emissão 480nm | 1,5mL/min | 20 μ L | THURNHAM, SMITH & FLORA, [27]. |
| β -caroteno | C18 (Vydac,201TP54) partículas de 5 μ m 4,6mm diâmetro 25cm comprimento | Metanol: Acetonitrila: Água (88:9:3) | Metanol | “Photodiodo array” (UV/Visível) λ máx. = 452nm | 2mL/min. | 20 μ L | SCHMITZ <i>et al.</i> [24] |
| Fezes | | | | | | | |
| Retinol | Sílica (Shimadzu) partículas de 5 μ m 6mm diâmetro 15cm comprimento | Hexano: Isopropanol (99:1) | Hexano | Fluorescência λ de excitação 330nm λ de emissão 480nm | 2mL/min | 20 μ L | RETTENMAIER & SHÜEP, [21] |
| β -caroteno | C18 (Capcell Pack-Shiseido) partículas de 5 μ m 4,6mm diâmetro 25cm comprimento | Acetonitrila: Diclorometano: Metanol (70:20:10) | Metanol | “Photodiodo array” (UV/Visível) λ máx. = 452nm | 2mL/min. | 20 μ L | AL-ABDULAY & SIMPSON, [2]. |

2.4 – Determinação do Retinol e do β -caroteno no material biológico

As análises de retinol e β -caroteno no fígado, plasma e fezes foram realizadas através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O método empregado para a extração do β -caroteno e retinol do material biológico (fígado, plasma e fezes) foi baseado nos trabalhos de AL-ABDULAY & SIMPSON [2].

As condições cromatográficas utilizadas na análise do retinol e β -caroteno no fígado, plasma e fezes encontram-se no *Quadro 1*.

2.5 – Análises químicas

As análises de nitrogênio foram realizadas segundo a AOAC [3], sob nitrogênio igual a 6,25. A umidade, resíduo mineral fixo e extrato etéreo foram analisados segundo IAL [15]. As fibras foram analisadas pelo método gravimétrico enzimático descrito por PROSKY [19] e modificado por FILISETTI-COZZI & LAJOLO [14].

2.6 – Análise estatística

A análise dos resultados obtidos foi feita utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis, que equivale a ANOVA (One-Way Analysis of Variance) não paramétrico. Quando se verificaram diferenças significativas foi aplicado o teste de Mann-Whitney (não paramétrico). Todas as análises foram realizadas com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) [10].

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os cálculos da quantidade de vitamina A a ser utilizada nas rações empregou-se o valor do β -caroteno total das folhas desidratadas que foi de 2073 μ g de retinol/100g. As rações foram analisadas no começo do ensaio biológico, e as suas composições centesimais estão apresentadas na *Tabela 1*.

TABELA 1. Composição centesimal das rações expressa em g/100g*.

| Determinação Ração | Umidade | Resíduo Mineral Fixo | Proteína | Extrato Etéreo | Fibra Total | Carboidratos Totais |
|-----------------------|-----------------|-------------------------|------------------|-------------------|----------------|------------------------|
| Sem Vitamina A | 8,60 \pm 0,12 | 2,57 \pm 0,05 | 21,38 \pm 0,07 | 7,16 \pm 0,06 | 5,22 | 55,07 |
| Vitamina A | 9,01 \pm 0,16 | 2,49 \pm 0,03 | 20,47 \pm 0,03 | 7,02 \pm 0,02 | 4,78 | 56,23 |
| β -Caroteno | 8,31 \pm 0,06 | 2,45 \pm 0,05 | 19,56 \pm 0,30 | 6,84 \pm 0,11 | 4,98 | 57,86 |
| Folha de Mandioca | 8,24 \pm 0,02 | 2,47 \pm 0,03 | 20,82 \pm 0,05 | 7,72 \pm 0,04 | 5,21 | 55,54 |

* Médias de três determinações \pm desvio padrão

O acompanhamento do ganho de peso dos animais foi realizado durante todo o experimento. Pode-se observar na *Tabela 2* que as diferenças entre os ganhos de peso dos grupos que receberam “*Folha de Mandioca*”, “ *β -caroteno*” e “*Vitamina A*” foram muito pequenas sendo estas diferenças estatisticamente não significativas. O grupo que apresentou o menor ganho de peso foi o grupo que recebeu ração “*sem Vitamina A*” sendo que esta diferença foi estatisticamente significativa em relação aos demais grupos.

O “grupo *sem Vitamina A*” apresentou 37% do crescimento do “grupo *Vitamina A*”, sendo que este grupo de ratos apresentou perda de peso durante o período de repleção e dois dos ratos morreram antes de terminar o experimento.

Como é sabido, a deficiência de vitamina A afeta a proliferação e diferenciação celular, portanto, a sua deficiência afeta o crescimento. Estudos têm mostrado que animais submetidos a uma ração deficiente em vitamina A crescem até que suas reservas vitamínicas sejam consumidas, interrompendo aí o crescimento, apresentando então um “*plateau*” na curva de crescimento, seguido de perda de peso e morte do animal [4]. Isto também pode ser atribuído em parte a uma perda do apetite devido a mudanças nas células epiteliais. A diminuição do consumo de alimentos tem sido considerada como um sinal prévio da hipovitaminose A em ratos [4].

TABELA 2. Médias e desvios padrão do peso inicial, final, e consumo total de ração dos animais expressos em gramas durante a repleção de 25 dias.

| Grupos | Peso inicial (g) | Peso final (g) | Consumo de ração (g) |
|-------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Vitamina A* | 163,77 \pm 15,08 ^a | 278,46 \pm 15,37 ^b | 410,06 \pm 40,77 ^d |
| Folha de Mandioca | 149,35 \pm 19,77 ^a | 265,22 \pm 28,00 ^b | 415,94 \pm 34,65 ^d |
| β -caroteno | 154,93 \pm 16,20 ^a | 261,46 \pm 21,61 ^b | 402,18 \pm 33,42 ^d |
| Sem vitamina A** | 159,49 \pm 10,13 ^a | 154,57 \pm 15,18 ^c | 312,09 \pm 94,00 ^e |

Média de 8 ratos

* Média de 7 ratos

** Média de 6 ratos

^a – diferença não estatisticamente significativa, ($p < 0,05$) com relação ao peso inicial

^b – diferença não estatisticamente significativa, ($p < 0,05$) com relação ao peso final

^c – diferença estatisticamente significativa, ($p < 0,05$) com relação ao peso final

^d – diferença não estatisticamente significativa, ($p < 0,05$) com relação ao consumo de ração

^e – diferença estatisticamente significativa, ($p < 0,05$) com relação ao consumo de ração

Durante o período de repleção o consumo de ração dos grupos “*Vitamina A*”, “*Folha de Mandioca*” e “ *β -caroteno*” ficou muito próximo e sem diferença estatística significativa. O “grupo *sem Vitamina A*” consumiu menor (significativa a $p < 0,05$) quantidade de ração em relação aos outros três grupos, como pode ser observado na *Tabela 2*.

Os resultados mostram que o grupo que recebeu ração “*sem Vitamina A*” apresentou baixo aproveitamento da caseína da dieta. Isto pode ser atribuído em parte a perda de apetite e porque ração desbalanceada tem em geral menor consumo.

Após o período de cinco semanas, recebendo uma ração sem Vitamina A, foram encontradas pequenas quantidades de retinol nos fígados demonstrando que os animais estavam depletados da vitamina, como pode ser observado no “grupo *Zero*” na *Tabela 3*.

O grupo vitamina A apresentou o maior estoque de retinol hepático demonstrando melhor absorção de vitamina purificada. As diferenças entre o retinol hepático do “grupo *Vitamina A*” e demais grupos experimentais foram estatisticamente significativas (*Tabela 3*).

O conteúdo de retinol encontrado no fígado do “grupo *Folha de Mandioca*” foi 4 vezes menor em relação ao grupo “ β -caroteno” sendo a diferença significativa (Tabela 3). Isto pode ser explicado pelo fato do β -caroteno na folha de mandioca estar dentro de uma matriz complexa. DE PEE & WEST [11], DE PEE *et al.* [12] discutiram a baixa biodisponibilidade do β -caroteno em vegetais de folhas verdes e argumentam que a baixa biodisponibilidade seja devida aos complexos carotenóides-proteína no cloroplasto.

As folhas de mandioca utilizadas neste experimento passaram por desidratação e trituração. Segundo DE PEE & WEST [11], tais deveriam aumentar a biodisponibilidade do β -caroteno. É possível que o elevado teor de fibra das folhas de mandioca tenham diminuído a biodisponibilidade do β -caroteno, como demonstrou ROCK & SWENSEID [22] para humanos e ERDMAN, FAHEY & WHITE [13] para animais.

TABELA 3. Teores médios e desvios padrão, expressos em $\mu\text{g/g}$ ou $\mu\text{g/mL}$, de retinol e β -caroteno em fígado, plasma e fezes dos ratos dos diferentes grupos estudados.

| Grupos | Retinol no Fígado $\mu\text{g/g}$ | Retinol total no Fígado $\mu\text{g/g}$ | Retinol no Plasma $\mu\text{g/mL}$ | β -caroteno nas Fezes $\mu\text{g/g}$ |
|-------------------|--------------------------------------|--|---------------------------------------|--|
| Zero* | 0,21 \pm 0,11 ^{c,d} | 1,80 \pm 0,71 ^{c,d} | 0,09 \pm 0,03 ^{c,d} | ---- |
| Vitamina A** | 11,49 \pm 3,52 ^{a,d} | 125,37 \pm 29,86 ^{a,d} | 1,17 \pm 0,58 ^{a,d} | nd |
| Folha de Mandioca | 0,26 \pm 0,14 ^{b,c,d} | 2,58 \pm 1,40 ^{b,c,d} | 0,63 \pm 0,42 ^{a,c,d} | 0,20 \pm 0,05 |
| β -caroteno | 1,03 \pm 0,65 ^{a,c} | 10,12 \pm 7,51 ^{a,c} | 0,53 \pm 0,32 ^{a,c} | nd |
| Sem Vitamina A*** | 0,05 \pm 0,08 ^{a,c,d} | 0,35 \pm 0,57 ^{a,c,d} | 0,06 \pm 0,02 ^{b,c,d} | nd |

Média de três determinações \pm desvio padrão

nd= não detectado

Média de 8 ratos

* “Grupo Zero”: corresponde à animais depletados em Vitamina A por 5 semanas

** Média de 7 ratos

*** Média de 6 ratos

^a - diferença estatisticamente significativa, quando comparado com a média do “grupo Zero” ($p < 0,05$)

^b - diferença não estatisticamente significativa, quando comparado com a média do “grupo Zero” ($p < 0,05$)

^c - diferença estatisticamente significativa, quando comparado com a média do “grupo Vitamina A” ($p < 0,05$)

^d - diferença estatisticamente significativa, quando comparado com a média do “grupo -caroteno” ($p < 0,05$)

No presente trabalho, não foi detectado β -caroteno em nenhum dos fígados analisados. Segundo PARKER [17], o rato incorpora pequenas quantidades de β -caroteno da dieta em seus tecidos. Para WANG [29] a maioria das espécies animais (ratos, coelhos, galinhas e porcos) convertem o β -caroteno da dieta em retinóides no intestino delgado sem absorção significativa do β -caroteno intacto.

Com relação ao plasma os teores de retinol do “grupo *Folha de Mandioca*” apresentou teores significativamente maiores que os do “grupo β -caroteno”. O “grupo Vitamina A” apresentou teores de retinol cerca de 2 vezes acima em relação aos grupos “Folha de Mandioca” e “ β -caroteno” (Tabela 3). O “grupo sem Vitamina A” apresentou valores mínimos de retinol no fígado e no plasma demonstrando que foram esgotadas as reservas hepáticas da vitamina.

COSTA *et al.* [8, 9], TEE *et al.* [28], não detectaram caroteno nos plasmas analisados. No presente trabalho, somente o “grupo *Folha de Mandioca*” apresentou pequenos teores de β -caroteno nas fezes, indicando que parte do β -caroteno não foi absorvida.

A quantidade de β -caroteno oferecida aos animais do “grupo *Folha de Mandioca*” foi suficiente para a manutenção do crescimento e sobrevivência. Não foram observados sinais de deficiência de vitamina A, porém, a quantidade era insuficiente para o armazenamento de retinol hepático.

4 - CONCLUSÕES

- Conclui-se que a biodisponibilidade do β -caroteno da folha de mandioca é mais baixa em relação ao β -caroteno sintético.
- O β -caroteno da folha de mandioca e sintético foram transformados em retinol porque não houve detecção daquele no plasma e fígado dos ratos.
- A quantidade de β -caroteno da folha de mandioca oferecida para os ratos foi suficiente para o crescimento durante 25 dias e não foi suficiente para armazenar retinol no fígado.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ADEWUSI, S.R.A., BRADBURY, J.H. Carotenoids in cassava: comparison of open column and HPLC methods of analysis. **J. Sci. Food Agric.**, London, v. 62, p. 375-383, 1993.
- [2] AL-ABDULAY, A.B., SIMPSON, K.L. Reversed-phase column chromatography for the determination of retinol in some foods. **J. Micronutr. Anal.**, Barking, v. 5, p. 161-169, 1989.
- [3] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 17. ed. Washington, 1995. (Method 96722)
- [4] BONDI, A., SKLAN, D. Vitamin A and carotene in animal nutrition. **Prog. Food Nutr. Sci.**, Oxford, v. 8, p. 165-191, 1984.
- [5] BULUX, J., SERRANO, J.Q. de, PEREZ, R., RIVERA, C., LOPEZ, C.Y., SOLOMONS, N. W. Studies on the bioconversion and bioavailability of β -carotene in Guatemalan school children. **Eur. J. Clin. Nutr.**, London, v. 50, n. 3, p. S76-S77, 1996.
- [6] BURRI, B.J. Beta-carotene and human health: a review of current research. **Nutr. Res.**, New York, v. 17, n. 3, p. 547-580, 1997.
- [7] CARVALHO, V.D., CHAGAS, S.J.R., MORAIS, A.R., PAULA, M.B. Efeitos da época de colheita na produtividade e teores de vitamina C e β -caroteno da parte aérea de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Rev. Bras. Mandioca**, Cruz das Almas, v. 8, n. 1, p. 25-35, 1989.
- [8] COSTA, M.A.L., ORTEGA-FLORES, C.I., PENTEADO, M.V.C. Interação dos isômeros todo-trans, 9-cis e 13-cis do β -caroteno na bioconversão desses em vitamina. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**, São Paulo, v. 37, n. 1, jan/abr., p. 19-25, 2001.
- [9] COSTA, M.A.L., ORTEGA-FLORES, C.I., PENTEADO, M.V.C. Fatores de conversão dos isômeros 9-cis e 13-cis do β -

- caroteno em retinol. **J. Brazilian Soc. Food Nutr.** São Paulo, v. 21, jun. , p. 73-86, 2001.
- [10] CONOVER, W.J. **Practical non parametric statisticals.** 2 ed. New York: Wiley, 1980, p. 229-232.
- [11] DE PEE, S., WEST, C.E. Dietary carotenoids and their role in combating vitamin A deficiency: a review of the literature. **Eur. J. Clin. Nutr.**, London, v. 50, n. 3, p. S39-S53, 1996.
- [12] DE PEE, S., WEST, C.E., MUHILAL, KARYADI, D., HAUTVAST, J.G.A.J. Lack of improvement in vitamin A status with increased consumption of dark-green leafy vegetables. **Lancet**, London, v. 346, p. 75-81, 1995.
- [13] ERDMAN, J.W., FAHEY, G.C., WHITE, C.B. Effects of purified dietary fiber sources on beta-carotene utilization by the chick. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 116, p. 2415-2423, 1986.
- [14] FILISSETTI-COZZI, T.M.C.C., LAJOLO, F.M. Fibra alimentar insolúvel, solúvel em alimentos brasileiros. **Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 83-99, 1991.
- [15] INSTITUTO ADOLFO LUTZ **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** 3. ed. São Paulo, 1985. v. 1, p. 21-22, 27-28, 42-43.
- [16] ORTEGA-FLORES, C.I., PENTEADO, M.V.C. Carotenóides com atividade pró-vitamínica A em cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Rev. Far. Bioquím. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 51-60, 1992.
- [17] PARKER, R.S. Absorption, metabolism and transport of carotenoids. **FASEB J.**, Bethesda, v. 10, p. 542-551, 1996
- [18] PENTEADO, M.V.C., ALMEIDA, L.B. Ocorrência de carotenóides em raízes de cinco cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do Estado de São Paulo. **Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 39-49, 1988.
- [19] PROSKY, L. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and products. Interlaboratory study. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, Washington, v. 71, p. 1017-1023, 1988.
- [20] REEVES, P. G., NIELSEN, F.H., FAHEY, G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 123, p. 1939-1951, 1993.
- [21] RETTENMAIER, R., SHÜEP, W. Determination of vitamins A and E in liver tissue. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, Bern, v. 62, p. 312-317, 1992.
- [22] ROCK, C.L., SWENDSEID, M.E. Plasma beta-carotene response in humans after meals supplemented with dietary pectin. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 55, p. 96-99, 1992.
- [23] RODRIGUEZ, D.B., RAYMUNDO, L.C., LEE, T.C., SIMPSON, K.L., CHICHESTER, C.O. Carotenoids pigments changes in ripening *Momordica charantia* fruits. **Ann. Bot.**, London, v. 40, p. 615-624, 1976.
- [24] SCHMITZ, H.H., POOR, C.L., WELMAN, R.B., ERDMAN Jr., J.W. Concentration of selected carotenoids and vitamin a in human liver, kidney, and lung tissue. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 121, p. 1613-1621, 1991.
- [25] SWEENEY, J.P. , MARSH, A.C. Liver storage of vitamin A in rat fed carotene stereoisomers. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 103, p. 20-25, 1973.
- [26] TANUMIHARDJO, S.A. Factors influencing the conversion of carotenoids to retinol: bioavailability to bioconversion to bioefficacy. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, Bern, v. 72, n. 1, 2002.
- [27] THURNHAM, D.I., SMITH, E., FLORA, P. S. Concurrent liquid-chromatographic assay of retinol, alpha-tocopherol, beta-carotene, alpha-carotene, lycopene, and beta-cryptoxanthin in plasma, with tocopherol acetate as internal standard. **Clin. Chem.**, Winston Salem, v. 34, n. 2, p. 377-81, 1988.
- [28] TEE, E.S., LIM, C.L., CHONG, Y.H., KHOR, S.C. A study of the biological utilization of carotenoids of carrots and swamp cabbage in rats. **Food Chem.**, Barking, v. 56, n. 1 p. 21-32, 1996.
- [29] WANG, X-D. Review: Absorption and metabolism of beta-carotene. **J. Am. Coll. Nutr.**, New York, v. 13, n. 4, p. 314-325, 1994.