

RUFINO ANTÓNIO INFANTE

**FARINHAS DE SORGO E DE BATATA DOCE BIOFORTIFICADA:
DESENVOLVIMENTO DE COOKIES, ACEITABILIDADE E
BIODISPONIBILIDADE DE FERRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

I43f
2015

Infante, Rufino António, 19-
Farinhas de sorgo e de batata doce biofortificada :
desenvolvimento de cookies, aceitabilidade e biodisponibilidade
de ferro / Rufino António Infante. – Viçosa, MG, 2015.
xiii, 66f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Hércia Stampini Duarte Martino.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.49-63.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Biscoito. 3. Sorgo. 4. Batata doce. 5. Minerais na nutrição. 6. Ferro. 7. Alimentos - Avaliação sensorial. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Nutrição e Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciência da Nutrição. II. Título.

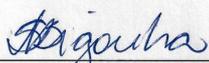
CDD 22. ed. 641.8654

RUFINO ANTÓNIO INFANTE

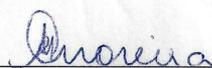
**FARINHAS DE SORGO E DE BATATA DOCE BIOFORTIFICADA:
DESENVOLVIMENTO DE COOKIES, ACEITABILIDADE E
BIODISPONIBILIDADE DE FERRO.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 10 de fevereiro de 2015.



Solange Mara Bigonha



Maria Eliza de Castro Moreira
(Coorientadora)



Sônia Machado Rocha Ribeiro
(Coorientadora)



Maria Inês de Souza Dantas
(Coorientadora)



Hércia Stampini Duarte Martino
Orientadora

*Aos meus pais António Rufino Infante e Miquelina Paulo Saveca Infante pelo amor,
ensinamentos e amizade em todas as etapas da minha vida.*

Às minhas irmãs Inês e Hermínia pela família que somos

*À minha esposa Orlanda Dinis Mbendzane pelo amor, carinho, amizade, paciência,
cumplicidade e compreensão. Amo-te muito!*

À minha filhinha Keissy Miquelina Rufino Infante que veio iluminar todo este projeto.

Dedico

“Nunca desista de seus sonhos, afinal os sonhos trazem saúde para a emoção, equipam o frágil para ser autor da sua história, renovam as forças do ansioso, animam os deprimidos, transformam os inseguros em seres humanos de raro valor. Os sonhos fazem os tímidos terem golpes de ousadia e os derrotados serem construtores de oportunidades.”

Augusto Cury

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado força e coragem para nunca desistir desta difícil etapa da minha vida, por sempre ter iluminado minhas atitudes para que eu tomasse as melhores decisões e por ter colocado em meu caminho pessoas tão maravilhosas que me ajudaram de muitas formas no desenvolvimento deste trabalho.

À minha família, em particular aos meus pais e irmãs, esposa e filha pela paciência, apoio e pela compreensão da ausência durante os dois anos.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Nutrição pela oportunidade de realizar o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo durante a realização do mestrado.

Ao tio Hermenegildo Infante e ao Prof. Dr. Louis Pelembe, pelo apoio imediato e incondicional para o meu deslocamento ao Brasil e pelo encorajamento, carinho, conselhos durante a realização do curso.

À minha orientadora Professora Hércia Stampini Duarte Martino por ter me proporcionado um projeto tão gratificante; por ter me orientado com tanto conhecimento e muita paciência, pelo incentivo, amizade e por sempre ter se colocado à disposição para me auxiliar no que fosse necessária.

As minhas Co-Orientadoras: Profa. Sônia Machado Rocha Ribeiro; Dra. Maria Inês de Souza Dantas; Dra. Maria Eliza de Castro Moreira e Dra. Valéria Aparecida Vieira Queiroz por toda a atenção e auxílio, tornando possível a execução desse trabalho.

Ao corpo docente da Pós-Graduação em Ciência de Nutrição da Universidade Federal de Viçosa que contribuíram com novos conhecimentos e por colaborarem de diversas formas na minha formação.

À equipe do laboratório de nutrição experimental: Renata Lopes, Natalia Galdino, Dorina Natal, Rita Stampini, Desirrê Moraes, Natalia Medina, Priscila Arbex, Mariana Contin, Mariana Milião, Ana Lima, Jaqueline Maciel sem esquecer o meu amigo Carlos Mario.

A todos os colegas da pós-graduação em Ciência de Nutrição, pelo companheirismo.

Aos técnicos e membros dos laboratórios: Análise de Alimentos, Desenvolvimentos de Novos Produtos e Análise sensorial, Análise de Vitaminas, Bioquímica Nutricional por toda a atenção e apoio incondicional durante as análises.

Aos Funcionários do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa pelo carinho, auxílio durante os dois anos do meu mestrado.

Ao amigo e irmão Boaventura Mubai que foi a pessoa que abriu caminho para a efetivação deste sonho.

A família Infante, Saveca, Mbendzane e Maduela pelo apoio e conforto durante os dois anos distante

Aos irmãos de combate na UFV: Manuel Talacuece, Mario Matangue, Hercílio Paulino, Telmo Sumila, Osvaldo Sande, José Chambo, e a todos outros moçambicanos e africanos em Viçosa.

A algumas pessoas especiais, cujos nomes não são citados aqui, gostaria de expressar toda a minha gratidão, admiração e respeito. Espero que de alguma maneira, realmente possa retribuir ao menos um pouco o que fizeram por mim, que certamente não será esquecido. Enfim, a todos que participaram de forma direta e indireta na minha vida durante esse período.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo Geral.....	3
2.2. Objetivos Específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
3.1. Valor nutricional dos grãos de sorgo.....	3
3.2 Compostos bioativos de grãos de sorgo.....	5
3.3 Amido resistente	6
3.4 Processamento de grãos de sorgo	6
3.5. Potencial do sorgo na alimentação humana.....	7
3.6. Batata doce.....	9
3.7. Metabolismo de ferro.....	10
3.8. Ferro e vitamina A	12
3.9 Interação de vitamina A e ferro.....	14
4. MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1 Matéria prima.....	15
4.2 Elaboração das farinhas de sorgo e de batata-doce.....	15
4.2.1 Processamento dos grãos de sorgo.....	15
4.2.2 Processamento da farinha de batata doce biofortificada.....	16
4.3 Desenvolvimento dos “ <i>Cookies</i> ”	17
4.4 Análise sensorial	18
4.5 Determinação da composição química centesimal e ferro.....	18
4.5.1 Umidade.....	18
4.5.2 Cinzas.....	19
4.5.3 Lipídios totais	19
4.5.4 Proteínas.....	19
4.5.5 Fibra alimentar total (solúvel e insolúvel).....	19
4.5.6 Carboidratos totais	21
4.5.7 Energia	21

4.5.8 Ferro.....	21
4.5.9 Fitato	22
4.6 Determinação dos carotenóides da farinha de batata-doce.....	23
4.6.1 Preparo da fase móvel.....	23
4.6.2 Preparo da curva padrão	23
4.6.3 Preparo da amostra.....	24
4.6.4 Análise Cromatográfica	24
4.7 Amido resistente	25
4.8 Avaliação da Biodisponibilidade de ferro das farinhas de sorgo integral e extrusada associadas ou não a batata doce biofortificada e de cookies, em ratos wistar.	26
4.8.1 Preparo das dietas experimentais.....	26
4.8.2 Determinação do conteúdo de ferro das dietas	28
4.8.3 Ensaio biológico	28
4.8.4 Consumo alimentar e ganho de peso	29
4.8.5 Determinação de hemoglobina	30
4.8.6 Ganho de hemoglobina	30
4.8.7 Concentração de ferro da hemoglobina	31
4.9 Variáveis bioquímicas	32
4.10 Capacidade antioxidante total do plasma dos animais.....	32
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
6. ASPECTOS ÉTICOS.....	33
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
7.1 Composição química centesimal, conteúdo de ferro e de fitato das farinhas	34
7.2 Composição química centesimal e amido resistente dos cookies.....	35
7.3 Análise sensorial dos cookies	37
7.4 Biodisponibilidade de ferro das farinhas de sorgo integral e extrusada associadas ou não a farinha de batata doce biofortificada e de cookies, em ratos wistar.	42
7.5 Capacidade antioxidante total do plasma dos animais experimentais	45
7.6 Variáveis bioquímicas	46
8. CONCLUSÃO GERAL	48
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFIA	49
ANEXOS	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Concentração de fitato total em farinhas de sorgo integral e extrusada mg/100g. Teste ($p < 0,001$).....	35
Figura 2: Conteúdo do amido resistente dos cookies (g/100g em base úmida). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).....	37
Figura 3. Correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os dois primeiros componentes principais (dimensão 1 e 2) para o atributo cor.....	39
Figura 4. Correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os dois primeiros componentes principais (dimensão 1 e 2) para o atributo textura.....	40
Figura 5. Correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os dois primeiros componentes principais (dimensão 1 e 2) para o atributo sabor.....	41
Figura 6. Correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os dois primeiros componentes principais para impressão global.....	42
Figura 7: Capacidade antioxidante total do plasma dos animais experimentais. (Duncan, $p < 0,05$).....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Ingredientes e composição de biscoito tipo cookies de farinha de sorgo integral, farinha de sorgo extrusada e farinha da batata doce biofortificada.....	17
Tabela 2 Composição das dietas experimentais (g/100g).....	27
Tabela 3 Composição centesimal e de ferro das farinhas de sorgo e da batata doce biofortificada utilizadas no ensaio biológico, em base úmida (g/100g).....	34
Tabela 4 Composição centesimal dos cookies (g/100g).....	36
Tabela 5 Média e desvio padrão dos escores da aceitação dos cookies.....	38
Tabela 6 Ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar de animais tratados.....	43
Tabela 7 Quantidades de ferro consumido, ganho da hemoglobina (GHb), valor biológico relativo de ganho hemoglobínico (RBV GHb); eficiência da regeneração da hemoglobina(HRE) e o valor biológico da eficiência de regeneração da hemoglobina (RBVHRE).....	44
Tabela 8- Variáveis bioquímicas: glicose, insulina, ácido úrico, creatinina, aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT) dos animais alimentados com as dietas experimentais.....	47

RESUMO

INFANTE, Rufino António, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2015. **Farinhas de sorgo e de batata doce biofortificada: Desenvolvimento de cookies, aceitabilidade e biodisponibilidade de ferro.** Orientadora: Hércia Stampini Duarte Martino. Coorientadoras: Sônia Machado Rocha Ribeiro, Maria Inês de Souza Dantas e Maria Eliza de Castro Moreira.

O uso de genótipo de sorgo com elevado conteúdo de ferro na forma de farinha integral e extrusada em associação com a batata doce biofortificada poderá aumentar a aceitabilidade e a concentração de compostos bioativos como, carotenoides e fibra alimentar em cookies, além de favorecer a biodisponibilidade de ferro. Assim, avaliou-se as características sensoriais e a biodisponibilidade de ferro de farinhas de sorgo integral e extrusada, batata doce biofortificada e de cookies. Foram desenvolvidas quatro formulações de cookies e a avaliação da aceitabilidade das amostras foi realizada em condições laboratoriais, utilizando-se o delineamento em blocos completos balanceados. Cerca de 100 julgadores avaliaram os atributos de cor, textura, sabor e a aceitação global das formulações, utilizando a escala hedônica de nove pontos. A biodisponibilidade de ferro foi avaliada pelo método de depleção-repleção em ratos. Os animais receberam dieta AIN93-G sem ferro na fase de depleção por 21 dias. Na fase de repleção os animais receberam dietas com 12 mg/kg de ferro da dieta, por 14 dias, provenientes de sulfato ferroso (controle), farinha de sorgo integral; farinha de sorgo extrusado; farinha de sorgo integral e farinha de batata doce biofortificada; farinha de sorgo extrusada e farinha de batata doce biofortificada; cookies com farinha de sorgo integral e batata doce biofortificada e cookies com farinha de sorgo extrusado e farinha de batata doce biofortificada. A hemoglobina (Hb) foi mensurada no início e ao final da fase de repleção. Foi avaliado o ganho de Hb, eficiência na regeneração de Hb (HRE) e valor biológico relativo de HRE (RBV de HRE). Avaliou-se as variáveis bioquímicas séricas: glicose, insulina, ácido úrico, creatinina, aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT) e a capacidade antioxidante total do plasma. Os cookies com farinha extrusada apresentaram menor conteúdo de cinzas, fibra alimentar total e sua fração insolúvel e de lipídios. A formulação com sorgo integral destacou-se como fonte de fibra alimentar e amido resistente. Em relação aos atributos sabor e impressão global as formulações de cookies contendo batata doce biofortificada diferiram ($p \leq 0,05$) das demais formulações, apresentando melhor aceitação. Em relação ao atributo textura, observou-se que as notas atribuídas foram menores ($p > 0,05$) para os

cookies elaborados com farinha de sorgo extrusada. As amostras elaboradas com farinha de sorgo associada à batata doce biofortificada foram as mais aceitas. A presença da batata doce biofortificada agregou sabor e cor aos cookies e melhorou as características sensoriais do produto. Ao comparar o ganho de hemoglobina e o valor biológico relativo de ganho hemoglobínico (RBV GHb) os grupos testes não diferiram ($p > 0,05$) entre si, exceto para o grupo tratado com sorgo integral, que apresentou baixo ganho de hemoglobina e RBV GHb. A eficiência de regeneração de hemoglobina (HRE) e o valor biológico da eficiência de regeneração de hemoglobina (RBV HRE) não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos teste e também do controle, exceto para o grupo tratado com sorgo integral, que apresentou menor ($p < 0,05$) HRE e RBV HRE em relação aos restantes dos grupos testes. As farinhas de sorgo extrusado e sua associação a farinha de batata doce apresentou biodisponibilidade de ferro comparável ao sulfato ferroso. Entretanto, o grupo tratado com sorgo integral apresentou baixa biodisponibilidade. A menor biodisponibilidade de sorgo integral pode ser devido ao maior conteúdo de fitato desta farinha. A substituição de 50 % de sorgo integral por batata doce melhorou a biodisponibilidade de ferro, tornando-se comparável ao sulfato ferroso. Os cookies preparados com a mistura de farinhas de sorgo extrusada ou integral e batata doce biofortificada mantiveram a biodisponibilidade de ferro equiparável ao sulfato ferroso. Os níveis de glicose, insulina, ácido úrico, creatinina, aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT) não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais. Entretanto a presença de farinha de sorgo associada ou não a batata doce e os cookies aumentaram ($p < 0,05$) a atividade antioxidante total no plasma dos ratos em relação ao controle e não diferiram entre si. A associação da batata doce biofortificada à farinha de sorgo integral e extrusada promoveu boa aceitação dos cookies e biodisponibilidade de ferro comparável ao sulfato ferroso.

ABSTRACT

INFANTE, Rufino António, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2015. **Flour, sorghum and sweet potato biofortified: Development cookies, acceptability and iron bioavailability** Adviser: Hércia Stampini Duarte Martino. Co-Advisers: Sônia Machado Rocha Ribeiro, Maria Inês de Souza Dantas and Maria Eliza de Castro Moreira.

The use of sorghum genotypes with high iron content in the form of full and extruded flour in association with sweet potato biofortified may increase the acceptability and the concentration of bioactive compounds as carotenoids and dietary fiber in cookies and favors the bioavailability of iron. Thus, we evaluated the chemical, sensory and iron biodisponibilidade sorghum flour, sweet potato biofortified and cookies. Was evaluated chemical composition of flour and cookies. We developed four cookie formulation and evaluation of the acceptability of the samples under laboratory conditions was carried out using the design in a balanced complete block. About 100 judges evaluated the color attributes, texture, flavor and overall acceptability of the formulations using the nine-point hedonic scale. The iron bioavailability was evaluated by the method depletion-repletion in rats. The animals received AIN 93G diet without the iron depletion phase for 21 days. In repletion phase the animals were fed a diet with 12 mg / kg of iron for 14 days, from ferrous sulfate (control), whole sorghum flour; sorghum flour extruded; full sorghum flour and flour sweet potato biofortified; extruded flour and sweet potato biofortified; cookies with whole sorghum flour and sweet potato biofortified and cookies with sorghum flour extruded flour and sweet potato biofortified. Hemoglobin (Hb) was measured at the beginning and the end of the repletion phase. Was assessed the gain of Hb, efficient regeneration of Hb (HRE) and relative biological value of HRE (RBV HRE). Evaluated the biochemical markers: glucose, insulin, uric acid, creatinine, aspartat amin transferas (AST), alanin amin transferas (ALT) and total plasma antioxidant capacity. Extrusion reduced content of insoluble dietary fiber, ash and iron and increased the protein content of the flour, sorghum, sweet potato biofortified showed a high content of carotenoids. Full sorghum flour had a higher content of phytate for extruded. The cookies with extruded flour had lower ash content, total dietary fiber and its insoluble and lipid fraction. The formulation with full sorghum stood out as a source of dietary fiber and resistant starch. Regarding the flavor attributes and overall impression cookies formulations containing sweet potato biofortified different ($p \leq 0,05$) from the other formulations, with better acceptance. Regarding the texture attribute, it is observed that the marks awarded were lower ($p > 0.05$) for cookies

made with extruded sorghum flour. Samples prepared with sorghum flour associated with sweet potato biofortificada were the most accepted, followed by prepared samples only with sorghum flour. The presence of sweet potato biofortified added flavor and color to cookies and improved sensory characteristics. Comparing the gain of hemoglobin and the relative biological value of hemoglobin gain (RBV GHb) testing groups were similar ($p > 0.05$) from each other except for the group treated with whole sorghum, which had low hemoglobin gain and RBV GHb, although had a greater ($p < 0.05$) consumption of iron. The hemoglobin regeneration efficiency (HRE) and the biological value of hemoglobin regeneration efficiency (RBV HRE) did not differ ($p > 0.05$) between the test and also the control, except for the group treated with whole sorghum, which showed lower ($p < 0.05$) and RBV HRE HRE for the remaining test groups. The sorghum flour extruded and his sweet potato flour showed the association iron bioavailability comparable to ferrous sulfate. However, the group treated with whole sorghum showed low bioavailability. The low bioavailability of whole sorghum may be due to higher phytate content of the flour. Replacement of 50% of whole sweet potatoes per sorghum improved the bioavailability of iron, making it comparable to ferrous sulphate. The cookies prepared with the mixture of extruded sorghum meal or whole sweet potatoes and biofortified maintained comparable bioavailability of iron to the ferrous sulfate. The Glucose levels, insulin, uric acid, creatinine, aspartat amin transferas (AST), alanin amin transferas (ALT) did not differ ($p > 0.05$) between the experimental groups. However the presence of sorghum flour with or without sweet potatoes and cookies increased ($p < 0.05$) the total antioxidant activity in the plasma of rats in the control and did not differ. The association

The combination of sweet potato flour biofortified full and extruded sorghum promoted good acceptance of cookies and iron bioavailability comparable to ferrous sulfate.

1. INTRODUÇÃO

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é um cereal da família Poaceae, nativo da África (U.S. GRAINS COUNCIL, 2004). Ele é o quinto cereal de maior produção no mundo, sendo antecedido pelo trigo, arroz, milho e cevada (FAO, 2010). Em todo o mundo, existem mais de 7.000 genótipos de sorgo (KANGAMA & RUMELI, 2005). O cultivo deste cereal se faz extremamente importante nos continentes Asiático e Africano, além de outras regiões semiáridas do mundo, onde ele é utilizado, principalmente, na alimentação humana (DILLON et al., 2007; AFIFY et al., 2011). Seu uso em países ocidentais está aumentando, como ingrediente sem glúten. No Brasil, utiliza-se o sorgo basicamente na alimentação animal. No entanto, o interesse no uso desse cereal como alimento humano tem crescido, devido as suas características nutricionais (MARTINO et al., 2014).

A cultura do sorgo possui vantagens agronômicas em função de sua resistência à seca, alta produtividade, baixa exigência nutricional e baixo custo de produção (SANCHEZ, 2013; MANUKUMAR et al., 2014). Esse fato coloca o sorgo em uma posição de destaque entre outros cereais, vislumbrando a possibilidade de redução dos custos com matéria-prima na indústria alimentícia de biscoito, massas, entre outras. Entretanto, por não conter glúten, o uso do sorgo na panificação requer a aplicação de tecnologias adicionais e a associação com outros tipos de farinhas que podem conferir melhores resultados aos produtos (MARTINO et al., 2014). O tipo de processamento dos grãos é um fator muito importante para determinar a composição química, valor nutricional e funcional do sorgo. A maioria dos estudos publicados até o momento demonstraram as alterações químicas decorrentes de processamentos tradicionalmente utilizados em países africanos e asiáticos (DUODU et al. 2002; DICKO et al. 2005; DICKO et al. 2006; AFIFY et al. 2011; WU et al. 2013). Estudos sobre os efeitos dos processamentos que refletem a cultura da população e as necessidades das indústrias ocidentais são escassos. Entre esses processamentos, destaca-se o tratamento térmico em calor seco e a extrusão, que constitui uma importante técnica industrial (ATHAR et al. 2006; DING et al. 2006).

A maioria dos genótipos de sorgo não é fonte de ferro (Martino et al., 2012). No entanto, dentro de um banco de 100 genótipos da Embrapa Milho e Sorgo, selecionou-se um com elevado conteúdo de ferro, zinco, capacidade antioxidante, fenólicos totais e taninos (CARDOSO et al., 2015), pois é uma cultura que pode vir a

substituir o milho e o trigo na alimentação humana e que poderá contribuir com a ingestão de minerais e compostos bioativos.

A contribuição do sorgo na ingestão de minerais seria de grande importância, pois sabe-se que a anemia ferropriva é a carência nutricional mais prevalente no mundo, acometendo 47,4% das crianças em idade pré-escolar (WHO, 2008) e no Brasil esta prevalência é de 20,9% (BRASIL 2009). No entanto, o sorgo possui fitoquímicos como, fitatos, taninos e compostos fenólicos (MORAES et al, 2012) que podem interferir na biodisponibilidade de ferro. Para minimizar o efeito do processamento dos grãos de sorgo e de compostos com ação antinutricional e potencializar a absorção de ferro, o uso de dietas contendo pro-formadores de vitamina A vem sendo utilizada (GARCIA-CASAL et al., 1998), pois estudos tem encontrado uma relação entre deficiência de vitamina A e a anemia ferropriva (MEHDAD et al., 2010; GONDIM et al, 2012). Dentro deste contexto, a Embrapa vem produzindo nos seus campos experimentais a batata doce beauregard biofortificada, com elevado conteúdo de carotenóides, (RODRIGUES-AMAYA et al (2011), que em associação ao sorgo poderá contribuir com a biodisponibilidade de ferro.

Diante do exposto, a presente pesquisa visou processar farinhas de sorgo e batata doce e utilizá-las no preparo de cookies, avaliando suas características químicas, sensoriais e a biodisponibilidade de ferro dos cookies e das farinhas. A hipótese baseia-se na premissa que a associação da farinha de sorgo com a farinha de batata doce aumente a aceitabilidade dos cookies e favoreça a biodisponibilidade de ferro.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar as características sensoriais e a biodisponibilidade de ferro de farinhas de sorgo, batata doce biofortificada e de cookies.

2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Desenvolver cookies com farinhas de sorgo integral e extrusada com e sem adição de farinha de batata doce biofortificada;
- ✓ Avaliar a aceitabilidade dos cookies desenvolvidos;
- ✓ Analisar a composição química centesimal e o conteúdo de amido resistente dos cookies. O conteúdo de ferro e de fitato das farinhas de sorgo integral e extrusada, conteúdo de carotenóides da farinha de batata doce biofortificada;
- ✓ Avaliar a biodisponibilidade de ferro, a capacidade antioxidante total e as variáveis bioquímicas dos ratos alimentados com farinhas de sorgo integral e extrusada e associação destas com farinha de batata doce biofortificada e de cookies.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Valor nutricional dos grãos de sorgo

A composição química do sorgo é influenciada pelos fatores genéticos, ambientais e práticas agronômicas, sendo o conteúdo proteico o mais variável. O sorgo possui elevado valor nutricional e composição química semelhante à do trigo e do milho, sendo que, em todos eles, o amido corresponde ao principal macronutriente, que de acordo com o genótipo varia de 56 a 73% (KRUGER et al., 2012). Apresenta açúcares solúveis, frutanas, celulose, hemicelulose e substâncias pécicas. Os principais açúcares solúveis redutores são a glicose e a frutose, com níveis que variam de 0,2 a 0,9% (HOSENEY, 1986). No grão não germinado encontra-se ainda a maltose. Em níveis superiores, 0,3 a 2,1%, aparecem os açúcares solúveis não redutores, sendo que o principal açúcar não redutor é a sacarose, que representa 75% dos açúcares solúveis (EL TINAY et al., 1979).

Os conteúdos de proteínas nos grãos de sorgo são em torno de 7,3 a 15,6 %; sendo as prolaminas, também denominadas de kafirinas, as principais proteínas. As prolaminas representam aproximadamente 70% das proteínas totais e 80% das proteínas do endosperma (WANISKA e ROONEY, 2000). O sorgo por ser um cereal, tem como principal aminoácido limitante a lisina, mas existe uma variação de limitação de outros aminoácidos essenciais em função do genótipo e das condições ambientais. MORAES et al (2012) encontraram em farinhas de três genótipos de sorgo tratadas termicamente cinco a seis aminoácidos limitantes, como lisina, isoleucina, cistina, metionina, valina e treonina. Entretanto, Mokrane et al (2010) encontraram em cinco variedades de sorgo somente três aminoácidos limitantes como, lisina, cisteína e metionina.

O sorgo contém fibras alimentares (6 a 15%), das quais aproximadamente de 10 a 25% são fibras alimentares solúveis (MARTINO et al., 2012). O principal constituinte da fibra alimentar é a celulose que se encontra principalmente no pericarpo, com variação de 1,2 a 5,2%. As hemiceluloses aparecem no sorgo como componentes da parede celular, ou como matriz que mantém as células unidas. O grão do sorgo contém de 2,5 a 5,6 % de pentosanas (HOSENEY et al., 1987).

Os lipídios dos grãos de sorgo estão presentes, principalmente, no germe. Em oito genótipos de sorgo da Embrapa Milho e Sorgo, verificou-se que a concentração de lipídios variou de 1,24 a 3,07% (MARTINO et al., 2012). O conteúdo de lipídios (3g/100g) predominante é de ácidos graxos insaturados (MORAES, 2012). A maioria dos genótipos apresentaram maior conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados do que monoinsaturados. As concentrações dos principais ácidos graxos variaram de 31,1 a 48,9% para o ácido oléico; 0,4 a 0,6% de palmitoléico; 27,6 a 50,7% de linoléico; 1,7 a 3,9% de linolênico; 1,01 a 2,6% de esteárico e 11,7 a 20,2% de palmítico (MEHMOOD et al., 2008).

O conteúdo de cinzas no sorgo pode variar de 1,1 a 2,5 % (WANISKA e ROONEY, 2000). Algumas variedades apresentam alto conteúdo de minerais como ferro, fosforo, potássio, magnésio, zinco, cálcio, cobre e enxofre (DICKO et al., 2006 e MARTINO et. al., 2012).

O sorgo também é fonte de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, piridoxina) e vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K). Dicko et al (2006), verificaram que o sorgo, quando comparado com o milho, contém níveis similares de riboflavina, tiamina e piridoxina, níveis inferiores de caroteno e níveis superiores de ácido

pantotênico, niacina, colina, ácido fólico e biotina. No entanto, o sorgo não é considerado fonte de vitamina C.

3.2 Compostos bioativos de grãos de sorgo

O sorgo é uma importante fonte de compostos bioativos, como os ácidos fenólicos, flavonoides (antocianinas e taninos), fibra, fitoesteróis e policosanóis (QUEIROZ, et al., 2013). Alguns estudos demonstraram que outros cereais como, por exemplo, aveia, arroz e trigo, possuem menores concentrações de compostos fenólicos e baixa atividade antioxidante em comparação com o sorgo. Estes compostos reduzem a ação e os danos causados pelos radicais livres e, assim, promovem benefícios para a saúde humana (DICKO et al., 2005; WU et al., 2013).

Os cultivares negros de sorgo destacam-se pelo elevado conteúdo de compostos fenólicos, tais como, taninos condensados, ácido hidrobenzóico e de ácido hidrocínamico e 3-deoxiantocianinas (AWIKA et al., 2002; WU et al., 2013; BARROS, 2014), com atividade antioxidante em estudo *in vitro* (KAMATH et al., 2004). As principais 3-deoxiantocianinas presentes no sorgo, luteolinidina (cor laranja) e apigeninidina (cor amarelo) apresentam significativa capacidade antioxidante e ótima estabilidade a variações de pH e calor comparado com as antocianinas de frutas (WU et al., 2013). Desta forma, existe um grande potencial do uso de antocianinas do sorgo como corante natural em alimentos, o que poderia substituir ou complementar os corantes artificiais e naturais (Urucum, Cúrcuma e Cochonila) (BARROS et al., 2014). Os ácidos fenólicos, que podem encontrar-se livres ou esterificados, encontram-se nas camadas mais externas do grão e inibem o crescimento de microrganismos (BARROS et al., 2014).

O sorgo é o único dos cereais capaz de produzir quantidades relativamente elevadas de taninos (AWIKA et al; 2009). Os taninos têm a particularidade de proteger o grão do ataque dos pássaros e insetos e de prevenir a germinação pré-colheita. Estudos sobre as interações entre compostos fenólicos e amido, evidenciam que os taninos condensados foram os principais responsáveis pela interação com o amido, que ocorreu principalmente com amilose, aumentando o conteúdo de amido resistente (BARROS et al., 2012).

A reduzida qualidade de proteínas presentes em cultivares de sorgo com tanino é vista como um aspecto negativo para alimentação (MORAES et al., 2012),

considerando a baixa disponibilidade de energia e de proteínas. No entanto, cultivares de sorgo com tanino são consumidos em alguns Países Africanos, pois proporcionam prolongada saciedade e coloração atrativa aos produtos (AWIKA et al., 2004). Além disso, a redução da digestibilidade da proteína devido as interações com taninos podem ser benéficas na prevenção das doenças crônicas não transmissíveis (CARDOSO et al., 2014).

3.3 Amido resistente

O sorgo é uma importante cultura rica em amido (aproximadamente 70%) e tem excelente potencial para aplicações industriais globais (SINGH et al., 2011). O processamento da farinha de sorgo por moagem a seco ou cocção pode resultar em uma redução significativa dos conteúdos de proteínas bem como de amido (QINGJIE et al., 2014).

O amido resistente é aquele que resiste à digestão no intestino delgado, mas é fermentado no cólon principalmente pelas bifidobactérias, produzindo ácidos graxos de cadeia curta (butírico, propiônico, acético), que contribui para a saúde do cólon, pois inibe o crescimento de células cancerígenas devido à redução do pH no intestino grosso e a função imunológica (ZHANG; HAMAKER, 2009; YAO-YU et al., 2014).

O amido resistente contribui para o baixo índice glicêmico dos alimentos, proporcionando uma menor resposta glicêmica e, por conseguinte, uma menor resposta insulínica, auxiliando no tratamento de diabetes, principalmente do tipo 2. Também reduz o risco de doenças cardiovasculares, reduzindo os níveis de LDL e de triglicerídeos plasmáticos e contribui para a perda de peso (WALTER et al., 2005; PEREIRA, 2007).

3.4 Processamento de grãos de sorgo

Antes de ser consumido, o sorgo é submetido a métodos de processamentos os quais podem alterar o conteúdo de nutrientes e o seu perfil antioxidante (CARDOSO et al., 2014). Estudos têm demonstrado que alguns processamentos utilizados na África e na Ásia (fermentação, germinação e imersão em água), podem alterar o perfil e o conteúdo de compostos fenólicos em sorgo (ABDELSSSED et al., 2011). O conhecimento sobre os efeitos do calor seco em forno e da extrusão no conteúdo de

compostos bioativos no sorgo ainda é incipiente (DYKES et al., 2014).

Cardoso et al (2014) estudaram o efeito do calor seco em estufa e em forno microondas e calor úmido. As deoxiantocianinas e compostos fenólicos totais mantiveram-se estáveis ao calor seco (retenção entre 96,7-109,6 %) e reduziu em calor úmido. O calor seco aumentou a concentração e a retenção de vitamina E (1.767,2 – 3112,1 µg/100g) e reduziu a concentração de carotenóides (47,8-172,7µg/100g). A atividade antioxidante aumentou em farinhas obtidas em calor seco, exceto na moagem e tratamento térmico em forno, que diminuiu com o calor úmido. O processamento térmico úmido reduziu as concentrações de 3 deoxiantocianinas, compostos fenólicos totais, vitamina E e atividade antioxidante e aumentou a concentração de carotenóides (CARDOSO et al., 2014).

No processo de extrusão ocorre abertura das estruturas compactas das proteínas e a desnaturação, podendo ocorrer interações das proteínas com compostos fenólicos, como por exemplo, a interação da proteína com o tanino (DLAMINI et al., 2007) e da proteína com a lignina (MONTAÑO-LEYVA et al., 2013). As modificações físicas do cozimento do amido por extrusão, afeta o tamanho, a forma e o arranjo estrutural das regiões semicristalinas presentes nos grânulos de amido (CARVALHO et al., 2010). Os taninos do sorgo interagem fortemente com os polissacarídeos lineares, como a amilose e os fragmentos de amilopectina. Estes complexados podem contribuir tanto para o aumento da insolubilidade, quanto para o incremento do peso molecular dos compostos, afetando a viscosidade da massa fundida (DLAMINI et al., 2007).

Ensaio de extrusão com elevados perfis de temperatura podem ocasionar descarboxilação dos fenólicos e, altos teores de umidade podem promover polimerização dos compostos fenólicos e dos taninos, que levam à redução da extractabilidade e atividade antioxidante (CARDOSO et al., 2014). Entretanto, este último fato pode contribuir para a formação de amido resistente durante o processo (DLAMINI et al., 2007; CARVALHO et al., 2010).

3.5. Potencial do sorgo na alimentação humana

O Sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é um grão que pertence a Família *Poaceae*, originária de regiões tropicais semi-áridas da África e da Ásia, sendo o quinto cereal mais importante nessas regiões (REDDY et al., 2011). A maior parte da

população Africana e do centro da Índia depende deste cereal para a ingestão de energia na dieta e suprir suas necessidades em micronutrientes (KUMAR et al., 2013).

Em países como Estados Unidos, o seu uso é mais para alimentação animal e produção de álcool (AWIKA et al., 2004). Nos últimos anos, o uso de sorgo na alimentação humana aumentou de forma significativa devido aos seus resultados que tem demonstrado características funcionais e nutritivas, pelas suas vantagens agrônomicas como a resistência a seca, a alta produtividade e baixo custo de produção, por ser um ingrediente sem glúten (KUMAR et al., 2013) e por apresentar benefícios à saúde, como capacidade antioxidante, propriedades anti-carcinogênicas e proteção às doenças cardiovasculares (AWIKA et al., 2004; AWIKA et al., 2009; BURDETTE et al., 2010). Estes benefícios funcionais têm sido verificados *in vitro* e em animais, e atribuídos principalmente aos seus compostos fenólicos, incluindo flavonoides (3-deoxiantocianidinas e flavonas) e proantocianidinas (CARDOSO et al., 2014).

O sorgo é portanto uma alternativa totalmente viável e segura para suprir a demanda ascendente da indústria alimentícia por alimentos isentos de glúten. A doença celíaca atinge entre 1% e 2% da população mundial e caracteriza-se pela intolerância permanente ao glúten em pessoas geneticamente predispostas. Essa intolerância ao glúten tem resultado em demanda ascendente por novos produtos, nutritivos e de alta qualidade (QUEIROZ et al., 2013).

Em outros Países como Brasil, El Salvador e Japão já existe um esforço para promover o uso do sorgo na alimentação humana, devido ao baixo preço de produção comparado ao do trigo e ao milho e a ausência de glúten. A EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), no Brasil, e o CENTA (Centro Nacional de Tecnologia Agropecuaria y Forestal), em El Salvador, promovem a divulgação de sorgo para alimentação por meio de vários projetos de pesquisa, workshops e simpósios. O Japão importa farinha de sorgo branco dos Estados Unidos para produção de produtos como snacks, risoto e extrusados em substituição ao arroz nas formulações (BARROS et al., 2014).

No Brasil, pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo iniciaram, em 2008, uma linha de pesquisa “Sorgo para alimentação humana: caracterização de genótipos quanto a compostos de interesse para a nutrição e a saúde humana e desenvolvimento de produtos sem glúten” em parceria com as Embrapas Agroindústria de Alimentos, Agroindústria Tropical e Clima Temperado e as Universidades Federais de Viçosa (UFV), de Minas Gerais (UFMG), de São João Del Rei (UFSJ/SL) e Brasília (UNB).

Resultados preliminares do projeto mostraram elevada variabilidade para as características nutricionais e funcionais nos grãos de 100 linhagens de sorgo, pertencentes ao Programa de Melhoramento de Sorgo da Embrapa Milho e Sorgo, o que é um ótimo indicador para a identificação de materiais promissores para o desenvolvimento de cultivares destinadas ao uso na alimentação humana. Paralelamente, produtos como barra de cereais, bolos e pães têm sido desenvolvidos e apresentado elevada aceitação sensorial (QUEIROZ et al., 2008, 2011a e 2011b, MARTINO et al., 2014).

3.6. Batata doce

A batata doce é uma planta dicotiledônea pertencente à família Convolvulaceae, gênero *Ipomoea* e espécie *Ipomoea batatas* Lam (CASTRO e PEDROSO, 2006; ROESLER et al., 2008). Originária da América Central e do Sul, foi introduzida na Europa pelos portugueses e espanhóis, difundindo-se, posteriormente, para os demais continentes. O seu cultivo é melhor nas zonas tropicais, subtropicais e temperadas (WOOLFE, 1992; BOVELL-BENJAMIN et al., 2007).

A batata doce é cultivada em vários países, sendo que aproximadamente 90% da produção é obtida na Ásia. No Brasil, o cultivo da batata-doce tem sido realizado pelas famílias rurais da Região Nordeste do País (SILVA et al. 2005).

A batata doce participa do suprimento de calorias, vitaminas e minerais na alimentação humana; suas raízes apresentam baixo níveis de gordura e proteínas e ricas em carboidratos, potássio, zinco, sódio, manganês, magnésio, ferro, cálcio, vitaminas A e do complexo B, tornando-se deste modo um importante complemento alimentar para populações de baixa renda (TEOW et al., 2007; WU et al., 2008).

O uso da batata doce de polpa alaranjada biofortificada, surgiu como uma alternativa para suprir a carência de vitamina A. Além da facilidade de cultivo, rusticidade e ampla adaptação a sistemas de baixo nível tecnológico de pequenas propriedades de agricultura familiar e colheita prolongada (ROESLER et al., 2008; RODRIGUES-AMAYA, 2004; VAN JAARVELD et al., 2006).

A farinha de batata doce pode ser armazenada por até seis meses quando empacotadas hermeticamente em sacos plásticos protegidos da luz (CARVALHO; 2010). Ela pode substituir de forma parcial a farinha de trigo na elaboração de bolos, panquecas, biscoitos e outros produtos utilizados na alimentação escolar e pode ser

misturada com outras farinhas como as de milho, trigo, mandioca e soja (RODRIGUES-AMAYA et al., 2011).

O amido é considerado um dos principais componentes da raiz da batata doce, seguido dos açúcares mais simples, sacarose, glicose, frutose e maltose. Na indústria de alimentos é utilizado para melhorar as propriedades funcionais, sendo empregado em sopas, molhos de carne, como formador de gel para balas, pudins, estabilizante em molhos de salada, na elaboração de compostos farmacêuticos, na produção de resinas naturais e na elaboração de materiais termoplásticos biodegradáveis (CEREDA et al., 2001).

3.7. Metabolismo de ferro

O ferro é o quarto mineral mais abundante na crosta terrestre, entretanto quase todo ferro no ambiente é insolúvel, existindo sob a forma de óxidos de ferro e ferro metálico, restando pouco para atender às necessidades biológicas (SHILS et al., 2003). O ferro é um mineral vital no metabolismo de todos os seres vivos; componente essencial das enzimas do ciclo de Krebs, (hemoglobina e mioglobina), dos citocromos da cadeia respiratória: participa das reações de oxidação e redução como carreador de elétrons (BRAGA; BARBOSA, 2006; COZZOLINO, 2009; SHARP, 2010).

Em humanos, a concentração de ferro varia de acordo com a idade, peso, concentração e estoque de hemoglobina, atingindo de 45 a 55 mg Fe/kg em homens e em torno de 35 mg Fe/kg em mulheres. O ferro essencial encontra-se na hemoglobina (60 a 70%), mioglobina (3 a 10%), enzimas heme, como catalase (1 a 3%) e na transferrina (0,08%). O ferro não essencial constitui o ferro de reservas: ferritina e hemossiderina (15 a 35%) (BRAGA; BARBOSA, 2006).

O ferro na dieta pode ser encontrado tanto na forma heme quanto na forma não-heme. O ferro heme, orgânico, encontra-se nos alimentos de origem animal, como carnes e vísceras, altamente biodisponível na forma de hemoglobina ou mioglobina (SIAH et al., 2006; SHARP, 2010) e não sofre interferência de fatores dietéticos na sua absorção. O ferro não-heme, inorgânico, encontra-se em plantas e sofre interferência de fatores dietéticos (FUQUA et al., 2012). Por exemplo, o ácido fítico e os taninos presentes nos cereais e leguminosas formam quelatos insolúveis com o ferro não heme, impedindo sua absorção. Por outro lado a presença de ácido ascórbico e de aminoácidos aumenta a sua absorção (SHARP, 2010).

O transportador de metal divalente (DMT-1), está envolvido no transporte de ferro não heme do lúmen intestinal para o interior do enterócito. O DMT-1 transporta apenas o ferro no estado ferroso. Entretanto, a maioria do ferro no lúmen está na forma férrica. Assim, a forma férrica é reduzida para ferrosa, possivelmente na borda em escova por uma redutase férrica, citocromo B duodenal (Dcytb) ou por agentes redutores como o ácido ascórbico. O influxo de ferro da membrana basolateral para a circulação é mediada pela proteína transportadora, ferroportina 1 e a oxidase férrica, hefaestina. Ferroportina 1 também medeia a liberação de ferro de outras células, incluindo macrófagos. O estado de deficiência de ferro e a hipoxia estimula a expressão duodenal de DMT-1, Dcytb e ferroportina, aumentando a absorção de ferro (NICOLAS et al., 2002; FUQUA et al., 2012).

A hepcidina é um hormônio regulatório secretado pelo fígado que inibe a absorção e liberação de ferro dos macrófagos e outros tipos de células. A hepcidina parece ligar-se à ferroportina 1 na membrana do enterócito, internalizando-a e degradando-a, levando a redução da transferência de ferro para a corrente sanguínea. Na deficiência de ferro a hepcidina será degradada, elevando a absorção de ferro (ZIMMERMAN; HURRELL, 2007). A Síntese de hepcidina é induzida por sobrecarga de ferro, hipóxia e sinais inflamatórios, tais como interleucinas (IL) e lipopolissacarídeo (LPS) (NICOLAS et al., 2002; SONNWEBER et al.; 2012).

O ferro heme é absorvido por um mecanismo diferente do descrito anteriormente para ferro não-heme. A maioria do ferro heme é ingerido nas formas de hemoglobina e de mioglobina. O grupo heme pode ser absorvido intacto (como metaloporfirina) diretamente pelas células da mucosa após a remoção da globina pelas enzimas proteolíticas gástricas e duodenais, ou a porção protéica pode ser removida no epitélio da mucosa. Uma vez dentro da célula, o ferro é liberado do heme pela enzima hemeoxigenase, formando Fe^{++} e protoporfirina, e a partir de então é processado de maneira análoga à que acontece com o ferro não-heme. Foi identificado na membrana apical do enterócito um transportador de ferro heme (HCP1), que é regulado em estados de deficiência e hipoxia. O ferro heme ao ser captado pela HCP1 sofre endocitose e o ferro ferroso é liberado dentro do endossoma ou lisossoma no citosol do enterócito, seguindo a mesma rota do ferro não heme (BEARD et al., 1996; ZIMMEMA; HURRELL, 2007; FUQUA et al., 2012).

Quando o ferro alcança o plasma, ele é oxidado a Fe^{+++} pela ceruloplasmina e, então, captado pela transferrina. A porção de ferro no citosol que excede a capacidade

de ligação com a transferrina se liga à ferritina e pode ser posteriormente liberada na circulação, porém a maioria permanece nas células da mucosa e é liberada no lúmen intestinal após dois a três dias, quando a célula é descamada (ZIMMEMA; HURRELL, 2007; FUQUA et al., 2012).

O ferro ligado à transferrina é, então, levado aos estoques no fígado, no baço e na medula óssea, assim como para os tecidos, que precisam de ferro. A captação do ferro pelos tecidos envolve a ligação da transferrina aos receptores celulares. O complexo penetra na célula por endocitose e forma uma vesícula no seu interior. As enzimas lisossomais liberam o Fe^{+++} e a apotransferrina, que é levada de volta à superfície da célula e segue para o plasma (ZIMMEMA; HURRELL, 2007; FUQUA et al., 2012).

A maioria do ferro encontrado no organismo está ligada a uma proteína, mas não na forma livre. Essa ligação protege o ferro da filtração glomerular e serve como mecanismo de defesa, visto que o Fe^{++} reage prontamente com peróxido de hidrogênio (H_2O_2), gerando espécies reativas de oxigênio, causando danos à célula (ROUAULT, 2006).

3.8. Ferro e vitamina A

Apesar da abundância de ferro no planeta, sua deficiência constitui a carência nutricional mais prevalente no mundo, afetando cerca de 40% da população mundial (cerca de 2 bilhões de pessoas), colocando-se como o segundo maior problema nutricional no mundo, atrás da fome (BOVELL-BEENJAMIN et al., 2000; ARREDONDO et al., 2006). A prevalência de anemia ferropriva está em torno de 50% em países em desenvolvimento e 10% em países desenvolvidos (DENIC; AGARWAL 2007), com predominância em crianças e gestantes (BEARD et al. , 1996).

A deficiência de ferro é causada pela elevada ingestão de alimentos refinados, a base de cereais e leguminosas, associados a presença de inibidores como o ácido fítico e compostos fenólicos. Nestes alimentos, o ferro encontra-se na forma de ferro não- heme que interage facilmente com os compostos inibitórios, como os fitatos (WAN-LING et al., 2013).

A deficiência de ferro é caracterizada por três estágios que alteram gradativamente, de acordo com a gravidade da deficiência. O primeiro estágio é caracterizado pela queda da ferritina sérica. No segundo estágio, a saturação da

transferrina está diminuída. O terceiro estágio se caracteriza pela redução da hemoglobina e do hematócrito (DALLMAN; REEVES, 1984; HALLBERG et al., 1993).

O ser humano adulto em média, contém de 2 a 4 g de ferro. A maioria do ferro está na hemoglobina das hemácias do sangue. A deficiência de ferro prolongada resulta em diminuição da produção de hemoglobina que leva a anemia ferropriva (WHITTAKER, 1998; SANDSTEAD, 2000). A anemia compromete o desempenho psicomotor de crianças (WHITTAKER, 1998; SANDSTEAD, 2000), perda da atividade das enzimas antioxidantes dependentes de ferro, alterações no epitélio do trato gastrointestinal, dificuldade de cicatrização, apatia, letargia, anorexia, palidez, disfagia e astenia (fraqueza orgânica), aumentando a mortalidade em crianças e adultos (ANDREWS, 1999).

A deficiência de vitamina A é um grave problema de saúde para grande parte dos países em desenvolvimento, sendo responsável por mais de 600.000 de mortes por ano, sobretudo em crianças e mulheres grávidas (FUJITA et al., 2009); comum no Sudeste da Ásia e África Subsaariana, onde estima-se que 40% das crianças na idade pré-escolar apresentam a deficiência (WEST 2003; FAO, 2004). Essa deficiência afeta por ano cerca de 210 milhões de crianças menores de cinco anos, cerca de 20 milhões de mulheres grávidas, entre 250.000 a 500.000 crianças, sendo 50% destas menores de um ano (DAVEY et al., 2009; KABAT et al., 2009).

Em nível mundial, tem sido verificado que 140 milhões de crianças maiores de 5 anos, apresentam baixas concentrações de retinol no soro ($0,7\mu\text{g/mol/L}$), sendo que cerca de 100 milhões vivem no Sul da Ásia ou na África. Países da África oriental e sulista possuem maior prevalência (37%) de crianças em idade pré-escolar com baixas concentrações de retinol no soro, seguido pelo Sul Asiático (35%) e África central e Ocidental (33%). Na África do Sul, uma em cada três crianças em idade pré-escolar apresentam uma concentração de retinol de $0,7\mu\text{g/mol/L}$ no soro, e 55-68% das crianças com idade entre 1 a 9 consomem 50% da quantidade recomendada de vitamina A (700 μg de equivalente de retinol) (VAN JAARSVELD et al., 2005).

A deficiência de vitamina A é uma das principais causas de cegueira no mundo (SOMMER, 2002); além de retardo no desenvolvimento mental, encurtamento e espessamento dos ossos, atrofia dos testículos e imunodeficiência, levando a um aumento da morbidade e mortalidade materna (WEI et al., 2009).

3.9 Interação de vitamina A e ferro

Existem evidências de que a vitamina A influencia a mobilização de ferro das reservas hepáticas (ZIMMERMANN et al., 2006). Estudo realizado por Semba e Bloem (2002) mostrou que a deficiência de vitamina A prejudica o metabolismo de ferro e reduz a concentração de hemoglobina.

Os mecanismos propostos para explicar a influência da vitamina A no metabolismo de ferro incluem o aumento da mobilização de ferro dos estoques, melhora do processo eritropoiético e da absorção de ferro da dieta (ZIMMERMANN et al., 2006 ; GARCIA -CASAL et al., 1998).

A deficiência de vitamina A pode diminuir a síntese de transferrina e assim reduzir o transporte de ferro (BOLEM; WENDELL, 1990), pode prejudicar a absorção de ferro pela medula óssea (SIJTMA e VAN DEN BERG, 1993; BOELM; WENDELL, 1990) e pode afetar a mobilização de ferro armazenado nos tecidos (MEIJA; CHEW, 1988; ROODENBURG et al., 1996).

Alguns estudos mostraram o efeito da vitamina A na melhora de absorção de ferro *in vivo* e no aumento da solubilidade de ferro *in vitro* (GARCIA -CASAL et al., 1998). Entretanto, existem alguns estudos que não encontraram nenhum efeito *in vitro* e *in vivo* (GARCIA -CASAL et al., 1998; WALCZYK et al., 2003), enquanto outros mostraram resultados inconclusivos (DEVIDSSON et al., 2003). O efeito em muitos casos é dependente da dose e do estado nutricional do indivíduo (WALCZYK et al., 2003).

Em estudos realizados em seres humanos foi demonstrado que a absorção de ferro melhorou na presença de β -caroteno, por um mecanismo ainda não completamente compreendido, mas que não é necessariamente associado a atividade da pró - vitamina A, uma vez que a luteína aumentou significativamente a absorção de ferro a partir de fumarato ferroso (MARIA; GARCIA -CASAL, 2006).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos laboratórios de Nutrição Experimental, Análise de Alimentos, Desenvolvimentos de Novos Produtos e Análise sensorial, Análise de Vitaminas do Departamento de Nutrição e Saúde e no Laboratório de Espectrofotometria de Absorção Atômica do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa – Viçosa-MG.

4.1 Matéria prima

a) *Sorgo*

O genótipo de sorgo SC319, destinado á alimentação humana, foi fornecido pela Embrapa Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG, Brasil). O Sorgo SC319 apresenta elevado conteúdo de antocianinas, taninos, ferro e zinco (CARDOSO et al.,2015). Os grãos de sorgo foram cultivados entre junho e outubro de 2011, no campo experimental da Embrapa Milho e Sorgo (Nova Porteirinha, MG, Brasil). As parcelas experimentais foram constituídas de duas filas de três metros de comprimento, com espaçamento de 0,50 m entre linhas. A fertilização no plantio consistiu na aplicação de 300 kg / ha de 08-28-16 formulado (NPK). Após 25 dias de plantio, foi realizada a adubação com 50 kg / ha de N.

Depois de colhidos, os grãos inteiros, foram acondicionados em caixas isotérmicas e encaminhados para o laboratório. Subsequentemente, os cereais integrais foram embalados em sacos de polietileno, coberto com folha de alumínio e armazenadas a -18 ± 1 ° C (CARDOSO et al., 2015).

b) *Batata doce biofortificada*

Foram utilizadas amostras de cultivares de batata doce Beauregard biofortificada cedidos pela EMBRAPA Meio Norte; Parnaíba. Brasil.

4.2 Elaboração das farinhas de sorgo e de batata-doce

4.2.1 Processamento dos grãos de sorgo

Os grãos foram submetidos a dois métodos de processamento:

1. **Farinha de sorgo integral:** Tratamento térmico em estufa com circulação forçada de ar a 121°C, por 25 minutos, seguido de moagem em moinho micro-rotor analítico (850 mm) (Marconi®, modelo MA 090/CFT, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneira de 40 mesh.
2. **Farinha de sorgo extrusada:** O processo foi conduzido usando um extrusor co-rotativo de dupla rosca Clextral Evolum HT25 (Clextral, Inc., Firminy: França), velocidade constante de 600 rpm, com diâmetro do parafuso 25 mm, razão comprimento/diâmetro de 40:1 e dez zonas de temperatura. O perfil de temperatura a partir da zona de alimentação foi fixado em 30, 30, 60, 90, 100, 100, 120, 120, 150, 150°C. A placa porta-insertos usada teve quatro furos, cada um de 3,8 mm de diâmetro e 9 mm de comprimento.

As farinhas de sorgo foram alimentadas na zona de alimentação do extrusor usando um alimentador gravimétrico de perda de peso, de dupla rosca, modelo GRMD15 (Schenck Process, Darmstadt, Alemanha) e monitorado pelo software Schenck Process Easy Serve (Schenck Process, Darmstadt, Alemanha). Água destilada foi injetada entre a primeira e a segunda zona modular por meio de um porto de 5,25 mm de diâmetro interno utilizando uma bomba dosadora de êmbolo modelo J-X 8/1 (AILIPU Pump Co. Ltd., China), adaptado para compensar as diferenças de umidade nas amostras e fornecer a umidade final de 12%. As farinhas foram coletadas ao longo de 15-20 minutos (CARDOSO et al., 2014).

As farinhas obtidas foram acondicionadas em sacos de polietileno recoberto com papel alumínio e armazenadas em *freezer* ($-18 \pm 1^\circ \text{C}$).

4.2.2 Processamento da farinha de batata doce biofortificada

As raízes foram selecionadas, pesadas, lavadas em água corrente, descascadas e raladas, utilizando multiprocessador de alimentos (ARNO) e submetidas ao processo de elaboração da farinha conforme a metodologia proposta por Rodriguês et al (2011), com adaptações. As batatas raladas foram submersas em solução 0,5% de bissulfito de sódio, por 15 minutos e posteriormente colocadas uniformemente em tabuleiros.

O tratamento térmico da batata doce foi realizado em estufa com circulação forçada de ar, a 60°C, por 7 horas, seguido de moagem em moinho de rotor (Marconi®, modelo MA 090/CFT, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneira de 20 mesh.

As farinhas obtidas foram acondicionadas em sacos de polietileno recoberto com papel alumínio e armazenadas em *freezer* ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$).

4.3 Desenvolvimento dos “Cookies”

Os *Cookies* foram desenvolvidos com base em uma formulação padrão. As concentrações das farinhas de sorgo e de batata doce biofortificada foram definidas por meio de testes preliminares. Foram elaboradas quatro formulações (Tabela 1), em três repetições.

Tabela 1. Ingredientes e composição de biscoito tipo cookies de farinha de sorgo integral, farinha de sorgo extrusada e farinha da batata-doce biofortificada.

Ingredientes	F1	F2	F3	F4
Farinha integral de sorgo (g)	245	-	122,5	-
Farinha extrusa de sorgo (g)	-	245	-	122,5
Farinha da batata-doce biof (g)	-	-	122,5	122,5
Fermento químico (g)	2,8	2,8	2,8	2,8
Canela (g)	2	2	2	2
Sal (g)	2	2	2	2
Óleo de canola (ml)	90	90	90	90
Açúcar mascavo(g)	107,5	107,5	107,5	107,5
Ovo (g)	100	100	100	100
Baunilha (ml)	4	4	4	4
Total	463,3	463,3	463,3	463,3

F1= cookies a base da farinha de sorgo integral; F2= cookies à base da farinha sorgo extrusado; F3= cookies à base da farinha de sorgo integral + farinha da batata doce biofortificada F4= cookies à base da farinha de sorgo extrusada + farinha da batata doce biofortificada. Cada cookie tem em média 8g. Rendimento médio/receita = 50 unidades (estimativa).

Para elaboração dos cookies, inicialmente, foram peneirados as farinhas, o fermento químico, a canela e o sal, para incorporação do ar. Com auxílio de uma batedeira (Walita) misturou-se o óleo de canola e o açúcar mascavo, em velocidade média por 10 minutos, até obter uma mistura homogênea. Foram acrescentados os ovos e a baunilha junto a massa, batendo continuamente até completa homogeneização dos ingredientes. Em seguida, adicionaram-se os ingredientes secos, previamente misturados.

Os cookies foram moldados em formato circular, em formas de papel, com peso de aproximadamente 10g a unidade, assados em forno doméstico (Diplomata Grill), à

temperatura de 220°C, por 20 minutos, resfriados em temperatura ambiente por duas horas e acondicionados em embalagens de polietileno de alta densidade.

4.4 Análise sensorial

A avaliação da aceitabilidade das quatro formulações de cookies foi realizada em condições laboratoriais, em cabines individuais, usando luz branca. Foi utilizado o delineamento de blocos completos balanceados para apresentação das amostras.

As quatro formulações foram avaliadas, quanto à aceitação, por 100 consumidores, após assinarem um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, avaliado pelo Comitê de Ética da UFMG (ANEXO 2) As amostras foram codificadas com número de três dígitos e servidas de forma aleatória e sequencial. Um copo de água filtrada em temperatura ambiente foi fornecido para enxágüe da boca entre as avaliações. Os consumidores avaliaram a aceitação global das amostras utilizando escala hedônica de nove pontos sendo os extremos de valor 1 atribuído ao termo hedônico “desgostei extremamente” e de valor 9 atribuído ao termo “gostei extremamente” (STONE; SIDEL, 1993). Os dados obtidos foram utilizados para o estudo de mapa de preferência interno. As duas formulações mais aceitas, foram utilizadas para avaliar a biodisponibilidade de ferro.

4.5 Determinação da composição química centesimal e ferro

Foram analisadas as amostras de farinhas da batata doce e de cookies. Todas as determinações foram realizadas em triplicata com exceção da concentração de fibra alimentar que foi realizada em duplicata.

4.5.1 Umidade

O teor de umidade foi determinado pelo método gravimétrico, segundo a metodologia proposta pela AOAC (2012). Neste método, aproximadamente 5 g da amostra em pó foram pesadas em triplicata, em placas previamente taradas, e secos em estufa de circulação forçada de ar (Marconi, MA 035) a 105° C por 24 horas.

Após a secagem, as amostras foram resfriadas em dessecador com sílica gel e pesadas em balança analítica digital (OHAUS), com precisão de 0,0001g. A umidade foi calculada pela diferença entre a amostra úmida e a amostra seca ..

4.5.2 Cinzas

Para a análise do conteúdo das cinzas, cerca de 5g das amostras secas, obtidas na análise de umidade, foram pesadas em cadinhos de porcelana previamente secos e pesados, e submetidos à calcinação em múfla Quimis (modelo 318, Diadema, SP- Brasil) a 550° C , por cerca de 6 horas. Seguidamente, os cadinhos com amostra foram resfriados em dessecador com sílica e gel e novamente pesados em balança analítica digital (OHAUS). O conteúdo de cinzas foi determinado pela diferença de peso antes e após a calcinação, segundo descrito pela AOAC (2012).

4.5.3 Lipídios totais

O conteúdo de lipídios totais foi determinado por extração utilizando o aparelho de Soxhlet, segundo as normas analíticas de AOAC (2012). Neste procedimento, a extração foi realizada utilizando como solvente éter etílico por 8 horas, sob refluxo.

4.5.4 Proteínas

As proteínas totais das amostras foram determinadas pelo método semi micro Kjeldhal, segundo a AOAC (2012). Com este método foi possível determinar o conteúdo de nitrogênio total e esse valor foi multiplicado pelo fator 6,25 para determinar a quantidade de proteína total.

4.5.5 Fibra alimentar total (solúvel e insolúvel)

O conteúdo de fibra alimentar foi analisado pelo método enzimático gravimétrico, segundo AOAC (2012). Utilizou-se para a hidrólise enzimática a α -amilase termorresistente, protease e amiloglicosidase. Para a filtração utilizou-se cadinho de vidro com placa sintetizada com porosidade e celite como auxiliar de filtração. O conteúdo da fibra alimentar total foi obtida pela soma entre a fibra solúvel e insolúvel.

Preparo dos cadinhos

Os cadinhos foram deixados de molho com detergente neutro a 20 % por 12 horas. Foram enxaguados com água destilada em vácuo no sentido oposto, e em seguida foram secos em estufa (Marconi, modelo MA- 035/5, Piracicada, Brasil) a 105° C por 1 h e incinerados em mufla (Quimis, modelo 318, Diadema, Brasil) a 550° C por 5 h. Em seguida, os cadinhos foram lavados cinco vezes com 20 mL de HCl 0,5N e enxaguados três vezes com 20 mL de água destilada no sentido oposto, posteriormente foram secos na estufa a 105° C por 12 horas e foram pesados. Pesou-se 1 g de celite nos cadinhos e foram secos novamente a 105° C por 12 horas e pesadas.

Obtenção de hidrolisado

Foi pesado 1 g de amostra desengordurada em duplicata, com precisão de 0,1 mg em béquer de 600 ml. Adicionou-se 50 mL de tampão fosfato pH 6,0. Ajustou-se o pH para $6,0 \pm 0,2$. Na solução foi adicionado 0,1 mL de α -amilase termorresistente. O béquer foi tampado com folha de papel alumínio e aquecido em banho Maria (Marconi, modelo MA 093, Piracicaba, Brasil) em ebulição por 30 minutos com agitação em cada 5 minutos. As amostras foram resfriadas à temperatura ambiente. O pH foi ajustado para 7,0 adicionando-se cerca de 10 mL de NaOH 0,275N. Em seguida foi adicionado 0,1 mL de protease ($5 \text{ mg} \cdot 0,1 \text{ mL}^{-1}$) na solução pré digerida e o béquer novamente tampado com folha de alumínio e incubado à 60° C por 30 minutos com agitação horizontal (100 rpm). Após o hidrolisado ser resfriado à temperatura ambiente, adicionou-se cerca de 10 mL de HCl 0,325N para ajustar o pH em $4,3 \pm 0,3$. Por fim foi adicionado 0,1 mL de amiloglicosidase na solução e o béquer foi novamente tampado com folha de alumínio e incubado a 60° C por 30 minutos com agitação horizontal (100 rpm) para obtenção de hidrolisado final. O mesmo procedimento foi realizado em duplicata para a obtenção do branco.

Fibra insolúvel

Com auxílio da bomba de vácuo (Marconi, modelo MA 058, Piracicaba, Brasil), filtrou-se o hidrolisado em cadinho, em seguida lavou-se o resíduo do cadinho com 10 mL de água destilada, repetindo este procedimento de lavagem três vezes. O volume filtrado no kitasato foi transferido para um béquer de 600 mL, utilizando-se 320 mL de álcool 98% aquecido a 60° C para lavar o kitasato, sendo este material reservado para a análise da fibra solúvel. Os cadinhos foram lavados duas vezes com 20 mL de

etanol 95% e duas vezes com 20 mL de acetona e secos na estufa a 105 ° C durante 12 horas para posterior a análise de proteínas e cinzas nos resíduos do cadinho (AOAC, 2012).

Fibra solúvel

O volume reservado na fase de filtração da fibra solúvel foi deixado em repouso à temperatura ambiente durante uma hora para precipitar. Os cadinhos foram lavados com auxílio da bomba de vácuo com 20 mL de etanol a 78%, em seguida o conteúdo reservado foi filtrado no cadinho com auxílio de bomba de vácuo. Estes foram lavados três vezes com 20 mL de acetona. Posteriormente, o resíduo do cadinho foi seco em estufa a 105° C durante 1 h e realizou-se a análise de proteína e cinzas dos resíduos conforme descrito anteriormente.

Fibra total

A determinação do conteúdo da fibra alimentar total foi realizada pela soma das frações solúveis e insolúveis.

4.5.6 Carboidratos totais

O conteúdo de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100% da amostra e a soma dos conteúdos de proteínas, lipídios, umidade, cinzas e fibra alimentar.

4.5.7 Energia

O conteúdo calórico foi determinado de acordo com a composição da amostra analisada em termos de proteínas, lipídios e carboidratos, para os quais foram utilizados fatores de conversão de Atawer de 4, 9 e 4 kcal/g de produto, respectivamente.

4.5.8 Ferro

Oxidação da matéria orgânica e preparo da solução mineral

Para a determinação da concentração de ferro, foi pesado em tubo para digestão, aproximadamente 1 g de amostra moída com precisão de 0,1 mg, em triplicata, procedendo-se à digestão ácida da matéria orgânica pela adição de 10 mL de ácido nítrico

concentrado (PA) e aquecimento em fervura branda com exaustão, até 150° C em bloco digestor da marca Gerhardt por 16 h. Esta condição foi mantida, adicionando mais ácido nítrico quando necessário, aguardando até a formação de uma solução límpida (GOMES, 1996). Após a digestão, os tubos foram resfriados em temperatura ambiente. O conteúdo foi transferido para balão volumétrico de 50 mL, o tubo foi lavado com água deionizada e agitado em *vórtex*, para evitar perdas, e seu conteúdo vertido no balão volumétrico até que o volume fosse completado (GOMES, 1996). Toda a vidraria utilizada foi lavada em água corrente, deixada em solução ácida preparada com HNO₃ a 10% durante a noite, depois enxaguada quatro vezes em água destilada e quatro vezes em água deionizada (FERREIRA; GOMES, 1995).

Quantificação de ferro

A concentração de ferro da solução mineral preparada foi quantificada por meio de espectrofotometria de absorção atômica de chama, em espectrofotômetro GBC 908 AA (GOMES, 1996).

4.5.9 Fitato

Extração

Foram pesados cerca de 1 g da amostra em triplicata em um erlenmeyer e acrescentado 20 mL de HCl 0,5 M. As amostras foram deixados em banho Maria à temperatura ambiente, sob agitação horizontal a 250 rpm por duas horas e filtrado por 20 minutos a 1000 g. O sobrenadante foi coletado e congelado em -80° C por uma noite.

Filtração

Descongelou-se o sobrenadante, procedeu-se com a filtração usando bomba a vácuo e papel de filtro. Filtrou-se cerca de 2 mL em membrana millipore zero. Dilui-se 1 mL do filtrado anterior em água na proporção (1:25 mL). Pipetou-se 10 mL, evaporou-se em rotavapor a temperatura próxima de 100°C. Após evaporado, adicionou-se ao resíduo 15 mL de HCl 25 mmol/L para posterior etapa de purificação.

Purificação

Nesta etapa foi preparada uma coluna com auxílio de uma seringa de 5 mL. Adicionou-se fibra de vidro na seringa até a altura de 1 mL, compactando a mesma. Em

seguida foram adicionados 5 g de resina GX4 e 5mL de NaOH 1 M (armazenados por uma noite para decantação). Foi descartado o líquido. Carregou-se novamente a coluna com 5 mL de NaOH 1M. Injetou-se 1 mL da amostra na coluna por três vezes para que o eluido tornasse rosa (testado com fenolftaleína), indicativo de eluição completa. Em seguida foi realizada a eluição na coluna com 1 mL de HCl 2 M. Descartou-se a primeira e a segunda eluição de HCl 2 M. O volume de 5 mL foi coletado a partir da terceira eluição, quando foi realizado o teste com fenolftaleína e o eluido ficou branco.

Quantificação

Foi concentrado o eluente coletado no passo anterior em estufa de circulação de ar até a secagem completa. Em seguida dissolveu-se o resíduo em 1 mL de água ultrapura; Injetou-se 20 µL da amostra no HPLC da marca Shimadzu, modelo SPD-10AVP acoplado ao detector índice de refração marca RID-6AD, coluna C18 – fase reversa, marca supelco, 30 cm x 4,5 mm de diâmetro; fluxo na coluna de 1,2 mL/min, pressão: 89 kgf. Na fase móvel foi utilizado: ácido fórmico: metanol: água: hidróxido de tetrabutyl amônia (44:54; 5:1,5 v/v), pH 4,25. Padrões: Mistura de mioinositois fosfatos.

4.6 Determinação dos carotenóides da farinha de batata-doce

4.6.1 Preparo da fase móvel

Esta fase é composta por metanol e água ultrapura (95:5, v/v). A quantidade de metanol (grau HPLC) e água ultrapura a serem utilizadas, foram calculadas com auxílio de uma proveta, misturando-se os dois componentes. Para filtrar foi utilizado uma membrana filtrante com 0,45 µm de porosidade; e foi degasado por 20 minutos no sistema de ultrassom. Todas as operações foram efetuadas ao abrigo da luz natural e fluorescente, utilizando-se vidraria de cor âmbar ou proteção com papel alumínio (PINHEIRO-SANT'ANA, 1998).

4.6.2 Preparo da curva padrão

O Padrão interno trans-acetato de retinil, medida de controle de perdas durante a análise. Foi dissolvido em mistura de metanol: água ultrapura (95:5, v/v). Em seguida, foram feitas diluições sucessivas com a mesma mistura (metanol e água ultrapura) até

encontrar a concentração final de 0,4 µg/mL. O padrão externo: trans-acetato de retinol foi diluído em metanol e água ultrapura (95:5 v/v). Foram preparados seis soluções com concentrações crescentes de retinol adicionados de volumes constantes de acetato de retinol, 1 mL de solução de retinol adicionado a 1 mL de solução de acetato de retinil.

4.6.3 Preparo da amostra

Foram adicionados na amostra da farinha de batata doce 250 µL de acetato de retinil (padrão interno) e agitado em agitador vigorosamente por dois minutos; em seguida foram adicionados 250 µL de hexano e agitados novamente em agitador por mais dois minutos e centrifugados por 15 minutos a 13000 rpm. Foram retirados 200 µL da camada superior e transferidos para outro *ependorf* e evaporado em atmosfera gás nitrogênio por aproximadamente seis minutos. Em seguida foi dissolvido o resíduo em 250 µL de metanol-água ultrapura (95:5, v/v); e mantido o resíduo no *ependorf* em temperatura inferior a -5°C, até o momento da análise cromatográfica.

4.6.4 Análise Cromatográfica

No momento da análise por CLAE, foram injetados 50 µL do extrato obtido, no próprio *ependorf*. Foram utilizados as seguintes condições cromatográficas para análise:

- ✓ Sistema de cromatografia líquida de alta eficiência, modelo Shimadzu SCL – 10A vp, composto pelos seguintes acessórios:
- ✓ Bomba de alta pressão, modelo LC-10AD VP;
- ✓ Injetor automático, com “loop” de 50 µL, modelo SIL-10 AF;
- ✓ Coluna Lichrospher 100, RP-18, 5 µm, 150 mm x 4 mm ou Coluna RP-18, 5 µm, 250 mm x 4,6 mm , Phenomenex Gemini C18, 5 µm, 250 mm x 4,6 mm , munida de coluna de guarda Phenomenex ODS (C18), 4 mm x 3mm;
- ✓ Detector de Fluorescência, modelo RF- 10 A XL, Shimadzu (excitação: 325 e emissão: 465 nm);
- ✓ Software “Multi System” modelo Class VP 6.2 para controle de até 4 sistemas;
- ✓ Fase móvel – metanol: água-ultrapura (95: 5 v/v);
- ✓ Fluxo da fase móvel (Fluxo): 1,5 mL/ minuto;
- ✓ Tempo de corrida: aproximadamente 12 minutos.

As análises foram conduzidas injetando-se 5 e 50 μ L de cada amostra na coluna cromatográfica (PINHEIRO-SANT'ANA, 1998).

4.7 Amido resistente

Foram pesados 0,1 g de amostra, em balança analítica digital (OHAUS) com precisão de 0,0001 g, em tubos de ensaio. Adicionou-se 4 mL de amilaseglicosidase na amostra. A α -amilase pancreática foi diluída em 50 mL de tampão fosfato e agitou se por 5 minutos em agitador magnético. Em seguida adicionou-se 0,5 mL de amiloglicosidade em 1 mL de tampão fosfato (pH = 6). Os tubos foram cobertos com papel de parafilme, agitados em vortex por três segundos e incubados em banho maria a 37°C por 16 h. Posteriormente adicionou-se 4 mL de etanol 99 % seguido de agitação no vortex por três segundos e centrifugação por 10 minutos, a 3.000 rpm. Descartou-se o sobrenadante, adicionou-se 2 mL de etanol a 50 %, seguido de agitação no vortex por três segundos. Adicionou-se 6 mL de etanol a 50 %, seguido de agitação em vortex e centrifugação por 10 minutos a 3.000 rpm. O sobrenadante foi descartado e esta etapa foi repetida por duas vezes. Após o descarte do sobrenadante adicionou-se 2 mL de solução de KOH 2M no pelete, com homogeneização por 20 minutos para ressuspender o pelete. Os tubos foram tampados, imersos em banho de gelo e homogenizados por 20 minutos. Em seguida foram adicionados 8 mL de solução de acetato de sódio (pH 3,8) e 0,1 mL de amiloglicosidade. Após a homogeneização, foi incubado em banho Maria sob agitação a 50° C por 30 minutos. O sobrenadante foi coletado e diluído com água destilada em balão volumétrico de 50 mL.

Foram preparados tubos de ensaio de vidro em duplicada para cada amostra e mais 4 tubos para glicose e um para o branco. Foi adicionado 0,1 mL da amostra e 3,0 mL de reagente glucose oxidase plusperoxidase (GOPOD) e o mesmo volume para glicose como padrão e GOPOD. Para o branco adicionou-se a solução de acetato de sódio e GOPOD. Os tubos foram incubados em banho Maria a 50°C por 20 minutos. A leitura foi realizada no espectrofômetro (ThermoScientific, Evolution 60S, EUA) a 510 nm.

4.8 Avaliação da Biodisponibilidade de ferro das farinhas de sorgo integral e extrusada associadas ou não a batata doce biofortificada e de cookies, em ratos wistar.

4.8.1 Preparo das dietas experimentais

As dietas experimentais foram preparadas de acordo com a dieta padrão para roedores AIN-93G, segundo Reeves et al (1993). Na fase de depleção, foi preparada dieta isenta de ferro. Já na fase de repleção, as dietas foram preparadas para fornecer 12 mg/kg de ferro da dieta. Foi utilizada albumina como fonte protéica, conteúdo para evitar a contaminação com ferro contaminante. Os ingredientes foram pesados, individualmente, em balança semi-analítica. Inicialmente foram misturados manualmente em vasilhames plásticos previamente lavados e enxaguados com água deionizada, e a seguir em batedeira semi-industrial, por um período de aproximadamente 15 minutos em baixa rotação. Após o preparo, as dietas foram armazenadas sob refrigeração (-20 °C) até o momento da oferta aos animais.

Tabela 2 -Composição das dietas experimentais (g/100g)

Ingredientes	Dieta depleção	Dietas de repleção						
		Sulfato ferroso controle	Sorgo integral (SI)	Sorgo extrusado (SE)	SI e batata doce	SE e batata doce	Cookie 1	Cookie 2
Albumina	20,0	20,0	16,41	14,87	16,81	15,91	16,7	15,35
Maltodextrina	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2
Sacarose	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Óleo de soja	7,0	7,0	6,5	6,2	6,34	6,14	6,32	6,1
Celulose	5,0	7,33	2,74	1,1	1,40	-	5,00	5,3
Mistura de Minerais (sem Fe)	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura de Vitaminas	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
L-cistina	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Bitartarato de Colina ^g	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Amido de milho	40,0	36,5	18,90	12,4	8,6	1,9	17,2	11,6
Sulfato ferroso	-	0,006	-	-	-	-	-	-
Sorgo integral	-	-	27,4	-	19,42	-	-	-
Sorgo extrusado	-	-	-	37,4	-	24,0	-	-
Batata doce	-	-	-	-	19,42	24,0	-	-
Cookie 1	-	-	-	-	-	-	26,6	-
Cookie 2	-	-	-	-	-	-	-	33,6
Fe. (mg/100g)	-	18,53	25,84	23,87	20,68	22,17	18,15	23,65

Adaptada de Reeves *et al.* (1993). Cookie 1 (Farinha integral de sorgo + Batata doce biofortificada), Cookies 2 (Farinha extrusada de sorgo + Batata doce biofortificada). Os conteúdos de proteína, lipídio e fibra alimentar total foram descontados da farinha de sorgo integral: proteína=2,84 g, lipídio = 0,5 g, fibra alimentar total = 4,58 g. farinha de sorgo extrusada: proteína=4,06 g, lipídio = 0,76 g, fibra alimentar total = 6,25 g; farinha de sorgo integral + farinha de batata doce: proteína=2,52 g, lipídio = 0,66 g, fibra alimentar total = 5,93 g. farinha de sorgo extrusada + farinha de batata doce: proteína=3,24 g, lipídio = 0,86 g, fibra alimentar total = 7,32 g. Os cookies foram produzidos sem óleo para serem adicionados às dietas: contribuição dos cookies: Cookie 1: proteína=2,68 g, lipídio = 0,69 g, fibra alimentar total = 2,34 g. Cookie 2: proteína=3,68 g, lipídio = 0,02 g, fibra alimentar total = 2,03 g.

4.8.2 Determinação do conteúdo de ferro das dietas

O conteúdo de ferro da albumina e das dietas prontas foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica de chama, em espectrofotômetro GBC 908 AA (GOMES, 1996), conforme o item 4.5.8.

4.8.3 Ensaio biológico

O ensaio biológico foi realizado com 49 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade albinus, classe Rodentia), linhagem *Wistar*, recém desmamados, com 21 dias de idade, obtidos do biotério do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa. O delineamento aplicado foi inteiramente casualizado com 56 unidades experimentais. A avaliação da biodisponibilidade de ferro foi realizada baseada no método da AOAC (Método 974.31) de depleção/repleção utilizando 12 mg/kg de ferro.

Os animais foram distribuídos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em ambiente com temperatura controlada a $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$, umidade relativa ($55 \pm 10\%$) e ciclo de claro e escuro de 12 horas (iluminação de 07:00 às 19:00), controlada automaticamente.

a) Fase de depleção

No período de depleção todos os animais receberam dieta padrão para roedores, AIN-93 G, isenta de ferro além de água deionizada *ad libitum*, com o objetivo de induzir deficiência de ferro (REEVES et al., 1993). Ao término do período de 21 dias de depleção, foram coletadas amostras de sangue por gotejamento, após punção da veia caudal dos animais, para a determinação da concentração de hemoglobina ($\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$). Essa foi analisada por método colorimétrico a partir da formação de cianeto de metahemoglobina, utilizando-se kit para diagnóstico *in vitro* (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brasil). Os animais foram distribuídos em sete grupos ($n=7$) experimentais de modo que a diferença média da concentração de hemoglobina (Hb) e de peso fossem os mais próximos possíveis entre os grupos.

b) *Fase de repleção*

Nesta segunda etapa foram utilizadas, como fonte de ferro, as farinhas de sorgo processadas e suas combinações com farinha de batata doce biofortificada e o sulfato ferroso (padrão).

A biodisponibilidade de ferro foi avaliada por um único nível de ferro utilizando 12 mg de ferro/kg da dieta para cada tratamento, que corresponde a 34,3% das necessidades do rato. Utilizou-se este nível pois este seria o mais baixo conteúdo de ferro na dieta que possivelmente se detectaria uma diferença no ganho de hemoglobina entre os grupos experimentais. Os animais receberam água deionizada *ad libitum* e dieta controlada, pesada diariamente (15 g aproximadamente), por um período de 14 dias. Os animais foram alocados em sete grupos experimentais:

- 1 - Controle Positivo (sulfato ferroso como fonte de ferro)
- 2 - Farinha integral de sorgo
- 3 - Farinha extrusada de sorgo
- 4 - Farinha integral de sorgo + Batata doce biofortificada
- 5 - Farinha extrusada de sorgo + Batata doce biofortificada
- 6 – Cookies 1 (Farinha integral de sorgo + Batata doce biofortificada)
- 7 – Cookies 2 (Farinha extrusada de sorgo + Batata doce biofortificada)

Ao final da fase de repleção, os animais foram anestesiados com isoflurano, Isoforine, Cristália[®] e submetidos à eutanásia e a coleta de sangue por punção cardíaca. As amostras de sangue foram coletadas para a determinação da concentração de hemoglobina (g·dL⁻¹), cálculo do ganho de Hb, determinações da concentração de ferro na Hb, eficiência de regeneração da Hb, valor biológico relativo e biodisponibilidade de ferro.

4.8.4 Consumo alimentar e ganho de peso

O peso corporal dos animais e o consumo alimentar foram monitorados semanalmente, durante as duas fases experimentais. O coeficiente de eficiência alimentar foi determinado pela expressão:

$$CEA = \frac{\text{Ganho de peso do animal (g)}}{\text{Consumo de dieta (g)}}$$

4.8.5 Determinação de hemoglobina

O sangue foi coletado após incisão da porção terminal da cauda do animal. A hemoglobina foi dosada pelo método de cianeto de metahemoglobina, proposto pela AOAC (2012), utilizando kit para diagnóstico colorimétrico *in vitro* (QUIMICA BÁSICA, Belo Horizonte, MG). Esse método baseia-se em reação colorimétrica, com reação entre o ferro presente na hemoglobina e o cianeto da solução de Drabkin, formando cianometahemoglobina, que possui coloração vermelha, cuja intensidade varia de acordo com a concentração de hemoglobina presente no sangue analisado. A leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro UV-Visível, modelo SHIMADZU UV-1601, no comprimento de onda de 540 nm. Para cálculo da concentração de hemoglobina das amostras de sangue foi utilizado como referência, o valor de leitura da absorvância de uma solução padrão de hemoglobina de concentração correspondente a 11,4 g/dL (QUIMICA BÁSICA, Belo Horizonte, MG).

4.8.6 Ganho de hemoglobina

O ganho de hemoglobina (GHb) dos animais foi calculado pela diferença entre os valores da concentração de Hb obtidos nas fases inicial e final do período de repleção.

$$GHb = Hb \text{ (g dL}^{-1}\text{)}_{\text{final}} - Hb \text{ (g dL}^{-1}\text{)}_{\text{inicial}}$$

O valor biológico relativo ao ganho de hemoglobina (RBV GHb) foi obtido pela expressão descrita abaixo:

$$RBV \text{ GHb} = \frac{\text{Ganho Hb de cada animal}}{\text{Média do GHb do grupo controle}}$$

4.8.7 Concentração de ferro da hemoglobina

A concentração de ferro na hemoglobina, inicial e final, foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{mgHb-Fe (inicial)} = [\text{peso corporal (g)} \times \text{Hb (g/L)} \times 6,7 \times 0,335] / 10.000$$

Onde: Hb-Fe: ferro hemoglobínico, Hb: concentração de hemoglobina

Nesta equação considera-se que o volume do sangue corresponde a 6,7% do peso corporal do animal; e o conteúdo de ferro da hemoglobina é 0,335 (HAROVICENTE et al., 2008). O consumo de ferro (Fe) foi calculado considerando-se a quantidade total de dieta consumida e o conteúdo de ferro dessa dieta, sendo calculado para cada animal, segundo a fórmula abaixo:

$$\text{Fe consumido (mg)} = \frac{\text{total dieta consumida} \times \text{quantidade de Fe da dieta (mg)}}{100}$$

A eficiência de regeneração de hemoglobina (HRE) e o valor biológico da eficiência de regeneração de hemoglobina (RBV HRE) foram calculados utilizando as fórmulas abaixo descritas, respectivamente:

$$\text{HRE} = \frac{\text{mg Hb} - \text{Fe}_{\text{final}} - \text{mg Hb} - \text{Fe}_{\text{inicial}}}{\text{mg Fe consumido}}$$

$$\text{RBV}_{\text{HRE}} = \frac{\text{HRE de cada animal}}{\text{Média de HRE do Controle}}$$

Onde: Hb-Fe: Ferro hemoglobínico

A biodisponibilidade aparente de ferro foi calculada considerando-se o RBV HRE do grupo controle como 100%.

4.9 Variáveis bioquímicas

As variáveis bioquímicas como glicose, insulina, ácido úrico, creatinina, aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT) foram realizadas com kits comerciais usando equipamento Bs200 (Bioclin- Quibasa), conforme protocolo do fabricante.

4.10 Capacidade antioxidante total do plasma dos animais

A capacidade antioxidante total plasma foi avaliada por meio do método imunoensaio enzimático, utilizando um kit específico (sigma). Este representa um método indireto que fundamenta na capacidade alterada dos sistemas biológicos em modular a concentração de espécies reativas. Compara-se a atividade antioxidante da amostra de interesse (plasma) com uma amostra de referência, cuja atividade antioxidante foi previamente determinada. Desta forma avaliou-se a capacidade antioxidante total do sangue, determinando inespecificamente a atividade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase e ainda compostos com atividade antioxidante como o ácido úrico, vitaminas e proteínas. O ensaio baseou-se na capacidade de antioxidantes presentes na amostra para inibir a oxidação do radical ABTS (2,2'-azino-bis) (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) a $ABTS^{\cdot-}$ pela metamioglobina. A quantidade de $ABTS^{\cdot-}$ produzida, pode ser monitorada por meio da leitura da absorvância a 750 ou 405 nm. Nessas condições, os antioxidantes presentes provocaram uma supressão na absorvância em 750 nm ou 450 nm de forma proporcional à sua concentração na amostra. A capacidade dos antioxidantes presentes na amostra para evitar a oxidação de ABTS foi comparada com o Trolox, análogo hidrossolúvel da vitamina E, e foi quantificada como milimolar equivalentes de Trolox. Desta forma, o Trolox foi utilizado com controle positivo, em razão da sua elevada capacidade antioxidante.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as análises sensoriais, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguidos pelo teste de média Tuckey, ao nível de 5% de significância. Os dados também foram utilizados para o estudo de mapas de preferências. Para obtenção do Mapa de Preferência Interno ou Análise de Preferência Multidimensional (MDPREF), os dados de aceitação (teste de consumidor) foram organizados numa matriz de amostras (em linhas) e consumidores (em colunas), e esta submetida à Análise de Componentes Principais (ACP). Os resultados foram expressos em um gráfico de dispersão das amostras (tratamentos) em relação aos dois primeiros componentes principais e outro representando os "loadings" (cargas) da ACP (correlações dos dados de cada consumidor com os dois primeiros componentes principais) (REIS et al., 2006).

Para a avaliação da biodisponibilidade de ferro nos animais, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado. Na análise qualitativa os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste Duncan *post hoc* para comparação das médias dois a dois entre os grupos, ao nível de 5%. Foi utilizado o programa SAEG, versão 9.1, licenciado para a Universidade Federal de Viçosa, MG.

6. ASPECTOS ÉTICOS

Todos os procedimentos experimentais com os animais e humanos foram realizados em consonância com os princípios éticos na experimentação animal e humana. O projeto foi aprovado pelo comitê de Ética para uso de animais (CEUA/UFV) da Universidade Federal de Viçosa, MG, processo no 09/2014, e para humanos (COEP/UFMG) da Universidade Federal de Minas Gerais, processo no 03591312.0.0000.5149 (Anexos 2 e 3).

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Composição química centesimal, conteúdo de ferro e de fitato das farinhas

Os valores da composição centesimal e de ferro das farinhas do sorgo integral e extrusada e da batata doce biofortificada estão representados na Tabela 3. O processo de extrusão reduziu o conteúdo de ferro. O conteúdo de ferro foi superior a sete dos oitos genótipos analisados por Martino et al (2012). Comparando com outros cereais a composição química centesimal de sorgo foi similar ao arroz, milho e trigo (CARDOSO et al., 2015).

A farinha de batata doce biofortificada destacou-se quanto ao conteúdo de carotenóides. O conteúdo de carotenoides avaliado na batata doce Beauregard também foi elevado, em média 115 µg de β-caroteno/g de raiz fresca e 185 µg/g de carotenoides totais em raiz fresca. Comparando com a batata doce comum, a quantidade de β-caroteno variou de <1 µg/g (raiz branca) a 130 µg/g em raiz fresca (RODRIGUES-AMAYA et al., 2011).

Tabela 3: Composição centesimal da batata doce biofortificada utilizadas no ensaio biológico, em base úmida (g/100g).

	Farinha de batata doce biofortificada
Umidade	9,92±0,06
Lipídio	1,72±0,34
Cinza	2,52±0,06
Proteína	2,63±0,12
Fibra alimentar total	13,80±0,31
Fibra alimentar solúvel	nd
Fibra alimentar insolúvel	nd
Carotenoides (mg/100 g)	87,14±11,42
Carboidrato total	69,62±0,57

nd- não determinado.

A farinha de sorgo integral apresentou maior conteúdo de fitato em relação a extrusada (Figuras 1). A extrusão possivelmente hidrolizou as ligações hexafostato de inositol do ácido fítico, reduzindo sua concentração e transformando-se em penta, tetra ou trifostato, perdendo a sua capacidade inibitória (AFIFY et al., 2011; ALBARRACIN et al., 2013).

Mitchikpe et al. (2008) encontraram maior conteúdo de fitato em sorgo integral (373 a 503 mg/100g de fitato). A diferença entre os estudos pode ser devido a escolha do genótipo, as condições de cultivo, a época de colheita, o processamento e as condições de armazenamento (MITCHIKPE et al., 2008).

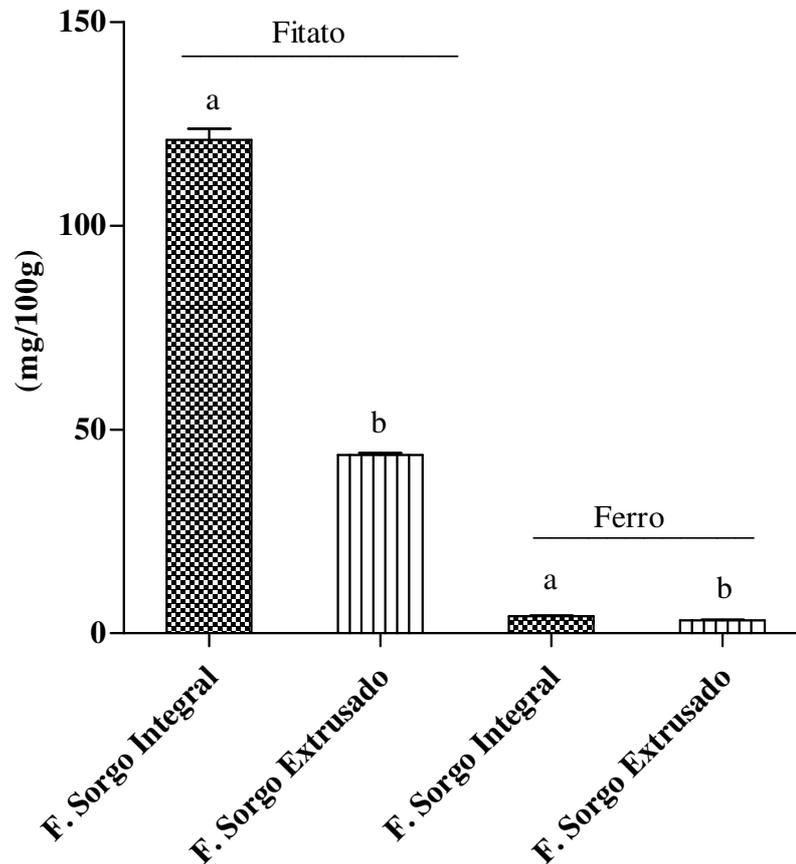


Figura 1. Concentração de Fitato total e ferro em farinhas de sorgo integral e extrusada. Teste t ($p < 0,001$).

7.2 Composição química centesimal e amido resistente dos cookies

A composição química dos cookies é apresentada na Tabela 4. Não houve diferença ($p > 0,05$) entre os conteúdos de umidade nas formulações, exceto a formulação de cookie com farinha de sorgo extrusado associada a farinha de batata doce biofortificada (Tabela 4). O conteúdo de umidade dos cookies atendeu à legislação brasileira, que estipula concentrações máximas de 15% (BRASIL, 2005).

O cookie com farinha extrusada de sorgo apresentou menor conteúdo ($p < 0,05$) de cinzas em relação ao cookie com farinha integral. A substituição de 50 % da farinha

de sorgo pela farinha de batata doce biofortificada aumentou o conteúdo de cinzas dos cookies.

As formulações de sorgo integral e extrusado apresentaram maiores ($p < 0,05$) conteúdos de proteínas. A substituição de 50 % da farinha de sorgo pela farinha de batata doce biofortificada diminuiu ($p < 0,05$) o conteúdo de proteína das formulações.

Os cookies com farinha extrusada apresentaram menor conteúdo de fibra alimentar total e sua fração insolúvel e, de lipídios, em função da extrusão da farinha (Tabela 4).

A formulação a base de sorgo integral pode ser classificada como fonte de fibra alimentar total, visto que os percentuais encontrados (8 %) foram superiores ao valor mínimo de 6 % estabelecido pela resolução nº 27 da ANVISA (BRASIL, 2012). Esta formulação também apresentou maior conteúdo ($p < 0,05$) de amido resistente (Figura 2). Assim, a formulação com sorgo integral destacou-se como fonte de componente funcional, fibra alimentar e amido resistente, que possuem efeito protetor às doenças crônicas não transmissíveis (OTLES; OZGOZ, 2014; YAO-YU et al., 2014).

Tabela 4: Composição centesimal dos cookies (g/100g).

	F1	F2	F3	F4
Umidade	7,06±0,05 ^b	8,74±0,50 ^b	8,28±3,75 ^b	11,57±1,19 ^a
Lipídio	21,42±0,06 ^c	19,63±0,04 ^d	38,57±7,16 ^b	21,93±0,04 ^a
Cinza	2,74±0,09 ^c	2,33±0,05 ^d	3,40±0,11 ^a	3,15±0,03 ^b
Proteína	9,53±0,01 ^a	10,60±1,24 ^a	6,63±0,24 ^b	7,15±0,12 ^b
Fibra alimentar Total	8,36±0,14 ^a	3,69±0,07 ^c	5,78±0,06 ^b	3,94±0,20 ^c
Fibra alimentar solúvel	0,67±0,19 ^a	0,57±0,16 ^a	0,78±0,05 ^a	0,92±0,10 ^a
Fibra alimentar insolúvel	7,70±0,33 ^a	3,11±0,10 ^c	5,00±0,07 ^b	3,02±0,30 ^c
Carboidrato total	50,90±0,02 ^c	55,01±1,57 ^a	54,27±0,18 ^{ab}	52,17±1,29 ^{bc}
Densid. calórica (Kcal/100 g)	434,38 ^b	439,11 ^a	438,65 ^a	434,61 ^b

F1= cookies de farinha de sorgo integral; F2= cookies de farinha sorgo extrusado; F3= cookies de farinha de sorgo integral + farinha da batata doce biofortificada F4= cookies de farinha de sorgo extrusada + farinha da batata doce biofortificada. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

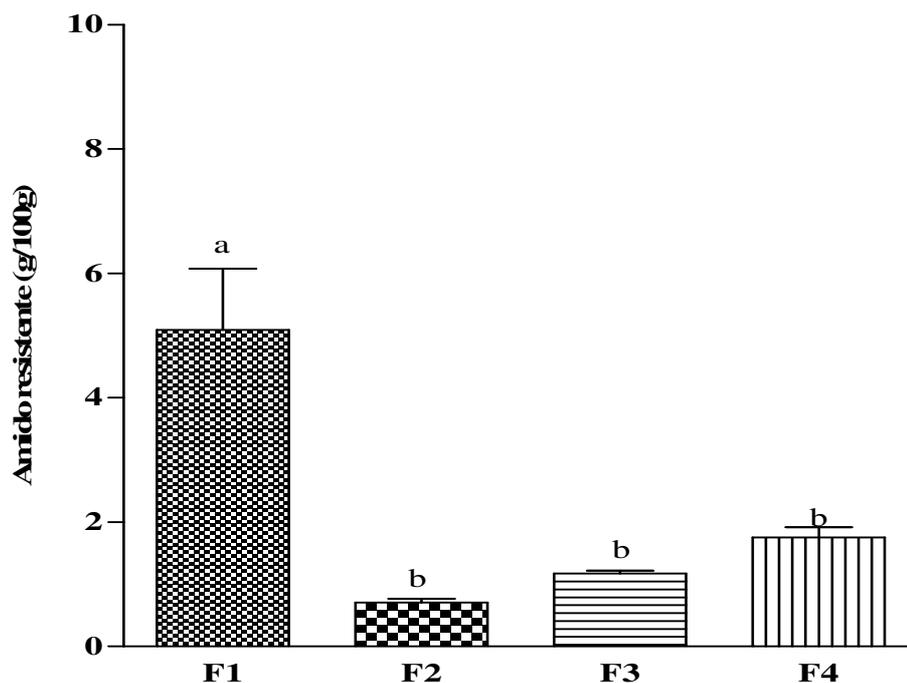


Figura 2: Concentração de amido resistente em quatro formulações de cookies. F1= cookies de farinha de sorgo integral; F2= cookies de farinha sorgo extrusado; F3= cookies de farinha de sorgo integral + farinha da batata doce biofortificada F4= cookies de farinha de sorgo extrusada + farinha da batata doce biofortificada. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

7.3 Análise sensorial dos cookies

A análise de variância (ANOVA) dos escores médios obtidos na avaliação sensorial dos cookies (Tabela 5) demonstrou que, em relação aos atributos sabor e impressão global as formulações de cookies contendo batata doce biofortificada diferiram ($p \leq 0,05$) das demais formulações, apresentando melhor aceitação. Em relação ao atributo textura, observou-se que as notas atribuídas foram menores ($p > 0,05$) para os cookies elaborados com farinha de sorgo extrusada.

Tabela 5 . Média e desvio padrão dos escores da aceitação dos cookies.

FORMULAÇÕES	ESCORES DE ACEITAÇÃO			
	Cor	Textura	Sabor	Impressão global
F1	6,29 ± 1,88 ^{ab}	6,25 ± 1,74 ^b	6,01±1,84 ^b	6,07±1,71 ^b
F2	6,01 ±1,96 ^b	5,10 ± 2,11 ^c	5,92 ±1,77 ^b	5,67±1,81 ^b
F3	6,75± 1,51 ^a	6,97 ± 1,43 ^a	6,57±1,74 ^a	6,65±1,60 ^a
F4	6,50 ±1,72 ^{ab}	6,58 ± 1,60 ^{ab}	6,71± 1,64 ^a	6,61 ±1,60 ^a

F1= cookies de farinha de sorgo integral; F2= cookies de farinha sorgo extrusado; F3= cookies de farinha de sorgo integral + farinha da batata doce biofortificada F4= cookies de farinha de sorgo extrusada + farinha da batata doce biofortificada. Médias seguidas da mesma letra em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com o intuito de analisar os resultados por meio da técnica de análise multivariada, obteve-se o Mapa de Preferência Interno para cada atributos avaliado. Nesta análise, os dados de avaliação de cada consumidor são considerados individualmente e não somente a média da avaliação de todos os consumidores. A técnica de mapa de preferência permite a representação gráfica dos consumidores em um espaço bi-dimensional, facilitando a interpretação dos resultados (MININ, 2010).

Neste tipo de apresentação gráfica cada ponto representa as correlações entre os dados de aceitação de um consumidor e os dois primeiros componentes principais. Os consumidores se localizam próximos aos produtos que eles gostaram. Os consumidores mais próximos do centro do gráfico não estão correlacionados com nenhum dos dois componentes principais e contribuem pouco para a discriminação das amostras, ou seja, são consumidores que consideram as amostras com aceitação semelhante. Para todos os atributos avaliados, os dois primeiros componentes principais explicam a maior parte de variância (77% a 90%) entre as amostras quanto à sua aceitação. Assim, apenas os dois primeiros componentes principais são suficientes para discriminar as amostras quanto à aceitação.

Para o atributo cor, o primeiro Componente Principal (PC) explicou 65,45 % e o segundo 19,23%. A separação espacial das formulações de cookies sugere a existência de dois grupos distintos, formados pelas amostras contendo somente farinha de sorgo integral e extrusada (F1 e F2) e outro formado pelas formulações elaboradas com farinhas de sorgo integral e extrusada com a farinha de batata doce biofortificada

(F3 e F4) (Figura 3).

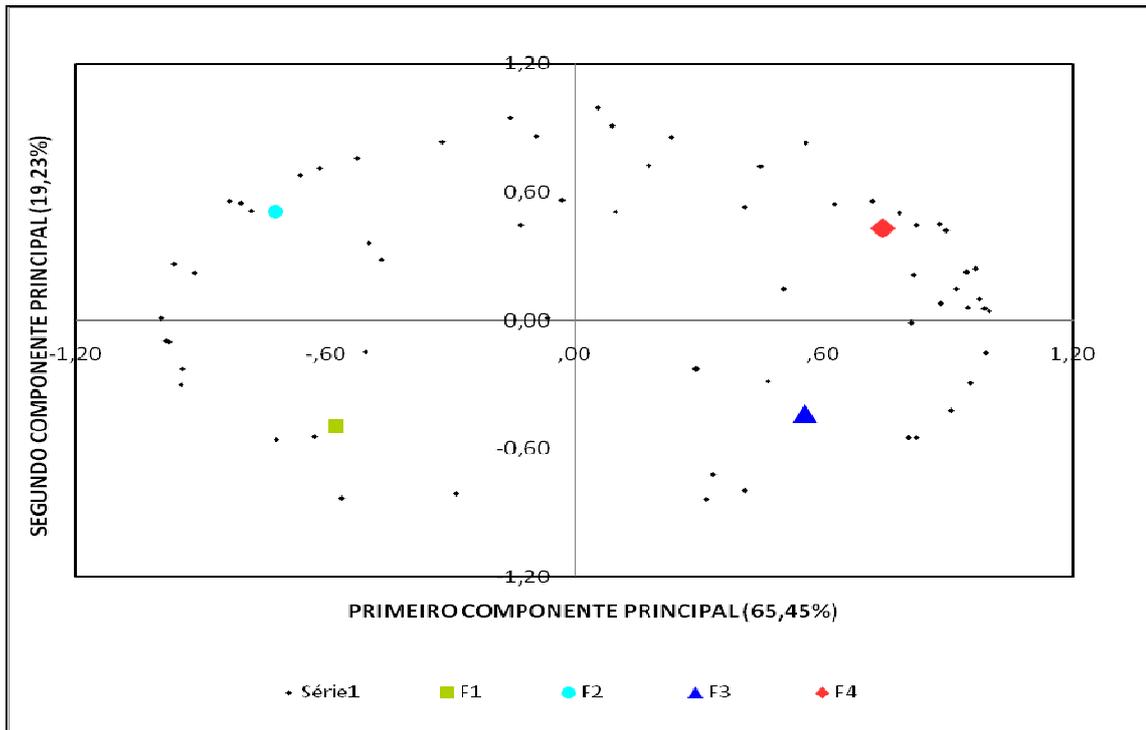


Figura 3. Correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os dois primeiros componentes principais (dimensão 1 e 2) para o atributo cor. F1= cookies de farinha de sorgo integral; F2= cookies de farinha sorgo extrusado; F3= cookies de farinha de sorgo integral + farinha da batata doce biofortificada F4= cookies de farinha de sorgo extrusada + farinha da batata doce biofortificada.

As amostras elaboradas com farinha de sorgo associada à batata doce biofortificada foram as mais aceitas, seguidas pelas amostras elaboradas somente com farinhas de sorgo integral e extrusada. A adição de farinha de batata doce biofortificada conferiu ao produto uma coloração amarelada, que foi determinante na aceitação dos mesmos.

A cor e a aparência são atributos fundamentais, para a qualidade sensorial dos alimentos, uma vez que esses atributos são os primeiros a serem avaliados pelos consumidores no momento da aquisição dos alimentos (SCHARTZ et al., 2010).

No mapa de preferência interno para o atributo textura, o primeiro Componente Principal (PC) explicou 64,51 % e o segundo 25,8%. A separação espacial das formulações de cookies sugeriu a existência de três grupos, de acordo com a aceitação quanto a textura, sendo um grupo formado pelas formulações contendo batata doce biofortificada, outro pela formulação de cookie de sorgo comum, e o terceiro grupo constituído pela formulação de cookie de sorgo extrusado.

Assim, pode-se sugerir que a presença de batata doce biofortificada na

formulação dos cookies alterou as características de textura do produto, de forma positiva, sendo as mais aceitas pelos consumidores. As formulações elaboradas com sorgo extrusado foi a menos aceita pelos consumidores (Figura 4).

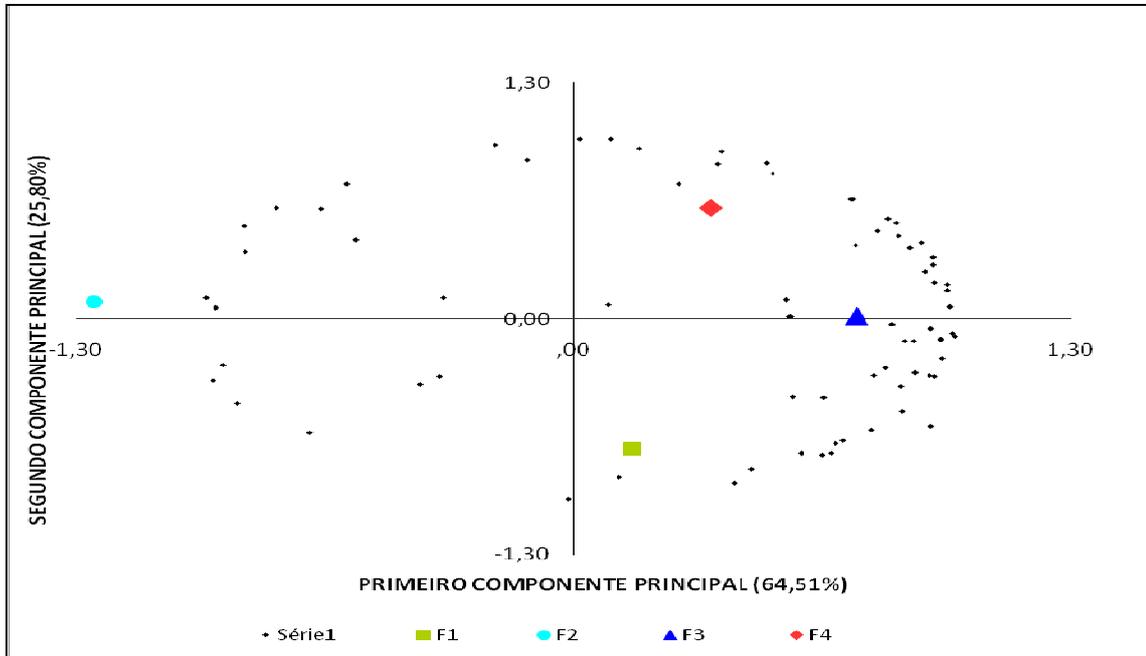


Figura 4. Correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os dois primeiros componentes principais (dimensão 1 e 2) para o atributo textura. F1= cookies de farinha de sorgo integral; F2= cookies de farinha sorgo extrusado; F3= cookies de farinha de sorgo integral + farinha da batata doce biofortificada F4= cookies de farinha de sorgo extrusada + farinha da batata doce biofortificada.

Com relação ao sabor, o primeiro Componente Principal (PC) do mapa de preferência interno explicou 51% e o segundo 26 %. A separação espacial das formulações de cookies sugeriu a existência de dois grupos de acordo com a aceitação das mesmas, sendo um grupo formado pela formulação de cookie contendo somente farinha de sorgo e o outro pela formulação de cookie elaborado com farinhas mista de sorgo e batata doce biofortificada (Figura 5).

Analisando a distribuição dos consumidores nos quadrantes, verificou-se que a maioria encontra-se distribuída entre os quadrantes direito superior e inferior, mostrando que eles tendem a preferir as duas amostras de combinação das farinhas de sorgo associada à batata doce biofortificada. Assim, pode-se sugerir que a presença da batata doce biofortificada agregou sabor aos cookies.

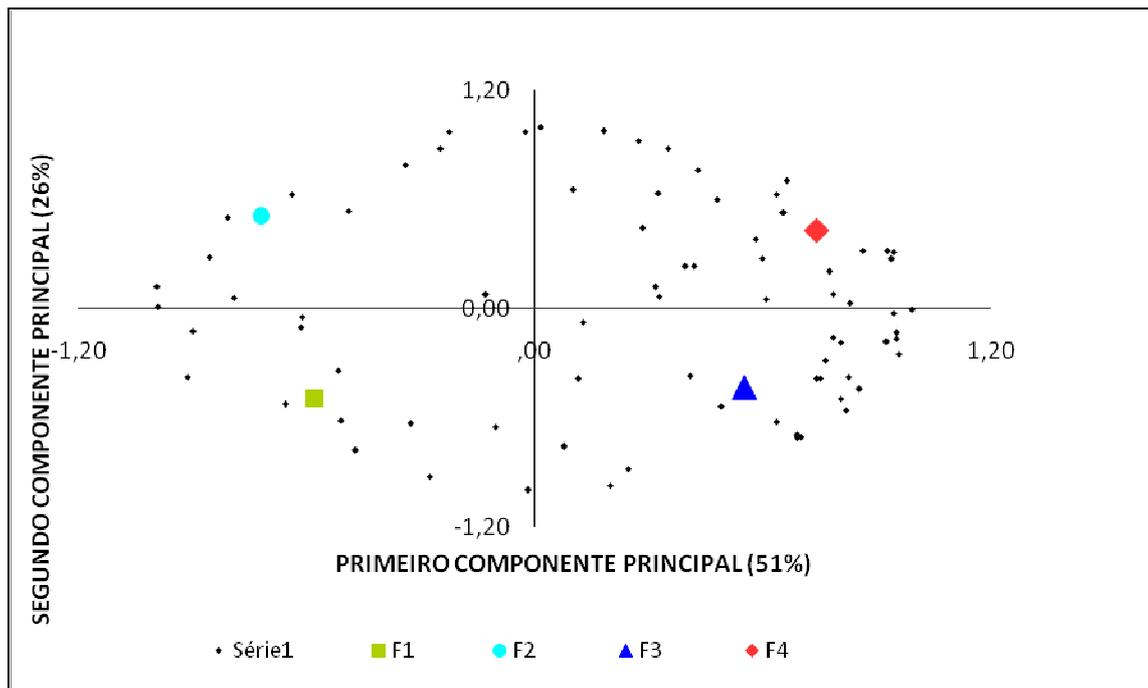


Figura 5. Correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os dois primeiros componentes principais (dimensão 1 e 2) para o atributo sabor.. F1= cookies de farinha de sorgo integral; F2= cookies de farinha sorgo extrusado; F3= cookies de farinha de sorgo integral + farinha da batata doce biofortificada F4= cookies de farinha de sorgo extrusada + farinha da batata doce biofortificada.

No Mapa de Preferência interno da impressão global o primeiro Componente Principal (PC) explicou 51,0 % e o segundo, 26,0 %. A separação espacial das formulações de cookies sugere a existência de dois grupos de acordo com a aceitação das mesmas, sendo um grupo formado pela formulação de cookie de farinha de sorgo e o outro pela formulação de cookie de farinha de sorgo e farinha de batata doce biofortificada (Figura 6). Os resultados observados neste Mapa de Preferência interno foram semelhantes aos Mapas de Preferência Interno dos atributos avaliados anteriormente, sugerindo que a presença da batata-doce biofortificada nos cookies melhorou as características sensoriais do produto.

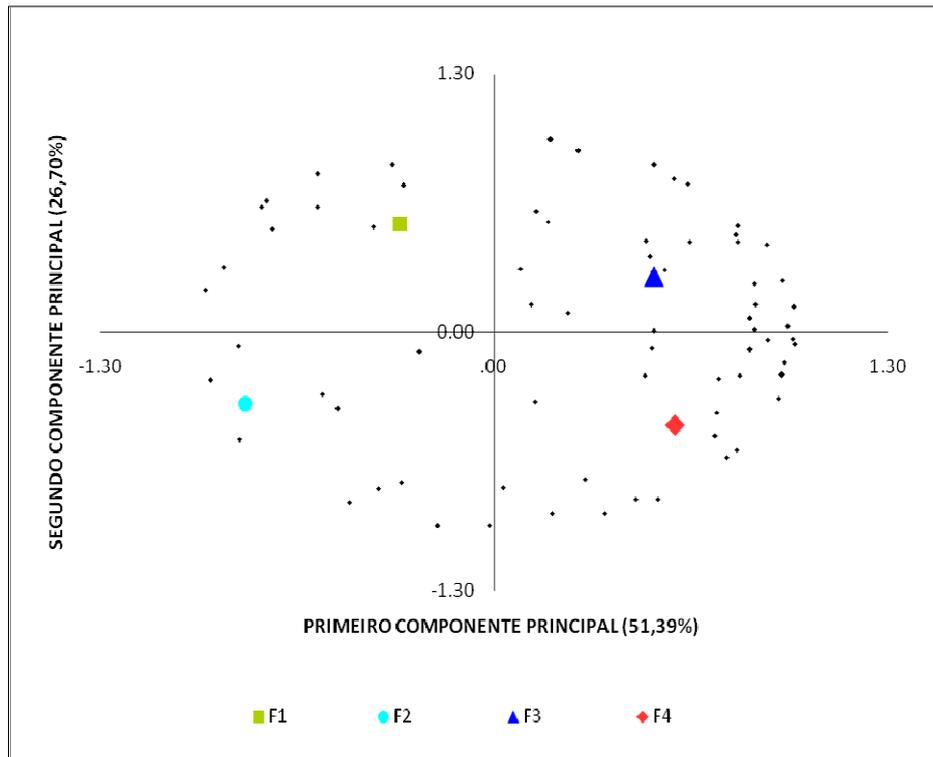


Figura 6 Correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os dois primeiros componentes principais para impressão global. F1= cookies de farinha de sorgo integral; F2= cookies de farinha sorgo extrusado; F3= cookies de farinha de sorgo integral + farinha da batata doce biofortificada F4= cookies de farinha de sorgo extrusada + farinha da batata doce biofortificada.

A análise dos resultados obtidos por meio da técnica do Mapa de Preferência mostrou boa correlação com as análises multivariadas e dos testes de média (Tukey). Porém, o Mapa de Preferência foi mais eficiente em agrupar as amostras de maior aceitação pelos consumidores, distinguindo-as das amostras de menor aceitação.

7.4 Biodisponibilidade de ferro das farinhas de sorgo integral e extrusada associadas ou não a farinha de batata doce biofortificada e de cookies, em ratos wistar.

O consumo alimentar foi semelhante ($p > 0,05$) em todos os grupos, exceto nos grupos tratados com farinha mista de sorgo extrusado e batata doce biofortificada e cookie de sorgo integral associado à farinha de batata doce biofortificada ($p < 0,05$) (Tabela 6). Apesar de o grupo tratado com farinha de sorgo extrusado mais farinha de batata doce biofortificada ter apresentado menor consumo alimentar ($p < 0,05$), este apresentou ganho de peso semelhante aos outros grupos ($p > 0,05$), exceto para o cookie de farinha de sorgo integral associado à farinha de batata doce biofortificada que apresentou baixo consumo alimentar e refletiu em menor ganho de peso e menor

coeficiente de eficiência alimentar (CEA) ($p < 0,05$).

Tabela 6 - Ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar de animais tratados com dietas experimentais .

Grupos	Consumo alimentar	Ganho do peso	CEA
sulfato ferroso	200,12±8,09 ^a	44,04±12,75 ^a	0,22±0,07 ^{ab}
Far. sorgo integral	198,75±13,72 ^a	46,12±15,73 ^a	0,23±0,07 ^{ab}
Far. sorgo extrusado	207,15±5,49 ^a	47,95±10,10 ^a	0,24±0,06 ^{ab}
Far. sorg integ e batata	189,37±2,27 ^{ab}	45,01±15,74 ^a	0,24±0,07 ^{ab}
Far. sorg extr e batata	172,91±31,29 ^b	42,56±13,15 ^a	0,27±0,07 ^a
cookie 1	172,02±19,93 ^b	27,27±9,60 ^b	0,16±0,05 ^b
cookie 2	194,08±0,10 ^{ab}	37,67±19,56 ^{ab}	0,19±0,10 ^{ab}

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($p < 5\%$; teste Duncan). Cookie 1 – elaborado com farinha de sorgo integral e farinha de batata doce biofortificada. Cookie 2 – elaborado com farinha de sorgo extrusada e farinha de batata doce biofortificada.

Ao preparar as dietas experimentais, foi analisado o conteúdo de ferro das farinhas de sorgo e de batata doce, sendo a dieta ajustada para fornecer 12 mg de ferro/Kg de dieta e a ingestão foi controlada (15 g/dia). No entanto, o consumo de ferro dos grupos tratados com sorgo integral, extrusado e cookie 2 foram superiores ($p < 0,05$) ao controle (Tabela 6).

Ao comparar o ganho de hemoglobina e o valor biológico relativo de ganho hemoglobínico (RBV GHb) os grupos testes não diferiram ($p > 0,05$) entre si, exceto para o grupo tratado com sorgo integral, que apresentou baixo ganho de hemoglobina e RBV GHb, embora tenha apresentado maior ($p < 0,05$) consumo de ferro (Tabela 6).

A eficiência de regeneração de hemoglobina (HRE) e o valor biológico da eficiência de regeneração de hemoglobina (RBV HRE) não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos teste e também do controle, exceto para o grupo tratado com sorgo integral, que apresentou menor ($p < 0,05$) HRE e RBV HRE em relação aos restantes dos grupos testes (Tabela 6).

O ferro de todos os grupos teve biodisponibilidade comparável ao sulfato ferroso, exceto para o grupo tratado com sorgo integral. A menor biodisponibilidade do sorgo integral pode ser explicada pelo maior conteúdo de fitato (Figura 1), componente

que interfere na absorção de ferro (ZIMMERMANN et al., 2006). A extrusão melhorou a biodisponibilidade de ferro por reduzir a presença de interferentes da biodisponibilidade de ferro, como o ácido fítico (Figura 1). Também pode ser explicado por a extrusão reduzir o conteúdo das proantocianidinas totais que também podem ser interferentes da biodisponibilidade de ferro (AWIKA et al., 2003).

A substituição de 50 % de sorgo integral por batata doce melhorou a biodisponibilidade de ferro, tornando-se comparável ao sulfato ferroso. O elevado conteúdo de carotenóides que formam complexos solúveis com o ferro, possivelmente proporcionou maior quantidade de ferro solúvel na fase intestinal, aumentando sua absorção (MARIA; GARCI'A-CASAL, 2006).

Os cookies preparados com a mistura de farinhas de sorgo extrusado ou integral e batata doce biofortificada mantiveram a biodisponibilidade de ferro equiparável ao sulfato ferroso.

Tabela 7: Quantidades de ferro consumido, ganho da hemoglobina (GHb), valor biológico relativo de ganho hemoglobínico (RBV GHb), eficiência da regeneração da hemoglobina (HRE) e valor biológico da eficiência de regeneração de hemoglobina (RBV HRE) dos animais tratados com dietas experimentais.

	Ferro consumido	GHb	RBV GHb	HRE	RBV de HRE
sulfato ferroso	3,69±1,60 ^A	4,38±0,13 ^A	1,01±0,13 ^A	0,0069±0,01 ^A	1,00±0,45 ^A
Far.sorgo integral	5,11±0,38 ^{Ba}	2,21±0,72 ^{Bb}	0,51±0,17 ^{Bb}	0,031±0,01 ^{Bb}	0,45±0,41 ^{Bb}
Far. sorgo extrusado	4,82±0,40 ^{Ba}	4,01±0,84 ^{Aa}	0,93±0,19 ^{Aa}	0,056±0,01 ^{Aa}	0,81±0,14 ^{Aa}
Far. sorgo integ e batata	3,91±0,43 ^{Ab}	4,46±1,15 ^{Aa}	1,03±0,27 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}	0,97±0,25 ^{Aa}
Far.sorgo extr e batata	3,60±0,73 ^{Abc}	3,46±0,95 ^{Aa}	0,81±0,20 ^{Aa}	0,06±0,01 ^{Aa}	0,86±0,19 ^{Aa}
cookie 1	3,15±0,38 ^{Ac}	3,36±1,08 ^{Aa}	0,83±0,27 ^{Aa}	0,057±0,02 ^{Aa}	0,81±0,32 ^{Aa}
cookie 2	4,59±0,52 ^{Ba}	3,89±0,85 ^{Aa}	0,97±0,21 ^{Aa}	0,049±0,02 ^{Aa}	0,70±0,26 ^{Aa}

Cookie 1 – elaborado com farinha de sorgo integral e farinha de batata doce biofortificada. Cookie 2 – elaborado com farinha de sorgo extrusada e farinha de batata doce biofortificada. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si (p<5 %; teste Duncan). Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem do grupo controle (p<5 %; teste Dunnett).

7.5 Capacidade antioxidante total do plasma dos animais experimentais

O sequestro de radicais livres é um dos mecanismos pelos quais os antioxidantes inibem a peroxidação lipídica e contribuem para a proteção contra o dano oxidativo (BLOKNINA et al., 2003; FERRARI et al., 2008; GIESE et al., 2015).

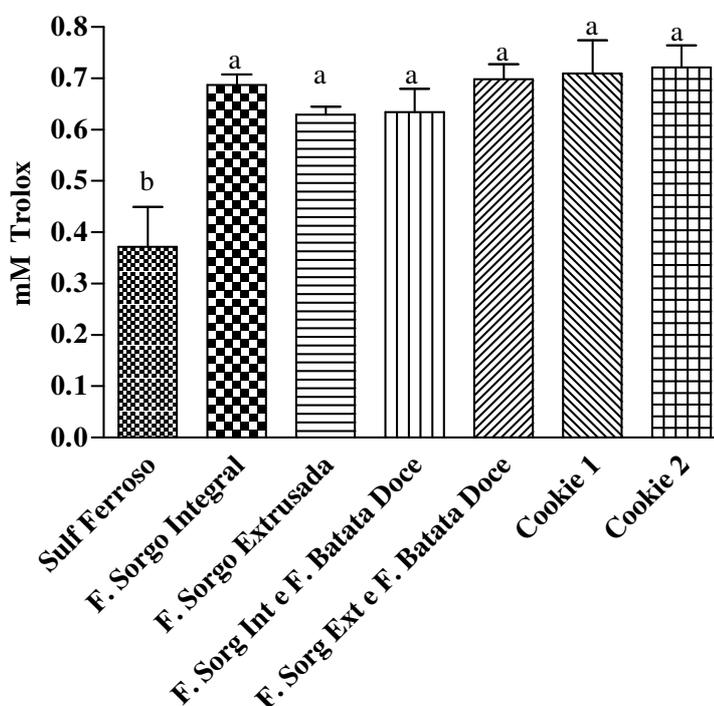


Figura 7: Capacidade antioxidante total do plasma dos animais experimentais. Cookie 1 – elaborado com farinha de sorgo integral e farinha de batata doce biofortificada. Cookie 2 – elaborado com farinha de sorgo extrusada e farinha de batata doce biofortificada (Duncan, $p < 0,05$).

A presença de sorgo nas dietas experimentais aumentou ($p < 0,05$) a atividade antioxidante total no plasma dos ratos normo-lipidêmicos (Figura 7).

O tipo de processamento utilizado para a elaboração de farinha de sorgo não alterou a capacidade antioxidante total (Figura 7). A substituição de 50 % de farinha de sorgo pela batata doce biofortificada manteve a capacidade antioxidante. Quando as misturas de farinhas de sorgo mais batata doce foram utilizadas para o preparo dos cookies a capacidade antioxidante manteve superior ($P < 0,05$) ao controle (Figura 7).

Estudo *in vitro* realizado por Cardoso et al (2015) observaram que a capacidade antioxidante aumentou significativamente em todos os genótipos de sorgo após o tratamento térmico. A elevada estabilidade térmica de 3-deoxiantocianinas bem como o aumento da extratibilidade de outros antioxidantes como a vitamina E, que atuam

sinergicamente com os compostos fenólicos de sorgo, podem aumentar a capacidade antioxidante (Cardoso et al., 2015).

As dietas experimentais adicionadas de farinhas de sorgo integral e extrusado com e sem farinha de batata doce biofortificada e de cookies apresentaram elevada atividade antioxidante (Figura 7) em relação ao grupo controle, indicando um efeito protetor à saúde em ratos normais recebendo dieta isocalórica. Morais et al (2012), também observaram efeito antiinflamatório e antioxidante em ratos normo-lipidêmicos alimentados com dieta hiperlipídica adicionada de farinha de sorgo integral vermelho sem tanino.

7.6 Variáveis bioquímicas

Os níveis de glicose, insulina, ácido úrico, creatinina, aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT) não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais (Tabela 8). Os dados bioquímicos encontram-se dentro da faixa de variação, exceto para glicose, tomando como referência variáveis bioquímicas de ratos machos normais: glicose (79-144 mg/dl); creatinina (0,44-0,64 mg/dl); ácido úrico (0,9-2,0 mg/dl); AST (36-58 U/L), ALT (81-180 U/L) (WOLFORD et al., 1986). Morais et al (2012), também não verificaram alterações em variáveis bioquímicas em ratos normo-lipidêmicos que consumiram farinhas de sorgo integral adicionadas em dieta hiperlipídica.

As dietas experimentais adicionadas de sorgo integral e extrusado com e sem batata doce biofortificada e de cookies apresentam elevada atividade antioxidante (Figura 7) em relação ao grupo controle, indicando um efeito protetor à saúde em ratos normais recebendo dieta isocalórica. Morais et al (2012), também observaram efeito antiinflamatório e antioxidante em ratos normo-lipidêmicos alimentados com dieta hiperlipídica adicionada de farinha de sorgo integral vermelho sem tanino.

Tabela 8: Variáveis bioquímicas: glicose, insulina, ácido úrico, creatinina aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT) e triacilglicerol dos animais alimentados com dietas experimentais.

DIETA	GLI	CREA	AUR	AST	ALT
Sulf ferroso	121,5± 38,92	0,43± 0,03	1,12± 0,15	137,5 ± 31,51	32 ± 6,78
Far.sorgo integral	160,5± 31,77	0,44± 0,01	1,18± 0,10	133± 18,90	39,2± 2,37
Far.sorgo extrusado	163 ±13,54	0,41±0,01	1,45±0,19	113,25±14,88	35,75±1,71
Far.sorg int e Batata	182±24,01	0,43±0,04	1,10±0,08	127,5±18,0	35,5±5,19
Far. sorg extr e batata	149,75±17,65	0,37±0,03	0,93±0,13	115,5±14,75	33,25±7,97
Cookie 1	162,75±34,71	0,42±0,05	1,07±0,23	122,25±18,43	28,25±4,27
Cookie 2	186,2± 25,03	0,41± 0,03	1,48± 0,27	101,5± 4,66	32,2± 5,12

Cookie 1-elaboraco com farinha de sorgo extrusado associado à batata doce biofortificada. Cookie 2 – elaborado com farinha de sorgo extrusado associado à batata doce biofortificada. Não ouve diferenças estatísticas ($p < 5\%$; teste Duncan e $p < 5$; teste de Duncan. GLI=Glicose, COL T-Colesterol total, TRIG= triacilglicerol CREA=creatina, AUR=ácido úrico, TGO=transaminase glutâmica-oxaloacético e TGP=transaminase glutânico pirúvica

8. CONCLUSÃO GERAL

O processo de extrusão da farinha de sorgo reduziu a concentração de ferro e fitato, entretanto o ferro tornou-se mais biodisponível. A associação da batata doce biofortificada à farinha de sorgo integral e a extrusada promoveu boa aceitação dos cookies e biodisponibilidade de ferro comparável ao sulfato ferroso.

As farinhas de sorgo integral e extrusada, a substituição destas por 50 % de farinha de batata doce biofortificada e o preparo de cookies com a mistura das farinhas, aumentaram a capacidade antioxidante total do plasma, sem alterar as variáveis bioquímicas incluindo as enzimas de função hepática.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFIA

ABDELSEED, B. H; ABDALLA, A; EL-GASIM, H. A; MOHAMED, A. I. A; BABIKER, E; AHMEDY. Some Nutritional Attributes of Selected Newly Developed Lines of Sorghum (*Sorghum bicolor*) after Fermentation. **Journal of agriculture Science**, v. 13, n. 339, p.399-409, 2011.

AFIFY, A. E.-M. M. R; EL-BELTAGI, H. S; ABD EL-SALAM, S. M; OMRAN, A. A. Bioavailability of iron, zinc, phytate and phytase activity during soaking and germination of white sorghum varieties **PLoS One**, v. 6, n. 10, p. 255-12, 2011.

ALBARRACIN, M; GONZALEZ, R. J; DRAGO, S. R. Effect of soaking process on nutrient bio-accessibility and phytic acid content of brown rice cultivar LWT - **Food Science and Technology**, n.53. p.76-80, 2013.

ANDREWS, P. A. Disorders of iron metabolism. **The New England Journal of Medicine**, v. 341, n.26, 1999.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 16th ed, 2012.

ARREDONDO, M; MARTÍNEZ, R; NÚÑEZ, M. T; RUZ, M; OLIVARES, M. Inhibition of iron and copper uptake by iron, copper and zinc. **Biology Research**, v.1, n. 39, p.39: 95-102, 2006.

ATHAR, N. Vitamin retention in extruded food products. **Journal Food Composition and Analysis**. **Palmerston North**, v.19, p.379-383, 2006.

AWIKA, J. M; ROONEY, L. W. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. **Phytochemistry**, v. 65, n. 9, p. 1199-1221, 2004.

AWIKA, J. M; YANG, L; BROWNING, J. D; FARAJ, A. Comparative antioxidant, antiproliferative and phase II enzyme inducing potential of sorghum (*Sorghum bicolor*)

varieties. **Food Science and Technology**, v.42. p.1041–1046, 2009.

AWIKA, J. M; BARROS, F; ROONEY, L. W. Interaction of tannins and other sorghum phenolic compounds with starch and effects on in vitro starch digestibility. **Journal of agriculture and food chemistry**, v. 60, p.11609-11617, 2012.

BARROS, F.; AWIKA, J. M; ROONEY, L.W. interaction of tanins and other sorghum phenolic compounds with starch and effects on in vitro starch digestibility. **Journal of agriculture and food chemistry**, v. 60, p.11609-11617, 2012.

BARROS, F.; AWIKA, J. M.; ROONEY, L.W. effect of molecular weight profile of sorghum proanthocyanidins on resistant starch formation. **Journal of agriculture and food chemistry**, v. 94, p.1212-1217, 2014.

BEARD, J. L; DAWSON, H; PIÑERO, D. J. Iron metabolism: a comprehensive review. **Nutrition Reviews**, v. 54, n.10, p.295-317, 1996.

BLOKNINA, O; VIROLAINEN, E; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v. 91, p. 179–194, 2003.

BOLEM, M. W; WENDELL, M. Vitamin A intervention: short-term effects of a single, oral, massive dose on iron metabolism. **Am J Clin Nutr**, n. 51, p.76-79, 1990.

BOVELL-BENJAMIN, A. C; VITERI, E. F; ALLEN; H, L; Iron absorption from ferrous bisglycinate and ferric trisglycinate in whole maize is regulated by iron status. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71,p.1563–1569, 2000.

BOVELL-BENJAMIN, A. C; VITERI, E. F; ALLEN, H, L. Iron absorption from ferrous bisglycinate and ferric trisglycinate in whole maize is regulated by iron status. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, p.1563–1569, 2007.

BURDETTE, A; GARNER, P. L; MAYER, E. P; HARGROVE, J. L; HARTLE, D. K; GREENSPAN, P. Anti-inflammatory activity of select sorghum (*Sorghum bicolor*) brans.

Jornal of medicinal Food, v.13, p879-887, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.8, de 2 de junho de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Farinha de Trigo. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.8. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Farinha de Trigo. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília. Seção 1, p.91, 2012.

Brasil – Ministério da Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Oficina de trabalho “Carências Nutricionais: Desafio para Saúde Pública”. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRAGA, J. A. P; BARBOSA, T. N. N. Fisiologia e Metabolismo do ferro. In: BRAGA, J. A. P; AMÂNCIO, O.M. S; VITALLE, M. S. S. O ferro e a saúde das populações. São Paulo: **Roca**, p. 10-26, 2006.

CARDOSO, L. D. M; MONTINI, T. A; PINHEIRO, S. S; PINHEIRO SANT'ANA, H. M; MARTINO, H. S. D; MOREIRA, A. V. B. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum (*Sorghum bicolor* L.). **Food Chemistry**, v.152, p.201-217, 2014.

CARDOSO, L. M. P. S. S; MARTINO, H. S. D; PINHEIRO SANT'ANA, H. M. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): nutrients, bioactive compounds and potential impact on the human health. Critical Reviews. **Food Science and Nutrition**, 2015.

CARVALHO, C. W. P; TAKEITI, C. Y; ONWULATA, C. I; PORDESIMO, L.O; Relative effect of particle size on the physical properties of corn meal extrudates: Effect of particle size on the extrusion of corn meal. **Journal of Food Engineering** v.98, p.103-109, 2010.

CASTRO, L. A. S; PEDROSO, R. Multiplicação de matrizes de batata-doce com alta sanidade. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 52 p. (Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção, p.10, 2006.

CEREDA, M. P; WOSIACKI, G; CONCEIÇÃO, F. D. A. Características físicoquímicas e reológicas de vinte cultivares de batata doce (*Ipomoea batatas*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v.5, p. 61-70, 2001.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. Editora Manole. 3ª edição, 2009.

DALLMAN, P. R; REEVES, J. D. Diagnóstico de laboratório de la deficiencia de hierro. In: EL HIERRO en la alimentacion del lactente y del niño. **Nestlé Nutrition**. p.11-20, 1984.

DAVEY MW, SAEYS W, HOF E, RAMON H, SWENNEN RL, KEULEMANS J. Application of Visible and Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (Vis/NIRS) to Determine Carotenoid Contents in Banana (*Musa spp.*) Fruit Pulp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.57, p.1742–1751, 2009.

DENIC, S; AGARWAL. M. M. Nutritional iron deficiency: an evolutionary perspective. **Nutrition**. n.23, p.603-614, 2007.

DEVIDSSON, L; ADOU, P; ZEDER, C; WALZYK, T; HURRELL, R. The effect of retinyl Palmitate added to iron-fortified maize porridge on erythrocyte incorporation of iron in African children with vitamin A deficiency. **Journal Nutrition**, v. 90, p.337–343, 2003.

DICKO, M. H; GRUPPEN, H; TRAORE, A. S; VAN BERKEL, W. J. H; VORAGEN, A. G. J. Evaluation of the effect of germination on phenolic compounds and antioxidant activities in sorghum varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2581- 2588, 2005.

DICKO, M. H; GRUPPEN, H; TRAOR; VORAGEN, A. S; VAN BERKEL, W.J.H. Sorghum

grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. **African Journal of Biotechnology**, v.5, p.384–395, 2006.

DILLON, S. L; SHAPTER, F. M; HENRY, R. J; CORDEIRO, G; IZQUIERDO, L; LEE, L. S. Domestication to crop improvement: genetic resources for sorghum and saccharum (*Andropogoneae*).**Annals of Botany**, v. 100, n. 5, p. 975-989, 2007.

DING, Q; AINSWORTH, P; TUCKER, G; MARSON, H. The effect of extrusion conditions on the functional and physical properties of wheat-based expanded snacks. **Journal of Food Engineering**, n. 73, p. 142-148, 2006.

DLAMINI, N. R; TAYLOR, J. R. N; ROONEY, L.W. The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods. **Food Chemistry**, v. 105, n.4, p.1412-1419, 2007.

DUODU, K. G; NUNES, A; DELGADILLO, I; PARKER, M. L; MILLS, E. N. C; BELTON, P. S; TAYLOR, J. R. N. Effect of grain structure and cooking on sorghum and maize in vitro protein digestibility **Journal of Cereal Science**, v. 35, n. 2, p.161-174, 2002.

DYKES. L; HOFFEMANN, L; PORTILLO-RODRIGUEZ, O; ROORNEY, L.W. Prediction of total phenols, condensed tannins, and 3-deoxyanthocyanidins in sorghum grain using near-infrared (NIR) Spectroscopy. **Journal of Cereal Science**, v. 60, p.138142, 2014.

ELTINAY, A. H; GADIR, A. M; EL HIDAI, M. Sorghum fermented kisra bread, I- Nutritive value of kisra, **Journal of Science Food Agriculture**, v.30, p. 859-863, 1979.

FAO STAT Food and Agricultural Organization of the United Nations: Geneva, 2004.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2010.

FARRARI, J. L; HARTLE, D. K; HARGROVE, J. L; GREENSPAN, P. A novel nutraceutical property of select sorghum (*Sorghum bicolor*) brans: inhibition of protein glycation.

Phytotherapy Research, v. 22, n. 8, p. 1052-1056, 2008.

FERREIRA, J. R; GOMES, J. C. Gerenciamento de laboratórios de análises químicas. Viçosa, MG, **Folha de Viçosa**, p.378. 1995.

FUJITA, M; BRINDLE, E; ROCHA, A; SHELL-DUNCAN, B; NDEMWA, P; O'CONNOR, K. A. Assessment of the relative dose-response test based on serum retinol-binding protein instead of serum retinol in determining low hepatic vitamin A stores. **American Journal of Clinical Nutrition**, n. 90, p. 217–24, 2009.

FUQUA, B.K., CHRISTOPHER D. VULPEB, GREGORY J. ANDERSONA, Intestinal iron absorption. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, n. 26, p.115– 119, 2012.

GARCIA-CASAL, M. N; LAYRISSE, M; SOLANO, L; BARON, M; ARGUELLO, F; LLOVERA, D; RAMIREZ, J; LEETS, I; TROPPER, E. Vitamin A reduces the inhibition of iron absorption by phytates and polyphenols. **Food Nutrition Bull**, v.191, p.3–5, 1998.

GIESE, E. C; GASCONA, J; ANZELMO, G; BARBOSA, A. M; ALVES DA CUNHA. M. A; Robert F. H. Dekker a Free-radical scavenging properties and antioxidant activities of botryosphaeran and some other -D-glucans. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.72, p.125–130, 2015.

GOMES, J. C. Análise de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa. **Departamento de Tecnologia de Alimentos**, p.126, 1996.

GONDIM, S. S. R; DINIZ, A. S; CAGLIARI, M. P. P; ARAÚJO, E. S; QUEIROZ, D; PAIVA, A. A. Relação entre níveis de hemoglobina, concentração de retinoal sérico e estado nutricional em crianças de 6 a 59 meses do estado de Paraíba. **Revista de Nutrição de Campinas**, v.25, n, 4, p.441-449, 2012.

HALLBERG, L; BENGTSSON, C; LAPIDUS, L; LINDSTEDT, G; LUNDBERG, P. A; HULTEN, L. Screening for iron deficiency: An analysis based on bone-marrow examinations and serum ferritin determinations in a population sample of women. **British Journal of**

Haematology, v.85, p.787-798, 1993.

HOSENEY, R. C. Principles of cereal science and technology. Saint Paul: **American Association of Cereal Chemists**, p.327, 1986.

KABAT, G. C; KIM, M; ADAMS-CAMPBELL, L. L; CAAN, B. J; CHLEBOWSKI, R. T; NEUHOUSER, M. L; SHIKANY, 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**, n.90, p.162–169, 2009.

KAMATH, V. G; CHANDRASHEKAR, A; RAJINI, P. S. Antiradical properties of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) flour extracts. **Journal of Cereal Science**, v. 40, n.3, p.283-288, 2004.

KANGAMA, C. O; RUMEI; X. Introduction of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) into China. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 7, p. 575-579, 2005.

KRUGER, J; TAYLOR, J. R. N; OELOFSE, A. Effects of reducing phytate content in sorghum through genetic modification and fermentation on in vitro iron availability in whole grain porridges. **Food Chemistry**, v.131, p.220–224, 2012.

KUMER, A. A; REDDY, B. V. S. B; SAHRAWATA, R. K. L; WOLFGANG, H. Pfeiffer b Gene effects and heterosis for grain iron and zinc concentration in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Field Crops Research**, v.146, p.86–95, 2013.

MANUKUMAR, H; PRATHIMA, V; GURU, C; KURINJI, V. Impact of germination time on protein solubility, digestibility and in-vitro antioxidant, anti-inflammatory activity of sorghum grains. **International Journal of PharmTech Research**, v. 6, n. 1, p. 117-128, 2014.

MARIA, N; GARCÍA-CASAL. Carotenoids increase iron absorption from cereal-based food in the human. **Nutrition Research**. p.340 – 344, 2006.

MARTINO, H. S. D; TOMAZ, P. A; MORAES, E. A; CONCEIÇÃO, L. L; OLIVEIRA, D. S; QUEIROZ, V. A. V; RODRIGUES, J. A; PIROZI, M. R; RIBEIRO, S. M. R. Chemical characterization and size distribution of sorghum genotypes for human consumption. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.71, p.337-344, 2012.

MARTINO, H. S. D; CARDOSO, L. M; MORAES, É. A; SANT'ANA, H. M. P; QUEIROZ, V. A. V. Eficiência nas cadeias produtivas e o abastecimento. XXX Congresso nacional de milho e sorgo. Salvador. Capítulo: por que utilizar o sorgo na alimentação humana?, p.95-117, 2014.

MEHDAD, A; SIQUEIRA, E. M. A; ARRUDA, S. F. Effect of Vitamin A Deficiency on Iron Bioavailability. **Annual Nutrition Metabolism**, vol.57, p.35-39, 2010.

MEHMOOD, S; ORHAN, I; AHSAN, Z; ASLAN, S; GULFRAZ, M. Fatty acid composition of seed oil of different Sorghum bicolor varieties. **Food Chemistry**, v. 109, p. 855–859, 2008.

MEJIA, L; CHEW, F. Hematological effect of supplementing anemic children with vitamin A alone and in combination with iron. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.48, p.595–600, 1988.

MININ, V. P. R. Análise sensorial: estudos com consumidores. Viçosa, MG: **Editora UFPA**, p. 308, 2010.

MITCHIKPEA, E. C. S; ROMAIN, A. M; ATEGBO, D. D. E; JOOP, M. A; VAN, R; PAUL, J. M; HULSHOF, F. J. The supply of bioavailable iron and zinc may be affected by phytate in Beninese children **Journal of Food Composition and Analysis**, n.21, p.17–25, 2008.

MOKRANE, H; AMOURA, H; BENSEMRA, N; COURTIN, C. M; DELCOUR, J. A; NADJEMI, B. Assessment of algerian sorghum protein quality (*Sorghum bicolor* (L.) *Moench*) using amino acid analysis and in vitro pepsin digestibility. **Food Chemistry**, v.121, n.3, p. 719-723, 2010.

MONTAÑO-LEYVA, B; DA SILVA, G. D; GASTALDI, E; TORRES-CHÁVEZ, P; GONTARD, N; ANGELLIER-COUSSY, H. Biocomposites from wheat proteins and fibers: Structure/mechanical properties relationships. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 545-555, 2013.

MORAES, É. A; NATAL, D. I. G; QUEIROZ, V. A. V; SCHAFFERT, R. E; CECON, P. R; PAULA, P. S; BENJAMIM, L. A; RIBEIRO, S. M. R; MARTINO, H. S. D. Sorghum genotype may reduce low-grade inflammatory response and oxidative stress and maintains jejunal morphology of rats fed a hyperlipidic diet. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 553-559, 2012.

NICOLAS, G; CHAUVET, C; VIATTE, L; DANAN, J. L; BIGARD, X; DEVAUX, I. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. **Journal of Clinical Investigation**;v.110, p.1037–1044, 2002.

OTLES, S; OZGOZ, S. Health effects of dietary fiber. **Acta Science Pol Technol Aliment**, n.13, v.2, p.191-202, 2014.

PEREIRA, K. D. Resistant starch, the latest generation of energy control and healthy digestion. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(supl.): p.88-92. 2007.

PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. Carotenoid retention and vitamin A value in carrot (*Daucus carota*) prepared by food service. **Food Chemistry**, v.61, n.1-2, p.145-151,1998.

QUEIROZ, V. et al. Análise sensorial de um protótipo de barra de cereais elaborada com pipoca de sorgo. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, v.164, p.8, 2008

QUEIROZ, V.V et al. Como utilizar grãos de sorgo no preparo de produtos caseiros. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, v.19, p.6. 2011.a

QUEIROZ, VA.v. et al o Potencial funcional e tecnologia de processamento do sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], para alimentação humana. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas, v.10, n.3, p.180-195, 2011b.

QUEIROZ, V. A. V; MORAES, É. A; SCHAFFERT, R. E; MOREIRA, A. V; RIBEIRO, S; MACHADO, R; MARTINO, H. S. D. Potencial funcional e tecnologia de processamento do sorgo [*sorghum bicolor* (l.) moench], para alimentação humana. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 10, n. 3, p. 180-195, 2013.

QINGJIE, S; ZHONGJIE, H; LI, W; LIU, X. Physicochemical differences between sorghum starch and sorghum flour modified by heat-moisture treatment. **Food Chemistry**, n. 145, p.756–764, 2014.

REDDY, B. V. S; ASHOK, K. A; RAMESH, S; REDDY, P. Crop Adaptation to Climate Change. USA, p.326–339, 2011.

REEVES, P. G. P. G; NIELSEN, F. H; FAHEY, G. N. AIN-93. Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Writing Committee on the formulation of the AIN-76. Rodent diet. **Nutrition**, v.123, n.11, p. 467-472, 1993.

REIS, C. R; MINIM, V. P. R. Testes de aceitação. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). Análise sensorial: estudos com consumidores. Viçosa: **Editora UFV**, cap. 3, p. 67-83, 2006.

ROESLER, P. V. S. O; GOMES, S. D; MORO, E; KUMMER, A. C. B; CEREDA, M. P. Produção e qualidade de raiz tuberosa de cultivares de batata-doce no oeste do Paraná. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 117-122, 2008.

RODRIGUES, F. C; CASTRO, A. S. B; MARTINO, H. S. D; FERREIRA, C. L. L. F. Farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): produção e caracterização química. **Rev Institut of Adolfo Lutz**. São Paulo, v.70, n.3, p.290-295, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Advances in food carotenoid research: contribution of a

Brazilian laboratory. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 63, n. 2, p.129-38, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B; NUTTI, M. R; CARVALHO, J. L. V. Carotenoids of sweet potato, cassava, and maize and their use in bread and flour fortification. In: PREEDY, R. R.; WATSON, R. R.; PATEL, V. B. Flour and breads and their fortification in health and disease prevention. London; Burlington; San Diego: Academic Press; **Elsevier**,. c. 28, p. 301-311, 2011.

ROODENBURG, A. J. C; WEST, C. E; HOVENIER, R; BEYNEN, A. C. Supplemental vitamin A enhances the recovery from iron deficiency in rats with chronic vitamin A deficiency. **Journal of Nutrition**, n.75, p.623-636, 1996.

ROUAULT, T. A. The role of iron regulatory proteins in mammalian iron homeostasis and disease. **Nature**, v. 2, n. 8, p. 406-414, 2006.

SANDSTEAD, H. H. Causes of iron and zinc deficiencies and their effects on brain. In: Symposium: Dietary zinc and iron – Recent perspectives regarding growth and cognitive development. **Journal of Nutrition**, v.130, p.347-349, 2000.

SANCHEZ, D. A. White food-type sorghum in direct-expansion extrusion applications. Dissertação (Mestrado) - Texas A&M University, College Station. p.132,2013.

SCHARTZ, S. J, ELBE, J. H; GIUST, M.M. Corantes. In: Química de Alimentos de Fennema. 4ª ed. **Porto Alegre: Artmed**, p. 445-498, 2010.

SEMBA, R; BLOEM, M. The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis. **Eur Journal of Clinical Nutrition**, v.56, p.271–281, 2002.

SHILS, M. E; OLSON, J.A; SHIKE, M; ROSS, A.C. Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença. Manole, 9ª Edição. São Paulo, SP, Brasil, 2003.

SHARP, P.A. Intestinal iron absorption: regulation by dietary and systemic factors.

International Journal of Vitamin Nutrition Res; v.80, p.231–422, 2010.

SIAH, C.W; OMBIGA, J; ADAMS, L.A; TRINDER, D; OLYNYK, J.K. Normal Iron Metabolism and the pathophysiology of iron overload disorders. **Clinical Biochemist Reviews**, v. 27, n.1, p. 5-16, 2006.

SIJTMA, K.W; VAN DEN BERG, G. J. Iron status in rats fed on diets containing marginal amounts of vitamin A. **Journal of Nutrition**, n.70, p.777-85, 1993.

SILVA, J. B. C; LOPES, C. A; MAGALHÃES, J. S. **Cultura da batata-doce (*Ipomoea batatas* L.)**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ. (Sistema de produção), n. 6, 2005.

SINGH, H; CHANG, Y. H; LIN, J. H; SINGH, N; SINGH, N. Influence of heatmoisture treatment and annealing on functional properties of sorghum starch. **Food Research International**, n .44, p.2949–2954, 2011.

SOMMER, A; DAVIDSON, F.R. Assessment and control of vitamin A deficiency: the Anney Accords. **Journal of Nutrition**, v.132, p.2845–2850, 2002.

SONNWEBER, T; RESS, C; NAIRZ, M; THEURL, I; SCHROLL, A; MURPHY, A. T; WROBLEWSKI, V; WITCHER, D. R; MOSER, P; EBENBICHLER,C.F; KASER,S; WEISS.G. High-fat diet causes iron deficiency via hepcidin-independent reduction of duodenal iron absorption. **Journal of Nutritional Biochemistry**, n.23,p.1600– 1608, 2012.

STONE; SIDEL, J. L. Sensory evaluation practices. 2a edição. Orlando florida: **Academic Press**, p.338, 1993.

TEOW, C.C; TRUONG, V.D; MCFEETERS, R.F, THOMPSON, R.L; PECOTA, K.V; YENCHO, G.C. Antioxidant activities, phenolic and beta-carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. **Food Chemistry**, v.103, p.829–838, 2007.

U.S. GRAINS COUNCIL. **Sorghum handbook**: white sorghum, the new food grain. Washington, 2004.

VAN JAARSVELD, P. J; FABER, M; TANUMIHARDJO, S. A; NESTEL, P; LOMBARD, C. J; BENADE, A. J. S. b-Carotene-rich orange-fleshed sweet potato improves the vitamin A status of primary school children assessed with the modified-relative-dose–response test. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p.1080–1087, 2005.

VAN JAARSVELD, P. J; MARAIS, D. W; HARMSE, E; NESTEL, P; RODRIGUES-AMAYA, D. B. Retention of β -carotene in boiled, mashed orange-fleshed sweet potato. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 4, p. 321-329, 2006.

WALCZYK, T; DAVIDSSON, L; ROSSANDER-HULTHEN, L; HALLBERG, L; HURRELL, R. No enhancing effect of vitamin A on iron absorption in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, p.144–149, 2003.

WALTER, M; SILVA, L. P; EMANUELLI, T. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 974-980, 2005.

WANISKA, R. D; ROONEY, L. W. Structure and chemistry of the sorghum caryopsis. In: SMITH, W;FREDERIKSEN, R. A. (Ed.). Sorghum: production, agronomy, chemistry and utilization. **Wiley & Sons**, p. 649-688, 2000.

WAN-LING, H; YING, F; YAN-YAN, W; XIAO-E, Y; SHI, C. H; HE, Z; STOFFELLA, P. J. Differential iron-bioavailability with relation to nutrient compositions in polished rice among selected Chinese genotypes using Caco-2 cell culture. **Journal of Food Science Nutrition**, Early Online: p.1–8, 2013.

WEI, H; HUANG, H. M; LI, T.Y; QU, P; LIU, Y. X; CHEN, J. Marginal vitamin A deficiency affects lung maturation in rats from prenatal to adult stage. **Journal of Nutrition Science Vitaminol**, v.3, n.55, p.208-14, 2009.

WEST, JR, J. P. Vitamin A deficiency disorders in children and women. **Food and Nutrition Bull**, n.24, p.78–90, 2003.

WHITTAKER, P Iron and zinc interactions in human. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.68, p.442-446, 1998.

WOLFORD, S. T; SCHROER, R. A; GOHS, F. X; GALLO, P. P; BRODECK, M. FALK, H.B. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. **Journal of Toxicol. Environm. Health**, v.18, p.161-188, 1986.

WOOLFE, J. A. Sweet potato—past and present. In: Sweet Potato: **An Untapped Food Resource**. Cambridge University Press, Cambridge, UK, p. 15–40, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Worldwide prevalence of anemia. Global Database on aneamia. Geneva: WHO, 2008.

WU, X; SUN, C. J; YANG, L. H; ZENG, G; LIU, Z. Y; LI, Y. M. -carotene content in sweet potato varieties from China and the effect of preparation on beta-carotene retention in the Yanshu. **Innovation Food Sci Emerg Technical**, v.9, p.581–586, 2008.

WU, L; HUANG, Z; QIN, P; Guixing Ren Effects of processing on phytochemical profiles and biological activities for production of sorghum tea. **Food Research International**, v.53, p.678–685, 2013.

YAO-YU, X; XIAO-PEI, H; ZHENG-YU, J; XUE-MING, X; HAN-QING, C; Effect of repeated retrogradation on structural characteristics and in vitro digestibility of waxy potato starch. **Food Chemistry**, n.163, p.219–225, 2014.

ZHANG, G; HAMAKER, B. R. Low alpha amylase starch digestibility of cooked sorghum flours and the effect of protein. **Cereal Chemistry**, v.75, p.710-713, 2009.

ZIMMERMANN, M. B; CHAOUKI, N; HURRELL, R. Deficiency due to consumption of a habitual diet low in bioavailable iron: A longitudinal cohort study in Moroccan children. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p.115–121, 2006.

ZIMMERMAN, M. B; HURRELL, R. F. Nutritional iron deficiency. **Lancet**, v. 370, p. 511–520, 2007.

ANEXOS

Anexo 1: TERMO DE CONSENTIMENTO

Termo de Consentimento

Eu, _____
CPF no _____ estou ciente dos objetivos e metodologia e concordo em participar da pesquisa denominada “Avaliar a aceitabilidade de Biscoitos tipo “*Cookies*” elaborados com farinhas de sorgo e batata doce biofortificada”, desenvolvido no Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa, sob a coordenação da professora Hércia Stampini Duarte Martino.

Autorizo os pesquisadores do estudo a utilizar as informações decorrentes de questões por mim respondidas para elaborar relatórios e artigos para divulgação em encontros e publicações acadêmico-científicas. Também estou ciente do sigilo das informações que prestarei e do direito de me retirar da pesquisa a qualquer momento que desejar.

Viçosa, _____ de _____ de _____

Anexo 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 03591312.0.0000.5149

Interessado(a): **Profa. Maria Aparecida Vieira Teixeira Garcia**
Departamento de Alimentos
Faculdade de Farmácia - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 17 de outubro de 2012, o projeto de pesquisa intitulado **"Desenvolvimento e análise sensorial de produtos à base de sorgo sem glúten"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-3783

Viçosa, 05 de junho de 2014

Ilma. Sr^a.
Professora Hércia Stampini Duarte Martino
Coordenadora da Disciplina
DNS/UFV

Sr^a. Coordenadora,

Após avaliação da proposta da disciplina que envolve a utilização de animais nas aulas Disciplina “Biodisponibilidade de minerais” – NUT 621, aqui nomeada Processo 09/2014, a CEUA/UFV emite parecer favorável ao Protocolo para o uso de animais nas aulas práticas da referida disciplina, tendo como base para análise a Legislação vigente (Lei N° 11.794, de 08 de outubro de 2008), as Resoluções Normativas editadas pelo CONCEA/MCTI, bem como a DBCA (Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos) e as Diretrizes da Prática de Eutanásia preconizadas pelo CONCEA/MCTI.

Prof. Cláudio César Fonseca
Coordenador

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV