

GILSON IRINEU DE OLIVEIRA JUNIOR

**INFLUÊNCIA DO RESÍDUO FIBROSO DA MOAGEM DE
MILHO MICROPULVERIZADO NA BIODISPONIBILIDADE DE
FERRO, ZINCO E CÁLCIO EM RATOS**

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*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

O48i
2009

Oliveira Júnior, Gilson Irineu de, 1980-

Influência do resíduo fibroso da moagem de milho micro-pulverizado na biodisponibilidade de ferro, zinco e cálcio em ratos/ Gilson Irineu de Oliveira Junior. – Viçosa, MG, 2009.

xiii, 87f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexos.

Orientador: Neuza Maria Brunoro Costa

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Fibra alimentar. 2. Milho - Composição. 3. Ferro - Bioviabilidade. 4. Cálcio – Bioviabilidade. 5. Zinco - Bioviabilidade. I. Universidade Federal de Viçosa. II.Título.

CDD 22.ed. 613.285

GILSON IRINEU DE OLIVEIRA JUNIOR

**INFLUÊNCIA DO RESÍDUO FIBROSO DA MOAGEM DE
MILHO MICROPULVERIZADO NA BIODISPONIBILIDADE DE
FERRO, ZINCO E CÁLCIO EM RATOS**

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*.

PROVADA: 30 de abril de 2009.

Prof^a. Hércia Stampini Duarte Martino
(Co-Orientadora)

Dra. Maria Cristina Dias Paes
(Co-Orientadora)

Prof. Paulo Roberto Cecon

Prof^a. Sônia Machado Rocha Ribeiro

Prof^a. Neuza Maria Brunoro Costa
(Orientadora)

*“Não é a espécie mais forte que sobrevive, nem a mais inteligente,
mas sim aquela que melhor se adapta às mudanças”.*

Charles Darwin

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida e oportunidade de constante amadurecimento.

Aos meus pais, Gilson e Rosane e aos meus irmãos Cassio, Helder e Ana Elisa pelo amor, confiança, apoio e incentivo.

À minha orientadora, professora Neuza Brunoro, pela orientação, conselhos, confiança, incentivo e pela amizade construída neste período. Muito obrigado pela oportunidade de trabalharmos juntos, permitindo-me crescer como pesquisador.

À Professora Hércia Stampini e Dra. Cristina Paes pela co-orientação, sugestões, conselhos e ajuda nas dúvidas que surgiram no decorrer deste trabalho.

Ao amigo Renato Nunes pelo ombro amigo nos momentos de dificuldades e companhia nos de descontração.

À amiga Poliane Sakon, que com seu incentivo foi também responsável por minha decisão de ingressar no mestrado. À Mônica Sant'Anna, Gisele Queiróz, Hudsara de Almeida, Jorge Costa, Ceres Della Lúcia, Vanessa Barbosa e Ariela Werneck pela amizade, convivência e troca de experiências durante o período do mestrado.

À Érica Aguiar pela imensa colaboração na condução dos experimentos e análises. Sua ajuda foi inestimável. Muito obrigado!

Ao Cassiano Oliveira, Ricardo Antonucci e Frederico Franco também pelo auxílio nos experimentos e análises.

Ao Dr. Ralph Greiner pelas análises da concentração de fitato.

Ao Prof. Paulo Cecon pela valiosa contribuição nas análises estatísticas.

Às Professoras Ângela Santana, Maria do Carmo Fontes e Sônia Ribeiro, pelo carinho de sempre e pelas palavras de incentivo nos diversos momentos.

Aos professores do mestrado pelo aguçar de meu espírito crítico e investigativo. Agradecimento especial ao professor Adelson Tinôco que me acompanhou no início de minha vida científica como tutor do PET Nutrição.

Aos funcionários e demais professores do Departamento de Nutrição e Saúde, bem como à Universidade Federal de Viçosa, pela minha formação.

À Universidade Federal do Acre, pela liberação de minhas atividades docentes para que pudesse finalizar este trabalho.

Aos membros da banca examinadora pelas considerações e sugestões.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

BIOGRAFIA

Gilson Irineu de Oliveira Junior, filho de Rosane Terezinha de Oliveira e Gilson Irineu de Oliveira, nasceu em Juiz de Fora, MG.

Ingressou no curso de Nutrição na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, em 1999, graduando-se em agosto de 2003.

A partir de então atuou como nutricionista de produção na GR Belgo Mineira em Juiz de Fora e como Técnico de Nível Superior da Secretaria de Ação Social da Prefeitura do mesmo município, tendo experiência como responsável do setor de Nutrição e Dietética da Associação de Combate ao Câncer de Juiz de Fora, atuando também como professor nos cursos de Nutrição e Enfermagem da Escola Técnica de Enfermagem e Instrumentação Cirúrgica Elisabeth Rombach.

Em 2007 iniciou o curso de Mestrado em Ciência da Nutrição na Universidade Federal de Viçosa, concluindo-o em abril de 2009.

Em novembro de 2008 foi aprovado em concurso para professor do curso de Nutrição da Universidade Federal do Acre, cargo assumido em fevereiro de 2009.

ÍNDICE

LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	01
1.1 Referências bibliográficas.....	03
2. REVISÃO DE LITERATURA	05
MILHO: PRODUÇÃO, UTILIZAÇÃO E POSSÍVEIS EFEITOS FUNCIONAIS	
Resumo.....	05
2.1 Introdução e justificativa.....	06
2.2 Referências bibliográficas.....	15
3. OBJETIVOS.....	20
3.1. Objetivo Geral.....	20
3.2. Objetivos Específicos.....	20
4. ARTIGO 1: RESÍDUO MICROPULVERIZADO DA MOAGEM A SECO	
DE MILHO: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E EFEITO NA	21
BIODISPONIBILIDADE DE FERRO EM RATOS	
Resumo.....	21
4.1 Introdução	22
4.2 Material e métodos.....	25
4.3 Resultados e discussão.....	32
4.4 Conclusão.....	44
4.5 Referências bibliográficas.....	45
Anexo.....	51
5. ARTIGO 2: EFEITO DE RESÍDUO MICROPULVERIZADO DA	
MOAGEM A SECO DE MILHO NA BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO E	52
ZINCO EM RATOS	
Resumo.....	52
5.1 Introdução.....	53
5.2 Material e métodos.....	56
5.3 Resultados e discussão.....	62
5.4 Conclusão.....	75

5.5 Referências bibliográficas.....	76
Anexos.....	82
6. CONCLUSÃO GERAL.....	86

LISTA DE QUADROS E TABELAS

3. REVISÃO DE LITERATURA

Quadro 1 - Diversos usos do milho (Planta, Espiga e Grão) no Brasil 10

4. ARTIGO 1

Tabela 1: Composição das dietas experimentais (g.kg⁻¹). 30

Tabela 2. Composição nutricional e valor calórico do resíduo de milho. 33

Tabela 3: Teores de hexafosfato de inositol (IP6), pentafofosfato de inositol (IP5), tetrafosfato de inositol (IP4) e trifosfato de inositol (IP3) (μmol.g⁻¹) em base seca, para o resíduo fibroso de milho 37

Tabela 4: Resumo da Análise de Variância de ganho de peso na depleção (GPD), ganho de peso na repleção (GPR), ganho de peso total (GPT), ingestão alimentar (IA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) em função das fontes de fibra alimentar: celulose ou milho (FF) e níveis de ferro: 6, 12 ou 24 mg.kg⁻¹ de dieta (N) 38

Tabela 5: Resumo da Análise de Variância de hemoglobina final (HBF), hematócrito final (HTF) e ganho de hemoglobina (GHB) em função das fontes de fibra alimentar: celulose ou milho (FF) e níveis de ferro: 6, 12 ou 24 mg.kg⁻¹ de dieta (N) 40

5. ARTIGO 2

Tabela 1: Composição das dietas experimentais* (g.kg⁻¹). 60

Tabela 2 Resumo da Análise de Variância de ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA), coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e relação hepato-somática (FIG) em função das fontes de fibra alimentar: celulose ou milho (FF) e níveis de cálcio: 50% ou 100% (N) 63

Tabela 3: Média de ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) para as respectivas combinações de fontes de fibra alimentar: celulose ou milho e níveis de cálcio: 50% ou 100% (N) 63

Tabela 4: Resumo da Análise de Variância de peso do fêmur (PF), comprimento do fêmur (CF), espessura do fêmur (EF) e concentração de cálcio no osso (OSCa) em função das fontes de fibra alimentar: celulose ou milho (FF) e níveis de cálcio: 50% ou 100% (N) 64

Tabela 5: Média de peso do fêmur (PF), comprimento do fêmur (CF) e concentração de cálcio no osso (OSCa) para diferentes fontes de fibra alimentar: celulose ou milho 64

Tabela 6: Resumo da Análise de Variância da concentração de cálcio nas fezes (FEZCa), concentração de cálcio no plasma (PLCa), balanço diário de cálcio (BCa), absorção diária de cálcio (ABSCa) e retenção diária de cálcio (RETCa) em função das fontes de fibra alimentar: celulose ou milho (FF) e níveis de cálcio: 50% ou 100% (N) 66

Tabela 7: Média do balanço diário de cálcio (BCa) para as respectivas combinações de fontes de fibra alimentar: celulose ou milho e níveis de 67

cálcio: 50% ou 100% (N)

Tabela 8: Média da concentração de cálcio nas fezes (FEZCa) e no plasma (PLCa), absorção diária de cálcio (ABSCa) e retenção diária de cálcio (RETCa) para diferentes níveis de cálcio: 50% ou 100% 68

Tabela 9: Resumo da Análise de Variância de ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA), coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e relação hepato-somática (FIG) em função das fontes de fibra alimentar: celulose ou milho (FF) e níveis de zinco: 50% ou 100% (N) 69

Tabela 10: Médias de ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA), e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) para diferentes níveis de zinco: 50% ou 100% 70

Tabela 11: Resumo da Análise de Variância da concentração de zinco nas fezes (FEZZn) em função das fontes de fibra alimentar: celulose ou milho (FONTE) 71

Tabela 12: Média da concentração de zinco nas fezes (FEZZn) para diferentes fontes de fibra alimentar: celulose ou milho 71

Tabela 13: Resumo da Análise de Variância da concentração de zinco no osso (OSZn), peso do fêmur (PF), comprimento do fêmur (CF), espessura do fêmur (EF) e concentração de zinco eritrocitário (ERIZn) em função das fontes de fibra alimentar: celulose ou milho (FF) e níveis de zinco: 50% ou 100% (N) 71

Tabela 14: Média da concentração de zinco no osso (OSZn) para diferentes fontes de fibra alimentar: celulose ou milho 72

Tabela 15: Média do comprimento do fêmur (CF), concentração de zinco no osso (OSZn) e concentração de zinco eritrocitário (ERIZn) para diferentes níveis de zinco: 50% ou 100% 72

RESUMO

OLIVEIRA JUNIOR, Gilson Irineu de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2009. **Influência do resíduo fibroso da moagem de milho micropulverizado na biodisponibilidade de ferro, zinco e cálcio em ratos**
Orientadora: Neuza Maria Brunoro Costa. Co-orientadoras: Maria Cristina Dias Paes e Hércia Stampini Duarte Martino.

O milho é o cereal mais cultivado no Brasil. A média nacional de consumo *per capita* anual é de aproximadamente 7,7 kg e sua importância econômica deve-se às diversas formas sob as quais pode ser utilizado. Nas indústrias moageiras acumula-se um resíduo fibroso na proporção de 5% do total de grãos, ainda pouco estudado e utilizado no Brasil. O presente trabalho teve como objetivos determinar a composição química do resíduo fibroso de milho e seus efeitos na biodisponibilidade de ferro, cálcio e zinco em ratos. Para análise de Fe utilizou-se o método de depleção e repleção de hemoglobina. Os animais foram alimentados com dieta sem adição de ferro por 21 dias (depleção), seguido de um período de repleção, onde os grupos receberam dietas com 6, 12 e 24 ppm de ferro na forma de sulfato ferroso, contendo celulose (Controle) ou resíduo de milho (Teste) como fontes de fibra alimentar. Os estudos da biodisponibilidade de Ca e Zn foram conduzidos em animais alimentados por 42 dias com dietas contendo celulose ou resíduo de milho como fontes de fibra alimentar e ainda cálcio ou zinco em 50 ou 100% da recomendação para cada mineral. Foram analisados, ao final, ingestão alimentar, ganho de peso, balanço mineral, conteúdo mineral fecal, conteúdo mineral ósseo e sanguíneo, no plasma e no eritrócito. O resíduo de milho apresentou alto teor de fibras alimentares totais ($73,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), fibras alimentares insolúveis ($72,7 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), carboidratos ($12,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), proteínas ($5,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) e lipídios ($5,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). Apresentou, ainda, 2,49 mg de zinco, 2,73 mg de ferro e 121 kcal em 100 g e baixo teor de fitato ($1,97 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$). Quanto à biodisponibilidade de ferro, os níveis de hemoglobina final, hematócrito final e o ganho de hemoglobina diferiram apenas em relação aos níveis de ferro ingerido ($p \leq 0,01$), não diferindo ($p > 0,05$) em relação à fonte de fibra alimentar ou interação fonte e nível. O Valor Relativo de Biodisponibilidade do grupo Teste foi de 104% em relação ao Controle, indicando que a dieta à base de resíduo de milho foi equiparável à dieta padrão contendo celulose

como fonte de fibra alimentar. Quanto à biodisponibilidade de Ca, ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) verificou-se efeito da interação entre fonte de fibra alimentar e nível de mineral ($p \leq 0,05$). Em 50% de Ca a eficiência no ganho de peso foi maior para resíduo de milho. Peso do fêmur (PF), comprimento do fêmur (CF) e concentração de Ca no osso (OSCa) diferiram em relação à fonte de fibras alimentares ($p \leq 0,01$), sendo as médias maiores para os grupos resíduo de milho. O balanço de cálcio apresentou diferença significativa quanto à interação entre fonte de fibra alimentar e nível de mineral ($p \leq 0,05$), sendo maior no grupo com dieta de milho e 50% de Ca. A concentração de cálcio nas fezes e no plasma, e a absorção e retenção diárias de cálcio variaram em função do nível do mineral, sendo maiores ($p \leq 0,05$) ao nível de 50%, excetuando-se a concentração de cálcio nas fezes, que foi maior para 100% do mineral. Para a biodisponibilidade de zinco, GP, IA e CEA apresentaram diferença relativa ao nível ingerido do mineral ($p \leq 0,05$), sendo as médias maiores para os grupos 50%. A concentração de zinco nas fezes (FEZZn) foi maior para a ingestão de celulose, não sendo avaliada em relação aos níveis do mineral. A concentração de zinco no osso foi maior para ingestão de celulose. Foi maior também para a ingestão de 100% de Zn, independente da fonte de fibra alimentar. A concentração de zinco eritrocitário (ERIZn) diferiu apenas em relação ao nível de Zn, sendo maior para ingestão 100%. O resíduo de milho mostrou-se uma fonte potencial de fibras alimentares para a alimentação humana sem prejuízos à biodisponibilidade de ferro, cálcio e zinco.

ABSTRACT

OLIVEIRA JUNIOR, Gilson Irineu de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April 2009. **Influence of fibrous residue of corn bran on bioavailability of iron, zinc and calcium in rats.** Adviser: Neuza Maria Brunoro Costa. Co-advisers: Maria Cristina Dias Paes and Hercia Stampini Duarte Martino.

Corn is the main cereal produced in Brazil. The average national annual per capita intake is approximately 7.7 kg and its importance in the economy is related to the various ways it is used. A fibrous residue is accumulated in the milling industry, which correspond to 5% of the kernel, and is still not well investigated and used in Brazil. The present study aimed at to determine the nutritional composition of the corn bran and its effects on the bioavailability of iron, calcium and zinc in rats. Iron bioavailability was analyzed by the method of depletion and repletion of hemoglobin. The animals were fed an iron-free diet for 21 days (depletion), and then, they were placed in a repletion diet containing 6, 12 or 24 ppm iron as ferrous sulfate, and cellulose (Control) or corn bran (Test) as sources of fiber for 14 days. Calcium and zinc bioavailability was analyzed in rats fed cellulose or corn bran as source of fiber and 50 or 100% of the recommended intake of these minerals. At the end of 42 days, food intake (FI), body weight gain (BWG), mineral balance, fecal, bone, plasma and erythrocyte mineral contents were analyzed. The product showed high content of total dietary fiber ($73.4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), and insoluble fiber ($72.7 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). It also contained carbohydrate ($12.5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), proteins ($5.5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), lipids ($5.5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), zinc ($2.49 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), iron ($2.73 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), $121 \text{ kcal} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, and low content of phytate ($1.97 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$). Regarding the bioavailability of iron, the levels of hemoglobin, hematocrite and hemoglobin gain differ among different levels of iron ($p \leq 0.01$) but not among the diets with different sources of fiber ($p > 0.05$). The interaction between source of fiber and level of iron was also not significant ($p > 0.05$). The relative biological value of the Test group was 104% in relation to the Control, which suggests that the diet containing corn bran was comparable to that containing cellulose. Concerning calcium bioavailability, BWG, FI and food efficiency ratio (FER) varied according to the interaction between source of fiber and the level of mineral in the diet ($p \leq 0.05$), with higher BWG at 50% calcium consumption and corn bran diet. Femur weight (FW), bone length (BL) and calcium concentration in bone (BCa) varied according to

the source of fiber ($p \leq 0.01$), with higher means for corn bran diet. The interaction between source of fiber and level of calcium was significant for calcium balance ($p \leq 0.05$), and was higher for the diet with corn bran and 50% calcium. Fecal and plasma calcium, calcium absorption and retention varied with the level of the mineral in the diet, which were higher ($p \leq 0.05$) in the diets at 50%, except for fecal calcium which was higher at 100% calcium. In the study of zinc bioavailability, BWG, FI and FER varied with the level of the mineral in the diet ($p \leq 0.05$), with higher means at 50% zinc. Fecal zinc was higher for cellulose diet and did not differ among different levels of zinc. Bone zinc was higher in the cellulose diet and also in the diet with 100% zinc irrespective to the source of fiber. Erythrocyte zinc varied only with the level of zinc, and was higher at 100% intake. It is concluded that corn bran is a potential alternative source of fiber for human diet, without adverse effects on iron, calcium and zinc bioavailability.

INTRODUÇÃO GERAL

Nas indústrias brasileiras de beneficiamento de milho, acumula-se um resíduo fibroso oriundo de sua moagem a seco, na proporção de 5% do total de grãos processados, rico em fibras alimentares insolúveis, ainda pouco estudado e utilizado no país (LOPES-FILHO, 1999). O milho é o cereal mais cultivado no Brasil, prevendo-se para 2009 a produção de 55 milhões de toneladas (AVEWORLD, 2009). Sua importância econômica se deve às diversas formas sob as quais pode ser utilizado (PAES, 2006). Dados da última Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2002-2003 confirmaram este cereal como uma das principais fontes alimentares da população brasileira (IBGE, 2004). Dessa forma, o estudo de seu valor nutricional é de fundamental importância.

O estudo dos nutrientes e da composição nutricional dos alimentos gera conhecimentos buscando melhoria na saúde da população e o desenvolvimento da ciência da Nutrição (AGAPITO *et al.*, 2008). Visando um melhor aproveitamento dos nutrientes pelo organismo, questões voltadas ao estudo de sua biodisponibilidade devem ser consideradas. Biodisponibilidade pode ser definida como sendo a fração do nutriente ingerido em um alimento, refeição ou dieta que tem o potencial de suprir as demandas fisiológicas em tecidos vivos (YOUNG, 1998; LESTIENNE *et al.*, 2005), não correspondendo, na maioria das vezes, à quantidade ingerida (MOURÃO *et al.*, 2005). A importância da determinação da biodisponibilidade de minerais como ferro, cálcio e zinco em dietas, refere-se ao estabelecimento das recomendações de ingestão destes elementos em função das necessidades dos indivíduos, considerando os problemas de saúde oriundos de sua deficiência (TURNLUND *et al.*, 2006). Aconselha-se que estudos de biodisponibilidade de nutrientes sejam específicos para cada país, tendo em vista a grande diversidade de dietas e de indivíduos (COZZOLINO, 1997).

No contexto das análises de biodisponibilidade, estudos (BOSSCHER *et al.*, 2001 e 2003; LESTIENNE *et al.*, 2005) relatam que as fibras alimentares (FA) podem prejudicá-la ao se ligarem a íons metálicos, dificultando sua absorção. Outros (MARLETT *et al.*, 2002; TUNGLAND e MEYER, 2002; RODRÍGUEZ *et al.*, 2003) reconhecem que a FA, definida como a parte comestível de plantas ou análogos aos carboidratos que são resistentes à

digestão e à absorção no trato digestório humano, com fermentação parcial ou total no intestino grosso (MARLETT *et al.*, 2002), podem afetar de forma positiva uma ou mais funções no corpo humano. Estes achados permitem caracterizá-las como tendo propriedades funcionais, uma vez que um ingrediente ou alimento pode ser chamado funcional quando demonstra afetar de forma benéfica uma ou mais funções alvo no organismo, além de exercer seus efeitos nutricionais esperados (ROBERFROID, 2007). No intuito de contribuir com conhecimentos nesta área, estudos sobre esta temática devem ser estimulados e conduzidos, visando preencher lacunas ainda existentes neste campo.

1.1 Referências bibliográficas

AGAPITO, N.; D'AVILA, N. M.; SILVA, M. A. S. Orientação farmacêutica a praticantes de atividade física de *endurance*: um estudo de caso. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.5, n.3, 2008.

AVEWORLD. **Dados agrícolas.** Disponível em: <http://www.aveworld.com.br/index.php/documento/6189>, acesso em 17/04/2009.

BOSSCHER, D., VAN, M., DEELSTRA, H. Effect of thickening agents, based on soluble dietary fiber, on the availability of calcium, iron, and zinc from infant formulas. **Nutr.**, v.17, p.614-618, 2001.

BOSSCHER, D., VAN, M., VAN, R., DEELSTRA, H. Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. **Nutr.**, v.19, p.641-645, 2003.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. **Rev. Nutr. PUCCAMP**, v.10, n.2, p.87-98, 1997.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003: análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil.** Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2004. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em Julho de 2008.

LESTIENNE, I., ICARD-VERNIÈRE, C., MOUQUET, C., PICQ, C., TRÈCHE, S. Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chem.**, v.89, p.421-425, 2005.

LOPES FILHO, J. F. Avaliação da maceração dinâmica do milho após um curto período de hidratação e subsequente quebra do pericarpo do grão. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.19, n.3, 1999.

MARLETT, J. A.; MCBURNEY, M. I.; SLAVIN, J. L. Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber. **J Am Diet Assoc.**, v.102, p.993-1000, 2002.

MOURÃO, D. M.; SALES, N. S.; COELHO, S. B.; PINHEIRO-SANTANA, H. M. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Rev. nutr**, v.18, n.4, p.529-539, 2005.

PAES, M. C. D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho.** Circular Técnica, 75 – EMBRAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2006.

ROBERFROID, M. B. Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients. **J. Nutr.** v.137, p.2493S–2502S, 2007.

RODRÍGUEZ, M. B. S.; MEGÍAS, S. M.; BAENA, B. M. Alimentos Funcionales y Nutrición óptima. **Rev Esp Salud Publica**, v.77, n.3, p.317-331, 2003.

TUNGLAND, B. C.; MEYER, D. Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): Their physiology and role in human health and food. **Compr Rev Food Sci Food Saf.**, v.1, p.73-92, 2002.

TURNLUND, J. R. Mineral bioavailability and metabolism determined by using stable isotope tracers. **J. Anim. Sci.** v.84 (E. Suppl.), p.E73–E78, 2006.

YOUNG, V. R. **Re-examination of the concept of bioavailability.** Wageningen International Conference: Bioavailability'97, 1998.

2. REVISÃO DE LITERATURA

MILHO: PRODUÇÃO, UTILIZAÇÃO E POSSÍVEIS EFEITOS FUNCIONAIS

Resumo

O setor agroindustrial e os consumidores têm buscado nos alimentos não apenas o efeito de saciedade e de provimento de nutrientes, mas também benefícios à saúde, dentro do contexto dos alimentos funcionais. Alimentos ricos em fibras alimentares podem afetar de forma positiva uma ou mais funções no organismo humano. As fibras alimentares, entretanto, podem estar associadas a outros componentes dos vegetais, como o fitato, que interferem na biodisponibilidade de minerais. Os alimentos de origem vegetal, como o milho, contêm FA em teores variados, porém, a maior concentração encontra-se no pericarpo. Nas indústrias moageiras de milho é produzido um resíduo fibroso, oriundo do pericarpo, ainda sem destino para a alimentação humana no Brasil. Pensando na responsabilidade ambiental e social destas empresas, e na necessidade de se buscar fontes alimentares alternativas de FA alimentar, conduziu-se o presente estudo, que avaliou a composição nutricional do resíduo micropulverizado resultante da moagem a seco de milho, bem como seus efeitos na biodisponibilidade de cálcio, ferro e zinco em ratos.

Palavras-chave: Alimentos funcionais; farelo de milho; fibra alimentar; fatores antinutricionais; biodisponibilidade de minerais.

2.1 Introdução e justificativa

Segundo o Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome, Segurança Alimentar e Nutricional é a consolidação do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde que respeitem a diversidade cultural e que sejam social, econômica e ambientalmente sustentáveis (BRASIL, 2007). Schmidhuber e Tubiello (2007), baseando-se na *Food and Agriculture Organization* (FAO), expandem este conceito referindo-se à prerrogativa de que o alimento vá ao encontro das necessidades nutricionais daqueles que o consomem, considerando ainda a preferência alimentar de forma a garantir uma vida saudável e ativa.

Paralela a essa necessidade de satisfação de uma condição básica à sobrevivência, que é o simples ato de se alimentar, percebe-se que nos últimos anos, o setor agroindustrial e os consumidores começaram a buscar nos alimentos não apenas o efeito de saciedade, mas também benefícios à saúde, dentro do contexto dos alimentos funcionais (SCALBERT *et al.*, 2005), cujo mercado mundial está em pleno crescimento, movido pela divulgação da relação entre dieta e doenças (SICHIERI *et al.*, 2000; MACHADO e SICHIERI, 2002) pelo envelhecimento da população (CARVALHO e GARCIA, 2003), pelo aumento dos custos de serviços de saúde e pelos avanços em nutrição e tecnologia de alimentos.

Os governos, o setor agroindustrial e a comunidade científica estão entusiasmados com o potencial dos alimentos funcionais de melhorar a saúde dos cidadãos, de promover a diversificação da dieta, a viabilização de produtos de alto valor agregado, criando, assim, nichos de mercado para a agricultura familiar e para o extrativismo sustentável (GUANZIROLI e CARDIM, 2000; GEHLEN, 2004). No entanto, no contexto de vocação agrícola, sabe-se que pesquisas com alimentos regionais e de grande consumo muitas vezes são conduzidas de forma isolada ou não o são, contribuindo pouco para o somatório de informações sobre os nossos alimentos (BATISTA FILHO e RISSIN, 2003; SANTOS, 2005).

Alimentos ricos em fibra alimentar (FA), conceituada como a parte comestível de plantas ou análogos aos carboidratos que são resistentes à

digestão e à absorção no trato digestório humano, com fermentação parcial ou total no intestino grosso (MARLETT *et al.*, 2002), podem ser considerados funcionais uma vez que podem afetar de forma positiva uma ou mais funções no corpo humano (ROBERFROID, 2007). Essa fração é definida também como o somatório de polissacarídeos e substâncias relacionadas indigeríveis, como o amido resistente, mais a lignina e, ainda, como constituinte de alimentos e de produtos alimentícios que resiste à hidrólise dos sucos digestivos do organismo humano (RAUPP *et al.*, 2000). No entanto, este é um conceito associado a vários significados, tendo sido gerada uma discussão internacional baseada nos avanços de técnicas analíticas, em novas informações nutricionais e fisiológicas e também em interesses das indústrias de alimentos (CHAMP *et al.*, 2003; RODRÍGUEZ *et al.*, 2006).

Lignina, celulose e algumas hemiceluloses, constituintes da fração fibra alimentar insolúvel (FAI), permanecem intactas em todo o trato digestório (MORAES e COLLA, 2006), sendo importantes no fornecimento da massa necessária à ação peristáltica do intestino (RIQUE, 2002), na maior necessidade de mastigação - relevante na sociedade moderna, vítima da ingestão compulsiva e obesidade - apresentando efeito também no aumento da excreção de ácidos biliares, bem como propriedades antioxidantes e hipocolesterolemiantes (RODRÍGUEZ *et al.*, 2003).

Já as pectinas, gomas, mucilagens e algumas hemiceluloses compõem a fração fibra alimentar solúvel (FAS), sendo potencialmente eficazes na regulação dos níveis plasmáticos de glicose, colesterol e triacilgliceróis, atuando também como fator protetor contra certas enfermidades crônicas não transmissíveis, como câncer de cólon e de reto, arteriosclerose e diabetes (MARLETT *et al.*, 2002; TUNGLAND e MEYER, 2002).

No entanto, são conhecidos, além das propriedades benéficas das FAs, fatores que interferem na biodisponibilidade de minerais, em especial nos bivalentes. Esta, por definição, refere-se à fração do nutriente ingerido que tem o potencial de suprir as demandas fisiológicas em tecidos alvos (YOUNG, 1998), não correspondendo, na maioria das vezes, à quantidade ingerida (MOURÃO *et al.*, 2005).

Considerando-se a interação fibra-minerais, as hemiceluloses têm capacidade de quelar íons metálicos devido à formação de ligações com os grupos carboxílicos dos ácidos urônicos e/ou grupos hidroxila (CLAYE *et al.*,

1998). Quanto às pectinas, Fukushima *et al.* (2005) mostraram, em estudos *in vitro*, que os grupos carboxílicos do ácido D-galacturônico na estrutura da mesma se ligam aos cátions bivalentes, como por exemplo o zinco, reduzindo a sua biodisponibilidade. Já a celulose pode reter os íons metálicos por meio dos seus grupos hidroxila livres, mas com menor capacidade de fixação comparada a outros componentes das FAs. Mesmo assim, devido ao aumento da massa fecal e à diminuição do tempo de trânsito intestinal, a presença de celulose em rações pode provocar diminuição da absorção aparente de minerais na fase de crescimento em ratos (HARMUTH-HOENE e SCELENZ, 1980). Contudo, é difícil distinguir se os efeitos observados pela ingestão de FA são devidos à fibra em si ou à ingestão simultânea de outras substâncias que a acompanham, o que tem gerado uma série de pesquisas considerando as associações entre FA e outros componentes da dieta. De forma negativa, a biodisponibilidade de minerais pode ser influenciada pela presença de FAl, fitatos, oxalatos, taninos, polifenóis e flavonóides. Os íons minerais podem se ligar com um ou mais grupos fosfatos e com uma ou mais moléculas de ácido fítico, formando complexos de variada solubilidade e estabilidade (HALLBERG *et al.*, 1987; BRUNE *et al.*, 1989; YOUNES *et al.*, 1993; SHAHIDI, 1997). Por outro lado, a biodisponibilidade de minerais pode ser reduzida pela presença de FAS, ácido ascórbico, ácido cítrico, lactose e frutose (HAZZEL, 1987; GREGER, 1999; COUDRAY *et al.*, 2003).

Vale ressaltar que alguns antinutrientes, bem como seus produtos de hidrólise, podem, quando em pequenas quantidades na dieta, ter efeitos benéficos para a saúde (SHAHIDI, 1997). Dessa forma, segundo Walter *et al.* (2008), o ácido fítico apresenta efeito antioxidante ao quelar ferro, o qual participa de reações oxidantes. Relaciona-se à redução nos riscos de desenvolvimento de diferentes tipos de câncer, devido a esta ação antioxidante e redução da proliferação celular. Lee *et al.* (2005; 2006) relatam também a diminuição de lipídios no soro e no fígado e dos níveis séricos de glicose em ratos diabéticos, podendo assim auxiliar no controle do diabetes.

Os alimentos de origem vegetal contêm FAs em teores que variam de acordo com o tipo de alimento e com a forma de processamento, sendo o milho um exemplo, cujo pericarpo apresenta a maior quantidade desse componente (ECKHOFF *et al.*, 1996; JOHNSON, 2000). A investigação sobre FAs presentes na dieta e seu papel na qualidade do alimento e na saúde do

consumidor é uma área de pesquisa emergente, sendo, ainda, terreno fértil para a execução de estudos com alimentos nativos do Brasil.

Para a safra de 2008/2009, foi projetada uma produção mundial de aproximadamente 781,3 milhões de toneladas de milho. Os maiores produtores atualmente são Estados Unidos, China, Brasil e Argentina, que preveem para 2009, produção de 305, 152, 55 e 21 milhões de toneladas, respectivamente (AVEWORLD, 2009). Um número superior a um bilhão de consumidores da África Subsaariana e da América Latina tem o milho como alimento básico. Em algumas situações, este constitui a única fonte diária da alimentação, a exemplo das populações do México e Nordeste do Brasil, onde este cereal é a principal fonte de energia na dieta (DUARTE, 2000). O milho apresenta, pois, importância atual e potencial para o agronegócio brasileiro, sendo que este produto regional de grande importância econômica e social aguarda pesquisas que demonstrem um diferencial em suas propriedades funcionais.

O milho se destina tanto ao consumo humano quanto à alimentação animal. Em ambos os casos, algum tipo de transformação industrial ou na própria fazenda pode ser necessária. No Brasil, cerca de 4% do total de milho produzido é consumido diretamente como alimento e cerca de 10% deste total são destinados ao processamento nas indústrias alimentícias, que transformam os grãos em diversos produtos consumidos na dieta humana, como o amido, fubá, as farinhas, a canjica (mungunzá), os flocos de milho, farelos, óleo, dentre outros (ABIMILHO, 2007). No Quadro 1 observam-se os diversos produtos obtidos a partir do milho, quer seja como planta, espiga ou grão.

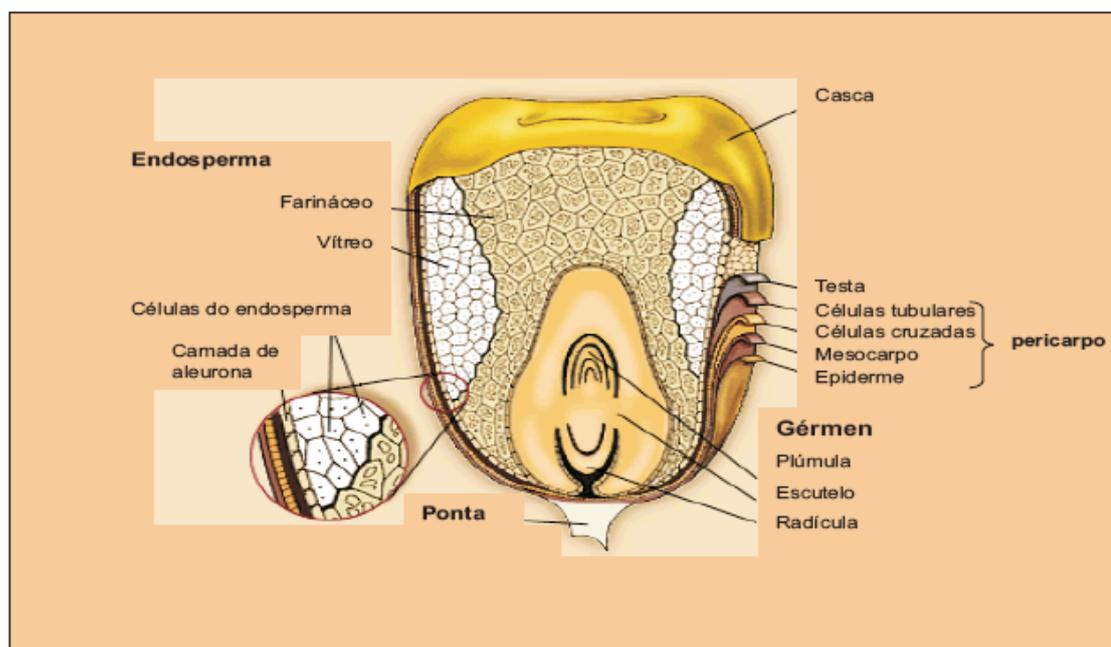
Quadro 1 - Diversos usos do milho (Planta, Espiga e Grão) no Brasil

Destinação	Forma/Produto Final
Uso Animal Direto	Silagem; rolão; grãos (inteiro/desintegrado) para aves, suínos e bovinos.
Uso Humano Direto de Preparo Caseiro	Espiga assada ou cozida; pamonha; curau; pipoca; pães; bolos; broas; cuscuz; polenta; angus; sopas; farofa.
Indústria de Rações	Rações para aves; suínos; bovinos (corte e leite); outros mamíferos.
Indústria de Alimentos	Amidos; fubás; Farinhas comuns; Farinha pré-cozidas; Flocadas; Canjicas;
Produtos Finais	Óleo; Creme; Pipocas; Glicose; Dextrose.
Intermediários	Canjicas; sêmola; semolina; moído; granulado; farelo de germe.
Xarope de Glicose	Balas duras e mastigáveis; goma de mascar; doces em pasta; salsichas; salames; hambúrgueres; outras carnes processadas; frutas cristalizadas; compotas; biscoitos; xaropes; sorvetes; para polimento de arroz.
Xarope de Glicose com alto teor de maltose	Cervejas
Corantes Caramelo	Refrigerantes; cervejas; bebidas alcoólicas; molhos.
Maltodextrinas	Aromas e essências; sopas desidratadas; pós para sorvetes; complexos vitamínicos; achocolatados.
Amidos Alimentícios	Biscoitos; melhoradores de farinhas; pães; pós para pudins; fermento em pó; macarrão; produtos farmacêuticos; balas de goma.
Amidos Industriais	Para papel; papelão ondulado; adesivos; fitas gomadas; briquetes de carvão; engomagens de tecidos; beneficiamento de minérios.
Dextrinas	Adesivos; tubos; barricas de fibra; lixas; abrasivos; sacos de papel; estampagem de tecidos; cartonagem;
Pré-Gelatinizados	Fundição de peças de metal.
Adesivos	Rotulagem de garrafas e de latas; sacos; tubos; fechamento de caixas de papelão; colagem de papel e madeira.
Ingredientes Protéicos	Rações para bovinos; suínos; aves e cães.

Fonte: BRASIL, 2007.

Dados da última Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2002-2003 (IBGE, 2004) confirmaram este cereal como uma das mais importantes fontes alimentares da população brasileira, apresentando expressivo consumo na zona rural brasileira, sendo a população rural da região Sudeste a grande consumidora de milho e seus derivados, com *per capita* de aproximadamente 31 kg ao ano, seguida pela zona rural da região Nordeste com consumo anual de cerca de 20 kg/pessoa.

Para o consumo humano, o milho necessita de alguma transformação, podendo ser industrializado por meio de processos de moagem úmida e seca (MELO-FILHO e RICHETTI, 1997). Em todas as regiões brasileiras onde o milho é consumido, as principais formas de aquisição domiciliar ainda são o milho em grão e os seus derivados obtidos por meio da moagem seca (MELO-FILHO e RICHETTI, 1997), processo de refino em que as partes anatômicas do milho (endosperma, pericarpo ou película/casca e gérmen – FIGURA 1) são separadas mecanicamente. O processamento industrial do milho rende, em média, 5% do seu peso na forma de óleo (BRASIL, 2007).



Fonte: Paes (2006)

FIGURA 1 – Partes anatômicas do grão de milho

No processo de moagem seca, o pericarpo, fração que reveste o grão, é transformado em um resíduo farináceo, composto essencialmente por hemicelulose, celulose e lignina (>95% FA bruta), também denominado *corn*

bran ou resíduo fibroso de milho, que corresponde a aproximadamente 5% do total dos grãos processados. Este produto apresenta grande importância para a indústria de alimentos na Europa, América do Norte e Japão, como fonte de FA alimentar, sendo utilizado em produtos de panificação e em misturas farináceas prontas para uso, além de alimentos processados (SUGAWARA *et al.*, 1991). Já para Lopes-Filho (1999), em estudo visando aperfeiçoar uma metodologia para beneficiamento de milho, o grão de milho rendeu cerca de 12% de resíduo fibroso após a moagem, mas ressalta-se que este não corresponde à atual estrutura das moageiras no Brasil.

O crescente uso deste produto nos países desenvolvidos tem sido atribuído à comprovação dos efeitos benéficos do seu consumo na saúde do intestino grosso e na influência sobre os fatores de risco das doenças cardiovasculares. Em estudo de 21 dias com ratos, Ebihara e Nakamoto (2001) observaram que a ingestão de farelo de milho em uma concentração de 50 g.kg⁻¹ de dieta resultou em maior peso úmido de fezes e de conteúdo cecal ($p \leq 0,05$) com redução de lipídios hepáticos totais e concentração de colesterol plasmático. Zhang e Wang (2005) relataram redução ($p \leq 0,05$) de colesterol sérico total e triacilgliceróis totais e aumento de HDL-colesterol em camundongos hiperlipidêmicos ao ingerirem dieta com adição de 8% de resíduo fibroso de milho. Como perspectiva para redução dos níveis de colesterol sanguíneo, Hu *et al.* (2008) confirmaram em recente estudo *in vitro*, que este produto apresenta habilidade para se ligar a sais biliares, levando à sua excreção fecal, com conseqüente arraste de colesterol.

Estudos evidenciaram a influência positiva do consumo do resíduo fibroso de milho (26 g.dia⁻¹) sobre a resposta pós-prandial de glicose sérica de indivíduos normais (MUNOZ *et al.*, 1979) e também na curva de tolerância à glicose em diabéticos (10 g resíduo.dia⁻¹) (HANAI *et al.*, 1997). Em humanos saudáveis, foi demonstrado que o consumo diário médio de 5 g deste resíduo durante 10 dias, resultou em aumento ($p \leq 0,05$) da atividade da enzima beta-glicosidase, produzida pelas bactérias intestinais e associada à redução do risco de câncer de cólon (SUGAWARA *et al.*, 1991). O efeito da adição do resíduo fibroso de milho sobre fatores de risco para doenças cardiovasculares foi também avaliado, tendo sido observado decréscimo significativo do colesterol total, LDL-colesterol e triacilgliceróis em indivíduos normais e hipercolesterolêmicos a partir da adição de 18 g do resíduo na dieta diária

(MAHALKO *et al.*, 1984; EARLL *et al.*,1988; SHANE *et al.*, 1995; VITAL-QUINTANAR *et al.*, 1999).

Apesar dos comprovados efeitos fisiológicos do resíduo fibroso do milho, que o tornam uma fonte potencial a ser utilizada como alimento funcional, o consumo deste produto no Brasil, como fonte de FA, ainda é incipiente. Informações sobre a composição química detalhada do produto obtido nas indústrias moageiras nacionais e a influência deste produto sobre a biodisponibilidade de nutrientes, como os minerais, são importantes para caracterização deste resíduo, a fim de agregar-lhe valor nutricional e econômico, bem como estimular seu uso na alimentação humana. No entanto, tais informações ainda são escassas, o que respalda a relevância científica do presente trabalho. No intuito de conhecer sua composição química e avaliar a ação biológica da FA proveniente deste resíduo industrial micropulverizado de pericarpo de milho, delineou-se este estudo para analisar seu efeito na biodisponibilidade de ferro, zinco e cálcio em modelos animais.

Estes minerais apresentam importantes funções no organismo. O ferro atua na formação de hemoglobina e mioglobina, no desenvolvimento mental e na capacidade de aprendizagem (BOUIS, 2000). Quanto à absorção, a literatura relata influência negativa com minerais como zinco, cálcio e manganês, bem como ácido fítico (penta e hexafosfato de mioinositol). É bem sedimentado, no entanto, que tanto a forma do mineral no alimento quanto o estado nutricional do indivíduo em relação ao ferro são determinantes no ajuste fisiológico para sua utilização, influenciando em sua absorção, transporte e armazenamento (TAPIERO *et al.*, 2001).

O zinco exerce função de estabilizador de estruturas de membranas, de componente de enzimas Zn-dependentes com função antioxidante e na síntese e degradação de carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucléicos. Sua biodisponibilidade pode ser reduzida pela presença de ácido fítico, cálcio, ferro, cobre, cádmio (SANDSTRÖM, 1997; KOURY e DONANGELO, 2003) e FAs (RODRÍGUEZ *et al.*, 2008), o que justifica a condução de estudos sobre a influência de alimentos ricos em FA na biodisponibilidade deste mineral.

O cálcio participa de diversos processos bioquímicos e fisiológicos, incluindo a liberação de neurotransmissores durante a transmissão dos impulsos nervosos, formação do tecido de sustentação dos animais (tecido ósseo) juntamente com o fósforo e, com proteínas e fosfolipídios, desempenha

ainda papel essencial na manutenção da integridade das membranas celulares, além de atuar no processo de coagulação sanguínea, de contração e relaxamento muscular e na ativação de várias enzimas. Deve-se ressaltar que o cálcio pode ter baixa absorção em alimentos ricos em ácido oxálico, como espinafre, feijão e batata doce, já o ácido fítico se apresenta como inibidor moderado (LOBAUGH, 1996; LOUIE, 1996; JONES *et al.*, 1998). Altas concentrações de FA também podem reduzir sua biodisponibilidade (RODRÍGUEZ *et al.*, 2008), ressaltando-se, por isso, a importância de se considerar este nutriente em estudos de aproveitamento biológico de cálcio.

Constatando sua ação equivalente à das outras FAs já utilizadas, será possível utilizar este resíduo fibroso da moagem seca de milho, ainda sem aplicação na nutrição humana no Brasil, como fonte de FA na suplementação alimentar. Isto poderá trazer os benefícios da FA já relatados bem como sugerir destino a este resíduo, incluindo as empresas em ações de responsabilidade social e ambiental. Além disso, será possível promover o consumo de um alimento tradicional por meio do conhecimento de seus benefícios à saúde, além de subsidiar avanços nas áreas de aproveitamento de resíduos, tecnologia de alimentos, investigação de alimentos e substâncias junto a seu apelo funcional, visando à diversificação do setor agroindustrial com foco na saúde do consumidor.

Este estudo é parte de um projeto de parceria entre o Departamento de Nutrição e Saúde da UFV e EMBRAPA-Milho e Sorgo, de Sete Lagoas, MG.

2.2 Referências bibliográficas

ABIMILHO. **Milho – Brasil: estimativa de consumo por segmento**. Disponível em: <http://www.abimilho.com.br/estatistica4.htm>. Acesso em: 11 de setembro de 2007. Acesso em 22 de fevereiro de 2009.

AVEWORLD. **Dados agrícolas**. Disponível em: <http://www.aveworld.com.br/index.php/documento/6189>, acesso em 17/04/2009.

BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cad Saúde Pública**, v.19, n.1, p.181-91, 2003.

BOUIS, H. Enrichment of food staples through plant breeding: A new strategy for fighting micronutrient malnutrition. **Nutr**, v.16, n.7/8, p.701-704, 2000.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de Produção, 2 ISSN 1679-012X Versão Eletrônica - 3ª edição. 2007. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho/index.htm>. Acesso em: 22 de fevereiro de 2009.

BRUNE, M. et al. Iron absorption and phenolic compounds: importance of different phenolic structures **Eur. J. Clin. Nutr.**, v.43, p.547-58, 1989.

CARVALHO, J. A. M.; GARCIA, R. A. O envelhecimento da população brasileira: um enfoque demográfico. **Cad. Saúde Pública**, v.19, n.3, 2003

CHAMP, M.; LANGKILDE, A. M.; BROUNS, F., KETTLITZ, B.; COLLET, Y. Advances in dietary fibre characterisation. 1. Definition of dietary fibre, physiological relevance, health benefits and analytical aspects. **Nutr Res Rev**, v.16, p.71–82, 2003.

CLAYE, S. S. et al. In vitro mineral binding capacity of five fiber sources and their insoluble components for magnesium and calcium. **Food Chem**, v.61, n.3, p.333-8, 1998.

COUDRAY, C. et al. Effects of dietary fibres on magnesium absorption in animals and humans. **J. Nutr.**, v.133, p.1-4, 2003.

DUARTE, J. O. Introdução e importância econômica do milho. In: **Cultivo do Milho**. CRUZ, J. C; VERSIANI, R. P. e FERREIRA, M. T. R. (Eds). Sete Lagoas, MG: Embrapa CNPMS, (Sistemas de Produção, 1), 2000.

EARLL, L., EARLL, J.M.; NAUJOKAITIS, S.; PYLE, S. M. C.; FALLS, K.; ALTSCHUL, A. M. Feasibility and metabolic effects of a purified corn fiber food supplement. **J Am Diet Assoc**. v.88, p.950-58, 1988.

EBIHARA, K.; NAKAMOTO, Y. Effect of the particle size of corn bran on the plasma cholesterol concentration, fecal output and cecal fermentation in rats. **Nutr**, v.21, p.1509–1518, 2001.

ECKHOFF, S. R.; PAULSEN, M. R. Maize. In: HENRY, R. J.; KETTLEWELL, P. S. (Ed.). **Cereal grain quality**. London: Chapman e Hall, cap. 3, p. 77-112, 1996.

FUKUSHIMA, A. et al. Expression of caldindin-D9k, VDR and Cdx-2 messenger RNA in the process by wich fructooligosaccharides increase calcium absorption in rats. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.**, Tóquio, v.51, n.6, p.426-32, 2005.

GEHLEN, I. Políticas públicas e desenvolvimento social rural. **São Paulo Perspec.**, São Paulo, v.18, n.2, 2004.

GREGGER, J. L. Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability. **J. Nutr.**, v.129, p.1434S-5S, 1999.

GUANZIROLI, C. H.; CARDIM, S. E. (Coord.). **Novo retrato da agricultura familiar – o Brasil redescoberto**. Brasília: Projeto de Cooperação Técnica Incra/FAO, 2000.

HALLBERG, L. *et al.* Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.45, p.988-96, 1987.

HANAI, H.; IKUMA, M.; SATO, Y.; LIDA, T. *et al.* Long-term effects of water-soluble corn bran hemicellulose on glucose tolerance in obese and non-obese patients: Improved insulin sensitivity and glucose metabolism in obese subjects. **Biological Science of Biotechnology and Biochemistry**. v.61, p.1358, 1997.

HARMUTH-HOENE, A. E. e SCELENZ, R. Effect of dietary fiber on mineral absorption in growing rats. **J. Nutr.**, v.110, p.1774-84, 1980.

HAZZEL, T. e JOHNSON, I. T. in vitro estimation of iron availability from a range of plant foods: influence of phytate, ascorbate and citrate. **Br. J. Nutr.**, v.57, p.223-33, 1987.

HU, Y. B.; WANG, Z.; XU, S. Y. Treatment of corn bran dietary fiber with xylanase increases its ability to bind bile salts, in vitro. **Food Chem.**, v.106, p.113–121, 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003: análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2004. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em Julho de 2008.

JOHNSON, L. A. Corn: The major cereal of the Americas. In: KULP, K.; PONTE, J. G. (Ed.) **Handbook of cereal science and technology**. USA: Marcel Dekker Inc. p. 31-80, 2000.

JONES, G.; STRUGNELL, S. A.; DELUCA, H. F. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. **Physiol. Rev.**, Baltimore, v.78, n.4, p.1193-1231, 1998.

KOURY, J.; DONANGELO, C. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.16, n 4, p.433-441, 2003.

LEE, S. H.; PARK, H.; CHO, S.; JUNG, H.; CHO, S.; CHO, Y.; LILLEHOJ, H. Effects of dietary phytic acid on serum and hepatic lipid levels in diabetic KK mice. **Nutr Res.**, v.25, p.869-876, 2005.

LEE, S.H. PARK, H.; CHUN, H.; CHO, S.; CHO, S.; LILLEHOJ, H. Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. **Nutr Res.**, v.26, p.474-479, 2006.

LOBAUGH, B. Blood calcium and phosphorus regulation. In: ANDERSON, J. J. B.; GARNER, S. C. eds. **Calcium and phosphorus in health and disease**. Florida: CRC Press, p.27-43, 1996.

LOPES FILHO, J. F. Avaliação da maceração dinâmica do milho após um curto período de hidratação e subsequente quebra do pericarpo do grão. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.19, n.3, 1999.

LOUIE, D. Intestinal bioavailability and absorption of calcium. In: ANDERSON, J. J. B.; GARNER, S. C. eds. **Calcium and phosphorus in health and disease**. Florida: CRC Press. p.45-62, 1996.

MACHADO, P. A. N.; SICHIERI, R. Relação cintura-quadril e fatores de dieta em adultos. **Rev. Saúde Pública**, v.36, n.2, 2002 .

MAHALKO, J. R.; SANSDSTEAD, H. H.; JOHNSON, L. K.; INMAN, L. F.; MILNE, D. B.; WARNER, R. C.; HAUNZ, E. A. Effect of consuming fiber from corn bran, soy hulls, or apple powder on glucose tolerance and plasma lipids in type II diabetes. **Am J Clin Nutr**. v.39, p.25, 1984.

MARLETT, J. A.; MCBURNEY, M. I.; SLAVIN, J. L. Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber. **J Am Diet Assoc.**, v.102, p.993-1000, 2002.

MELO-FILHO, G. A.; RICHETTI, A. Aspectos socioeconômicos da cultura do milho. Embrapa, **Circular Técnica**, v.5. p.13-21, 1997.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Functional foods and nutraceuticals: definition, legislation and health benefits. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, n.2, p.99-112, 2006.

MOURÃO, D. M.; SALES, N. S.; COELHO, S. B.; PINHEIRO-SANTANA, H. M. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Rev. nutr**, v.18, n.4, p.529-539, 2005.

MUNOZ, J. M.; SANDSTEAD, H. H.; JACOB, A. Effects of dietary fiber on glucose tolerance of normal men. **Diabetes**. v.28, p.496-502, 1979.

PAES, M.C.D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Circular Técnica, 75 – EMBRAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2006.

RAUPP, D. S.; CARRIJO, K. C. R.; COSTA, L. L. F.; MENDES, S. D. C.; BANZATTO, D. A. Propriedades funcionais, digestivas e nutricionais de polpa refinada de maçã. **Scientis Agrícola**, v.57, n.3, p.395-402, 2000.

RIQUE, A.B. R.; SOARES, E. A.; MEIRELLES, C. M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Rev Bras Med Esporte**, v.8, n.6, p.244-54, 2002.

ROBERFROID, M. B. Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients. **J. Nutr**. v.137, p.2493S–2502S, 2007.

RODRÍGUEZ, M. B. S.; MEGÍAS, S. M.; BAENA, B. M. Alimentos Funcionales y Nutrición óptima. **Rev Esp Salud Pública**, v.77, n.3, p.317-331, 2003.

RODRÍGUEZ, M. S.; MONTERO, M.; STAFFOLO, M. D.; MARTINO, M.; BEVILACQUA, A. ALBERTENGO, L. Chitosan influence on glucose and calcium availability from yogurt: *In vitro* comparative study with plants fibre. **Carbohydrate Polymers**, v.74, p.797–801, 2008.

RODRÍGUEZ, R.; JIMÉNEZ, A.; FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J.; GUILLÉ, R.; HEREDIA, A. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. **Trends Food Sci Technol**, v.17, p.3–15, 2006.

SANDSTRÖM, B. Bioavailability of zinc. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v.51, Suppl. 1, S17-S19, 1997.

SANTOS, L. A. S. Educação alimentar e nutricional no contexto da promoção de práticas alimentares saudáveis. **Rev. Nutr.** [online]. v.18, n.5, p. 681-692, 2005,

SCALBERT, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; REMESCY, C.; JIMENEZ, J. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Rev. Food Sci. Nutr.** v.45, n.4, p.287-306, 2005.

SCHMIDHUBER, J.; TUBIELLO, F. N. Global food security under climate change. **PNAS**, v.104, n.50, p.19703-19708, 2007.

SHAHIDI, F. Beneficial Health Effects and Drawbacks of Antinutrients. In: SHAHIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC, p.1-9, 1997.

SHANE, J. M.; WALKER, P. M. Corn bran supplementation of a low-fat controlled diet lowers serum lipids in men with hypercholesterolemia. **J Am Diet Assoc.** v.95, n.40, 1995.

SICHERI, R *et al.* Recomendações de alimentação e nutrição saudável para a população brasileira. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.44, n.3, 2000.

SUGAWARA, M.; SATO, Y.; YOKOYAMA, S.; MITSUOKA, T. Effect of corn fiber residue supplementation on fecal properties, flora, ammonia, and bacterial enzyme activities in healthy humans. **J Nutr Sci Vitaminol.** v.37, n.109, 1991.

TAPIERO, H., GATÉ, L., TEW, K. Iron: deficiencies and requirements. **Biomed Pharmacother.**, n.55, p.324-332, 2001.

TUNGLAND, B. C.; MEYER, D. Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): Their physiology and role in human health and food. **Compr Rev Food Sci Food Saf.**, v.1, p.73-92, 2002.

VITAL-QUINTANAR, R. L.; MENDIVIL, R. L.; PENA, M.; FERNANDEZ, M. L. Lime-treated maize husks lower plasma LDL-cholesterol levels in normo and hypercholesterolaemic adult men from northern Mexico. **Br J Nutr**, v.81, p.281, 1999.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Cienc. Rural**, v.38, n.4, p.1184-1192, 2008.

YOUNES, H. et al. Relationship between fermentations and calcium in the cecum of rats fed digestible or resistant starch. **Ann. Nutr. Metab.**, Viena, v.37, p.311-9, 1993.

YOUNG, V. R. **Re-examination of the concept of bioavailability**. Wageningen International Conference: Bioavailability'97, 1998.

ZHANG, Z.; WANG, D. Corn dietary fibre effective on depressing blood lipid for experimental hyperlipaemia mice. **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, v.20, p.120–123, 2005.

3. OBJETIVOS

3.1 *Objetivo geral*

Avaliar os efeitos de um resíduo fibroso micropulverizado, obtido industrialmente da moagem de milho, na biodisponibilidade de ferro, zinco e cálcio em ratos.

3.2 *Objetivos específicos*

- Determinar a composição química de resíduo fibroso de milho, quanto aos teores de umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos, fibra alimentar, cálcio, cobre, ferro, fósforo, manganês, potássio, sódio, zinco e fitato;
- Determinar o valor calórico de resíduo fibroso de milho;
- Analisar a influência de resíduo fibroso de milho adicionado à dieta na biodisponibilidade de ferro em ratos;
- Analisar a influência de resíduo fibroso de milho adicionado à dieta na biodisponibilidade de zinco em ratos;
- Analisar a influência de resíduo fibroso de milho adicionado à dieta na biodisponibilidade de cálcio em ratos;

4. ARTIGO 1

RESÍDUO MICROPULVERIZADO DA MOAGEM A SECO DE MILHO: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E EFEITO NA BIODISPONIBILIDADE DE FERRO EM RATOS

Resumo

O milho é o cereal mais cultivado no Brasil, sendo a média nacional de consumo *per capita* anual de aproximadamente 7,7 kg, principalmente influenciado pelas diversas formas sob as quais pode ser utilizado, refletindo na sua importância econômica. Nas indústrias moageiras acumula-se um resíduo fibroso na proporção de 5% do total de grãos, ainda pouco estudado e utilizado no Brasil. O presente trabalho teve como objetivos determinar a composição nutricional do resíduo fibroso de milho e avaliar seus efeitos na biodisponibilidade de ferro em ratos, pelo método de depleção e repleção de hemoglobina. Os animais foram alimentados com dieta sem adição de ferro por 21 dias (depleção), seguido de um período de repleção, no qual os grupos receberam dietas com 6, 12 e 24 ppm de ferro na forma de sulfato ferroso, contendo celulose (Controle) ou resíduo de milho (Teste) como fontes de fibra alimentar. O resíduo em estudo apresentou alto teor de fibras alimentares totais ($73,4 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), fibras alimentares insolúveis ($72,7 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), carboidratos ($12,5 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), proteínas ($5,5 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e lipídios ($5,5 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$). Apresentou, ainda, 2,49 mg de zinco, 2,73 mg de ferro e $121 \text{ kcal} \cdot 100^{-1}$, com baixo teor de fitato ($1,97 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$). Quanto à biodisponibilidade de ferro, os níveis de hemoglobina final, hematócrito final e o ganho de hemoglobina diferiram apenas em relação aos níveis de ferro ingerido ($p \leq 0,01$), não diferindo ($p > 0,05$) em relação à fonte de FA ou interação fonte e nível. O Valor Relativo de Biodisponibilidade do grupo Teste foi de 104% em relação ao Controle, indicando que a dieta à base de resíduo de milho foi equiparável à dieta padrão contendo celulose como fonte de FA. O resíduo de milho mostrou-se uma fonte potencial de FAs para a alimentação humana sem prejuízos na biodisponibilidade de ferro.

Palavras-chave: Farelo de milho; composição química; fibra alimentar; biodisponibilidade de ferro.

4.1 Introdução

A anemia causada por deficiência de ferro talvez seja a desordem nutricional mais freqüente no mundo (ZIJP *et al.*, 2000), caracterizando um sério problema de saúde pública (DEEGAN *et al.*, 2005). Acontece quando a quantidade de ferro total do organismo está diminuída, podendo ser causada por ingestão inadequada, baixa absorção, perda sanguínea crônica ou aumento das necessidades, como na infância, adolescência e gravidez (BOCCIO e IYENGAR, 2003).

O Brasil foi apontado pela Organização Pan-americana de Saúde como sendo o terceiro país com maior prevalência (35%) de anemia entre as crianças de 1 a 4 anos (NEUMAN *et al.*, 2000). Para Macphail (2001), a baixa ingestão e a baixa biodisponibilidade de ferro constituem as principais causas da anemia ferropriva nos países em desenvolvimento onde as dietas têm por base os grãos e cereais.

O ferro é necessário para a síntese das proteínas transportadoras de oxigênio - hemoglobina e mioglobina; para formação do grupo heme, bem como de outras enzimas por ele constituídas, as quais participam de reações de transferência de elétrons e de óxido-redução. Este mineral é absorvido em um processo ativo e saturável, principalmente no duodeno, sendo carregado pelos tecidos corporais sempre ligado a alguma proteína. E, diferentemente do que acontece com outros minerais, sua homeostase é regulada por meio do controle da absorção em nível intestinal, e não pela modificação de sua excreção (HURRELL, 1997; BOCCIO e IYENGAR, 2003).

A deficiência deste mineral durante a infância e adolescência prejudica o crescimento físico, desenvolvimento psicomotor e mental, a capacidade de aprendizagem e a regulação da temperatura corporal. Em adultos, reduz a resistência a infecções e a capacidade para executar trabalho físico; é uma das principais causas de morte durante o parto, elevando tanto a morbidade quanto a mortalidade de mãe e bebê no período pós-natal (BOUIS, 2000; BOCCIO e IYENGAR, 2003).

Deve-se ressaltar que alimentos ou dietas ricos em fibra alimentar (FA) podem interferir na biodisponibilidade de nutrientes, em especial dos minerais, como o ferro, especialmente na presença de fitato, pela possível formação de compostos insolúveis (IOM, 2001). Sabe-se também que as hemiceluloses têm

capacidade de captar íons metálicos devido à formação de ligações com os grupos carboxílicos dos ácidos urônicos e/ou grupos hidroxila (CLAYE *et al.*, 1998). Brune *et al.* (1992), no entanto, reportaram que a FA, por si só, não influencia de forma significativa na absorção do ferro, sendo o efeito inibitório dos farelos de cereais atribuído quase que totalmente ao seu alto conteúdo em fitato. De acordo com House (1999), interações com elementos minerais com propriedades físico-químicas similares ou que possam competir por vias comuns de absorção também podem deprimir a absorção do ferro não-heme em humanos ou em animais de experimentação.

A despeito dos efeitos negativos da FA na biodisponibilidade de minerais, muito se discute em relação ao seu papel na saúde humana (ANGIOLONI e COLLAR, 2009), havendo referência na literatura médica quanto aos benefícios dos farelos de grãos (MANN e CUMMINGS, 2009). Nesse contexto, crescem os relatos sobre os efeitos das FA no controle de distúrbios próprios da síndrome metabólica, regulação do peso corporal, ingestão alimentar, obesidade, controle de hipertensão arterial, homeostase da glicose, melhoria na sensibilidade à insulina, diabetes tipo 2, obstipação intestinal, câncer e na regulação da produção de marcadores inflamatórios, bem como na redução de fatores de risco para doenças cardiovasculares, especialmente pela melhoria do perfil lipídico sérico (DAVY e MELBY, 2003; VENN e MANN, 2004, DELZENNE e CANI, 2005; SAHYOUN *et al.*, 2006; AHMED *et al.*, 2006; GALISTEO *et al.*, 2008).

Nas indústrias de beneficiamento de milho, acumula-se na proporção de 5% do total de grãos processados, um resíduo fibroso oriundo de sua moagem a seco, rico em FAs insolúveis, ainda pouco estudado e utilizado no Brasil (LOPES-FILHO, 1999). O milho é o cereal mais cultivado no Brasil, prevendo-se para 2009 a produção de 55 milhões de toneladas (AVEWORLD, 2009). Sua importância econômica se deve às diversas formas sob as quais pode ser utilizado, que vão desde a alimentação animal (70%-85%) até a indústria de alta tecnologia (PAES, 2006). Dados da última Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2002-2003 confirmaram o milho como uma das mais importantes fontes alimentares da população brasileira. A média nacional de consumo *per capita* anual é de aproximadamente 7,7 kg, destacando-se a média de consumo da zona rural da região Sudeste, que fica em torno de 31,0 kg (IBGE, 2004).

Anatomicamente, o grão de milho é formado por três principais estruturas: endosperma, gérmen e pericarpo (casca) (PAES, 2006). Como ocorre com os demais cereais, os nutrientes não estão distribuídos de forma homogênea entre as diferentes estruturas morfológicas do grão, as quais apresentam características nutricionais e tecnológicas específicas (OLIVEIRA *et al.* 2004). O endosperma é rico em carboidratos e proteínas de reserva. No gérmen também estão presentes proteínas e açúcares, e é onde concentra a quase totalidade dos lipídios e minerais, os quais também são encontrados na camada de aleurona, que é a última camada do endosperma. No caso do milho, é nesta porção que se concentra o fitato, restando pouca ou nenhuma quantidade no pericarpo (O'DELL *et al.*, 1972; MARTÍNEZ DOMÍNGUEZ *et al.*, 2002; MJOUN *et al.*, 2008). Já no pericarpo está a maior parte da fibra alimentar, composta de hemicelulose (67%), celulose (23%) e lignina (0,1%) (CALLEGARO *et al.*, 2005; PAES, 2006), sendo esta a porção principal do grão que gera o resíduo fibroso em estudo.

Sendo o milho um dos alimentos básicos da população brasileira, o estudo do seu valor nutricional é de fundamental importância, principalmente em grupos em que a anemia ferropriva se configura como problema de saúde pública, já que FA e fitatos podem reduzir a biodisponibilidade de minerais, como o Fe. E considerando a geração de resíduo fibroso de milho nas indústrias moageiras, seu acúmulo e a preocupação com a responsabilidade ambiental e social destas indústrias e a baixa ingestão de FAs por grande parte da população, objetivou-se avaliar a viabilidade do uso deste resíduo como fonte de fibra na alimentação. Para tanto, foi determinada sua composição química e avaliada sua possível influência na biodisponibilidade de ferro em ratos.

4.2 Material e métodos

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Nutrição Experimental e de Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição e Saúde, e no Laboratório de Espectrofotometria de Absorção Atômica do Departamento de Solos, da Universidade Federal de Viçosa. A determinação de fitatos foi feita no Centro de Biologia Molecular no Federal Research Centre for Nutrition and Food, Alemanha.

4.2.1 Resíduo micropulverizado da moagem a seco de milho

As amostras da fração correspondente ao resíduo de pericarpo de milho foram coletadas na Unidade de Processamento de Milho da Cooperativa Integrada - Andirá/ PR durante processamento a seco de milho e fornecidas pela EMBRAPA – Milho e Sorgo, localizada em Sete Lagoas, MG. Randomicamente, foram coletadas nove amostras de aproximadamente 1,5 kg de resíduo, sendo cada três amostras representantes de um lote diferente de grãos, correspondentes à porção inicial, média e final do processamento de cada lote.

4.2.2 Determinação da composição centesimal

Nas amostras do resíduo de milho foram realizadas análises de composição química em triplicata, com exceção do teor de FAs, que foi realizado em duplicata.

4.2.2.1 Umidade

A umidade foi determinada por secagem a 105°C em estufa de circulação forçada de ar (Marconi, MA 035), até peso constante, conforme o procedimento descrito no Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (Pregolato e Pregolato, 1985).

4.2.2.2 Proteínas

A determinação de proteínas foi realizada segundo o método micro Kjeldahl, para a quantificação de nitrogênio total, descrito pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1997), utilizando fator de conversão igual a 6,25.

4.2.2.3 Lipídios

A determinação de lipídios foi realizada por extração em aparelho Soxhlet, utilizando éter etílico como extrator, por 8 horas, sob refluxo, de acordo com o Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (Pregolato e Pregolato, 1985).

4.2.2.4 Cinzas

As cinzas foram determinadas por meio da calcinação das amostras em mufla a 550°C até peso constante (Pregolato e Pregolato, 1985).

4.2.2.5 Fibra alimentar

A determinação dos teores de fibra alimentar total (FAT) e fibra alimentar insolúvel (FAI) das amostras de resíduo de milho foi feita de acordo com o método enzimático gravimétrico (PROSKY *et al.*, 1988; AOAC, 1997), utilizando-se para a hidrólise enzimática α -amilase termoresistente, protease e amiloglicosidase (Total dietary fiber assay kit, SIGMA). Para a filtração utilizaram-se cadinhos de vidro com placa de vidro sinterizado com porosidade N°. 2 (ASTM 40-60) e celite como auxiliar de filtração. A fibra solúvel (FAS) foi obtida por diferença entre FAT e FAI.

4.2.2.6 Carboidratos

O teor de carboidratos foi obtido pela diferença entre o total da amostra (100%) e os teores de proteínas, lipídios, fibras alimentares, umidade e cinzas.

4.2.2.7 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 4, 9 e 4 kcal.g⁻¹ de produto, respectivamente.

4.2.2.8 Minerais

a) Digestão da matéria orgânica e preparo das soluções minerais

Pesou-se em tubo para digestão, aproximadamente 1 g de amostra (resíduo de milho) com precisão de 0,1 mg, em triplicata, realizando-se a digestão ácida da matéria orgânica pela adição de 10 mL de ácido nítrico PA e aquecimento em fervura branda ($\pm 130^{\circ}\text{C}$) em bloco digestor por 16 horas. Manteve-se esta condição, adicionando mais ácido nítrico quando necessário, aguardando até a formação de uma solução límpida. Depois da digestão, as soluções foram avolumadas a 50 mL em balão volumétrico, utilizando-se água deionizada, estando prontas para a determinação mineral (GOMES *et al.*, 2003).

Toda a vidraria utilizada foi desmineralizada. Para isso foi lavada em água corrente, deixada em solução ácida preparada com HNO_3 a 10% durante a noite, depois enxaguada quatro vezes em água destilada e quatro vezes em água deionizada (FERREIRA e GOMES, 1995).

b) Determinação dos teores de minerais

Após a digestão, foram adicionados 5 mL (10%) de solução de cloreto de estrôncio hexahidratado ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) às soluções minerais das amostras para a determinação de cálcio, a fim de evitar a subestimação dos resultados que ocorre quando esses íons se encontram complexados com silicatos e fosfatos (GOMES, 1996). A concentração de ferro, zinco, cálcio, manganês, fósforo e cobre no resíduo de milho foi determinada analiticamente nas soluções minerais preparadas, por espectrofotometria de absorção atômica (espectrofotômetro GBC 908 AA - GBC/Germany, Analítica, São Paulo, Brasil). Sódio e potássio foram determinados por espectrofotometria de chama.

4.2.2.9 Fitatos

A análise foi conduzida no Centro de Biologia Molecular no Federal Research Centre for Nutrition and Food, Alemanha, pelo Dr Ralf Greiner. As amostras de resíduo de milho foram liofilizadas em *freeze-dryer* antes da extração dos diferentes inositol fosfato. A quantificação de fitatos foi realizada segundo a metodologia descrita pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1990) e o método cromatográfico (Par iônico, Ultrasep ES 100 RP18, 2x250 mm) proposto por Sandberg e Ahderinne (1986).

Foi pesado cerca de 1 g de amostra desidratada e a extração foi feita com 20 mL de HCl 2,4% por 3 h à temperatura ambiente, após centrifugação a 30.000 g por 30 minutos, 1 mL do sobrenadante foi diluído com 25 mL de água e colocado na coluna (0,7 x 15 cm) contendo AG1-X8, resina 100-200 mesh. A coluna foi lavada com 25 mL de água e 25 mL de HCl 25 mM. Os inositol fosfatos foram eluídos com 20 mL de HCl 2M. Os eluídos obtidos foram concentrados em evaporador rotatório até secagem completa e o resíduo foi dissolvido em 1 mL de água. O total de 20 µL foi injetado no Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE), com uma velocidade de fluxo de 0,2 mL/min, a 45°C, utilizando como fase móvel ácido fórmico:metanol:água:hidróxido de tetrabutyl amônia (44:56:5:1,5 v/v), pH 4,25. Uma mistura de ésteres de inositol fosfato foi utilizada como padrão.

4.2.3 Ensaio biológico

O estudo foi conduzido com 48 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe *Rodentia*), da linhagem Wistar, recém desmamados, pesando entre 50 e 60 g. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em ambiente de temperatura (22±2°C) e luz controladas, em ciclo claro-escuro de 12 h. O ensaio foi realizado em duas fases: depleção e repleção de hemoglobina, segundo metodologia da AOAC (1984). Na primeira fase, os animais receberam dieta com mistura mineral sem ferro para induzir anemia ferropriva, baseada na dieta AIN-93G (REEVES *et al.*, 1993). Água deionizada foi oferecida *ad libitum*. O peso dos animais foi monitorado semanalmente, e sua ingestão alimentar controlada, de forma a se obter uma homogeneidade em relação a este parâmetro. Após o período de 21 dias de depleção foram quantificados a hemoglobina e o hematócrito, sendo os animais anêmicos divididos em 6 grupos de 8 animais cada, de acordo com a concentração de hemoglobina, de maneira que as médias entre os grupos fossem as mais próximas possíveis, iniciando-se a fase de repleção. Nesta fase, os animais foram mantidos em suas respectivas dietas experimentais por 14 dias, com ingestão diária controlada de aproximadamente 15 g, tempo durante o qual receberam água deionizada *ad libitum*. Os pesos dos animais foram monitorados semanalmente, bem como a ingestão alimentar, calculando-se assim o ganho de peso e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA = ganho de peso (g) / consumo alimentar (g) x 100).

Calculou-se o valor relativo de biodisponibilidade (VRB) estabelecendo-se a relação entre o coeficiente angular da reta obtida para o resíduo de milho e o coeficiente da reta referente à dieta padrão, contendo celulose como fonte de FA, oriundas da análise de regressão linear. Considerou-se, para isso, as observações isoladas para os grupos Controle (celulose) e Teste (milho). Como descrito, o padrão de referência (sulfato ferroso em presença de celulose) foi considerado igual a 100%, e o valor relativo de biodisponibilidade do sulfato ferroso em presença de resíduo fibroso de milho foi calculado.

Ao final deste período, foram realizadas novas dosagens de hemoglobina e hematócrito, calculando-se o ganho de hemoglobina pela diferença entre os valores obtidos nas fases de repleção e depleção. Ganho de peso e CEA também foram calculados.

4.2.3.1 Composição e preparo das dietas experimentais

As composições das dietas Controle e Teste se encontram na Tabela 1.

A dieta de depleção foi baseada na dieta AIN-93G (REEVES *et al.*, 1993), com mistura mineral sem ferro.

Para a fase de repleção, as dietas Controle foram também baseadas na AIN-93G (REEVES *et al.*, 1993). Prepararam-se três dietas de forma a oferecerem 6, 12 ou 24 mg Fe.kg⁻¹ de dieta, proveniente de sulfato ferroso (FeSO₄ . 7H₂O) que continha 0,2014 mg Fe.mg⁻¹. No preparo das dietas experimentais (Teste) para esta fase também foi utilizada mistura mineral sem ferro, sendo a fonte de FA (celulose microfina) substituída pelo resíduo fibroso de milho, considerando que seu percentual em fibra alimentar total (FAT) era 73,4% (Tabela 2), de maneira a fornecer os mesmos 5% de FA da dieta Controle. Em seguida, conhecendo a quantidade do resíduo a ser incluído nas dietas (68,0 g.kg⁻¹), e considerando que a concentração de ferro no mesmo era 27,38 mg.kg⁻¹, calculou-se a quantidade de FeSO₄ . 7H₂O a ser adicionado para que as dietas ofertassem 6, 12 ou 24 mg Fe.kg⁻¹. Albumina foi utilizada como fonte protéica, em substituição à caseína nas dietas de depleção e de repleção, devido ao seu teor mais baixo de ferro. A quantidade de amido adicionada foi ajustada para compensar a adição do resíduo de milho, de modo que as dietas fossem isocalóricas.

Os ingredientes foram pesados individualmente em balança semi-analítica (marca GEHAKA com precisão de 0,01 g) e balança analítica, (marca

SHIMADZU, São Paulo, com precisão de 0,1 mg). Inicialmente foram misturados manualmente em vasilhames plásticos previamente lavados e enxaguados com água deionizada, e a seguir em bateadeira semi-industrial (LIEME), por aproximadamente 15 minutos. As dietas prontas foram acondicionadas em sacos de polietileno devidamente identificados, datados e armazenadas a 10°C.

Tabela 1: Composição das dietas experimentais (g.kg⁻¹).

Ingredientes	Fase de Depleção	Fase de Repleção					
		Dieta Controle (Celulose)			Dietas Teste (Resíduo de Milho)		
		Níveis de ferro (mg.kg ⁻¹)					
		AIN93-G Modificada (*)	6	12	24	6	12
Albumina ¹	200	200	200	200	200	200	200
Amido Dextrinizado ²	132	132	132	132	132	132	132
Sacarose ³	100	100	100	100	100	100	100
Óleo de Soja ⁴	70	70	70	70	70	70	70
Celulose microfina (Fibra) ⁵	50	50	50	50	-	-	-
Resíduo de Milho ⁶	-	-	-	-	68	68	68
Mistura de Minerais sem Ferro ⁷	35	35	35	35	35	35	35
Mistura de Vitaminas ⁵	10	10	10	10	10	10	10
L-Cistina ⁵	3	3	3	3	3	3	3
Bitartarato de Colina ⁵	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Amido de milho (qsp) ⁸	397,5	397,5	397,5	397,5	379,4	379,4	379,4
FeSO ₄ .7H ₂ O (mg) ⁹	-	29,8	59,6	119,1	20,5	50,3	109,9

(*) Adaptado de REEVES *et al.*, 1993; isenta de ferro, com albumina em substituição à caseína

q.s.p.: quantidade suficiente para completar 1 kg

Marca/Fornecedor:

^{1,2} - Maximum / ARVE – Viçosa/MG - Brasil. ³ - Açúcar União / Comércio de Viçosa. ⁴ – SOYA / Comércio de Viçosa. ⁵ Rhoster- Indústria e Comércio Ltda. ⁶ – Unidade de Processamento de Milho da Cooperativa Integrada – Andará/PR. ⁷ – Elaborada no Laboratório de Nutrição Experimental - UFV/MG-Brasil, baseada no Mix Mineral AIN-93G. ⁸ - Pink Alimentos-Belo Horizonte / Comércio de Viçosa. ⁹ – Veteck / Veteck – RJ.

4.2.3.2 Análises bioquímicas

A hemoglobina sérica dos ratos foi determinada segundo o método do cianeto de metahemoglobina (HiCN), proposto pela AOAC (1984), utilizando o kit para diagnóstico colorimétrico *in vitro* LABTEST (Lagoa Santa - MG). Nesse método, após incisão na porção terminal da cauda de cada animal e gotejamento em vidro de relógio, 20 µL de sangue foram misturados a 5 mL de uma solução de cianeto e ferricianeto de potássio (solução de Drabkin), sendo o íon ferroso (Fe²⁺) da hemoglobina oxidado para o estado férrico (Fe³⁺) pelo ferricianeto de potássio, formando a metahemoglobina, a qual é convertida em cianometahemoglobina após a reação com o cianeto de potássio, sendo sua absorvância medida a 540 nm em espectrofotômetro UV-Visível (SHIMADZU UV-1601, Brasil). A cor resultante nesta reação é de intensidade proporcional ao teor da hemoglobina no sangue (NELSON e MORRIS, 1995). Com base na média de três leituras de absorvância do padrão fornecido (0,5979 ± 0,0466 para depleção e 0,3158 ± 0,0323 para repleção), calculou-se a concentração de hemoglobina (g/dL) em cada amostra de sangue a partir da concentração conhecida do padrão (10,0 g/dL).

Para a determinação de hematócrito, o sangue foi coletado diretamente da extremidade caudal por capilaridade. O hematócrito foi quantificado segundo o micrométodo (NELSON e MORRIS, 1995) e conforme as instruções do fabricante do aparelho utilizado (Centrífuga de bancada – Microhematócrito, SIGMA 1-15).

4.2.4 Delineamento experimental

Na fase de repleção, utilizou-se um modelo fatorial 2 x 3 (2 fontes de FA *versus* 3 níveis de ferro), em esquema de delineamento inteiramente casualizado, com 8 repetições, nos quais os animais foram alocados segundo a concentração de hemoglobina, de forma que as médias entre os grupos fossem as mais próximas possíveis.

Os dados foram analisados por meio da análise de variância e de regressão. Para o fator qualitativo as médias foram comparadas utilizando-se o

teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Para o fator quantitativo os modelos foram analisados baseando-se na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste “f”, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, para o coeficiente de determinação e para o fenômeno em estudo.

Utilizou-se, para as análises estatísticas, o programa SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (Viçosa, 2007), versão 9.1, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa; e o software Excel 2003 para confecção dos bancos de dados, cálculos e análise de regressão.

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Resíduo micropulverizado de pericarpo de milho

Na Tabela 2 encontram-se os dados referentes à análise da composição nutricional do resíduo de milho.

As FA (73,4%) são o componente principal no produto analisado. Elas conferem aos alimentos versáteis características funcionais (ANGIOLONI e COLLAR, 2009), sendo relatados vários benefícios à saúde, resultantes de sua ingestão regular (DAVY e MELBY, 2003; VENN e MANN, 2004, DELZENNE e CANI, 2005; SAHYOUN *et al.*, 2006; AHMED *et al.*, 2006; GALISTEO *et al.*, 2008).

Diversos produtos e alimentos não-convencionais constituem fontes potenciais de nutrientes com aplicação na alimentação humana. No entanto, as informações relativas a esses produtos são escassas na maioria das tabelas de composição de alimentos. Na América Latina, os teores de fibra alimentar, principalmente de fontes não convencionais e resíduos industriais, são pouco conhecidos (GIUNTINI *et al.*, 2003).

O milho é considerado um alimento energético para as dietas humana e animal, e devido ao conteúdo lignocelulósico do grão de milho verde e nos derivados integrais do grão seco, esses produtos do milho são considerados importantes fontes de FAs, especialmente do tipo insolúvel (hemicelulose, celulose e lignina) (OLIVEIRA *et al.*, 2004; PAES, 2006).

Tabela 2: Composição nutricional e valor calórico do resíduo de milho.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA	MÉDIA (por 100 g em b.u.)
Umidade (g)	1,59
Lipídios (g)	5,49
Proteínas (g)	5,50
Carboidratos (g)	12,54
Fibras Alimentares Totais (FAT) (g)	73,40
- Fibras Alimentares Solúveis (FAS) (g)	0,67
- Fibras Alimentares Insolúveis (FAI) (g)	72,73
Cinzas (g)	1,46
Cálcio (mg)	31,27
Fósforo (mg)	170
Cobre (mg)	ND
Ferro (mg)	2,73
Manganês (mg)	1,67
Potássio (mg)	5180
Sódio (mg)	1185
Zinco (mg)	2,49
Valor calórico (kcal)	121,65

Média de triplicatas, exceto para fibras, que foram analisadas em duplicata (ND) Não detectado

De acordo com Giuntini (2003), um alimento com teor de 2 a 3% de FA pode ser considerado uma boa fonte deste nutriente. Já com o dobro deste conteúdo (4 - 6%) é considerado um alimento com elevado teor, sendo que o produto aqui analisado apresentou conteúdo 12 vezes maior que este. Proteínas e lipídios contribuem com cerca de 5% do total do resíduo de milho.

Paes (2006) relata uma fração pericarpo de milho, em base seca, contendo 0,6% de amido, 1,3% de lipídios, 2,6% de proteínas, 2,9% de minerais, 1,2% de açúcares e 54% de FAs. Os maiores teores de carboidratos e lipídios encontrados no presente produto podem indicar contaminação com outras frações do grão (gérmen, ponta e endosperma) no momento da separação da fração pericarpo, em virtude de possíveis diferenças tanto no processo quanto nos equipamentos utilizados na indústria que o forneceu. Ferrarini (2004) encontrou a seguinte composição média do pericarpo de milho amarelo: amido 7,3%, proteína 3,7%, lipídios 1%, açúcares 0,3% e cinzas 0,8%. Entretanto, em 100 g de farelo de milho, nossos resultados estão bem próximos aos divulgados na tabela de composição de alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos - USDA (USA, 2009) para

FAT (79 g) e ferro (2,79 mg). Seu valor de proteína (8,36 g) é maior, mas bem menor para lipídios totais (0,92 g), indicando mais uma vez a possibilidade da presença de outras partes do grão além do pericarpo no produto em análise. Registra-se ainda, 42 mg de Ca e 1,56 mg de Zn.

O conteúdo de FAs do farelo de milho (73,4 g) é maior que o do farelo de aveia (15,4 g), de arroz (21 g) e de trigo (42,8 g), mas considerando-se a forma convencional de consumo, o arroz apresenta apenas 0,4 g no grão cozido, o milho e trigo 7,3 g e 12,2 g respectivamente na farinha integral, e a aveia, 10,6 g no grão e 6,5 g na farinha parcialmente refinada. No entanto, o farelo de milho apresenta menor teor de proteínas (5,5 g), que nestes outros cereais fica entre 13,3 e 17,3 g. O teor de lipídios (5,5 g) assemelha-se ao do trigo (4,2 g), ficando abaixo tanto da aveia (7,0 g) quanto do arroz (20,8 g) (USA, 2009). Desta forma, salvo apenas pelo menor conteúdo em proteínas, que já não seria mesmo um nutriente alvo para este produto, o resíduo de milho pode ser considerado de melhor composição nutricional dentre os farelos de cereais por ser o mais rico em FAs, fornecendo menores quantidades de lipídios e conseqüentemente, menor valor calórico.

Em termos dietéticos, uma porção de duas colheres de sopa cheias (26 g) do resíduo de milho contribuiria com aproximadamente 20 g de FAT, sendo 19,0 g de FAI. Nessa quantidade, forneceria apenas 1,4 g de lipídios (13,0 kcal), 1,4 g de proteínas (6,0 kcal) e 3,2 g de carboidratos (13,0 kcal), totalizando 32 kcal. Contribuiria, ainda, com 0,7 mg de ferro, correspondendo a quase 9% de sua recomendação para homens adultos ou 4% para mulheres na mesma faixa etária (IOM, 2002).

De fato, pela alta proporção de fibras alimentares encontrada no produto analisado, este nutriente merece atenção. Segundo Álvarez e Sánchez (2006), a recomendação diária de fibra alimentar total para adultos deve ser de 20 – 35 g ou 10 – 14 g/1000 kcal. Já para indivíduos entre 2 e 18 anos, pode-se somar o valor 5 à sua idade, considerando o resultado como recomendação para aquela idade. Os autores sugerem, ainda, manter uma relação de 3 g de FAI para cada 1 g de FAS.

De acordo com o Instituto de Medicina dos Estados Unidos da América (IOM, 2001), devem-se considerar valores de Ingestão Adequada (AI) de FAT, que são categorizados em função da idade - a partir de 1 ano até 70 anos ou mais; ou estado fisiológico (gravidez e lactação), variando de 19 a 38 g/dia.

Segundo esta publicação, não se estabeleceu um nível máximo de ingestão (UL) de FAT, uma vez que estas podem apresentar variáveis composições, sendo por isso difícil correlacionar um tipo específico de FA a determinado efeito adverso. Com isso, conclui que como parte de uma dieta saudável, um excessivo consumo de FA não causará efeitos deletérios em indivíduos saudáveis, salvo naqueles que apresentarem patologias de desordens gastrointestinais. Entretanto, Álvarez e Sánchez (2006) não acreditam que ingestões de FA superiores a 50 g/dia possam contribuir com benefícios adicionais, mas sim que poderiam provocar problemas de tolerância. Porém, este fato não tem sido observado em populações, sendo que o que se tem verificado são problemas relacionados à baixa ingestão deste nutriente.

Dificultando inferências relacionadas ao consumo de FA, são escassas as publicações científicas que informam a quantidade consumida por populações, apesar dos comprovados efeitos benéficos deste nutriente. Estudos relacionados à questão, em diversos países como África, Índia, Austrália, América do Norte e Japão, apontam que as quantidades ingeridas são divergentes nos níveis nacional e internacional (MATTOS e MARTINS, 2000). O Instituto de Medicina dos EUA divulgou, com base no banco de dados do *Continuing Survey of Food Intakes by Individuals* (CSFII) (1994-1996, 1998), que a ingestão média de FAT pelos homens daquele país ficava entre 16,5 e 17,9 g/dia, e entre 12,1 e 13,8 g/dia pelas mulheres (IOM, 2001). Na Espanha, o consumo diário foi de aproximadamente 20 g/dia (ÁLVAREZ e SÁNCHEZ, 2006).

No Chile, tem-se demonstrado que a ingestão média de FAs por parte da população idosa não passa de 12 g/dia, sendo que para esta faixa etária, bem como para crianças, é necessário considerar ainda suas necessidades nutricionais individuais, nível de atividade física e possíveis patologias associadas para se estabelecer recomendações de ingestão (WITTIG DE PENNA *et al.*, 2003). Já Mattos e Martins (2000) detectaram, por meio de inquérito dietético no estado de São Paulo, que mulheres e homens adultos (n=559) consumiam respectivamente, uma média diária de 20 e 29 g ($p < 0,01$) de FAs, já que a maioria dos alimentos que compunham suas dietas era de baixo teor deste nutriente.

Outro trabalho, desta vez considerando 275 adolescentes entre 13 e 18 anos em uma província da Costa Rica, comparou o consumo de FAs entre as

áreas rural e urbana usando o método de recordatório de 3 dias. O consumo médio (29 g) dos adolescentes da área rural foi maior ($p < 0,0001$) que daqueles da área urbana (18,5 g), sendo, no total da amostra, maior o consumo por parte dos meninos ($p < 0,05$). Tal diferença, no entanto, não foi observada ao se ajustar a ingestão de FA para cada 1000 kcal da dieta. Neste estudo, evidenciou-se a baixa ingestão de FAs na população adolescente, indicando a necessidade de estímulo ao maior consumo de alimentos como frutas, hortaliças, legumes e cereais integrais ou da introdução de alimentos alternativos que sejam fonte de FA (MONGE-ROJAS e NUNEZ RIVAS, 2001).

Estudos com diferentes populações no Brasil (GARCIA *et al.*, 2003; AZEVEDO e SAMPAIO, 2003; CASTRO *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2005; TORAL *et al.*, 2006), incluindo crianças, adolescentes e gestantes comprovam o baixo consumo de alimentos fontes de FA, resultado de questões ligadas ao hábito alimentar, tabus relativos ao grupo em que se inserem, como no caso dos adolescentes ou à insuficiência financeira. Entretanto, Nunes *et al.* (2007) evidenciaram baixo consumo de frutas em todas as seis classes econômicas estudadas, demonstrando que esta situação é democrática no Brasil, independente da disponibilidade financeira para aquisição deste tipo de alimento. Neste contexto, a sugestão de um produto alternativo, que seja prático de ser incorporado aos alimentos ou refeições e de baixo custo, seria bem-vinda na tentativa de aumentar a ingestão de FA nestas populações.

Em virtude de os relatos na literatura acerca dos efeitos negativos na biodisponibilidade de minerais em alimentos fontes de FA serem devidos ao seu conteúdo de fitato, e não à fibra propriamente dita (LESTIENNE *et al.*, 2005; MOURA e CANNIATTI-BRAZACA, 2006), foi também determinada a concentração de inositol-fosfato (IP), em suas diferentes formas dependentes do número de grupos fosfatos ligados à molécula (tri a hexafosfato de inositol), conforme Tabela 3.

Tabela 3: Teores de hexafosfato de inositol (IP6), pentafosfato de inositol (IP5), tetrafosfato de inositol (IP4) e trifosfato de inositol (IP3) ($\mu\text{mol.g}^{-1}$) em base seca, para o resíduo fibroso de milho

Produto	IP6	IP5	IP4	IP3	IP6 + IP5
Resíduo de milho	1,67 $\mu\text{mol.g}^{-1}$	0,30 $\mu\text{mol.g}^{-1}$	0,20 $\mu\text{mol.g}^{-1}$	0,17 $\mu\text{mol.g}^{-1}$	1,97 $\mu\text{mol.g}^{-1}$

Média de três determinações.

Segundo Sandberg *et al.* (1986) e Silva *et al.* (1999), somente IP5 e IP6 têm efeito negativo na biodisponibilidade de minerais. Os demais compostos formados têm baixa capacidade de ligar-se a minerais ou os complexos formados são mais solúveis (LONNERDAL, 2000). Por isso, considera-se o somatório destas duas formas. O resíduo de milho apresentou menores teores de IP6 + IP5 ($1,97 \mu\text{mol.g}^{-1}$) quando comparado a leguminosas como o feijão ($20,96$ a $26,73 \mu\text{mol.g}^{-1}$) (RAMÍREZ-CÁRDENAS *et al.*, 2008) e ao somatório de IP na soja ($20,15 \mu\text{mol.g}^{-1}$) (MARTINO *et al.*, 2007). Em relação a cereais como flocos de aveia ($13,2 \mu\text{mol.g}^{-1}$), milho ou painço ($7,91 \mu\text{mol.g}^{-1}$) e farinha de trigo ($6,36 \mu\text{mol.g}^{-1}$) os valores também foram inferiores (MA *et al.*, 2005). Comprova-se, pois, que o resíduo de milho analisado tem baixo teor de fitato.

No grão de milho como um todo, Lorenz *et al.* (2007) encontraram que variedades consideradas como sendo de baixo conteúdo em fitato apresentam média de $4,01 \mu\text{mol.g}^{-1}$, e as consideradas como de alto conteúdo, $5,75 \mu\text{mol.g}^{-1}$. Ma *et al.* (2005) encontraram um teor de $4,55 \mu\text{mol.g}^{-1}$ de fitato em milho fresco, que está dentro deste intervalo. Nossos achados, por se referirem à análise da fração pericarpo, confirmam que a maior parte do fitato se encontra em outras partes do grão de milho, preponderantemente no gérmen, como relatado por O'Dell *et al.*, desde 1972, Domínguez *et al.* (2002) e Mjoun *et al.*, (2008).

Desta forma, por já serem bem documentados na literatura os benefícios que a ingestão regular de fibras alimentares promove à saúde (ANGIOLONI e COLLAR, 2009; MANN e CUMMINGS, 2009), e com base em estudos que comprovam sua baixa ingestão por populações de diferentes regiões em diversas faixas etárias e sexo, ratifica-se a necessidade de se encontrarem fontes alimentares alternativas de fibra alimentar com custo-efetividade acessíveis, preferencialmente com a peculiar característica de serem baixas

em IP6 +IP5, tal como o resíduo fibroso de milho proposto neste trabalho. Para tanto, questões relacionadas à biodisponibilidade de nutrientes não devem ser perdidas de vista, lembrando também a necessidade de se conduzirem estudos voltados para análise das condições higiênico-sanitárias de produtos aptos a fazer parte de nossos pratos diariamente.

4.3.2 Biodisponibilidade de Ferro

Na Tabela 4 observam-se os valores resultantes da análise de variância, onde se buscou avaliar as possíveis interações entre as duas fontes de FA (celulose ou milho) e os três níveis de ferro ingeridos nas dietas (6, 12 ou 24 mg Fe.kg⁻¹). Em anexo, encontram-se os valores de média das variáveis analisadas em cada grupo (Controle e Teste) para três diferentes níveis de ferro.

Tabela 4: Resumo da Análise de Variância de ganho de peso na depleção (GPD), ganho de peso na repleção (GPR), ganho de peso total (GPT), ingestão alimentar (IA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) em função das fontes de FA: celulose ou milho (FF) e níveis de ferro: 6, 12 ou 24 mg.kg⁻¹ de dieta (N)

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS				
		GPD	GPR	GPT	IA	CEA
FONTE	1	81,86 ^{NS}	145,54 ^{NS}	445,72 ^{NS}	792,56 ^{NS}	0,00 ^{NS}
NÍVEL	2	58,96 ^{NS}	409,65 *	233,15 ^{NS}	646,70 ^{NS}	0,00 ^{NS}
FF x N	2	266,88 ^{NS}	66,29 ^{NS}	336,96 ^{NS}	2545,05 ^{NS}	0,00 ^{NS}
RESÍDUO	41	158,79	109,32	183,37	950,04	0,00
CV %		13,15	22,93	9,57	6,95	11,91

* - F significativo ao nível de 5%;
NS - F não significativo ao nível de 5%

Ganho de peso na depleção, ganho de peso total, ingestão alimentar e consequentemente, coeficiente de eficiência alimentar não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) quanto à fonte de FA, tampouco quanto aos níveis de ferro ingeridos. Para estas variáveis a interação entre estes dois fatores também não resultou em diferença ($p > 0,05$).

Houve diferença ($p \leq 0,05$) apenas no ganho de peso no período da repleção em relação aos níveis de ferro. A equação $GP \square R = 38,518 + 0,504 Fe$ ($r^2 = 0,1229$), obtida a partir da análise de regressão linear dos dados, descreve o comportamento desta variável, de forma que a cada unidade em que varia o

nível de Fe, ocorre um aumento de 0,504 g no GPR, sendo maior quanto maior a ingestão do mineral.

Tal comportamento pode ser explicado pelo fato de a deficiência de ferro exercer grande influência no ganho de peso de animais em fase de crescimento. Em acordo com nossas observações, Hamdaoui *et al.* (2003) evidenciaram, utilizando dietas com leguminosa, carne, chá preto e chá verde, que os ratos que consumiram ferro com biodisponibilidade mais alta ganharam mais peso quando confrontados com os do grupo controle de sulfato ferroso. Strube *et al.* (2002) registraram resultados de menor ganho de peso ($p < 0,01$) em ratos Sprague-Dawley alimentados com dieta restrita em ferro. Comportamento semelhante foi detectado por Hernández *et al.* (2003), também em ratos Sprague-Dawley, quando alimentados com farinha de trigo reduzida em teor de ferro. Em humanos, observa-se, por exemplo, perda de peso importante após cirurgias de gastrectomia, devido tanto à menor ingestão calórica quanto à consequente má-absorção de micronutrientes, em especial do ferro (PAPINI-BERTO e BURINI, 2001).

Percebe-se também que, abaixo do valor de recomendação, o ganho de peso não apresenta linearidade com o nível de ferro ingerido, ou seja, em situação de inadequação, uma maior ingestão, no caso de 12 mg.kg^{-1} , não garante um ganho maior que o do nível inferior. Este fato pode ser explicado provavelmente pela adaptação fisiológica às baixas ingestões, situação na qual a absorção de ferro nos enterócitos é aumentada, visando elevar o aproveitamento biológico desta menor quantidade ofertada ao organismo (HURRELL, 1997; BOCCIO e IYENGAR, 2003).

A condição anêmica dos ratos ao final da fase de depleção foi confirmada pelos baixos níveis de hemoglobina em todos os 6 grupos, apresentando média de 5,94 g/dL.

Na Tabela 5 observa-se que os valores de hemoglobina final, hematócrito final e ganho de hemoglobina diferiram apenas em relação aos níveis de ferro ingerido ($p \leq 0,01$). Em relação à fonte ou interação FF x N não houve diferença ($p > 0,05$), significando que as variáveis dentro de um mesmo nível de ferro são independentes. Strube *et al.* (2002) confirmaram a progressão da deficiência de ferro em 2 semanas de experimento pela redução da concentração de hemoglobina sanguínea e queda do valor de hematócrito nos animais estudados.

Tabela 5: Resumo da Análise de Variância de hemoglobina final (HBF), hematócrito final (HTF) e ganho de hemoglobina (GHB) em função das fontes de FA: celulose ou milho (FF) e níveis de ferro: 6, 12 ou 24 mg.kg⁻¹ de dieta (N)

FV	GL	QUADRADOS		GL	QUADRADOS
		MÉDIOS			MÉDIOS
		HBF	HTF		GHB
FONTE	1	0,0075 ^{NS}	12,2300 ^{NS}	1	0,1428 ^{NS}
NÍVEL	2	20,8500 ^{**}	373,8000 ^{**}	2	25,8100 ^{**}
FF x N	2	0,2886 ^{NS}	14,7900 ^{NS}	2	0,9853 ^{NS}
RESÍDUO	35	1,1400	24,6600	41	0,9233
CV %		14,12	11,88		66,01

** - F significativo ao nível de 1%

NS - F não significativo ao nível de 5%

Por se tratar de uma variável independente quantitativa, procedeu-se à análise de regressão linear, de forma que as seguintes equações descrevem o comportamento destas variáveis: $HB \square F = 5,7861 + 0,1228 Fe$ ($r^2 = 0,4318$); $HT \square F = 32,69 + 0,5926 Fe$ ($r^2 = 0,4693$); e $GH \square B = - 0,3224 + 0,1296 Fe$ ($r^2 = 0,5511$).

HBF, HTF e GHB diferiram apenas quanto ao nível de Fe na dieta e não houve diferença significativa quanto à fonte (celulose ou resíduo de milho). O baixo teor de fitato neste último (Tabela 3) pode ter contribuído para a alta biodisponibilidade de Fe no produto em teste, já que é consolidada na literatura a interferência do fitato na biodisponibilidade deste mineral (GUSTAFSSON e SANDBERG, 1995; SANDBERG, 2002; LESTIENNE *et al.*, 2005; MOURA e CANNIATTI-BRAZACA, 2006). Welch (2002) sugere ainda que a população de microorganismos presentes no intestino e a composição da dieta exerceriam papel importante nos efeitos de fitatos na biodisponibilidade de ferro e zinco, necessitando de pesquisas que esclareçam esta possibilidade. Outro ponto a ser destacado é o fato de os ratos apresentarem fitase em seu intestino e os seres humanos possuírem capacidade limitada para hidrolisar a molécula de fitato, o que pode concorrer para efeitos nutricionais adversos (CHURELLA e VIVIAN, 1989).

No entanto, esta avaliação deve ser feita em termos da relação fitato: Fe, que segundo Hallberg *et al.* (1989), prejudica a biodisponibilidade deste mineral quando maior que 1. Já SAHA *et al.* (1994), em dietas contendo farinha de trigo, reportaram que a absorção de ferro em ratos diminuiu

significativamente quando a relação fitato:ferro foi maior que 14. Encontrou-se, no presente estudo, os seguintes valores para razão milimolar fitato: Fe por kg de dieta nos níveis 6, 12 e 24 mg Fe.kg⁻¹, respectivamente: 1,33; 0,63 e 0,31. Para os níveis 12 e 24 mg.kg⁻¹, nota-se, portanto, uma razão fitato: Fe inferior aos valores referenciados, o que pode explicar a equivalência (p>0,05) nos parâmetros sanguíneos em relação à fonte de FA das dietas dentro de um mesmo nível de ferro. No nível 6 mg Fe.kg⁻¹ também não se observou diferença, e sendo a razão maior que 1, isto pode sugerir que realmente deva ser maior este valor sugerido por Halberg (1989), a partir do qual sejam identificados prejuízos na biodisponibilidade de ferro.

Corroborando nossos achados, Fly e Czamecki-Maulden (1996) estudaram a biodisponibilidade de ferro de biscoitos e cereais ricos em FAs em pintos. Os autores encontraram que a FA do milho em quantidades moderadas (2-4%) não afetou a biodisponibilidade de ferro em pintos anêmicos. Em nosso estudo a quantidade de FA foi de 5%. De acordo com Fantini (2008), as FAs não interferem no aproveitamento de minerais como o ferro e os cereais integrais só possuem efeito inibitório por conterem fitato em sua composição.

Diferente do encontrado no presente estudo, Hernández *et al.* (2003) relatam que ratos Sprague-Dawley alimentados com farinha de milho submetida à cocção alcalina apresentaram menor absorção de ferro e nível de hemoglobina que os tratados com farinha de trigo. Para os autores, este fato deve ter ocorrido porque a farinha de milho continha quase quatro vezes mais FA e fitato, sendo ainda que o meio alcalino pode ter contribuído para reduzir a absorção de Fe, pois neste meio predomina a forma férrica, que é menos absorvida que a ferrosa. Segundo Fageer *et al.* (2004) e Lin (2005), o conteúdo de fitato varia de forma considerável dentre os diferentes genótipos de milho. Sendo assim, farinhas originadas de cultivares distintas podem apresentar razões molares também diferentes, influenciando a biodisponibilidade de minerais, podendo ser esta uma das causas das diferenças encontradas no estudo citado. Em relação à influência negativa da FA na biodisponibilidade de minerais (BOSSCHER *et al.*, 2001 e 2003; LESTIENNE *et al.*, 2005), nosso estudo não demonstrou tal interferência, mesmo se tratando de um produto com elevada concentração (73,4%) deste nutriente.

O comportamento das variáveis relacionadas aos parâmetros sanguíneos é dose-dependente, diferente do encontrado para ganho de peso

na repleção. Isto pode sugerir que a adaptação absorptiva foi eficiente no sentido de evitar que o ganho de peso no menor nível de ferro fosse ainda menor que no nível intermediário. Já em relação à recuperação de hemoglobina e hematócrito esta eficiência não foi observada. Sendo assim, valores de HBF, HTF e GHB aumentaram em função dos níveis de ferro na dieta, de forma que as respostas em 24 mg Fe.kg^{-1} foram maiores que para 12 mg Fe.kg^{-1} , e deste para 6 mg Fe.kg^{-1} . Grases *et al.* (2001) também encontraram recuperação de hemoglobina para maiores ingestões de ferro em ratas Wistar, mesmo ingerindo dieta acrescida de fitato ou com gérmen de semente de alfarroba.

A partir das equações de análise de regressão para ganho de hemoglobina (Figura 2), procedeu-se ao cálculo do valor relativo de biodisponibilidade (VRB), visando avaliar a eficiência da dieta de resíduo de milho em promover a recuperação de hemoglobina em relação à dieta controle. Para tanto, a interação foi desdobrada para se obter o valor do coeficiente angular de cada reta. Para o resíduo de milho o VRB foi 104%, ou seja, a eficiência de recuperação dos níveis de hemoglobina com a dieta à base de milho foi equiparável à da dieta padrão com celulose como fonte de FA. Este foi um achado interessante já que, em geral, VRBs maiores que o do grupo controle são encontrados quando se utiliza algum promotor da absorção de ferro, como no caso de um estudo na Tunísia, em que o grupo alimentado com uma leguminosa típica acrescida de carne apresentou VRB = 122% (HAMDAOUI *et al.*, 2003). Parece, pois, poder ser este resíduo uma boa alternativa como fonte de fibra alimentar.

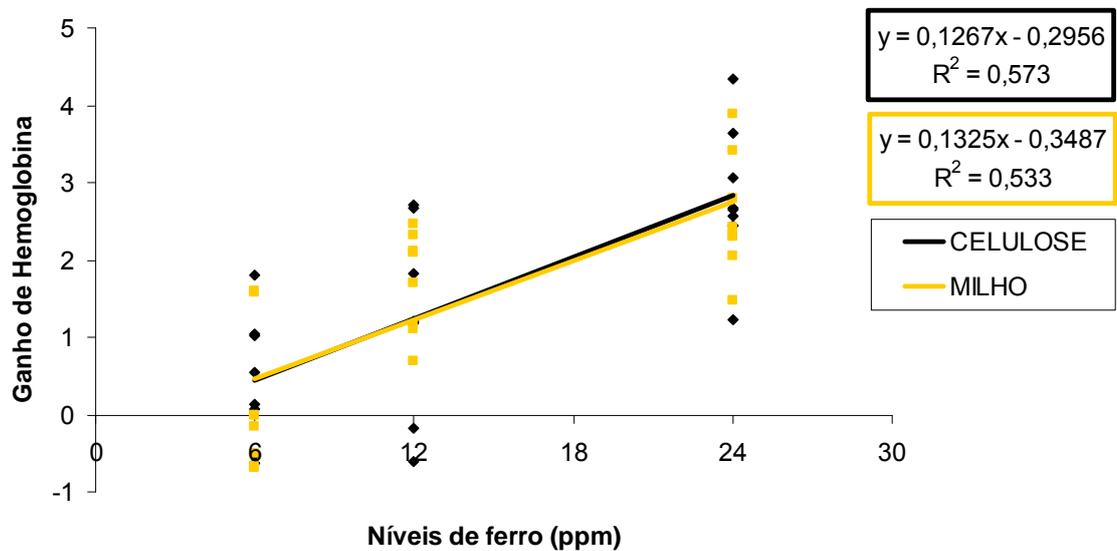


Figura 2: Ganho de hemoglobina (g/dL) em função de níveis de ferro nas dietas Controle (celulose) e Teste (milho)

É fato que, com 73,4% de FAT, o produto em questão é notadamente uma fonte quantitativa de FA. No entanto, a afirmação de que se trata de uma boa fonte qualitativa deste nutriente, ou seja, que proporcione efeitos benéficos à saúde como relatado para outras fontes de FA (GONÇALVES *et al.*, 2007), ou ainda, que não seja causa de interações químicas que prejudiquem a biodisponibilidade de outros nutrientes, em especial os minerais, ainda não é totalmente possível. Em relação à biodisponibilidade de ferro não se observou efeito negativo nos parâmetros analisados, uma vez que a eficiência de recuperação de hemoglobina foi de 104% em relação ao grupo Controle.

Contudo, mesmo havendo um grande anseio por parte dos nutricionistas na esperança de se encontrar uma alternativa alimentar que venha superar esta deficiência na ingestão de fibras alimentares das populações como um todo, estes resultados devem ser vistos com cautela. Isto especialmente porque o produto analisado é grande fonte apenas de FAI, e ambos os tipos de FA são importantes, sendo provavelmente complementares na geração dos benefícios a elas atribuídos, como por exemplo, redução nos riscos de doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 (GALISTEO *et al.*, 2008).

4.4 Conclusão

O resíduo fibroso de milho confirmou ser uma fonte potencial de FAI, contribuindo também com teores de ferro e zinco. De forma positiva, revelou ser um produto normocalórico, com densidade de $1,2 \text{ kcal.g}^{-1}$, mostrando-se também pobre em relação ao fator antinutricional fitato.

Nas condições deste estudo, o produto-teste não prejudicou a biodisponibilidade do ferro, apresentando VRB igual a 104%. Contudo, ainda mais estudos devem ser delineados e conduzidos para avaliar sua influência sobre a biodisponibilidade de macro e micronutrientes. Parâmetros bioquímico-metabólicos precisam também ser analisados para respaldar uma recomendação de seu uso como fonte de FA benéfica para a saúde humana, bem como estudos sobre sua forma de utilização e testes de aceitação seriam indicados antes do estímulo à sua utilização.

4.5 Referências bibliográficas

AHMED, R. L.; SCHMITZ, K. H.; ANDERSON, K. E.; ROSAMOND, W. D.; FOLSOM, A.R. The metabolic syndrome and risk of incident colorectal cancer. **Câncer**. v.107, p.28-36, 2006.

ALVAREZ, E. E e SANCHEZ, P. G. La fibra dietética. **Nutr Hosp**, v.21 supl.2, 2006.

ANGIOLONI, A.; COLLAR, C. Small and large deformation viscoelastic behaviour of selected fibre blends with gelling properties. **Food Hydrocolloids**. v.23, p.742-748, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Washington, DC; 14 ed.; 1141p., 1984.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Washington, D.C; 15. ed., p.800-801; 1105-1106, 1990.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Maryland, 16 ed., v.2, 1997.

AVEWORLD. **Dados agrícolas**. Disponível em: <http://www.aveworld.com.br/index.php/documento/6189>, acesso em 17/04/2009.

AZEVEDO, D. V.; SAMPAIO, H. A. C. Consumo alimentar de gestantes adolescentes atendidas em serviço de assistência pré-natal. **Rev Nutr**, v.16, n.3, p.273-280, 2003.

BOCCIO, J. R.; IYENGAR, V. Iron deficiency: causes, consequences, and strategies to overcome this nutritional problem. **Biol Trace Elem Res**, v.94, n.1, p.1-32, 2003.

BOSSCHER, D., VAN, M., DEELSTRA, H. Effect of thickening agents, based on soluble dietary fiber, on the availability of calcium, iron, and zinc from infant formulas. **Nutr**, v.17, p.614-618, 2001.

BOSSCHER, D., VAN, M., VAN, R., DEELSTRA, H. Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. **Nutr**, v.19, p.641-645, 2003.

BOUIS, H. Enrichment of food staples through plant breeding: a new strategy for fighting micronutrient malnutrition. **Nutr**, v.16, n.7/8, p.701-704, 2000.

BRUNE, M.; ROSSANDER-HULTÉN, L.; HALLBERG, L.; GLEERUP, A.; SANDBERG, A. S.. Iron Absorption from Bread in Humans: Inhibiting Effects of Cereal Fiber, Phytate and Inositol Phosphates with Different Numbers of Phosphate Groups. **J Nutr**, v.122, p.442-449, 1992.

CALLEGARO, M. G. K.; DUTRA, C. B.; HUBER, L. S.; BECKER, L. V.; ROSA C. S.; KUBOTA E. H.; HECKTHEUR, L. H. Determinação da fibra alimentar insolúvel, solúvel e total de produtos derivados do milho. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.25, n.2, p.271-274, 2005.

CASTRO, T. G.; CAMPOS, F. M.; PRIORE, S. E.; COELHO, F. M. G.; CAMPOS, M. T. F. S.; FRANCESCHINI, S. C. C.; RANGEL, A. A. Saúde e nutrição de crianças de 0 a 60 meses de um assentamento de reforma agrária, Vale do Rio Doce, MG, Brasil. **Rev Nutr.**, v.17, n.2, p.167-176, 2004.

CHURELLA, H. R.; VIVIAN, V. M. Effect of phytic acid level in soy protein based infant formulas on mineral availability in the rat. **J Agric Food Chem**, v.37, n.5, p.1352-1357, 1989.

CLAYE, S. S. *et al.* In vitro mineral binding capacity of five fiber sources and their insoluble components for magnesium and calcium. **Food Chem**, v.61, n.3, p.333-8, 1998.

DAVY, B. M.; MELBY, C. L. The effect of fiber-rich carbohydrates on features of syndrome X. **J Am Diet Assoc.** v.103, p.86-96, 2003.

DEEGAN, H., BATES, H., McCARGAR, L. Assessment of iron status in adolescents: dietary, biochemical and lifestyle determinants. **J Adolescent Health**, v.37, p.75, 2005.

DELZENNE, N. M.; CANI, P. D. A place for dietary fibre in the management of the metabolic syndrome. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* v.8, p.636-40, 2005.

DOMÍNGUEZ, B. M.; GÓMEZ, M. V. I.; LEÓN, F. R. Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Arch Latinoam Nutr**, Suppl, v.52, n.3, p.219-231, 2002.

FAGEER, A. S. M e EL TINAY, A. H. Effect of genotype, malt pretreatment and cooking on in vitro protein digestibility and protein fractions of corn. **Food Chem.**, v.84, n.4, p.613-619, 2004.

FANTINI, A. P.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; SOUZA, M. C.; MANSI, D. N. Disponibilidade de ferro em misturas de alimentos com adição de alimentos com alto teor de vitamina C e de cisteína. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.28, n.2, p.435-439, 2008.

FERRARINI, H. **Determinação de teores nutricionais do milho por espectroscopia no infravermelho e calibração multivariada.** Dissertação de mestrado. Curitiba/PR. 2004.

FERREIRA, J., GOMES, J. **Gerenciamento de Laboratórios de Análises Químicas.** Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 378p.,1995.

FLY, A. D.; CZAMECKI-MAULDEN, G. L. Iron bioavailability from diets containing high-fiber breakfast cereals and crackers. **Nutr.** v.16, n.2, p.267-278, 1996.

GALISTEO, M.; DUARTE, J.; ZARZUELO, A. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. **J Nutr Biochem.** v.19, p.71-84, 2008.

GARCIA, G. C. B.; GAMBARDELLA, A. M. D.; FRUTUOSO, M. F. P. Estado nutricional e consumo alimentar de adolescentes de um centro de juventude da cidade de São Paulo. **Rev Nutr**, v.16, n.1, p.41-50, 2003.

GIUNTINI, E. B.; LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W.. Potencial de fibra alimentar em países ibero-americanos: alimentos, produtos e resíduos. **Arch Latinoam Nutr.** v.53, n.1, 2003.

- GOMES J.C.; SILVA, M.H.L.; SILVA, C.O. **Análise de Alimentos**. 2ª ed. Revisada e Ampliada. FUNARBE. Viçosa, 153p. 2003.
- GOMES, J. C. **Análise de Alimentos**. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos, 126 p., 1996.
- GONÇALVES, M. C. R.; COSTA, M. J. C.; ASCIUTTI, L. S. R.; DINIZ, M.F.F.M. Fibras dietéticas solúveis e suas funções nas dislipidemias. **Rev Bras Nutr Clin**. v.22, n.2, p.167-73, 2007.
- GRASES, F.; SIMONET, B. M.; PRIETO, R. M.; MARCH, J. G. Dietary phytate and mineral bioavailability. **J Trace Elem**. v.15, p.221-228, 2001.
- GUSTAFSSON, E., SANDBERG, A. Phytate reduction in brown beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J Food Sci**. v.60, p.149-152, 1995.
- HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ROSSANDER, L. Iron absorption in man: Ascorbic acid and dose-dependent inhibition by phytate. **Am J Clin Nutr**, v.49, p.140-144, 1989.
- HAMDAOUI, M. H.; CHABCHOUB, S.; HÉDHILI, A. Iron bioavailability and weight gains to iron-deficient rats fed a commonly consumed Tunisian meal 'bean seeds ragout' with or without beef and with green or black tea decoction. **J Trace Elem Med Biol**, v.17, n.3. p.159-164, 2003.
- HERNÁNDEZ, M.; SOUSA, V.; MORENO, A.; VILLAPANDO, S.; LÓPEZ-ALARCÓN, M. Iron bioavailability and utilization in rats are lower from lime-treated corn flour than from wheat flour when they are fortified with different sources of iron. **J Nutr**, v.133, p.154-159, 2003.
- HOUSE, W. Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. **Field Crops Res**, v.60, p.115-141, 1999.
- HURRELL, R.F. Bioavailability of iron. **Eur J Clin Nutr**, v.51, Suppl. 1, S4-S8, 1997.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003: análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2004. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em Julho de 2008.
- IOM - Institute of Medicine. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids**. Washington, D.C.: National Academy Press, 769 p., 2001.
- IOM - Institute of Medicine. **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc**. Washington, D.C.: National Academy Press, 932 p., 2002.
- LESTIENNE, I., ICARD-VERNIÈRE, C., MOUQUET, C., PICQ, C., TRÈCHE, S. Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chem**, v.89, p.421-425, 2005.
- LIN, L.; OCKENDEN, I.; LOTT, J. N. A.. The concentrations and distribution of phytic acid-phosphorus and other mineral nutrients in wild-type and *low phytic acid1-1* (*lpa1-1*) corn (*Zea mays* L.) grains and grain parts. **Can J Bot**, v.83, n.1, p.131-141, 2005.

- LONNERDAL, B. Dietary factors influencing zinc absorption. **J Nutr**, v.130, p.1378S-1383S, 2000.
- LOPES FILHO, J. F. Avaliação da maceração dinâmica do milho após um curto período de hidratação e subsequente quebra do pericarpo do grão. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.19, n.3, 1999.
- LORENZ, A. J.; SCOTT, M. P.; LAMKEY, K. R. Quantitative Determination of Phytate and Inorganic Phosphorus for Maize Breeding. **Crop Sci**, v.47, p.600-606, 2007.
- MA, G.; JIN, Y.; PIAO, J.; KOK, F.; GUUSJE, B.; JACOBSEN, E. Phytate, calcium, iron, and zinc contents and their molar ratios in foods commonly consumed in China. **J Agric Food Chem**, v.53, p.10285-10290, 2005.
- MACPHAIL, A. Iron deficiency and the developing world. **Arch Latinoam Nutr**, Suppl, v.51, n.1, p.2-6, 2001.
- MANN, J. I.; CUMMINGS, J. H. Possible implications for health of the different definitions of dietary fibre. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v.19, p.226-229, 2009.
- MARTÍNEZ DOMÍNGUEZ, B.; GÓMEZ, M, V, I.; LEÓN, F. R. Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Arch Latinoam Nutr**, v.52, n.3, p.219-231, 2002.
- MARTINO, H. S. D.; MARTIN, B. M.; WEAVER, C. M.; BRESSAN, J.; ESTEVES, E. A.; COSTA, N. M. B. Zinc and Iron Bioavailability of Genetically Modified Soybeans in Rats. **J Food Sci**, v.72, n.9, p.2413-2420, 2007.
- MATTOS, L. L.; MARTINS, I. S. Consumo de fibras alimentares em população adulta. **Rev Saúde Pública**. v.34, n.1, p.50-55, 2000.
- MJOUN, K.; KALSCHEUR, K. F.; HIPPEN, A. R.; SCHINGOETHE, D. J. Ruminal phosphorus disappearance from corn and soybean feedstuffs **J Dairy Sci**, v.91, p.3938-3946, 2008.
- MONGE-ROJAS, R. e NUNEZ RIVAS, H. Total dietary fiber in urban and rural Costa Rican adolescents' diets. **ALAN**, v.51, n.4, p.340-345, 2001.
- MOURA, N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.26, n.2, p.270-276, 2006.
- NELSON, D., MORRIS, M. Exame básico do sangue. In: HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. Primeira edição brasileira. São Paulo: Editora Manole Ltda., p.641-699, 1995.
- NEUMAN, N., TANAKA, O., SZARFAC, S. Prevalência e fatores de risco para anemia no sul do Brasil. **Rev Saúde Pública**, v.34, n.1, p.56-63, 2000.
- NUNES, M. M. A.; FIGUEIROA, J. N.; ALVES, J. G. B. Excesso de peso, atividade física e hábitos alimentares entre adolescentes de diferentes classes econômicas em Campina Grande (PB). **Rev Assoc Med Bras**, v.53, n.2, p.130-134, 2007,.

O'DELL, B. L.; BOLAND, A. R.; KOIRTYOHANN, S. R. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. **J Agr Food Chem**, v.20, n.3, 1972.

OLIVEIRA, J.P.; Chaves, L.J.; Duarte, J.B.; Brasil, E.M.; Ferreira Junior, L.T.; Ribeiro, K.O. teor de proteína no grão em populações de milho de alta qualidade protéica e seus cruzamentos. **P A T**, v.34, n.1, p.45-51, 2004.

PAES, M. C. D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Circular Técnica, 75 – EMBRAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2006.

PAPINI-BERTO, S. J.; BURINI, R. C. Causas da desnutrição pós-gastrectomia. **Arq Gastroenterol**, v.38, n.4, 2001.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. P. **Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz**. São Paulo: Instituto Adolf Lutz, 533p., 1985.

PROSKY, L., ASP, N., SCHWEIZER, T. DEVRIES, J. FURDA, I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products. Interlaboratory study. **J Assoc Off Anal Chem**, v.71, n.5, p.1017-1023, 1988.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, L.; LEONEL, A. J.; COSTA, N. M. B. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.28, n.1, p.200- 213, 2008.

REEVES, P., NIELSEN, F., FAHEY, G. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN - 76 A Rodent Diet. **J Nutr**, v.123, p.1939-1951, 1993.

SAHA, P., WEAVER, C., MASON, A. Mineral bioavailability in rats from intrinsically labeled whole wheat flour of various phytate levels. **J Agric Food Chem**, v.42, p. 2531-2535, 1994.

SAHYOUN, N. R.; JACQUES, P. F.; ZHANG, X. L.; JUAN, W.; MCKEOWN, N. M. Whole-grain intake is inversely associated with the metabolic syndrome and mortality in older adults. **Am J Clin Nutr.**, v.83, p.124-31, 2006.

SANDBERG, A. Bioavailability of minerals in legumes. **Brit J Nutr**, v.88. Suppl. 3. S281-S285, 2002.

SANDBERG, A., AHDERINNE, R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, hexaphosphates in foods and intestinal contents. **J Food Sci**, v.51, p.547-550, 1986.

SANTOS, J. S.; COSTA, M. C. O.; SOBRINHO, C. L. N.; SILVA, M. C. M.; SOUZA, K. E. P.; MELO, B. O. Perfil antropométrico e consumo alimentar de adolescentes de Teixeira de Freitas - Bahia. **Rev Nutr**, v.18, n.5, p.623-632, 2005.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Rev Nutr**, Campinas, v.12, n.1, p.5-19, 1999.

STRUBE, Y. N. J.; BEARD, J. L.; ROSS, A. C. Iron deficiency and marginal vitamin a deficiency affect growth, hematological indices and the regulation of iron metabolism

genes in rats. hematological indices and the regulation of iron metabolism genes in rats. **J Nutr**, v.132, p.3607-3615, 2002.

TORAL, N.; SLATER, B.; CINTRA, I. P.; FISBERG, M. Comportamento alimentar de adolescentes em relação ao consumo de frutas e verduras. **Rev Nutr**, v.19, n.3, p.331-340, 2006.

USA, 2009 – **United States Department of Agriculture (USDA)**, disponível em <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>, acesso em 02/04/2009.

VENN, B. J.; MANN, J. I. Cereal grains, legumes and diabetes. **Eur J Clin Nutr**, v.58, p.1443–61, 2004.

WELCH, R. Breeding strategies for biofortified staple plant foods to reduce micronutrient malnutrition globally. **J Nutr**, v.132, p.495S-499S, 2002.

WITTIG DE PENNA, E.; AVENDANO, P.; SOTO, D. et al. Caracterización química y sensorial de biscochuelos enriquecidos con fibra dietética y micronutrientes para el anciano. **ALAN**, v.53, n.1, p.74-83, 2003.

ZIJP, I.M.; KORVER, O.; TIJBURG, L.B.M. Effect of tea and other dietary factors on iron absorption, **Crit Rev Food Sci Nutr**, v.40, n.5, p.371-398, 2000.

ANEXO

Valores de média* das variáveis analisadas em cada grupo (Controle e Teste) para três diferentes níveis de ferro.

FONTE DE FA E NÍVEIS DE Fe (mg.kg ⁻¹)	GANHO PESO DEP (g)	GANHO PESO REP (g)	GANHO PESO TOT (g)	INGESTÃO ALIMENT. (g)	CEA	HEMAT. FINAL (%)	HB FINAL (g/dL)	GANHO HB (g/dL)
CELULOSE (6 mg.kg ⁻¹)	98,50	40,88	139,38	436,24	0,32	35,40	6,54	0,44
CELULOSE (12 mg.kg ⁻¹)	93,57	38,43	132,00	424,87	0,31	41,17	7,36	1,26
CELULOSE (24 mg.kg ⁻¹)	91,13	51,75	142,88	455,13	0,31	48,13	8,80	2,83
MILHO (6 mg.kg ⁻¹)	91,75	45,00	136,75	436,22	0,31	34,88	6,14	0,14
MILHO (12 mg.kg ⁻¹)	102,25	45,75	148,00	461,99	0,32	41,63	7,64	1,71
MILHO (24 mg.kg ⁻¹)	97,13	50,88	148,00	442,70	0,34	44,75	8,51	2,59

* As médias se referem a 8 observações em cada grupo, com exceção do grupo celulose 12 mg.kg⁻¹, no qual se referem a 7 observações.

5. ARTIGO 2

EFEITO DE RESÍDUO MICROPULVERIZADO DA MOAGEM A SECO DE MILHO NA BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO E ZINCO EM RATOS

Resumo

O milho é o cereal mais cultivado no Brasil. A média nacional de consumo *per capita* anual é de aproximadamente 7,7 kg e sua importância econômica deve-se às diversas formas sob as quais pode ser utilizado. Nas indústrias moageiras acumula-se um resíduo fibroso na proporção de 5% do total de grãos, ainda pouco estudado e utilizado no Brasil. O presente trabalho teve como objetivos avaliar os efeitos do resíduo fibroso de milho na biodisponibilidade de cálcio (Ca) e zinco (Zn) em ratos. Durante 42 dias os animais foram alimentados com dietas contendo celulose ou resíduo de milho como fontes de FA e 50 ou 100% da recomendação de cálcio ou zinco. A interação entre fonte de FA (celulose ou resíduo de milho) e o nível de Ca (50 ou 100%) foi significativa ($p \leq 0,05$) para ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA). No nível 50% de Ca, a eficiência no ganho de peso foi maior para resíduo de milho. Peso do fêmur, comprimento do fêmur e concentração de Ca no osso diferiram em relação à fonte de FAs ($p \leq 0,01$), sendo as médias maiores para os grupos que receberam resíduo de milho. A interação entre fonte de FA e nível de Ca foi significativa ($p \leq 0,05$) para o balanço de Ca, sendo maior no grupo com dieta de milho e 50% de Ca. A concentração de cálcio nas fezes e no plasma, e a absorção e retenção diárias de cálcio variaram em função do nível do mineral, sendo maiores ($p \leq 0,05$) ao nível de 50%, excetuando-se a concentração de cálcio nas fezes, que foi maior para 100% do mineral. No ensaio da biodisponibilidade de zinco, GP, IA e CEA variaram com o nível ingerido do mineral ($p \leq 0,05$), sendo as médias maiores para os grupos com 50% de Zn. A concentração de zinco nas fezes não variou com o nível do mineral ingerido, porém, foi maior nos animais com dieta de celulose. A concentração de zinco no osso foi maior para ingestão de celulose e também para a ingestão de 100% de Zn, independente da fonte de FA. A concentração de zinco eritrocitário

diferiu apenas em relação ao nível de Zn, sendo maior para ingestão de 100%. O resíduo de milho mostrou-se uma fonte potencial de FAs para a alimentação humana sem prejuízos à biodisponibilidade de cálcio e de zinco. Estudos a longo prazo com humanos devem ser considerados para avaliar os efeitos funcionais do resíduo de milho.

Palavras-chave: Farelo de milho; fibra alimentar; fitato; biodisponibilidade de cálcio e zinco.

5.1 Introdução

Na América Latina milhões de pessoas dependem do milho diariamente como alimento, sendo este, para muitos, a principal fonte de proteína da dieta. Essa cultura movimenta um importante mercado, abrangendo indústrias de produção de alimentos para consumo humano e animal. Este cereal é o mais cultivado no Brasil, prevendo-se, para 2009, produção de 55 milhões de toneladas no país (AVEWORLD, 2009).

Anatomicamente, o grão de milho é formado por três principais estruturas: endosperma, gérmen e pericarpo (casca). Como ocorre com os demais cereais, os nutrientes não estão distribuídos de forma homogênea entre as diferentes estruturas morfológicas do grão, as quais apresentam características nutricionais e tecnológicas específicas (OLIVEIRA *et al.* 2004). Destaca-se aqui o pericarpo, onde está a maior porção da fibra alimentar (FA), composta de hemicelulose (67%), celulose (23%) e lignina (0,1%) (CALLEGARO *et al.*, 2005; PAES, 2006). Nas indústrias de beneficiamento de milho, o pericarpo resultante de sua moagem se acumula na forma de um resíduo fibroso, em uma proporção de 5 a 12% do total de grãos processados (LOPES-FILHO, 1999).

A FA desempenha importante papel na saúde humana (ANGIOLONI e COLLAR, 2009), havendo referência na literatura médica quanto aos benefícios dos farelos de grãos (MANN e CUMMINGS, 2009). Alimentos ricos em fibras alimentares (FA) podem ser considerados funcionais uma vez que as FAs podem afetar de forma positiva uma ou mais funções no corpo humano. Fibra alimentar é a parte comestível de plantas ou análogos aos carboidratos que são resistentes à digestão e à absorção no trato digestório humano, com fermentação parcial ou total no intestino grosso (MARLETT *et al.*, 2002). Apresentam efeitos como regulação do peso corporal, ingestão alimentar, obesidade, controle de hipertensão arterial, homeostase da glicose, melhoria na sensibilidade à insulina, obstipação intestinal, câncer de cólon e na regulação da produção de marcadores inflamatórios, bem como na redução de fatores de risco para doenças cardiovasculares, especialmente pela melhoria do perfil lipídico sérico (DAVY e MELBY, 2003; VENN e MANN, 2004, DELZENNE e CANI, 2005; SAHYOUN *et al.*, 2006; AHMED *et al.*, 2006; GALISTEO *et al.*, 2008).

São conhecidos, todavia, além das propriedades benéficas das FAs, fatores que interferem na biodisponibilidade de minerais, em especial nos bivalentes (FUKUSHIMA *et al.*, 2005). Por definição, biodisponibilidade refere-se à fração do nutriente ingerido que tem o potencial de suprir as demandas fisiológicas em tecidos alvos (YOUNG, 1998), não correspondendo, na maioria das vezes, à quantidade ingerida (MOURAO *et al.*, 2005).

Brune *et al.* (1992), no entanto, reportaram que a FA, por si só, não influencia de forma significativa a absorção de minerais, sendo o efeito inibitório dos farelos de cereais atribuído quase que totalmente à sua concentração de fitato, por ser um importante complexante de minerais como cálcio e zinco (O'DELL *et al.*, 1972; MARTINEZ DOMINGUEZ *et al.*, 2002). No caso do milho, sabe-se que o fitato se concentra no gérmen, restando pouca ou nenhuma quantidade na fração pericarpo.

Nas nações industrializadas as populações tendem a apresentar deficiência de cálcio (Ca), o que pode comprometer a saúde óssea. O Ca é o principal mineral do esqueleto, representando de 2 a 4% do peso corporal bruto (HEANEY, 2007). Participa de diversos processos bioquímicos e fisiológicos, incluindo a liberação de neurotransmissores durante a transmissão dos impulsos nervosos, formação do tecido de sustentação dos animais juntamente com o fósforo e, com proteínas e fosfolipídios, desempenha ainda papel essencial na manutenção da integridade das membranas celulares, além de atuar no processo de coagulação sanguínea, de contração e relaxamento muscular e na ativação de várias enzimas. Deve-se ressaltar que o cálcio pode ter baixa absorção em alimentos ricos em ácido oxálico, como espinafre, feijão e batata doce, sendo o ácido fítico um inibidor moderado (LOBAUGH, 1996; JONES *et al.*, 1998).

A importância no estudo das condições nutricionais de Ca reside no fato de que em populações adultas suas perdas corporais são relativamente altas, enquanto sua eficiência na absorção é diminuída, acentuando-se com o avançar da idade. Assim, sua ingestão em níveis relativamente elevados é necessária para garantir uma razoável eficiência absorptiva (HEANEY, 2007). Por isso, o conhecimento das interações entre os fatores que afetam a biodisponibilidade e os mecanismos envolvidos na absorção do Ca pode permitir o desenvolvimento de estratégias visando um melhor aproveitamento do mineral pelo organismo e a consequente diminuição do risco de doenças.

Outro mineral afetado pela presença de FAs e fitato é o zinco (Zn) (MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000; SANDBERG, 2002). O corpo humano contém cerca de 2 a 2,5 g deste mineral, dos quais 55% estão localizados nos músculos e 30% nos ossos, que junto com a pele e fígado são os maiores *pools* (HOUSE, 1999). Como funções no organismo, pode se citar a de estabilizador de estruturas de membranas, componente de enzimas Zn-dependentes com função antioxidante e na síntese e degradação de carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (KOURY e DONANGELO, 2003).

A importância do estudo da biodisponibilidade de zinco em alimentos deve-se ao fato de as quantidades ingeridas não atenderem às doses recomendadas para alguns grupos populacionais. A presença destes fatores que reduzem sua absorção contribui para o desenvolvimento de deficiência (HOUSE *et al.*, 2002), que pode causar retardo de crescimento, de desenvolvimento sexual, perda de apetite, diminuição da gustação, do olfato, retardo na cicatrização e contribuir para algumas condições degenerativas, incluindo a doença de Alzheimer (WEISS *et al.*, 2001).

É de fundamental importância se considerar a presença de fatores antinutricionais para o Ca e Zn quando se avalia o potencial nutricional de algum novo alimento ou produto. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar, em ratos, os efeitos de um resíduo industrial de pericarpo de milho na biodisponibilidade destes minerais, com ênfase em seus teores de fibra alimentar e fitato.

5.2 Material e métodos

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Nutrição Experimental e de Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição e Saúde, e no Laboratório de Espectrofotometria de Absorção Atômica do Departamento de Solos, da Universidade Federal de Viçosa. A determinação de fitatos foi feita no Centro de Biologia Molecular no Federal Research Centre for Nutrition and Food (Alemanha, Dr. Ralph Greiner).

5.2.1 Resíduo micropulverizado da moagem a seco de milho

As amostras da fração correspondente ao resíduo de pericarpo de milho foram coletadas na Unidade de Processamento de Milho da Cooperativa Integrada - Andirá/ PR durante processamento a seco de milho e fornecidas pela EMBRAPA – Milho e Sorgo, localizada em Sete Lagoas, MG. Randomicamente, foram coletadas nove amostras de aproximadamente 1,5 kg de resíduo, sendo cada três amostras representantes de um lote diferente de grãos, correspondentes à porção inicial, média e final do processamento de cada lote.

5.2.2 Determinação da composição centesimal

A umidade das amostras foi determinada por secagem em estufa de circulação forçada de ar (Marconi, MA 035) à 105°C, até peso constante. O teor de cinzas foi determinado por calcinação em mufla à 550°C até peso constante. O teor de lipídios foi obtido por extração em aparelho Soxhlet, empregando-se solvente éter etílico por 8 horas, sob refluxo. Estas análises foram executadas de acordo com o Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (Pregolato e Pregolato, 1985).

O teor de proteínas foi determinado pelo método micro Kjeldahl, para a quantificação de nitrogênio total, descrito pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1997), utilizando fator de conversão igual a 6,25. A determinação dos teores de fibra alimentar total (FAT) e fibra alimentar insolúvel (FAI) das amostras de resíduo de milho foi feita de acordo com o método enzimático gravimétrico (PROSKY *et al.*, 1988; AOAC, 1997), utilizando-se para a hidrólise enzimática α -amilase termoresistente, protease e amiloglicosidase (Total dietary fiber assay kit, SIGMA). As fibras alimentares

solúveis (FAS) foram obtidas por diferença entre FAT e FAI. Obteve-se o teor de carboidratos pela diferença entre o total da amostra (100%) e os teores de proteínas, lipídios, fibras alimentares, umidade e cinzas.

As análises de ferro, zinco, cálcio, manganês, fósforo e cobre foram realizadas pelo método de digestão ácida com ácido nítrico e leitura em espectrofotômetro de absorção atômica (espectrofotômetro GBC 908 AA - GBC/Germany, Analítica, São Paulo, Brasil). Sódio e potássio foram determinados por espectrofotometria de chama (GOMES *et al.*, 2003). A concentração de fitatos foi obtida segundo a metodologia descrita pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1990) e o método cromatográfico (Par iônico, Ultrasep ES 100 RP18, 2x250 mm) proposto por Sandberg e Ahderinne (1986).

Todas as determinações foram realizadas em triplicata, com exceção do teor de FAs que foi feito em duplicata.

5.2.3 Ensaio Biológico

O estudo foi conduzido com 60 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe *Rodentia*), da linhagem Wistar, recém desmamados, com peso corporal entre 50 e 60 g. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em ambiente de temperatura (22±2°C) e luz controladas, em ciclo claro-escuro de 12 h.

Os animais foram divididos em 6 grupos experimentais com 10 animais cada, de modo que a média de peso entre os grupos fosse a mais próxima possível. Os animais foram mantidos em suas respectivas dietas por 42 dias, tempo durante o qual receberam água deionizada *ad libitum*, e ingestão de dieta controlada variando entre 13 e 18 g diários. O peso dos animais foi monitorado semanalmente, e a ingestão alimentar a cada três dias, calculando-se assim o ganho de peso e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA = ganho de peso (g) / consumo alimentar (g) x 100).

Os grupos foram categorizados da seguinte forma:

D1: Celulose, Ca 100% e Zn 100%;

D2: Celulose, Ca 50% e Zn 100%;

D3: Milho, Ca 100% e Zn 100%;

D4: Milho, Ca 50% e Zn 100%;

D5: Celulose, Zn 50% e Ca 100%;

D6: Milho, Zn 50% e Ca 100%.

Os parâmetros obtidos dos grupos D1, D2, D3 e D4 foram utilizados para a determinação da biodisponibilidade de Ca, e os parâmetros dos grupos D1, D3, D5 e D6 para a biodisponibilidade de Zn.

Restando cinco dias para o término do experimento, os animais dos grupos referentes ao Ca foram transferidos para gaiolas metabólicas individuais de aço inoxidável, com o intuito de se coletar fezes e urina de cada animal para se proceder ao cálculo da absorção, balanço e retenção diários de Ca, a saber: $\text{Absorção} = (I - F) \times 100 / I$; $\text{Balanço} = I - F - U$; $\text{Retenção} = (I - F - U) \times 100 / I$, sendo I = quantidade de Ca ingerido, F = Ca nas fezes e U = Ca na urina. Neste período a ingestão alimentar foi controlada diariamente.

Ao final do experimento, os animais foram sacrificados sob atmosfera de dióxido de carbono. Procedeu-se à incisão das cavidades abdominal e torácica para coleta de sangue por punção cardíaca. A massa eritrocitária para determinação de zinco foi coletada nos grupos D1, D3, D5 e D6. Em todos os grupos o plasma foi separado para análise de seu respectivo mineral teste, sendo também retirados o fêmur direito para determinação de seu conteúdo em Ca e Zn, e o fígado para cálculo da relação hepato-somática, dividindo-se o peso do órgão pelo peso corporal.

5.2.3.1 Composição e preparo das dietas experimentais

A composição das dietas experimentais é apresentada na Tabela 1 e foi baseada na dieta AIN-93G (REEVES *et al.*, 1993), com mistura mineral sem cálcio ou zinco. As dietas foram devidamente ajustadas para fornecerem 2500 ou 5000 mg Ca.kg⁻¹ de dieta e 15 ou 30 mg Zn.kg⁻¹ de dieta, equivalentes a 50% ou 100% da recomendação destes minerais para os animais, procedentes do carbonato de cálcio (CaCO₃ = 400 mg Ca.g⁻¹) e do carbonato de zinco (ZnCO₃ = 521 mg Zn.g⁻¹). Nas dietas D3, D4 e D6 a fonte de FA (celulose microfina) foi substituída pelo resíduo fibroso de milho, considerando o teor de fibra alimentar total (FAT) de 73,4%, conforme analisado no capítulo 2, de maneira a fornecer os mesmos 5% de FAs das dietas D1, D2 e D5. Em seguida, conhecendo a quantidade do resíduo a ser incluído nas dietas (68 g.kg⁻¹), e considerando que a concentração de zinco no mesmo era 24,9 mg.kg⁻¹, calculou-se a quantidade de ZnCO₃ a ser adicionado para que as dietas ofertassem 15 ou 30 mg Zn.kg⁻¹. O teor de Ca no resíduo de milho foi

desconsiderado. Albumina foi utilizada como fonte protéica, em substituição à caseína, devido ao seu teor mais baixo de cálcio e zinco. A quantidade de macronutrientes que compunham o resíduo foi insignificante em relação aos demais ingredientes da dieta, sendo por isso, desconsiderada.

Os ingredientes foram pesados individualmente em balança semi-analítica (marca GEHAKA com precisão de 0,01 g) e balança analítica, (marca SHIMADZU, São Paulo, com precisão de 0,1 mg). Inicialmente foram misturados manualmente em vasilhames plásticos previamente lavados e enxaguados com água deionizada, e a seguir em batedeira semi-industrial (LIEME), por aproximadamente 15 minutos. As dietas prontas foram acondicionadas em sacos de polietileno devidamente identificados, datados e armazenadas a 10°C.

Tabela 1: Composição das dietas experimentais* (g.kg⁻¹).

INGREDIENTES	DIETAS TESTE [#]					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Albumina ¹	200	200	200	200	200	200
Amido Dextrinizado ²	132	132	132	132	132	132
Sacarose ³	100	100	100	100	100	100
Óleo de Soja ⁴	70	70	70	70	70	70
Celulose microfina (Fibra) ⁵	50	50	-	-	50	-
Resíduo de Milho ⁶	-	-	68	68	-	68
Mistura de Minerais Comercial ⁵	35	-	-	-	-	-
Mistura de Minerais sem Ca e Zn ⁷	-	35	35	35	35	35
Mistura de Vitaminas ⁵	10	10	10	10	10	10
L-Cistina ⁵	3	3	3	3	3	3
Bitartarato de Colina ⁵	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Carbonato de Cálcio (CaCO ₃) ⁸	-	6,24	12,48	6,24	12,48	12,48
Carbonato de Zinco (ZnCO ₃) ⁸	-	0,057	0,054	0,054	0,0287	0,0255
Amido de milho (qsp) ⁹	397,5	391,2	367,0	373,2	385,0	367,0

[#] Adaptado de REEVES *et al.*, 1993; isenta de cálcio e zinco, com albumina em substituição à caseína

*D1: Celulose + Ca 100% + Zn 100%; D2: Celulose + Ca 50% + Zn 100%; D3: Milho + Ca 100% + Zn 100%; D4: Milho + Ca 50% + Zn 100%; D5: Celulose + Ca 100% + Zn 50%; D6: Milho + Ca 100% + Zn 50%.

qsp: quantidade suficiente para completar 1 kg

Marca/Fornecedor:

^{1,2} - Maximum / ARVE – Viçosa/MG - Brasil. ³ - Açúcar União / Comércio de Viçosa. ⁴ – SOYA / Comércio de Viçosa. ⁵ Rhostrer- Indústria e Comércio Ltda. ⁶ – Unidade de Processamento de Milho da Cooperativa Integrada – Andirá/PR. ⁷ - Elaborada no Laboratório de Nutrição Experimental - UFV/MG-Brasil, baseada no Mix Mineral AIN-93G. ⁸ - Vetec / Vetec - RJ. ⁹ - Pink Alimentos-Belo Horizonte / Comércio de Viçosa.

5.2.3.2 Análises químicas e bioquímicas

A análise de cálcio e zinco foi realizada pelo método de digestão ácida com ácido nítrico, sendo que para Ca foram adicionados 5 mL (10%) de

solução de cloreto de estrôncio hexahidratado ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) às soluções minerais das amostras. Utilizou-se espectrofotômetro de absorção atômica (espectrofotômetro GBC 908 AA - GBC/Germany, Analítica, São Paulo, Brasil) para a leitura (GOMES *et al.*, 2003). Foi analisado o conteúdo de Ca, diluído 50 vezes, e Zn nas seis dietas depois de preparadas.

O Ca foi determinado no plasma (150 μmL), na urina (5 mL), nas fezes (50 mg) diluídos 10 vezes e no fêmur inteiro diluído 100 vezes. A partir do peso dos ossos, a concentração de Ca foi expressa em mg.g^{-1} .

Determinou-se o Zn no plasma (150 μmL), no fêmur inteiro, na massa eritrocitária (0,5 g) diluída 5 vezes e nas fezes dos grupos D1 e D3, que por serem comuns às análises de Ca e Zn, foram os únicos do estudo de Zn a serem transferidos para gaiolas metabólicas. Para a determinação da concentração de Zn eritrocitário seguiu-se o método de Whitehouse *et al.* (1982), excluindo-se a segunda diluição proposta, de 10 vezes, por ter se mostrado excessiva durante a leitura.

Foi quantificada a concentração de hemoglobina na massa eritrocitária, sendo o zinco eritrocitário expresso em $\mu\text{gZn.g}^{-1}$ Hb. A hemoglobina foi determinada segundo o método do cianeto de metahemoglobina (HiCN), proposto pela AOAC (1984), utilizando o kit para diagnóstico colorimétrico *in vitro* da BIOCLIN (Belo Horizonte/MG), misturando-se 10 μL de sangue a 2,5 mL de uma solução de cianeto e ferricianeto de potássio (solução de Drabkin). A absorbância foi medida a 540 nm em espectrofotômetro UV-Visível (SHIMADZU UV-1601, Brasil). Com base na média de três leituras de absorbância ($0,4443 \pm 0,0375$) do padrão fornecido, obteve-se o fator (25,65), utilizado para o cálculo da concentração de hemoglobina (mg/dL) em cada amostra de sangue a partir da concentração conhecida do padrão (11,4 g/dL).

Os ossos foram cuidadosamente removidos e limpos, deixados secar à temperatura ambiente por 3 dias, e então pesados individualmente em balança analítica (marca SHIMADZU, São Paulo, com precisão de 0,1 mg), sendo o comprimento e a largura medidos utilizando-se um paquímetro (marca Mituyoyo).

5.2.4 Delineamento experimental

Tanto para o estudo de biodisponibilidade de Ca quanto para o de Zn utilizou-se um modelo fatorial 2x2, correspondente à combinação de duas

fontes de fibra alimentar (celulose ou resíduo de milho) e dois níveis de mineral (50% ou 100% da recomendação), em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições, o que totalizaria 8 grupos. Mas como os grupos D1 e D3 foram comuns aos dois estudos, totalizaram-se 6 grupos.

Os dados foram analisados por meio de análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Utilizou-se, para as análises estatísticas, o programa SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (Viçosa, 2007), versão 9.1, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa; e o software Excel 2003 para confecção dos bancos de dados e execução de cálculos.

5.3 Resultados e Discussão

Apesar de serem fonte potencial de nutrientes aplicáveis na alimentação humana, como as fibras alimentares, são escassas as informações a respeito de alimentos não-convencionais, incluindo resíduos industriais (GIUNTINI *et al.*; 2003). Por isso, o estudo do valor nutricional deste tipo de produto é de grande importância, avaliando em especial seus efeitos na biodisponibilidade de nutrientes.

5.3.1 Biodisponibilidade de Cálcio

Na análise da dieta, constatou-se que aquelas planejadas para terem 5000 mg Ca.kg⁻¹ (100% Ca) apresentaram média de 3118 mg Ca.kg⁻¹, e as de 2500 mg Ca.kg⁻¹ (50% Ca) forneceram 1505 mg Ca.kg⁻¹. Embora inferiores ao planejado, tais valores guardam entre si a proporção de 1: 0,5.

O peso dos animais foi monitorado semanalmente, e sua ingestão alimentar controlada, visando obter uma homogeneidade em relação a este parâmetro. Na Tabela 2 observam-se os valores resultantes da análise de variância. Nos anexos 1 e 2 encontram-se os valores de média ± desvio-padrão das variáveis analisadas em cada grupo para os dois diferentes níveis de cálcio.

Tabela 2: Resumo da Análise de Variância de ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA), coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e relação hepato-somática (FIG) em função das fontes de FA: celulose ou milho (FF) e níveis de cálcio: 50% ou 100% (N)

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS			
		GP	IA	CEA	FIG
FONTE	1	408,27 ^{NS}	11893,96 [*]	0,00015688 ^{NS}	0,396836 ^{NS}
NÍVEL	1	3805,88 [*]	4361,11 ^{NS}	0,00634620 [*]	0,014683 ^{NS}
FF x N	1	6140,68 ^{**}	17732,36 ^{**}	0,00656656 [*]	0,010210 ^{NS}
RESÍDUO	35	685,16	2022,48	0,00133012	0,3909
CV %		18,69	7,93	14,85	16,78

** - F significativo ao nível de 1%

* - F significativo ao nível de 5%

NS - F não significativo ao nível de 5%

Houve interação entre fonte de FA e nível de cálcio para ganho de peso, ingestão alimentar ($p \leq 0,01$) e CEA ($p \leq 0,05$). Durante todo o experimento, o monitoramento visou evitar que diferenças no ganho de peso decorressem de diferenças na ingestão alimentar entre os grupos. No entanto, pequenas quantidades de dieta remanescentes nos comedouros contribuíram, ao final de 42 dias, para que a ingestão fosse diferente em alguns animais. Quanto à relação hepato-somática, que é a porcentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal, nenhuma diferença foi encontrada ($p > 0,05$), significando que os tratamentos não tiveram efeito no peso do fígado dos animais.

Na Tabela 3 observam-se as médias relativas à interação fonte de FA e nível de cálcio, na qual se evidencia que ao maior nível de Ca (100%), o ganho de peso e a ingestão alimentar independem da fonte de FA ($p > 0,05$). As dietas com 50% do mineral apresentaram maior eficiência no ganho de peso quando a fonte de FA foi o resíduo de milho ($p \leq 0,05$). O CEA não diferiu significativamente entre as fontes de FA dentro de cada nível avaliado. Mas, ao se avaliar esta variável apenas em relação à FA proveniente do resíduo de milho, tem-se menor valor para o nível 100% de Ca, já que GP e IA ao maior nível foram menores que ao nível 50%.

Tabela 3: Média de ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) para as respectivas combinações de fontes de FA: celulose ou milho e níveis de cálcio: 50% ou 100% (N)

FONTE	GP (g)		IA (g)		CEA	
	N=50%	N=100%	N=50%	N=100%	N=50%	N=100%
CELULOSE	134,10 bA	139,44 aA	538,10 bA	559,62 aA	0,25 aA	0,25 aA
MILHO	165,70 aA	120,80 aB	615,76 aA	551,90 aB	0,27 aA	0,22 aB

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Quanto aos parâmetros ósseos, na Tabela 4 observa-se que nem o nível de Ca nem a interação FF x N foram significativos para peso (PF), comprimento (CF) e espessura do fêmur (EF), tampouco para concentração de Ca no osso (OSCa). Em relação à fonte de FAs, nota-se que PF, CF e OSCa apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,01$). No entanto, pela Tabela 5 observa-se que as médias para as duas primeiras variáveis foram muito próximas e sabe-se que em tecidos animais existe uma variação normal entre os indivíduos, determinadas por características próprias (BALLABRIGA, 2000; HUNTER *et al.*, 2001), que biológica e clinicamente não são interpretadas como diferença, como no caso destas duas variáveis ósseas. Encontrou-se maior concentração ($p \leq 0,05$) de Ca nos ossos de animais alimentados com resíduo de milho.

Tabela 4: Resumo da Análise de Variância de peso do fêmur (PF), comprimento do fêmur (CF), espessura do fêmur (EF) e concentração de cálcio no osso (OSCa) em função das fontes de FA: celulose ou milho (FF) e níveis de cálcio: 50% ou 100% (N)

FV	GL	QUADRADO MÉDIO PF	GL	QUADRADO MÉDIO		QUADRADO MÉDIO	
				CF	GL	EF	OSCa
FONTE	1	0,00749130 **	1	0,062765 **	1	0,00000340 NS	21740,22 **
NÍVEL	1	0,00045683 NS	1	0,025025 NS	1	0,00109095 NS	4,26 NS
FF x N	1	0,00051597 NS	1	0,025394 NS	1	0,00078994 NS	258,87 NS
RESÍDUO	35	0,00067151	32	0,007374	31	0,00080228	243,60
CV %		8,763		3,01		7,54	10,89

** - F significativo ao nível de 1%

NS - F não significativo ao nível de 5%

Tabela 5: Média de peso do fêmur (PF), comprimento do fêmur (CF) e concentração de cálcio no osso (OSCa) para diferentes fontes de FA: celulose ou milho

FONTE	PF (g)	CF (cm)	OSCa (mg.g ⁻¹)
CELULOSE	0,28 b	2,80 b	118,95 b
MILHO	0,30 a	2,89 a	168,86 a

As médias seguidas com letra diferente, para cada variável, diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Interessante notar que, apesar da menor oferta dietética do mineral em Ca 50%, não foi observada alteração na concentração de Ca no fêmur relativa ao nível ingerido, considerando-se o fêmur como tecido alvo no qual se avaliou a efetiva utilização e incorporação do mineral, refletindo sua biodisponibilidade.

Justificativa para isso pode ser o fato de se tratarem de animais jovens, evidenciando que conseguiram manter seu ritmo de crescimento, já que peso, comprimento e espessura do fêmur também não sofreram efeito da menor dose de Ca (50%). Isso porque, em animais jovens, a ação osteoblástica é maior que a osteoclástica (GONZÁLEZ e SILVA, 2003; PARELMAN *et al.*, 2006). Com o envelhecimento a ingestão e absorção de Ca diminuem, havendo também maior perda óssea em relação à formação, sendo todos estes fatores responsáveis por um balanço negativo (HEANEY, 2001; CHAPURLAT *et al.*, 2005). Deve-se considerar também que em situações de baixa ingestão de Ca, o organismo lança mão de um mecanismo homeostático que visa compensar esta menor oferta alimentar do mineral, aumentando a eficiência absorptiva em nível intestinal (WEAVER *et al.*, 1996; BOUILLON *et al.*, 2005). Portanto, o aumento na absorção e retenção diárias de Ca pode ter contribuído também para manter o conteúdo de Ca nos ossos.

É consolidada na literatura a interferência do fitato na biodisponibilidade de minerais (GUSTAFSSON e SANDBERG, 1995; SANDBERG, 2002; LESTIENNE *et al.*, 2005), sendo que, segundo Ma *et al.* (2005), uma razão fitato: Ca maior que 0,24 pode reduzir a biodisponibilidade desse mineral. O resíduo de milho apresentou 1,97 $\mu\text{mol fitato.g}^{-1}$ e a razão fitato: Ca 0,25 (7,81 $\mu\text{mol Ca.g}^{-1}$ resíduo). Como o produto testado não foi fonte exclusiva de Ca, deve-se considerar esta razão em função do total de Ca nas dietas, de forma que nas dietas Ca 50% (Ca = 37,6 $\mu\text{mol.g}^{-1}$) a razão foi 0,003; e nas Ca 100% (Ca = 77,8 $\mu\text{mol.g}^{-1}$), 0,001, estando bem abaixo do valor crítico referenciado.

Vizeu *et al.* (2005) relatam que um μmol de ácido fítico pode quelar de 3 a 6 μmoles de cálcio, formando complexos insolúveis no pH intestinal. Pela concentração de fitato no resíduo de milho (1,97 $\mu\text{mol.g}^{-1}$), sabe-se que a dieta continha 0,13 μmol de fitato.g⁻¹. Dessa forma, considerando que se formem quelatos na maior proporção, 1:6, apenas 0,78 $\mu\text{mol Ca}$, em um total de 77,8 $\mu\text{mol Ca.g}^{-1}$ de dieta seriam indisponibilizados nas dietas com maior nível do mineral, e em 37,5 $\mu\text{mol Ca.g}^{-1}$ de dieta naquelas com 50% de Ca.

Isso foi devido ao baixo teor de fitato encontrado no produto testado, sendo menor que no feijão (20,96 a 26,73 $\mu\text{mol.g}^{-1}$) (RAMÍREZ-CÁRDENAS *et al.*, 2008), no somatório de IP na soja (20,15 $\mu\text{mol.g}^{-1}$) (MARTINO *et al.*, 2007), em flocos de aveia (13,2 $\mu\text{mol.g}^{-1}$), milheto ou painço (7,91 $\mu\text{mol.g}^{-1}$) e na farinha de trigo (6,36 $\mu\text{mol.g}^{-1}$) (MA *et al.*, 2005), considerando-se as frações

IP6 + IP5, que segundo Silva *et al.* (1999), exercem efeito negativo na biodisponibilidade de minerais. Este baixo teor de fitato é justificado por se saber que sua maior concentração é encontrada no gérmen do milho (MARTÍNEZ DOMÍNGUEZ *et al.*, 2002), e neste caso, o resíduo é proveniente do pericarpo do grão. Seria esta uma provável explicação para o maior conteúdo ósseo de Ca nos animais dos grupos que receberam resíduo de milho.

Evidencia-se também que, diferente do que afirmam alguns estudos (BOSSCHER *et al.*, 2001 e 2003; RAUPP *et al.*, 2002; LESTIENNE *et al.*, 2005; RODRÍGUEZ *et al.*, 2008), a presença de FAs, em alta concentração como no produto testado (73,4%), parece não exercer efeito negativo no aproveitamento deste mineral. Em acordo com nossos resultados, Behall *et al.* (1987) avaliando, durante quatro semanas, onze homens que receberam um acréscimo diário de 7,5 g de FA provenientes de quatro diferentes fontes, não detectaram efeito ($p > 0,05$) no balanço aparente de cálcio, zinco, ferro, magnésio e cobre. Apenas para a goma Karaya, um dos tipos de FA utilizada, observaram balanço positivo para todos os minerais.

Na Tabela 6 verifica-se que não houve efeito da interação FF x N para todas as variáveis, com exceção da concentração de Ca na urina e BCa. Nestas variáveis, a origem da fibra alimentar ingerida não foi relevante ($p > 0,05$), sendo as respostas semelhantes tanto para celulose quanto para resíduo de milho, com exceção também para URICa e BCa.

Tabela 6: Resumo da Análise de Variância da concentração de cálcio nas fezes (FEZCa), concentração de cálcio na urina (URICa), concentração de cálcio no plasma (PLCa), balanço diário de cálcio (BCa), absorção diária de cálcio (ABSCa) e retenção diária de cálcio (RETCa) em função das fontes de FA: celulose ou milho (FF) e níveis de cálcio: 50% ou 100% (N)

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS					
		FEZCa	URICa	PLCa	BCa	ABSCa	RETCa
FONTE	1	4,86 ^{NS}	13,44 ^{**}	0,12 ^{NS}	0,67 ^{NS}	4,42 ^{NS}	0,42 ^{NS}
NÍVEL	1	2592,83 ^{**}	23,25 ^{**}	119,30 ^{**}	82,02 ^{NS}	463,66 ^{**}	570,68 ^{**}
FF x N	1	14,38 ^{NS}	15,90 ^{**}	1,45 ^{NS}	234,57 ^{**}	21,80 ^{NS}	8,63 ^{NS}
RESÍDUO	31	13,24	0,41	2,96	25,47	5,94	5,11
CV %		32,40	64,37	25,10	27,72	17,38	16,89

** - F significativo ao nível de 1%

NS - F não significativo ao nível de 5%

Observa-se na Tabela 7 que, diferente do observado para ingestão de celulose, quando a fonte de FAs foi o resíduo de milho houve maior eficiência

em se proceder ao ajuste fisiológico comum em situações de baixa ingestão de Ca (BUZINARO *et al.*, 2006). Assim, os animais apresentaram maior balanço do mineral como consequência da tentativa de compensar sua menor oferta por meio da redução da excreção fecal (Tabela 8) (CASHMAN, 2002; BOUILLON *et al.*, 2005). Tal comportamento já era esperado e para ingestão de 50% de Ca o balanço foi maior que para 100%, pois a excreção fecal foi menor ($p \leq 0,05$), o que também ocorreu com a ingestão de celulose. Mas para ingestão do resíduo de milho, a excreção urinária em ambos os níveis de ingestão do mineral foi equivalente à observada para sua menor ingestão com celulose como fonte de FA.

Tabela 7: Média do balanço diário de cálcio (BCa) para as respectivas combinações de fontes de FA: celulose ou milho e níveis de cálcio: 50% ou 100% (N)

FONTE	BCa (mg.dia ⁻¹)		URICa (mg.dia ⁻¹)	
	N=50%	N=100%	N=50%	N=100%
CELULOSE	17,17 bA	19,28 aA	0,22 aB	3,05 aA
MILHO	22,07 aA	13,82 bB	0,32 aA	0,59 bA

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Esta adaptação fisiológica que ocorre em situações de carência do mineral pode ser comprovada, na Tabela 8, pelas maiores médias de absorção (ABSCa) e retenção diárias de cálcio (RETCa) ao nível 50% ($p \leq 0,05$).

Evidenciando que a condição de saúde do animal e sua idade interferem na capacidade de adaptação absorptiva, Zheng *et al.* (2007), estudando camundongos fêmeas adultas em um modelo de indução de câncer de mama, encontraram que uma menor ingestão de Ca elevou a resorção óssea como consequência do aumento dos níveis de paratormônio, reduzindo a concentração óssea do mineral. Corroborando tais achados, Franco (2009), estudando ratas adultas ovariectomizadas ou não, submetidas à prática de exercício ou sedentárias, encontrou redução ($p \leq 0,05$) no conteúdo mineral ósseo e no balanço diário de Ca nos grupos que ingeriram 50% de Ca em relação aos grupos 100%.

A partir da significância estatística relativa a diferentes níveis de ingestão de Ca, têm-se, na Tabela 8, os valores médios destas variáveis.

Tabela 8: Média da concentração de cálcio nas fezes (FEZCa) e no plasma (PLCa), absorção diária de cálcio (ABSCa) e retenção diária de cálcio (RETCa) para diferentes níveis de cálcio: 50% ou 100%

NÍVEL	FEZCa (mg.g ⁻¹)	PLCa (mg/dL)	ABSCa (%)	RETCa (%)
50%	2,88 b	8,64 a	17,53 a	17,30 a
100%	20,12 a	4,95 b	10,24 b	9,21 b

As médias seguidas com letra diferente, para cada variável, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

A homeostase do cálcio é mantida por um complexo sistema hormonal, no sentido de conservar os níveis extracelulares em uma faixa estreita de normalidade, por meio da regulação da absorção, redistribuição e excreção. Isso em virtude das diferentes funções exercidas por este mineral no organismo, como a liberação de neurotransmissores, coagulação sanguínea, contração e relaxamento muscular e ativação de várias enzimas (LOBAUGH, 1996; LOUIE, 1996; JONES *et al.*, 1998).

Na Tabela 8, percebe-se que para o nível Ca 100%, a concentração plasmática foi inferior à do nível 50%. Uma explicação para este achado pode estar na ação da calcitonina, que é um grande polipeptídeo com 32 aminoácidos e que em animais jovens diminui rapidamente a concentração de Ca no sangue, em oposição ao efeito do paratormônio, sendo esta ação mais rápida que a deste último. Segundo González e Silva (2003), esta redução pode se dar de forma imediata, por um mecanismo que atua na redução da atividade resorptiva dos osteoclastos, diminuindo o efeito osteolítico na membrana osteocítica do osso, com desvio do equilíbrio em favor da deposição de cálcio no compartimento permeável de sais de cálcio no osso. Este efeito é especialmente significativo em animais jovens devido ao rápido intercâmbio do cálcio absorvido e depositado. De acordo com Timm (1998), em animais jovens um aumento de 10% na concentração de cálcio plasmático eleva a velocidade de secreção de calcitonina em 2 a 6 vezes. Observou-se no presente estudo que em níveis maiores de Ca, sua concentração plasmática era inferior, talvez em decorrência deste efeito da calcitonina que se mostra pronunciado em animais em fase de crescimento.

5.3.2 Biodisponibilidade de Zinco

Na análise da dieta constatou-se que aquelas planejadas para terem 30 mg Zn.kg⁻¹ apresentaram média de 37,5 mg Zn.kg⁻¹, e as de 15 mg Zn.kg⁻¹ forneceram 18,1 mg Zn.kg⁻¹.

O peso dos animais foi monitorado semanalmente, e sua ingestão alimentar controlada, visando obter uma homogeneidade em relação a este parâmetro. No anexo 3 encontram-se os valores de média \pm desvio-padrão das variáveis analisadas em cada grupo para os dois diferentes níveis de zinco.

Na Tabela 9 observam-se os valores resultantes da análise de variância. Verifica-se que não houve efeito da interação FF x N nem da fonte de FA para todas estas variáveis ($p > 0,05$). Confirma-se, neste caso, a hipótese de que o resíduo fibroso de milho não interfere no crescimento de animais de experimentação. Apenas quanto ao nível de Zn ingerido observou-se efeito para as três primeiras variáveis

Tabela 9: Resumo da Análise de Variância de ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA), coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e relação hepato-somática (FIG) em função das fontes de FA: celulose ou milho (FF) e níveis de zinco: 50% ou 100% (N)

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS			
		GP	IA	CEA	FIG
FONTE	1	93,02 ^{NS}	1241,55 ^{NS}	0,00 ^{NS}	0,123 ^{NS}
NÍVEL	1	6151,31 ^{**}	15164,31 [*]	0,00 [*]	1,05 ^{NS}
FF x N	1	2126,54 ^{NS}	3404,21 ^{NS}	0,00 ^{NS}	0,12 ^{NS}
RESÍDUO	32	793,73	2819,53	0,00	0,36
CV %		19,78	9,22	14,13	16,85

** - F significativo ao nível de 1%

* - F significativo ao nível de 5%

NS - F não significativo ao nível de 5%

Um dos sintomas da deficiência de zinco é a perda de apetite em humanos (CANTERO, 1989; CHESTERS, 1997), havendo redução da ingestão por supressão do olfato e do paladar (KUDO *et al.*, 2000), entretanto, de forma inesperada, a ingestão alimentar nos grupos Zn 50% foi maior, repercutindo em maior ganho de peso e maior CEA (Tabela 10). Durante todo o experimento, o monitoramento visou evitar que diferenças no ganho de peso decorressem de diferenças na ingestão alimentar entre os grupos, no entanto, pequenas quantidades de dieta remanescentes nos comedouros podem ter contribuído, ao final de 42 dias, para que a ingestão fosse diferente em alguns animais.

Favaro e Vannucchi (1990) não constataram correlação entre zincemia e dados antropométricos de peso, altura, relação peso/altura, prega tricípital, circunferência braquial e muscular em uma população de crianças de baixo nível socioeconômico do município de Ribeirão Preto (São Paulo, Brasil). Já Brown *et al.* (1998), em rigoroso estudo de meta-análise, reportaram o efeito da

suplementação de Zn no aumento da estatura e da velocidade de crescimento quando administrado em crianças de diferentes países. Contudo, de forma surpreendente e a despeito do que divulga a literatura em relação à influência de uma baixa ingestão de Zn na taxa de crescimento de indivíduos (HAMBIDGE, 2000), nossos achados revelaram efeito contrário, não se podendo, no entanto, desconsiderar o fato de os animais terem ingerido maior quantidade de kcal proveniente da maior ingestão de dieta.

Tabela 10: Médias de ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA), e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) para diferentes níveis de zinco: 50% ou 100%

NÍVEL	GP (g)	IA (g)	CEA
50%	156,34 a	596,93 a	0,26 a
100%	130,12 b	555,75 b	0,23 b

As médias seguidas com letra diferente, para cada variável, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Hambidge (2000) afirma que uma adaptação homeostática em situações de deficiência de Zn pode ocorrer quando houver uma diminuição limiar, ainda subclínica, mas fisiologicamente importante em um ou mais compartimentos corporais responsáveis pela manutenção do *pool* desse mineral. Lei *et al.* (1996) evidenciaram que alterações na quantidade estimada de Zn no plasma em dois dias se correlacionavam com a ingestão dietética e com a quantidade absorvida do mineral.

Desta forma, um indicativo do que pode ter ocorrido é o fato de que nos grupos Zn 100% a excreção fecal do mineral foi menor quando os animais ingeriram resíduo de milho (Tabelas 11 e 12). Kim *et al.* (2007) observaram aumento na excreção fecal de Zn em mulheres coreanas jovens e idosas, avaliadas por três meses em dois períodos metabólicos utilizando isótopo estável ^{70}Zn como marcador de perdas endógenas, quando ingeriram dietas com relação fitato: Zn alta (>20). No presente estudo as relações foram 0,49 e 0,23 respectivamente para as dietas Zn 50% e Zn 100%, que por serem muito mais baixas, não produziram efeitos neste parâmetro.

Tabela 11: Resumo da Análise de Variância da concentração de zinco nas fezes (FEZZn) em função das fontes de FA alimentar[‡]: celulose ou milho (FONTE)

FV	GL	QUADRADO MÉDIO	
		FEZZn	
FONTE	1	0,56 *	
RESÍDUO	16	0,07	
CV %		47,15	

* - F significativo ao nível de 5%

NS - F não significativo ao nível de 5%

[‡] - Análise apenas em relação à fonte de FA, pois, por se tratarem dos dois grupos comuns ao experimento de biodisponibilidade de cálcio, contendo 100% de zinco, foram os únicos alocados em gaiolas metabólicas.

Tabela 12: Média da concentração de zinco nas fezes (FEZZn) para diferentes fontes de FA alimentar: celulose ou milho

FONTE	FEZZn (mg.g ⁻¹)
CELULOSE	0,74 a
MILHO	0,39 b

As médias diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Pela Tabela 13 verifica-se que não houve efeito da interação FF x N ($p > 0,05$) sobre a concentração de zinco no osso (OSZn), peso do fêmur (PF), comprimento do fêmur (CF), espessura do fêmur (EF) e concentração de zinco eritrocitário (ERIZn). A fonte de FA também não diferiu para estas variáveis, com exceção da concentração de zinco no osso ($p \leq 0,01$), que pela Tabela 14, percebe-se ter sido maior nos grupos que ingeriram celulose.

Tabela 13: Resumo da Análise de Variância da concentração de zinco no osso (OSZn), peso do fêmur (PF), comprimento do fêmur (CF), espessura do fêmur (EF) e concentração de zinco eritrocitário (ERIZn) em função das fontes de FA alimentar: celulose ou milho (FF) e níveis de zinco: 50% ou 100% (N)

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS		GL	QUADRADOS MÉDIOS		GL	QUADRADOS MÉDIOS
		OSZn	PF		CF	EF		ERIZn
FONTE	1	0,0104 **	0,0022 ^{NS}	1	0,02161 ^{NS}	0,0000 ^{NS}	1	21,2900 ^{NS}
NÍVEL	1	0,0108 **	0,0022 ^{NS}	1	0,0954 **	0,0002 ^{NS}	1	6702,5800 **
FF x N	1	0,0021 ^{NS}	0,0001 ^{NS}	1	0,0034 ^{NS}	0,0009 ^{NS}	1	258,6900 ^{NS}
RESÍDUO	32	0,0013	0,0007	30	0,0086	0,0009	31	395,6100
CV %		12,55	9,07		3,24	8,09		47,45

** - F significativo ao nível de 1%

NS - F não significativo ao nível de 5%

Tabela 14: Média da concentração de zinco no osso (OSZn) para diferentes fontes de FA alimentar: celulose ou milho

FONTE	OSZn (mg.g ⁻¹)
CELULOSE	0,30 a
MILHO	0,27 b

As médias diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Os primeiros sintomas da deficiência de zinco na maioria das espécies são crescimento deficiente e redução na ingestão de alimentos por causar supressão do olfato e paladar (KUDO *et al.*, 2000). No entanto, neste estudo não foi observada qualquer diferença ($p > 0,05$) em relação ao peso do fêmur.

O comprimento do fêmur diferiu em relação ao nível de Zn (Tabela 15), no entanto, em termos desconsideráveis clinicamente, já que em se tratando de dimensões de tecidos animais existe uma variação normal entre os indivíduos, determinadas por características próprias (BALLABRIGA, 2000; HUNTER *et al.*, 2001).

Tabela 15: Média do comprimento do fêmur (CF), concentração de zinco no osso (OSZn) e concentração de zinco eritrocitário (ERIZn) para diferentes níveis de zinco: 50% ou 100%

NÍVEL	CF (cm)	OSZn (mg.g ⁻¹)	ERIZn (µgZn.g ⁻¹ Hb)
50%	2,93 a	0,26 b	27,60 b
100%	2,82 b	0,30 a	55,40 a

As médias seguidas com letra diferente, para cada variável, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

O procedimento mais específico para avaliar o estado nutricional relativo ao zinco no organismo é sua quantificação nas células sanguíneas (AMAYA *et al.*, 1997), tanto da série vermelha quanto branca (PERSON *et al.*, 2006). De forma esperada, a concentração de zinco eritrocitário e concentração de zinco no osso foram maiores ($p \leq 0,05$) nos grupos que ingeriram a quantidade recomendada de Zn (30 mg.kg⁻¹ de dieta = 100%). De maneira similar, a fibra alimentar do resíduo de milho não afetou a biodisponibilidade do Zn nestes tecidos, que são também considerados representantes do *pool* deste mineral no organismo. Devido ao fato de que em pessoas com deficiência severa de Zn as concentrações de zinco no plasma estão frequentemente baixas, Gibson (1990) sugere sua utilização para diagnóstico de deficiência, também reportada por Favaro e Vannucchi no mesmo ano. Por isso, a concentração de Zn no

plasma foi analisada, no entanto as leituras não foram sensíveis em sua detecção, talvez em virtude do pequeno volume de plasma (150 µL) que foi disponibilizado para estas análises. No entanto, o uso deste parâmetro para diagnóstico de deficiência de Zn parece não ser muito sensível, como demonstrou Sandström (1997), em estudo no qual níveis de Zn presentes em uma refeição não mudaram suas concentrações totais no plasma. Dessa forma, concentrações baixas de zinco plasmático não devem ser consideradas como único diagnóstico de deficiência, pois se sabe que a concentração de zinco no plasma pode ser influenciada por outras variáveis, como infecção, inflamação, medicamentos e jejum.

Um fator importante na redução da biodisponibilidade de Zn seria o teor de fitato no produto (LESTIENNE *et al.*, 2005; MOURA e CANNIATTI-BRAZACA, 2006), que em dietas americanas, são provenientes principalmente de cereais (ELLIS *et al.*, 1987). Embora seja um dado difícil de obter em populações, estima-se que a ingestão média de fitato por homens norteamericanos gire em torno de 750 mg.dia⁻¹, e de 600 mg.dia⁻¹ para as mulheres, ficando entre 600 – 800 mg.dia⁻¹ no Reino Unido (ELLIS *et al.*, 1987).

Os fitatos, quando associados a minerais, formam sais pouco solúveis, pobremente absorvidos no trato gastrointestinal (SANDBERG, 2002). Segundo Ellis *et al.* (1987), esta interferência deve ser avaliada em termos das razões milimolares fitato: Zn e fitato x Ca: Zn, que parecem reduzir a biodisponibilidade de Zn quando maiores que 10 e 200 respectivamente. Entretanto, Hansen *et al.* (1996), estudando em ratos o efeito da proteína do leite na absorção de zinco e cálcio em preparações contendo fitato, não encontraram correlação entre a razão molar fitato/mineral e absorção de mineral.

Da análise de composição centesimal foi constatado seu baixo teor no resíduo de milho (1,97 µmol Fitato.g⁻¹), apresentando razão milimolar fitato: Zn igual a 5,18 e fitato x Ca: Zn de 40,48. Esta informação seria relevante caso o resíduo de milho fosse a única fonte de Zn e Ca na alimentação dos animais, o que não foi o caso, sendo fonte exclusiva apenas de fitato. Nas dietas Zn 50% (Zn = 0,27 µmol.g⁻¹) as razões foram 0,49 e 61,57; e nas Zn 100% (Zn = 0,57 µmol.g⁻¹), 0,23 e 29,16, respectivamente para razões fitato: Zn e fitato x Ca: Zn, estando todos abaixo dos valores críticos referenciados. Estes dados podem justificar a ausência de efeito do produto testado em parâmetros ósseos e principalmente na concentração de Zn eritrocitário, uma vez que o prejuízo que

alimentos ricos em fibra alimentar exercem na biodisponibilidade de minerais se deve mais ao seu conteúdo de fitato que à fibra alimentar em si.

O Ca atua acentuando o efeito do fitato na redução da biodisponibilidade de Zn. No entanto, esta interação necessita ainda ser mais bem estudada, considerando que, em estudo recente, Hunt e Beiseigel (2009) não encontraram qualquer interferência de Ca em dietas com conteúdo moderado (700 mg.dia^{-1}) e alto (1800 mg.dia^{-1}) do mineral associado a baixo (440 mg.dia^{-1}) ou alto (1800 mg.dia^{-1}) teor de fitato, sendo a absorção avaliada nas 10 mulheres participantes do estudo por meio de ^{65}Zn marcado extrinsecamente nas dietas.

Hambidge *et al.* (2004) não encontraram diferença na absorção fracional de Zn, em estudo com homens saudáveis utilizando isótopos estáveis, quando a razão fitato: zinco foi igual a 7. Entretanto, evidenciaram, por meio de regressão não linear, uma relação negativa entre a absorção fracional e a razão fitato: Zn ($p \leq 0,001$). Em outro estudo, utilizando ^{67}Zn como marcador oral e ^{70}Zn como marcador intravenoso, 42 mulheres mexicanas foram acompanhadas visando-se avaliar também a absorção fracional de Zn, desta vez proveniente de quatro diferentes sais fontes de zinco. Apesar de as dietas apresentarem relação fitato: Zn igual a 17, nenhuma diferença foi observada ($p > 0,05$) (HOTZ *et al.*, 2005).

Finalmente, deve-se ressaltar que apesar de os ratos não serem o modelo quantitativo ideal para a avaliação da biodisponibilidade de zinco em humanos, podem ser usados para obter estimativas qualitativas de sua biodisponibilidade (HOUSE *et al.*, 2002), já que questões éticas e financeiras dificultam a experimentação com seres humanos.

Diferenças nas enzimas intestinais e atividade microbiana, anatomia intestinal e fisiologia são provavelmente as limitações para extrapolar a biodisponibilidade avaliada em modelos animais. Sendo assim, a quantidade total absorvida nos ratos é geralmente mais elevada que em humanos, o que poderia indicar que os mecanismos de absorção diferem (SANDSTRÖM, 1997).

5.4 Conclusão

Diferenças nas análises, relativas tanto aos níveis de cálcio, quanto aos de zinco ingeridos, eram esperadas e corresponderam a situações fisiológicas normais do organismo. Exceção se faz ao ganho de peso que foi maior para ingestão de 50% de zinco.

Observou-se comportamento semelhante das variáveis estudadas quando confrontadas com as duas diferentes fontes de FA (celulose e resíduo de milho), ressaltando apenas que a concentração de zinco no fêmur foi menor nos grupos tratados com resíduo de milho.

O resíduo fibroso de milho mostrou ser uma fonte potencial de fibras alimentares insolúveis, com baixo conteúdo em fitato. Observou-se que os conteúdos de fitato e fibra alimentar não estiveram associados ao prejuízo na biodisponibilidade de cálcio e zinco nas dietas testadas. Desta forma, por já serem bem conhecidos os benefícios que a ingestão regular de fibras alimentares promove à saúde, ratifica-se a necessidade de se encontrarem fontes alimentares alternativas para este nutriente que sejam acessíveis às populações, principalmente onde sua ingestão se encontre abaixo das recomendações. Ademais, a utilização do resíduo pode contribuir para o melhor aproveitamento desse sub-produto na alimentação humana e reduzir o impacto ambiental do seu descarte.

Com base nestes resultados, o produto aqui proposto parece ser indicado a este propósito, sendo, para isso, necessário que se avaliem seus efeitos também em outros micronutrientes e nos macro, preocupando-se ainda em analisar parâmetros bioquímico-metabólicos que respaldem a recomendação de seu uso como fonte de fibra alimentar benéfica para a saúde humana.

Portanto, a fibra alimentar de resíduo de milho pode constituir uma boa alternativa para incrementar a ingestão deste nutriente na alimentação humana sem causar prejuízos à biodisponibilidade de cálcio e zinco.

5.5 Referências bibliográficas

AHMED, R. L.; SCHMITZ, K. H.; ANDERSON, K. E.; ROSAMOND, W. D.; FOLSOM, A.R. The metabolic syndrome and risk of incident colorectal cancer. **Câncer**, v.107, p.28–36, 2006.

AMAYA, D., URRIETA, R., GIL, N., MOLANO, N., MEDRANO, I., CASTEJÓN, H. Valores de zinco plasmático en una población infantil marginal de Maracaibo, Venezuela. **Arch Latinoam Nutr**, v.47, n.1, p.23-28, 1997.

ANGIOLONI, A.; COLLAR, C. Small and large deformation viscoelastic behaviour of selected fibre blends with gelling properties. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.742-748, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Washington, DC; 14 ed.; 1141p., 1984.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Washington, D.C; p.800-801; 1105-1106, 1990.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Maryland, 16 ed., v.2, 1997.

AVEWORLD. **Dados agrícolas**. Disponível em: <http://www.aveworld.com.br/index.php/documento/6189>, acesso em 17/04/2009.

BALLABRIGA, A. Morphological and physiological changes during growth: an update. **Eur. J. Clin. Nutr.**, London, v.54, (suppl. 1), p.S1-S6, 2000.

BEHALL, K. M.; SCHOLFIELD, D. J.; LEE, K.; POWELL, A. S.; MOSER, P. B. Mineral balance in adult men: effect of four refined fibers. **Am J Clin Nutr**, v.46, p.307-14, 1987.

BOSSCHER, D., VAN, M., DEELSTRA, H. Effect of thickening agents, based on soluble dietary fiber, on the availability of calcium, iron, and zinc from infant formulas. **Nutr**, v.17, p.614-618, 2001.

BOSSCHER, D., VAN, M., VAN, R., DEELSTRA, H. Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. **Nutr**, v.19, p.641-645, 2003.

BOUILLON, R.; CARMELIET, G.; CROMPHAUT, S. F. Intestinal Calcium Absorption: Lessons from Knockout Mice and Men. *In*: FELDMAN *et al.* **Vitamin D**, 2 ed. Elsevier, Inc, 2005.

BROWN, K. H.; PEERSON, J. M.; ALLEN, L. H. Effect of zinc supplementation on children's growth: a meta-analysis of intervention trials. *In*: SANDSTROM, B.; WALTER, P., eds. **Role of trace elements for health promotion and disease prevention**. University of California at Davis, Davis, CA. p.76–83, 1998.

BRUNE, M.; ROSSANDER-HULTÉN, L.; HALLBERG, L.; GLEERUP, A.; SANDBERG, A. S. Iron absorption from bread in humans: inhibiting effects of cereal fiber, phytate

- and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. **J Nutr**, v.122, p.442-449, 1992.
- BUZINARO, E. F.; ALMEIDA, R. N. A.; MAZETO, G. M. F. S. Biodisponibilidade do cálcio dietético. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.50, n.5. p.852-861, 2006.
- CALLEGARO, M. G. K.; DUTRA, C. B.; HUBER, L. S.; BECKER, L. V.; ROSA C. S.; KUBOTA E. H.; HECKTHEUR, L. H. Determinação da fibra alimentar insolúvel, solúvel e total de produtos derivados do milho. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.25, n.2, p.271-274, 2005.
- CANTERO, B. B. Estudio sobre el mecanismo de acción del zincum metalico. **La Homeopatía de México**. v.1, p.2-14, 1989.
- CASHMAN, K. D. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. **Brit J Nutr**, Cambridge, v.87, (suppl. 2), p.S169-S177, 2002.
- CHAPURLAT, R. D.; PALERMO, L.; RAMSAY, P.; CUMMINGS, S. R. Risk of fracture among women who lose bone density during treatment with alendronate. The Fracture Intervention Trial. **Osteoporos Int**, v.15, p.842-8, 2005.
- CHESTERS, J. Zn. In: O'DELL, B. L, SUNDE, R. (Eds). **Handbook of Nutritional Essential Mineral Elements**, Missouri, p.185-230, 1997.
- DAVY, B. M.; MELBY, C. L. The effect of fiber-rich carbohydrates on features of syndrome X. **J Am Diet Assoc**, v.103, p.86-96, 2003.
- DELZENNE, N. M.; CANI, P. D. A place for dietary fibre in the management of the metabolic syndrome. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v.8, p.636-40, 2005.
- ELLIS, R.; KELSAY, J. L.; REYNOLDS, R. D.; MORRIS, E. R.; MOSER, P. B.; FRAZIER, C. W. Phytate:zinc and phytate x calcium:zinc milimolar ratios in self-selected diets of Americans, Asian Indians, and Nepalese. **J Am Diet Assoc**, v.87, n.8, p.1043-47, 1987.
- FAVARO, R. M. D.; VANNUCCHI, H. Níveis plasmáticos de zinco e antropometria de crianças da periferia de centro urbano no Brasil. **Rev Saúde Pub**, (São Paulo), v.24, n.1, p.5-10, 1990.
- FRANCO, F. S. C. **Efeitos da ovariectomia, ingestão de cafeína e exercício aeróbico associado à adequação ou não de cálcio alimentar na composição corporal, no tecido ósseo e no balanço de cálcio em ratas**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, 2009.
- FUKUSHIMA, A. et al. Expression of calbindin-D9k, VDR and Cdx-2 messenger RNA in the process by wich fructooligosaccharides increase calcium absorption in rats. **J Nutr Sci Vitaminol**, Tóquio, v.51, n.6, p.426-32, 2005.
- GALISTEO, M.; DUARTE, J.; ZARZUELO, A. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. **J Nutr Biochem**, v.19, p.71-84, 2008.
- GIBSON, R. **Principles of Nutritional Assessment**. Oxford. Estados Unidos. Primeira edição, 1990.

GIUNTINI, E. B.; LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. Potencial de fibra alimentar em países ibero-americanos: alimentos, produtos e resíduos. **Arch Latinoam Nutr**, v.53, n.1, 2003.

GOMES J.C.; SILVA, M.H.L.; SILVA, C.O. **Análise de Alimentos**. 2ª ed. Revisada e Ampliada. FUNARBE. Viçosa, 153p. 2003.

GONZÁLEZ, F.D.; SILVA, S.C. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 198 p., 2003.

GUSTAFSSON, E., SANDBERG, A. Phytate reduction in brown beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J Food Sci**, v.60, p.149-152, 1995.

HAMBIDGE, K. M.; HUFFER, J. W.; RABOY, V.; GRUNWALD, G. K.; WESTCOTT, J. L.; SIAN, L.; MILLER, L. V.; DORSCH, J. A.; KREBS, N. F. Zinc absorption from low-phytate hybrids of maize and their wild-type isohybrids. **Am J Clin Nutr**, v.79, p.1053–9, 2004.

HAMBIDGE, M. Human Zinc Deficiency. **J Nutr**, v.130, p.1344S—1349S, 2000.

HANSEN, M., SANDSTROM, B., LONNERDAL, B. The effect of casein phosphopeptides on zinc and calcium absorption from high phytate infant diets assessed in rat pups and caco-2 cells. **Pediatric Research**, Baltimore, v.40, n.4, p.547-552, 1996.

HEANEY, R. P. Bone health. **Am J Clin Nutr**, v.85, p.300S–3S, 2007.

HEANEY, R. P. Calcium needs of the elderly to reduce fracture risk. **J Am Coll Nutr**, v.20, p.192S-197S, 2001.

HOTZ, C.; DEHAENE, J.; WOODHOUSE, L. R.; VILLALPANDO, S.; RIVERA, J. A.; KING, J. C. Zinc absorption from zinc oxide, zinc sulfate, zinc oxide _ edta, or sodium-zinc edta does not differ when added as fortificants to maize tortillas. **J Nutr**, v.135, p.1102–1105, 2005.

HOUSE, W. Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. **Field Crops Res**, v.60, p.115-141, 1999.

HOUSE, W., WELCH, R., BEEBE, S., CHENG, Z. Potential for increasing the amounts of bioavailable zinc in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L) through plant breeding. **J Sci Food Agric**, v.82. p.1452-1457, 2002.

HUNT, J. R.; BEISEIGEL, J. M. Dietary calcium does not exacerbate phytate inhibition of zinc absorption by women from conventional diets. **Am J Clin Nutr**, v.89, p.839-843, 2009.

HUNTER, D.; DE LANGE, M.; SNIEDER, H.; MACGREGOR, A. J.; SWAMINATHAN, R.; THAKKER, R. V.; SPECTOR, T. D. Genetic contribution to bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation. **J Bone Min Res**, v.16, p.371-378, 2001.

JONES, G.; STRUGNELL, S. A.; DELUCA, H. F. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. **Physiol Rev**, Baltimore, v.78, n.4, p.1193-1231, 1998.

- KIM, J.; PAIK, H. Y.; JOUNG, H.; WOODHOUSE, L. R.; LI, S.; KING, J. C. Effect of dietary phytate on zinc homeostasis in young and elderly Korean women. **J Am Coll Nutr**, v.26, n.1, p.1–9, 2007.
- KOURY, J.; DONANGELO, C. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Rev Nutr**, Campinas, v.16, n.4, p.433-441, 2003.
- KUDO, H., DOI, Y., NISHINO, T., NARA, S., HAMASAKI, K., FUJIMOTO, S. Dietary zinc deficiency decreases glutathione S-transferase expression in the rat olfactory epithelium. **J Nutr**, v.130, n.1, p.38-44, 2000.
- LEI, S.; XIANG, M.; MILLER, L. V.; KREBS, N. F.; LEI, T.; HAMBIDGE, K. M. Zinc absorption and intestinal losses of endogenous zinc in young Chinese women with marginal zinc intake. **Am J Clin Nutr**, v.63, p.348–353, 1996.
- LESTIENNE, I., ICARD-VERNIÈRE, C., MOUQUET, C., PICQ, C., TRÈCHE, S. Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chem**, v.89, p.421-425, 2005.
- LOBAUGH, B. Blood calcium and phosphorus regulation. In: ANDERSON, J. J. B.; GARNER, S. C. eds. **Calcium and phosphorus in health and disease**. Florida: CRC Press, p.27-43, 1996.
- LOPES FILHO, J. F. Avaliação da maceração dinâmica do milho após um curto período de hidratação e subsequente quebra do pericarpo do grão. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.19, n.3, 1999.
- LOUIE, D. Intestinal bioavailability and absorption of calcium. In: ANDERSON, J. J. B.; GARNER, S. C. eds. **Calcium and phosphorus in health and disease**. Florida: CRC Press., p.45-62, 1996.
- MA, G.; JIN, Y.; PIAO, J.; KOK, F.; GUUSJE, B.; JACOBSEN, E. Phytate, calcium, iron, and zinc contents and their molar ratios in foods commonly consumed in China. **J Agric Food Chem**, v.53, p.10285-10290, 2005.
- MANN, J. I.; CUMMINGS, J. H. Possible implications for health of the different definitions of dietary fibre. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v.19, p.226-229, 2009.
- MARLETT, J. A.; MCBURNEY, M. I.; SLAVIN, J. L. Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber. **J Am Diet Assoc**, v.102, p.993-1000, 2002.
- MARTÍNEZ DOMÍNGUEZ, B.; GÓMEZ, M, V, I.; LEÓN, F. R. Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Arch Latinoam Nutr**, v.52, n.3, p.219-231, 2002.
- MARTINEZ-VALVERDE, I., PERIAGO, M., ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Arch Latinoam Nutr**, v.50, n.1, p.5-18, 2000.
- MARTINO, H. S. D.; MARTIN, B. M.; WEAVER, C. M.; BRESSAN, J.; ESTEVES, E.A.; COSTA, N.M.B. Zinc and Iron Bioavailability of Genetically Modified Soybeans in Rats. **J Food Sci**, v.72, n.9, p.2413-2420, 2007.
- MOURA, N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.26, n.2, p.270-276, 2006.

- MOURÃO, D. M.; SALES, N. S.; COELHO, S. B.; PINHEIRO-SANTANA, H. M. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Rev nutr**, v.18, n.4, p.529-539, 2005.
- O'DELL, B. L.; BOLAND, A. R.; KOIRTYOHANN, S. R. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. **J Agr Food Chem**, v.20, n.3, 1972.
- OLIVEIRA, J. P.; CHAVES, L. J.; DUARTE, J. B.; BRASIL, E. M.; FERREIRA JUNIOR, L. T.; RIBEIRO, K. O. Teor de proteína no grão em populações de milho de alta qualidade protéica e seus cruzamentos. **P A T**, v.34, n.1, p.45-51, 2004.
- PAES, M.C.D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Circular Técnica, 75 – EMBRAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2006.
- PARELMAN, M.; STOECKER, B.; BAKER, A.; MEDEIROS, D. Iron restriction negatively affects bone in female rats and mineralization of hFOB osteoblast cells. **Biol Med**, v.231, p.378–386, 2006.
- PERSON, O. C.; BOTTI, A. S.; FÉRES, M. C. L. C. Repercussões clínicas da deficiência de zinco em humanos. **Arq Med ABC**, v.31, n.1, p.46-52, 2006.
- PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. P. **Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz**. São Paulo: Instituto Adolf Lutz, 533p., 1985.
- PROSKY, L., ASP, N., SCHWEIZER, T. DEVRIES, J. FURDA, I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products. Interlaboratory study. **J Assoc Off Anal Chem**, v.71, n.5, p.1017-1023, 1988.
- RAMÍREZ-CÁRDENAS, L.; LEONEL, A. J.; COSTA, N. M. B. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.28, n.1, p.200-213, 2008.
- RAUPP, D. S.; MARQUES, S. H. P.; ROSA, D. A.; CALDI, C. M.; CREMASCO, A. C. V.; BANZATTO, D. A. Arraste via fecal de nutrientes da ingestão produzido por bagaço de mandioca hidrolisado. **Scientia Agrícola**, São Paulo, v.59, n.2, p.235-242, 2002.
- REEVES, P., NIELSEN, F., FAHEY, G. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN - 76 A Rodent Diet. **J Nutr**, v.123, p.1939–1951, 1993.
- RODRÍGUEZ, M. S.; MONTERO, M.; STAFFOLO, M. D.; MARTINO, M.; BEVILACQUA, A. ALBERTENGO, L. Chitosan influence on glucose and calcium availability from yogurt: *In vitro* comparative study with plants fibre. **Carbohydrate Polymers**, v.74, p.797–801, 2008.
- SAHYOUN, N. R.; JACQUES, P. F.; ZHANG, X. L.; JUAN, W.; MCKEOWN, N. M. Whole-grain intake is inversely associated with the metabolic syndrome and mortality in older adults. **Am J Clin Nutr**, v.83, p.124-31, 2006.
- SANDBERG, A. Bioavailability of minerals in legumes. **Brit J Nutr**, v.88. Suppl. 3. S281-S285, 2002.

- SANDBERG, A., AHDERINNE, R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, hexaphosphates in foods and intestinal contents. **J Food Sci**, v.51, p.547-550, 1986.
- SANDSTRÖM, B. Bioavailability of zinc. **Eur J Clin Nutr**, v.51, Suppl. 1, p.S17-S19, 1997.
- SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Rev Nutr**, Campinas, v.12, n.1, p.5-19, 1999.
- TIMM, C. D. Carências Minerais. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M. del C. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. Editora Universitária/UFPel, Pelotas, RS. p.505-512, 1998.
- VENN, B. J.; MANN, J. I. Cereal grains, legumes and diabetes. **Eur J Clin Nutr**, v.58, p.1443-61, 2004.
- VIZEU, V. E.; FEIJÓ, M. B. S.; CAMPOS, R. C. Determinação da composição mineral de diferentes formulações de multimistura. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.25, n.2, p.254-258, 2005.
- WEAVER, C. M.; PEACOCK, M.; MARTIN, B. R.; PLawecki, K. L. MCCABE, G. P. Calcium retention estimated from indicators of skeletal status in adolescent girls and young women. **Am J Clin Nutr**, v.64, p.67-70, 1996.
- WEISS, J. H.; SENSI, S. L.; KOH, J. Y. Zn²⁺: a novel ionic mediator of neural injury in brain disease. **TIPS**, v.21, p.395-401, 2001.
- WHITEHOUSE, *et al.* Zinc in plasman neutrophilis, lymphocytes and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. **Clin Chem**, v.28, n.3, p.475-80, 1982.
- YOUNG, V. R. **Re-examination of the concept of bioavailability**. Wageningen International Conference: Bioavailability'97, 1998.
- ZHENG, Y.; ZHOU, H.; MODZELEWSKI, J. R. K.; KALAK, R.; BLAIR, J. M.; SEIBEL, M. J.; DUNSTAN, C. R. Accelerated bone resorption, due to dietary calcium deficiency, promotes breast cancer tumor growth in bone. **Cancer Res**, v.67, n.19, p.9542-8, 2007.

ANEXO 1

Valores de média* das variáveis analisadas em cada grupo para dois diferentes níveis de cálcio.

FONTE DE FA E NÍVEIS DE Ca (%)	GP (g)	IA (g)	CEA	FIG (%)	PF (g)	CF (cm)	EF (cm)
CELULOSE (50%)	134,10	538,10	0,25	3,62	0,27	2,81	0,38
CELULOSE (100%)	139,44	559,62	0,25	3,62	0,29	2,81	0,38
MLHO (50%)	165,70	615,76	0,27	3,79	0,31	2,95	0,37
MLHO (100%)	120,80	551,90	0,22	3,86	0,31	2,84	0,39

* As médias se referem a 10 observações em cada grupo, com exceção do grupo celulose 100% Ca, no qual se referem a 9 observações.

Ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA), coeficiente de eficiência alimentar (CEA), relação hepato-somática (FIG), peso do fêmur (PF), comprimento do fêmur (CF) e espessura do fêmur (EF).

ANEXO 2

Valores de média* das variáveis analisadas em cada grupo para dois diferentes níveis de cálcio.

FONTE DE FA E NÍVEIS DE Ca (%)	OSCa (mg.g⁻¹)	FEZCa (mg.g⁻¹)	PLCa (mg/dL)	BCa (mg.dia⁻¹)	ABSCa (%)	RETCa (%)
CELULOSE (50%)	116,97	3,26	8,29	17,16	17,09	16,87
CELULOSE (100%)	122,03	19,11	5,22	19,28	11,39	9,82
MLHO (50%)	171,65	2,59	8,77	21,47	17,97	17,70
MLHO (100%)	163,19	21,44	4,68	12,40	9,48	9,00 ±

* As médias se referem a 10 observações em cada grupo, com exceção do grupo celulose 100% Ca, no qual se referem a 9 observações.

Concentração de cálcio por grama de osso (OSCa), concentração de cálcio por grama de fezes (FEZCa), concentração de cálcio no plasma (PLCa), balanço diário de cálcio (BCa), absorção diária de cálcio (ABSCa) e retenção diária de cálcio (RETCa).

ANEXO 3

Valores de média* das variáveis analisadas em cada grupo para dois diferentes níveis de zinco.

FONTE DE FA E NÍVEIS DE Zn (%)	GP (g)	IA (g)	CEA	FIG (%)	PF (g)	CF (cm)	EF (cm)	OSZn (mg.g⁻¹)	FEZZn (mg.g⁻¹)	ERIZn (µg.g⁻¹ Hb)
CELULOSE (50%)	150,25	581,29	0,26	3,40	0,31	2,90	0,38	0,29	-	31,12
CELULOSE (100%)	139,44	559,62	0,25	3,62	0,29	2,81	0,38	0,31	0,75	53,46
MLHO (50%)	162,44	621,58	0,26	3,40	0,32	2,97	0,37	0,24	-	24,10
MLHO (100%)	120,8	551,90	0,22	3,86	0,31	2,84	0,39	0,3	0,39	57,35

* As médias se referem a 8 observações no grupo Celulose 50% Zn; 9 observações em Celulose 100% Zn; 9 observações em Milho 50% Zn e 10 observações em Milho 100% Zn.

Ganho de peso (GP), ingestão alimentar (IA), coeficiente de eficiência alimentar (CEA), relação hepato-somática (FIG), peso do fêmur (PF), comprimento do fêmur (CF), espessura do fêmur (EF), concentração de zinco por grama de osso (OSZn), concentração de zinco por grama de fezes (FEZZn) e concentração de zinco eritrocitário (ERIZn).

6. CONCLUSÃO GERAL

Com 73,4% de FAT, o resíduo fibroso de milho mostrou-se uma fonte potencial de fibras alimentares insolúveis. De forma positiva, revelou ser um produto normocalórico, com densidade de $1,2 \text{ kcal.g}^{-1}$, mostrando-se também pobre em relação ao fator antinutricional fitato.

Ao apresentar VRB igual a 104%, o produto em teste confirmou não exercer efeito sobre a biodisponibilidade do ferro.

Diferenças nas análises, relativas tanto aos níveis de cálcio quanto aos de zinco ingeridos, eram esperadas e corresponderam a situações fisiológicas normais do organismo. Exceção se faz ao ganho de peso que foi maior para ingestão de 50% de zinco.

Observou-se comportamento semelhante das variáveis estudadas quando confrontadas com as duas diferentes fontes de FA (celulose e resíduo de milho), ressaltando apenas que a concentração de zinco no fêmur foi menor nos grupos tratados com resíduo de milho. Constatou-se, pois, que os conteúdos de fitato e fibra alimentar não estiveram associados a efeitos negativos na biodisponibilidade de cálcio, ferro e zinco nas dietas testadas.

Por serem conhecidos os benefícios que a ingestão regular de fibras alimentares promove à saúde, ratifica-se a necessidade de se encontrarem fontes alimentares alternativas para este nutriente e que sejam acessíveis às populações, principalmente onde sua ingestão se encontre abaixo das recomendações. Ademais, a utilização do resíduo pode contribuir para o melhor aproveitamento desse sub-produto na alimentação humana e reduzir o impacto ambiental do seu descarte.

Com base nos resultados encontrados, o produto aqui proposto parece ser indicado a este propósito, considerando-se que mais estudos devem ser delineados e conduzidos para avaliar sua influência sobre a biodisponibilidade de macro e micronutrientes e também sobre parâmetros bioquímico-metabólicos. Portanto, a fibra alimentar de resíduo de milho pode constituir uma boa alternativa para incrementar a ingestão deste nutriente na alimentação humana sem causar prejuízos à biodisponibilidade de cálcio, ferro e zinco.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)