

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE PLANEJAMENTO ALIMENTAR E NUTRIÇÃO

ESTUDO DO VALOR NUTRITIVO MINERAL
DO FARELO DE ARROZ. UTILIZAÇÃO DO ZINCO, FERRO, COBRE,
E CÁLCIO PELO RATO EM CRESCIMENTO.

Semíramis Martins Álvares Domene
Nutricionista

Orientador: Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán

PARECER

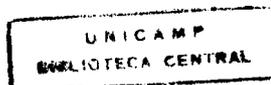
Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por SEMÍRAMIS MARTINS ÁLVARES DOMENE e aprovada pela Comissão Julgadora em 10 de abril de 1996.

Campinas, 10 de abril de 1996.


PROF. DR. JAIME AMAYA-FÁRFAN
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos para obtenção do título de Doutor em Ciência da Nutrição.

Campinas, 1996.



D712e Domene, Semíramis Martins Álvares
Estudo do valor nutritivo mineral do farelo de arroz. Utilização do zinco, ferro, cobre e cálcio pelo rato em crescimento / Semíramis Martins Álvares Domene. -- Campinas, SP: [s.n.], 1996.

Orientador: Jaime Amaya-Farfán
Tese (doutorado)-Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Farelo de arroz. 2.*Minerais. 3.Zinco. 4.Cálcio. 5.Ácido fítico. 6.*Biodisponibilidade. I.Amaya-Farfán, Jaime. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA:	UNICAMP
	D712e
	Ex.
	BC/27591
	667196
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 14,00
DATA	03/05/96
Nº CPO	

Banca Examinadora

Tese defendida e aprovada em 10 de Abril de 1996, pela Banca Examinadora
constituída pelos professores:



Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán
(orientador)



Profa. Dra. Célia Colli
(membro)



Profa. Dra. Débora de Queiroz Tavares
(membro)



Profa. Dra. Márcia Regina Vítolo
(membro)

Prof. Dr. Ricardo Gonçalves Coelho
(membro)



Profa. Dra. Sophia C. Szarfarc
(membro)

Profa. Dra. Thaís Borges Cesar
(membro)

Para Cesar, Marina
e Cesinha, por ordem de chegada,
e para Francisco e Therezinha, meus pais.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán, pela orientação competente e pelo apoio.

À IRGOVEL - Indústria Riograndense de Óleos Vegetais, pela cessão do farelo de arroz.

À Dra. Maria Fernanda Gine Rosias, da Seção de Química Analítica, e ao Dr. Takashi Muraoka, da Seção de Fertilidade do Solo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, pelas análises de minerais.

À Dra. Dilza Mantovani e ao Dr. Marcelo Morgano, do Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada do Instituto de Tecnologia de Alimentos, pelas análises de minerais.

À Srta. Eliete de Carvalho, do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição, pelo apoio técnico durante a execução dos ensaios biológicos.

Ao Laboratório de Cereais do Dept^o. de Tecnologia de Alimentos, em especial aos Srs. Valdeci Pereira dos Santos e Nilo Marques, pelo auxílio na utilização dos equipamentos para processamento do farelo e dietas experimentais.

Ao Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA/UNICAMP), em especial à Profa. Dra. Maria Antônia Martins Galeazzi e ao Prof. Dr. Antônio José de Almeida Meirelles, pela utilização de material, equipamentos e instalações durante a fase de laboratório.

Às Srtas. Cristiane Alfredo e Margareth Randi Moraes, da Secretaria de Pós-Graduação, pelo apoio e eficiência na tramitação referente ao encaminhamento da tese.

À Carla e à Iná, pela paciência durante a fase de trabalho no Laboratório de Química de Proteínas.

Ao Departamento de Alimentos e T. Alimentos, Curso de Nutrição, Faculdade de Ciências Médicas, PUCCAMP, pela concessão do afastamento durante a fase final de trabalho, e ao Prof. Roberto Fernandes Júnior, que assumiu as disciplinas sob minha responsabilidade neste período.

À Fundação de Apoio ao Ensino e à Pesquisa (FAEP/UNICAMP) pelo apoio financeiro.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa durante o período de afastamento da PUCCAMP.

À Hilda R. Torin, pela colaboração técnica e amizade incondicionais, sem as quais não teríamos superado as diversas dificuldades experimentadas durante a realização deste projeto de investigação.

A todos os professores e pesquisadores cuja experiência e colaboração foram preciosos durante o desenvolvimento do projeto, em especial à Dra. Olga Maria Silvério Amâncio e à Dra. Suzana de Souza Queiroz, da Escola Paulista de Medicina - Universidade Federal de São Paulo, ao Dr. José Eduardo Dutra de Oliveira, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

Aos professores membros da Banca Examinadora, que emprestaram sua qualificação para a revisão e discussão do trabalho, aperfeiçoando-o de maneira expressiva.

Aos amigos, que trouxeram alegria e conforto em diversos momentos, em especial Erna, Yolanda, Maricilda, Ruth, Margareth, Andréa, Mabel, Paula, Cláudia. Luís, Lucas, Rodrigo, Anita, Arlinda, Myriam, Angélica e Rosa.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
INTRODUÇÃO	1
1. REVISÃO DA LITERATURA.....	4
1.1. Farelo de arroz como alimento.....	4
1.2. Ácido fítico e sua ação em sistemas alimentares.....	10
1.2.1. Sistemas adaptativos a dietas com ácido fítico: a ação de fitases endógenas e do processamento	14
1.3. A avaliação nutricional de minerais.....	16
1.4. Alguns aspectos referentes aos minerais zinco, ferro, cobre e cálcio	18
1.4.1. Zinco.....	18
1.4.2. Ferro	19
1.4.3. Cobre	21
1.4.4. Cálcio.....	22

1.4.5. Interações diversas entre minerais.....	23
2. OBJETIVOS	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1. Matéria prima.....	26
3.2. Lavagem dos utensílios e vidraria	27
3.3. Dietas	27
3.4. Ensaio biológico	31
3.5. Determinações químicas	31
3.5.1. Composição centesimal	32
3.5.2. Determinação do conteúdo mineral.....	32
3.5.3. Determinação do conteúdo de fitato	33
3.5.4. Inibidor de Tripsina.....	34
3.6. Análise Estatística	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1. Determinações químicas	35
4.1.1. Fatores antinutricionais	35
4.1.2. Proteína bruta, lípidos, umidade, cinzas e fibra alimentar do farelo de arroz.	37

4.1.3. Composição mineral do farelo de arroz	40
4.1.4. Composição centesimal das dietas experimentais	41
4.1.5. Composição mineral das dietas.....	46
4.2. Ensaio biológico	50
4.2.1. Dados de crescimento.....	50
4.2.2. Deposição hepática de zinco.....	62
4.2.3. Estudo das razões molares (RMs) e relação entre os indicadores eficiência alimentar e conteúdo hepático de zinco	71
5. CONCLUSÕES.....	79
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Formulação da dieta basal.....	28
Tabela 2. Protocolo de tratamentos para formulação mineral das dietas. Os valores percentuais expressam os níveis de suplementação em relação ao requerimento do animal.....	30
Tabela 3. Composição do farelo de arroz (g/100g). Valores médios e desvios-padrão de três análises.....	39
Tabela 4. Conteúdo em fibra alimentar solúvel, insolúvel e total do farelo de arroz (g/100g). Valores médios e desvios-padrão	39
Tabela 5. Composição centesimal das dietas experimentais. Valores médios e desvios-padrão para três determinações.....	44
Tabela 6. Conteúdo de zinco, ferro, cobre e cálcio das dietas experimentais. Valores médios e erros-padrão de duas determinações	47
Tabela 7. Ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar obtidos de animais alimentados com as dietas com suplementação singular de zinco, ferro, cobre ou cálcio, na concentração correspondente a 50 e 100% do requerimento do rato. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais	51
Tabela 8. Ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar obtidos de animais alimentados com dietas suplementadas com zinco e combinações deste com ferro, cobre e cálcio. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.....	54
Tabela 9. Ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar obtidos de animais alimentados com as dietas suplementadas com ferro e combinações	

deste com zinco, cobre e cálcio. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.....	56
Tabela 10. Ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar obtidos de animais alimentados com as dietas suplementadas com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio em combinações binárias. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.....	58
Tabela 11. Ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar obtidos de animais alimentados com as dietas suplementadas com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio em combinações ternárias, e combinação dos quatro. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais	61
Tabela 12. Peso seco do tecido hepático e conteúdo de zinco obtidos de animais alimentados com as dietas com suplementação singular de zinco, ferro, cobre ou cálcio, na concentração correspondente a 50 e 100% do requerimento do rato. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais	63
Tabela 13. Peso seco do tecido hepático e conteúdo de zinco obtidos de animais alimentados com dietas suplementadas com zinco e combinações deste com ferro, cobre e cálcio. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.....	65
Tabela 14. Peso seco do tecido hepático e conteúdo de zinco obtidos de animais alimentados com dietas suplementadas com ferro e combinações deste com zinco, cobre e cálcio. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.....	66
Tabela 15. Peso seco do tecido hepático e conteúdo de zinco obtidos de animais alimentados com as dietas suplementadas com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio em combinações binárias. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.....	68

Tabela 16. Peso seco do tecido hepático e conteúdo de zinco obtidos de animais alimentados com as dietas suplementadas com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio em combinações ternárias, e combinação dos quatro. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais..... 69

Tabela 17. Razões molares (fitato:zinco) e [cálcio x fitato]:zinco das dietas Basal, Zn-50, Zn-100, Ca-50, Ca-100, ZnCa e Completa..... 72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de processamento para obtenção do farelo de arroz	6
Figura 2. Desenho esquemático representativo da estrutura do grão de arroz.....	7
Figura 3. Representação estrutural do ácido fitico segundo Anderson (A) e segundo Neuberg (B)	12
Figura 4. Conteúdo de ferro, manganês, cobre e zinco do farelo de arroz ($\mu\text{g/g}$). Valores médios e erros-padrão para duas determinações	42
Figura 5. Conteúdo de potássio, cálcio, magnésio e fósforo do farelo de arroz (%). Valores médios e erros-padrão para duas determinações.	42
Figura 6. Percentagem de adequação em relação ao requerimento dos minerais zinco, ferro, cobre e cálcio para as dietas Basal, Zn-100, Fe-100, Cu-100 e Ca-100 e Completa.....	49
Figura 7. Correlação entre concentração hepática de zinco e eficiência alimentar ($y=0.0013x-0.045$; $r= 0.7474$; $n=31$; $p < 0.05$	75

RESUMO

O Brasil produz mais de 700.000 toneladas de farelo de arroz por ano, cujo destino principal é a alimentação animal. Considerando o ainda limitado acesso à alimentação adequada para grande parcela da população, com taxas de desnutrição próximas a 31% em crianças brasileiras de até 5 anos de idade, a utilização deste subproduto como alimento de baixo custo foi proposta, com base em seu teor elevado de nutrientes, principalmente minerais. Os conteúdos de zinco, ferro, cobre, magnésio e manganês ultrapassam várias vezes as necessidades nutricionais do rato, enquanto o teor de cálcio situa-se abaixo do nível desejado. Contudo, o valor nutritivo potencial deste subproduto pode estar afetado pela presença de ácido fítico, um forte agente quelante de cátions mono e divalentes, com comprometimento da absorção dos minerais da dieta. A fim de identificar os minerais mais relevantemente responsáveis pelo reduzido valor nutritivo da fração mineral do farelo de arroz através da influência dos fitatos também presentes no farelo, estudou-se o efeito da suplementação do mesmo com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio, em dois níveis (50 e 100% do valor de requerimento), sobre os indicadores de crescimento (ganho de peso e eficiência alimentar) e deposição hepática de zinco em ratos. O efeito de interações foi avaliado com suplementações combinadas dos minerais. Os resultados mostraram que, apesar do conteúdo original de zinco e ferro no farelo de arroz corresponder a pelo menos 4 vezes o requerimento do animal, a suplementação com estes minerais resultou em valores de ganho de peso, eficiência alimentar e deposição hepática superiores aos obtidos com a dieta basal; a adição de cálcio, de forma isolada ou em combinação com zinco, ferro ou cobre, resultou em baixos valores para os indicadores estudados. Outras combinações, como zinco e ferro, foram mais benéficas para o animal. Conclui-se que os minerais zinco e ferro, contidos no farelo de arroz apresentam-se, nessa ordem, com biodisponibilidade comprometida, e que, melhoramento do desempenho pode ser obtido suplementando-se com zinco a 50% do requerimento ou,

alternativamente, com acréscimo da mistura mineral completa. Tentativas de melhorar o balanço de cálcio suplementando-se a dieta a base de farelo de arroz com o mineral não resultam em melhoria dos indicadores e sim em uma redução maior da qualidade da dieta. A concentração de ácido fítico encontrada no farelo de arroz utilizado neste estudo, próxima a 6%, está entre as mais elevadas para alimentos. A presença deste composto, de reconhecida ação como agente quelante, é apontada como principal interferente na utilização destes minerais, por promover a formação de complexos insolúveis, o que determina diminuição da fração disponível para absorção. Outro aspecto importante da composição do farelo de arroz com possível interferência sobre a biodisponibilidade de minerais é a alta concentração de fibra alimentar, o que merece investigação.

ABSTRACT

Brazil produces over 700,000 tons of rice bran per year, which is mainly utilized as animal feed ingredient. Considering the limited access that the low income population has to an adequate food intake, the utilization of rice bran as a low cost food has been proposed, mostly based on this by-product's high content of nutrients, principally minerals. The levels of zinc, iron, copper, magnesium and manganese surpass by a several-fold factor the nutritional requirements of the rat. Calcium, on the other hand is in short supply. In spite of the above, it is likely that the potential nutritive value of bran is impaired by the presence of phytic acid, a strong chelating agent of both mono and divalent cations, which should interfere with the normal absorption process of many minerals. The present was a study of the effect of supplementing a bran diet with zinc, iron, copper and calcium at two levels (50 and 100% of the requirement for the rat) in an attempt to identify those minerals whose apparent deficiencies are most relevantly associated with the diminished nutritive value of rice bran and its natural phytate content. Growth (weight gain and feed efficiency) and hepatic zinc deposition were used as indicators. The effects of interactions among the various minerals were evaluated by means of multiple combinations of the supplements. Results showed that in spite of the original content of zinc, iron and copper being sufficient to cover the animal's requirement, in excess by a factor of at least four, supplementation with each was capable of improving the bran diet's performance. Single addition of calcium, or calcium in combination with either zinc, iron or copper, resulted in lower values for the indices under study. Other combinations, such as zinc and iron, showed to be more beneficial to the animal. It is concluded that the availabilities of the zinc and iron are significantly, and in that order, impaired in the rice bran, and that attempts can be made to improve the over-all performance by either adding zinc to supply 50% of the nutritional requirement or replenishing the complete mineral mixture. Attempts to improve the calcium balance alone, however, can result in further depression of the diet quality. Such effects appear to be caused by the action of naturally occurring

phytates which promote the formation of insoluble, unavailable complexes. Phytic acid content in the rice bran was near 6%, as determined in this study, high among foods. The fiber content is another important fact about rice bran composition with possible effect on mineral bioavailability, and this matter needs further investigation.

INTRODUÇÃO

O processo de modernização social vivenciado neste século trouxe, entre outras consequências, profundas alterações sobre o padrão alimentar dos indivíduos, que passaram a dispor de alimentos processados industrialmente (WORLD..., 1990). A necessidade crescente de produzir alimentos em grandes quantidades, determinada por fatores como o acelerado desenvolvimento urbano, proporcionou o surgimento de tecnologias que proporcionassem a obtenção de alimentos com características adequadas à produção em série, tempo de conservação compatível com os prazos de distribuição e transporte, e características sensoriais desejáveis ao consumo.

O arroz é o cereal de maior produção no Brasil, que em 1989 foi de 11 milhões de toneladas (ANUÁRIO..., 1992), e o seu processamento com vistas à obtenção do grão polido, é de ampla difusão (SAUNDERS, 1985). Tal processamento envolve a eliminação das camadas externas do grão, após o descasque, por abrasão. Como resultado obtém-se um produto rico em amido e desprovido das estruturas que concentram a maior parte dos nutrientes não glicídicos do grão integral, com conseqüente aumento do tempo de conservação. A indústria de beneficiamento do grão destina o subproduto obtido do polimento do grão integral, que constitui-se no farelo, para alimentação animal. O Brasil se encontra entre os cinco maiores exportadores mundiais deste subproduto (FAO, *apud* JULIANO, 1980).

São conhecidos os trabalhos que enfatizam os malefícios advindos de uma alimentação rica em produtos refinados, devido à pequena quantidade de fibra alimentar que contêm, e à diminuição da densidade nutricional, entendida como a concentração de nutrientes normalmente perdidos durante o processamento dos alimentos. As consequências da adoção de alimentos refinados, principalmente quando vista como adjuvante do aumento da incidência de doenças crônico-degenerativas, estimulou nas últimas duas décadas o consumo de alimentos integrais

e o surgimento da industrialização de produtos que pudessem repor fibra e nutrientes à dieta (LEAF & WEBER, 1987; EASTWOOD, 1988).

Ao lado deste quadro, típico de sociedades economicamente desenvolvidas ou em desenvolvimento, existe a realidade paradoxalmente cruel dos grupos populacionais com acesso restrito à alimentação compatível com o desenvolvimento normal do organismo e a manutenção da saúde. Os indicadores da fome no Brasil mostram que 31% das crianças com menos de 5 anos apresentam algum grau de desnutrição (INSTITUTO..., 1990). Esta situação tem motivado a busca por produtos de baixo custo e bom valor nutricional, e o reconhecimento do conteúdo em nutrientes do farelo de arroz levou à sua introdução como alimento para alimentação humana (DUAYER *et al.*, 1990; BRANDÃO DE ALENCAR & ALVARENGA, 1990).

O valor nutritivo de um alimento não pode ser estimado exclusivamente pela sua composição em nutrientes, uma vez que este é resultado da combinação de fatores como o equilíbrio entre seus constituintes, somados às interações entre os mesmos, além das conseqüências deixadas pelo processamento e armazenagem. Para o farelo de arroz, estudos demonstram a existência de compostos que podem atuar como fatores antinutricionais, como inibidores de proteases, lectinas e ácido fítico, (KRATZER & PAYNE, 1977; CAGAMPANG *et al.*, 1966; BARBER & BENEDITO DE BARBER, 1980; CHERYAN, 1980).

Dentre os problemas de ordem nutricional de maior relevância mundial, as carências minerais, com destaque para a anemia ferropriva, passam a determinar a condução de estudos com vistas à sua detecção e/ou prevenção, principalmente em populações cuja dieta é baseada em produtos de origem vegetal. No Brasil, estudos indicam a prevalência de anemia em 1/3 das crianças com 0 a 59 meses de idade em São Paulo (MONTEIRO & SZARFARC, 1987), bem como ocorrência de deficiência dietética de zinco (Shrimpton *et al.*, 1983, *apud* PEDROSA & COZZOLINO, 1990).

Em trabalho desenvolvido na UNICAMP, Torin (1991) avaliou o valor nutritivo do farelo de arroz na recuperação de ratos nutricionalmente estressados, e concluiu que o mesmo trouxe impacto positivo não significativo sobre o ganho de peso dos animais. Em estudo recente, Nogara (1994) avaliou o efeito da suplementação da dieta de crianças com o farelo de arroz, e não observou alteração do padrão de crescimento das mesmas quando comparadas a um grupo sem suplementação.

Visando aprofundar o conhecimento sobre a possível utilidade do farelo de arroz industrial na alimentação, e considerando o interesse em avaliar com detalhe o zinco, este estudo se propôs a avaliar a capacidade do farelo de arroz em suprir as necessidades minerais em Zn, Cu, Fe e Ca, segundo os critérios de crescimento e deposição do zinco em fígado de ratos Wistar, entre os 24 e 45 dias de idade.

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Farelo de arroz como alimento

O farelo de arroz (FA), também conhecido como pó ou salvado, é o subproduto do polimento ou beneficiamento do arroz descascado, que representa entre 4 e 12% em peso do grão, ou arroz “paddy” (BARBER *et al.*, 1978). Na perspectiva brasileira, esse percentual corresponde a um volume superior a 700.000 toneladas ao ano (MINISTÉRIO,1992) e é usado, como subproduto, para alimentação animal.

O FA deriva do polimento do grão integral, após eliminação da casca, como indica a Figura 1, e constitui-se da camada intermediária entre esta e o endosperma, formada pelo pericarpo, testa, aleurona e gérmen, além de quantidade variável de amido, dependente do grau de extração. Após sua obtenção, o FA deve sofrer tratamento térmico a fim de promover a extração do óleo e a estabilização da lipoxigenase e lipases endógenas, sem o que torna-se impróprio para o consumo em poucas horas (GUERRA & JAFFÉ, 1975; BARBER & BENEDITO DE BARBER, 1980). A Figura 2 traz um desenho que representa a estrutura do grão de arroz.

As características composicionais do farelo indicam que possui consideráveis teores de proteína, minerais e vitaminas principalmente do complexo B (CAGAMPANG *et al.*, 1966; GUERRA & JAFFÉ, 1975; BARBER & BENEDITO DE BARBER, 1980; SAUNDERS, 1990). A própria riqueza de nutrientes e complexidade química do FA tem estimulado a realização de estudos nos aspectos de:

1) tecnologias de produção de farelos estabilizados (YOKOCHI, 1977 e SRIMANI *et al.*, 1977, *apud* JULIANO, 1980);

2) utilidade de compostos das frações glicídica, lipídica e vitamínica com propriedades nutricionais ou farmacológicas especiais (SEETHARAMAIAH &

PRABHAKAR, 1986; BABCOCK, 1987; HEMAVATHY & PRABHAKAR, 1987; ROUANET *et al.*, 1993; KAHNOLN *et al.*, 1994);

3) aprofundamento do conhecimento sobre suas propriedades como ingrediente para ração animal (TORTOSA & BENEDITO DE BARBER, 1978; JULIANO, 1980) e,

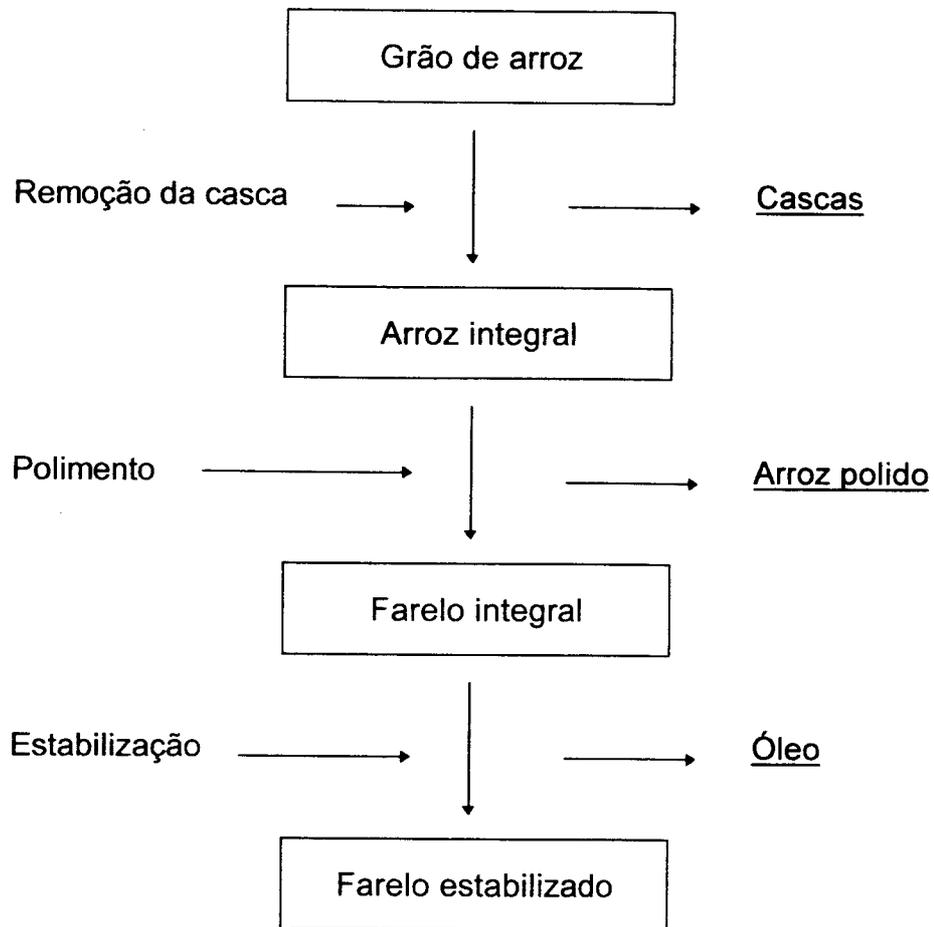
4) transformação em produtos nobres para alimentação humana (BARBER & BENEDITO DE BARBER, 1980; SAUNDERS, 1985).

Apesar das variações determinadas pelo grau de polimento do grão, muitos trabalhos ressaltam o possível valor nutritivo do FA com base na determinação de seus nutrientes. Quanto à proteína, apresenta concentração elevada se comparado a outros alimentos de origem vegetal: cerca de 10 a 15 g/100g, (embora existam referências de até 18 g/100g em farelos desengordurados) com digestibilidade (entre 59 e 74%) e escore químico superiores a outros cereais (GUERRA & JAFFÉ, 1975; WARREN & FARRELL, 1990).

De sua composição em aminoácidos, estão limitantes a lisina, como é característica comum aos cereais, e também treonina; quanto ao triptofano, sua disponibilidade é de 33% (TORTOSA & BENEDITO DE BARBER, 1978). Segundo dados de Kik (1956), o enriquecimento de dietas a base de FA com 0,2% de L-Lisina + 0,2% de L-Treonina + 0,1 µg de vitamina B12 elevou o valor de PER (quociente de eficiência protéica, ou "Protein Efficiency Ratio") de 1,61 em uma dieta basal para 1,98. Posteriormente, outros dados de PER referem valores entre 1,19 e 2,31; este valor é muito próximo do obtido com caseína (2,5) (GUERRA & JAFFÉ, 1975).

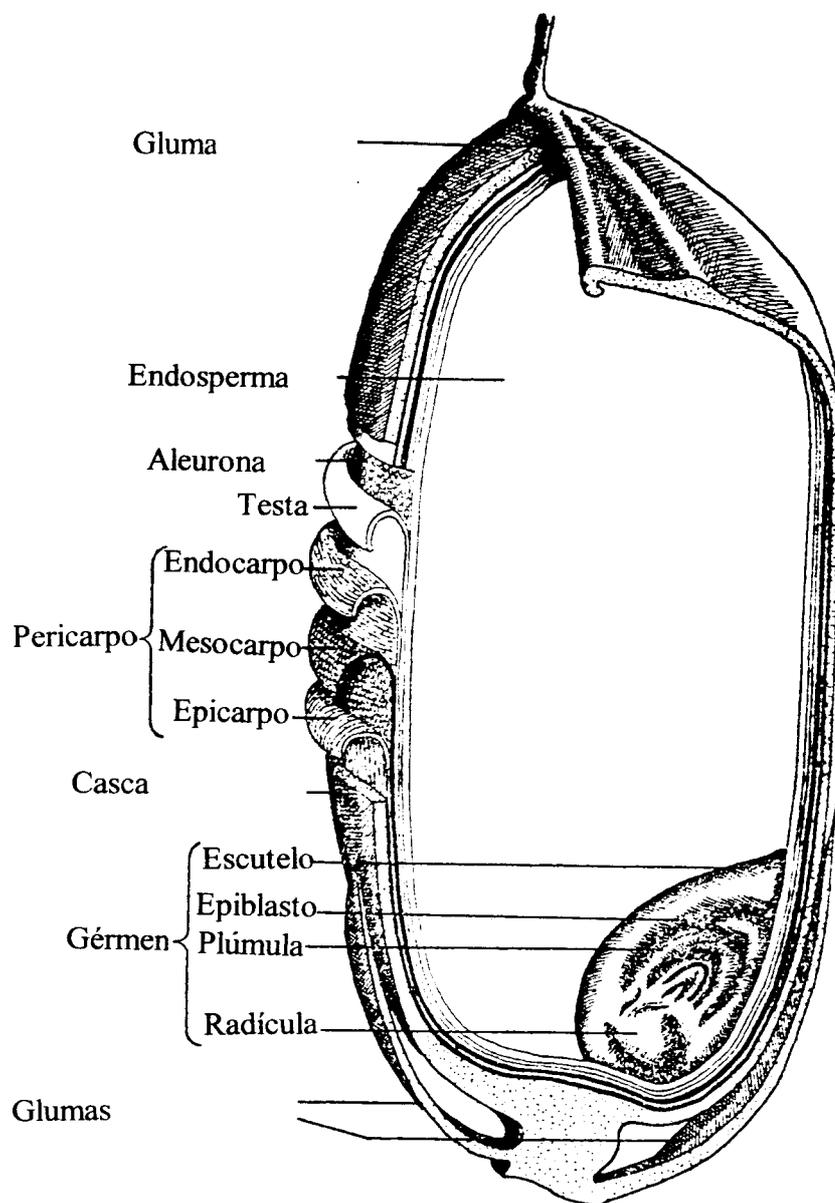
O aumento de mortes por doenças crônico-degenerativas, mesmo em países não desenvolvidos, motivou o crescimento do número de trabalhos preocupados em estabelecer padrões de alimentação com propriedades preventivas ou terapêuticas, sobretudo quanto ao papel da fibra alimentar e a composição em ácidos graxos da gordura da dieta (WORLD..., 1990), aspectos que foram muito estudados.

Figura 1. Esquema de processamento do Farelo de Arroz¹.



¹ Segundo Torin, 1991.

Figura 2. Desenho esquemático representativo da estrutura do grão de arroz¹.



¹ Adaptado de Grist, 1965.

As características composicionais do FA mostram um subproduto rico em fibra alimentar, com predominância da fração insolúvel sobre a solúvel (BABCOCK, 1987; DIAS *et al.*, 1994). Este fato estimulou a proposição do uso do FA como laxativo, e a utilização de aproximadamente 12 g de fibra alimentar fornecida por esta fonte mostrou o mesmo efeito sobre a frequência de defecação em um grupo de homens hipercolesterolêmicos do que a mesma quantidade fornecida por farelo de trigo, que habitualmente tem sido empregado com esta indicação (KESTIN *et al.*, 1990). Esta característica habilita o FA como potencial ingrediente para dieta de adultos, embora no Brasil tenha sido recomendado na quantidade de 100g diárias para alimentação de lactentes, crianças, gestantes e nutrizes (BRANDÃO DE ALENCAR & ALVARENGA, 1991).

O alto conteúdo em gordura do FA integral (15 a 23 g/100g) fez deste subproduto uma fonte reconhecida de óleo (HEMAVATHY & PRABHAKAR, 1987). A maior proporção em ácidos graxos insaturados (SAUNDERS, 1990) representa vantagem dada a indicação de possível emprego em dietas para adultos, com o objetivo de diminuir proporcionalmente a ingestão de ácidos graxos saturados (SLAVIN & LAMPE, 1992). Por sua vez, acarreta um problema tecnológico importante: devido à intensa atividade das lipases que se inicia após o polimento do grão de arroz, e dada a produção de glicerol e ácidos graxos livres, e na presença de lipoxigenase endógena, o FA se deteriora rapidamente por rancificação (WARREN & FARRELL, 1990). Portanto, a utilização comercial do FA exige extração do óleo e inativação enzimática, o que dá origem ao farelo estabilizado, com baixo teor de gordura (SAUNDERS, 1990).

O estudo dos componentes da fração lipídica mostrou, além da mencionada predominância da fração insaturada (36% de ácidos graxos poliinsaturados e 41% monoinsaturados, contra 19% saturados), variabilidade na natureza dos ácidos graxos segundo o cultivar estudado (TAIRA, 1989); contudo, em estudo

anterior, Resurrección e Juliano (1975) não encontraram diferenças significativas quanto à composição em ácidos graxos de FA extraídos de 2 cultivares.

A fração lipídica apresenta ainda conteúdo incomum de matéria insaponificável, constituída por uma mistura de esteróides, álcoois, triterpenos e hidrocarbonetos. Dentre os álcoois, destaca-se o oryzanol, uma mistura de ésteres de triterpenos que representa de 20 a 30% da matéria insaponificável, ou 1,1 a 2,6% do óleo e ao qual é atribuído efeito hipocolesterolêmico (SEETHARAMAIAH & PRABHAKAR, 1986). Contudo, o mecanismo preciso segundo o qual o FA interfere sobre os índices de colesterol não está esclarecido, e pode ser decorrente em parte da presença de fibra solúvel (ROUANET *et al.*, 1993; KAHLON *et al.*, 1994).

Quanto à fração mineral, os estudos encontrados até o presente destacam os teores de zinco (44 a 80 mg/kg), ferro (38 a 530 mg/kg), cobre (10 a 20 mg/kg) magnésio (6070 a 12300 mg/kg), manganês (110 a 877 mg/kg), potássio (13650 a 23900 mg/kg) e fósforo (14800 a 28700 mg/kg), ao lado da pequena concentração de cálcio (140 a 1310 mg/kg) (BARBER, 1971; SAUNDERS, 1990; WARREN & FARREL, 1990). O alto conteúdo de fósforo dá uma indicação da concentração de ácido fítico, visto que 90% está complexado a este composto (JULIANO, 1980).

Em trabalho realizado nesta instituição (TORIN, 1991) foram analisadas amostras de FA procedentes de um pequeno engenho da região de Campinas. Os farelos foram caracterizados através da composição centesimal, aminoacídica, mineral, assim como em termos de inibidor de tripsina e fitatos. Em ensaios biológicos foi determinada a capacidade do FA agir como ingrediente recuperador de ratos sob estresse nutricional, e concluiu-se que o valor nutritivo do FA era limitado, apesar do bom conteúdo em nutrientes, porque não ocorreu reversão do quadro de desnutrição de animais alimentados com dietas a base de FA. O fator concentração e qualidade protéica foi descartado, uma vez que o estudo avaliou dietas com diferentes teores de suplementação com caseína, sem

modificação significativa do ganho de peso. O trabalho conclui ainda que o limitado valor nutritivo observado poderia ser atribuído à baixa biodisponibilidade mineral e ao baixo teor de cálcio do FA. O teor de fitato encontrado no FA do estudo foi de 6,25g/100g.

Apesar do conhecimento acerca da ocorrência de fatores antinutricionais em alimentos, os trabalhos dedicados a avaliar tais componentes do FA eram raros até a década de 70 (CHAUDFURI, 1964 e LAPORTE & TREMOLIERES, 1962, *apud* BARBER *et al.*, 1978). A partir de então, os autores passaram a referir a ocorrência de inibidor de tripsina (KRATZER & PAYNE, 1977; BARBER *et al.*, 1978), hemaglutininas (BENEDITO DE BARBER & BARBER, 1978; BERSCH *et al.*, 1989) e ácido fítico (CHERYAN, 1980; TANGENDJAJA *et al.*, 1981; TORIN, 1991).

Felizmente, o desenvolvimento de processos de estabilização visando permitir estocagem do FA para consumo envolvem tratamento térmico, que contribuem para diminuição significativa de atividade antitriptica e hemaglutinante.

1.2. Ácido fítico e sua ação em sistemas alimentares.

O ácido fítico, ou hexafosfato de mio-inositol (IP6), constitui cerca de 1 a 2% em peso de grãos integrais em geral, apesar de concentrações de 3 a 6% terem sido observadas, como no gergelim (5,18%). Em isolados protéicos, a concentração de IP6 pode alcançar 7%. Sua principal função fisiológica no vegetal é provavelmente servir como estoque de fósforo e de inositol, que são liberados por ação de fitases endógenas à medida em que ocorre a germinação do grão, e de inositol (CHERYAN, 1980). Por isto, em alimentos, o ácido fítico ou os fitatos neutros não ocorrem apenas sobre a forma IP6, mas também como seus precursores metabólicos fosforilados, IP5 (pentafosfato de mio-inositol), IP4 (tetrafosfato de mio-inositol), IP3 (trifosfato de mio-inositol), e mesmo IP2 ou

IP1 (di e monofosfato de mio-inositol), cujas concentrações aumentam em produtos onde a fitase endógena encontra-se ativa. Em alimentos, sua capacidade de ligação a proteínas e minerais pode interferir sobre propriedades funcionais e nutricionais. As formas que podem oferecer significativo poder ligante são IP4, IP5 e IP6.

Diversos autores desde o início do século, propuseram modelos que pudessem representar a estrutura do IP6 (SUZUKI *et al.*, 1907, NEUBERG, 1908, STARKENSTEIN, 1910, ANDERSON, 1914, e POSTERNAK, 1921, todos *apud* REDDY *et al.*, 1989).

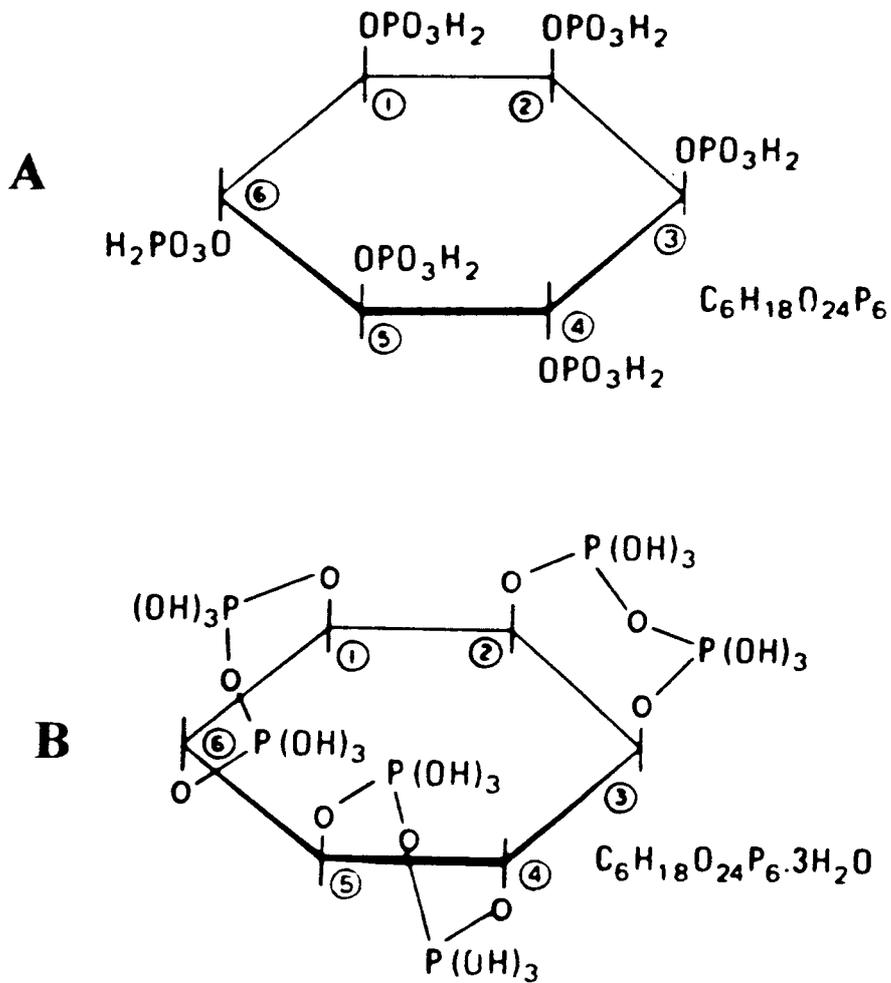
Posteriormente, estudos com raios-X e ressonância nuclear magnética demonstraram que o IP6 pode existir em duas conformações, de acordo com o pH da solução; atualmente, as estruturas propostas por Anderson e Neuberg são as mais aceitas como representativas da maior parte do IP6 encontrado em vegetais; contudo, a hipótese de que existam outras estruturas, com mais hidrogênios inclusive, é aceita (ERDMAN, 1979).

A Figura 3 mostra as estruturas propostas por Anderson (A) e Neuberg (B); a segunda é ligeiramente diferente da anterior por propor ligações P-O-P entre átomos de fósforo adjacentes.

A determinação das constantes de dissociação do IP6 demonstrou que dos seus doze prótons intercambiáveis, seis estão fortemente dissociados em pH fisiológico (COSTELLO *et al.*, 1976, *apud* REDDY *et al.*, 1989). Isto demonstrou que o composto apresenta um enorme potencial de complexar proteínas carregadas positivamente e cátions inorgânicos em ampla faixa de pH (CHERYAN, 1980; REDDY *et al.*, 1989), o que torna os minerais indisponíveis para a absorção (ERDMAN, 1979).

Muitos estudos mostram a relação inversa que existe entre o ácido fítico e a absorção de minerais, tais como o zinco, o cálcio, o magnésio e provavelmente o ferro (ERDMAN, 1979; CHERYAN, 1980; JULIANO, 1980; CHAMPAGNE

Figura 3. Representação estrutural do ácido fítico segundo Anderson (A) e segundo Neuberg (B)¹.



¹ Anderson, 1914 e Neuberg, 1908, *apud* Erdman, 1979.

et al., 1985; FROLICH & ASP, 1985; ERDMAN & PONEROS-SCHNEIER, 1989), assim como o níquel (VOHRA *et al.*, 1965).

Estudos *in vitro* (XU *et al.*, 1992) também demonstraram ligação do fitato a minerais, como cálcio e zinco, cuja solubilidade diminuiu acentuadamente com o aumento do pH de 3 a 5 ou 6, sendo que os complexos formados tornaram-se praticamente insolúveis em pH igual ou superior a 7.

A capacidade ligante dos derivados fosforilados (IP5 até IP3) ao zinco foi medida também *in vitro*, com a constatação de que a solubilidade do cátion é muito baixa em qualquer destes complexos, embora a precipitação diminua de IP5 para IP3 (SIMPSON & WISE, 1990). Estes resultados divergem de trabalhos anteriores que demonstraram ligação significativa de zinco e cálcio apenas a IP6 e IP5, e não a membros menos fosforilados da família, em estudos *in vivo* com ratos e uso de isótopos (LÖNNERDAL *et al.*, 1989). Outros estudos mostram, ainda, que apenas o IP6 e o precursor IP5 (talvez também IP4) apresentam risco à disponibilidade nutricional de minerais em sistemas *in vivo* (TAO *et al.*, 1986, *apud* LEHRFELD & MORRIS, 1992).

O efeito do ácido fítico sobre a diminuição da disponibilidade de minerais pode também ser decorrente do aumento da excreção endógena e diminuição dos níveis corporais dos minerais, como demonstrado por Flanagan para o zinco (1984).

A biodisponibilidade, tanto de minerais quanto de outros nutrientes, também pode ser afetada pela presença de fibra alimentar, a qual parece interferir na absorção de nitrogênio, energéticos e minerais (REINHOLD *et al.*, 1976; KELSAY, 1978; DREWS *et al.*, 1979; STASSE *et al.*, 1979). Por outro lado, alguns pesquisadores não detectaram qualquer efeito adverso da fibra sobre a absorção de minerais como o zinco, o cobre e o ferro (TSAI & LEI, 1979), mas indicaram o ácido fítico como principal reponsável pela diminuição do valor nutricional de minerais (DAVIES *et al.*, 1977; FRANZ *et al.*, 1980b; MORRIS & ELLIS, 1980a; BRUNE *et al.*, 1992). Contudo, nenhum destes trabalhos faz

referência ao farelo de arroz como fonte excepcional de ácido fítico ou de fibra, sendo que a questão do efeito da fibra na biodisponibilidade de minerais do farelo continua em aberto.

Este tema gerou controvérsia entre autores, que publicaram suas opiniões a favor e contra a utilização de grandes quantidades de fibra na dieta (50 a 60g). De um lado, os defensores reforçam as evidências, inquestionáveis, sobre o papel da fibra alimentar na dieta para prevenção e tratamento de doenças crônico-degenerativas e, de outro, aqueles que apontam os riscos envolvidos sobre a nutrição mineral decorrente do aumento da ingestão de fitatos principalmente nas populações de países não desenvolvidos, conforme ilustram as discussões de Sandstead (1992) e Walker e colaboradores (1992a; 1992b).

1.2.1. Sistemas adaptativos a dietas com ácido fítico: a ação de fitases endógenas e do processamento.

Uma vez que o ácido fítico ocorre em vegetais principalmente na forma de hexafosfato, e que a degradação deste a suas formas inferiores pode contribuir para minimizar o prejuízo nutricional de alimentos ricos neste composto sobre a disponibilidade de minerais na dieta, alguns estudos se propuseram a analisar a capacidade de degradação do mesmo pelo sistema digestivo, usando modelos animais ou o próprio ser humano.

Utilizando-se ratos “germ-free” (YOSHIDA & OHKUBO, 1984), verificou-se a capacidade da flora intestinal em interferir sobre a digestibilidade do ácido fítico, e demonstrou-se não existir diferença sobre a digestibilidade de dietas com ou sem adição de ácido fítico em situações de presença de flora intestinal normal ou em sua ausência.

Em estudo conduzido por Sandberg e colaboradores (1987), não se observou a digestão do ácido fítico no conteúdo intestinal coletado por ileostomia em sujeitos que consumiram farelos processados por extrusão. Os

indivíduos que consumiram produtos não processados apresentaram 58% de hidrólise a IP5, IP4 e IP3, resultando em digestibilidades significativamente maiores. Esses resultados encontram explicação na inativação da fitase (SANDBERG *et al.*, 1987).

Quanto à ação de fitases endógenas, a literatura mostra que os resultados obtidos com animais não se confirmam com seres humanos. Sakamoto e colaboradores, em estudo recente com intubação de IP6 marcado com hidrogênio tritiado em solução, observaram incorporação de 79% da radioatividade medida, mostrando rápida absorção do composto principalmente pelo estômago do rato (SAKAMOTO *et al.*, 1993). Em seres humanos, contudo, os resultados indicam que não há contribuição de fitases endógenas, como mostram os trabalhos de Sandberg e Andersson (1988) e Brune e colaboradores (1989).

No primeiro, a recuperação de fitato no conteúdo intestinal foi de 95% em sujeitos alimentados com farelos cuja atividade enzimática havia sido eliminada por tratamento térmico, contra 40% de recuperação em sujeitos que consumiram produtos não processados. Estes dados levaram os autores a concluir que a mucosa intestinal não apresenta atividade fitásica. O segundo estudo procurou avaliar se o consumo frequente de ácido fítico poderia induzir mecanismo adaptativo que contribuisse para a melhoria da absorção intestinal de minerais por sujeitos cuja dieta apresentasse regularmente alto conteúdo deste fator antinutricional, como vegetarianos ou populações de países não desenvolvidos. A absorção de ferro foi reduzida em 92% entre os sujeitos vegetarianos e em 93% entre os não vegetarianos, após alimentação com pães enriquecidos com ferro marcado, concomitante com farelo de trigo em quantidades iguais. Portanto, a noção de que as fitases endógenas possam contribuir para a digestibilidade do ácido fítico em humanos não tem comprovação científica (PHYTASE..., 1989).

É, contudo, a partir da fitase naturalmente presente nos grãos e farelos que pode surgir a mais importante forma de diminuição do conteúdo de ácido

fítico. Dos métodos de processamento registrados em literatura, apenas os que envolvem condições para o seu desenvolvimento e ação resultam em significativa redução do IP6. Assim, a maceração, a germinação e a fermentação são apontadas como formas efetivas de hidrólise do ácido fítico, ainda que estudos devam ser desenvolvidos para otimização dos custos e viabilização do processo em larga escala (TANGENDJAJA *et al.*, 1981; KHAN *et al.*, 1986; SANDBERG, 1991).

1.3. A avaliação nutricional de minerais.

O estudo do metabolismo e da nutrição mineral traz diversas dificuldades ao pesquisador. Excetuando-se situações em que as evidências clínicas comprovam severo quadro de inadequação da dieta, situações marginais de deficiência são de difícil avaliação (BENDER, 1989).

A própria definição de nutriente biodisponível encontra interpretação diversa em estudos experimentais. Assim, dos métodos empregados, destacam-se o balanço químico, que avalia a porção absorvida e/ou retida, a taxa de repleção após depleção, dosagens para medida de aparecimento no plasma, o uso de isótopos (radioativos ou estáveis) e as técnicas *in vitro* (FAIRWEATHER-TAIT, 1992). Todas as medidas apresentam limites de interpretação quando empregadas para uso com minerais, determinados por fatores como o tipo da fonte de sal, idade e espécie do animal empregado em estudos *in vivo*, ocorrência de interações luminais ou entre nutrientes da dieta durante o processamento (O'DELL, 1984; CABALLERO, 1988).

A literatura define biodisponibilidade como a proporção ou fração do nutriente no alimento que é absorvida e utilizada para manutenção das funções fisiológicas normais (O'DELL, 1984; FAIRWEATHER-TAIT, 1992). A

biodisponibilidade não seria uma propriedade exclusiva do alimento ou dieta em si, mas também como uma resposta do indivíduo ao alimento, o que dá a dimensão da complexidade da matéria (SOUTHGATE, 1989).

Para os nutrientes cuja ação está comprometida com o crescimento, a medida deste indicador é um instrumento adequado para avaliação da biodisponibilidade, por medir a capacidade do nutriente em proporcionar máximo desenvolvimento e eficiência alimentar. Para minerais, a combinação de estudos de crescimento e eficiência alimentar com avaliação do conteúdo tissular parecem fornecer um conjunto de informações mais adequado sobre a sua utilização (ROBBINS *et al.*, 1979; BAKER, 1986).

Considerando que a biodisponibilidade de zinco em alimentos ricos em fitatos seria função da abundância relativa do mineral, Oberleas e Harland (1981) propuseram a relação molar fitato:zinco como um indicador da biodisponibilidade do cátion. Estes mesmos autores determinaram que relações molares ≤ 10 estão associadas com uma biodisponibilidade de zinco adequada enquanto que valores ≥ 20 poderiam estar associados com evidências clínicas ou químicas de deficiência de zinco. Esta relação vem sendo utilizada por diversos cientistas em estudos de avaliação da biodisponibilidade do zinco (MORRIS & ELLIS, 1980a,b; FORBES *et al.*, 1984).

Posteriormente, considerando os resultados que mostraram um efeito potencializador do cálcio sobre a diminuição da biodisponibilidade do zinco (MORRIS & ELLIS, 1980b; FORBES *et al.*, 1984), outra razão molar, agora envolvendo o cálcio, expressa como (fitato x cálcio) / zinco, tem sido adotada por pesquisadores como melhor indicador da biodisponibilidade do zinco (BINDRA *et al.*, 1986; FERGUSON *et al.*, 1988; ELLIS *et al.*, 1987; FITZGERALD *et al.*, 1993).

1.4. Alguns aspectos referentes aos minerais zinco, ferro, cobre e cálcio.

1.4.1. Zinco.

Excelentes revisões foram publicadas sobre este mineral, como a de Hambidge e colaboradores (1986). Os autores referem que a essencialidade do zinco para ratos é conhecida desde a década de 30, sendo que apenas na década de 60 foi também comprovada para humanos, em estudo conduzido com adolescentes egípcios do sexo masculino com hipogonadismo e retardo do crescimento, reversível com suplementação de zinco (PRASAD *et al.*, 1967).

O zinco participa de pelo menos 70 reações metabólicas, com destaque para a ligação com a metalotioneína, a anidrase carbônica, a carboxipeptidase A, a superóxido dismutase, a RNA e DNA-polimerases. Dado o papel central desenvolvido por estas enzimas, a deficiência de zinco expressa-se como uma síndrome, onde o retardo de crescimento e alterações cutâneas têm destaque (HAMBIDGE *et al.*, 1986).

A concomitância dos trabalhos de Prasad, já mencionados, e os de Halsted, que estudaram o retardo de crescimento que acometia adolescentes iranianos, fez com que a carência típica de zinco ficasse conhecida como síndrome de Prasad-Halsted (SANDSTEAD, 1991).

A absorção do zinco é influenciada por diversos fatores, dentre os quais a composição da dieta, principalmente devido à ação de fatores antinutricionais, como o ácido fítico (KUMAR & CAPOOR, 1983), e mecanismos de competição ou antagonismo. Estes fatores, aliados à constatação de que a ingestão de zinco, mesmo em países com alto padrão de desenvolvimento, é bastante marginal quando comparada às recomendações, devem levar à revisão das ingestões alimentares recomendadas e sugerem monitoração do padrão dietético (MOSER-VEILLON, 1990).

Os métodos destinados à avaliação da biodisponibilidade de zinco envolvem desde técnicas *in vitro*, onde considera-se principalmente sua solubilidade e

capacidade de ligação a compostos (SIMPSON & WISE, 1990), até o emprego de radioisótopos e isótopos estáveis (EVANS *et al.*, 1979).

Contudo, grande parte dos estudos consideram indicadores de crescimento, como o ganho de peso e a eficiência da dieta (O'DELL *et al.*, 1972; FRANZ *et al.*, 1980; GIUGLIANO & MILLWARD, 1984), aliados ou não à avaliação da sua concentração tissular (CANTON & CREMIN, 1990) ou mesmo, procuram uma relação entre métodos *in vivo* e *in vitro* (HUNT *et al.*, 1987). A adoção de métodos de crescimento como indicador do “status” nutricional de zinco encontra apoio na evidência de que não existem reservas funcionais do mineral que possam estar disponíveis quando do consumo de dietas deficientes, e no fato de que as manifestações de carência refletem-se com rapidez no crescimento (KING, 1990).

A descoberta da essencialidade do zinco e a descrição dos sintomas carenciais, aliados ao desenvolvimento de tecnologia eficiente e rápida para determinações de minerais, permitiram o surgimento de investigações no sentido de avaliar o “status” deste mineral em populações com carência sub-clínica, uma vez que os quadros típicos de deficiência severa são raros atualmente (RUZ *et al.*, 1991).

1.4.2. Ferro

O ferro é essencial para quase todos os sistemas biológicos que dependem do oxigênio molecular no seu metabolismo. O humano é dotado de um mecanismo de reciclagem de ferro extremamente eficiente, que o protege da grande variabilidade da fração disponível do mineral observada na ampla gama de alimentos (BJÖRN-RASMUSSEN, 1983). Apesar disto, a carência de ferro é a deficiência nutricional mais comum no mundo (TUNTAWIROON *et al.*, 1990).

Considerando que o teor de ferro de alimentos não é garantia de sua utilização, vários métodos têm sido empregados para avaliar sua biodisponibilidade, com resultados muitas vezes diversos.

Assim, apesar do aparente consenso em torno da opinião de que componentes da dieta, como a fibra e ácido fítico, interferem negativamente sobre a absorção de ferro (McCANCE *et al.*, 1943; HUSSAIN & PATWARDHAN, 1959, *apud* HUNTER, J.E., 1981; DAVIES & NIGHTINGALE, 1975), existem estudos que não observaram diferença na biodisponibilidade do mineral determinada pela adição de fitato (HUNTER, 1981; RANHOTRA *et al.*, 1974).

A contradição registrada na literatura sobre o assunto parece encontrar explicação em diferenças entre os protocolos experimentais dos diversos estudos, como: espécie animal utilizada, concentração de ácido fítico, e condições de processamento das fontes de ácido fítico (MILLER, 1982; BRUNE *et al.*, 1992).

Hallberg e colaboradores (1989), trabalhando com isótopos, descreveram que a interferência do ácido fítico sobre a absorção de ferro é dose-dependente (2mg de fitato = 18% de inibição sobre a absorção, 25 mg = 65% e 250 mg = 82%) e reversível por adição de ácido ascórbico; estes resultados estão de acordo com os relatados por Tuntawiroon e colaboradores (1990), que estudaram misturas de arroz polido e integral em diferentes proporções, com ou sem adição de ácido ascórbico.

Estudos conduzidos com o objetivo de avaliar a percentagem de absorção de ferro em diferentes alimentos mostraram que o ferro em alimentos de origem vegetal apresenta menor absorção do que o ferro em alimentos de origem animal (NATIONAL..., 1989). Para arroz, encontrou-se o valor de $3,6 \pm 0,68$ % de absorção de ferro em humanos, em estudo comparativo com técnica *in vitro* (RAO & PRABHAVATHI, 1978). Já para o ferro contido em tecidos animais, como cortes de carne, com de 40% de ferro-heme, a absorção é maior: chega a 20% (NATIONAL..., 1989).

Também para o “status” nutricional deste mineral, o padrão alimentar é determinante: em 80% dos casos, a deficiência de ferro dietético é o fator causal

da anemia nutricional (TUDISCO, 1988). No mundo, a anemia acomete 12% da população de 0 a 4 anos de idade, sendo que a prevalência alcança 51% nos países não desenvolvidos (DeMAYER & ADIELS-TEGMAN, 1985). Nos países onde o padrão alimentar é caracterizado pelo alto consumo de ferro não-heme, o uso de misturas alimentares ricas em agentes potencializadores de absorção de ferro e pobre em inibidores deve ser estimulado (TUDISCO, 1988).

1.4.3. Cobre.

Essencial pelo menos em 8 enzimas, a deficiência de cobre não é frequentemente observada em seres humanos (CARTWRIGHT & WINTROBE, 1964; MILLS, 1992).

Destaca-se sua presença na mineralização óssea, mielinização de células nervosas, integridade do tecido cardíaco e elasticidade arterial; as enzimas ceruloplasmina e superóxido dismutase estão envolvidas com os sistemas de compensação de peroxidação celular e imunológico (MILLS, 1992).

A determinação do “status” nutricional do cobre parece ser mais fiel se considerar a atividade da superóxido dismutase eritrocitária, uma vez que a diminuição da concentração de cobre circulante pode ser rapidamente induzida em condições experimentais, e alterações decorrentes de inflamações podem interferir de maneira sensível sobre a ceruloplasmina, não refletindo portanto, a real situação do mineral no organismo (SOLOMONS, 1979; UAUY *et al.*, 1985).

A biodisponibilidade do cobre parece estar relacionada ao tipo de carboidrato presente na refeição em que é consumido: o efeito negativo da frutose, aumentando o requerimento do mineral quando comparada com amido, foi demonstrado por Koh e colaboradores, em estudos com ratos (1989).

O cobre tem reconhecida competição com o zinco: pequeno acréscimo de zinco à dieta de seres humanos, acima do recomendado, determina menor absorção de cobre, e este antagonismo ocorre durante a fase absorptiva e/ou de transporte do

cobre ao fígado (FESTA *et al.*, 1985; KOH *et al.*, 1989). Outros fatores dietéticos envolvidos na diminuição da fração de cobre disponível são os baixos aportes de proteína (SANDSTEAD, 1982) e a presença de ácido fítico (DAVIES & NIGHTINGALE, 1975).

Contudo, a exemplo do que ocorre com o ferro, a ação negativa do ácido fítico sobre a absorção do cobre não encontra consenso; Lo e colaboradores (1984), trabalhando com ratos alimentados com isolado protéico de soja, não encontraram diferença para a fração de cobre disponível quando comparado a carbonato de cobre, apesar da presença de cerca de 1,5% de ácido fítico no isolado; resultados semelhantes foram obtidos com humanos (TURNLUND *et al.*, 1985).

A eficiência de absorção do mineral é também afetada pela concentração do mesmo na dieta, como ocorre com a maioria dos nutrientes, sendo maior em concentrações menores, e caindo com o fornecimento de maior quantidade do mineral. Stuart e Johnson (1986), trabalhando com ratos alimentados com dietas padronizadas que continham cobre marcado (^{65}Cu ou ^{67}Cu), determinaram absorção de 23% com concentração de 5,0 mg/kg, 19% com 10 mg/kg e 16% com 20 mg/kg.

A importância do cobre no metabolismo geral e no estado nutricional provoca manifestações de apoio ao estudo das interações mencionadas acima (COHEN *et al.*, 1985).

1.4.4. Cálcio

O aumento da expectativa de vida evidencia a osteoporose, pronunciada entre mulheres menopáusicas, e nos homens idosos (NATIONAL..., 1989).

O papel da dieta no fornecimento de cálcio na infância e adolescência ganhou maior importância com a constatação que a mineralização óssea nesta fase, e o aumento da densidade óssea após a interrupção do crescimento longitudinal dos ossos, são mais eficientes para o combate da osteoporose do que as terapias convencionalmente adotadas quando da instalação da patologia, geralmente associações de suplementação da dieta com cálcio e uso de estrógenos. Esta opção

preventiva motivou a ampliação da faixa etária com recomendação extra de cálcio de 18 para 24 anos (HALIOUS & ANDERSON, 1989; COMMITTEE..., 1989).

A determinação do “status” mineral de cálcio exige a utilização de técnicas diferentes das tradicionalmente adotadas para os demais minerais, tendo em vista o complexo e refinado sistema de controle dos níveis circulantes do mineral que o organismo humano possui (NORDIM *et al.*, 1987). O estabelecimento dos níveis de requerimento é feito a partir de ensaios de balanço, cujo valor médio para humanos indica 500 mg/dia; este valor deve ser corrigido para a obtenção do valor de recomendação, considerando uma absorção média de 40% até 2 anos e 30% após esta idade (MOORE *et al.*, 1991, e PEACOCK, 1991, *apud* WEAVER, 1994).

A influência do fitato sobre a absorção de cálcio já foi demonstrada (NAHAPETIAN & YOUNG, 1980), e é proporcional ao aumento da concentração de cálcio (FISHER, 1992).

Decorrente deste fato, a associação ácido fítico-cálcio vem sendo empregada para o tratamento de patologias renais, onde a terapia baseia-se na diminuição da absorção do mineral, através da administração de farelo de arroz como fonte de ácido fítico (OHKAWA *et al.*, 1984).

1.4.5. Interações diversas entre minerais.

Desde o processamento industrial ou doméstico do alimento, até sua ingestão, digestão, absorção e utilização, podem ocorrer mudanças importantes nas suas propriedades, aumentando ou diminuindo a fração disponível de cada um, dada a complexidade química, físico-química e biológica dos constituintes naturais ou adicionados aos alimentos (CABALLERO, 1988).

Do ponto de vista de interações, sabe-se que o zinco, o ferro, o cobre e o cálcio podem, em determinadas concentrações relativas, interferir mutuamente nas taxas de biodisponibilidade, devido a mecanismos de antagonismo e/ou diminuição da solubilidade por formação de quelatos. As interações ocorrem porque, em solução, minerais com propriedades físico-químicas semelhantes podem competir

pelo mesmo sítio de absorção, devido à formação de complexos iônicos com configurações semelhantes, e alta concentração de um elemento pode determinar a diminuição da absorção de outro com o qual divide a mesma via (ROSSANDER-HULTÉN *et al.*, 1991; WIDDOWSON, 1992).

A absorção de zinco inorgânico é prejudicada pela ingestão concomitante de ferro não heme; o efeito não é observado quando o zinco tem origem orgânica (SOLOMONS & JACOB, 1981). Outros mecanismos antagônicos com o zinco decorrem da ingestão concomitante com cobre: excesso de ingestão de zinco deprime a absorção de cobre, reduzindo-a a até menos do que 30%; ambos competem também pelo transporte através do enterócito (COELHO, 1995). Consequentemente, pode-se observar indução de anemia, por diminuição da atividade da ceruloplasmina. Sendo dependente de cobre, sua atividade ferroxidativa será deprimida porque a enzima não cataliza a conversão do ferro da forma ferrosa para a forma férrica para mobilização hepática (SHERMAN & TISSUE, 1981; OESTREICHER & COUSINS, 1985; STOREY & GREGER, 1987). Portanto, suplementações com ferro para a terapia da anemia podem não ser efetivas em casos de deficiência de cobre (COHEN *et al.*, 1985).

Existem registros de antagonismo do ferro também por ação do manganês e do zinco (YADRICK *et al.*, 1989; ROSSANDER-HULTÉN *et al.*, 1991). No caso do zinco, é provável que o efeito seja decorrente da diminuição na absorção de cobre, já mencionada quando da suplementação de zinco, a qual por sua vez determina menor mobilização de ferro hepático (MAGEE & MATRONE, 1960); esta hipótese não foi confirmada em outros estudos (O'NEIL-CUTTING *et al.*, 1981).

Uma revisão detalhada sobre interações nutricionais pode ser encontrada no trabalho de Coelho (1995).

A formação de complexos de ácido fítico e minerais parece ser de diferente magnitude entre leguminosas e cereais, o que explica algumas das diferenças observadas em estudos com fontes naturais do fator antinutricional (OHKAWA *et al.*, 1984; LO *et al.*, 1984).

2. OBJETIVOS.

Os objetivos específicos do presente trabalho foram:

- Elaborar dietas a base de farelo de arroz estabilizado com suplementação dos elementos zinco, ferro, cobre e cálcio, isoladamente ou em combinação, com a finalidade de verificar a ordem de importância no comprometimento nutricional de cada um deles.
- Monitorar o efeito das dietas sobre os indicadores de crescimento ganho de peso e eficiência alimentar.
- De forma análoga, monitorar e comparar as taxas de deposição de zinco no fígado.

3. MATERIAL E MÉTODOS.

3.1. Matéria-prima.

Utilizou-se como matéria-prima para o estudo farelo de arroz industrial estabilizado (FA), procedente da Irgovel, Indústria Riograndense de Óleos Vegetais Ltda. O processo de estabilização do FA, segundo a Irgovel, constou dos seguintes passos:

1) Seleção: o farelo foi peneirado para eliminação de cascas inteiras e grãos de arroz quebrados, sujidades e corpos estranhos;

2) Padronização de umidade: o teor de umidade natural (12 a 13%) foi elevado para aproximadamente 18% por injeção de vapor por 30 segundos;

3) Secagem: no formato de pellets, o farelo foi desidratado para atingir 8-9% de umidade, por exposição ao ar quente (100°C);

4) Extração: seguiu-se extração com hexano aquecido a 50°C, e obteve-se o óleo industrial, ainda com alta acidez. O óleo foi submetido à vaporização, quando eliminou-se o solvente;

5) Dessolventização: o farelo foi submetido a calor direto e indireto para eliminação do hexano.

Estes procedimentos estão descritos na literatura como estabilização por adição de umidade a quente e extração por solventização (YOKOCHI, 1977 e SRIMANI *et al.*, 1977, *apud* JULIANO, 1980).

O FA sob a forma de “pellets” foi armazenado a 5°C por 72 horas a partir do recebimento, enquanto procedeu-se à determinação de umidade, proteína bruta e lípidos totais em amostra moída (60 mesh). No momento do preparo das dietas, os “pellets” foram moídos em moinho de facas até granulometria compatível com a dos demais ingredientes.

3.2. Lavagem dos utensílios e vidraria.

Todos os utensílios empregados para formulação de dietas, manejo dos animais, coleta, armazenamento e análise de amostras eram de plástico, vidro ou aço inoxidável, e foram imersos em solução de ácido nítrico 10% ou EDTA 10%, por pelo menos 12 horas e, posteriormente, lavados 3 vezes com água desionizada, para minimizar a contaminação com minerais.

3.3. Dietas.

Preparou-se uma dieta basal (DB), composta por FA com acréscimo de 2% de mistura vitamínica (AIN-76, AMERICAN..., 1977) e óleo vegetal (de milho, Mazola, Refinações de Milho, Brasil) em quantidade suficiente para atingir 8% de lípides totais. Resultados obtidos nesta instituição por Torin (1991), que avaliou a suplementação do FA com caseína, demonstraram não haver diferença significativa sobre os indicadores de crescimento de ratos, e indicaram que, provavelmente, o comprometimento de elementos da fração mineral poderia explicar o limitado valor nutricional observado. A formulação da dieta basal pode ser vista na Tabela 1.

A fim de identificar quais minerais teriam a sua disponibilidade afetada pela presença do fator sequestrante ácido fítico, procedeu-se ao monitoramento daqueles elementos apontados pela literatura como sendo os mais claramente afetados pelo fitato, ou seja: zinco, ferro, cobre e cálcio. Pretendeu-se verificar, através do ganho de peso dos animais, da eficiência alimentar e da deposição de zinco no fígado, a resposta ao enriquecimento com estes minerais. À dieta basal acrescentou-se os minerais zinco, cobre, ferro e cálcio, isoladamente em dois níveis (correspondentes a 50 e 100% dos valores do requerimento do animal, segundo AIN-76) e em combinações binárias ou ternárias, além de uma combinação dos quatro. Nestes casos, a suplementação fornecia 100% do requerimento em cada mineral. Preparou-se também uma dieta com mistura mineral completa para fins comparativos. As combinações empregadas estão

Tabela 1. Formulação da dieta basal.

Componente	Quantidade g/kg
Farelo de arroz estabilizado ¹	879
Mistura vitamínica ²	20
Óleo de milho ³	47
Amido de milho ⁴	54

¹ Fornecido por IRGOVEL, Pelotas, RS.

² AIN-76 (AMERICAN..., 1977)

³ Mazola, Refinações de Milho, Brasil.

⁴ Maizena, Refinações de Milho, Brasil. A adição de minerais às dietas teste foi feita às expensas de amido.

descritas na Tabela 2, que traz também as denominações adotadas para cada dieta teste.

O preparo das dietas iniciou-se com a mistura dos ingredientes farelo, óleo e mistura vitamínica, comuns a todas as dietas, em equipamento SIAM-TWEEDY TW 70, com baixa rotação, para garantia da melhor homogeneidade. Em seguida, esta pré mistura foi dividida em lotes adequados para compor cada dieta. Com exceção da dieta basal, acrescentou-se o sal ou a combinação de sais previamente incorporados a amido de milho (Maizena, Refinações de Milho, Brasil) em porções de volume crescente da pré mistura, para garantia de melhor distribuição dos sais.

Tabela 2. Protocolo de tratamentos para formulação mineral das dietas. Os valores percentuais expressam os níveis de suplementação em relação ao requerimento do animal¹.

Número de ordem	Dieta	Zinco ²	Cálcio ³	Ferro ⁴	Cobre ⁵	Mistura mineral completa ⁶
1	Basal	--	--	--	--	--
2	Zn-50	50%	--	--	--	--
3	Zn-100	100%	--	--	--	--
4	Ca-50	--	50%	--	--	--
5	Ca-100	--	100%	--	--	--
6	Fe-50	--	--	50%	--	--
7	Fe-100	--	--	100%	--	--
8	Cu-50	--	--	--	50%	--
9	Cu-100	--	--	--	100%	--
10	ZnCa	100%	100%	--	--	--
11	ZnFe	100%	--	100%	--	--
12	ZnCu	100%	--	--	100%	--
13	CaFe	--	100%	100%	--	--
14	CaCu	--	100%	--	100%	--
15	FeCu	--	--	100%	100%	--
16	ZnCaFe	100%	100%	100%	--	--
17	ZnCaCu	100%	100%	--	100%	--
18	ZnFeCu	100%	--	100%	100%	--
19	CaFeCu	--	100%	100%	100%	--
20	ZnFeCuCa	100%	100%	100%	100%	--
21	Completa	--	--	--	--	100%

¹ Segundo AIN-76 (American..., 1977).

² ZnSO₄·7H₂O

³ CaHPO₄·2H₂O

⁴ Citrato férrico

⁵ CuCO₃

⁶ ZnSO₄·7H₂O, CaHPO₄·2H₂O, Citrato férrico, CuCO₃, MgSO₄·7H₂O, KI, K₂SO₄, NaCl, Na₂SeO₃, CrK(SO₄)₂·12H₂O, MnSO₄·H₂O

3.4. Ensaio biológico.

Utilizaram-se ratos machos Wistar recém desmamados, com peso inicial de $60,67 \pm 9,33$ g, provenientes do Biotério Central da Unicamp, distribuídos aleatoriamente em grupos de seis por tratamento. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas de aço inoxidável por um período de teste de 21 dias, precedido de 48 horas de adaptação. O controle de ganho de peso e consumo de dieta foi feito duas vezes por semana.

O cálculo de eficiência alimentar (ganho de peso:consumo) foi feito de acordo com Baker (1986).

Durante todo o ensaio, os animais tiveram livre acesso à dieta e água desionizada. As condições ambientais no Laboratório de Ensaio Biológicos foram controladas para proporcionar temperatura média de 22 ± 2 °C, e ciclos de luz e escuro alternados a cada 12 horas.

A experimentação foi conduzida dentro dos padrões éticos internacionais que visam eliminar todo sofrimento desnecessário ao ser vivo.

3.5. Determinações químicas.

Procedeu-se à determinação da composição química do FA e dietas, através dos métodos descritos a seguir. Todas as amostras foram adequadamente moídas (60 mesh) e mantidas sob refrigeração até o momento das análises. Empregaram-se reagentes de grau analítico, de uso exclusivo deste estudo, em todas as análises.

3.5.1. Composição centesimal.

Umidade. Por gravimetria (A.A.C.C., 1983).

Proteína bruta. Através da determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl, (WILLIAMS, 1973) utilizando o fator de conversão para proteína de arroz 5,95 (Holland *et al.*, 1991).

Lípides totais. Pelo método descrito por Bligh e Dyer (BLIGH & DYER, 1959).

Cinzas. Por incineração em mufla a 500 °C, segundo método 08-01 (A.A.C.C., 1983).

Fibra Alimentar. O conteúdo de fibra alimentar solúvel e insolúvel foi quantificado utilizando-se o método gravimétrico enzimático recomendado por Asp e colaboradores (1983).

Carboidratos. Por diferença dos demais resultados para 100.

3.5.2. Determinação do conteúdo mineral.

As amostras secas de FA e dietas foram calcinadas em placa aquecedora com elevação lenta de temperatura até o término do desprendimento de fumaça, e foram transferidas para mufla a 500 °C por dois dias, ou até obtenção de cinzas brancas.

O preparo da solução de minerais foi feito por meio da adição de 0,5 mL ácido nítrico concentrado às amostras, com aquecimento em placa até secagem, seguido de solubilização por adição de 2,5 mL de ácido nítrico a 25% e

aquecimento suave. As amostras foram quantitativamente filtradas em papel de filtro livre de cinzas (Whatmann 540 “ashless”) e diluídas a 100 mL com água deionizada.

O conteúdo mineral das amostras foi determinado por meio de espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) em equipamento BAIRD ICP 2000. A utilização da espectrometria de emissão atômica por plasma vêm sendo utilizada para determinação de minerais em substituição à de absorção (AAS) por possibilitar análises múltiplas de forma rápida e com grande precisão (MOORE, 1989). O laboratório da Seção de Química Analítica (CENA/USP) possui amostra de farelo certificado para verificação da precisão de suas análises; a validação para tecidos hepáticos foi feita mediante repetição de determinações da mesma amostra em diferentes laboratórios (CENA/USP e ITAL), com obtenção de reprodutibilidade de resultados.

Ao final do ensaio, os animais foram anestesiados em ambiente de éter etílico para remoção do tecido hepático, o qual foi conservado por congelamento até o momento das análises. Fez-se a liofilização dos fígados, seguida de pesagem e moagem. Aliquotas do material foram transferidas para cadinhos de porcelana para obtenção de cinzas e preparo de soluções, segundo procedimento já descrito, com volume final de 25 mL.

3.5.3. Determinação do conteúdo de fitato.

Nas amostras de FA foi realizada a determinação de fitato, segundo o método de Harland & Oberleas (1977), com modificações introduzidas por Latta e Eskin (1980). Segundo o método, a perda de cor do complexo Fe^{3+} -ácido sulfosalicílico ocasionada pelo fitato, é medida para estimar a quantidade deste último.

A amostra seca e finamente moída foi extraída com HCl 0,25 M. Os fosfatos inorgânicos foram eliminados fazendo-se passar o extrato por coluna de troca aniônica (resina AGI-X8, DOWEX), e eluindo-o com NaCl 0,1 M. O fitato foi eluído com NaCl 0,7 M e combinado ao reagente de Wade (FeCl₃.6H₂O-ácido sulfosalicílico) para a reação de cor. O precipitado, que contém o complexo fitato-Fe foi eliminado por centrifugação e mediu-se a absorbância do sobrenadante, cuja diminuição é proporcional à concentração de fitato presente. Leituras padronizadas foram obtidas a partir de soluções preparadas com concentrações crescentes de fitato de sódio (Sigma, “Dodecasodium salt from rice”, P-3168), as quais foram tratadas de forma idêntica aos extratos.

3.5.4. Inibidor de Tripsina.

A atividade do inibidor de tripsina foi determinada seguindo o método de Kakade e colaboradores (1969), que utiliza o hidrocloreto do n-benzoil-DL-arginina- ρ -nitroanilida (BAPNA) como substrato sintético para a tripsina.

3.6. Análise Estatística.

A análise estatística dos dados dos ensaios biológicos e das determinações químicas foi feita por análise de variância e teste de Tukey, aceitando-se significação estatística a $P < 0,05$ (DUNCAN, 1955).

A correlação entre os dados experimentais foi calculada por análise de regressão linear.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

4.1. Determinações químicas.

4.1.1. Fatores antinutricionais.

A determinação de ácido fítico foi feita nos dois lotes de FA empregados para a confecção das dietas, sendo os valores encontrados $6,47 \pm 0,25$ g/100g e $6,39 \pm 0,15$ g/100g. Estes dados são comparáveis aos obtidos por Weber e Chaudhary (1987) e Torin (1991) que encontraram os valores de 6,9 e 6,25 g/100g, respectivamente, o que confirma o FA como uma das maiores fontes de ácido fítico.

Outros alimentos ricos em ácido fítico são a soja com 1,4 a 1,6 g/100g, o amendoim, com 1,7 g/100g, o gergelim com 3,6 a 5,2 g/100g e a colza, com 5,3 a 7,5 g/100g (ERDMAN, 1979). Estes intervalos são determinados segundo a fração do grão analisada, tendo em vista a maior concentração do ácido fítico no gérmen e pericarpo de grãos; segundo O'Dell e colaboradores (1972), 80% do ácido fítico do arroz encontra-se no pericarpo, e 7,6% no gérmen.

Diversos pesquisadores dedicaram-se a aperfeiçoar a metodologia de determinação do ácido fítico, que em muitos casos segue os mesmos passos: extração, purificação e dosagem, seja a partir da complexação com ferro aos seus grupos fosfato, fortemente protonados em ampla faixa de pH, ou da determinação do fósforo (REDDY *et al.*, 1989). Dos métodos quantitativos, o proposto por Harland e Oberleas (1977) é amplamente utilizado, e foi o que incluiu a fase de dupla eluição com HCl, para separação do fósforo inorgânico e orgânico, seguidas à concentração do fitato em resina de troca aniônica (HARLAND & OBERLEAS, 1977). Este procedimento tem melhores indicações para amostras com teor de gordura inferior a 5%; neste estudo, o FA teve seu teor original de gordura, próximo a 17%, diminuído pelo processo de estabilização a valores próximos a 3% (Tabela 3). Posteriormente, Latta e Eskin

propuseram uma modificação o método de Harland e Oberleas, suprimindo o passo de digestão nítrico-sulfúrica necessária à determinação do fósforo; e substituindo-o pela medida do fitato baseada na reação entre o cloreto férrico e o ácido sulfosalicílico (reagente de Wade), tornando o processo mais simples, seguro e com resultados semelhantes ao método original (LATTA & ESKIN, 1980; XU *et al.*, 1992).

Após a proposição de modificações do método original por outros grupos (COSGROVE, 1980; ELLIS & MORRIS, 1983), Harland e Oberleas coordenaram um estudo colaborativo que gerou o método adotado pela Association of Official Analytical Chemists (HARLAND & OBERLEAS, 1986), que manteve, contudo, a fase de digestão ácida.

Posteriormente, a metodologia recebeu críticas por não permitir a diferenciação entre o hexafosfato de mio-inositol (IP6) de suas frações (IP5, IP4, IP3, IP2 e IP1), os quais também são adsorvidos pela coluna e eluidos como ácido fítico. Desta forma, a metodologia não seria adequada para alimentos processados, que geram desfosforilação parcial do IP6 (LEHRFELD & MORRIS, 1992).

Do ponto de vista nutricional, estudos indicam que apenas as frações IP6 e IP5 determinam comprometimento significativo da biodisponibilidade de minerais (TAO *et al.*, 1986, *apud* LEHRFELD & MORRIS, 1992). Hayakawa e colaboradores (1990) determinaram o perfil das frações dos derivados fosforilados de IP6 em farelo de arroz após hidrólise enzimática, e encontraram que uma fração próxima a 70% dos compostos obtidos era formada por IP5 e IP6. Esta percentagem também foi encontrada em outros alimentos processados por Phillippy e colaboradores (1988), que trabalharam com feijões, flocos de cereais e derivados de soja. Para farinha de trigo integral e farelo de trigo, as frações IP6 e IP5 representam cerca de 90% do total de ácido fítico, em estudo que comparou a metodologia adotada pela AOAC e determinação das frações fosforiladas por cromatografia líquida de alta eficiência (BRUNE *et al.*, 1992),

método proposto em 1986 por Sandberg e Ahderinne (SANDBERG & AHDERINNE, 1986).

Considerando que o FA em estudo foi estabilizado térmicamente, com inativação da fitase naturalmente presente no subproduto, e que o mesmo não sofre fermentação posterior, acreditamos que também aqui as frações IP5 e IP6 sejam predominantes, o que reforça a adequação da metodologia adotada.

A respeito do inibidor de tripsina, não foi detectada atividade para este fator antinutricional. Barber e colaboradores (1978) e Tortosa e Benedito de Barber (1978) concordam em que a atividade antitriptica no farelo de arroz é muito baixa e quando detectada pode ser eliminada por tratamento térmico. Uma vez que o FA em estudo foi submetido a tratamento térmico para extração de óleo e inativação de lipoxidases e lipoxigenases, esta determinação teve o objetivo apenas de dizimar qualquer dúvida quanto à interferência de inibidores sobre os resultados dos ensaios.

4.1.2. Proteína bruta, lípidos, umidade, cinzas e fibra alimentar do farelo de arroz.

Na Tabela 3 apresentam-se os resultados obtidos para 2 lotes de FA analisados. Observa-se um teor protéico médio de 12%, um pouco inferior aos encontrados por Guerra e Jaffé (1975) entre 11 e 16 %; por Saunders (1990) entre 12 e 16 %; por Torin (1991) entre 12 e 14% e inferiores aos encontrados por Warren e Farrell (1990), que informaram valores entre 14,9 e 16,8%.

Do ponto de vista qualitativo, estudos que analisaram o perfil de aminoácidos indicam que o apresentado pelo FA é um dos melhores entre os cereais; contudo, como subproduto de cereal, também a lisina aparece como aminoácido limitante, e há baixa disponibilidade (cerca de 33%) de triptofano (GUERRA & JAFFÉ, 1975; TORTOSA & BENEDITO DE BARBER, 1978).

Estudos de digestibilidade dos aminoácidos essenciais no FA mostram valores entre 0,54 e 0,70 (WARREN & FARRELL, 1990). Considerando os dados anteriormente obtidos nesta instituição que confirmam o que se encontra na literatura sobre a matéria (TORIN, 1991), não foi objeto deste estudo proceder à caracterização do perfil de aminoácidos do FA.

Tabela 3. Composição do farelo de arroz (g/100g). Valores médios e desvios-padrão de três determinações.

Lote	Umidade	Proteína	Lípides	Cinzas
1	11,13 ± 0,06	11,74 ± 0,09	2,46 ± 0,07	11,14 ± 0,03
2	9,94 ± 0,13	12,31 ± 0,07	3,47 ± 0,09	11,98 ± 0,31

Tabela 4. Conteúdo em fibra alimentar solúvel, insolúvel e total do farelo de arroz (g/100 g)¹. Valores médios e desvios-padrão de três determinações.

Lote	Fibra solúvel	Fibra insolúvel	Fibra total
1	5,76 ± 0,15	39,93 ± 0,58	45,69 ± 0,70
2	6,09 ± 0,22	38,60 ± 0,43	44,70 ± 0,82

¹ Resultados expressos em base seca

Outro dado a destacar no farelo de arroz é o alto conteúdo em cinzas encontrado (11%), um indicativo da riqueza mineral do subproduto. O teor em cinzas encontra-se dentro da faixa dos valores referidos na literatura por diversos autores (GUERRA & JAFFÉ, 1975; BARBER & BENEDITO DE BARBER, 1980; SAUNDERS, 1990; TORIN, 1991; WARREN & FARRELL, 1990).

Na Tabela 4 apresentam-se os resultados da determinação da fibra alimentar do farelo de arroz, sendo que a fração solúvel encontra-se entre 5 e 6% e a insolúvel entre 39 e 40 %.

Os valores de fibra alimentar colocam o farelo como um subproduto rico em fibras, fato de grande importância sobretudo no que diz respeito à fração solúvel encontrada. Dados de literatura trazem valores de fibra alimentar que variam de 25 g/100g para farelo integral (SLAVIN & LAMPE, 1992) a 51 g/100g, para farelo desengordurado, com 2,4 a 2,9 g/100g de fração solúvel (SAUNDERS, 1990).

É preciso considerar, para comparações entre dados de composição centesimal, que as condições de processamento do arroz (obtenção do FA) determinam grandes variações, dada a presença de maior ou menor quantidade de amido extraído do grão de arroz quando do polimento da camada de aleurona que recobre o endosperma.

4.1.3. Composição mineral do farelo de arroz.

As Figuras 4 e 5 trazem os resultados da análise do conteúdo mineral do FA. Notam-se os elevados teores da totalidade dos minerais analisados, exceto para cálcio.

Os dados de literatura refletem a diversidade de teor de minerais decorrente do grau de extração do grão, variedades agronômicas e condições de

cultivo, mas os valores são comparáveis aos obtidos neste estudo. Para o teor de zinco, os dados apresentam-se acima dos encontrados por outros autores. Pudemos encontrar apenas um trabalho que referiu 80 mg de zinco por kg (SAUNDERS, 1990). Para os demais, os valores de zinco referidos são da ordem de 40 a 60 mg/kg (BARBER, 1971; WARREN & FARRELL, 1990).

O alto conteúdo de fósforo é compatível com a concentração de ácido fítico, que contém cerca de 80% do fósforo total de grãos (CHERYAN, 1980).

4.1.4. Composição centesimal das dietas experimentais.

A composição centesimal das dietas pode ser vista na Tabela 5, e sua análise mostra que as mesmas apresentaram-se isoprotéicas ($10,25 \pm 0,26$ g/100g) e isoenergéticas ($207,73 \pm 9,56$ kcal/100g).

Com relação ao teor de lípides, as dietas apresentaram valores também bastante próximos, indicando que o acréscimo de óleo vegetal foi adequado. Dado o grande número de dietas, a dosagem da fibra alimentar foi feita apenas considerando o valor total, e não das frações solúvel e insolúvel; contudo, entendemos que a determinação dos valores de fibra alimentar do FA (Tabela 4) é suficiente para indicar a proporção entre as duas frações.

A discussão a respeito do efeito da fibra alimentar sobre o metabolismo de micronutrientes ocupa um grande espaço entre as publicações científicas. Entre as principais conclusões decorrentes de recentes encontros, está a certeza de que, em muitos casos, a ação de compostos normalmente associados à fibra alimentar, como os fíatos, é a principal responsável pelo efeito negativo de alimentos ricos em fibra sobre a biodisponibilidade de minerais. Esta constatação é reforçada pelo fato de que frações isoladas de fibra podem não causar a mesma diminuição sobre a fração disponível de mineral do que a observada quando a mesma está contida no alimento origem.

Figura 4. Conteúdo de ferro, manganês, cobre e zinco do farelo de arroz ($\mu\text{g/g}$). Valores médios \blacksquare e erros-padrão \blacksquare para duas determinações.

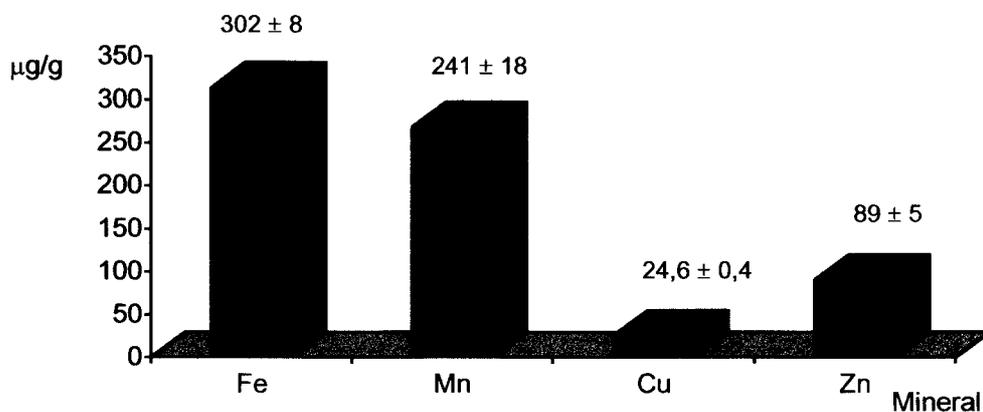
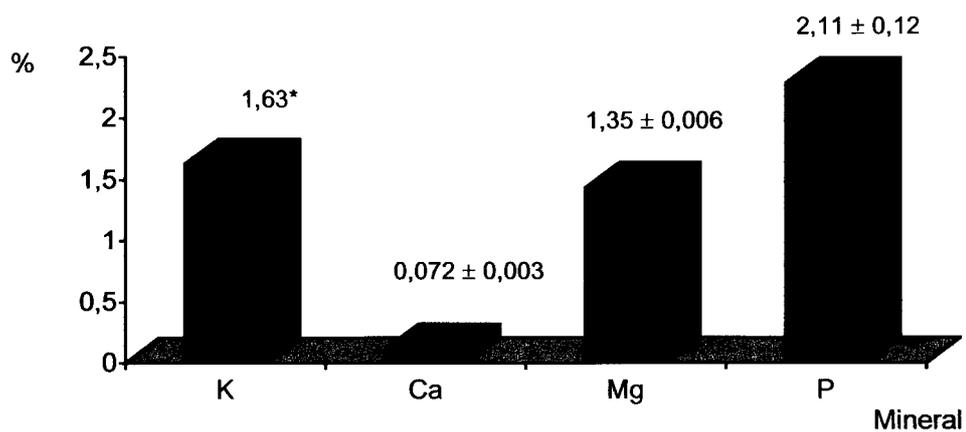


Figura 5. Conteúdo de potássio, cálcio, magnésio e fósforo do farelo de arroz (%). Valores médios \blacksquare e erros-padrão \blacksquare para duas determinações.



* Uma determinação

O teor de cinzas, próximo a 10 g/100g para a maior parte das dietas, decorre do elevado teor de minerais originalmente presentes no FA; observam-se mais altos valores (próximos a 12 e até 13 g/100g) para algumas dietas, decorrente da suplementação com cálcio; de fato, o requerimento deste mineral pelo rato em crescimento (5 g/kg) determina a incorporação de quantidade expressiva do sal fonte ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), o que certamente contribui para o aumento do teor de cinzas nas dietas.

Tabela 5. Composição centesimal das dietas experimentais (g/100g). Valores médios e desvios-padrão de três determinações.

Número de ordem	Dieta	Umidade	Proteína	Lípides	Fibra alimentar	Cinzas	Fração NIFEXT ¹
1	B	11,21 ± 0,05	10,31 ± 0,12	7,24 ± 0,11	39,40 ± 0,70	10,64 ± 1,02	21,20 ± 0,66
2	Zn-50	11,30 ± 0,05	10,58 ± 0,33	7,28 ± 0,06	39,95 ± 0,99	10,79 ± 0,86	20,10 ± 0,75
3	Zn-100	10,94 ± 0,15	10,65 ± 0,40	6,26 ± 0,08	40,03 ± 0,86	10,88 ± 0,81	21,24 ± 0,65
4	Ca-50	7,99 ± 0,03	10,32 ± 0,13	7,63 ± 0,09	39,59 ± 0,98	11,65 ± 0,73	22,82 ± 0,77
5	Ca-100	9,98 ± 0,06	10,21 ± 0,17	7,65 ± 0,12	40,26 ± 1,04	12,42 ± 0,65	19,48 ± 0,89
6	Fe-50	11,42 ± 0,11	10,20 ± 0,11	6,96 ± 0,01	39,50 ± 0,68	10,92 ± 0,78	21,00 ± 0,73
7	Fe-100	11,24 ± 0,29	10,64 ± 0,08	7,27 ± 0,03	39,91 ± 1,01	10,76 ± 0,84	20,18 ± 0,98
8	Cu-50	7,49 ± 0,20	10,52 ± 0,19	7,17 ± 0,07	38,83 ± 0,79	10,65 ± 0,93	25,34 ± 0,66
9	Cu-100	11,94 ± 0,14	10,31 ± 0,17	7,58 ± 0,10	40,61 ± 0,98	10,78 ± 0,23	18,78 ± 0,83
10	ZnCa	9,08 ± 0,05	10,15 ± 0,22	7,80 ± 0,07	39,63 ± 0,69	12,60 ± 0,58	20,74 ± 0,69

¹ “Nitrogen Free Extract”.

Tabela 5. Composição centesimal das dietas experimentais (g/100g). Valores médios e desvios-padrão de três determinações (continuação).

Número de ordem	Dieta	Umidade	Proteína	Lípides	Fibra alimentar	Cinzas	Fração NIFEXT ¹
11	ZnFe	11,07 ± 0,06	9,58 ± 0,37	7,37 ± 0,04	39,17 ± 0,87	11,15 ± 0,21	21,66 ± 0,68
12	ZnCu	10,29 ± 0,18	10,30 ± 0,13	7,33 ± 0,12	38,74 ± 0,95	10,82 ± 0,08	22,52 ± 0,85
13	CaFe	10,42 ± 0,11	10,45 ± 0,37	7,32 ± 0,12	37,31 ± 0,74	12,96 ± 0,13	21,54 ± 0,63
14	CaCu	9,64 ± 0,08	10,18 ± 0,50	7,99 ± 0,09	37,67 ± 0,93	12,53 ± 0,09	21,99 ± 0,70
15	FeCu	10,36 ± 0,12	10,30 ± 0,15	7,20 ± 0,08	39,05 ± 1,20	11,19 ± 0,01	21,90 ± 0,91
16	ZnCaFe	10,83 ± 0,12	9,98 ± 0,57	7,03 ± 0,06	39,74 ± 0,86	11,90 ± 0,31	20,52 ± 0,99
17	ZnCaCu	11,22 ± 0,09	9,78 ± 0,18	7,15 ± 0,12	41,06 ± 0,59	12,91 ± 0,42	17,88 ± 0,73
18	ZnFeCu	10,45 ± 0,07	10,33 ± 0,27	7,67 ± 0,06	39,40 ± 0,77	10,95 ± 0,64	21,20 ± 0,88
19	CaFeCu	11,01 ± 0,13	10,27 ± 0,32	7,24 ± 0,08	41,44 ± 0,79	12,52 ± 0,09	17,52 ± 0,97
20	ZnCaFeCu	12,50 ± 0,09	10,20 ± 0,20	6,99 ± 0,13	41,12 ± 1,32	13,13 ± 0,18	16,06 ± 1,01
21	C	11,27 ± 0,03	10,09 ± 0,37	7,18 ± 0,09	40,93 ± 0,90	13,39 ± 0,96	17,14 ± 0,59

¹ “Nitrogen Free Extract”.

4.1.5. Composição mineral das dietas.

As análises do conteúdo mineral das dietas confirmaram os valores acrescidos de minerais, considerando ainda o teor original do FA. A Tabela 6 traz os teores de zinco, ferro, cobre e cálcio encontrados nas dietas experimentais. O único mineral cuja suplementação resultou em expressiva alteração do conteúdo final em relação ao encontrado no FA foi o cálcio, dada a sua condição de macronutriente, somada à sua pequena concentração no FA, já esperada por ser derivado de cereal.

Para os demais minerais, cujos valores de requerimento são de pequena expressão considerando o conteúdo dos mesmos originalmente presente no farelo, a suplementação trouxe pequeno aumento, observado na análise das dietas.

Para a avaliação da suplementação, pode-se considerar a dieta basal como referência de concentração de minerais exclusivamente fornecidos pelo FA. As dietas com suplementação de zinco apresentaram valores entre $79 \pm 1,8$ e $83 \pm 1,93$ mg/kg, ($76 \pm 1,02$ mg/kg para a suplementação a 50% do requerimento), adequados para a suplementação pretendida de 12 mg/kg. Para o ferro, cujo valor de suplementação pretendido foi de 35 mg/kg, os valores das dietas com acréscimo deste mineral foram de $259 \pm 2,09$ a $286 \pm 2,20$ mg/kg ($255 \pm 2,28$ mg/kg para a suplementação a 50%). As determinações de cálcio mostraram também valores próximos ao pretendido com a suplementação de 0,5% (100% do requerimento), ficando entre $0,48 \pm 0,06$ e $0,56 \pm 0,03$ % para as dietas em que foi adicionado ($0,27 \pm 0,02$ % para a dieta com suplementação a 50% do requerimento).

Já as determinações de cobre mostraram maiores variações: as dietas suplementadas com 5 mg/kg apresentaram valores de $13,23 \pm 1,05$ a $15,43 \pm 0,57$ mg/kg; a dieta Cu-50, suplementada a 50%, apresentou o valor $13,03 \pm 0,04$ mg/kg, sem diferença do valor $13,23 \pm 1,05$ mg/kg, encontrado para a dieta CaCu.

Observando os valores de cobre das dietas com suplementação de cálcio (e não com cobre), percebe-se valores menores do que os obtidos com a dieta basal.

Tabela 6. Conteúdo de zinco, ferro, cobre e cálcio das dietas experimentais. Valores médios e erros-padrão de duas determinações.

Número de ordem	Dieta	Zn	Fe	Cu	Ca
			mg/kg		%
1	Basal	70,00 ± 2,15	240 ± 1,99	11,21 ± 0,79	0,05 ± 0,00
2	Zn-50	76,00 ± 1,02	234 ± 1,44	10,57 ± 3,43	0,05 ± 0,00
3	Zn-100	85,00 ± 1,50	225 ± 2,62	11,17 ± 0,83	0,05 ± 0,01
4	Ca-50	62,00 ± 1,87	210 ± 1,42	7,38 ± 0,62	0,27 ± 0,02
5	Ca-100	65,00 ± 2,16	225 ± 2,04	7,29 ± 0,71	0,52 ± 0,02
6	Fe-50	59,85 ± 2,02	255 ± 2,28	9,27 ± 0,74	0,05 ± 0,00
7	Fe-100	72,30 ± 1,66	286 ± 2,20	11,54 ± 1,46	0,05 ± 0,01
8	Cu-50	65,00 ± 1,77	226 ± 2,20	13,03 ± 0,04	0,04 ± 0,00
9	Cu-100	68,00 ± 1,41	232 ± 1,62	15,43 ± 0,57	0,04 ± 0,00
10	ZnCa	79,00 ± 1,77	210 ± 2,07	7,14 ± 0,86	0,54 ± 0,02
11	ZnFe	82,00 ± 1,67	274 ± 2,24	10,26 ± 0,25	0,04 ± 0,00
12	ZnCu	83,00 ± 1,93	223 ± 2,27	14,80 ± 0,20	0,04 ± 0,00
13	CaFe	68,00 ± 2,11	265 ± 2,04	8,21 ± 0,35	0,54 ± 0,02
14	CaCu	67,00 ± 1,92	144 ± 1,95	13,23 ± 1,05	0,56 ± 0,03
15	FeCu	67,00 ± 1,47	269 ± 2,74	14,30 ± 0,30	0,04 ± 0,00
16	ZnCaFe	79,00 ± 2,19	276 ± 2,26	6,92 ± 0,08	0,50 ± 0,04
17	ZnCaCu	80,00 ± 2,52	133 ± 1,46	14,53 ± 0,59	0,48 ± 0,06
18	ZnFeCu	81,00 ± 2,62	269 ± 1,96	14,71 ± 1,29	0,04 ± 0,00
19	CaFeCu	66,00 ± 1,90	259 ± 2,09	14,00 ± 0,87	0,51 ± 0,00
20	ZnFeCuCa	80,00 ± 2,17	273 ± 1,65	14,70 ± 0,30	0,50 ± 0,04
21	Completa	78,00 ± 3,41	293 ± 2,13	14,87 ± 1,13	0,50 ± 0,00

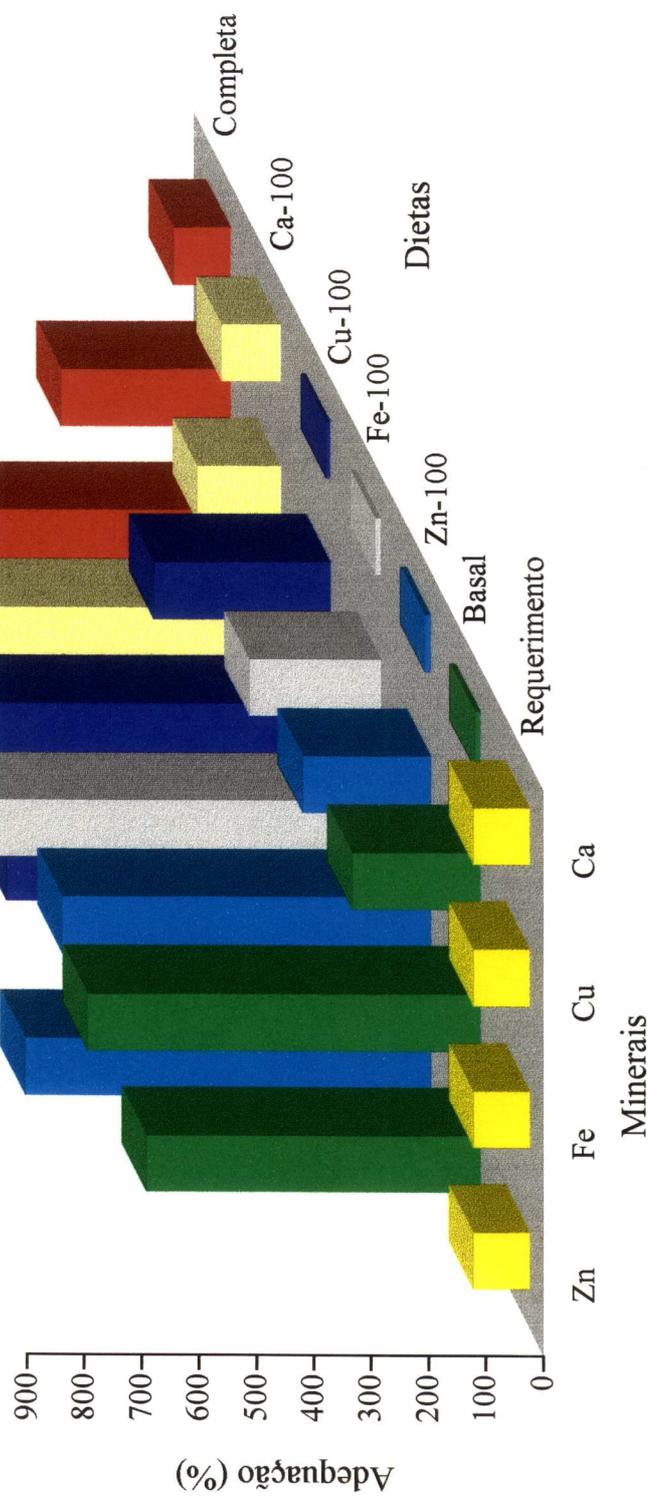
Contudo, dada a obtenção de valores de cobre correspondentes a cada suplementação pretendida, exceto para a dieta CaCu ($13,23 \pm 1,05$ mg/kg), entendemos que este fato não interferiu nos resultados dos ensaios.

É relevante, entretanto, não perder de vista que, além da concentração absoluta de um mineral na ração, é importante também a própria concentração relativa de cada um em relação aos demais.

Merecem destaque também as baixas concentrações de ferro observados nas dietas CaCu e ZnCaCu ($144 \pm 1,95$ e $133 \pm 1,46$ mg/kg, respectivamente).

Para ilustrar como a quantidade de minerais originalmente presente no FA aparentemente atende aos requerimentos do animal, considerando apenas a dosagem química, a Figura 6 traz a representação do requerimento para os quatro minerais (barras amarelas, equivalentes a 100% do requerimento) e a percentagem de adequação (concentração na dieta / requerimento x 100) atingida pelas dietas Basal, Zn-100, Fe-100, Cu-100, Ca-100 e Completa.

Figura 6. Percentagem de adequação em relação ao requerimento dos minerais zinco, ferro, cobre e cálcio para as dietas Basal, Zn-100, Fe-100, Cu-100 e Ca-100 e Completa.



4.2. Ensaio biológico.

4.2.1. Dados de crescimento.

Estudou-se o efeito da suplementação com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio sobre o valor nutritivo de uma dieta basal de FA, de forma isolada em duas concentrações, correspondentes a 50 e 100% do requerimento do rato para cada mineral, sobre os indicadores ganho de peso e eficiência alimentar.

Os minerais foram adicionados de forma combinada, dois a dois, três a três e o conjunto de 4, a fim de avaliar possíveis efeitos decorrentes de interações. Este propósito levou-nos à confecção de 21 dietas diferentes. Dadas as características de um ensaio biológico para estudo de minerais, o rigor dos procedimentos de descontaminação de utensílios, gaiolas, água, vidraria, aliado aos cuidados de higiene com o ambiente para minimizar os riscos de contaminação por qualquer fonte de mineral, os ensaios foram conduzidos em quatro fases, cada uma com um grupo de tratamentos. Esta providência permitiu trabalhar, a cada período de uso do Laboratório de Ensaio Biológicos, com cerca de 30 animais, o que consideramos, pela experiência adquirida, o número máximo compatível com a segurança exigida por este tipo de estudo, dentro de nossas condições de trabalho.

A apresentação e a análise estatística dos resultados foram feitas por grupos de tratamentos, cujo critério de organização está descrito a seguir. Em todos eles, as dietas basal e completa foram incluídas como valores de referência. A título de informação comparativa, dados de literatura mostram que ratos nesta fase de desenvolvimento, alimentados com ração comercial (Labina, Purina), apresentam taxa de crescimento próxima a 4 g por dia, ou 87 g no período de 21 dias, com consumo diário de 18 g de ração, correspondente a 378 g no mesmo período. A eficiência alimentar obtida, neste caso, é de 0,23 (SGARBIERI *et al.*, 1989).

Primeiro grupo: formado pelas dietas suplementadas com os minerais isoladamente, em ambas as concentrações. Desta forma, procurou-se encontrar qual (ou quais) dos

Tabela 7. Ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar obtidos de animais alimentados com as dietas com suplementação singular de zinco, ferro, cobre ou cálcio, nas concentrações correspondentes a 50 ou 100% do requerimento do rato. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.

Dieta	Ganho de peso (g)	Consumo (g)	Eficiência Alimentar ²
Basal	34 ± 4 ^{1,cde}	274 ± 11 ^{abcd}	0,124 ± 0,014 ^{bcd}
Zn-50	46 ± 1 ^{ab}	271 ± 30 ^{abcd}	0,174 ± 0,020 ^a
Zn-100	38 ± 8 ^{bcd}	286 ± 37 ^{ab}	0,135 ± 0,032 ^{abcd}
Fe-50	41 ± 4 ^{bc}	280 ± 34 ^{abc}	0,147 ± 0,026 ^{abc}
Fe-100	44 ± 3 ^{ab}	285 ± 21 ^{ab}	0,155 ± 0,006 ^{ab}
Cu-50	29 ± 5 ^{de}	248 ± 7 ^{bcd}	0,116 ± 0,020 ^{cd}
Cu-100	29 ± 3 ^{de}	240 ± 16 ^{cd}	0,120 ± 0,019 ^{bcd}
Ca-50	27 ± 5 ^{de}	238 ± 15 ^d	0,114 ± 0,016 ^{cd}
Ca-100	26 ± 7 ^e	246 ± 8 ^{bcd}	0,104 ± 0,025 ^d
C	52 ± 8 ^a	312 ± 8 ^a	0,167 ± 0,023 ^a

¹ Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

² Ganho de peso / consumo.

minerais poderiam ter a biodisponibilidade comprometida. Os resultados de ganho de peso, consumo e eficiência alimentar (ganho de peso / consumo de dieta) estão na Tabela 7.

Estes dados mostram que as suplementações com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio resultaram em respostas nem sempre iguais dos indicadores ganho de peso, consumo e eficiência alimentar.

O mais altos valores de ganho de peso e consumo foram obtidos com a dieta suplementada com todos os minerais, sem diferença estatística das dietas suplementadas com zinco a 50% do requerimento (Zn-50) e com ferro a 100% (Fe-100); também estas três dietas apresentaram os melhores valores de eficiência alimentar, seguidos das dietas Fe-50 e Zn-100, todas sem diferença significativa. Apesar disto, os valores de eficiência alimentar das dietas com ferro (Fe-50 e Fe-100) e Zn-100 não são estatisticamente diferentes dos obtidos com a dieta sem suplementação (Basal).

Já as suplementações com cobre (Cu-50 e Cu-100) e cálcio (Ca-50 e Ca-100) não apresentaram bons resultados, como indicam os baixos valores de ganho de peso e eficiência alimentar obtidos, estatisticamente sem diferença dos obtidos com a dieta basal.

De todos os dados mostrados nesta tabela, chama a atenção o valor de eficiência alimentar obtido com a dieta Zn-50 ($0,174 \pm 0,02$), que indica uma tendência favorável no sentido desta suplementação, uma vez que, embora sem diferença estatística dos obtidos com as dietas Fe-50 e Fe-100 ($0,147 \pm 0,026$ e $0,155 \pm 0,006$ respectivamente) e Zn-100 ($0,135 \pm 0,032$), foi o único, ao lado do referente à dieta suplementada com todos os minerais (Completa = $0,167 \pm 0,023$), a se apresentar superior ao da dieta basal. De outro lado, a suplementação com cálcio, único mineral deficiente no FA, não se mostrou eficiente.

A eficiência alimentar da dieta Zn-100 ($0,135 \pm 0,032$), embora sem diferença significativa da Zn-50, decorre do fato de que, embora tenha determinado bom consumo alimentar, não resultou em ganho de peso compatível, o qual foi

inferior ao observado com a dieta completa. Neste sentido, os minerais zinco e ferro destacam-se do cobre ou cálcio; estes últimos provocaram clara tendência à diminuição dos indicadores ganho de peso, consumo e eficiência alimentar.

Tendo em vista os resultados obtidos com as dietas suplementadas com zinco e ferro, melhores do que os referentes à suplementação com cobre ou cálcio, a análise dos dados das dietas que continham estes minerais isoladamente e em combinação simples ou dupla com os demais do estudo foi feita separadamente, a fim de avaliar os efeitos de possíveis interações.

Segundo grupo. A Tabela 8 mostra os dados obtidos com as dietas suplementadas com zinco e suas combinações simples com ferro, cobre e cálcio.

Nota-se que a combinação do zinco com ferro (ZnFe) resultou em bons valores de ganho de peso e eficiência alimentar (36 ± 5 g; $0,139 \pm 0,017$), o mesmo ocorrendo com a combinação com cobre (ZnCu, 35 ± 6 g; $0,145 \pm 0,026$), sem diferença estatística significativa. Já a combinação com cálcio (ZnCa) mostrou-se negativa, resultando no menor valor de ganho de peso (26 ± 5 g) e eficiência alimentar do grupo ($0,107 \pm 0,022$), sem diferença significativa dos obtidos com a dieta basal (com 34 ± 4 g; $0,124 \pm 0,014$). A redução do indicador eficiência alimentar foi duplamente importante por tratar-se do resultado de dois acréscimos significativos: do ganho de peso e do consumo de dieta. Tal peculiaridade não foi observada em nenhuma das outras combinações.

Suplementações minerais combinadas devem ser vistas com cuidado por causa dos possíveis efeitos antagônicos entre os minerais envolvidos. No caso do cálcio, estudos anteriores já mostraram o efeito negativo que suplementações deste mineral podem trazer sobre a absorção de outros (MORRIS & ELLIS, 1980; SNEDEKER *et al.*, 1982). Isto é ainda mais evidente na presença de fitatos, pela formação de sais insolúveis Ca-fitato, que podem ainda agregar também zinco,

Tabela 8. Ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar obtidos de animais alimentados com dietas suplementadas com zinco e combinações deste com ferro, cobre e cálcio. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.

Dieta	Ganho de peso (g)	Consumo (g)	Eficiência Alimentar ²
Basal	34 ± 4 ^{1, bc}	274 ± 11 ^b	0,124 ± 0,014 ^b
Zn-100	38 ± 8 ^b	286 ± 37 ^{ab}	0,135 ± 0,032 ^{ab}
Zn Fe	36 ± 5 ^{bc}	259 ± 18 ^{bc}	0,139 ± 0,017 ^{ab}
Zn Cu	35 ± 6 ^{bc}	240 ± 11 ^c	0,145 ± 0,026 ^{ab}
Zn Ca	26 ± 5 ^c	244 ± 11 ^c	0,107 ± 0,022 ^b
Completa	52 ± 8 ^a	312 ± 8 ^a	0,167 ± 0,023 ^a

¹ Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

² Ganho de peso / consumo.

formando um quelato ternário Ca-fitato-zinco, ainda mais insolúvel, de composição possível também com ferro.

A solubilidade no meio intraluminal é uma das condições para garantia de absorção, além do tipo de sal empregado e condições de pH, bem como a ação de outros componentes da dieta, que podem atuar como potencializadores ou inibidores.

Terceiro grupo. Neste grupo estão as dietas com ferro e sua suplementação combinada com zinco, cobre e cálcio, cujos resultados de ganho de peso, consumo e eficiência alimentar estão na Tabela 9.

A suplementação com cobre (FeCu) resultou em valor de eficiência alimentar próximo ao obtido com a combinação com zinco (FeZn). Embora estes dois valores tenham sido menores, nenhum apresentou diferença significativa em relação à dieta suplementada com ferro isoladamente (Fe-100); contudo, estas duas últimas dietas apresentaram valores de eficiência alimentar sem diferença do obtido com a dieta completa .

Tabela 9. Ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar obtidos de animais alimentados com dietas suplementadas com ferro e combinações deste com zinco, cobre e cálcio. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.

Dieta	Ganho de peso (g)	Consumo (g)	Eficiência Alimentar ²
Basal	34 ± 4 ^{1,c}	274 ± 11 ^{bc}	0,124 ± 0,014 ^c
Fe-100	44 ± 3 ^{ab}	285 ± 21 ^{ab}	0,155 ± 0,006 ^{ab}
FeZn	36 ± 5 ^{bc}	259 ± 18 ^{bc}	0,139 ± 0,017 ^{abc}
FeCu	33 ± 4 ^c	252 ± 10 ^c	0,131 ± 0,013 ^{bc}
FeCa	23 ± 6 ^d	200 ± 18 ^d	0,113 ± 0,020 ^c
Completa	52 ± 8 ^a	312 ± 8 ^a	0,167 ± 0,023 ^a

¹ Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

² Ganho de peso / consumo.

Já quanto ao ganho de peso, a suplementação com cobre conseguiu apenas atingir um valor sem diferença do obtido com a suplementação ferro e zinco.

Observa-se que a combinação do ferro com o cálcio, a exemplo do observado no grupo de dietas suplementadas com zinco e suas combinações, determinou valores de ganho de peso e consumo inferiores aos obtidos com os demais tratamentos e mesmo referentes à dieta basal; portanto, chama a atenção que nem o acréscimo de zinco, de cobre ou de ferro, nos diferentes grupos, trouxe impacto negativo como o determinado pelo acréscimo de cálcio.

Uma análise dos dados apresentados até agora indica que os melhores resultados derivaram de suplementações com apenas um mineral, com destaque para os tratamentos com zinco e ferro.

Já a análise das combinações destes dois minerais, revela os bons valores obtidos com a mistura zinco e ferro (ZnFe), mas também com cobre (ZnCu). Ao contrário, as combinações com cálcio, em ambos os casos (com zinco, ZnCa e com ferro, FeCa) não melhoraram os indicadores em relação aos resultados da dieta basal. Contudo, as combinações binárias não foram analisadas em conjunto.

A fim de comparar os resultados das combinações dos minerais em conjunto, as Tabelas 10 e 11 trazem os resultados de ganho de peso, consumo e eficiência alimentar das dietas suplementadas com misturas binárias e ternárias, respectivamente. A Tabela 10 traz também combinação CaCu, ainda não avaliada, e a Tabela 11 a mistura dos quatro minerais, para comparação com as combinações ternárias.

Tabela 10. Ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar obtidos de animais alimentados com dietas suplementadas com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio em combinações binárias. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.

Dieta	Ganho de peso (g)	Consumo (g)	Eficiência Alimentar ²
Basal	34 ± 4 ^{1,b}	274 ± 11 ^b	0,124 ± 0,014 ^{bcd}
ZnFe	36 ± 5 ^b	259 ± 18 ^{bc}	0,139 ± 0,017 ^{bc}
ZnCu	35 ± 6 ^b	240 ± 11 ^c	0,145 ± 0,026 ^{ab}
ZnCa	26 ± 5 ^c	244 ± 11 ^c	0,107 ± 0,022 ^d
FeCu	33 ± 4 ^b	252 ± 10 ^c	0,131 ± 0,013 ^{bcd}
FeCa	23 ± 6 ^c	200 ± 18 ^d	0,113 ± 0,020 ^{cd}
CaCu	24 ± 6 ^c	204 ± 22 ^d	0,115 ± 0,020 ^{cd}
Completa	52 ± 8 ^a	312 ± 8 ^a	0,167 ± 0,023 ^a

¹ Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

² Ganho de peso / consumo.

Nota-se que todas as combinações binárias resultaram em valores de ganho de peso e consumo de dieta menores do que os obtidos com a dieta completa, e iguais ou menores do que os referentes à dieta basal. Apesar disto, a combinação do zinco com cobre (ZnCu) apresentou bom valor de eficiência alimentar, sem diferença do obtido com a dieta completa.

Este resultado é de certa forma surpreendente, por dois motivos. Inicialmente porque a suplementação isolada com cobre, em qualquer dos dois níveis, não resultou em melhoria da eficiência alimentar da dieta, e mesmo provocou ganho de peso inferior ao observado com a dieta basal, como mostrado na Tabela 7. Em segundo lugar, porque é clássica a interação zinco-cobre, e o fornecimento de suplementos do primeiro pode determinar menor absorção do segundo. Por outro lado, o zinco foi o mineral que, isoladamente, determinou os maiores valores de eficiência alimentar e ganho de peso observados, na concentração de 50%. Pode-se inferir, dos bons resultados obtidos com a dieta ZnCu, que foi o zinco, e não o cobre ou sua combinação, o principal determinante da qualidade desta dieta; além disto, o cobre não teria proporcionado antagonismo importante ao zinco, a exemplo do que ocorreu na dieta em que o zinco está combinado com o cálcio.

As combinações zinco com ferro (ZnFe) e ferro com cobre (FeCu), forneceram valores de eficiência alimentar sem diferença estatisticamente significativa dos obtidos com a combinação zinco e cobre (ZnCu), também em relação à dieta basal; é interessante notar também que o agrupamento destes tratamentos piorou a análise do desempenho da combinação do zinco com o ferro (ZnFe); a análise das Tabelas 8 e 9 mostra que esta combinação, quando tratada estatisticamente fora do grupo das combinações binárias, apresenta valor de eficiência alimentar sem diferença da dieta completa.

Também aqui, apenas a adição de cálcio, combinado com qualquer dos outros três minerais, resultou em valores de ganho de peso menores do que os observados com a dieta basal.

O cálcio, único mineral dentre os estudados deficiente no farelo de arroz, é apontado pela literatura como o principal potencializador da queda na solubilidade

de complexos formados com o ácido fítico, e a solubilidade dos íons no meio intraluminal é condição essencial para sua absorção. Portanto, entendemos que a suplementação com cálcio, singular nos dois níveis ou combinada, deva ter provocado maior precipitação dos complexos Ca-fitado-minerais, contribuindo para diminuir a biodisponibilidade dos mesmos. Isto parece mais evidente quando compara-se os resultados obtidos com as dietas suplementadas com zinco (principalmente Zn-50) e com ferro (Fe-50 e Fe-100), que resultaram em valores de eficiência alimentar sem diferença do obtido com a dieta completa, com os obtidos com as combinações zinco-cálcio (ZnCa) e ferro-cálcio (FeCa).

Analisando as combinações ternárias (Tabela 11), fica evidente que as misturas combinadas três a três não são interessantes, pois resultam em valores de ganho de peso, consumo e eficiência alimentar sem diferença dos obtidos com a dieta basal, ou menores. Mesmo as combinações dos minerais zinco e ferro, que isoladamente (Zn-50, Zn-100, Fe-50, Fe-100) ou em combinação dupla (ZnFe) determinam melhoria dos resultados, são prejudicadas pela adição isolada de cobre ou cálcio (ZnCuFe ou ZnCaFe), ou mista (ZnFeCuCa).

Tabela 11. Ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar obtidos de animais alimentados com dietas suplementadas com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio em combinações ternárias, e combinação dos quatro. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.

Dieta	Ganho de peso (g)	Consumo (g)	Eficiência Alimentar ²
Basal	34 ± 4 ^{1,b}	274 ± 11 ^b	0,124 ± 0,014 ^b
ZnCaFe	24 ± 6 ^c	256 ± 27 ^{bc}	0,093 ± 0,018 ^c
ZnCaCu	24 ± 3 ^c	199 ± 18 ^d	0,122 ± 0,014 ^b
ZnCuFe	28 ± 6 ^{bc}	248 ± 12 ^c	0,111 ± 0,021 ^{bc}
CaCuFe	14 ± 6 ^d	187 ± 30 ^d	0,072 ± 0,020 ^d
ZnFeCuCa	25 ± 4 ^c	259 ± 21 ^{bc}	0,095 ± 0,012 ^c
Completa	52 ± 8 ^a	312 ± 8 ^a	0,167 ± 0,023 ^a

¹ Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

² Ganho de peso / consumo.

4.2.2. Deposição hepática de zinco.

Os resultados das determinações do conteúdo hepático de zinco e peso seco do tecido serão apresentados obedecendo a mesma organização de grupos adotada para os tratamentos até aqui.

Assim, a Tabela 12 traz estes resultados referentes ao grupo de dietas com suplementação singular dos minerais do estudo, nas duas concentrações empregadas.

Os tratamentos Zn-50, Fe-50 e Fe-100 resultaram em maior incorporação de massa hepática, mostrando valores de peso seco do órgão iguais aos obtidos com a dieta completa. Já as dietas suplementadas com cobre (Cu-50 e Cu-100) ou cálcio (Ca-50 e Ca-100) não conseguiram melhorar os valores referentes à dieta basal.

Em relação à deposição mineral, nota-se que as mesmas dietas apresentaram conteúdo de zinco igual ao obtido com a dieta completa, além da dieta Cu-50 que, apesar do baixo valor de massa hepática, apresentou conteúdo de zinco sem diferença das dietas de mais alto valor.

É interessante notar que a dieta suplementada com zinco a 100% do requerimento não determinou a mesma incorporação de zinco no fígado, que neste caso foi igual à da dieta basal. Como no ensaio de crescimento, a suplementação com zinco a 100% do requerimento do animal determinou resultados ligeiramente inferiores aos obtidos com a suplementação a 50%. Este fato talvez tenha explicação na hipótese de que o limite entre a suplementação necessária para atendimento aos requerimentos do animal e o excesso de mineral, causando super-dosagem, tenha sido ultrapassado. Giugliano e Millward (1984) encontraram diminuição na deposição hepática de zinco em ratos alimentados com dieta deficiente em zinco (0,4 mg/kg) em relação aos alimentados com dieta suficiente (55 mg/kg); outros tecidos, como músculo e timo, não apresentaram diferença entre os dois grupos.

Tabela 12. Peso seco do tecido hepático e conteúdo de zinco obtidos de animais alimentados com as dietas com suplementação singular de zinco, ferro, cobre ou cálcio, nas concentrações correspondentes a 50 e 100% do requerimento do rato. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.

Dietas	Peso Fígado (g)	Zn (μ g)
Basal	0,94 \pm 0,08 ^{1,c}	124 \pm 10 ^{bc}
Zn-50	1,33 \pm 0,09 ^a	156 \pm 11 ^a
Zn-100	0,98 \pm 0,16 ^{bc}	128 \pm 17 ^{bc}
Fe-50	1,33 \pm 0,06 ^a	138 \pm 7 ^{abc}
Fe-100	1,25 \pm 0,05 ^a	141 \pm 8 ^{abc}
Cu-50	0,93 \pm 0,08 ^c	148 \pm 12 ^{ab}
Cu-100	0,96 \pm 0,06 ^c	126 \pm 16 ^{bc}
Ca-50	0,89 \pm 0,07 ^c	126 \pm 13 ^{bc}
Ca-100	0,85 \pm 0,09 ^c	123 \pm 11 ^c
Completa	1,15 \pm 0,08 ^{ab}	158 \pm 14 ^a

¹ Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Os resultados referentes ao grupo em que o zinco ou o ferro aparecem em combinação binária com os demais minerais estão nas Tabelas 13 e 14.

A suplementação combinada do zinco com os minerais ferro e cobre apresentou os melhores resultados deste grupo de tratamentos, uma vez que a dieta ZnFe determinou valor de massa hepática e conteúdo de zinco iguais aos obtidos com a dieta completa, sendo este último indicador também igual para a dieta ZnCu. Este último resultado reforça nossa hipótese anterior de que o cobre não interferiu na absorção de zinco, tendo em vista que a incorporação hepática deste último foi estatisticamente sem diferença da dieta completa .

Outra comparação interessante pode ser feita em relação à deposição hepática de zinco determinada pela dieta Zn-100, em relação às combinações do zinco com cobre ou com ferro. Ambas resultaram em valores sem diferença dos obtidos com a dieta completa, o que não aconteceu para Zn-100.

A combinação do zinco com o cálcio (ZnCa) não parece satisfatória, uma vez que produziu valores de massa hepática e conteúdo de zinco sem diferença dos obtidos com a dieta basal.

Tabela 13. Peso seco do tecido hepático e conteúdo de zinco obtidos de animais alimentados com dietas suplementadas com zinco e combinações deste com ferro, cobre e cálcio. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.

Dietas	Peso Fígado (g)	Zn (μ g)
Basal	$0,94 \pm 0,08$ ^{1,c}	124 ± 10 ^b
Zn-100	$0,98 \pm 0,16$ ^{abc}	128 ± 17 ^b
ZnCa	$0,84 \pm 0,06$ ^c	129 ± 9 ^b
ZnCu	$0,96 \pm 0,10$ ^{bc}	144 ± 24 ^{ab}
ZnFe	$1,13 \pm 0,07$ ^{ab}	142 ± 6 ^{ab}
Completa	$1,15 \pm 0,08$ ^a	158 ± 14 ^a

¹ Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabela 14. Peso seco do tecido hepático e conteúdo de zinco obtidos de animais alimentados com dietas suplementadas com ferro e combinações deste com zinco, cobre e cálcio. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.

Dietas	Peso Fígado (g)	Zn (μ g)
Basal	$0,94 \pm 0,08$ ^{cd}	124 ± 10 ^{bc}
Fe-100	$1,33 \pm 0,06$ ^a	141 ± 8 ^{ab}
FeZn	$1,13 \pm 0,07$ ^b	142 ± 6 ^{ab}
FeCu	$0,95 \pm 0,06$ ^c	119 ± 8 ^c
FeCa	$0,81 \pm 0,10$ ^d	91 ± 12 ^d
Completa	$1,15 \pm 0,08$ ^b	158 ± 14 ^a

¹ Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Analisando o ferro separadamente e em combinações com zinco, cobre e cálcio, observa-se que os melhores resultados foram os obtidos com as dietas suplementadas apenas com o próprio mineral (Fe-100), ou na sua combinação com zinco (FeZn), uma vez que as dietas FeCu e FeCa resultaram em valores iguais ou mesmo mais baixos de massa hepática e conteúdo de zinco do que os obtidos com a dieta basal.

Este é mais um indicativo de que o ferro, assim como o zinco, são os minerais cuja suplementação no FA é mais bem sucedida, isoladamente ou em combinação.

Quando analisadas em bloco, as combinações binárias revelam que a dieta ZnFe determina maior massa hepática, sem diferença da obtida com a dieta completa; quanto à incorporação hepática de zinco, também a combinação zinco e cobre (ZnCu) produz bons resultados, ambos sem diferença dos obtidos com a dieta completa.

As demais combinações (ZnCa, FeCu, FeCa, CaCu) resultaram em dados iguais aos obtidos com a dieta basal, ou menores.

Tabela 15. Peso seco do tecido hepático e conteúdo de zinco obtidos de animais alimentados com dietas suplementadas com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio em combinações binárias. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.

Dieta	Peso Fígado (g)	Zn (μg)
Basal	$0,94 \pm 0,08$ ^{1,b}	124 ± 10 ^d
ZnFe	$1,13 \pm 0,07$ ^a	142 ± 6 ^{bc}
ZnCu	$0,96 \pm 0,10$ ^b	144 ± 24 ^{bc}
ZnCa	$0,84 \pm 0,06$ ^c	129 ± 9 ^{cd}
FeCu	$0,95 \pm 0,06$ ^b	119 ± 8 ^d
FeCa	$0,78 \pm 0,05$ ^c	91 ± 12 ^e
CaCu	$0,81 \pm 0,10$ ^c	92 ± 5 ^e
Completa	$1,15 \pm 0,08$ ^a	158 ± 14 ^{ab}

¹ Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabela 16. Peso seco do tecido hepático e conteúdo de zinco obtidos de animais alimentados com as dietas suplementadas com os minerais zinco, ferro, cobre e cálcio em combinações ternárias, e combinação dos quatro. Valores médios e desvios-padrão para 6 animais.

Dieta	Peso Fígado (g)	Zn (μg)
Basal	$0,94 \pm 0,08$ ^{bc}	124 ± 10 ^b
ZnCaFe	$0,86 \pm 0,09$ ^{bc}	126 ± 10 ^b
ZnCaCu	$0,90 \pm 0,12$ ^{bc}	124 ± 17 ^b
ZnCuFe	$0,96 \pm 0,04$ ^b	151 ± 9 ^a
CaCuFe	$0,75 \pm 0,06$ ^d	121 ± 17 ^b
ZnFeCuCa	$0,84 \pm 0,07$ ^c	122 ± 10 ^b
Completa	$1,15 \pm 0,08$ ^a	158 ± 14 ^a

¹ Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

As combinações ternárias dos minerais não promovem maior incorporação de zinco do que as binárias, porque determinam valores de massa hepática e conteúdo de zinco iguais ou menores do que os obtidos com a dieta basal, exceto para a combinação dos minerais zinco, cobre e ferro (dieta ZnCuFe), que atingiu o mesmo valor de incorporação hepática de zinco do que o observado com a dieta completa .

A análise deste grupo é interessante, pois permite avaliar, com maior clareza, a interferência do cálcio sobre os demais minerais. Já nas tabelas anteriores, quando o cálcio aparecia em combinação dupla com zinco, ferro ou cobre, percebia-se uma tendência a aproximar os valores obtidos aos produzidos pela dieta basal, ou mesmo diminuí-los.

Já no estudo em bloco das combinações binárias e ternárias, este efeito é evidenciado pela redução observada em qualquer combinação em que apareça o cálcio, independentemente do arranjo estatístico que se possa obter com tratamentos tão diferentes.

O efeito dos demais minerais pode ser avaliado pelos resultados obtidos com a suplementação combinada dos três (ZnCuFe), que resultou em bom resultado de conteúdo hepático de zinco, ao lado da suplementação dos quatro (ZnFeCuCa): a adição de cálcio, único diferencial deste tratamento para o anterior, determinou a redução dos valores, que novamente igualaram-se os obtidos com a dieta basal.

São poucos os trabalhos que avaliaram o valor nutritivo mineral do farelo de arroz. Do que se pôde dispor da literatura, nossos dados são comparáveis aos obtidos por Franz e colaboradores (1980a) que encontraram menor incorporação de zinco no fígado, bem como menor crescimento, para ratos alimentados com arroz integral como fonte de zinco, quando comparados a uma dieta completa com concentrações semelhantes do mineral fornecida por sulfato de zinco. Neste estudo, a biodisponibilidade de zinco do arroz integral foi estabelecida como de 0,44 (sulfato de zinco = 1,0). Colli e colaboradores (1993) apontaram para a baixa biodisponibilidade do ferro em FA, em estudo de repleção de hemoglobina conduzido com ratos anêmicos.

Em trabalho para determinar a retenção de minerais em farelo de arroz, Warren e Farrell (1990) encontraram balanço negativo de cálcio e fósforo com o fornecimento de minerais pelo subproduto.

4.2.3. Estudo das razões molares (RMs) e relação entre os indicadores eficiência alimentar e conteúdo hepático de zinco.

Muitos estudos vêm tentando estabelecer relação entre a qualidade da dieta quanto à disponibilidade de seus minerais e a presença de ácido fítico, com base na concentração de ambos, expressa através das razões molares (RMs) entre eles, desde que Oberleas e Harland (1981) propuseram esta base de cálculo.

Dos minerais mais amplamente estudados, destacam-se o zinco e o cálcio, cuja relação com o ácido fítico motivou o estabelecimento de RMs (fitato:zinco) e [cálcio x fitato]:zinco como indicadores de biodisponibilidade destes minerais. (BINDRA *et al.*, 1986; ELLIS *et al.*, 1987; FERGUSON *et al.*, 1988; FITZGERALD *et al.*, 1993). Para a RM (fitato:zinco), valores de 20:1 ou superiores estão associados a deficiências clínicas ou bioquímicas de zinco. Existe pouca informação sobre RMs [cálcio x fitato]:zinco críticas, mas estudos já indicaram que a biodisponibilidade de zinco é inversamente proporcional ao seu aumento (DAVIES & WARRINGTON, 1986, *apud* FERGUSON *et al.*, 1988).

A Tabela 17 traz as RMs (fitato:zinco) e [cálcio x fitato]:zinco das dietas que receberam suplementação destes minerais.

Tabela 17. Razões molares (fitato:zinco) e [cálcio x fitato]:zinco das dietas Basal, Zn-50, Zn-100, Ca-50, Ca-100, ZnCa e Completa.

Dietas	Razão molar	
	fitato:zinco	[cálcio x fitato]:zinco
Basal	75	256
Zn-50	69	230
Zn-100	61	176
Ca-50	84	1451
Ca-100	80	2670
ZnCa	58	1978
Completa	65	2800

Observa-se que a adição de zinco nas dietas suplementadas a 50 (Zn-50) ou 100 % do requerimento (Zn-100 e ZnCa), dada a alta concentração do mineral originalmente presente no FA, pouco interfere nos valores da RM (fitato:zinco). Já a adição de cálcio, mesmo a 50% do requerimento do animal (Ca-50) reflete em significativa modificação da RM [cálcio x fitato]:zinco.

A utilização da RM como indicativo da qualidade do alimento ou dieta foi proposta em diversos estudos, e a constatação de que o aumento da concentração de cálcio em dietas ricas em ácido fítico pode inibir a disponibilidade do zinco ganha reforço (ELLIS *et al.*, 1987; BINDRA *et al.*, 1986; FITZGERALD *et al.*, 1993).

As baixas RMs [cálcio x fitato]:zinco das três primeiras dietas são consistentes com a hipótese de que os maus resultados obtidos com a dieta basal, não são principalmente resultado da falta de cálcio. Dito de outra forma, o cálcio não é o primeiro mineral limitante no FA.

Pode-se notar coerência comparando o desempenho das dietas suplementadas com zinco ou com cálcio e suas RMs [fitato x cálcio]:zinco, ou seja, as dietas com menores valores de RM (Zn-50 e Zn-100) apresentaram-se mais eficientes na promoção do ganho de peso, eficiência alimentar e deposição hepática de zinco do que as dietas com alta razão molar (Ca-50, Ca-100 e ZnCa).

Contudo, atenção deve ser dada à dieta completa, que também contém cálcio e portanto apresenta alto valor de RM: seus resultados no ensaio de crescimento foram sempre os melhores. Considerando ainda os resultados obtidos com a dieta basal, com baixo valor de RM e seus resultados de crescimento não satisfatórios, vemos que este indicador, a exemplo da RM (fitato : zinco), não apresentou boa aplicação neste estudo.

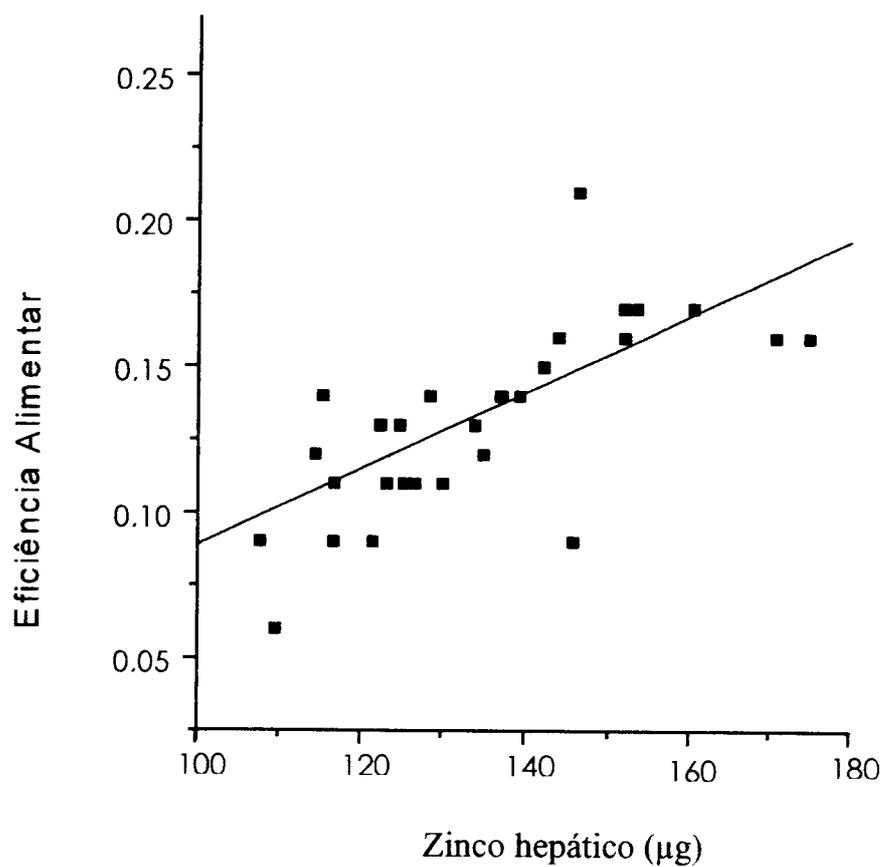
Existem relatos na literatura que confirmam a existência de resultados de absorção de minerais não coerentes com o previsto pela RM (fitato : zinco). House e colaboradores (1982) encontraram os mesmos valores de absorção de zinco em ratos alimentados com dietas suficientes em zinco (33 mg/kg) sem ou com adição de 2% de fitato de sódio, portanto com RMs bastante diferentes. Os autores discutem se, neste caso a aplicabilidade da RM seria dependente da fonte de ácido fítico,

considerando o uso do sal no estudo, e ainda da forma química de fornecimento do zinco. Outros trabalhos demonstram que a biodisponibilidade do zinco é maior em leguminosas do que em cereais com RMs semelhantes (FRANZ *et al.*, 1980b). Estes resultados, comparados aos anteriormente citados com seres humanos, sugerem que a adoção deste indicador encontra boas aplicações em estudos populacionais; contudo, para estudos experimentais, novas investigações precisam ser desenvolvidas para o esclarecimento das contradições.

A Figura 7 mostra uma correlação positiva entre o conteúdo de zinco hepático e a eficiência alimentar, sugerindo que os dois métodos de avaliação são consistentes entre si. A utilização do crescimento como indicador do valor nutritivo do zinco, associado à deposição tissular do mineral, mostrou, em trabalhos de Franz e colaboradores (1980a), que os dois indicadores são válidos.

O fitato tem sido apontado como o principal determinante da baixa disponibilidade do zinco, provavelmente devido à formação de complexos insolúveis em pH intestinal (SNEDEKER *et al.*, 1982). Champagne e colaboradores (1985), encontraram ainda que proteínas, minerais e fitatos do FA formam complexos insolúveis com adição de ferro, zinco e cobre.

Figura 7. Correlação entre conteúdo hepático de zinco e eficiência alimentar ($y=0.0013x-0.045$; $r=0.7474$; $n=31$; $p < 0.05$).



Trabalhando com um sistema *in vitro*, Xu e colaboradores (1992) demonstraram que o complexo cálcio-zinco-fitato se torna mais insolúvel com elevação do pH do meio de 4 para 6.

Oiao e colaboradores (1992) referem diminuição da disponibilidade de ferro, cobre, zinco e cálcio para ratos alimentados com dieta elaborada com mistura de carne e farelo de arroz, observada em dois ensaios de balanço de 5 dias cada.

O FA estabilizado, uma das mais ricas fontes conhecidas de fitato, demonstrou limitada disponibilidade de minerais, especialmente zinco e ferro, como inferido pelos dados de pequeno crescimento e incorporação de zinco hepático observados com a dieta basal quando comparados com as dietas suplementadas com zinco (especialmente a 50% do requerimento) ou ferro.

Tentativas de suplementar o FA com 50% do requerimento de cálcio, tendo em vista seu baixo conteúdo original, levou a um ganho de peso dos animais (27 g), sem diferença estatisticamente significativa do produzido pela dieta basal. A suplementação com 100% não foi diferente, como mostrado na seção de resultados sobre crescimento dos animais.

Exceto na dieta completa, que foi suplementada com mistura completa de minerais, a suplementação com cálcio das dietas de FA, com ou sem adição combinada de zinco, provocou menor consumo de dieta, menor ganho de peso e eficiência alimentar.

À medida que os métodos de avaliação nutricional, bem como a qualidade e precisão de equipamentos evoluíram, outros indicadores de estado nutricional, como o de estado nutricional mineral, passaram a ser investigados. Existe uma preocupação crescente com o “status” sub-ótimo quanto à nutrição em zinco, demonstrado por diversos autores (REINHOLD *et al.*, 1976; SANDSTEAD, 1991) decorrente dos efeitos diretos deste mineral sobre o crescimento, o que se faz mais preocupante em populações cuja dieta é basicamente composta por alimentos de origem vegetal.

Especificamente quanto aos efeitos do ácido fítico sobre a biodisponibilidade de minerais, estudos apontam que a presença deste fator antinutricional é

responsável pela baixa qualidade de dietas consumidas por populações que têm nos grãos a base de sua alimentação, como paquistanesas que, mesmo vivendo na Noruega, mantêm seus hábitos alimentares e apresentam uma incidência de 68% de anemia, contra 17% observada em não paquistanesas no mesmo país (BRUNVAND *et al.*, 1995).

Nossos dados mostram que, embora apresente alta concentração de minerais, exceto o cálcio, o farelo de arroz industrial estabilizado não consegue promover a mesma taxa de crescimento de ratos observada em uma dieta com fornecimento de todos os minerais. A suplementação de dietas à base deste farelo com zinco e/ou ferro podem reverter este quadro, sugerindo serem estes os principais minerais cuja biodisponibilidade está afetada pela presença do ácido fítico.

Mostram também que a pequena capacidade do FA em promover crescimento não está determinada pela baixa concentração de cálcio, tendo em vista que a suplementação com este mineral de forma isolada ou combinada com os demais do estudo não refletiu em melhoria dos indicadores estudados, comparativamente a uma dieta basal. Ao contrário, a adição de cálcio trouxe até diminuição dos indicadores, derivada possivelmente de um efeito potencializador da presença do mineral sobre o aumento da insolubilidade de complexos formados por fitato agregado a minerais. Portanto, tentativas de suprir a deficiência natural de cálcio do FA através da suplementação com este mineral (BARBER, 1971) devem ser consideradas à luz destes resultados.

Os dados de incorporação hepática de zinco apresentaram estreita relação com os indicadores de crescimento, resultando no estabelecimento de correlação positiva e forte entre ambos, expressa por regressão linear.

Além dos fitatos, o FA contém grande concentração de fibra, cujo efeito sobre a biodisponibilidade de minerais ainda não está totalmente esclarecido. A análise dos resultados de trabalhos sobre o assunto é dificultada pela diferença entre os protocolos de pesquisa, que resultam em conclusões aparentemente contraditórias, em alguns casos. Assim, resultados obtidos de testes *in vitro* podem não ser confirmados por estudos *in vivo*, ou o efeito da fibra isolada do alimento que a

contém não é o mesmo observado quando se emprega o alimento integral, como demonstra a revisão de Torre e colaboradores (1991).

A propriedade da fibra em trocar cátions é apontada como a principal explicação para seu efeito sobre a absorção de minerais, e está relacionada principalmente à sua fração solúvel (SOUTHGATE, 1987). Outro fator apontado como responsável pela interação fibra-minerais é a presença de compostos associados, como o ácido fítico (DAVIES *et al.*, 1977; WALKER *et al.*, 1992a).

No Brasil, a deficiência dietética de zinco foi constatada em populações do norte do país, em trabalho de Shrimpton e colaboradores (1983), citado por Pedrosa e Cozzolino (1990), que avaliaram a biodisponibilidade de zinco em dieta da região nordeste do país com estudo em ratos. Os autores determinaram também o conteúdo hepático de zinco dos animais, e concluem que a dieta em estudo apresenta baixa biodisponibilidade do mineral, como constatado pelos mais baixos valores dos indicadores estudados.

Recentemente, Nogara (1994) conduziu estudo de suplementação da dieta de crianças de 2 a 5 anos com cerca de 6 g de FA, administrado duas vezes ao dia, e não observou alteração de medidas antropométricas após 4 meses de intervenção, em relação a um grupo sem suplementação. Observou também que o aumento dos níveis séricos de zinco não foi acompanhado de alteração da concentração do peptídeo IGF-I, apesar da relação direta entre ambos.

Apesar da existência de importantes trabalhos sobre padrão alimentar e valor nutritivo de dietas no Brasil, os mesmos são escassos e representam, em geral, aspectos regionais, uma vez que o último levantamento nacional foi feito em 1974 (ESTUDO..., 1977). Contudo, considerando os altos níveis de desnutrição observados no país (INSTITUTO..., 1990), entendemos que existe o risco de ingestão deficiente de minerais para grande parte da população, sendo que a adoção do FA como fonte mineral para alimentação humana não se apresenta como uma perspectiva segura. Contudo, dadas as demais indicações de seu uso relatadas em literatura (terapia de nefropatias, hipercolesterolemia e mesmo terapia do câncer), entendemos que aplicações terapêuticas do subproduto mereçam consideração.

4. CONCLUSÕES.

A interpretação dos resultados obtidos nos testes de suplementação de dietas de farelo de arroz com zinco, ferro, cobre e cálcio para ratos, permite chegar às seguintes conclusões:

1. Os primeiros elementos da fração mineral cuja disponibilidade está comprometida no FA são o zinco e o ferro. Suplementação destes minerais como íons livres é capaz de melhorar significativamente o valor nutritivo do farelo.
2. A suplementação do FA com cálcio é contraproducente e não recomendável.
3. A necessidade de adicionar minerais a uma dieta de FA para melhorar suas propriedades nutricionais, invalida as propostas de utilizar este subproduto como fonte de minerais para o rato e, provavelmente, também para o homem.
4. A correlação extraída entre Eficiência Alimentar e deposição de zinco no fígado indica que esses parâmetros, usados em conjunto, devem auxiliar em estudos complementares de biodisponibilidade do zinco, e que este mineral, bem como o ferro, devem ser priorizados em estudos de biodisponibilidade mineral em FA.
5. Dentro do conjunto de dietas à base de FA as razões molares (fitato : zinco) ou [cálcio x fitato] : zinco não tem aplicabilidade como indicadores de disponibilidade mineral, devido ao elevado teor de fitato, que provoca perda da sua sensibilidade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods.** 8th ed. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, 1983.
2. AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.107, n. 7, p. 1340-1348, July 1977.
3. ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. **Agricultura.** Rio de Janeiro: IBGE, 1992. seção 3, capítulo 43.
4. ASP, N-G.; JOHANSSON, C-G.; HALLMER, H.; SILJESTROM, M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Bethesda, v. 31, n. 3, p. 476-482, May/June 1983.
5. BABCOCK, D. Rice bran as a source of dietary fiber. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 32, n. 8, p. 538-539, Aug. 1987.
6. BAKER, D.H. Problems and pitfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements for essential nutrients. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 116, n. 12, p. 2339-2349, Dec. 1986.
7. BARBER, S. Nuevas perspectivas en el aprovechamiento del salvado de arroz. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 11, n. 2 , p. 181-186, Jun. 1971.

8. _____; BENEDITO DE BARBER, C.; FLORES, M.J.; MONTES, J.J. Constituyentes tóxicos del salvado de arroz. I. Actividad de inhibidores de tripsina del salvado crudo y tratado térmicamente. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 18, n. 1 , p. 80-88, Mar. 1978.

9. _____; _____. Rice bran: chemistry and technology. In: LUH, B.H. **Rice: production and utilization**. Westport: AVI Publishing Company, 1980. p. 790-862.

10. BENDER, A.E. The concept and significance of nutrient bioavailability. In: Southgate, D., Johnson, I and Fenwick, G. **Nutrient Availability: Chemical & Biological Aspects**, Cambridge: Proceedings of Bioavailability'88. The Royal Society of Chemistry, 1989. p. 3-9.

11. BENEDITO DE BARBER, C. ; BARBER, S. Constituyentes tóxicos del salvado de arroz. II. Actividad hemaglutinante del salvado crudo y tratado térmicamente. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 18, n. 1 , p. 89-94, Mar. 1978.

12. BERSCH, S.; KRATZER, F.H.; VOHRA, P. Necessity of heat processing for improving nutritional value of rice bran for chickens. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 40, n. 4, p. 827-830, 1989.

13. BINDRA, G.S.; GIBSON, R.S.; THOMPSON, L. [Phytate][calcium]/[zinc] ratios in asian immigrant lacto-ovo vegetarian diets and their relationship to zinc nutriture. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 6, p.475-483, 1986.

14. BJÖRN-RASMUSSEN, E. Iron absorption: present knowledge and controversies. **The Lancet**, London, v. 23, p. 914-916, 1983.

15. BLIGH, E.G. ; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, Aug. 1959.
16. BRANDÃO DE ALENCAR, M; ALVARENGA, M. Farelo de arroz (I): composição química e seu potencial como alimento. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 34, n. 1 , p. 95-108, 1991.
17. BRUNE, M.; ROSSANDER-HULTÉN, L.; HALLBERG, L. Iron absorption: no intestinal adaptation to a high-phytate diet. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 49, n. 3, p. 542-545, Mar. 1989.
18. _____; _____; _____; 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. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 122, n. 3, p. 442-449, Mar. 1992.
19. BRUNVAND, L; HEINRIKSEN, C; LARSSON, M; SANDBERG, A.S. Iron deficiency among pregnant Pakistanis in Norway and the content of phytic acid in their diet. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, Denmark, v. 74, p. 520-525, 1995.
20. CABALLERO, B. Nutritional implications of dietary interactions: a review. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 10, n. 2, p. 9-20, 1988.
21. CAGAMPANG, G; CRUZ, L.; ESPIRITU, S.; SANTIAGO, R.; JULIANO, B. Studies on the extraction and composition of rice proteins. **Cereal Chemistry**, St. Paul, 43, n. 2 , p. 145-155, Mar. 1966.

22. CAMIRE, A.L.; CLYDESDALE, F.M. Analysis of phytic acid in food by HPLC. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 47, n. 2, p. 575-578, Mar/Apr. 1982.
23. CANTON, M.C.; CREMIN, F.M. The effect of dietary zinc depletion and repletion on rats: Zn concentration in various tissues and activity of pancreatic γ -glutamyl hydrolase (EC 3.4.22.12) as indices of Zn status. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 64, n. 1, p. 201-209, July 1990.
24. CARTWRIGHT, G.E.; WINTROBE, M.M. The question of copper deficiency in man. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 15, n. 1, p. 94-110, Jan. 1964.
25. CHAMPAGNE, E.T.; RAO, R.M.; LIUZZO, J.A.; ROBINSON, J.W.; GALE, R.J.; MILLER, F. The interactions of minerals, proteins, and phytic acid in rice bran. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 62, n. 4, p. 231-238, July/Aug. 1985.
26. CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 13, n. 4, p. 297-335, Dec. 1980.
27. COELHO, R. G. Interações nutricionais. **Revista de Metabolismo e Nutrição**, Porto Alegre, v. 2, n. 3, p. 106-117, Set. 1995.
28. COHEN, N.L.; KEEN, C.L.; HURLEY, L.; LÖNNERDAL, B. Determinations of copper-deficiency anemia in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 115, n. 6, p. 710-725, June 1985.

29. COLLI, C.; NOGUEIRA, N.N.; PINN, A.B.O.; PINTO, T.A.; MESQUITA, C.H. Iron bioavailability from rice bran in anemic rats. One-compartment kinetic model for data interpretation. *Berichte der Bundesforschungsanstalt für Ernährung*. In: Schlemmer, U. ed. **Bioavailability'93. Nutritional, Chemical and Food Processing Implications or Nutrient Availability**. Proceedings. Ettlingen, p.88-92, 1993.
30. COSGROVE, D.J. The determination of myo-inositol hexaphosphate (phytate). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 31, p. 1253, 1980.
31. DAVIES, N.T. HRISTIC, V.; FLETT, A.A. Phytate rather than fibre in bran as the major determinant of zinc availability to rats. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 15, p. 207-214, 1977.
32. _____; NIGHTINGALE, R. The effects of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc, and whole-body retention of zinc, copper, iron, and manganese in rats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 34, n. 2, p. 243-258, Sept. 1975.
33. DeMAYER, E.; ADIELS-TEGMAN, M. The prevalence of anaemia in the world. **World Health Statistic Quarterly**, Genebra, v. 38, p. 302-316, 1985.
34. DIAS, L.C.G.D.; REYES, F.; CAMARGO, J.L.V.; RODRIGUES, M.A.M. Conteúdos de celulose, hemiceluloses e lignina no farelo de arroz fresco. **Revista de Nutrição da PUECAMP**, Campinas, v. 7, n. 1, p. 62-70, Jan/Jun. 1994.

35. DREWS, J.M.; KIES, C.; FOX, H.M. Effect of dietary fiber on copper, zinc, and magnesium utilization by adolescent boys. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 32, n. 9, p. 1893-1897, Sept. 1979.
36. DUAYER, M.F.; MEYER, M.; DUAYER, F.T. Impacto do uso do farelo de arroz no estado nutricional de crianças menores de cinco anos. **Alimentação & Nutrição**, São Paulo, v. 45, p. 40-46, Jan/Fev. 1990.
37. DUNCAN, D. Multiple range and multiple F tests. **Biometrics**, Washington, v. 11, n. 1-4, p.1-42, 1955.
38. EASTWOOD, M. Fiber and gastrointestinal disease. In: Kritchevsky, D.; Bonfield, C.; Anderson, J. **Dietary Fiber: Chemistry, Physiology and Health Effects**. Proceedings of the George Vahouny Fiber Conference, Washington, 1988. p. 261-271.
39. EATON, S.B.; NELSON, D.A. Calcium in evolutionary perspective. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 54, n. 1, p. 281S-287S, July 1991.
40. ELLIS, R. ; MORRIS, ER. Improved ion-exchange phytate method. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 60, n.2, p. 121-124, Mar/Apr. 1983.
41. _____; KELSAY, J. L.; REYNOLDS, R. D.; MORRIS, E. R.; MOSER, P. B.; FRAZIER, C. W. Phytate:zinc and phytate x calcium:zinc millimolar ratios in self-selected diets of Americans, Asian Indians, and Nepalese. **Journal of the American Dietetic Association**, St. Paul, v. 87, n. 8, p. 1043-1047, Aug. 1987.

42. ERDMAN, J.W. Oilseed phytates : Nutritional implications. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Champaign, v. 56, n. 8, p. 736-741, Aug. 1979.
43. _____; PONEROS-SCHNEIER, A. Phytic acid interactions with divalent cations in food and in the gastrointestinal tract. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 249, p. 161-171, 1989.
44. ESTUDO NACIONAL DA DESPESA FAMILIAR. **Consumo Alimentar. Antropometria**. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, 1977.
45. EVANS, G.W.; GRACE, C.I.; HAHN, C. Homeostatic regulation of zinc absorption in the rat. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 143, n. 3, p. 723-725, Mar. 1973.
46. _____; JOHNSON, E.C.; JOHNSON, P.E. Zinc absorption in the rat determined by radioisotope dilution. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 109, n. 7, p.1258-1264, July 1979.
47. FAIRWEATHER-TAIT, S.J. Bioavailability of trace elements. **Food Chemistry**, Barking, v. 43, n. 3, p. 213-217, Mar. 1992.
48. _____; FOX, T.E.; WHARF, S.G.; EAGLES, J.; KENNEDY, H. Zinc absorption in adult men from a chicken sandwich made with white or wholemeal bread, measured by a double-label stable-isotope technique. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 67, n. 3, p. 411-419, May 1992.

49. _____; PORTWOOD, D.E.; SYMSS, L.L.; EAGLES, J.; MINSKI, M.J.
Iron and zinc absorption in human subjects from a mixed meal of
extruded and nonextruded wheat bran and flour. **American Journal of
Clinical nutrition**, Bethesda, v. 49, n. 1, p. 151-155, Jan. 1989
50. FERGUSON, E.; GIBSON, R.; THOMPSON, L.; OUNPUU, S.; BERRY,
M. Phytate, zinc, and calcium contents of 30 east African foods and
their calculated phytate:Zn, Ca:phytate, and [Ca][phytate]/[Zn] molar
ratios. **Journal of Food Composition and Analysis**, Orlando, v. 1,
p. 316-325, 1988.
51. FESTA, M.D.; ANDERSON, H.L.; DOWDY, R.P.; ELLERSIECK, M.R.
Effect of zinc intake on copper excretion and retention in men.
American Journal of Clinical Nutrition, Bethesda, v. 41, n. 2, p. 285-
292, Feb. 1985.
52. FISHER, H. Low-calcium diets enhance phytate-phosphorus availability.
Nutrition Reviews, New York, v. 50, n. 6, p. 170-171, June 1992.
53. FITZGERALD, S.L.; GIBSON, R.S.; QUAN DE SERRANO, J.;
PORTOCARRERO, L.; VASQUEZ, A.; ZEPEDA, E.; LOPEZ-
PALACIOS, C.Y.; THOMPSON, L.U.; STEPHEN, A.M.;
SOLOMONS, N.W. Trace element intakes and dietary phytate/Zn
and Ca x phytate/Zn millimolar ratios of periurban guatemalan
women during the third trimester of pregnancy. **American Journal
of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 57, n. 2, p. 195-201, Feb. 1993.
54. FLANAGAN, P.R. A model to produce pure zinc deficiency in rats and its
use to demonstrate that dietary phytate increases the excretion of

- endogenous zinc. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 114, n. 3, p. 493-502, Mar. 1984.
- 55.FORBES, R.M.; PARKER, H. M., ERDMAN, J. W., Effect of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability to rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 114, n. 7, p. 1421, July 1984.
- 56.FRANZ, K. B.; KENNEDY, B.M.; FELERS, D.A. Relative bioavailability of zinc using weight gain of rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.110, n. 11, p.2263-2271, Nov. 1980a.
- 57._____; _____; _____. Relative bioavailability of zinc from selected cereals and legumes using rat growth. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 110, n. 11, p. 2272-2283, Nov. 1980b.
- 58.FRØLICH, W. ; ASP, N-G. Mineral and phytate in the analysis of dietary fiber from cereals. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 62, n. 4 , p. 238-242, July/Aug. 1985.
- 59.GIUGLIANO, R.; MILLWARD, D.J. Growth and zinc homeostasis in the severely Zn-deficient rat. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.52, n. 3, p. 545-560, Nov. 1984.
- 60.GRIST, D.H. **Rice**. 4. ed. London:Longmans, Green and Co Ltd., 1965. p.67.
- 61.GUERRA, M.J. ; JAFFÉ, W.G. Estudios nutricionales en salvado de arroz. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 25, n. 4 , p. 401-417, Dic. 1975.
- 62.HALIOUS, L.; ANDERSON, J.J.B. Lifetime calcium intake and physical activity habits: independent and combined effects on the radial bone of

- health premenopausal Caucasian women. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 49, n. 3, p. 534-541, Mar. 1989.
63. HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ROSSANDER, L. Iron absorption in man: ascorbic-acid and dose-dependent inhibition by phytate. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 49, n. 1, p. 140-144, Jan. 1989.
64. HAMBIDGE, K.M., CASEY, C.E.; KREBS, N.F. Zinc. In: Mertz, W. ed. **Trace elements in human and animal nutrition**. 5. ed. Orlando: Academic Press, 1986. p. 1-137.
65. HARLAND, F. ; OBERLEAS, D. A modified method for phytate analysis using an ion-exchange procedure application to textured vegetable proteins. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 54, n. 4 , p. 827-832, July/Aug. 1977.
66. _____; _____. Anion exchange method for determination of phytate in foods: collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 69, n. 4, p. 667-670, July/Aug. 1986.
67. HAYAKAWA, T; SYZUKI, K.; MIURA, H.; OHNO, T.; IGAUE, I. Myo-inositol polyphosphate intermediates in the dephosphorylation of phytic acid by acid phosphatase with phytase activity from rice bran. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 54, n. 2 , p. 279-286, Feb. 1990.
68. HEMAVATHY, J.; PRABHAKAR, J. Lipid composition of rice (*Oriza sativa* L.) bran. **Journal of American Oil Chemist's Society (JAOCS)**, Champaign, v. 64, n. 7 , p. 1016-1019, July 1987.

- 69.HOLLAND, B.; WELCH, A.; UNWIN, I.; BUSS, D.; PAUL, A.; SOUTHGATE, D. **McCance and Widdowson's**. The composition of foods. 5. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1991. 462p.
- 70.HOUSE, W.A.; WELCH, R.M.; VAN CAMPEN, D.R. Effect of phytic acid on the absorption, distribution, and endogenous excretion of zinc in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 112, n. 5 , p. 941-953, May 1982.
- 71.HUNT, J.R.; JOHNSON, P.E.; SWAN, P.B. Dietary conditions influencing relative zinc availability from foods to the rat and correlations with in vitro measurements. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 117, n. 11, p. 1913-1923, Nov. 1987.
- 72.HUNTER, J.E. Iron availability and absorption in rats fed sodium phytate. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 111, n. 5 , p. 841-847, May 1981.
- 73.INSTITUTO NACIONAL DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Instituto de Planejamento Econômico e Social. **Pesquisa nacional sobre saúde e nutrição. Resultados preliminares**, Brasília, 1990, 35p.
- 74.JACKSON, M.J.; LOWE, N.M. Physiological role of zinc. **Food Chemistry**, Barking, v. 43, n. 3, p. 233-238, Mar. 1992.
- 75.JULIANO, B.O. Properties of rice caryopsis. In: LUH, B.H. **Rice: production and utilization**. Westport: AVI Publishing Company, 1980. p. 403-438.

- 76.KAHLON, T.S.; CHOW, F.I.; SAYRE, R.N. Cholesterol-lowering properties of rice bran. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 39, n. 2, p. 99-103, Feb. 1994.
- 77.KAKADE, M.L.; SIMONS, N.; LIENER, I.E. An evaluation of natural vs synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 46, n. 5, p. 518-526, Sept. 1969.
- 78.KELSAY, J.L. A review of research on effects of fiber intake on man. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 31, n. 1, p. 142-159, 1978.
- 79.KESTIN, M.; MOSS, R.; CLIFTON, P.M.; NESTEL, P.J. Comparative effects of three cereal brans on plasma lipids, blood pressure, and glucose metabolism in mildly hypercholesterolemic men. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 52, n. 4, p. 661-666, Oct. 1990.
- 80.KHAN, N.; ZAMAN, R.; ELAHI, M. Effect of processing on the phytic acid content of wheat products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Bethesda, v. 34, n. 6, p. 1010-1012, Nov/Dec. 1986.
- 81.KING, J.C. Assessment of zinc status. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 120, n. 11, p. 1474-1479, Nov. 1990.
- 82.KNOX, T.A.; KASSARJIAN, Z.; DAWSON-HUGHES, B.; GOLNER, B.B.; DALLAL, G.E.; ARORA, S.; RUSSELL, M. Calcium absorption in elderly subjects on high and low-fiber diets: effect of gastric acidity. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 53, n. 6, p.1480-1486, June 1991.

- 83.KOH, E.T.; REISER, S.; FIELDS, M.; SCHOLFIELD, D.J. Copper status in the rat is affected by modes of copper delivery. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 119, n. 3 , p. 453-457, Mar. 1989.
- 84.KRAMER, T.R.; JOHNSON, W.T.; BRISKE-ANDERSON, M. Influence of iron and the sex of rats on hematological, biochemical and immunological changes during copper deficiency. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 118, n. 2 , p. 214-221, Feb. 1988.
- 85.KRATZER, F.H.; PAYNE, C.G. Effect of autoclaving, hot-water treating, parboiling and addition of ethoxyquin on the value of rice bran as a dietary ingredient for chickens. **British Poultry Science**, London, v. 18, n. 4, p. 475, July 1977.
- 86.KUMAR, V.; KAPOOR, A.C. Availability of zinc as affected by phytate. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 28, n. 1 , p. 103-111, 1983.
- 87.LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Bethesda, v. 28, n. 5, p. 1313-1315, Sept/Oct. 1980.
- 88.LEAF, A.; WEBER, P.C. A new era for science in nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 45, n. 5, p. 1048-1053, May 1987.
- 89.LEE, D.Y.; SCHROEDER, J.; GORDON, D.T. Enhancement of Cu bioavailability in the rat by phytic acid. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 118, n. 6, p. 712-717, June 1988.

90. LEHRFELD, J.; MORRIS, E. Overestimation of phytic acid in foods by the AOAC anion-exchange method. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Bethesda, v. 40, n. 11, p. 2208-2210, Nov. 1992.
91. LO, G.S.; SETTLE, S.L.; STEINKE, F.H. Bioavailability of copper in isolated soybean protein using the rat as an experimental model. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 114, n. 2, p. 332-340, Feb. 1984.
92. LÖNNERDAL, B.; SANDBERG, AS.; SANDSTRÖM, B.; KUNZ, C. Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 119, n. 2, p. 211-214, Feb. 1989.
93. MAGEE, A.C.; MATRONE, G. Studies on growth, copper metabolism and iron metabolism of rats fed high levels of zinc. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 72, n. 2, p. 233-242, Feb. 1960.
94. McCANCE, R.; EDGECOMBE, C.; WIDDOWSON, E. Phytic acid and iron absorption. **Lancet**, London, v. 2, p. 126-128, 1943.
95. MILLER, J. Factors affecting evaluation of relative biological value of dietary iron for rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 112, n. 12, p. 2381-2385, Dic. 1982.
96. MILLS, C.F. The physiological roles of copper. **Food Chemistry**, Barking, v. 43, n. 3, p. 239-240, Mar. 1992.
97. MINISTÉRIO DA ECONOMIA, FAZENDA E PLANEJAMENTO. **Produção de arroz em 1991**. Brasília: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1992. 517p.

98. MONTEIRO, C.A.; SZARFARC, S.C. **Saúde e nutrição das crianças de São Paulo**, Hucitec/EDUSP, São Paulo, 1987, p. 107-116.
99. MOORE, G. L. **Introduction to inductively coupled plasma atomic emission spectrometry**. Analytical Spectroscopy Library, Amsterdam: Elsevier, 1989. v. 3, 338 p.
100. MORRIS, E.R.; ELLIS, R. Bioavailability to rats of iron and zinc in wheat bran: response to low-phytate bran and effect of the phytate/zinc molar ratio. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 110, n. 10, p. 2000-2010, Oct. 1980a.
101. _____; _____. Effect of dietary phytate/zinc molar ratio on growth and bone zinc response of rats fed semipurified diets. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.110, n. 5, p.1037-1045, May 1980b.
102. MOSER-VEILLON, P. Zinc: consumption patterns and dietary recommendations. **Journal of the American Dietetic Association**, St. Paul, v. 90, n. 8, p. 1089-1093, Aug. 1990.
103. NAHAPETIAN, A.; YOUNG, V.R. Metabolism of ¹⁴C-phytate in rats: effect of low and high dietary calcium intakes. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 110, n. 7, p. 1458-1472, July 1980.
104. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Recommended dietary allowances**. 10. ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1989. 284p.
105. NOGARA, C.D. **Farelo de arroz como suplemento alimentar. Avaliação da ação sobre *insulin-like growth factor-I* e**

- oligoelementos.** Curitiba, 1994. Tese (Mestre em Pediatria) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. 82 p.
106. NORDIN, B.E.C.; POLLEY, K.; NEED, A.; MORRIS, H.; MARSHALL, D. The problem of calcium requirement. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 45, n. 5, p. 1295-1304, May 1987.
107. OBERLEAS, O. ; HARLAND, B. Phytate content of foods: effect on dietary zinc bioavailability. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 79, n. 4, p. 433-436, Oct. 1981.
108. O'DELL, B.L.; BURPO, C.E.; SAVAGE, J.E. Evaluation of zinc availability in foodstuffs of plant and animal origin. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 102, n. 5, p. 653-660, May 1972.
109. _____. Bioavailability of trace elements. **Nutrition Reviews**, New York, v. 42, n. 9, p. 301-308, Sept. 1984.
110. OESTREICHER, P.; COUSINS, R.J. Copper and zinc absorption in the rat: mechanism of mutual antagonism. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 115, n. 2, p. 159-166, Feb. 1985.
111. OHKAWA, T.; EBISUNO, S.; KITAGAWA, M.; MORIMOTO, S.; MIYAZAKI, Y.; YASUKAWA, S. Rice bran treatment for patients with hypercalciuric stones: experimental and clinical studies. **Journal of Urology**, Baltimore, v. 132, n. 1, p. 1140-1145, Jan. 1984.
112. OIAO, D.; HEGSTED, M.; WINDHAUSER, M.; GODBER, J.S. Effect of rice bran and meat on mineral absorption in rats. **FASEB Journal**, Bethesda, v. 6, n. 5, p. 1665 (abst 4221), 1992.

- 113.O'NEIL-CUTTING, M.A.; BOMFORD, A.; MUNRO, H.N. Effect of excess dietary zinc on tissue storage of iron in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 111, n. 11, p. 1969-1979, Nov. 1981.
- 114.PEDROSA, L.F.C.; COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de zinco em dieta regional do nordeste. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 123-133, 1990.
- 115.PHILLIPPY, B.; JOHNSTON, M.; TAO, S.; FOX, M. Inositol phosphates in processed foods. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 53, n. 2, p. 496-499, Mar/Apr. 1988.
- 116.PHYTASE AND PHYTATE DEGRADATION IN HUMANS. **Nutrition Reviews**, New York, v. 47, n. 5, p.155-157, May 1989.
- 117.PRASAD, A.S.; OBERLEAS, D.; WOLF, P.; HORWITZ, J.P. Studies on zinc deficiency: changes in trace elements and enzyme activities in tissues of zinc-deficient rats. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 46, n. 4, p. 549-557, Apr. 1967.
- 118.RANHOTRA, G.S.; LOEWE, R.J.; PUYAT, L.V. Effect of dietary phytic acid on the availability of iron and phosphorus. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 51, n. 3, p. 323-239, May/June 1974.
- 119.RAO, B. ; PRABHAVATHI, T. An in vitro method for predicting the bioavailability of iron from foods. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 31, n. 1, p. 169-175, Jan. 1978.
- 120.REDDY, N.R.; PIERSON, M.D.; SATHE, S.K.; SALUNKE, D.K. Interactions of phytate with proteins and minerals. In: _____; _____;

_____ ; _____. **Phytates in cereals and legumes**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p.57-70.

121. REINHOLD, J.G.; FARADJI, B.; ABADI, P.; ISMAIL-BEIGI, F.
Decreased absorption of calcium, magnesium, zinc and phosphorus by humans due to increased fiber and phosphorus consumption as wheat bread. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 106, n. 4, p. 493-503, Apr. 1976.
122. RESURRECCIÓN, A.; JULIANO, B. Fatty acid composition of rice oils. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 26, n. 4, p. 437, Aprl. 1975.
123. ROBBINS, K.; NORTON, H.; BAKER, D. Estimation of nutrient requirements from growth data. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 109, n. 10, p. 1710-1714, Oct. 1979.
124. ROSSANDER-HULTÉN, L; BRUNE, M; SANDSTRÖM, B.; LÖNNERDAL, B; HALLBERG, L. Competitive inhibition of iron absorption by manganese and zinc in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 54, n. 1, p. 152-156, July 1991.
125. ROUANET, J.M.; LAURENT, C.; BESANÇON, P. Rice bran and wheat bran: selective effect on plasma and liver cholesterol in high cholesterol fed rats. **Food Chemistry**, Barking, v. 47, n. 1, p. 67-71, May 1993.
126. RUZ, M. CAVAN, K.; BETTGER, W.; THOMPSON, L.; BERRY, M.; GIBSON, R. Development of a dietary model for the study of mild zinc deficiency in humans and evaluation of some biochemical and functional indices of zinc status. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 53, n. 5, p. 1295-1303, May 1991.

- 127.SAKAMOTO, K.; VUCENIK. I.; SHAMSUDDIN, A. [³H] Phytic acid (inositol hexaphosphate) is absorbed and distributed to various tissues in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, n. 4, p. 713-720, Apr. 1993.
- 128.SANDBERG, A.S; AHDERINNE, R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates in foods and intestinal contents. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, n. 3, p. 547-550, May/June 1986.
- 129._____; ANDERSSON, H.; CARLSSON, NG.; SANDSTRÖM, B. Degradation products of bran phytate formed during digestion in the human small intestine: effect of extrusion cooking on digestibility. **Journal of Nutrition**, Bethesda, 117, n. 12, p. 2061-2065, Dec. 1987.
- 130._____; _____. Effect of dietary phytase on the digestion of phytate in the stomach and small intestine of humans. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 118, n. 4, p. 469-473, Apr. 1988.
- 131._____. The effect of food processing on phytate hydrolysis and availability of iron and zinc. In: Friedman, M. ed. **Nutritional and Toxicological Consequences of Food Processing**. New York: Plenum Press, 1991. p. 499-507.
- 132.SANDSTEAD, H.H. Copper bioavailability and requirements. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 35, n. 4, p. 809-814, Apr. 1982.
- 133._____. Zinc deficiency. **American Journal of Diseases of Children**, Chicago, v. 145, n. 8, p. 853-859, Aug. 1991.

134. _____. Fiber, phytates, and mineral nutrition. **Nutrition Reviews**, New York, v. 50, n. 1, p. 30-31, Jan. 1992.
135. SAUNDERS, R.M. Rice bran: composition and potential food uses. **Food Reviews International**, v.1, n.3, p. 465-495, Mar. 1985.
136. _____. The properties of rice bran as a foodstuff. **Cereal Foods World**, St. Paul, 35, n. 7, p. 632-636, July 1990.
137. SEETHARAMAIAH, G.S.; PRABHAKAR, J. Oryzanol content of indian rice bran oil and its extraction from soap stock. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 23, n. 5, p.270, Sept/Oct. 1986.
138. SGARBIERI, V. C.; OLIVEIRA, A. C.; NETTO, F. M.; AREAS, M. A.; COELHO, R. G.; DOMENE, S. M. A.; DUARTE, A. A.; NAVES, M. M. V.; VICENTE, N. Influência da fonte lipídica da dieta na utilização da caseína e proteína de soja por ratos Wistar. **Revista de Nutrição da PUCCAMP, Campinas**, v. 2, n. 2, p. 178-190, Jul/Dez. 1989.
139. SHERMAN, A.R.; TISSUE, N.T. Tissue iron, copper and zinc levels in offspring of iron-sufficient and iron-deficient rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.111, n. 2, p. 266-275, Feb. 1981.
140. SIMPSON, C.J.; WISE, A. Binding of zinc and calcium to inositol phosphates (phytate) in vitro. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 64, n. 1, p. 225-232, July 1990.
141. SLAVIN, J.L. ; LAMPE, J.W. Health benefits of rice bran in human nutrition. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 37, n. 10, p. 760-763, Oct. 1992.

142. SNEDEKER, S.M.; SMITH, S.A.; GREGER, J.L. Effect of dietary calcium and phosphorus levels on the utilization of iron, copper, and zinc by adult males. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 112, n. 1, p. 136-143, Jan. 1982.
143. SOLOMONS, N.W. On the assessment of zinc and copper nutriture in man, **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 32, n. 4, p. 856-871, Apr. 1979.
144. _____; JACOB, R.A. Studies on the bioavailability of zinc in humans: effects of heme and nonheme iron on the absorption of zinc. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 34, n. 4, p. 475-482, Apr. 1981.
145. SOUTHGATE, D. A. T. Minerals, trace elements and potential hazards. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 45, n. 5, p. 1256-1266, May, 1987.
146. _____. Conceptual issues concerning the assessment of nutrient bioavailability. In: _____; Johnson, Y.; Fenwick, G. **Nutrient Availability: Chemical & Biological Aspects**. Cambridge: Proceedings of Bioavailability'88. The Royal Society of Chemistry, 1989. p. 10-12.
147. STASSE, M.; HAUTVAST, J.G.; HERMUS, J.J.; KATAN, M.B.; BAUSCH, J.E.; RIETBERG-BRUSSAARD, H.; VELEMA, J.P.; ZONDERVAN, H.; EASTWOOD, M.A.; GORDON BRYDON, W. Effects of natural high-fiber diet on serum lipids, fecal lipids, and colonic function. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 32, n. 9, p. 1881-1888, Sept. 1979.

- 148.STOREY, M.L.; GREGER, J.L. Iron, zinc and copper interactions: chronic versus acute responses of rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 117, n. 8 , p. 1434-1442, Aug. 1987.
- 149.STUART, M.A.; JOHNSON, P.E. Copper absorption and copper balance during consecutive periods for rats fed varying levels of dietary copper. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 116, n. 6 , p. 1028-1036, June 1986.
- 150.TAIRA, H. Fatty acid composition of indica- and japonica-types of rice bran and milled rice. **Journal of American Oil Chemists' Society (JAOCS)**, Champaing, v. 66, n. 9 , p. 1326-1329, Sept. 1989.
- 151.TANGENDAJA, B.; BUCKLE, K; WOOTTON, M. Dephosphorilation of phytic acid in rice bran. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 46, n. 4, p. 1021-1024, July/Aug. 1981.
- 152.TORIN, H. R. **Utilização do farelo de arroz industrial. Composição e valor nutritivo em dietas recuperativas.** Campinas, 1991. Tese (Mestre em Ciência da Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 147p.
- 153.TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 30, n. 1, p. 1-22, 1991.
- 154.TORTOSA, E. ; BENEDITO De BARBER, C. El salvado de arroz y su valor potencial para alimentación animal. **Revista Agroquímica y de Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 18, n. 4, p. 408-421. Dic. 1978.

- 155.TSAI, R.C.Y. ; LEI, K.Y. Dietary cellulose, zinc and copper: effects on tissue levels of trace minerals in the rat. **Journal of Nutrition**, Bethesda, 109, n. 6, p. 1117-1122, June 1979.
- 156.TUDISCO, E.S. Anemia ferropriva. **Revista de Nutrição da PUCCAMP**, Campinas, v. 1, n. 1, p.68-71, Jan/Jun. 1988.
- 157.TUNTAWIROON, M.; SRITONGKUL, N.; ROSSANDER-HULTÉN, L.; PLEEHACHINDA, R.; SUWANIK, R.; BRUNE, M.; HALLBERG, L. Rice and iron absorption in man. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 44, p. 489-497, 1990.
- 158.TURNLUND, J.R.; KING, J.C.; GONG, B.; KEYES, W.R.; MICHEL, M.C. A stable isotope study of copper absorption in young men: effect of phytate and α -cellulose. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 42, n. 1, p. 18-23, Jan. 1985.
- 159.UAUY, R.; CASTILLO-DURAN, M.; FISBERG, M.; FERNANDEZ, N.; VALENZUELA, A. Red cell superoxide dismutase activity as an index of human copper nutrition. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 115, n. 12, p. 1650-1655, Dec. 1985.
- 160.VOHRRA, P.; GRAY, G.A.; KRATZER, F.A. Phytic-acid-metal complex. **Proceeding of the Social and Experimental Biological Medical**, New York, v. 120, p. 447-449, 1965.
- 161.WALKER, A.R.P.; WALKER, B.F.; GLATTHAAR, I.I. Fiber, phytic acid and mineral metabolism. A point of view. **Nutrition Reviews**, New York, v. 50, n. 8, p. 246-247, Aug. 1992a.

162. _____; _____; VORSTER, H.H.; GLATTHAAR, I.I. Fiber, phytic acid, and mineral metabolism [letter; comment]. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 56, n. 3, p. 607-609, Sept. 1992b.
163. WARREN, B.E. ; FARRELL, D.J. The nutritive value of full-fat and defatted Australian rice bran. Y. Chemical composition. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 27, n. 3, p. 219-228, 1990.
164. WEAVER, C.M. Age related calcium requirements due to changes in absorption and utilization. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 124, n. 8S, p. 1418S-1425S, Aug. 1994.
165. WEBER, F.E. ; CHAUDHARY, V.K. Recovery and nutritional evaluation of dietary fiber ingredients from a barley by products. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 32, n. 8 , p. 548-550, Aug. 1987.
166. WIDDOWSON, E.M. Absorption, excretion and storage of trace elements: studies over 50 years. **Food Chemistry**, Barking, v. 43, n. 3, p. 203-207, Mar. 1992.
167. WILLIAMS, P.C. The use of titanium dioxide as a catalyst for large-scale kjeldahl determination of the total nitrogen content of cereal grains. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.24, n. 4, p. 343-348, April. 1973.
168. WORLD HEALTH ORGANIZATION, WHO Study Group. **Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases**. Technical Report Series, 797, WHO, Geneva, 1990. 203p.

- 169.XU, P.; PRICE, J.; WISE, A.; AGGETT, P.J. Interaction of inositol phosphates with calcium, zinc, and histidine. New York, **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v.47, p.119-130, 1992.
- 170.YADRICK, M.K.; KENNEY, M.A.; WINTERFELDT, E.A. Iron, copper, and zinc status:response to supplementation with zinc or zinc and iron in adult females. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 49, n. 1, p. 145-150, Jan. 1989.
- 171.YOSHIDA, T.; OHKUBO, M. Role of gastrointestinal microflora on digestibility in young rats fed diets containing sodium phytate. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 48, n. 10, p. 2571-2574, Oct. 1984.