



MARISE AUXILIADORA DE BARROS REIS

Efeito da Polpa de Laranja em
Parâmetros Fisiológicos, Nutricionais e
Bioquímicos, Utilizando Ratos
Alimentados com Dieta Hiperlipídica

Tese de Mestrado apresentada ao
Instituto de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas, Curso de
Ciências Biológicas - Área de Fisiologia

Orientador: Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes

Campinas, 1994

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato(a)
Marise Auxiliadora de
Barros Reis
e aprovada pela Comissão Julgadora.


27/12/94

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

IDADE Bc
CHAMADA: UNICAMP
R277e
Ex.
MBO BC/ 23.659
OC. 433195
C D
EGO R\$ 11,00
TA 23/02/95
CPD.....

CM-00065497-1

FICHA CATALOGRICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL - UNICAMP

Reis, Marise Auxiliadora de Barros

R277e Efeito da polpa de laranja em parametros fisiologicos, nutricionais e bioquimicos, utilizando ratos alimentados com dieta hiperlipidica / Marise Auxiliadora de Barros Reis. -- Campinas, SP : [s.n.], 1994.

Orientador : Felix Guillermo Reyes Reyes.

Dissertacao (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Fibras na nutricao animal. 2. Rato como animal de laboratorio. 3. Alimentos de origem animal - Conteudo de gorduras.
I. Reyes, Felix Guillermo Reyes. II. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. III. Titulo.

AOS MEUS PAIS

JOSÉ E MARIA AUGUSTA

E AO LUI'S FERNANDO

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes pela orientação e oportunidade de realizar este trabalho.

Aos membros da banca examinadora Profa. Dra. Maria Aparecida Marchesan Rodrigues, Prof. Dr. Rui Errerias Maciel e Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas, pelas valiosas sugestões apresentadas na redação final da tese.

Aos amigos Verônica S. Valentimuzzi, José Luis Puglisi, Cláudio Alexandre Gobato, Maria Cecília Bueno Jaime Gallani, Andréa Redondano Pompeo, Silvana Bordin, Adriana Fornel Gentil, pelo apoio e incentivo.

Aos funcionários Aparecida de Silva Geraldo, Francisco Leite, Herval de Lara Almeida, Lécio Domingos Teixeira, pelo competente apoio técnico.

Ao pessoal do Laboratório de Toxicologia-FEA, pela amizade e convívio.

Ao Elton Maurício Teixeira Urici pela elaboração da análise estatística.

À CITROSUCO-PAULISTA S/A - Limeira, SP, pelo fornecimento da polpa de laranja.

Ao Carlos Henrique Fregadolli e Márcia Queiroz Latorraca pelo apoio amigo, incentivo e por tornar possível a montagem e impressão da tese.

Ao Luís Fernando R. Moreira Aguiar pelo carinho e companheirismo.

À minha família pela força, apoio e incentivo constantes.

ÍNDICE GERAL

| | |
|---|-----|
| ÍNDICE DAS TABELAS..... | I |
| ÍNDICE DAS FIGURAS..... | II |
| RESUMO..... | III |
| SUMMARY..... | IV |
| I - INTRODUÇÃO..... | 1 |
| II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 3 |
| 1. Histórico..... | 3 |
| 2. Definição e Composição da Fibra Alimentar..... | 5 |
| 3. Principais Métodos de Determinação de Fibras Alimentares..... | 6 |
| 4. Fontes de Fibra Alimentar..... | 8 |
| 5. Propriedades Físico-químicas e Ação Fisiológica das Fibras Alimentares..... | 9 |
| 6. Fibras x Dieta Hiperlipídica..... | 13 |
| 7. Possíveis Efeitos Adversos das Fibras Alimentares..... | 14 |
| III - MATERIAIS E MÉTODOS..... | 16 |
| 1. Obtenção da Polpa de Laranja..... | 16 |
| 2. Ensaio Biológico..... | 16 |
| 2.1 Animais Utilizados e Formação dos Grupos Experimentais..... | 16 |
| 2.2 Preparo das Dietas Experimentais..... | 17 |
| 2.3 Parâmetros Fisiológicos, Nutricionais e Bioquímicos..... | 17 |
| 2.3.1 Parâmetros Fisiológicos e Nutricionais..... | 17 |
| a) Peso Corporal, Ingestão Alimentar e Hídrica..... | 17 |
| b) Volume e Determinação do Nitrogênio Urinário e Fecal..... | 21 |
| c) Balanço de Nitrogênio..... | 21 |

| | |
|---|----|
| d) Digestibilidade Aparente (Da)..... | 22 |
| e) Valor Biológico Aparente Operacional (V _{Ba} op.)..... | 22 |
| f) Utilização Protéica Líquida Operacional (NPU op.)..... | 23 |
| g) Quociente de Eficiência Protéica Operacional (PER op.)..... | 23 |
| h) Balanço Lipídico (BL)..... | 23 |
| i) Digestibilidade Aparente Lipídica..... | 24 |
| j) Peso Relativo de Órgãos..... | 24 |
| 2.3.2 Parâmetros Bioquímicos..... | 24 |
| a) Glicose Plasmática..... | 24 |
| b) Uréia Plasmática..... | 24 |
| c) Proteínas Totais Plasmáticas..... | 24 |
| d) Colesterol Plasmático..... | 25 |
| e) Triacilglicerol Plasmático..... | 25 |
| f) Lipídeos Totais Plasmáticos..... | 25 |
| g) Gordura Fecal..... | 25 |
| h) Colesterol, Triacilglicerol e Lipídeos Totais Hepáticos..... | 25 |
| 2.4 Procedimento Estatístico..... | 26 |
| IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 27 |
| 1. Composição Química e Propriedades Físico-Químicas da da Polpa de Laranja..... | 27 |
| 2. Parâmetros Fisiológicos, Nutricionais e Bioquímicos..... | 29 |
| a) Ingestão Alimentar e Evolução do Peso Corporal..... | 29 |
| b) Ganho de Peso Cumulativo..... | 33 |
| c) Consumo Hídrico e Volume Urinário..... | 33 |
| d) Peso Relativo dos Órgãos..... | 36 |
| e) Glicose Plasmática..... | 38 |
| f) Proteínas Totais e Uréia Plasmáticas..... | 40 |

| | |
|--|----|
| g) Nitrogênio Ingerido, Fecal, Urinário, Balanço de Nitrogênio e Digestibilidade Aparente Protéica..... | 43 |
| h) Valor Biológico Aparente Operacional, Utilização Protéica Líquida Operacional e Quociente de Eficiência Protéica Operacional.... | 46 |
| i) Colesterol Plasmático e Hepático..... | 49 |
| j) Triacilglicerol Plasmático e Hepático..... | 53 |
| k) Lipídeos Totais Plasmático e Hepático..... | 57 |
| l) Gordura Fecal, Balanço e Digestibilidade Lipídicos..... | 59 |
| V - CONCLUSÕES..... | 62 |
| VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 63 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1- Composição das dietas utilizadas no ensaio biológico..... | 18 |
| Tabela 2- Composição da mistura salina (ROGERS & HARPER, 1965)..... | 19 |
| Tabela 3- Composição da mistura vitaminínica, em gramas (NBC, 1977)..... | 20 |
| Tabela 4- Composição química da polpa de laranja (AREAS, 1994)..... | 28 |
| Tabela 5- Distribuição percentual dos componentes fibrosos da polpa de laranja em relação ao teor de fibra total (AREAS, 1994)..... | 28 |
| Tabela 6- Peso relativo (g/100 g de peso corporal) do fígado, estômago cheio e vazio, ao final do ensaio biológico..... | 37 |
| Tabela 7- Valores plasmáticos de glicose, em mg/dL, no final do ensaio experimental..... | 39 |
| Tabela 8- Valores de nitrogênio ingerido, nitrogênio urinário e fecal , balanço de nitrogênio e digestibilidade aparente protéica (Da)..... | 40 |
| Tabela 9- Valor biológico aparente operacional (V _{Ba} op.), Utilização protéica líquida operacional (NPU op.) e Quociente de eficiência protéica operacional (PER op.), referentes ao período de balanço..... | 47 |
| Tabela 10- Valores plasmáticos e hepáticos de colesterol no final do ensaio biológico, expressos em mg/dL e g/g de tecido fresco, respectivamente..... | 50 |
| Tabela 11- Valores plasmáticos e hepáticos de triacilglicerol no final do ensaio biológico, expressos em mg/dL e g/g de tecido fresco respectivamente..... | 54 |
| Tabela 12- Valores plasmáticos e hepáticos de lipídeos totais no final do ensaio biológico, expressos em mg/dL e g/g de tecido fresco, respectivamente..... | 58 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Ingestão alimentar total, em gramas (g), durante o ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram dieta contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja, respectivamente..... | 30 |
| Figura 2 - Evolução do peso corporal, em gramas (g), durante o ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram dieta contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja, respectivamente..... | 31 |
| Figura 3 - Ganho de peso cumulativo, em gramas (g), durante o ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram dieta contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja, respectivamente..... | 34 |
| Figura 4 - Consumo hídrico e volume urinário totais, em mililitros (mL) durante o ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram dieta contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja, respectivamente..... | 35 |
| Figura 5 - Valores plasmáticos de proteínas totais, em mg/dL, no início, após 12 dias e ao final do ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram dieta contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja, respectivamente..... | 41 |
| Figura 6 - Valores plasmáticos de uréia, em mg/dL, no início, após 12 dias e ao final do ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram dieta contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja, respectivamente..... | 42 |
| Figura 7 - Gordura fecal (em gramas/pool fezes), Balanço lipídico (em gramas) e Digestibilidade aparente de lipídeos (em %), do período compreendido entre os dias 22 e 28 do ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25% representam os animais que consumiram dieta contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja, respectivamente..... | 60 |

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da polpa de laranja, um subproduto da produção industrial de suco, em parâmetros fisiológicos, bioquímicos e nutricionais, utilizando ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Os animais receberam água e dieta *ad libitum*, durante 28 dias. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representaram os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja.

Verificou-se que não houve variação significativa da ingestão alimentar e hídrica, do volume urinário, peso corporal e peso relativo do fígado e estômago (cheio e vazio). Por outro lado, a maior ingestão de material fibroso do grupo NF 25, aumentou significativamente a excreção fecal de nitrogênio e, consequentemente, diminuiu a digestibilidade aparente da proteína da dieta (Da), em relação aos demais grupos, assim como o quociente de eficiência protéica operacional (PER op.), em relação ao grupo NF 2,5. Entretanto, não foram verificadas diferenças significativas no balanço de nitrogênio (BN), valor biológico aparente operacional (VBa op.) e utilização protéica líquida operacional (NPU op.) no grupo NF 25 em relação aos grupos Controle e NF 2,5, o que sugere que a polpa de laranja não afetou o grau de utilização da proteína da dieta.

A ingestão de polpa de laranja pelo grupo NF 25 proporcionou, significativo aumento da excreção fecal de gordura, contribuindo para a menor digestibilidade aparente de lipídeos, redução dos valores plasmáticos de triacilglicerol e lipídeos totais, e tendência à redução da colesterolemia. No entanto, não se observaram diferenças quanto as concentrações hepáticas desses lipídeos.

Portanto, a polpa de laranja por reduzir os valores lipidêmicos observados, pode contribuir na prevenção desse fator de risco relacionado ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

SUMMARY

The present work had as a purpose to evaluate physiological, nutritional and biochemical parameters in male Wistar rats, which were a consequent of chronic ingestion of hiperlipidic diets containing orange pulp, a by-product obtained during the industrial production of the orange-juice. The animals were feed *ad libitum* during 28 days, with diets containing 1% cellulose, 2,5 and 25% orange pulp, which were called Control, NF 2,5 and NF 25 groups. There were no significant variations in the food and water intake, urinary excretion, body weight gain or relative weight of the liver and stomach (full and empty), however, the higher fiber intake of the NF 25 group increased significantly the excretion of fecal nitrogen. Consequently this decreased the apparent nitrogen digestibility (Da), in relation to the other groups, as well as the protein efficiency ratio (PER op.) in relation to the NF 2,5 group. Nevertheless, there was no significant variation in the nitrogen balance (NB), apparent biological value (VBa. op.) or net protein utilization (NPU op.) in the NF 25 group in comparison to the Control and NF 2,5 groups. This observation means that the orange pulp did not affected the dietary protein utilization. Orange pulp intake by the NF 25 group induced a significant increase in the fecal fat excretion, which contributed to lowering apparent lipid digestibility and reduced the plasmatic value of triacylglycerols, total lipids and also showed a tendency to reduce the serum cholesterol values. But, no differences in hepatic concentrations of triacylglycerols, total lipids or cholesterol were observed among the Control, NF 2,5 and NF 25 groups. In conclusion, the results of this study suggested that orange pulp ingestion may be used to reduce the human health risk associated with high blood lipids levels due to high dietary fat intake.

I - INTRODUÇÃO

No início dos anos setenta, estudos epidemiológicos indicaram que o diabetes, a hiperlipidemia, doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer, poderiam estar relacionados com a ingestão deficiente de fibras alimentares, devido à diminuição do consumo de alimentos ricos em fibras, como também à diminuição no conteúdo de fibras nos alimentos industrializados.

Por outro lado, dados obtidos através de estudos epidemiológicos realizados em trinta países e fornecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), indicam correlação positiva entre certos fatores dietéticos (ingestão de calorias totais, gordura animal, gordura total, carne, colesterol, ovos e proteína animal) e a mortalidade por cardiopatia coronariana (MAHLEY, 1981). De acordo com dados do Centro Brasileiro de Classificação de Doenças da Universidade de São Paulo (USP), das 78 mil mortes registradas em 1985, 27,1% foram causadas por doenças cardiovasculares e 9% por tumores, como o câncer. Em países onde os hábitos alimentares incluem, principalmente, gorduras vegetais, verduras, peixes e baixo consumo de produtos lácteos, a incidência de doenças coronarianas é baixa. Tais dados confirmam que a ingestão elevada de colesterol e ácidos graxos saturados, oriundos frequentemente de alimentos de origem animal, podem desencadear anormalidades lipídicas do sangue - as hiperlipidemias.

Entre os vários aspectos patológicos associados à hiperlipidemia, a aterosclerose é a que ocorre com maior freqüência nos países industrializados do ocidente.

A aterosclerose é uma doença multifatorial, onde a alimentação é reconhecida como um dos fatores etiológicos chave, tanto no seu desenvolvimento como nas suas várias manifestações. Portanto, cuidados nutricionais poderiam reduzir seu desenvolvimento, assim como suas complicações. Entre esses cuidados, as fibras alimentares destacam-se quanto a sua habilidade de modular, favoravelmente, fatores de risco metabólicos, tais

como altas concentrações de colesterol total e colesterol associado a lipoproteínas de baixa densidade (LDL), hipertrigliceridemia e hiperinsulinemia, sendo assim, de particular interesse na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares.

Embora notadamente diminuídas da dieta ocidental moderna, as fibras são integrantes habituais da alimentação. Como um dos componentes dos alimentos vegetais, exercem seus efeitos fisiológicos diretamente sobre o trato gastrointestinal e, indiretamente, na atividade metabólica.

A maioria das fibras consumidas fazem parte da parede celular de frutas, legumes, cereais e sementes. Desses fontes, as frutas cítricas destacam-se, principalmente, pelo alto teor de fibra solúvel que, reconhecidamente, afetam o metabolismo de carboidratos, lipídeos, proteínas e minerais, além de apresentarem, também, fibras insolúveis que, por reduzirem o tempo de trânsito intestinal, interferem na absorção dos nutrientes. Em função dessas ações, diversas fontes de fibras têm sido avaliadas como agentes terapêuticos em patologias que envolvem alterações no metabolismo de lipídeos.

Entretanto, muita controvérsia se mantém quanto a ação hipolipidêmica das fibras. Numerosas teorias têm sido propostas em relação aos mecanismos pelos quais as fibras interagem com os lipídeos exógeno e endógeno, porém todas elas têm limitações, devido, principalmente, à grande diversidade da estrutura química das fibras e às dificuldades em monitorar as reações orgânicas que decorrerão nas respostas biológicas.

Segundo Comitês e Órgãos de saúde, um dos benefícios do aumento da ingestão de fibras, no sentido de se evitar doenças coronarianas, é a substituição de gorduras saturadas e colesterol por esses carboidratos, com consequente redução dos lipídeos da dieta. No entanto, tal substituição leva a indagações sobre a ação hipolipidêmica das fibras alimentares em dietas com elevado teor de gordura.

Assim, diante de tal consideração e dada a importante função das fibras

alimentares no tratamento de doenças cardiovasculares, o presente estudo teve como objetivo avaliar parâmetros fisiológicos, nutricionais e bioquímicos em ratos Wistar machos, consequentes aos efeitos da administração crônica da polpa de laranja, como fonte de fibra, adicionada a dietas com alta concentração de lipídeo.

II- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Histórico

Durante séculos os efeitos benéficos do consumo de fibras alimentares foram relacionados, principalmente, aos reconhecidos efeitos sobre o volume fecal e a regularidade intestinal (ANDERSON *et al.*, 1990a). Porém, HIPSLEY (1953) relatando os resultados de um estudo epidemiológico de toxemia na gravidez, declarou que as paredes celulares vegetais na dieta, ou seja, a ingestão de fibras alimentares, parecia ser um fator de proteção.

A partir de então, um significante número de trabalhos foram relevantes ao subsequente desenvolvimento da hipótese sobre as consequências do menor consumo de fibras alimentares. Esses trabalhos concerniam, primeiramente, ao crescente interesse na relação entre gordura da dieta, níveis de colesterol sanguíneo e a incidência de doenças, em particular a aterosclerose e doença coronariana (SOUTHGATE, 1992).

A hipótese de que as fibras poderiam ser um importante fator de proteção contra a aterosclerose foi introduzida em 1954 por WALKER & ARVIDSSON. Posteriormente, KEYS *et al.* (1961) evidenciaram que uma dieta rica em frutas e vegetais tinha propriedades redutoras do colesterol sérico.

Todavia, somente em meados dos anos setenta surgiu a hipótese sobre a correlação entre a deficiência de fibras alimentares na dieta e doenças das civilizações ocidentalizadas, que determinariam, definitivamente, um crescente interesse nesse campo. Esta hipótese foi firmemente sustentada pelas observações de TROWELL (1972, 1973) e BURKITT (1978) sobre a incidência de várias doenças que são comuns em populações

ocidentais, mas raras em populações rurais negras do sul da África e Saara. Segundo TROWELL (1978a) os africanos consumiam dietas ricas em fibras, em amido, moderada ou pouca sacarose, pobre em gordura, contendo 10 a 20% de proteína, muita proteína vegetal e ingestão variável de vegetais e frutas. A partir dessas observações os autores sugeriram que as fibras poderiam proteger contra hiperlipidemias, hipertensão, doença coronariana e que pequena ingestão desse componente da dieta estaria relacionada a outros fatores de risco ligados a doenças do coração em genótipos suscetíveis, tais como obesidade e diabetes mellitus (TROWELL, 1978b).

Inúmeros estudos subseqüentes vêm revelando várias fontes de alimentos ricos em fibras com importantes efeitos hipolipidêmicos.

A partir de 1975, uma série de estudos realizados por JENKINS e colaboradores inovaram a investigação sobre os efeitos de diferentes fontes de fibras e as concentrações de colesterol plasmático. Adicionando suplementos de fibras solúveis ou insolúveis as dietas habituais de voluntários saudáveis, hiperlipidêmicos ou diabéticos, JENKINS e colaboradores verificaram a redução da colesterolemia com a ingestão de fibras solúveis e resultados variados em relação a concentração de triacilglicerol e lipoproteínas (JENKINS, 1979; JENKINS *et al.*, 1975, 1983, 1993).

Nos estudos de ANDERSON também foram observados efeitos hipocolesterolêmicos de dietas ricas em fibras solúveis, em indivíduos com diferentes desordens metabólicas (ANDERSON & TIETYEN-CLARK, 1986).

Embora a hipótese hipolipidêmica das fibras alimentares seja sustentada por várias observações experimentais, os mecanismos de ação não estão definidos. Através de revisões recentes (ANDERSON *et al.*, 1990a; GLORE *et al.*, 1994; ROBERFROID, 1993), observam-se estudos com diferentes protocolos experimentais, diferentes porcentagens e fontes de fibras, parâmetros de avaliação e duração, gerando conclusões distintas sobre os variados mecanismos de ação envolvidos, o que demonstra a complexidade do assunto e propõe maiores investigações.

2. Definição e Composição da Fibra Alimentar

A maioria dos componentes identificados como fibra alimentar estão presentes na parede celular vegetal. Alguns fazem parte do conteúdo celular, outros são secretados pela planta em resposta a danos e outros evitam que as sementes desidratem-se (SCHNEEMAN, 1986).

Uma definição bastante aceita para as fibras alimentares seria a porção das células vegetais que não pode ser digerida pelas enzimas digestivas humanas e, portanto, não pode ser absorvida pelo intestino (SLAVIN, 1987).

Os principais componentes das fibras alimentares são polissacarídeos complexos, alguns dos quais estão associados a polifenóis e proteínas. Componentes não-carboidratos compõem pequena proporção da parede celular (5 - 10%) porém, alguns exercem efeitos significantes sobre as propriedades e ações fisiológicas das fibras alimentares (SELVENDRAN & VERNE, 1990).

Baseando-se em suas funções intra-vegetais, a fibra alimentar pode ser dividida em três grandes grupos (SOUTHGATE, 1978) :

- Polissacarídeos estruturais, que estão associados à parede celular e incluem a celulose, hemicelulose e algumas pectinas;
- Polissacarídeos não estruturais, incluem as gomas, mucilagens e polissacarídeos, tais como carragena, agar de algas e algas marinhas;
- Não-polissacarídeos estruturais, representados pelas ligninas, predominantemente.

Assim como suas funções intra-vegetais são diversificadas, essas frações também variam em sua composição química.

As celuloses são polímeros lineares de alto peso molecular compostos por unidades de glicose com ligações beta 1- 4. São moléculas neutras, sem cargas e insolúveis em água (AUSMAN, 1993).

As hemiceluloses são carboidratos muito complexos que contém resíduos de vários açúcares e uma variedade de ligações glicosídicas. São extraídas facilmente com ácidos e bases (VAN SOEST, 1978).

Pectinas são polissacarídeos compostos por unidades de ácido D-galacturônico unidos por ligações alfa 1,4. Hexoses (D-galactose e L-ramose) e pentoses (L-arabinose) em quantidades pequenas e variáveis podem estar ligadas aos resíduos de ácidos galacturônicos. Em algumas pectinas, dependendo da origem, alguns grupos hidroxílicos nas posições dois e três podem estar acetilados. A metilação parcial dos grupos carboxilicos nos ácidos galacturônicos dá importantes propriedades às substâncias pécticas. São consideradas altamente solúveis.

Mucilagens e gomas são consideradas materiais poliméricos hidrofílicos. As unidades monoméricas encontradas nas gomas incluem açúcares neutros, ácidos urônicos e outros grupos ácidos (OLSON *et al.*, 1987).

Lignina é um polímero altamente complexo, de estrutura tridimensional e natureza polifenólica (HARTLEY, 1978). É insolúvel em água.

3. Principais Métodos de Determinação de Fibras Alimentares

A heterogeneidade dos componentes da fibra alimentar e a complexidade e diferenças das matrizes vegetais das quais a fibra é extraída tornam difícil o desenvolvimento de métodos de análise que possam ser aplicados a todas as classes de alimentos que contêm fibra (MARLETT, 1990).

O teor de fibra de um alimento foi inicialmente expresso como fibra bruta. Esse resíduo alimentar chamado de fibra bruta era o produto obtido a partir de alimentos vegetais, resultante da digestão a quente com ácido e base diluídos (LAJOLO *et al.*, 1988). De acordo com VAN SOEST (1978) esse método subestima o conteúdo de fibra alimentar dos alimentos, dosando apenas de 50% a 80% da celulose, de 10% a 50% de lignina, e

20% de hemicelulose. Nesse procedimento as substâncias péticas e gomas são solubilizadas e descartadas (OLSON *et al.*, 1987).

Com o passar do tempo, o crescente interesse pelas fibras motivou o aparecimento de novos métodos de análise.

VAN SOEST (1963) desenvolveu um método utilizando solução de detergente aniónico em meio ácido para a digestão da amostra, onde a fração dosada, correspondente ao teor de celulose e lignina é denominada fibra detergente ácido (FDA). A partir desta fração , segundo o mesmo autor, pode-se determinar o teor de lignina da amostra, submetendo-se a fibra detergente ácido a um tratamento com ácido sulfúrico 72%.

Outro método utilizando detergentes foi proposto por VAN SOEST & WINE (1967). Nele a amostra era digerida com detergente catiônico em meio neutro, resultando numa composição formada por celulose, hemicelulose e lignina, denominada de fibra detergente neutro (FDN). A diferença entre a fibra detergente ácido e a fibra detergente neutro permite uma estimativa do componente hemicelulose presente na amostra.

Nos métodos gravimétricos acima citados determina-se o resíduo insolúvel, após a solubilização química dos constituintes não fibrosos e portanto, a fração solúvel da fibra, constituída principalmente de pectina, não pode ser determinada por esses métodos (VAN SOEST & WINE, 1967). Dessa forma, o crescente interesse no papel das substâncias péticas no controle da textura de frutas e vegetais durante o processamento e armazenamento, levou ao desenvolvimento de métodos para a determinação dessas substâncias. Alguns dos métodos que tem sido utilizados, compreendem: 1) a descarboxilação dos ácidos urônicos e medida do dióxido de carbono liberado (THEANDER & AMAN, 1982); 2) a determinação por titulometria de grupos carboxílicos totais, desenvolvido por HINTON, 1940 (apud McCOMB & McCREADY, 1952) e 3) a dosagem colorimétrica do ácido galacturônico, através do método carbazol, modificado por McCOMB & McCREADY (1952).

O procedimento desenvolvido por SOUTHGATE *et al.* (1976) e posteriormente modificado por ENGLYST (1987), consiste em uma série de extrações, removendo as frações de fibra individualmente. Após a hidrólise das frações, os monossacarídeos são determinados por cromatografia gás-líquida ou através de um procedimento colorimétrico mais rápido. Sendo assim, este método fornece a fibra alimentar total (fração solúvel e fração insolúvel em água) com a soma de seus componentes, além da composição dos polissacarídeos não celulósicos, em termos de seus constituintes hexoses, pentoses e ácidos urônicos. Entretanto, para análises de rotina essa metodologia não é aconselhável, pois consome muito tempo.

Uma combinação de procedimentos enzimáticos e gravimétricos foi desenvolvida por HELLENDORF *et al.* (1975) e posteriormente modificada por ASP *et al.* (1983) e por PROSKY *et al.* (1984), sendo esta última aprovada pela AOAC. A introdução de tratamentos enzimáticos visou mimetizar o que acontece ao alimento *in vivo*, onde a proteína e o amido digeríveis são hidrolizados e absorvidos, deixando os componentes das fibras alimentares entrarem no cólon. O método de PROSKY *et al.* (1984), que dosa o conteúdo de fibra total, consiste em uma remoção enzimática do amido e proteína, partindo-se de um alimento previamente desengordurado. O resíduo resultante é pesado e corrigido em seu conteúdo de cinza e proteína residual.

Outras modificações ainda foram propostas para separar a fração solúvel da insolúvel (OLSON *et al.*, 1987).

Embora de rápida execução, os procedimentos mencionados não determinam os componentes individuais que constituem a fibra.

4. Fontes de Fibra Alimentar

As fibras alimentares são encontradas apenas em produtos vegetais - frutas, verduras, legumes, nozes e grãos. Devido ao seu alto teor de água, frutas e vegetais folhosos possuem menos fibras do que grãos e cereais por grama de material ingerido.

O grau de maturação e o meio no qual o vegetal cresce, como também as condições de estocagem têm um efeito significativo na sua composição (SELVENDRAN & VERNE, 1990). A quantidade e a composição das paredes celulares são bastante afetadas pela temperatura ambiental e, a um menor grau, pela fertilização, umidade, sol e luz (VAN SOEST, 1978).

O efeito do cozimento sobre o teor de fibra nos alimentos não está completamente esclarecido (SLAVIN, 1987). VAN SOEST (1978) descreve que no cozimento , ou outros processos de aquecimento, tais como no assar, fritar, ou na extrusão, os alimentos podem sofrer reações de Maillard que aumentam o conteúdo de fibra aparente. O conteúdo de fibra de vegetais enlatados pode ser maior do que os vegetais frescos, devido a perda de água e as reações de escurecimento que podem ocorrer no cozimento.

Segundo MORAES FILHO & BETTARELLO (1975), nos processos onde frutas e legumes são descascados e cozidos, as fibras alimentares são removidas.

De modo geral, vegetais folhosos e grãos são boas fontes de celulose. Farelo de cereais e outros produtos de grãos integrais são fontes de hemicelulose. Legumes e produtos de aveia são as melhores fontes de gomas. Maçãs e frutas cítricas contém grande quantidade de pectina (SOUTHGATE, 1978).

5. Propriedades Físico-Químicas e Ação Fisiológica das Fibras Alimentares

As propriedades físico-químicas individuais das fibras alimentares diferem consideravelmente e em função disso, suas ações fisiológicas também. Algumas dessas propriedades são: susceptibilidade à degradação bacteriana, capacidade de hidratação, adsorção de moléculas orgânicas e trocas iônicas (SCHNEEMAN, 1986).

Quanto à degradação, as fibras alimentares não são enzimaticamente degradadas no intestino delgado dos mamíferos sendo, então, fermentadas a vários graus de degradação no intestino grosso. O grau de degradação varia consideravelmente entre os polissacarídeos, por ex., pectinas, mucilagens, gomas e hemicelulose parecem ser

completamente degradadas, enquanto que a celulose é apenas parcialmente e a lignina é resistente à degradação (EDWARDS & ROWLAND, 1992).

O grau de degradação e os produtos de fermentação das fibras no cólon dependem da natureza da flora bacteriana, do tempo de trânsito através do cólon (VAN SOEST, 1978), do tamanho da partícula, do grau de lignificação da parede celular e da estrutura e solubilidade do polissacarídeo (SCHWEIZER & WURSCH, 1991).

Essa propriedade apresenta várias implicações fisiológicas, dentre as quais podemos citar: produção, absorção e metabolismo de ácidos graxos de cadeia curta gerando energia para o crescimento bacteriano, alterações no pH intra luminal e na composição da microflora bacteriana colônica; estímulo à absorção de água, sódio e potássio no cólon (ROYALL *et al.*, 1990), efeito sistêmico, exercido pelos produtos de fermentação, sobre o metabolismo hepático e periférico de carboidrato e gordura, incluindo ácidos graxos, colesterol e ácidos biliares (ROBERFROID, 1993). As células bacterianas podem contribuir com uma significante porção do peso e também do volume fecal (SCHNEEMAN, 1986).

A hidratação das fibras alimentares ocorre por fixação de moléculas de água à superfície da matriz fibrosa e por ligação no interstício da mesma.

A presença de resíduos de açúcar com grupos polares livres confere uma significante capacidade hidrofílica aos polissacarídeos (KAY, 1982). De modo geral, fibras solúveis como pectinas, mucilagens e, em menor grau, as hemiceluloses têm as maiores capacidades de hidratação.

A quantidade de água retida pelas fibras dependerá da fonte do material fibroso, do tamanho das partículas, do método para determinar a capacidade de hidratação e do modo de preparação do material para essa determinação (ARMSTRONG *et al.*, 1990).

A hidratação da fibra resulta na formação de uma matriz gel, responsável pelo aumento da viscosidade no conteúdo gastrointestinal e efeitos críticos na absorção de nutrientes (SCHNEEMAN, 1986) e saciedade (KAY, 1982).

Alguns autores descrevem que as fibras solúveis retardam o esvaziamento gástrico, o que pode retardar a exposição dos nutrientes às enzimas digestivas intestinais e, assim, alterar a taxa e local de absorção de lipídeos, glicose e proteínas, contribuindo para respostas pós-prandiais reduzidas (EDWARDS, 1990a; READ & EASTWOOD, 1992; SCHNEEMAN, 1990a).

Por outro lado, a absorção de nutrientes, provavelmente torna-se lenta, ou mesmo diminuída, devido à sua interação com a matriz gel e/ou pelo aumento da viscosidade do conteúdo intestinal, assim como pela elevação da espessura da camada limitante da difusão, o que representa uma barreira física à absorção dos nutrientes (ANDERSON *et al.*, 1990b; CUMMINGS, 1978). Assim, segundo EDWARDS (1990a), grande parte dos nutrientes seriam remetidos às porções mais distais do intestino delgado, induzindo a mudanças morfológicas adaptativas do ileo, a fim de aumentar sua capacidade de absorção.

De acordo com SCHNEEMAN (1987) as fibras que aumentam a viscosidade do conteúdo intestinal podem diminuir a motilidade intestinal prejudicando o movimento de mistura dos alimentos e dificultando a ação de enzimas digestivas. Em adição, SHAH *et al.* (1986) relataram que a pectina, goma guar e lignina diminuem a atividade da pepsina, enquanto que nos estudos *in vitro* desenvolvidos por ISAKSSON *et al.* (1982a) a tripsina, a amilase e a lipase foram inibidas por várias fibras adicionadas às soluções tamponadas de enzimas. Segundo ISAKSSON *et al.* (1982b) mecanismos tais como efeito do pH, absorção de enzimas e outras interações fibra-enzima, além da viscosidade, poderiam estar envolvidos na diminuição da atividade de enzimas digestivas.

SCHNEEMAN (1986) descreve que a capacidade de hidratação também está relacionada com o aumento do volume fecal, porém essa relação não é direta com as fibras solúveis, uma vez que, a degradação bacteriana altera essa capacidade das fibras. Porém as fibras solúveis podem contribuir para o volume fecal por aumentar a massa da flora intestinal (ROEHRIG, 1988).

Por outro lado, EDWARDS (1990b) descreve que fibras resistentes à degradação bacteriana, ou seja, fibras insolúveis que possuem capacidade de hidratação relativamente menor do que as fibras solúveis, mantém suficiente estrutura física para retérm agua e aumentar o volume fecal. O aumento de volume no intestino estimula a motilidade, através da distensão mecânica da parede intestinal e, consequentemente acelera o trânsito intestinal. Alguns autores observaram redução do tempo de trânsito através de dietas com alto teor de FDN (OLIVEIRA *et al.* 1991; REYES *et al.* 1989; SEVÁ-PEREIRA *et al.* 1991).

Como poderia ser esperado da sua habilidade em alterar a taxa e o local de absorção dos nutrientes no intestino, as fibras alimentares têm mostrado influenciar a liberação de hormônios intestinais, como também de vários outros hormônios regulatórios (ANDERSON *et al.* 1990a; VINIK & JENKINS, 1988).

Dentre as moléculas orgânicas adsorvidas no trato intestinal incluem-se ácidos biliáres, colesterol, fosfolipídeos, monoglicerídeos e compostos tóxicos (VAHOUNY, 1982). Estudos *in vitro* demonstraram que a lignina e a pectina são potentes adsorventes de ácidos biliáres, já a celulose tem pouca capacidade para tal (SCHNEEMAN, 1986).

Essa propriedade relaciona-se a uma das hipóteses levantadas sobre o efeito hipocolesterolêmico das fibras. STORY & LORD (1987) sugeriram que as fibras ligam-se aos ácidos biliáres aumentando sua excreção fecal. Assim, maior quantidade de colesterol seria desviada para a síntese de ácidos biliáres e haveria, então, menos colesterol disponível para a síntese de lipoproteínas. ANDERSON *et al.* (1990b) relaciona essa ligação das fibras aos ácidos biliáres também como responsável pela menor disponibilidade dos mesmos para uma melhor digestão e absorção das gorduras, ocorrendo, consequentemente, aumento da excreção de gordura fecal.

A capacidade de troca iônica das fibras relaciona-se ao seu conteúdo de grupos

ionizáveis, tais como resíduos de ácidos urônicos das pectinas e hemiceluloses. Esta propriedade torna, algumas fibras, capazes de se ligarem a minerais tais como cálcio, ferro e zinco, aumentando a excreção fecal e reduzindo a disponibilidade dos mesmos (LEWIS, 1978; OLIVEIRA, *et al.*, 1991; SCHNEEMAN, 1990a).

6. Fibras Alimentares e Dietas Hiperlipídicas.

A incidência de doenças relacionadas a elevada ingestão de gorduras é bastante alta, sendo a aterosclerose, ainda, a maior causa de mortes nos países industrializados do ocidente. Entre os fatores de risco já estabelecidos através de estudos clínicos e epidemiológicos, observa-se uma relação direta entre a ingestão de colesterol, ácidos graxos saturados e a aterosclerose (CONNOR & CONNOR, 1972; MAHLEY, 1981; MANCINI & PARILLO, 1991). Dessa forma, torna-se clara a importância da dieta na prevenção e tratamento da aterosclerose.

Em humanos, um aumento na ingestão diária de colesterol (de 750 a 1.500 mg) em pessoas que consomem dieta pobre em fibras e baixa na proporção de poliinsaturados/saturados, causa significante aumento na concentração de lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Por outro lado, a ingestão de fibras é negativamente relacionada à incidência de mortes por doenças cardiovasculares (ANDERSON *et al.*, 1990a).

Segundo ASP *et al.* (1981) torna-se difícil induzir lesões vasculares com a utilização de dietas ricas em fibras.

Em estudos com animais e a utilização de dietas hiperlipídicas contendo diferentes fontes de fibras, foram verificadas alterações benéficas dos parâmetros lipídicos diretamente relacionados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, sendo o grau de redução desses parâmetros relacionado a vários fatores, principalmente a natureza do material fibroso e suas características físico-químicas (ASP *et al.*, 1981; JUDD & TRUSWELL, 1985; LAIRON *et al.*, 1987; Mc CALL *et al.*, 1992).

A maior parte das interações entre fibras alimentares e lipídeos resultam na menor absorção desse nutriente. Segundo VAHOUNY (1982) os possíveis mecanismos pelos quais as fibras influenciam, diretamente, a absorção lipídica relacionam-se a: atraso do esvaziamento gástrico, alteração do tempo de trânsito intestinal, interferência na difusão dos nutrientes e na disponibilidade à superfície intestinal e adsorção de ácidos biliares e outros componentes micelares. Esses mecanismos podem levar a efeitos indiretos, relacionados a: composição e tamanho do pool de ácidos biliares, em função do aumento da excreção fecal de esteróides ácidos e neutros, e aumento da alfa- hidroxilação do colesterol, respostas alteradas de glucagon e insulina e finalmente, mudanças adaptativas na estrutura e função intestinais.

Embora a inibição da absorção lipídica, através desses mecanismos seja, provavelmente, o modelo dominante de ação das fibras, outros mecanismos têm sido propostos e investigados, entre eles: inibição da lipase lipoprotéica, inibição da HMG CoA redutase por compostos isoprenóides associados às fibras, efeito dos ácidos graxos voláteis sobre a síntese de colesterol e aumento da taxa de catabolismo das LDL no metabolismo de lipoproteínas (FURDA, 1990).

7. Possíveis Efeitos Adversos das Fibras Alimentares

Algumas pesquisas mostram que elevada ingestão de fibra está associada a um aumento na excreção fecal de nitrogênio. Aparentemente, as proteínas associadas à fibra são menos digeríveis devido à sua íntima associação com a matriz da membrana celular. Há algumas indicações de que a fibra pode interferir também na atividade de enzimas proteolíticas (SCHWEIZER & WURSCH, 1991).

Alimentos ricos em fibras podem provocar redução na absorção de cátions bivalentes como Zn, Fe, Mg e Ca (OLIVEIRA *et al.* 1991). Entretanto, tem sido sugerido que o prejuízo na absorção de minerais é devido, em sua maior parte, à associação com ácido fitico (SANDSTEAD, 1992) e com compostos polifenólicos (LAJOLO *et al.* 1988).

A fermentação da fibra no intestino grosso leva a produção de gases, podendo acarretar distensão abdominal e flatulência exagerada, proporcionando desconforto em determinados indivíduos (LAJOLO *et al.* 1988).

III- MATERIAIS E MÉTODOS:

1. Obtenção da Polpa de Laranja:

O material utilizado foi cedido pela CITROSUCO PAULISTA SA, da cidade de Limeira-SP e constitui um subproduto do processamento industrial da laranja para a obtenção de seu suco. Designado como polpa, o material é formado pelas vesículas que contém o suco e a membrana que separa as vesículas em gomos. Inicialmente, a polpa de laranja foi lavada, seca em secador de bandejas com circulação de ar a 70° C, moída em moinho de martelo, embalada em sacos de polietileno e armazenada a 22° C (AREAS, 1994).

A caracterização da composição química da polpa de laranja, assim como a avaliação de suas propriedades físico-químicas, foram realizadas por AREAS (1994).

2. Ensaio Biológico

2.1 Animais Utilizados e Formação dos Grupos Experimentais

Para a realização do ensaio biológico, que compreendeu 28 dias, foram utilizados ratos Wistar, machos, com peso corporal médio de $272 \pm 16,7$ gramas, procedentes do Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Antes do início do ensaio experimental, os animais passaram por um período de adaptação de 4 dias, em gaiolas metabólicas individuais, recebendo dieta comercial (Purina) e água *ad libitum*. Durante o período de adaptação, assim como no ensaio biológico, os animais foram mantidos em salas com ciclo luz-escuro de 12 horas e controle de temperatura ($23 \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Após a adaptação, os animais foram distribuídos, aleatoriamente, em grupos de 10 ratos, assim denominados:

CONTROLE : animais alimentados com dieta contendo 1% de celulose

NF 2,5 : animais alimentados com dieta contendo 2,5% de polpa de laranja

NF 25 : animais alimentados com dieta contendo 25% de polpa de laranja

2.2 Preparo das Dietas Experimentais

As dietas semipurificadas foram preparadas variando-se o teor da polpa de laranja, cuja introdução foi de acordo com o procedimento convencional, ou seja, às custas de uma quantidade equivalente de fonte de carboidrato digerível (mistura sacarose:amido), (BARBOSA & JOKL, 1987). Caseína comercial foi utilizada como fonte protéica e banha de porco comercial, da marca SADIA, como fonte de gordura. A introdução da banha de porco à dieta foi feita após sua liquefação em banho-maria.

A composição das dietas encontra-se na Tabela 1, enquanto que as Tabelas 2 e 3 apresentam a composição das misturas salina (ROGERS & HARPER, 1965) e vitaminínica (segundo formulação da NBC, 1977).

O teor de nitrogênio da caseína foi determinado através do método semi-micro-Kjeldahl, procedimento 46-12 da AACC (1976), utilizando-se como catalizadores sulfato de cobre, sulfato de potássio e dióxido de titânio. Multiplicou-se o valor do nitrogênio pelo fator 6,25 para obtenção do teor de proteína.

2.3 Parâmetros Fisiológicos, Nutricionais e Bioquímicos

2.3.1 Parâmetros Fisiológicos e Nutricionais

a) Peso Corporal, Ingestão Alimentar e Hídrica

Os parâmetros acima citados foram verificados, individualmente, três vezes por semana e sempre pela manhã. Tal procedimento permitiu que fossem avaliados os ganhos de peso periódico e cumulativo.

Tabela 1 : Composição das dietas utilizadas no ensaio biológico.

| COMPONENTES | DIETAS | | |
|----------------------|--|---|-------|
| | CONTROLE | NF 2,5 | NF 25 |
| PROTEÍNA % | 14,9 | 14,9 | 14,9 |
| BANHA DE PORCO % | 20,0 | 20,0 | 20,0 |
| MISTURA SALINA % | 4,0 | 4,0 | 4,0 |
| MISTURA VITAMINICA % | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| CELULOSE % (*) | 1,0 | 0,0 | 0,0 |
| METIONINA % | 0,15 | 0,15 | 0,15 |
| POLPA DE LARANJA % | 0,0 | 2,5 | 25,0 |
| CARBOIDRATOS % | amido de milho 83,0 sacarose 17,0 | Quantidade suficiente para completar a ração | |

(*) De acordo com AOAC (1990)

Tabela 2 : Composição da mistura salina (ROGERS; HARPER, 1965)

| COMPONENTES | | (%) |
|---------------------|---|--------|
| Molibdato de amônio | $(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_6\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 0,003 |
| Carbonato de cálcio | CaCO_3 | 29,290 |
| Fosfato de cálcio | CaHPO_4 | 0,430 |
| Sulfato cúprico | CuSO_4 | 0,156 |
| Citrato férrico | $\text{Fe}^{+3} + \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 0,620 |
| Sulfato de magnésio | $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 9,980 |
| Sulfato de manganês | $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 0,121 |
| Iodeto de potássio | KI | 0,0005 |
| Fosfato de potássio | K_2HPO_4 | 34,310 |
| Cloreto de sódio | NaCl | 25,060 |
| Selenito de sódio | Na_2SeO_3 | 0,002 |
| Cloreto de zinco | ZnCl_2 | 0,020 |

Tabela 3 : Composição da Mistura Vitamínica, em gramas (NBC, 1977).

| | |
|--------------------------|--------|
| VITAMINA A | 3,60 |
| VITAMINA D3 | 1,00 |
| VITAMINA E | 10,00 |
| ÁCIDO ASCÓRBICO | 45,00 |
| CLORIDRATO DE TIAMINA | 1,00 |
| CLORIDRATO DE PIRIDOXINA | 1,00 |
| BIOTINA | 0,02 |
| PANTOTENATO DE CÁLCIO | 3,00 |
| ÁCIDO FÓLICO | 0,09 |
| RIBOFLAVINA | 1,00 |
| CLANOCOBALAMINA | 1,35 |
| INOSITOL | 5,00 |
| MENADIONA | 2,25 |
| ÁCIDO P. AMINOBENZOÍCO | 5,00 |
| NIACINA | 4,50 |
| CLORIDRATO DE COLINA | 150,00 |
| DEXTROSE | 766,19 |

Dietas e água foram fornecidas *ad libitum* em quantidade e volume conhecidos. Após 48 horas, anotaram-se as sobras de dieta e água, calculando-se as quantidades ingeridas.

b) Volume e Determinação de Nitrogênio Urinário e Fecal

A urina foi coletada em proveta graduada, sendo seu volume determinado após 48 horas.

No período compreendido entre o 10º e 16º dias do ensaio biológico, foram coletadas fezes e amostras de urina, as quais foram armazenadas a - 20°C, para posterior determinação de nitrogênio. Antes do início da coleta de urina, duas gotas de ácido sulfúrico concentrado foram acrescentadas ao recipiente coletor para evitar contaminação. As fezes foram recolhidas, pesadas e secas em estufa a aproximadamente 70°C, durante 48 horas. Então, foram pesadas novamente para a determinação do peso seco. A determinação do nitrogênio fecal e urinário foi realizada conforme procedimento descrito por ALBANESE & ORTO (1963). Nesse método o NH_4^+ formado na digestão Kjeldahl é determinado através de método colorimétrico, utilizando reagente de Nessler.

Os resultados aqui obtidos foram utilizados na avaliação do Balanço de Nitrogênio.

c) Balanço de Nitrogênio

O balanço de nitrogênio foi calculado como a diferença entre a ingestão e a excreção do nitrogênio. Entende-se por ingestão a quantidade de nitrogênio fornecida pela dieta e, por excreção, a soma das quantidades eliminadas na urina e nas fezes.

O balanço de nitrogênio (BN), que mede o nitrogênio retido, foi avaliado pela fórmula:

$$BN = NI - (NU + NF)$$

NI = nitrogênio ingerido

NU = nitrogênio urinário

NF = nitrogênio fecal

d) Digestibilidade Aparente (Da)

A digestibilidade de uma proteína é medida pela sua fração de nitrogênio absorvido que é determinado relacionando-se o nitrogênio ingerido com a dieta e o nitrogênio eliminado nas fezes, podendo ser calculada pela seguinte relação:

$$Da = \frac{NI - NF}{NI} \times 100 = \frac{NA}{NI} \times 100$$

Da = digestibilidade aparente

NI = nitrogênio ingerido

NF = nitrogênio fecal

NA = nitrogênio absorvido

No presente estudo, os índices de avaliação do valor nutricional das proteínas, descritos a seguir, foram calculados segundo nossas condições experimentais sendo, portanto, considerados índices operacionais.

e) Valor Biológico Aparente (operacional) - relaciona o balanço de nitrogênio à proteína absorvida pelo trato digestivo. Pode ser representado da seguinte forma:

$$VBA(op) = \frac{NI - (NF + NU)}{NI - NF} \times 100 = \frac{NR}{NA} \times 100$$

VBA(op) = valor biológico aparente (operacional)

NI = nitrogênio ingerido

NF = nitrogênio fecal

NU = nitrogênio urinário

NR = nitrogênio retido

NA = nitrogênio absorvido

f) Utilização Líquida da Proteína (operacional)- este índice mede o nitrogênio retido no organismo, em relação ao ingerido, podendo ser descrito da seguinte forma:

$$\text{NPU (op)} = \frac{\text{NI} - (\text{NF} + \text{NU})}{\text{NI}} \times 100 = \frac{\text{NR}}{\text{NI}} \times 100$$

NPU(op) = utilização líquida da proteína (operacional)

NI = nitrogênio ingerido

NF = nitrogênio fecal

NU = nitrogênio urinário

NR = nitrogênio retido

g) Quociente de Eficiência Protéica (operacional) - este índice mede o quociente do ganho de peso (gramas) pela quantidade de proteína ingerida (gramas), podendo ser representado como:

$$\text{PER (op.)} = \frac{\text{ganho de peso (g)}}{\text{proteína consumida (g)}}$$

h) Balanço de Lipídeos

No período compreendido entre os dias 22º e 28º do ensaio biológico determinou-se o balanço lipídico, através da seguinte fórmula:

$$\text{BL} = \text{GI} - \text{GF}$$

BL = balanço lipídico

GI = gordura ingerida

GF = gordura fecal

Para a determinação de gordura ingerida determinamos a gordura da dieta através do método de BLIGH & DYER (1959).

i) Digestibilidade Aparente Lipídica - Foi calculada em função da ingestão de gordura e da gordura das fezes, conforme a fórmula:

$$\text{Da lip.} = \frac{\text{GI} - \text{GF}}{\text{GI}} \times 100$$

Da lip. = digestibilidade aparente lipídica

GI = gordura ingerida

GF = gordura fecal

j) Peso Relativo de Órgãos

No sacrifício dos animais foi determinado o peso relativo (gramas/ 100 gramas de peso corporal) do fígado e do estômago cheio e vazio.

2.3.2 Parâmetros Bioquímicos

Foram retiradas, nas manhãs do 1º e 12º dias do ensaio biológico, amostras de sangue dos animais no estado alimentado (pós-prandial), através da veia caudal. No sacrifício, realizado por decapitação na manhã do 28º dia do ensaio, também foram coletadas amostras de sangue dos animais no estado alimentado. Essas amostras foram colhidas em tubos heparinizados para posterior extração do plasma e análise dos seguintes parâmetros:

- a) Glicose: a glicemia foi determinada no final do período experimental, através de método enzimático colorimétrico, (HENRY *et al.*, 1974) utilizando Kit Glicose E - CELM.
- b) Uréia: foi determinada no início, após 12 e 28 dias, através de método enzimático colorimétrico, (HENRY *et al.*, 1974), utilizando Kit Uréia ES - CELM.
- c) Proteínas totais: foram determinadas no início, após 12 dias e ao final do período experimental, pela reação de Biureto (HENRY, *et al.* 1957), utilizando Kit Prot A/G - CELM.

- d) Colesterol: foi analizado no final do período experimental, conforme método enzimático colesterol oxidase/peroxidase com o Kit Colesterol E - CELM (HENRY *et al.*, 1974).
- e) Triacilgliceróis: determinado no final do ensaio biológico utilizando Kit Triglicerídeos E - CELM, para sua determinação específica, através do método enzimático colorimétrico (HENRY *et al.*, 1974).
- f) Lipídeos totais: determinado ao final do ensaio biológico, através de método colorimétrico (HENRY *et al.*, 1974) com a utilização do Kit Lipídeos Totais - REACTOCLIN.
-
- g) Gordura Fecal: No período correspondente a última semana do ensaio biológico foram coletadas as fezes de cada grupo experimental, para análise da gordura fecal, através do método de KRAMER *et al.* (1949). Neste método, os ácidos graxos e gorduras são extraídos com éter de petróleo, a partir de uma solução alcoólica ácida e, posteriormente, determinados por titulometria com NaOH, 1N, tendo Timol Blue como indicador.
- h) Colesterol, Triacilglicerol e Lipídeos Totais Hepáticos: Do tecido hepático (lobo esquerdo) de cada animal, foi feito um homogeneizado em isopropanol, na proporção de 10% peso/volume, utilizando um homogenizador TECNAL - mod.TE 102, por 30 segundos. A seguir, o homogeneizado foi conservado a 4°C, por 48 horas e, então centrifugado por 10 minutos a 1.000xg (HAUG & HOSTMARK, 1987).

Aliquotas dos sobrenadantes foram analizadas, enzimaticamente, para Colesterol e Triacilglicerol, utilizando-se Kits CELM conforme descrito em 2.3.2.d,e.

Lipídeos totais foram determinados gravimetricamente. Para tanto, 2mL do sobrenadante foram colocados em estufa semi-aberta, a 104°C, por uma hora. Na meia hora seguinte, a estufa foi fechada e, então, o material foi retirado, resfriado e pesado, sucessivamente, até peso constante.

2.4 Procedimento Estatístico

Para o estudo estatístico foram utilizados Análise de variância (MANOVA) e Teste de Tukey (FLEISS, 1986; JOHNSON & WICHERN, 1988). Estabelecemos $p<0,05$ como nível de significância.

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Composição Química e Propriedades Físico-químicas da Polpa de Laranja

A caracterização da composição química da polpa de laranja, assim como a avaliação de suas propriedades físico-químicas, foram realizadas por AREAS (1994).

Segundo o autor, na composição química do material estudado (Tabela 4), constatou-se elevado teor de fibra alimentar total (71,1%). Essa fibra estava constituída por substâncias pécticas (38,9% , na forma de ácido anidrourônico), FDN (32,2%) e FDA (31,1%). Resultados similares, com relação ao teor de ácido anidrourônico em laranja sem casca, foram encontrados por McCOMB & McCREADY (1952). REDDY *et al.* (1981) ao analizarem fibra de polpa cítrica desidratada obtiveram valores para FDN de 26% e para FDA de 25%.

Pelos dados apresentados na Tabela 5 verifica-se que mais da metade, ou seja 55% da polpa de laranja estava constituída por substâncias pécticas (expressa como ácido anidrourônico) e 36% pela celulose, sendo portanto os componentes fibrosos de maior proporção no material estudado. SCHNEEMAN (1987) classifica a pectina como altamente solúvel; a celulose como relativamente insolúvel; a hemicelulose como um grupo heterogêneo, exibindo grande variação de solubilidade e, por fim, a lignina, considerada insolúvel. Consequentemente, a composição em fibras do material estudado assemelha-se àquela descrita ANDERSON & BRIDGES (1988), para polpa de laranja sem casca e sem semente, visto que esses autores verificaram que 57% da fibra total encontravam-se sob forma solúvel e 43% como fração insolúvel.

Em relação às propriedades físicas-químicas, AREAS (1994) verificou, através da granulometria da polpa de laranja, que 52,9% das partículas ficaram retidas entre as peneiras de 32 e 60 mesh sendo, portanto, nosso material constituído, predominantemente, de partículas de tamanho médio (200 a 500 micra). Em seguida, 38,3% das partículas

Tabela 4 : Composição química da polpa de laranja.

| COMPONENTES | (%) |
|--------------------------|------|
| Umidade | 5,9 |
| Proteína | 10,7 |
| Gordura | 1,2 |
| Açúcares solúveis totais | 9,9 |
| Cinza | 2,3 |
| Fibra alimentar total | 71,0 |

Fonte: AREAS (1994)

Tabela 5 : Distribuição percentual dos componentes fibrosos da polpa de laranja em relação ao teor de fibra total.

| COMPONENTES | (%) |
|--|-------|
| Celulose | 36,0 |
| Hemicelulose | 3,0 |
| Lignina | 6,0 |
| Substâncias péctinas (ácido anidrourônico) | 55,0 |
| Fibra alimentar total | 100,0 |

Fonte: AREAS (1994)

ficaram retidas entre o fundo e a peneira de 80 mesh, sendo assim, consideradas partículas de tamanho pequeno (menor que 200 micra) e 8,9% das partículas ficaram entre as peneiras de 10 a 20 mesh, sendo, assim, consideradas partículas de tamanho grande (maior que 800 micra). Segundo ROEHRIG (1988), a distribuição das partículas em diferentes tamanhos é relevante, uma vez que isso pode influenciar a digestibilidade, a capacidade de hidratação e a densidade da fibra.

Os valores encontrados por AREAS (1994) para a densidade aparente e a capacidade de hidratação da polpa de laranja, foram de 0,46g/mL e 3,61g de água/g de matéria seca, respectivamente.

O valor obtido para a capacidade de hidratação foi semelhante ao verificado por RASPER (1979) em polpa de laranja (3,5g/g), porém CHEN *et al.* (1984) obtiveram valores superiores (5,6g/g) ao estudar fibra de polpa cítrica pulverizada. Provavelmente o tamanho da partícula dos materiais estudados influenciou os resultados observados. Além disso, segundo KAY (1982) a capacidade de hidratação da fibra dependerá de sua fonte, do modo de preparação do material para essa análise, como também do método de análise escolhido.

2. Parâmetros Fisiológicos, Nutricionais e Bioquímicos

a) Ingestão Alimentar e Evolução do Peso Corporal

Os resultados obtidos de ingestão alimentar total e de evolução do peso corporal estão apresentadas nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

Pelos dados apresentados sobre a ingestão alimentar total, podemos notar que os valores dos grupos controle e dos grupos alimentados com dietas que continham polpa de laranja a 2,5 e 25% (grupos NF 2,5 e NF 25, respectivamente), foram similares, não apresentando diferenças significativas. Este resultado foi acompanhado pela evolução do peso corporal (Figura 2) pois não foram verificadas diferenças significativas entre o grupo

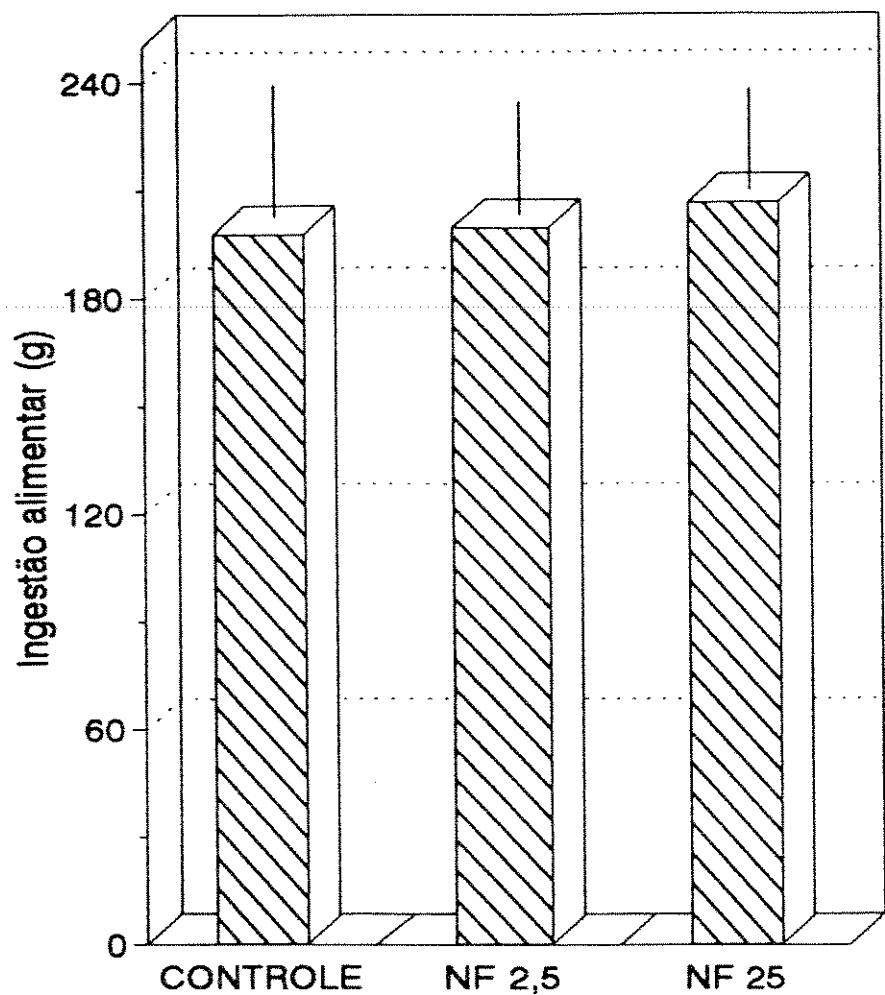


Figura 1 : Ingestão alimentar total, em gramas (g), no ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Valores expressos em média + desvio padrão. Diferenças testadas ao nível de $p<0,05$ para: a=Controle vs NF 2,5 e NF 25, b=NF 2,5 vs NF 25, não foram significativas. Número de animais/grupo = 10.

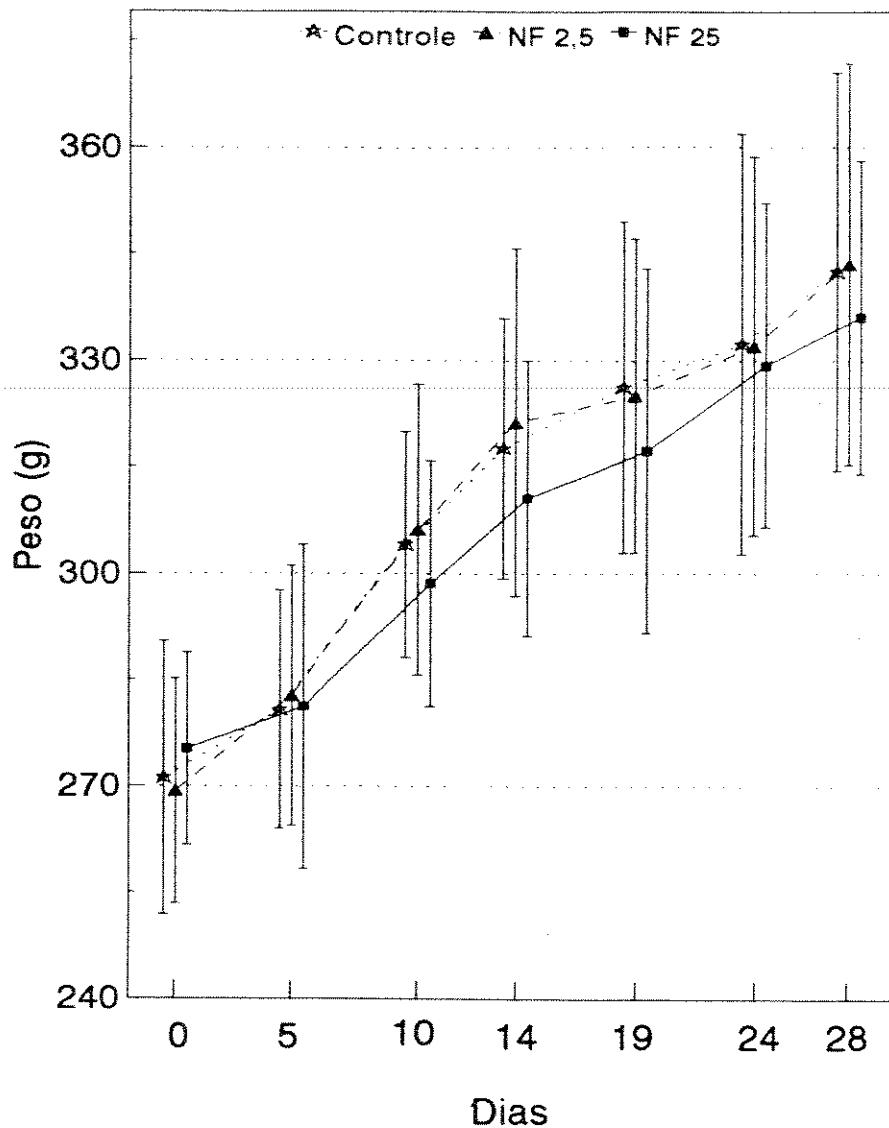


Figura 2 : Evolução do peso corporal, em gramas (g), durante o ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Valores expressos em média \pm desvio padrão. Diferenças testadas ao nível de $p<0,05$ para: a=Controle vs NF 2,5 e NF 25, b=NF 2,5 vs NF 25, não foram significativas. Número de animais/grupo = 10.

controle e os demais durante todo o ensaio biológico. Assim sendo, a adição de diferentes porcentagens de polpa de laranja às dietas (2,5 e 25%) não influenciou a ingestão alimentar como também a evolução do peso corporal.

Resultados semelhantes foram obtidos por GALLAHER *et al.* (1992) ao adicionarem 8% de cereais ricos em fibras ou fibra de beterraba à dieta hiperlipídica de ratos normais. SCHRIJVER *et al.* (1992) avaliando o efeito da adição de 15 ou 30% de farelo de aveia processada ou não nas dietas de ratos normais, também não observaram modificações na ingestão alimentar e no ganho de peso. Por outro lado, a utilização de goma guar numa dieta rica em gordura saturada diminuiu significativamente a ingestão alimentar e o crescimento dos animais em relação ao grupo controle (IDE *et al.*, 1991). No estudo conduzido por ARJMANDI *et al.* (1992 a) sobre fibras alimentares solúveis e a biossíntese de colesterol, a ingestão alimentar foi significativamente menor nos ratos alimentados com pectina em relação ao grupo controle alimentado com celulose.

Segundo MAZUR *et al.* (1990), parte da diferença no peso corporal poderá ser mascarada pela presença de material no trato digestivo e no peso do ceco. Na alimentação com dietas isentas de fibras o ceco desenvolve-se pouco, porém a adição de fibras alimentares pode resultar em significativo aumento do seu tamanho.

BURLEY (1992) relaciona a menor ingestão alimentar de dietas acrescidas de fibras alimentares com a sensação de saciedade proporcionada por esse material. As fibras afetam a distensão e o esvaziamento gástricos, o trânsito intestinal, como também podem ativar mecanismos envolvidos na passagem de nutrientes ao longo do trato gastrointestinal e estimular receptores especializados dessas regiões (BURLEY & BLUNDELL, 1990).

Por outro lado, vários estudos indicam que a instilação de lipídeos no intestino delgado estimula quimiorreceptores intestinais que, quando ativados, atrasam o esvaziamento gástrico, induzem a sensação de saciedade e reduzem a ingestão alimentar (READ *et al.*, 1994). Portanto, a porcentagem de gordura nas dietas experimentais (20% -

Tabela 1), pode ter sido um fator predominante sobre a ação da fibra da polpa de laranja em relação a ingestão alimentar ao igualar o consumo das dietas entre os grupos, uma vez que AREAS (1994) observou diminuição significativa do consumo alimentar ao adicionar 25% de polpa de laranja a dietas normolipídicas para ratos.

b) Ganho de Peso Cumulativo

Os dados relativos ao ganho de peso cumulativo dos animais, durante todo o período experimental, encontram-se na Figura 3. Apesar de não terem sido verificadas diferenças significativas entre os grupos, observou-se uma tendência de menor ganho de peso do grupo NF 25 em relação ao grupo controle (Figura 2). Resultado semelhante foi obtido por AREAS (1994).

Provavelmente este resultado foi consequência, como veremos mais adiante, da menor digestibilidade aparente lipídica, constatada no grupo alimentado com maior concentração de polpa de laranja, NF 25, em relação aos demais grupos experimentais (item I).

c) Consumo Hídrico e Volume Urinário Totais

Na Figura 4(A) está representado o consumo hídrico total dos grupos experimentais. Nela podemos observar tendência ao aumento do consumo hídrico, embora não significativa, do grupo NF 25 em relação aos demais grupos. ARJMANDI *et al.* (1992a,b) relataram que, em ratos alimentados com psílum a 7,5 e 10%, a ingestão hídrica foi significativamente maior do que nos animais controle.

Quanto ao volume urinário total, apresentado na Figura 4 (B), verificou-se que a média do grupo NF 25 foi menor, embora não significativamente, em relação aos grupos controle e NF 2,5. O maior consumo hídrico e menor volume urinário, não significativos, do grupo NF 25, poderiam ser devidos a maior porcentagem de polpa de laranja

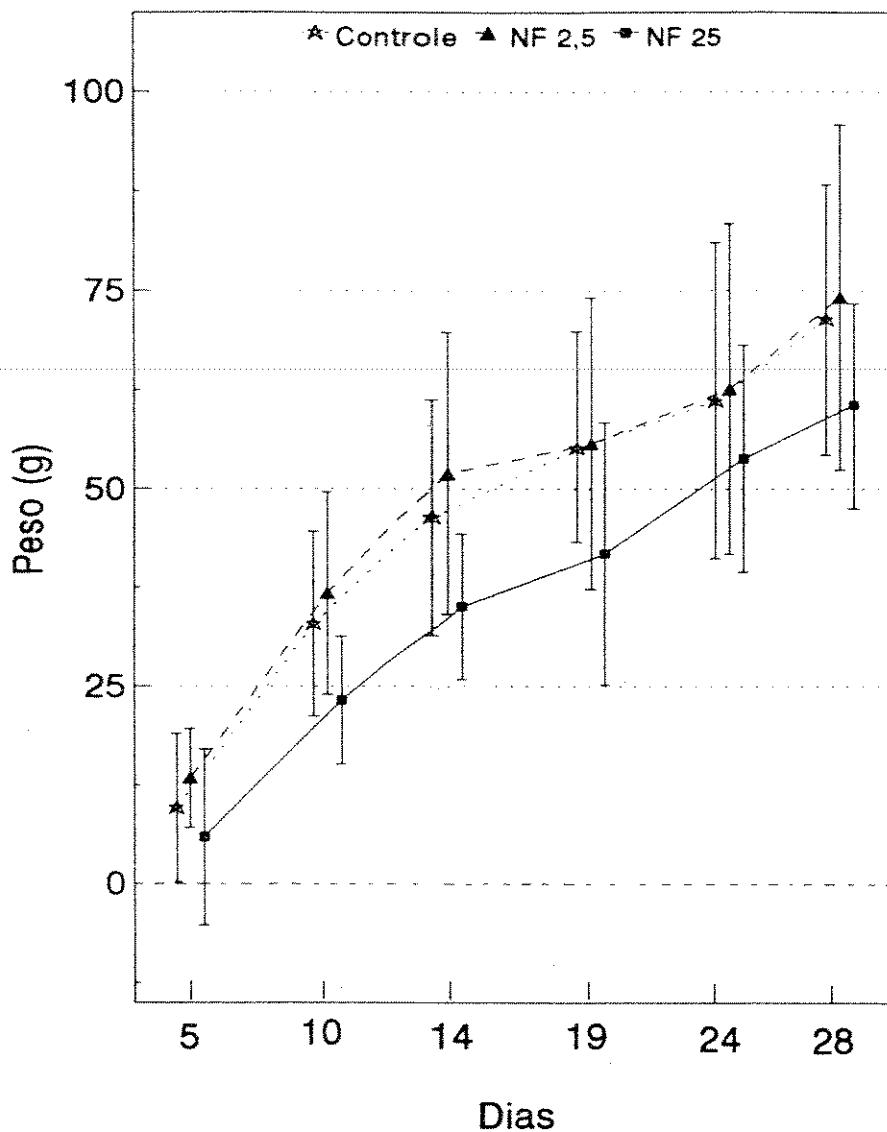


Figura 3 : Ganhо de peso cumulativo, em gramas (g), durante o ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Valores expressos em média \pm desvio padrão. Diferenças testadas ao nível de $p<0,05$ para a=Controle vs NF 2,5 e NF 25, e b=NF 2,5 vs NF 25, não foram significativas. Número de animais/grupo = 10.

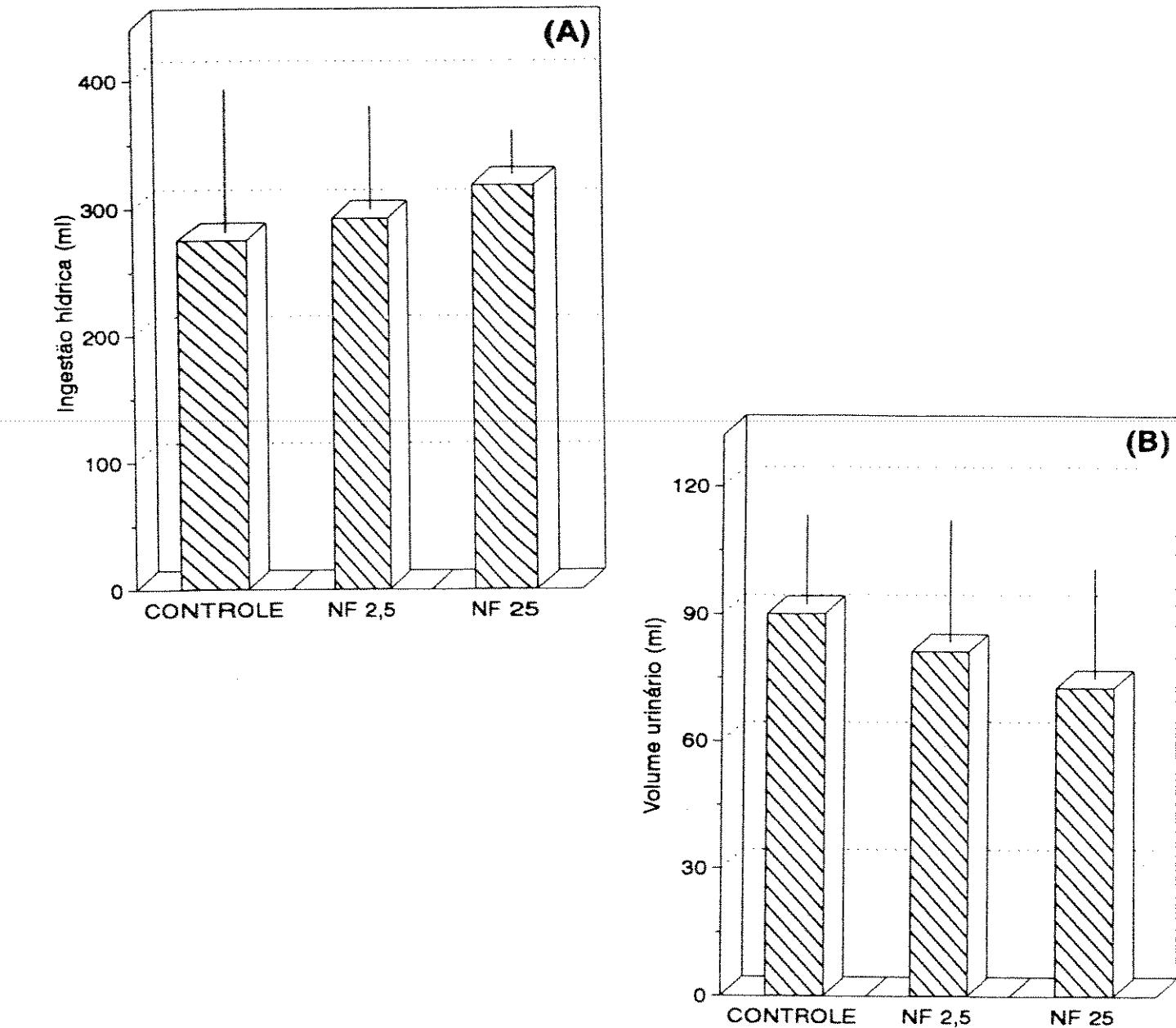


Figura 4 : Consumo hídrico e volume urinário totais, em mililitros (mL) durante o ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Valores expressos em média + desvio padrão. Diferenças testadas ao nível de $p<0,05$ para: a=Controle vs NF 2,5 e NF 25 e b=NF2,5 vs NF 25, não foram significativas. Número de animais/grupo = 10.

adicionada a dieta desse grupo (Tabela 1). AREAS (1994) ao utilizar a mesma polpa de laranja não observou diferenças significativas nos animais em relação a esses dois parâmetros. Entretanto, o autor verificou aumento significativo da porcentagem de água fecal paralelo à quantidade do material fibroso presente nas dietas. Portanto, no presente estudo, embora não tenha sido analisado esse parâmetro, sugere-se que o aumento do consumo hídrico deveu-se a natureza e concentração da polpa de laranja na dieta do grupo NF 25 e que essa água foi incorporada às fezes, diminuindo assim sua eliminação através da urina.

d) Peso Relativo dos Órgãos

Na tabela 6 estão apresentados os pesos relativos do fígado, estômago cheio e vazio, expressos em g/100g de peso corporal, dos grupos experimentais. Esses valores referem-se à pesagem feita no dia do sacrifício dos animais.

Quanto ao peso relativo do fígado não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. ARJMANDI *et al.* (1992a), ao utilizarem diferentes fontes de fibra em dietas suplementadas com colesterol, também não obtiveram diferença significativa do peso relativo do fígado, porém quando o colesterol foi excluído das dietas, os pesos relativos foram significativamente menores nos grupos alimentados com 7,5% de pectina purificada ou psílum.

Valores muito próximos para os três grupos experimentais foram observados nos pesos relativos do estômago cheio e estômago vazio, não tendo sido verificadas diferenças significativas nesses órgãos em função do tratamento alimentar. Resultados diferentes foram relatados por IKEGAMI *et al.* (1990), onde o peso do estômago vazio foi significativamente maior no grupo de animais alimentados com dieta a 5% de alginato de sódio. Os autores sugeriram que mudanças adaptativas no trato gastrointestinal, como por exemplo aumento dos órgãos digestivos, seriam mais pronunciadas com fibras altamente viscosas.

Tabela 6 : Peso relativo (g/100 g de peso corporal) do fígado, estômago cheio e vazio, ao final do ensaio biológico.

| GRUPOS | FÍGADO | EST. CHEIO | EST. VAZIO |
|----------|-------------|-------------|-------------|
| | | | |
| CONTROLE | 3,55 ± 0,27 | 1,52 ± 0,62 | 0,42 ± 0,03 |
| NF2,5 | 3,40 ± 0,24 | 1,17 ± 0,40 | 0,43 ± 0,08 |
| NF 25 | 3,35 ± 0,26 | 1,46 ± 0,34 | 0,43 ± 0,06 |

Valores expressos em média ± desvio padrão. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25, representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Diferenças testadas ao nível de $p<0,05$ para: a=Controle vs NF 2,5 e NF 25 e, b=NF 2,5 vs NF25 não foram significativas. Número de animais/grupo = 10.

e) Glicose Plasmática

Na Tabela 7 encontram-se os valores de glicose plasmática dos grupos experimentais, no final do ensaio biológico. Não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos controle e aqueles alimentados com 2,5 e 25% de polpa de laranja, assim como entre os grupos NF 2,5 e NF 25.

Resultados semelhantes foram descritos em humanos, por SCHWARTZ *et al.* (1982), e em ratos Wistar, por AREAS (1994), ambos os autores utilizando fontes de fibras alimentares ricas em componentes solúveis. Entretanto o último autor relata significativa redução da glicemia em ratos diabéticos que receberam dieta contendo 25% de polpa de laranja, o que sugere maior susceptibilidade em função da hiperglicemia apresentada pelos animais diabéticos.

ELLIS & DAWOUD (1991) também observaram resultados semelhantes aos nossos, porém sugeriram que a determinação da glicemia no sistema porta hepático proporcionaria evidência mais direta do efeito da fibra alimentar, o que não seria possível detectar na análise sanguínea de outros vasos. MALMLOF *et al.* (1989) através de cânula implantada na veia porta e artéria céfalo-branquial de porcos em crescimento, observaram que goma-guar reduziu significativamente a hiperglicemia pós-prandial no sistema porta, o que não foi observado nas amostras do sangue arterial para o mesmo período.

No entanto, TOPPING *et al.* (1988) descreveram diminuição da concentração de glicose no sangue arterial de ratos alimentados com dietas contendo fibras de média e alta viscosidade, o que sugere uma combinação de mecanismos envolvidos.

A ação fisiológica das fibras alimentares relacionada à redução da glicemia parece depender principalmente da viscosidade do material utilizado, o que pode resultar em atraso no esvaziamento gástrico e/ou reduzida acessibilidade da glicose à superfície de absorção (VINIK & JENKINS, 1988).

Tabela 7 : Valores plasmáticos de glicose, em mg/dL, no final do período experimental.

| | GRUPOS | | |
|-----------|----------|--------|-------|
| | CONTROLE | NF 2,5 | NF 25 |
| \bar{X} | 138,03 | 126,36 | 123,4 |
| SD | 18,04 | 25,16 | 17,83 |
| n | 10 | 10 | 10 |

Valores expressos em média \pm desvio padrão. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5% e 25% de polpa de laranja. Diferenças testadas ao nível de $p<0,05$ para: a=Controle vs NF 2,5 e NF 25 e, b=NF 2,5 vs NF 25 não foram significativas. n = número animais/grupo.

f) Proteína Total e Uréia Plasmáticas

Nas Figuras 5 e 6 estão representados, respectivamente, os valores plasmáticos de proteína total e uréia, para dosagens realizadas no início, após 12 dias e no final do período experimental. Os dados obtidos indicam que em nenhum dos momentos avaliados houve diferença significativa entre os grupos experimentais, em relação a proteína total. Na determinação da uréia plasmática, observou-se, no 12º dia, diferença significativa entre o grupo controle e NF 25.

Resultados semelhantes, em relação à proteína total, foram observados por AREAS (1994), em ratos, utilizando polpa cítrica como fonte de fibra alimentar, adicionada à dieta normolipídica e por TSAI *et al.* (1983) em humanos, tendo como fonte de fibra polissacarídeos de soja. Segundo MITCHELL (1978) a determinação de proteína total é um dos parâmetros úteis na avaliação do estado nutricional e portanto, no presente estudo, podemos inferir que as dietas utilizadas não alteraram esse parâmetro.

Em relação à uréia plasmática, MALMLOF *et al.* (1989) descreveram que, em porcos a ingestão de dieta suplementada com goma guar resultou em significativo aumento da uremia em relação à dieta basal. Segundo os autores, polissacarídeos viscosos como a goma guar, ao reduzir as concentrações de glicose e insulina circulantes poderiam, principalmente em relação às funções anabólicas da insulina, reduzir a síntese protéica e consequentemente aumentar a concentração de uréia plasmática. No presente estudo, embora fosse detectada diferença significativa entre o grupo controle e NF 25, no 12º dia, não podemos afirmar que essa alteração se deva à redução da síntese protéica. Além disso, tal concentração retornou ao nível normal, semelhante aos grupos controle e NF 2,5, no final do experimento.

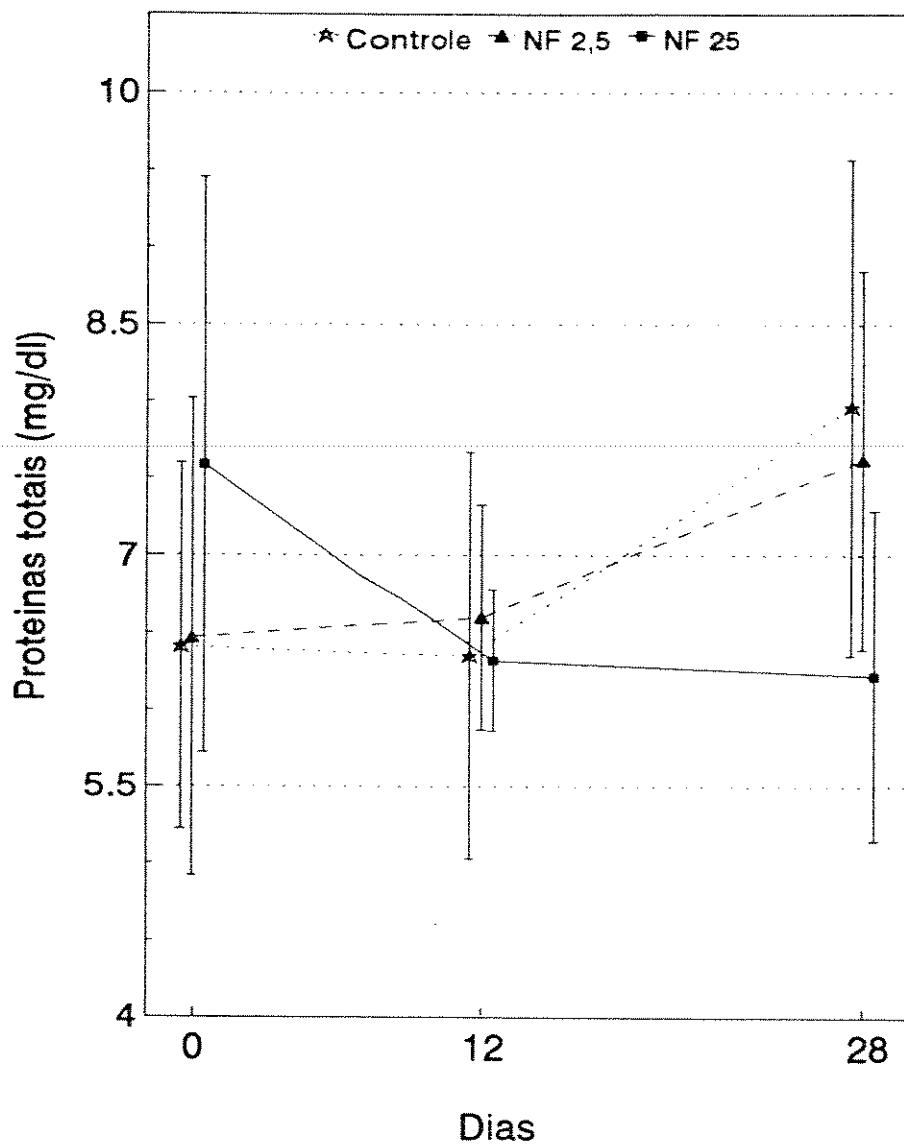


Figura 5 - Valores plasmáticos de proteínas totais, em mg/dL, no início, após 12 dias e ao final do ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Valores expressos em média \pm desvio padrão. Diferenças testadas ao nível de $p<0,05$ para: a=Controle vs NF 2,5 e NF 25, e b=NF 2,5 vs NF 25, não foram significativas. Número de animais/grupo = 10, exceto para o grupo NF 2,5, onde o número é 9 aos 0 e 12 dias e, para o grupo NF 25, aos 12 dias, com número de 8 animais.

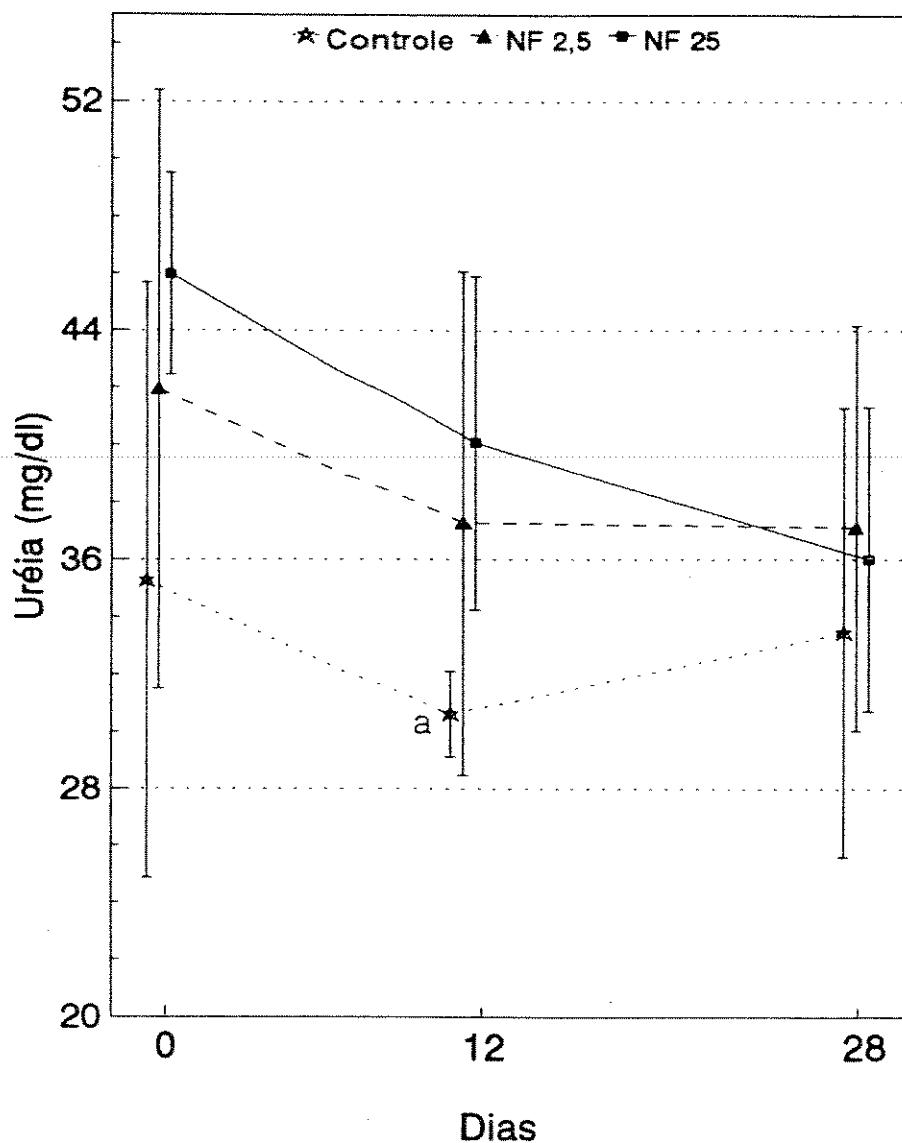


Figura 6 - Valores plasmáticos de uréia, em mg/dL, no início, após 12 dias e ao final do ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Valores expressos em média \pm desvio padrão. Diferenças testadas ao nível de $p<0,05$ para: a = Controle vs NF 2,5 e NF 25, e b=NF 2,5 vs NF 25, sendo que a=Controle vs NF 25 foi significativa. Número de animais/grupo = 10, exceto no tempo 0, onde o número de animais é 8, 7 e 5, para os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25, respectivamente.

g) Nitrogênio Ingerido, Fecal e Urinário, Balanço de Nitrogênio e Digestibilidade Aparente Protéica

A Tabela 8 apresenta os valores médios para nitrogênio ingerido, fecal e urinário, balanço de nitrogênio e digestibilidade aparente da proteína. Observa-se, que ocorreu aumento significativo na excreção de nitrogênio fecal com o aumento da concentração da polpa de laranja na dieta do grupo NF 25, enquanto que o nitrogênio ingerido e urinário não variaram entre os três grupos. Na avaliação do balanço de nitrogênio não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, sendo que todos eles apresentaram balanço positivo.

Nos valores relacionados a digestibilidade aparente da proteína, nota-se que a elevada excreção de nitrogênio fecal do grupo NF 25, frente à ingestão de nitrogênio similar entre os grupos, acarretou uma diminuição da digestibilidade aparente para esse grupo em relação aos demais, sendo que as diferenças foram significativas ao nível de 5%.

Outros estudos, utilizando diferentes fontes de fibras, apontaram efeitos semelhantes em relação aos parâmetros aqui avaliados. HARMUTH-HOENE & SCHWERDTFEGER (1979) utilizando goma guar, alginato de sódio ou goma locusta a 10%, observaram marcada redução da digestibilidade aparente quando comparada ao grupo alimentado com 4% de celulose (controle). AREAS (1994) não observou diferença significativa nos balanços de nitrogênio periódicos em animais que consumiram dieta a 10 e 25% de polpa de laranja em relação ao grupo controle. Quanto à digestibilidade aparente, o autor relata valores significativamente inferiores no grupo com maior concentração de material fibroso. Digestibilidade aparente significativamente inferior também foi observada por SCHRIJVER *et al.* (1992), ao elevar para 30% a concentração de farelo de aveia, processada ou não, em dietas para ratos. MILES (1992) observou o mesmo em humanos que consumiram dieta hipolipídica e rica em fibras de várias fontes, tais como cereais, legumes, frutas e vegetais folhosos.

Tabela 8 : Valores de nitrogênio ingerido, nitrogênio fecal, nitrogênio urinário, balanço de nitrogênio e digestibilidade aparente da proteína (Da), referentes ao período de balanço.

| | GRUPOS | | |
|-----------------------|---------------|---------------|-----------------------|
| | CONTROLE | NF 2,5 | NF 25 |
| N ingerido (g) | 0,726 ± 0,117 | 0,655 ± 0,243 | 0,878 ± 0,316 a, b |
| N fecal (g) | 0,068 ± 0,019 | 0,077 ± 0,209 | 0,141 ± 0,029 |
| N urinário (g) | 0,167 ± 0,038 | 0,148 ± 0,044 | 0,174 ± 0,157 |
| Balanço de Nitrogênio | 0,494 ± 0,072 | 0,483 ± 0,096 | 0,562 ± 0,268 a, b |
| Da % | 89,26 ± 2,90 | 87,81 ± 3,69 | 82,12 ± 6,12 |

Valores expressos em média ± desvio padrão. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Diferença significativa ao nível de p<0,05, para: a = Controle vs NF 2,5 e NF 25, b = NF 2,5 vs NF 25. Número de animais/grupo = 10.

Segundo SCHWEIZER & WURSCH (1991), a baixa digestibilidade da proteína localizada na parede celular de fibras alimentares não purificadas explica, parcialmente, a redução na digestibilidade protéica aparente, porém o aumento da perda de nitrogênio fecal pode também ser devido à elevada excreção de secreções intestinais, perda de células da mucosa intestinal através de descamação e proteína microbiana.

Todavia, para melhor caracterização dos mecanismos pelos quais as fibras alimentares afetam a utilização protéica, as características fisico-químicas do material fibroso devem ser consideradas. Na Tabela 5, relativa à distribuição percentual dos componentes fibrosos da polpa de laranja em relação ao teor de fibra total, observamos alta porcentagem de fração solúvel (55% de substâncias pecticas, expressa como ácido anidrourônico). As frações solúveis caracterizam-se por apresentar elevada viscosidade, o que pode propiciar a captura de moléculas de proteína em sua matriz gel e assim diminuir a acessibilidade dessas moléculas às enzimas digestivas e dos produtos de digestão aos locais de absorção, reduzindo a digestão e a absorção das proteínas da dieta (SHAH *et al.*, 1982).

Além disso, segundo IKEDA & KUSANO (1983), a pectina pode inibir a atividade proteolítica enzimática e consequentemente aumentar sua secreção (KHOKHAR & KAPOOR, 1990). Análoga às ligações com ácidos biliários em pH intestinal, alguns aminoácidos específicos podem interagir com a pectina.

Fibras fermentáveis, como a pectina, goma guar e farelo de aveia, proporcionando substrato para a proliferação bacteriana contribuem, provavelmente, para a elevação da concentração de nitrogênio fecal, uma vez que as bactérias constituem a maior parte do nitrogênio fecal (ROYALL *et al.*, 1990).

Por outro lado, a grande porcentagem de fração insolúvel (tabela 5) também pode ter contribuído para maior excreção de nitrogênio fecal e menor digestibilidade aparente protéica. De acordo com VINIK & JENKINS (1988) materiais insolúveis podem acelerar o trânsito intestinal e consequentemente reduzir o tempo necessário para a realização da

digestão e absorção da proteína da dieta. A diminuição do tempo de trânsito intestinal pode ser comprovada por AREAS (1994) ao utilizar polpa de laranja em dietas para ratos normais e diabéticos. SEVÁ-PEREIRA *et al.* (1991) e REYES *et al.* (1989), também observaram essa redução com dietas de elevada concentração de FDN (Fibra detergente neutro).

AREAS (1994) na avaliação dos parâmetros morfológicos observou, em ratos normais e diabéticos que consumiram dieta com 25% de polpa de laranja, alterações estruturais acentuadas das vilosidades e descamação celular na região superficial da mucosa intestinal do duodeno e cólon e atribuiu, também a essa descamação, aos maiores níveis de nitrogênio fecal desses animais.

Portanto, neste estudo observamos que, apesar da maior excreção de nitrogênio fecal e da menor digestibilidade aparente relacionadas ao grupo com maior concentração de polpa de laranja (NF 25), essa condição não interferiu na retenção de nitrogênio desse grupo, verificada pelo balanço positivo de nitrogênio. Esses dados corroboram a afirmação de SCHNEEMAN (1990b) que relatou que se a ingestão e a qualidade protéicas forem adequadas, o balanço de nitrogênio não será comprometido pela presença de fibras na dieta.

h) Valor Biológico Aparente, Utilização Líquida da Proteína e Eficiência Protéica Operacionais

Os dados relativos ao valor biológico aparente operacional (VBap op), utilização protéica líquida operacional (NPU op) e eficiência protéica operacional (PER op), encontram-se na Tabela 9. Verificou-se que o VBap op. e o NPU op. não apresentaram variação significativa entre os grupos, podendo indicar que o grau de retenção tanto da proteína absorvida (VBap op.) como da ingerida (NPU op.) não foi alterado pelo aumento da concentração da polpa de laranja, mesmo havendo significativa perda de nitrogênio fecal no grupo NF 25.

Tabela 9 : Valor biológico aparente operacional (VBa op.), Utilização líquida da proteína operacional (NPU op.) e Quociente de eficiência protéica operacional (PER op.), referentes ao período de balanço.

| GRUPOS | VBa op. (%) | NPU op. (%) | PER op. |
|----------|--------------|---------------|--------------------------|
| CONTROLE | 73,45 ± 3,57 | 65,54 ± 3,53 | 2,37 ± 0,38 |
| NF 2,5 | 74,56 ± 4,34 | 65,83 ± 5,65 | 2,48 ± 0,49 |
| NF 25 | 73,28 ± 8,10 | 60,83 ± 10,38 | 1,96 ± 0,36 ^b |

Valores expressos em média ± desvio padrão. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Diferenças testadas ao nível de p<0,05 para: a=Controle vs NF 2,5 e NF 25 e, b = NF 2,5 vs NF 25, sendo que b foi significativa. Número de animais/grupo = 10.

Por outro lado verificamos redução significativa no PER op. dos animais do grupo NF 25 em relação aqueles do grupo NF 2,5 e tendência à diminuição quando comparado ao grupo controle. AREAS (1994) utilizando polpa de laranja a 25% em dieta normolipídica, também observou diferença significativa, porém em relação ao grupo controle. Outros autores têm verificado menores valores para PER op. em ratos alimentados com 20% de celulose ou pectina (SHAH *et al.*, 1982).

O quociente de eficiência protéica operacional (PERop) é medido pelo aumento de peso corporal, porém nem sempre o ganho de peso é relativo a ganho em massa muscular, pois determinadas dietas podem provocar retenção de água e/ou depósito exagerado de lipídeos.

Como veremos adiante (item I) a maior porcentagem de polpa de laranja da dieta (25%), ocasionou menor digestibilidade lipídica aparente para o grupo NF 25, o que poderia levar ao seu menor ganho de peso, embora não significativo (Figura 3) e consequentemente menor PER op. Assim, embora o PER op. do grupo NF 2,5 fosse significativamente maior e houvesse tendência para um valor maior no grupo controle em relação ao NF 25, não podemos afirmar que a eficiência da proteína foi superior nesses grupos, pois o teor de gordura das dietas (20%, Tabela 1), frente à menor concentração de fibra alimentar desses grupos, poderia ter elevado os depósitos de lipídeos desses animais, contribuindo para os pesos corporais serem maiores, embora não significativamente (Figuras 2 e 3).

Tal relação ainda pode ser confirmada neste estudo quando verificamos que, apesar da menor digestibilidade aparente da proteína no grupo NF 25 (Tabela 8), indicando uma menor absorção protéica, os índices de VBap. e NPU operacionais não se apresentaram diferentes entre os grupos.

i) Colesterol Plasmático e Hepático

Na Tabela 10 estão apresentados os valores plasmáticos e hepáticos de colesterol dos grupos experimentais, no final do ensaio biológico.

No presente estudo a utilização de polpa de laranja a 2,5 e 25% da dieta não alterou, significativamente, os níveis de colesterol plasmático ou hepático, pós-prandiais dos grupos experimentais, embora houvesse tendência à diminuição nos valores no grupo NF 25 em relação aos demais (redução de 26 % do colesterol plasmático e de 27 % do hepático, em relação ao controle).

A redução do colesterol, resultante dos mecanismos de ação das fibras, frequentemente não são consistentes no plasma e no fígado, uma vez que essas ações dependerão do tipo e da quantidade de fibras utilizadas. Os componentes das fibras possuem diferentes capacidades de reduzir as concentrações de colesterol plasmático e/ou hepático, sendo que as solúveis são as mais consistentes nesses efeitos em humanos e ratos (MAZUR *et al.*, 1990). Para BOREL *et al.* (1989), fontes de fibras solúveis e insolúveis podem ter mecanismos de ação diferentes sobre os valores lipídicos, em função de propriedades fisico-químicas distintas.

Conforme descrito anteriormente (item 1, Tabela 5) o material fibroso utilizado no presente estudo constituiu-se, em grande parte, por substâncias pecticas (55%, determinadas como ácido anidrourônico), portanto solúvel, e celulose (36%) considerada insolúvel. De acordo com EBIHARA & SCHNEEMAN (1989) e VAHOUNY *et al.* (1980) a celulose não reduz o colesterol sérico, porém seu efeito sobre o tempo de trânsito intestinal pode refletir em menor absorção de lipídeos.

Resultados da colesterolemia semelhantes aos nossos foram descritos por SCHNEEMAN *et al.* (1984) ao determinar o efeito de várias fontes de fibra sobre a composição de apoproteínas em HDL. Entretanto, esses autores relacionaram a falta de efeito hipocolesterolêmico a baixa concentração de fibra associada à dieta (5% de pectina). HUNDEMER *et al.* (1991) ao comparar diferentes fontes de fibra sobre o

Tabela 10 : Valores plasmáticos e hepáticos de colesterol no final do ensaio biológico, expressos em mg/dL e μ g/g de tecido fresco, respectivamente.

| GRUPOS | COLESTEROL | |
|----------|--------------------|-----------------|
| | PLASMÁTICO | HEPÁTICO |
| CONTROLE | 100,80 \pm 29,80 | 7,63 \pm 3,15 |
| NF 2,5 | 101,13 \pm 27,84 | 7,36 \pm 3,45 |
| NF 25 | 73,75 \pm 18,55 | 5,56 \pm 1,98 |

Valores expressos em media \pm desvio padrão. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25, representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Diferenças testadas ao nível de $p<0,05$ para: a=Controle vs NF 2,5 e NF 25, e b=NF 2,5 vs NF 25 não foram significativas. Número de animais/grupo = 10, exceto para a determinação de colesterol plasmático do grupo NF 25, onde o número de animais foi 9.

colesterol plasmático e hepático, consideraram que a quantidade de fibra solúvel proporcionada pelo farelo de aveia foi insuficiente para influenciar, significativamente, a concentração do colesterol plasmático.

Por outro lado, nos trabalhos de ARJMANDI *et al.* (1992b) e DESHAIES *et al.* (1990) foram descritos níveis significativamente menores do colesterol plasmático, em grupos de animais alimentados com pectina (10%) e goma guar (5%). AREAS (1994) relatou resultados semelhantes ao adicionar 25% de polpa de laranja em dietas normolipídicas, para ratos normais e diabéticos, porém o mesmo não foi observado quando da adição de 10% do mesmo material.

JUDD & TRUSWELL (1985) ao examinarem o efeito da pectina frente a diferentes concentrações de gordura na dieta, em ratos recém-desmamados, observaram que, ao elevar o nível de gordura o efeito da pectina tornava-se menos efetivo. Para ARJMANDI *et al.* (1992a) além da quantidade de colesterol na dieta, a porcentagem de lipídeo pode modificar a ação das fibras sobre o metabolismo lipídico. Portanto, os dados da literatura indicam que o efeito hipocolesterolêmico das fibras alimentares é influenciado pela porcentagem de lipídeos da dieta.

De acordo com IKEDA *et al.* (1989) é possível que as fibras alimentares afetem diferentemente a absorção de colesterol e triacilglicerol quando diferentes tipos de gorduras são utilizadas na dieta. Esses autores, avaliando os efeitos inter-relacionados de gorduras e fibras alimentares, administraram intragastricamente, em ratos, várias emulsões junto a diferentes fontes de fibras. Posteriormente mediram a absorção de colesterol e triacilglicerol na linfa desses animais, sujeitando-os a canulação do ducto torácico. A recuperação linfática do colesterol tendeu, em geral, a ser maior com a crescente saturação das gorduras e portanto, mais colesterol foi absorvido quando as fibras, principalmente celulose e chitosan, foram misturadas com gordura saturada e menos com óleo polinsaturado.

No complexo processo de absorção do colesterol no trato intestinal, a eficiência da absorção depende, principalmente, da solubilidade micelar e portanto, da quantidade e composição de sais biliares, como também dos ácidos graxos e monoglicerídeos que são formados durante a digestão pela lipase pancreática. Assim, o tipo de gordura da dieta pode ser outro importante fator influenciando a absorção do colesterol e ambas as absorções estão intimamente relacionadas (SUGANO *et al.*, 1990).

Estudos conduzidos em ratos alimentados com dieta normolípídica (MAZUR *et al.*, 1990), mostraram que a ação hipocolesterolêmica dos carboidratos fermentáveis (fibras solúveis) está associada à diminuição da concentração de colesterol hepático e com acelerado clearance de lipoproteínas plasmáticas.

Embora numerosos trabalhos tenham documentado os efeitos das fibras alimentares sobre o metabolismo lipídico, os mecanismos de ação responsáveis por esses efeitos permanecem incertos. Alguns autores propõem que as fibras, principalmente as solúveis, poderiam modificar a absorção do colesterol da dieta ao atrasar o esvaziamento gástrico e a acessibilidade micelar à superfície das células absorptivas intestinais (VAHOUNY, 1982).

Outra hipótese refere-se a alteração do metabolismo dos ácidos biliares. As fibras ligar-se-iam aos ácidos biliares aumentando sua excreção fecal, assim maior quantidade de colesterol seria desviada para a síntese de ácidos biliares e haveria, então, menos colesterol disponível para a síntese de lipoproteínas (STORY & LORD, 1987). ANDERSON (1990) relaciona essa ligação das fibras aos ácidos biliares como também responsável pela menor disponibilidade dos mesmos para uma melhor digestão e absorção das gorduras, ocasionando maior excreção de gordura e esteróides neutros.

Segundo ARJMANDI *et al.* (1992b) a maior eliminação fecal de esteróides neutros é balanceada pela elevação de esteróides hepáticos. Em parte, as fibras solúveis, por aumentar a excreção de esteróides neutros, podem causar depleção do colesterol hepático, resultando no aumento da atividade da HMG-CoA redutase, ou seja, maior síntese de

colesterol. MAZUR *et al.* (1990) sugerem que a fibra da dieta altera vários mecanismos de homeostase do colesterol resultando em insuficiente colesterogênese compensatória.

VAN BERESTEYN *et al.* (1979), utilizando ratos Zucker obesos, alimentados com dieta rica em gordura e farelo de trigo ou celulose, descreveram que a elevada excreção fecal de colesterol e ácidos biliáres não resultou na redução das concentrações plasmática e hepática de colesterol, sugerindo um mecanismo compensatório, na forma de elevação da síntese de colesterol hepático e mudanças nos pools de colesterol corporal.

No presente estudo ao determinarmos o teor de gordura fecal (item I) constatamos, no grupo que recebeu maior porcentagem de polpa de laranja, uma significativa excreção de gordura em relação aos demais grupos. Entretanto essa elevada excreção de gordura fecal não alterou, significativamente, a colesterolemia, contrário ao relatado no estudo de AREAS (1994) utilizando dieta normolipídica e polpa de laranja, o que sugere que, apesar da maior excreção de gordura fecal do grupo NF 25, a quantidade absorvida supriu monoglicerídeos, ácidos graxos livres e fosfolipídeos em quantidades suficientes para a formação de micelas e absorção do colesterol exógeno. Portanto, de acordo com os resultados obtidos no presente estudo, sugerimos que a porcentagem de polpa de laranja das dietas NF 2,5 e NF 25 não foi suficiente para reduzir, significativamente, as concentrações de colesterol plasmático e hepático dos animais, frente ao alto teor de lipídeos da dieta.

j) Triacilglicerol Plasmático e Hepático

Os níveis plasmáticos e hepáticos de triacilglicerol no final do ensaio biológico encontram-se na Tabela 11.

Os valores de triacilglicerol plasmático foram significativamente menores para o grupo alimentado com dieta a 25% de polpa de laranja (NF 25) em relação ao grupo controle e ao grupo NF 2,5. O mesmo não foi verificado entre os grupos controle e NF 2,5.

Tabela 11 : Valores plasmáticos e hepáticos de triacilglicerol no final do ensaio biológico, expressos em mg/dL e "g/g de tecido fresco, respectivamente.

| GRUPOS | TRIACILGLICEROL | |
|----------|-----------------------|--------------|
| | PLASMÁTICO | HEPÁTICO |
| CONTROLE | 420,80 ± 156,23 | 28,55 ± 7,81 |
| NF 2,5 | 381,36 ± 91,61 | 27,50 ± 8,50 |
| NF 25 | 180,30 ± 54,50 a,b | 26,77 ± 4,29 |

Valores expressos em média ± desvio padrão. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25, representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Diferenças significativas ao nível de p<0,05, para : a = Controle vs NF 2,5 e NF 25, b = NF 2,5 vs NF 25. Número de animais/grupo = 10

Os resultados obtidos foram similares aos relatados por IDE *et al.* (1991); MAZUR *et al.* (1990); TOPPING *et al.* (1988) em ratos e, em humanos por CARA *et al.* (1992), ao avaliarem os efeitos de diferentes fontes de fibras sobre os níveis lipídicos plasmáticos. Segundo esses autores a menor captação e/ou secreção intestinal de lipídeos neutros, o maior clearance de quilomicrons, a reduzida secreção hepática de VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade) ou sua maior taxa catabólica, como também a alteração na taxa de absorção de glicose, poderiam resultar em menores concentrações pós-prandiais de triacilglicerol nos quilomicrons e VLDL.

Entre os vários mecanismos hipotrigliceridêmicos propostos, SCHNEEMAN (1990b) descreve que as fibras lentificam a digestão e a absorção de gorduras por ligarem-se aos componentes micelares e por aumentar a viscosidade e volume do conteúdo intestinal interferindo, assim, na difusão dos nutrientes. VAHOUNY *et al.* (1988) observaram, em ratos, que o consumo de dietas suplementadas com variadas fontes de fibras, durante 28 dias, atrasou o aparecimento de ácido oléico e colesterol na linfa torácica.

De acordo com ANDERSON *et al.* (1990b) a maioria das fibras solúveis, diminuindo a absorção de lipídeos no intestino proximal, aumenta sua absorção na porção distal conduzindo, presumivelmente, a alterações no tamanho e composição de lipoproteínas secretadas pelo intestino.

IKEDA *et al.* (1989) ao estudarem os efeitos inter-relacionados de várias fibras e diferentes tipos de gordura, observaram variações na absorção de triacilglicerol em relação a fonte de gordura da dieta e de fibras alimentares. Os autores descreveram que a absorção dos triacilgliceróis da gordura saturada (palm oil) tendeu a ser menor do que a das insaturadas (óleo de açafrão e óleo de açafrão rico em ácido oléico) quando combinadas com celulose e goma guar.

O aumento da ingestão de fibras alimentares pode também afetar as concentrações de insulina plasmática e de vários outros hormônios contribuindo, talvez, para a regulação

do metabolismo lipídico. A insulina é o hormônio chave, tanto para a síntese lipídica em muitos tecidos do corpo, quanto para a mobilização lipídica do tecido adiposo e fígado. Vários estudos sugerem que a glicose plasmática, a concentração de insulina e glucagon afetam a síntese de lipoproteínas e colesterol hepático, particularmente a secreção de VLDL (BATHENA *et al.*, 1974).

Por outro lado, DESHAIES *et al.* (1990) utilizando goma guar e SHINNICK *et al.* (1988), fibra de aveia, não verificaram efeito sobre a concentração de triacilglicerol plasmático.

Ao analisarmos as composições das dietas dos estudos citados aqui, observamos que a diminuição da triglyceridemia ocorreu principalmente onde a porcentagem de gordura da dieta era considerada alta, independente da fonte de fibra utilizada. HENDRICK *et al.* (1992) sugerem que fibras insolúveis podem inibir a atividade da lipase entérica, que hidrolisa o triacilglicerol em ácidos graxos livres, monoglicerídeos e diglicerídeos. Estudos *in vitro* indicam que a atividade das lipases pancreáticas dissolvidas em solução tampão ou em amostras de suco entérico, pode ser inibida por xylan, celulose, pectina e goma guar (ISAKSSON *et al.*, 1982a; SCHNEEMAN, 1978).

Segundo BOREL *et al.* (1989) em dietas com baixa concentração de gordura a ação inibitória das fibras não prejudicaria a atividade da lipase pancreática e portanto, não afetaria a absorção lipídica de forma significativa. Porém, LAIRON *et al.* (1987) descreveram que, em dietas com alto teor de gordura, a perda de parte da atividade da lipase pancreática induzida pela fibra, poderia diminuir o processo de lipólise e a absorção intestinal modificando, assim, a excreção de quilomicrões na linfa e, consequentemente, o metabolismo lipídico. Embora a alta concentração de gordura da dieta aumente o nível de lipase pancreática, essa elevação não seria suficiente para compensar a inibição pela fibra (LAIRON *et al.*, 1987).

Resultados semelhantes aos nossos, quanto a concentração de triacilglicerol hepático, foram observados por IDE *et al.* (1991) e TOPPING *et al.* (1988).

Em função dos mecanismos efetivamente hipolipidêmicos atribuídos às fibras alimentares finalizarem, principalmente, na menor absorção das gorduras (ANDERSON *et al.* 1990b) avaliamos, no presente estudo, o teor fecal de gordura (item 1) e constatarmos que a eliminação lipídica fecal do grupo NF 25 contribuiu, significativamente, para o efeito hipotrigliceridêmico observado, enquanto que a concentração de triacilglicerol hepático semelhante entre os grupos sugere acúmulo preferencial desse lipídeo pelo grupo alimentado com 25% de polpa de laranja (NF 25).

K) Lipídeos Totais Plasmáticos e Hepáticos

Os valores plasmáticos e hepáticos dos lipídeos totais, no final do ensaio biológico, encontram-se na Tabela 12. Para os lipídeos totais plasmáticos verificou-se diferença significativa entre o grupo controle e NF 25, enquanto que os valores hepáticos mostraram-se similares entre os grupos. Cabe mencionar que os dados obtidos quanto aos lipídeos totais plasmáticos, devem estar relacionados àqueles obtidos na determinação da trigliceridemia, uma vez que na dosagem desse parâmetro estão incluídos os ácidos graxos não saturados livres e esterificados, além de colesterol e seus ésteres.

Quanto à concentração hepática de lipídeos totais, ARJMANDI *et al.* (1992b) observaram diferença significativa entre o grupo controle e os animais que receberam dietas, acrescidas ou não de colesterol, e 10% de diferentes fontes de fibras solúveis. Por outro lado, quando essas mesmas fontes de fibra foram adicionadas a 7.5% em dietas sem colesterol, não foram observadas variações nesse parâmetro (ARJMANDI *et al.*, 1992a). Segundo esses autores, muitos estudos avaliando os efeitos das fibras alimentares sobre as concentrações de lipídeos e colesterol têm sido realizados sem considerarem o conteúdo de gordura das dietas, e este fator poderia conduzir a resultados conflitantes em relação aos efeitos das fibras.

Tabela 12 : Valores plasmáticos e hepáticos de Lipídeos Totais no final do ensaio biológico, expressos em mg/dL e g/g de tecido fresco, respectivamente.

| GRUPOS | LIPÍDEOS TOTAIS | |
|----------|------------------------------|---------------|
| | PLASMÁTICO | HEPÁTICO |
| CONTROLE | 810,66 ± 271,55 | 0,129 ± 0,021 |
| NF 2,5 | 658,33 ± 143,39 | 0,121 ± 0,025 |
| NF 25 | 465,37 ± 123,83 ^a | 0,116 ± 0,014 |

Valores expressos em média ± desvio padrão. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25, representam os animais que consumiram, respectivamente, dietas contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja. Diferenças testadas ao nível de $p<0,05$, para a = Controle vs NF 2,5 e NF 25 e, b=NF 2,5 vs NF 25, sendo que a= Controle vs NF 25 foi significativa. Número de animais/grupo = 10.

I) Gordura Fecal, Balanço Lipídico e Digestibilidade Aparente de Lipídios

Na Figura 7 estão representados os valores de gordura fecal, balanço lipídico e digestibilidade aparente de lipídeos. Pelos dados obtidos verifica-se que a adição de 25% de polpa de laranja na dieta do grupo NF 25 levou a um significativo aumento na excreção fecal de gordura em relação aos grupos Controle e NF 2,5.

JUDD & TRUSWELL (1985), KAY & TRUSWELL (1977) descreveram resultados semelhantes com a adição de pectina às dietas experimentais e LEVINE & SILVIS (1979) ao elevar o teor de vegetais, frutas e grãos utilizados como fonte de fibra.

A gordura fecal representa um parâmetro para a avaliação dos mecanismos de ação das fibras alimentares no que se refere à menor absorção lipídica.

As fibras podem alterar a digestão e a absorção das gorduras no intestino; parte do lipídio pode ficar associada às fibras de modo que ele não se torna disponível para digestão ou as fibras podem aumentar a excreção de lipídeo endógeno (CUMMINGS *et al.*, 1978). Entretanto essas ações dependem do tipo de fibra consumida. Segundo IKEGAMI *et al.* (1990), fibras alimentares viscosas são as que mais interferem na função gastrointestinal.

Ainda no presente estudo, o balanço lipídico (Figura 7B) apresentou significativa diferença entre o grupo Controle e os demais, enquanto que a digestibilidade aparente de lipídeos (Figura 7 C) foi significativamente menor no grupo NF 25. O menor valor para retenção de lipídeos (BL) no grupo Controle deve-se a menor ingestão alimentar observada nesse grupo, durante o referido período de balanço.

JUDD & TRUSWELL (1985) observaram que ratos recém-desmamados, alimentados com dieta contendo 15% de pectina com alto grau de metoxilação (por serem consideradas mais efetivas como agentes hipocolesterolêmicos), e 10% de óleo de amendoim, apresentaram balanço lipídico reduzido em relação aos animais controle.

Significativa redução da digestibilidade lipídica aparente foi constatada por MILES (1992), em humanos que consumiram dieta rica em fibras. IKEGAMI *et al.* (1990)

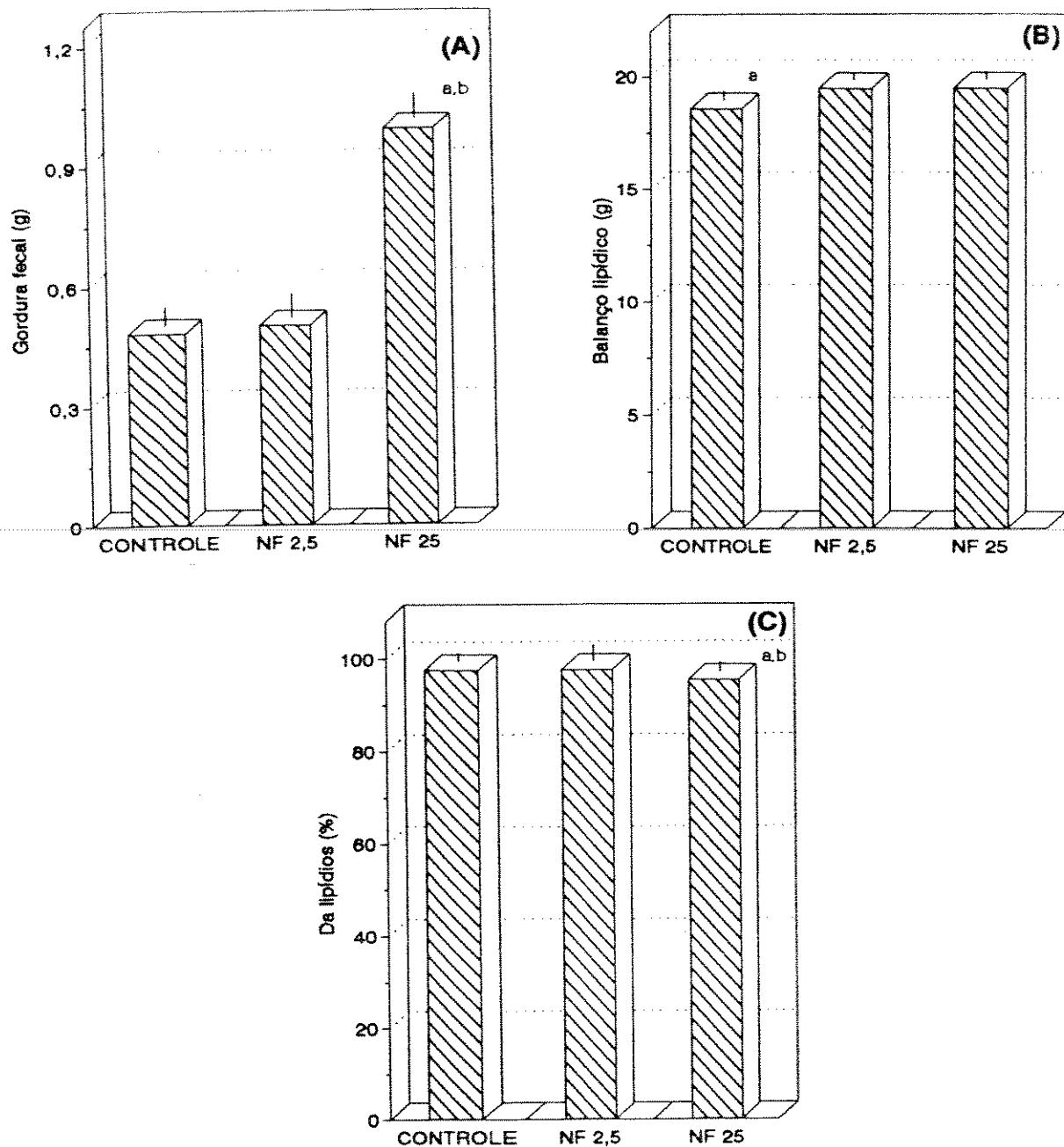


Figura 7 - Gordura fecal (em gramas/pool fezes), Balanço lipídico (em gramas) e Digestibilidade aparente de lipídeos (em %), do período compreendido entre os dias 22 e 28 do ensaio biológico. Os grupos Controle, NF 2,5 e NF 25 representam os animais que consumiram dieta contendo 1% de celulose, 2,5 e 25% de polpa de laranja, respectivamente. Valores expressos em média + desvio padrão. Diferenças significativas ao nível de $p<0,05$ para: a = Controle vs NF 2,5 e NF 25, e b = NF 2,5 vs NF 25. Número de animais/grupo = 10.

ao utilizarem polissacarídeos com mesma estrutura polimérica, porém com formas insolúveis e solúveis (viscosas), observaram menor digestibilidade aparente lipídica apenas no grupo que recebeu a fonte solúvel de fibra alimentar. Isto sugere que um aumento no volume e viscosidade do conteúdo intestinal pode diminuir consideravelmente o processo de difusão de substratos e enzimas, e impedir a interação dos nutrientes com a superfície da mucosa.

Para alguns autores os menores níveis lipidêmicos estariam relacionados a menor absorção lipídica (ARJMANDI *et al.*, 1992a; VAHOUNY, 1982). No presente estudo, os dados obtidos indicam que o aumento da excreção fecal de gordura, proporcionado pela polpa de laranja, está relacionado com a redução das concentrações de triacilglicerol e lipídeos totais plasmáticos.

V - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que:

A) a administração de 2,5% de polpa de laranja, na dieta dos animais estudados, não exerceu efeito sobre os parâmetros fisiológicos, nutricionais e bioquímicos avaliados;

B) a administração de 2,5% de polpa de laranja na dieta dos animais estudados:

B.1) não alterou a ingestão alimentar e o ganho de peso corporal.

B.2) aumentou a excreção fecal de nitrogênio, proporcionando redução da digestibilidade aparente protéica (Da) e do quociente de eficiência protéica operacional (PER op.). Entretanto, a polpa de laranja não afetou o grau de utilização da proteína da dieta, uma vez que o balanço de nitrogênio (BN), valor biológico aparente operacional (VBap op.) e utilização protéica líquida operacional (NPU op.), mostraram-se similares entre os grupos.

B.3) reduziu a disponibilidade lipídica da dieta resultando em aumento da excreção fecal de gordura e consequente diminuição da digestibilidade lipídica aparente e dos valores plasmáticos de triacilglicerol e lipídeos totais.

B.4) não alterou valores plasmáticos de colesterol, glicose, uréia e proteínas totais.

B.5) não alterou os valores hepáticos de colesterol, triacilglicerol e lipídeos totais.

C) a polpa de laranja, por reduzir os valores lipídicos observados, pode contribuir na prevenção desse fator de risco relacionado ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

VI- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

AACC-AMERICAN ASSOCIATION OF CEREALS CHEMISTS . 1976. **Approved Methods.** 8 ed., St. Paul. Minn., 1976.

ALBANESE, A. A. & ORTO, L. A. Proteins and aminoacids. In: ALBANESE, A. A., ed. - **News Methods of Nutritional Biochemistry.** 2. ed. New York, Academic Press, 1963. p.84.

ANDERSON, J. W. Hypocholesterolemic effects of oat products. In: FURDA, I. & BRINE, C.J., ed. - **New developments in dietary fiber. Physiological, hysiochemical, and analytical aspects.** New York, Plenum Press, 1990. p.17-36.

ANDERSON, J. W. & BRIDGES, S. R. Dietary fiber content of selected foods. **Am. J. Clin. Nutr.**, 47: 440-447, 1988.

ANDERSON, J. W.; DEAKINS, D. A.; BRIDGES, S. R. Soluble fiber. In: KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C.; ANDERSON, J. W., ed. - **Dietary Fiber Chemistry, Physiology and Health Effects.** New York, Plenum Press, 1990b. p.339-363.

* De acordo com:

NORMAS PARA APRESENTAÇÃO DE DISSETAÇÕES E TESES - BIREME - SÃO PAULO, 1990. 45p.

ANDERSON, J. W.; DEAKINS, D. A.; FLOORE, T. L.; SMITH, B.M.; WHITIS, S.E.
Dietary fiber and coronary heart disease. Critical Reviews in Food Science and
Nutr., 29: 95-147, 1990a.

ANDERSON, J. W. & TIETYEN-CLARK, J. Dietary fiber: hyperlipidemia, hypertension,
and Coronary Heart Disease. Am. J. Gastroenterol., 81: 907-919, 1986.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMISTS. Official methods
of analysis. 15 ed., Washington, 1990.

AREAS, M. A. Estudo dos efeitos da polpa de laranja sobre parâmetros fisiológicos,
nutricionais, bioquímicos e morfológicos em ratos normais e diabéticos. Campinas,
1994. Tese (Doutorado), Fac. Eng. Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

ARJMANDI, B. H.; AHN, J.; NATHANI, S.; REEVES, R. D. Dietary soluble fiber and
cholesterol affect serum cholesterol concentration, hepatic portal venous short-chain
fatty acid concentrations and fecal sterol excretion in rats. J. Nutr., 122 : 246-253,
1992a.

ARJMANDI, B. H.; CRAIG, J.; NATHANI, S.; REEVES, R.D. Soluble dietary fiber and
cholesterol influence *in vivo* hepatic and intestinal cholesterol biosynthesis in rats.
J. Nutr., 122 : 1559-1565, 1992b.

ARMSTRONG, E. F.; RYDON, W. G.; EASTWOOD, M. Fiber Metabolism and Colonic Water. In: KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C.; ANDERSON, J. W. ed. - Dietary Fiber Chemistry, Physiology and Health Effects. New York, Plenum Press, 1990. p.179-186.

ASP, N. G.; BAUER, H. G.; NILSSON-EHLE, P.; NYMAN, M.; OSTE, R. Wheat bran increases high-density lipoprotein cholesterol in the rat. *Br. J. Nutr.*, 46 : 385-393, 1981.

ASP, N. G.; JOHANSSON, G. C.; HALHNER, H.; SILJESTROM, M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J. Agric. Food Chem.*, 31: 476-481, 1983.

AUSMAN, L. M. Fiber and colon cancer: Does the current evidence justify a preventive policy? *Nutr. Rev.*, 51: 57-63, 1993.

BARBOSA, C. F. & JOKL, L. Efeito da formulação de duas dietas de ratos, tendo farelo de trigo como fonte de fibra dietária, sobre alguns parâmetros bioquímicos e nutricionais. *Archives Latinoamericanos de Nutricion*, 37 : 36-46, 1987.

BATHENA, S. J.; AVIGAN, J.; SCHREINER, M. E. Effect of insulin on sterol and fatty acid synthesis and hydroxymethylglutaryl Coa reductase activity in mammalian cells grown in culture. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71 : 2174-2178, 1974.

BLIGH, E. C. & DYER, W. J. A rapid method of total lipid. Extraction and Purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37 : 911-917, 1959.

BOREL, P.; LAIRON, D.; SENFT, M.; CHAUTAN, M.; LAPONT, H. Wheat bran and wheat germ: effect on digestion and intestinal absorption of dietary lipids in the rat. *Am. J. Clin. Nutr.*, 49 : 1192-1202, 1989.

BURKITT, D. P. Colonic-rectal cancer: fiber and other dietary factors. *Am. J. Clin. Nutr.*, (suppl.31) : 58-64, 1978.

BURLEY, V. J. The action of dietary fibre on satiety. *Nutr. Food Sci.*, March, April: 11-13, 1992.

BURLEY, V. J., BLUNDELL, J. E. Action of dietary fibre on the satiety cascade. In: KRITCHEVSKY, D. ; BONFIELD, C.; ANDERSON, J. W. ed. - *Dietary Fiber, Chemistry, Physiology, and Health Effects*. New York, Plenum Press, 1990. p.227-246.

CARA, L.; DUBOIS, C.; BOREL, P.; ARMAND, M.; SENFT, M.; PORTUGAL, H.; PAULLI, A.; BERNARD, P.; LAIRON, D. Effects of oat bran, rice bran, wheat fiber, and wheat germ on postprandial lipemia in healthy adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, 55: 81-88, 1992.

CHEN, J. Y.; PIVA, M.; LABUZA, T. P. Evaluation of water binding capacity (WBC) of food fiber sources. *J. Food Sci.*, 49 : 59-63, 1984.

CONNOR, W. E. & CONNOR, S. L. The key role of nutritional factors in the prevention of Coronary Heart Disease. *Preventive Med.*, 1 : 49-83, 1972.

CUMMINGS, J. H. Nutritional implications of dietary fiber. *Am. J. Clin. Nutr.*, (suppl.31) : 21-29, 1978.

DESHAIES, Y.; BEGIN, F.; SAVOIE, L.; VACHON, C. Attenuation of the meal-induced increase in plasma lipids and adipose tissue lipoprotein lipase by guar gum in rats. *J. Nutr.*, 120 : 64-70, 1990.

EBIHARA, K.; SCHNEEMAN, B. O. Interaction of bile acids , phospholipids, cholesterol and triglyceride with dietary fibers in the small intestine of rats. *J. Nutr.*, 119 : 1100-1106, 1989.

EDWARDS, C. A. Mechanisms of action on dietary fibre on small intestinal absorption and motility. In: FURDA, I; BRINE, C. J. ed. - *New Developments in Dietary Fiber. Physiological, Physicochemical and Analytical Aspects*. New York, Plenum Press, 1990a. p.95-104.

EDWARDS, C. A. Physiological effects of fiber. In: KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C.; ANDERSON, J. W. ed. *Dietary fiber Chemistry, Physiology and Health Effects*. New York, Plenum Press, 1990b. p.167-178.

EDWARDS, C. A. & ROWLAND, I. R. Bacterial Fermentation in the colon and its measurement. In: SCHWEIZER, T. F. & EDWARDS, C. A. ed. *Dietary fibre - A component of food, nutritional function in health and disease*. London, Springer-Verlag, 1992. p.119-136.

ELLIS, P. R. & DAWOUD, F. M. Blood glucose, plasma insulin and sensory responses to guar-containing wheat breads: effects of molecular weight and particle size of guar gum. *Br. J. Nutr.*, 63 : 363-379, 1991.

ENGLYST, H. N. Colorimetric method for routine measurement of dietary fibre as non-starch polysaccharides. A comparison with Gas-Liquid Chromatography. *Food Chem.*, 24 : 63-76, 1987.

FLEISS, J. L. Repeated measurements studies. In: FLEISS, J. L. ed. *The design and analysis of clinical experiments*. 3. ed. John Wiley, 1986. p.220-239.

FURDA, I. Interaction of dietary fiber with lipids. Mechanistic theories and their limitations. In: FURDA, I. & BRINE, C. J. ed. *New Developments in Dietary Fiber. Physiological, Physicochemical, and Analytical Aspects*. New York, Plenum Press, 1990. p.67-82.

GLORE, S.R.; VAN TREECK, D.; KNEHANS, A.W.; GUILD, M. Soluble fiber and serum lipids: A literature review. *J. Am. Diet. Assoc.*, 94 : 425-436, 1994.

GALLAHER, D. D.; LOCKET, P. L.; GALLAHER, C. M. Bile acid metabolism in rats fed two levels of corn oil and brans of oat, rye, barley and sugar beet fiber. *J. Nutr.*, 122 : 473-481, 1992.

HARMUTH-HOENE, A. & SCHWERDTFEGER, E. Effect of indigestible polysaccharides on protein digestibility and nitrogen retention in growing rats. *Nutr. Metab.*, 23 : 399-407, 1979.

HARTLEY, R. D. A lignin fraction of plant cell walls. *Am. J. Clin. Nutr.*, (suppl.31) : 90-93, 1978.

HAUG, A. & HOSTMARK, A. T. Lipoprotein lipases, lipoproteins and tissue in rats fed fish oil or coconut oil. *J. Nutr.*, 117 : 1011-1017, 1987.

HELLENDOORN, E. W.; NOORDHOFF, M. G.; SLAGMAN, J. Enzymatic Determination of the indigestible residue (dietary fibre) content of human food. *J. Sci. Food Agric.*, 26 : 1461- 1468, 1975.

HENDRICK, J. A.; TADOKORO, T.; EMENHISER, C.; NIENABER, U.; FENNEMA, O. R. Various dietary fibers have different effects on lipase-catalyzed hydrolysis of tributyrin *in vitro*. *J. Nutr.*, 122 : 269-277, 1992.

HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WINKELMAN, J. Enzymatic Methods. In: HENRY, R. J. ed. *Clinical Chemistry Principles and Technics*. 2.ed. New York, Harper & Row, 1974. p. 168.

HENRY, R. J.; SOBEL, C.; BERKMAN, S. Interferences with biuret methods for serum proteins. In: HENRY, R. J. ed. *Analitical Chemistry*. 3. ed. New York, Publishers Inc., 1957. p.1491-1495.

HIPPLEY, E. H. Dietary "fibre" and pregnancy toxæmia. *Brit. Med. J.*, 22 : 420-422, 1953.

HUNDEMER, J. K.; NABAR, S. P.; SHRIVER, B. J.; FORMAN, L.P. Dietary fiber sources lower blood cholesterol in C57BL/6 mice. *J. Nutr.*, 121 : 1360-1365, 1991.

IDE, T.; MORIUCHI, H.; NIHIMOTO, K. Hypolipidemic effects of guar gum and its enzyme hydrolysate in rats fed highly saturated fat diets. *Ann. Nutr. Metab.*, 35 : 34-44, 1991.

IKEDA, K. & KUSANO, T. *In vitro* inhibition of digestive enzymes by indigestible polysaccharides. *Cereal Chem.*, 60 : 260-263, 1983.

IKEDA, I.; TOMARI, Y.; SUGANO, M. Interrelated effects of dietary fiber and fat on lymphatic cholesterol and triglyceride absorption in rats. *J. Nutr.*, 119 : 1383-1387, 1989.

IKEGAMI, S.; TSUCHIHASHI, F.; HARADA, H.; TSUCHIHASHI, N.; NISHIDE, E.; INNAMI, S. Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in rats. *J. Nutr.*, 120 : 353-360, 1990.

ISAKSSON, G.; LUNDQUIST, L.; IHSE, I. *In vitro* inhibition of pancreatic enzyme activities by dietary fiber. *Digestion*, 24 : 54-59, 1982a.

_____. Effect of dietary fiber on pancreatic enzyme activity *in vitro*. *Gastroenterol.*, 82 : 918-924, 1982b.

JENKINS, D. J. A. Dietary fibre, diabetes, and hyperlipidaemia. *The Lancet*, 15 : 127-1289, 1979.

JENKINS, D. J. A.; LEEDS, A. R.; NEWTON, C.; CUMMINGS, J. H. Effect of pectin, guar gum, and wheat fiber on serum-cholesterol. *The Lancet*, 1 : 1116, 1975.

JENKINS, D. J. A.; WOLEVER, T. M. S.; RAO, A. V.; HEGELE, R. A.; MITCELL, S. J.; RANSOM, T. P. P.; BOCTOR, D. L.; SPADAFORA, P. J.; JENKINS, A. L.; MEHLING, C.; RELLE, L. K.; CONNELLY, P. W.; STORY, J. A.; FURUMOTO, E.J.; COREY, P.; WURSCH, P. Effect on blood lipids of very high intakes of fiber in diets low in saturated fat and cholesterol. *N. Engl. J. Med.*, 329 : 21-26, 1993.

JENKINS, D. J. A.; WONG, G. S.; PATTEN, R.; BIRD, J.; HALL, M.; BUCKLEY, G. C.; McGuIRE, V.; REICHERT, R.; LITTLE, J. A. Leguminous seeds in the dietary management of hyperlipidemia. *Ann. J. Clin. Nutr.*, 38 : 567-573, 1983.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. Comparisons of several multivariate means. In: JOHNSON, R. A. & WICHERN, D. W. ed. *Applied multivariate statistical analysis*. 3.ed. Prentice-hall International, 1988. p.219-284.

JUDD, P. A. & TRUSWELL, A. S. The hypocholesterolaemic effects of pectins in rats. *Br. J. Nutr.*, 53 : 409-425, 1985.

KAY, R. M. Dietary fiber. *J. Lipid Res.*, 23 : 221-242, 1982.

KAY, R. M. & TRUSWELL, S. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Ann. J. Clin. Nutr.*, 30 : 171-175, 1977.

KEYS, A.; GRANDE, F.; ANDERSON, J. T. Fiber and pectin in the diet and serum cholesterol concentration in man. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 106 : 555-558, 1961.

KHOKHAR, S. & KAPOOR, A. C. The influence of different dietary fibre sources on digestibilities of protein and dry matter in rat. In: SOUTHGATE, D. A. T.; WALDROW, K.; JOHNSON, I. T.; FENWICH, G. R. ed. **Dietary fibre: Chemical and Biological Aspects**. New York, Plenum Press, 1990. p.178-184.

KRAMER, J. H.; HUININK, H. B.; WEYERS, H. A. Rapid method for the determination of fat in feces. *J. Biol. Chem.*, 177 : 347-355, 1949.

LAIRON, D.; LACOMBE, C.; BOREL, P.; CORRAZE, G.; NIBBELINK, M.; CHAUTAN, M.; CHANUSSOT, F.; LAFONT, H. Beneficial effect of wheat germ on circulating lipoprotein and tissue lipids in rats fed a high fat, cholesterol-containing diet. *J. Nutr.*, 117 : 838-845, 1987.

LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W.; FILISETTI-COZZI, T. M. C. C. Considerações sobre carboidratos e fibra. *Archives Latino-Americanos de Nutrición*, 38 : 519-542, 1988.

LEVINE, A. S. & SILVIS, S. E. Steatorrhea due to high dietary fiber. *Gastroenterol.*, 76 : 1205, 1979.

LEWIS, B.A. Physical and biological properties of strutural and other nondigestible carbohydrates. *Am. J. Clin. Nutr.*, (suppl.31) : 82-85, 1978.

MAHLEY, R. W. The role of fat, cholesterol and diet at the atherosclerosis and lipoprotein metabolism. *The Western J. Med.*, 134 : 32-44, 1981.

MALMLOF, K.; NUNES, C. S.; ASKBRANT, S. Effects of guar gum on plasma urea, insulin and glucose in the growing pig. *Brit. J. Nutr.*, 61 : 67-73, 1989.

MANCINI, M. & PARILLO, M. Lipid intake and atherosclerosis. *Ann. Nutr. Metab.*, 35 (suppl. 1) : 103-108, 1991.

MARLETT, J. A. Analysis of Dietary fiber in human foods. In: KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C.; ANDERSON, J. W. ed. *Dietary Fiber Chemistry, Physiology and Health Effects*. New York, Plenum Press, 1990. p.31-48.

MAZUR, A.; REMESY, C.; GUEUX, E.; LEVRAT, M.; DEMIGNE, C. Effects of diets rich in fermentable carbohydrates on plasma lipoprotein levels and on lipoprotein catabolism in rats. *J. Nutr.*, 120 : 1037-1045, 1990.

Mc CALL, M. R.; MEHTA, T.; LEATHERS, C. W.; FOSTER, D. M. Psyllium husk I: Effect on plasma lipoproteins, cholesterol metabolism, and atherosclerosis in African green monkeys. *Am. J. Clin. Nutr.*, 56 : 376-384, 1992.

McCOMB, E. A. & McCREADY, R. M. Colorimetric determination of pectic substances. *Anal. Chem.*, 24 : 1630-1632, 1952.

MILES, C. W. The metabolizable energy of diets differing in dietary fat and fiber measured in humans. *J. Nutr.*, 122 : 306-311, 1992.

MITCHELL, H. S. Utilização de Nutrientes: Digestão, Absorção e Metabolismo. In: MITCHELL, H. S.; RYNBERGEN, H. J.; ANDERSON, L.; DIBBLE, M. V. ed. *Nutrição*. 16 .ed., Rio de Janeiro, Interamericana, 1978. p.123-155.

MORAES FILHO, J. P. P. & BETTARELLO, A. Dieta de fibras. *Rev. Ass. Med. Brasil.*, 21 : 303, 1975.

NBC Nutritional Biochemicals Corporations Diet - ICN Diet Catalog., Cleaveland, Ohio, 1977.

OLIVEIRA, S. P.; REYES, F. G. R.; SGARBIERI, V. C.; AREAS, M. A.; RAMALHO, A. C. Nutritional attributes of sweet corn fibrous residue. *J. Agr. Food Chem.*, 39: 740-743, 1991.

OLSON, A.; GRAY, G. M.; CHIU, M. Chemistry and analysis of soluble dietary fiber. *Food Technol.*, February : 71-80, 1987.

PROSKY, L.; ASP, N.; FURDA, I.; DeVRIES, J. W.; SCHWEIZER, T. F.; HARLAND, B. F. Determination of total dietary fiber in foods, food products, and total diets: Interlaboratory study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 67 : 1044-1052, 1984.

RASPER, V. F. Chemical and physical properties of dietary cereal fiber. *Food Tech.*, 33 : 40-44, 1979.

READ, N. W. & EASTWOOD, M. A. Gastro-intestinal Physiology and Function. In: SCHWEIZER, T. F. & EDWARDS, C. A. ed. *Dietary Fibre - A component of food. Nutritional Function in Health and Disease*. London, Springer-Verlag, 1992. p.103-115.

READ, N.; FRENCH, S.; CUNNINGHAM, K. The role of gut in regulating food intake in man. *Nutr. Rev.*, 52 : 1-10, 1994.

REDDY B. S.; MORI H; NICOLAIS M. Effect of dietary wheat bran and dehydrated citrus fiber on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis in fischer 344 rats. *J. N. Cl.*, 66 : 553-557, 1981.

REYES, F. G. R.; OLIVEIRA, S. P.; AREAS, M. A.; RAMALHO, A. C. Efeito do resíduo fibroso de milho no tempo de trânsito intestinal de ratos. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 9 : 53-61, 1989.

ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 33 : 103-148, 1993.

ROEHRIG, K. L. The physiological effects of dietary fiber - a review. *Food Hydrocolloids*, 2 : 1-18, 1988.

ROGERS, Q. R. & HARPER, A. E. Amino acid diets and maximal growth in rat. *J. Nutr.*, 87 : 267-273, 1965.

ROYALL, D.; WOLEVER, T. M. S.; JEEJEEBHOY, K. N. Clinical significance of colonic fermentation. *Am. J. Gastroenterol.*, 85 : 1307-1314, 1990.

SANDSTEAD, H. H. Fiber, Phytates, and Mineral nutrition. *Nutr. Rev.*, 50 : 30-31, 1992.

SCHNEEMAN, B. O. Dietary fiber: Physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. *Food Tech.*, February : 104-109, 1986.

Soluble vs Insoluble Fiber - Different Physiology responses. *Feed Technol.*, February : 81-82, 1987.

Recentes avanços sobre os efeitos das fibras na função gastrointestinal. *Fibra News*, Dezembro : 1-8, 1990a.

Effect of plant fiber on lipase, trypsin, and chymotrypsin activity. *J. Food. Sci.*, 43 : 634-635, 1978.

Macronutrient absorption. In: KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C.; ANDERSON, J. W. ed. *Dietary Fiber Chemistry, Physiology and Health Effects*. New York, Plenum Press, 1990b. p.157-166.

SCHNEEMAN, B. O.; CIMMARUSTI, J.; COHEN, W.; DOWNES, L.; LEFEVRE, M. Composition of high density lipoproteins in rats fed various dietary fibers. *J. Nutr.*, 114: 1320-1326, 1984.

SCHRIJVER, R.; FREMAUT, D.; VERHEYEN, A. Cholesterol-lowering effects and utilization of protein, lipid, fiber and energy in rats fed unprocessed and baked oat bran. *J. Nutr.*, 122 : 1318-1324, 1992.

SCHWARTZ, S. E.; LEVINE, R. A.; SINGH, A.; SCHEIDECKER, J. R.; TRACK, N. S. Sustained pectin ingestion delays gastric emptying. *Gastroenterol.*, 83 : 812-817, 1982.

SCHWEIZER, T. F. & WURSCH, P. The physiological and nutritional importance of dietary fibre. *Experientia*, 47 : 181-186, 1991.

SELVENDRAN, R. R. & VERNE, A. V. F. V. The chemistry and properties of plant cell walls and dietary fiber. In: KRITCHEVSKY, D.; BONDIELD, C.; ANDERSON, J. W. ed. *Dietary Fiber, Chemistry, Physiology, and Health effects*. New York, Plenum Press, 1990. p.1-14.

SEVÁ-PEREIRA, A.; MORAES, G. R.; OLIVEIRA, S. P.; REYES, F. G. R. Uso de biscoito rico em fibras no tratamento da constipação intestinal crônica. *Rev. Paul. Med.*, 109:265-268, 1991.

SHAH, N.; ATALLAH, M. T.; MAHONEY, R. R.; PELLETT, P. L. Effect of dietary fiber componentes on fecal nitrogen excretion and protein utilization in growing rats. *J. Nutr.* 122 : 658-666, 1982.

SHAH, N.; MAHONEY, R. R.; PELLETT, P. L. Effect of guar gum lignin and pectin on proteolitic enzyme levels in the gastrointestinal tract of the rat: a time-based study. *J. Nutr.*, 116 : 786-794, 1986.

SHINNICK, F.L.; LONGACRE, M.L.; INK, S.L.; MARLETT, J. A. Oat fiber:composition vs. physiological function. *J. Nutr.*, 118 : 144-151, 1988.

SLAVIN, J. L. Dietary fiber: Classification, chemical, analyses, and food sources. *J. Am. Diet. Assoc.*, 87 : 1164-1171, 1987.

SOUTHGATE, D. A. T. The Dietary Fibre Hypothesis: A Historical Perspective. In: SCHWEIZER, T. F. & EDWARDS, C. A. ed. **Dietary Fibre - A component of food.** London, Springer-Verlag, 1992. p.3-19.

_____. Dietary fiber: Analysis and food sources. **Am. J. Clin. Nutr.**, (suppl.31) : 107, 1978.

SOUTHGATE, D.A.T.; BAILEY, B.; COLLINSON, E.; WALKER, A.F. A guide to calculating intakes of dietary fiber. **J. Hum. Nutr.**, 30 : 303-313, 1976.

STORY, J. A. & LORD, S. L. Bile salts: *In vitro* studies with fibre components. **Scand. J. Gastroenterol.**, (suppl. 129) : 174-180, 1987.

SUGANO, M.; IKEDA, I.; IMAIZUMI, K.; LU, Y. F. Dietary fiber and lipid absorption. In: KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C.; ANDERSON, J. W. ed. **Dietary Fiber, Chemistry, Physiology and Health Effects.** New York, Plenum Press, 1990. p.137-156.

THEANDER, O. & AMAN, P. Studies on dietary fiber. A method for the analysis and chemical characterization of total dietary fibre. **J. Sci. Fd. Agric.**, 33 : 340-344, 1982.

TOPPING, D. L.; OAKENFULL, D.; TRIMBLE, R. P.; ILLMAN, R. J. A viscous fibre (methylcellulose) lowers blood glucose and plasma triacylglycerols and increases liver glycogen independently of volatile fatty acid production in the rat. **Br. J. Nutr.**, 59 : 21-30, 1988.

TROWELL, H. Ischemic heart disease and dietary fiber. *Am. J. Clin. Nutr.*, 25 : 926-932, 1972.

_____. Dietary fibre, ischaemic heart disease and diabetes mellitus. *Proc. Nutr. Soc.*, 32 : 151-157, 1973.

_____. The development of the concept of dietary fiber in human nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, (suppl.31) : 3-11, 1978a.

_____. Diabetes mellitus and dietary fiber of starchy foods. *Am. J. Clin. Nutr.*, (suppl.31) : 53-57, 1978b.

TSAI, A. C.; MOTT, E. L.; OWEN, G. M.; BENNICK, M. R.; LO, G. S.; STEINKE, F. Effects of soy polysaccharide on gastrointestinal functions, nutrient balance, steroid excretions, glucose tolerance, serum lipids, and other parameters in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 38 : 504-511, 1983.

VAHOUNY, G.V. Dietary fiber, lipid metabolism, and atherosclerosis. *Fed. Proc.*, 41 : 2801-2806, 1982.

VAHOUNY, G.V.; ROY, T.; GALLO, L.L.; STORY, J. A.; KRITCHEVSKY, D.; CASSIDY, M. Dietary fibers III. Effects on chronic intake on cholesterol absorption and metabolism in rat. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33 : 2182-2191, 1980.

VAHOUNY, G. V.; SATCHITHANANDAM, S.; CHEN, I.; TEPPER, S. A. Dietary fiber and intestinal adaptation: effects on lipid absorption and lymphatic transport in the rat. *Am. J. Clin. Nutr.*, 47 : 201-206, 1988.

VAN BERESTEYN, E. C. H.; VAN SCHAIK, M.; MOGOT, M. F. K. Effect of bran and cellulose on lipid metabolism in obese female zucker rats. *J. Nutr.*, 109 : 2085-2097, 1979.

VAN SOEST, P. J. Dietary fibers: their definition and nutritional properties. *Am. J. Clin. Nutr.*, (suppl.31) : 12-20, 1978.

_____. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J.A.O.A.C.*, 46 : 829-835, 1963.

VAN SOEST, P. J. & WINE, R. H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J.A.O.A.C.*, 50 : 50-55, 1967.

VINIK, A. I. & JENKINS, D. J. A. Dietary fiber in management of diabetes. *Diabetes Care*, 11 : 160-73, 1988.

WALKER, A. R. P. & ARVIDSSON, U. B. Fat intake, serum cholesterol concentration and atherosclerosis in the South African Bantu. Part I. Low fat intake and the age trend of serum cholesterol concentration in the South African Bantu. *J. Clin. Invest.*, 33 : 1358-1371, 1954.