

Silvana Maria Guida Cardoso

**Efeito da Polpa de Laranja Sobre Parâmetros
Fisiológicos, Morfológicos e a Absorção Intestinal de
Glicose e Metionina em Ratos Normais Jovens e
Adultos**

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

Orientador: Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato a)

Silvana Maria

Guida Cardoso

e aprovada pela Comissão Julgadora

13/07/98

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP
	C179e
V.	Ex.
TOMBO BC/	35211
PROC.	395/98
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	30/09/98
N.º CPD	

CM-00117052-B

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

Cardoso, Silvana Maria Guida

C179e Efeito da polpa de laranja sobre parâmetros fisiológicos, morfológicos e a absorção intestinal de glicose e metionina em ratos normais jovens e adultos/Silvana Maria Guida Cardoso.-- Campinas, SP.[s.n.], 1998.

Orientador: Miguel Arcanjo Areas

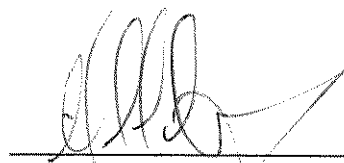
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia.

I.Absorção intestinal. 2.Glicose. 3.Metionina. I.Areas, Miguel
Arcanjo. II. Universidade Estadual de Campinas.Instituto de Biologia.
III. Título.

Local e data: Campinas, 13 de julho de 1998

Banca Examinadora:

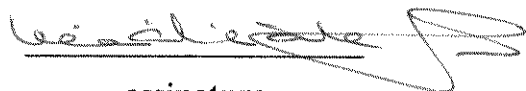
Prof.Dr. Miguel Arcanjo Areas (orientador)



assinatura

Titulares:

Profa. Dra. Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes



assinatura

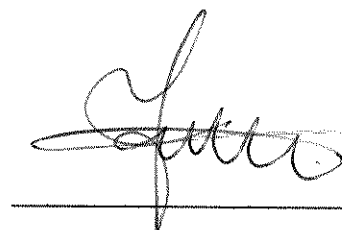
Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes



assinatura

Suplente:

Prof. Dr. José Roberto Moreira Azevedo



assinatura

Aprovada

Ao meu marido Juarez

e aos nossos filhos

Ricardo e Carolina

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas, pela oportunidade de realizar este trabalho e sobretudo pela amizade e incentivos constantes.

À Prof. Dra. Maria Cristina Cintra Gomes, pelas valiosas sugestões apresentadas durante a realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes e Prof. Dr. José Roberto M. Azevedo pelas sugestões apresentadas na redação final da tese.

Aos Prof. Dr. Norair Salviano Neto e Profa. Dra. Iara Maria Silva De Luca, Departamento de Histologia, pela análise e fotomicrografias das lâminas apresentadas neste trabalho.

À prof. Dra. Elenice, por tornar possível a impressão das fotomicrografias na fase de pré-banca.

À Aparecida da Silva Geraldo (*Dona Cida*) pelo competente suporte técnico e amizade.

À Martha Marques de Almeida, Departamento de Histologia, pela confecção das lâminas apresentadas neste trabalho.

À Helen N. Honma, por ter compartilhado comigo seu conhecimento e amizade.

À Elisandra Zanini pelo auxílio constante durante as dosagens de metionina.

À Cintia de Lima Rossi e Ana Cristina Mendonça pelo apoio amigo em todos as horas.

À Estela Maria Gonçalves pelo empréstimo de livros e materiais valiosos para a confecção deste trabalho.

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

À minha amiga Heloísa Helena Saviani pelo apoio e por tornar possível a impressão final da tese.

Aos meus pais Clais e Irene, que sempre se desdoblaram para que eu pudesse ter as oportunidades que jamais tiveram.

Ao meu marido Juarez pelo auxílio constante durante os meus experimentos e sem o qual, tudo teria sido muito mais difícil para mim.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DAS TABELAS.....	I
ÍNDICE DAS FIGURAS.....	II
RESUMO	IV
SUMMARY.....	VI
I - INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	1
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
1 - Histórico.....	4
2 - Definição e Composição das Fibras Alimentares.....	4
3 - Principais Métodos de Determinação das Fibras Alimentares.....	6
4 - Fontes de Fibra Alimentar.....	8
5 - Propriedades Físico-Químicas das Fibras Alimentares.....	9
6 - Efeitos Fisiológicos das Fibras Alimentares.....	10
6.1 - Peso Fecal.....	10
6.2 - Biodisponibilidade de Nutrientes.....	10
6.2.1 - Glicose.....	10
6.2.2 - Proteínas.....	11
6.2.3 - Lipídeos.....	12
6.3 - Fermentação das Fibras no Intestino Grosso.....	13
6.4 - Hormônios Sexuais.....	14
7 - Efeitos Adversos das Fibras Alimentares.....	15
III - MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
1 - Polpa de Laranja.....	17
1.1 - Obtenção da Polpa de Laranja.....	17
1.2 - Propriedades Físicas e Físico-Químicas da Polpa de Laranja.....	17
1.2.1 - Granulometria.....	17
1.2.2 - Densidade Aparente (Dap).....	19
1.2.3 - Capacidade de Hidratação (Ch).....	19

2 - Dietas.....	19
3 - Ensaio Biológico.....	20
3.1 - Animais Utilizados e Formação dos Grupos Experimentais.....	20
3.2 - Teste de Tolerância à Glicose (G.T.T.).....	20
3.3 - Perfusão Intestinal.....	21
3.4 - Sacrifício.....	23
3.5 - Parâmetros Fisiológicos, Bioquímicos e Morfológicos.....	23
3.5.1 - Parâmetros Fisiológicos.....	23
3.5.1.1 - Peso Corporal dos Animais.....	23
3.5.1.2 - Ingestão de Dieta e de Água.....	23
3.5.2 - Parâmetros Bioquímicos.....	24
3.5.2.1 - Glicose da Solução Perfundida no Intestino.....	24
3.5.2.2 - Metionina da Solução Perfundida no Intestino	24
4 -Procedimento Estatístico.....	25
IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
1 - Caracterização da Polpa de laranja.....	26
1.1 - Composição Química da Polpa de Laranja.....	26
1.2 - Teor de Fibra.....	26
1.3 - Granulometria.....	27
1.4 - Densidade Aparente (Dap)e Capacidade de Hidratação (Ch).....	28
2 - Ensaio Biológicos.....	30
2.1 - Teste de Tolerância à Glicose (G.T.T.).....	30
2.2 - Parâmetros Fisiológicos.....	34
2.2.1 - Ingestão de Dieta e Água.....	34
2.2.2 - Ganho de Peso Corpóreo.....	34
2.2.3 - Pesos Relativos e medida de Órgãos.....	38
2.2.3.1 - Ceco + Cólon e Intestino Delgado.....	38
2.3 - Parâmetros Morfológicos.....	44
2.4 - Taxa de Absorção Intestinal de Glicose e Metionina.....	49
V - CONCLUSÕES.....	55
VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

ÍNDICE DAS TABELAS

Tabela 1 - Composição das dietas utilizadas no ensaio biológico	19
Tabela 2 - Composição química da polpa de laranja.....	26
Tabela 3 - Distribuição percentual dos componentes fibrosos da polpa de laranja em relação ao teor de fibra total.....	27
Tabela 4 - Distribuição dos tamanhos das partículas da polpa de laranja.....	28
Tabela 5 - Densidade aparente - Dap (g/mL) e Capacidade de hidratação - Ch (g de água/g de matéria seca) da polpa de laranja.....	29
Tabela 6 - Glicemia (mg/dL) durante o G.T.T. de ratos que ingeriram dieta contendo 5% de microcelulose (J-5) e dieta contendo 20% de polpa de laranja (J-20) submetidos à administração oral de glicose (0,15g/100 g de peso corporal) sem e com a polpa de laranja (PL, 0,08 g/mL) num volume total de 5 mL...32	32
Tabela 7 - Ganho de peso (g) cumulativo dos grupos experimentais jovens (J-5 e J-20) durante o período experimental.....	37
Tabela 8 - Ganho de peso (g) cumulativo dos grupos experimentais adultos (A-5 e A-20) durante o período experimental.....	37

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura 1 - Secção transversal de uma laranja: a - glândula de óleo essencial; b - semente, c - vesícula de suco; d - albedo; e - polpa; f - membrana.....	18
Figura 2 - Representação esquemática da perfusão intestinal.....	22
Figura 3 - Glicemia (mg/dL) durante o Teste de Tolerância à Glicose (GTT) de ratos que ingeriram dieta contendo 5% de microcelulose (J-5) e dieta contendo 20% de polpa de laranja (J-20) submetidos à administração oral de glicose (0,15 g/100g de peso corporal) sem e com a polpa de laranja (PL, 0,08 g/mL) num volume total de 5 mL.....	33
Figura 4 - Ingestão total de dieta (g) nos grupos jovens e adultos alimentados com dieta contendo 5% (J-5 e A-5) de microcelulose, e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20).....	35
Figura 5 - Ingestão total de água (mL) nos grupos jovens e adultos alimentados com dieta contendo 5% (J-5 e A-5) de microcelulose, e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20)	36
Figura 6 - Peso relativo do intestino delgado (g/100 g de peso corporal) ao final do ensaio biológico, dos grupos jovens e adultos que consumiram 5% de microcelulose (J-5 e A-5) e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20).....	40
Figura 7 - Comprimento do intestino delgado (cm) ao final do ensaio biológico, dos grupos jovemse adultos que consumiram 5% de microcelulose (J-5 e A-5) e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20)	41
Figura 8 - Peso relativo do ceco + cólon (g/100g de peso corporal) ao final do ensaio biológico, dos grupos jovens e adultos que consumiram 5% de microcelulose (J-5 e A-5) e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20).....	42
Figura 9 - Comprimento (cm) do cólon ao final do ensaio biológico, dos grupos jovens e adultos que consumiram 5% de microcelulose (J-5 e A-5) e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20)	43
Figura 10- Fotomicrografia do intestino delgado do grupo jovem controle (J-5) que consumiu dieta contendo 5% de microcelulose, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).....	45

Figura 11- Fotomicrografia do intestino delgado do grupo jovem tratado (J-20) que consumiu dieta contendo 20% de polpa de laranja, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).....	45
Figura 12- Fotomicrografia do intestino grosso do grupo jovem controle (J-5) que consumiu dieta contendo 5% de microcelulose, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).....	46
Figura 13- Fotomicrografia do intestino grosso do grupo jovem tratado (J-20) que consumiu dieta contendo 20% de polpa de laranja, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).....	46
Figura 14- Fotomicrografia do intestino delgado do grupo adulto controle (A-5) que consumiu dieta contendo 5% de microcelulose, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).....	47
Figura 15- Fotomicrografia do intestino delgado do grupo adulto tratado (A-20) que consumiu dieta contendo 20% de polpa de laranja, mostrando epitélio absorptivo (a), célula caliciforme (b) e lâmina própria (c).....	47
Figura 16- Fotomicrografia do intestino grosso do grupo adulto controle (A-5) que consumiu dieta contendo 5% de microcelulose, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).....	48
Figura 17- Fotomicrografia do intestino grosso do grupo adulto tratado (A-20) que consumiu dieta contendo 20% de polpa de laranja, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).....	48
Figura 18- Absorção intestinal de glicose (nmol/cm/min) perfundida sem a polpa de laranja nos grupos de animais jovens (J-5 e J-20) e adultos (A-5 e A-20).....	51
Figura 19- Absorção intestinal de glicose (nmol/cm/min) perfundida com a polpa de laranja nos grupos de animais jovens (J-5 e J-20).....	52
Figura 20- Absorção intestinal de metionina (nmol/cm/min) perfundida sem a polpa de laranja nos grupos de animais jovens (J-5 e J-20) e adultos (A-5 e A-20).....	53
Figura 21- Absorção intestinal de metionina (nmol/cm/min) perfundida com a polpa de laranja nos grupos de animais jovens (J5 e J-20).....	54

RESUMO

As fibras alimentares exercem efeitos fisiológicos importantes na prevenção e tratamento de diversas doenças. Isso implica na necessidade de se ampliar os conhecimentos sobre os alimentos fibrosos existentes como também caracterizar outras opções como fonte de fibras.

A fonte de fibra escolhida para este estudo foi a polpa de laranja, subproduto da produção de suco, em função de resultados obtidos anteriormente em nosso laboratório. Este trabalho teve como objetivo a avaliação das características físico-químicas da polpa de laranja utilizada, bem como os efeitos da sua ingestão sobre o teste de tolerância à glicose, taxa de absorção intestinal "*in vivo*" de glicose e metionina e parâmetros fisiológicos e morfológicos em ratos Wistar normais jovens e adultos.

A polpa de laranja apresentou a seguinte composição e características: 71,1% de fibra alimentar total (55% fibra solúvel e 45% fibra insolúvel); 10,7% de proteína; 1,2% de gordura; 9,9% de carboidrato; granulometria com 69,83%, 29,82% e 0,34% de partículas médias (200 a 500 μm), pequenas (menor que 200 μm) e grandes (maior que 800 μm) respectivamente; densidade aparente de 0,79 g/mL.; capacidade de hidratação de 8,03 g de água/g de amostra seca.

Para a realização do ensaio biológico foram utilizados ratos Wistar formando grupos controle jovens (J-5) e adultos (A-5), que consumiram dieta contendo 5% de microcelulose e grupos tratados jovens (J-20) e adultos (A-20), que consumiram dieta contendo 20% de polpa de laranja. Os grupos J-5 e J-20 permaneceram 6 semanas em gaiolas metabólicas, enquanto os grupos A-5 e A-20 permaneceram 4 semanas.

Todos os grupos de animais receberam dieta e água *ad libitum*.

Verificou-se que não houve variação significativa na ingestão alimentar e hídrica entre os grupos jovens e adultos. O ganho de peso corpóreo entre os grupos adultos não apresentou diferenças significativas; porém, o grupo J-20 apresentou resultado significativamente inferior. Provavelmente, tal resultado foi devido à menor utilização dos nutrientes da dieta na presença da polpa, à idade dos animais e aos diferentes tempos de tratamento com a fibra.

Durante o teste de tolerância à glicose (G.T.T.) observou-se redução da glicemia aos 30 e 60 min. após a sobrecarga oral de glicose + a polpa de laranja em

todos os grupos de animais, devido, provavelmente à diminuição na taxa de esvaziamento gástrico em função da alta capacidade de hidratação proporcionada pela fração solúvel dessa fonte de fibras.

Com relação aos resultados obtidos através da perfusão intestinal, verificou-se que os grupos adultos (A-5 e A-20) e jovens (J-5 e J-20) não apresentaram diferenças nas taxas de absorção de glicose e metionina quando perfundidas em soluções sem a polpa de laranja; porém, quando a polpa de laranja foi acrescida às soluções anteriores os grupos jovens (J-5 e J-20) apresentaram significativa redução da taxa de absorção intestinal.

Assim como observado durante a realização do G.T.T., nossos resultados podem ser creditados à elevada capacidade de hidratação da polpa de laranja que, provavelmente, aumentando a viscosidade do lúmen intestinal, reduziu as taxas de absorção intestinal das substâncias estudadas.

Por outro lado a polpa de laranja não lesou a mucosa absorptiva intestinal dos grupos estudados, apesar do aumento do peso e comprimento dos intestinos delgado e grosso dos grupos J-20 e A-20. Portanto, conclui-se que a polpa de laranja em estudo reduziu a biodisponibilidade de nutrientes, podendo ser recomendada como recurso alimentar preventivo ou terapêutico, em determinadas patologias que admitam esse procedimento como, por exemplo, o diabetes e a aterosclerose.

SUMMARY

The dietary fibers shows important effect in the prevention and treatment of several diseases. That implies in the need of to knowledge on the existent fibrous as well as to characterize other options as source of fibers.

The source of fiber for this study went to orange pulp, in function of results obtained previously in our laboratory. This work had as objective the evaluation of the characteristics phisico-chemical of the orange pulp, as well as the effects of its ingestion on the tolerance test, absorption intestinal rate "*in vivo*" of glucose and methionine and physiological and morphological parameters in young normal Wistar and adults rats.

The orange pulp presented the following composition and characteristics: 71,1% of total dietary fiber (55% soluble fiber and 45% insoluble fiber); 10,7% of protein; 1,2% of fat; 9,9% of carbohydrate; size particles with 69,83%, 29,82% and 0,34% od medium particles (200 to 500 μm), small (smaller than 200 μm), and big (larger than 800 200 μm) respectively; apparent density of 0,79 g/mL; capacity of hydration of 8,03 g of water/g of dry sample.

For the accomplishment of the biological assay were used Wistar rats forming young groups (J-5) and adults (A-5), that consumed diet contends 5% of microcelulose and young (J-20) and adults (A-20) treated groups, that consumed diet contends 20% of orange pulp. The groups J-5 and J-20 stayed 6 weeks in metabolic cages while the groups A-5 and A-20 stayed 4 weeks.

All the groups of animals received diet and water ad libitum.

It was verified that there was not significant variation in the food and water ingestion among the youngs and adults groups. The body weight gain among the adult groups didn't present significant differences; even so, the group J-20 presented smaller result than controls. Probably, these result went due to reduce of the bioavailability of the diet's nutrients in the presence of the orange pulp, to the animal's age and the different times of treatment with the fiber.

During the glucose tolerance test (GTT), reduction was observed of the glycemia to the 30 and 60 min after the oral overload of glucose + the orange pulp in all the groups due, probably, to the decrease in the rate of gastric emptying by the high capacity of hydration that source of fibers.

In relation to intestinal absorption, it was verified that the adult groups (A-5 and A-20) and young (J-5 and J-20) didn't present differences in the rates of glucose and methionine absorption without the orange pulp; even so, when the orange pulp was present the young groups (J-5 and J-20) showed significant the rate reduction of intestinal absorption.

As well as having observed during the accomplishment of GTT, our results can be credited to the high capacity of hydration of the orange pulp, that, probably, increase the viscosity of the intestinal lumen; it reduced the rates of intestinal absorption of the studied substances.

On the other hand the orange pulp didn't alter absorptive intestinal mucous of the studied groups, in spite of the weight increase, length and thick of the small intestine of the J-20 and A-20 groups. Therefore, the orange pulp reduced the bioavailability of diet's nutrients, could be recommended as preventive or therapeutic dietary component in certain diseases as, for example, the diabetes and atherosclerosis.

I - INTRODUÇÃO

Na sociedade moderna, verifica-se uma expansão nos processos de industrialização privilegiando-se por exemplo, o consumo de alimentos refinados pelas populações urbanas resultando em dietas com baixo teor de fibras alimentares.

Por outro lado, dietas ricas em fibras são, ainda hoje, largamente consumidas pela população de países considerados subdesenvolvidos, especialmente na zona rural, chamando a atenção de pesquisadores para a menor incidência de diabetes, obesidade, doenças cardiovasculares, distúrbios e neoplasias malignas em relação às de países industrializados (BURKITT, 1973; WALKER, 1974).

Se, por um lado, dados epidemiológicos indicam que a ingestão de fibras alimentares pode exercer efeito protetor contra determinadas doenças, o consumo elevado de fibras pode ser prejudicial à saúde humana, ocasionando, por exemplo, diminuição da biodisponibilidade de nutrientes da dieta (SCHNEEMAN & GALLAHER, 1986).

Dessa forma, as fibras não são materiais inertes e exercem suas ações através de todo o trato gastrointestinal devido, predominantemente, às suas características físico-químicas. Além disso, no intestino grosso, exercem, também, efeitos importantes através de metabólitos resultantes da sua fermentação por bactérias colônicas. A interrelação desses efeitos é responsável pela influência benéfica das fibras sobre a regulação do peso corporal, o trânsito intestinal e a biodisponibilidade de nutrientes (SCHWEIZER & WURSCH, 1991).

A ingestão a longo prazo de fibras pode influenciar o peso, comprimento, morfologia, renovação celular e secreção de muco do trato gastrointestinal como consequência de processos adaptativos (VAHOUNY, 1987).

As alterações morfológicas induzidas pelas fibras podem comprometer a absorção de glicose e outros nutrientes devido a um espessamento da mucosa intestinal (SCHWARTZ & LEVINE, 1980; CAVAGLIERI-FELIPPE, et al., 1997), redução do número de vilosidades e promoção de descamação celular (JOHNSON & GEE, 1986; AREAS, 1994).

Além disso, a hidratação de alguns tipos de fibras alimentares resulta na formação de uma matriz gel que pode aumentar a viscosidade do conteúdo gastrointestinal e, como consequência, retardar o esvaziamento gástrico e diminuir a absorção de nutrientes (SCHNEEMAN, 1989).

Assim, as fibras solúveis (pectina, por exemplo), podem reduzir o pico hiperglicêmico pós-prandial, auxiliando na terapia de pacientes diabéticos pela redução das concentrações plasmáticas de glicose como também pelo aumento da sensibilidade dos tecidos periféricos à insulina (JENKINS et al., 1977 ; FUKAGAWA et al., 1990; AREAS, 1994).

Por outro lado, fibras insolúveis (celulose, por exemplo), dificultam, também, os processos digestivos e absorptivos por reduzirem o tempo de trânsito intestinal, atuando de maneira oposta àquela verificada com fibras solúveis (REYES et al., 1989).

Face a tais considerações, pode-se inferir que as fibras alimentares apresentam efeitos fisiológicos importantes para a saúde humana sendo necessário que sejam observados critérios para a sua utilização. Isto implica não somente na necessidade de se conhecer os alimentos fibrosos disponíveis - na sua forma natural ou processados industrialmente - como também caracterizar outras opções como fonte de fibras.

Em nossos estudos utilizaremos a polpa de laranja como fonte de fibra, a qual é formada pelas vesículas que contém o suco e a membrana que separa as vesículas em gomos. Esse material foi escolhido considerando-se a sua origem, composição e dados anteriores a respeito de sua utilização como componente alimentar (AREAS, 1994; GONÇALVES, 1996).

OBJETIVOS

Tendo em vista a importância das fibras como componente alimentar da dieta humana desenvolvemos este trabalho tendo por objetivos:

- a) determinar as características físico-químicas da polpa de laranja utilizada como fonte de fibra não purificada;

- b) verificar os efeitos da administração da polpa de laranja sobre o teste de tolerância à glicose em ratos Wistar machos jovens normais;
- c) verificar os efeitos da administração de dieta contendo 20% da polpa de laranja sobre parâmetros nutricionais e morfológicos em ratos Wistar machos jovens e adultos normais.
- d) determinar a taxa de absorção intestinal de glicose e metionina “*in vivo*” em ratos Wistar machos jovens e adultos normais alimentados com dieta contendo 20% de polpa de laranja.

II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 - HISTÓRICO

Os efeitos das fibras alimentares sobre o volume fecal e trânsito intestinal já eram conhecidos durante séculos (ANDERSON et al., 1990). Hipócrates, em 430 a.C., descreveu os efeitos laxativos do trigo integral em relação ao trigo refinado (SLAVIN, 1987).

Em 1930 demonstrou-se a eficiência das fibras de trigo na prevenção e tratamento da constipação intestinal. Porém, esses resultados não refletiram na sua utilização e as fibras alimentares ficaram por muito tempo quase esquecidas (CAVALCANTI, 1989). O termo “dietary fiber” foi primeiramente utilizado por HIPSLEY (1953) referindo-se aos constituintes das paredes celulares dos vegetais que pareciam ser um fator de proteção contra a toxemia na gravidez. Posteriormente, um número significativo de trabalhos foram realizados para se identificar os efeitos fisiológicos das fibras alimentares. Assim, KEYS et al., (1961) mostraram que uma dieta rica em frutas e vegetais reduziu o colesterol sérico.

Porém, somente em meados dos anos setenta surgiu a hipótese sobre a correlação entre a deficiência de fibras alimentares na dieta e a incidência de determinadas doenças nas civilizações ocidentais. TROWELL (1972, 1973) e BURKITT (1978) deram sustentação a tal hipótese quando observaram que várias doenças que são comuns em populações ocidentais são raras em populações rurais da África. Dentre essas doenças podemos citar: obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e câncer colorretal (SOUTHGATE, 1992).

2 - DEFINIÇÃO E COMPOSIÇÃO DAS FIBRAS ALIMENTARES

Fibras alimentares podem ser definidas como a porção das células vegetais que não pode ser digerida pelas enzimas digestivas humanas e, assim, não pode ser absorvida pelo intestino (SLAVIN, 1987). Contudo, as fibras alimentares podem ser parcialmente hidrolisadas pela flora bacteriana do cólon (TROWELL, 1974; ROBERFROID, 1993).

Atualmente, o termo Fibra Alimentar Total (FAT) é tido como mais adequado, pelo fato de acrescentar à definição anterior polímeros resultantes da reação de Maillard, amidos resistentes (amido retrogradado, por exemplo) e polidextroses (GORDON, 1989).

Segundo SCHNEEMAN (1986), as fibras podem ser classificadas em três frações principais:

Polissacarídeos estruturais: estão associados à parede celular e incluem os polissacarídeos não-celulósicos (hemicelulose e pectinas) e a celulose.

Celulose: é um polímero de alto peso molecular composto por unidades de glicose com ligações beta 1-4. São moléculas neutras, sem cargas e insolúveis em água (AUSMAN, 1993). A celulose é apenas parcialmente degradada pelas bactérias colônicas (KRITCHEVSKY, 1985).

Hemiceluloses: são carboidratos muito complexos que contém resíduos de vários açúcares e uma variedade de ligações glicosídicas. São facilmente extraídas com ácidos e bases (VAN SOEST, 1978). As hemiceluloses são degradadas pelas bactérias colônicas (KRITCHEVSKY, 1985).

Pectinas: são polímeros ácidos 1-4 β -D-galacturônicos, que contém 10-25% de açúcares neutros - arabinose, galactose, xilose, rammose e fucose. As pectinas são completamente degradadas pela flora bacteriana intestinal (KRITCHEVSKY, 1985). Além disso, as pectinas formam gel e adsorvem metabólitos, tais como os sais biliares (VAHOUNY, 1982)

Polissacarídeos não estruturais: incluem as gomas e mucilagens secretadas pelas células e polissacarídeos associados ao endosperma e ao espaço intercelular.

Gomas e mucilagens: as gomas são polímeros altamente ramificados de ácidos urônicos, principalmente dos ácidos glicurônico e galacturônico. As gomas são capazes de formar matrizes de gel e/ou conferir viscosidade a um sistema aquoso, através de absorção de água e interação coloidal (ACTON et al., 1982). As mucilagens são polissacarídeos neutros que contém galactose, manose, arabinose e xilose. Frequentemente contém também ácidos galacturônicos. As gomas e mucilagens são completamente degradadas pelas bactérias do cólon (KRITCHEVSKY, 1985).

Polissacarídeos de algas: consistem de um esqueleto de manose, xilose, glicose e ácido gulurônico que carrega cadeias laterais de galactose (KRITCHEVSKY, 1985).

Não polissacarídeos estruturais: incluem, predominantemente, as ligninas.

Ligninas: são polímeros altamente complexos, possuem estrutura tridimensional e de natureza polifenólica (HARTLEY, 1978). As ligninas são encontradas predominantemente no lenho, onde representam mais da metade da parede celular; seu conteúdo vai aumentando com a idade da planta. As ligninas são único exemplo de fibra alimentar que é totalmente indigerível pela flora colônica (KRITCHEVSKY, 1985).

3 - PRINCIPAIS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DAS FIBRAS ALIMENTARES

O teor de fibra dos alimentos foi, a princípio, chamado de fibra bruta . Esse produto é obtido a partir de alimentos de origem vegetal, após digestão com ácido e base diluídos (LAJOLO et al., 1988). Uma restrição a esse método se baseia no fato de que, durante seu processamento, a maior parte da hemicelulose e lignina do vegetal se solubilizam em meio alcalino provocando a perda dessas frações nos alimentos (THOMAS, 1972; OLSON et al., 1987).

Com a necessidade crescente de se poder contar com meios mais precisos para análise do teor de fibras alimentares, novos métodos foram desenvolvidos.

Em 1963, VAN SOEST desenvolveu o método denominado fibra detergente ácido (FDA). Esse método utiliza solução de detergente aniônico em meio ácido para a digestão da amostra possibilitando a determinação dos teores de celulose e lignina. Segundo o mesmo autor, a lignina é determinada submetendo-se o resíduo de FDA a um tratamento com ácido sulfúrico 72%.

VAN SOEST & WINE (1967) propuseram um outro método, onde a amostra é digerida com detergente catiônico em meio neutro e foi denominado de fibra detergente neutro (FDN). O produto do método FDN é uma mistura composta de celulose, hemicelulose e lignina. A diferença entre os teores de fibra detergente ácido (FDA) e a fibra detergente neutro (FDN) permite uma estimativa da quantidade de hemicelulose existente na amostra.

Nos métodos acima é determinada a parte insolúvel da fibra pois a parte solúvel, constituída principalmente de substâncias pécticas, é solubilizada na amostra (VAN SOEST & WINE, 1967).

Em 1977, SCHALLER recomendou a retirada do amido, através da amilase pancreática, nas amostras que continham alto teor desse carboidrato. Assim, foi incorporada uma etapa enzimática ao método FDN.

A introdução dos métodos enzimáticos para a determinação das fibras alimentares teve como objetivo simular o que acontece com o alimento "*in vivo*", sob condições semelhantes às fisiológicas. Nessas condições a proteína e o amido digeríveis são hidrolizados e absorvidos e os compostos das fibras alimentares vão para o cólon.

SCHWEIZER & WURSCH (1979), aprimoraram os métodos enzimáticos acrescentando uma etapa envolvendo tratamento do resíduo com etanol determinando, assim, o teor da fibra total (frações solúvel e insolúvel em água).

Uma combinação de procedimentos enzimáticos e gravimétricos foi desenvolvida por HELLENDORF et al., em 1975. Mas esses métodos, não levaram em consideração a importância da fermentação para o completo entendimento da atividade fisiológica das fibras alimentares.

BAILEY et al., (1978), ponderaram que a fração solúvel da fibra alimentar poderia ser a responsável por muitas das ações das fibras de frutas, verduras e legumes.

Métodos colorimétricos foram desenvolvidos para a determinação de substâncias pécicas devido, principalmente, ao interesse no papel dessas substâncias no controle da textura de frutas e demais vegetais durante o processamento industrial dos mesmos (HINTON, 1940; McCOMB & McCREADY, 1952).

Como visto anteriormente, a estrutura da molécula de pectina apresenta-se como uma cadeia composta de unidades de ácido D-galacturônico, sendo que os ácidos urônicos podem ser determinados através da liberação de dióxido de carbono por descarboxilação dos mesmos (THEANDER & ASMAN, 1982). Porém, mais comumente, os ácidos urônicos são determinados por reação colorimétrica após hidrólise da pectina. Assim, reagentes colorimétricos, tais como o carbazol, produzem cromóforos com o ácido urônico quando aquecidos em meio ácido, possibilitando, então, a determinação qualitativa e quantitativa das substâncias pécicas totais. McCREADY & McCOMB (1952), realizaram a extração e determinação das substâncias pécicas totais em frutas. Esse método, graças à sua simplicidade, especificidade e reprodutibilidade, continua sendo utilizado com frequência.

4 - FONTES DE FIBRA ALIMENTAR

As fibras alimentares são encontradas apenas nos alimentos de origem vegetal. São fontes de fibras: as frutas, verduras, legumes, raízes, tubérculos, nozes e grãos (SLAVIN, 1987; CAVALCANTI, 1989; MARLETT, 1990). Na dieta humana, os cereais integrais, frutas, verduras e legumes representam as principais fonte de fibra, sendo que a ingestão adequada - para indivíduos adultos saudáveis - deveria estar entre 20 a 30 gramas por dia na base seca (PILCH, 1987; EASTWOOD, 1992).

A composição e características físico-químicas da fibra alimentar variam de acordo com a fonte, espécie e fase de crescimento do vegetal. As frutas e vegetais folhosos possuem pouca quantidade de fibras - se comparados aos cereais - por quantidade de material ingerido. Tal fato se deve, principalmente, pelo alto teor de água desses alimentos. Contudo, se tomarmos por referência o peso seco dessas fontes, as fibras passam a representar proporção significativa do conteúdo de sólidos (SOUTHGATE, 1977). Além disso, muitos vegetais e frutas são consumidos em estágios imaturos do seu crescimento, enquanto que os farelos são obtidos geralmente, de plantas maduras e senescentes (RAYMOND, 1969). O meio ambiente no qual o vegetal cresce, o grau de maturação e as condições de estocagem também influem na sua composição através da temperatura, luminosidade e características do solo (SELVENDRAN & VERNE, 1990).

MARLETT (1992), verificou que o conteúdo médio de fibras alimentares determinado em 23 frutas diferentes foi de $1,4 \pm 0,7$ g/100g de peso fresco, sendo que em laranjas a pectina, hemicelulose e lignina corresponderam, respectivamente, a 50%, 20% e 0,1% do teor total de fibras.

Com relação às verduras e legumes a composição da fibra alimentar total determinada em fontes diferentes foi respectivamente de $2,0 \pm 0,8$ e $4,0 \pm 0,7$ g/100 de amostra, sendo a celulose, hemicelulose, pectina e lignina - nessa ordem - seus componentes principais (MARLETT, 1992).

Quanto aos cereais refinados, em 41 fontes diferentes analisadas, MARLETT (1992) verificou que a média de fibra alimentar total foi de $13 \text{ g} \pm 10\%$ sendo seus componentes principais - nessa ordem - as hemiceluloses e celulosas; a pectina apresentou valores extremamente baixos (cerca de 0,1 g).

5 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DAS FIBRAS ALIMENTARES

Através dos conhecimentos das propriedades físico-químicas de determinada fonte de fibra, poderemos compreender os efeitos fisiológicos decorrentes do seu consumo (GORDON, 1989).

Segundo SCHNEEMAN (1989), as principais propriedades físico-químicas são: susceptibilidade à degradação microbiana, capacidade de hidratação, adsorção de moléculas orgânicas, trocas catiônicas e tamanho da partícula.

Degradação microbiana: a fibra alimentar não é degradada pelas enzimas do intestino delgado dos mamíferos mas pode sofrer fermentação em diversos níveis pelas bactérias do cólon. O grau de degradação varia muito entre os polissacarídeos; assim, pectinas, mucilagens, gomas e hemicelulose parecem ser completamente degradadas, enquanto que a celulose é parcialmente e a lignina é totalmente resistente à degradação bacteriana (EDWARDS & ROWLAND, 1992). O grau de degradação e os produtos resultantes da fermentação das fibras no cólon dependem da natureza da flora bacteriana e do tempo de trânsito pelo cólon (VAN SOEST, 1978).

Capacidade de hidratação (Ch): a hidratação das fibras ocorre pela ligação de moléculas de água à sua superfície ou interstício da mesma, formando uma matriz gel no interior do trato gastrointestinal. Geralmente, uma alta capacidade de hidratação está relacionada a uma maior fermentação da fibra pelas bactérias colônicas. As pectinas, gomas, mucilagens e hemicelulose têm alta capacidade de hidratação (SCHNEEMAN, 1989).

Adsorção de moléculas orgânicas: a adsorção inclui sais biliares, colesterol e compostos tóxicos (SCHNEEMAN, 1989; THIBAUT et al., 1992). Estudos "*in vitro*" demonstraram que a lignina e a pectina são excelentes adsorventes de ácidos biliares, enquanto que a celulose é pouco adsorvente (SCHNEEMAN, 1986).

Trocas catiônicas: algumas fibras têm a capacidade de se ligar a minerais e eletrólitos, resultando num aumento da excreção desses componentes nas fezes (SCHNEEMAN, 1989).

Tamanho das partículas da fibra: a trituração reduz o tamanho das partículas das fibras proporcionando respostas fisiológicas diferentes para uma mesma fonte de fibra (PARROT & THRALL, 1978).

6 - EFEITOS FISIOLÓGICOS DAS FIBRAS ALIMENTARES

Como visto, as fibras não são materiais inertes e sem efeitos fisiológicos. Os diversos mecanismos possíveis para os efeitos das fibras refletem a grande diversidade química e física desse componente alimentar (ROEHRIG, 1988).

6.1 - PESO FECAL

Fibras alimentares não degradadas ou pouco degradadas podem aumentar o volume fecal pela sua presença física e pela adsorção de água (EDWARDS, 1987; TOMLIN & READ, 1988). Dessa forma, aliviam a constipação reduzindo o tempo de trânsito boca-ânus, como, por exemplo, o farelo de trigo (TRUSWELL, 1993).

Outro mecanismo é a fermentação de parte do polissacarídeo, com conseqüente aumento da massa bacteriana associada à água no intestino (TRUSWELL, 1993). Assim, as células bacterianas podem contribuir com uma porção significativa do bolo fecal e dessa maneira, provocar o aumento do mesmo (SCHNEEMAN, 1989; TRUSWELL, 1993).

6.2 - BIODISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES

6.2.1 - Glicose

Diversos trabalhos demonstraram que as fibras solúveis tendem a aumentar a viscosidade da dieta, e, após ingestão, aumentarem também a viscosidade do conteúdo do trato gastrointestinal (BLACKBURN & JOHNSON, 1981; SCHNEEMAN, 1986; LUND et al., 1989). Esse efeito altera a taxa de digestão e absorção dos carboidratos (BLACKBURN & JOHNSON, 1983; FLOURIE et al., 1984; BLACKBURN et al., 1984), reduzindo o aumento da glicemia pós-prandial, e, dessa forma, auxiliando na terapia de pacientes diabéticos.

Algumas das hipóteses para explicar a diminuição das concentrações plasmáticas de glicose, após a ingestão de fibras promotoras do aumento da viscosidade do conteúdo gastrointestinal são: retardo do esvaziamento gástrico, alterações na

motilidade intestinal, diminuição da superfície de contato dos nutrientes junto às camadas absorptivas da mucosa intestinal e redução do acesso da α -amilase aos seus substratos como consequência do aumento da viscosidade do meio (LECLÈRE et al., 1994).

O retardo do esvaziamento do estômago, pode interferir na exposição dos nutrientes às enzimas digestivas intestinais e, assim, alterar a taxa local de digestão e absorção de lipídeos, glicose e proteínas reduzindo os níveis pós-prandiais desses nutrientes (EDWARDS, 1990; READ & EASTWOOD, 1992; BROWN et al., 1994).

CHERBUT et al. (1994) sugeriram que a atividade contrátil induzida pela fibra no intestino delgado, possivelmente, tem um importante efeito na diminuição da glicose plasmática em humanos.

Além disso, JENKINS et al. (1987), sugeriram que a diminuição na taxa de absorção do amido oriundo de dietas ricas em fibras solúveis era devido à substituição ou a extensão do sítio de absorção num sentido mais distal do intestino delgado.

Os autores concluíram que as fibras alimentares com alta capacidade de hidratação aumentam o volume do conteúdo intestinal, o qual é um dos fatores que controlam sua motilidade. Assim, os efeitos motores ocasionados pelo consumo de fibras podem causar redução no tempo de trânsito no intestino delgado proximal, e dessa forma, limitar o tempo de contato da glicose com a superfície absorptiva resultando em diminuição na resposta glicêmica. O aumento da motilidade intestinal é devido à estimulação mecânica de receptores da mucosa intestinal (TOMLIN & READ, 1988; SATCHITHANANDAM et al., 1990).

Por outro lado, o aumento da concentração de açúcares no cólon pode elevar a produção de ácidos graxos de cadeia curta através do processo de fermentação bacteriana. Tal fato poderá contribuir, também, para a redução da glicemia pois os ácidos graxos de cadeia curta aumentam a sensibilidade dos tecidos à insulina (FUKAGAWA et al., 1990) e reduzem a gliconeogênese hepática (ANDERSON, 1986).

6.2.2 - Proteínas

Diversos estudos evidenciaram que o aumento do conteúdo das fibras alimentares na dieta influenciou o metabolismo nitrogenado no homem e em outros animais (ACTON et al., 1982).

Nos trabalhos de HARMUTH-HOENE & SCHWERDTFEGER (1979), com ratos, a inclusão de 10% de fibras alimentares na dieta reduziu a digestibilidade da caseína e aumentou, significativamente, a excreção fecal de nitrogênio.

Por outro lado, embora as fibras possam aumentar a excreção fecal de nitrogênio em humanos, o balanço de nitrogênio permanece positivo desde que a fonte protéica de uma dieta rica em fibras seja de alta qualidade e a ingestão adequada. Assim, dieta rica em fibras associada a uma fonte protéica de baixa qualidade pode provocar um balanço negativo de nitrogênio, principalmente, durante a fase de crescimento tanto em animais como em crianças (GALLAHER & SCHNEEMAN, 1986; EGGUM, 1992).

Quanto às proteínas presentes na composição das fibras, aparentemente são menos digeríveis devido à sua íntima associação com a matriz da membrana celular, apresentando, assim, reduzido valor biológico.

6.2.3 - Lipídeos

Elevados níveis de colesterol no soro têm sido identificados como um fator de risco para as doenças coronarianas em humanos (GOTTO, 1986; BETTERIDGE, 1989).

Por outro lado, tem sido demonstrado que várias fibras solúveis podem reduzir os níveis de colesterol circulante (JENKINS et al., 1975; IDE et al., 1991).

Entre as moléculas orgânicas que se ligam às fibras alimentares no trato intestinal, podemos citar os ácidos biliares, colesterol, fosfolipídeos, monoglicerídeos e compostos tóxicos (VAHOUNY, 1982).

SCHNEEMAN (1986) demonstrou que a lignina e a pectina são potentes adsorventes de ácidos biliares, já a celulose tem pouca eficiência para tal. De fato, os ácidos biliares podem ser retidos no lúmen do íleo devido à alta viscosidade do meio e/ou devido à sua ligação à estrutura polissacarídea da fibra. A diminuição da reabsorção dos ácidos biliares pelo íleo tem várias conseqüências diretas como redução da circulação entero-hepática e aumento da excreção fecal de ácidos biliares. Dessa maneira, a concentração hepática de ácidos biliares é inicialmente reduzida podendo ser renovada pela síntese de ácidos biliares a partir do colesterol endógeno. Contudo, alguns tipos de fibras (goma arábica, por exemplo) conseguem reduzir

significativamente o colesterol sérico sem, no entanto, aumentar a excreção fecal dos ácidos biliares (EASTWOOD, 1992).

Além disso, a interação das fibras solúveis com o bolo alimentar e as enzimas digestivas no intestino delgado, reduz a absorção de colesterol e triacilglicerol e, conseqüentemente, o aparecimento de lipoproteínas no duto linfático (IKEDA et al., 1989; EASTWOOD, 1992).

ROBERFROID (1993) relatou que, após atingir o fígado e/ou os tecidos periféricos, os produtos da fermentação bacteriana no cólon podem influir no metabolismo glicídico e lipídico causando diminuição da glicemia pós-prandial e da concentração plasmática de ácidos graxos livres, tendo, assim, um efeito hipocolesterolêmico.

6.3 - FERMENTAÇÃO DAS FIBRAS NO INTESTINO GROSSO

Por resistir à hidrólise pelas enzimas digestivas, as fibras alimentares solúveis entram no intestino grosso intactas (ENGLYST & CUMMINGS, 1985). Contudo, essa parte do intestino contém uma grande população de ampla variedade de bactérias que fermentam as fibras e, conseqüentemente, originam produtos resultantes dessa fermentação, tais como: gases (dióxido de carbono, hidrogênio e metano), ácidos graxos de cadeia curta, principalmente acético, butírico e propiônico (CUMMINGS & MACFARLANE, 1991) e energia (MILLER & WOLIN, 1979).

Dessa forma, McBURNEY & THOMPSON (1990) sugeriram que as fibras alimentares e o amido resistente têm efeito protetor nas neoplasias do cólon devido à produção desses ácidos graxos os quais proporcionam :

a - abaixamento do pH do conteúdo colônico: teoricamente, a solubilidade dos ácidos biliares livres diminui com a redução do pH, reduzindo a potencial atividade dos mesmos como promotores de tumor (BRUCE, 1987). A redução do pH pode também afetar a produção dos ácidos biliares secundários, pela redução da enzima 7- α -dehidroxilase em meio ácido, a qual degrada principalmente ácidos biliares em ácidos biliares secundários (THORNTON, 1981).

b - ação do butirato: embora todos os ácidos graxos de cadeia curta reduzam o pH colônico, o butirato pode ter uma particular importância em prevenir estágios

posteriores no desenvolvimento do câncer (FERGUSON & HARRIS, 1996). Várias fibras (farelo de trigo, por exemplo), continuam sendo degradadas e os produtos resultantes fermentados na região distal do cólon. Isso resulta num significativo aumento no nível de butirato nessa área, que é um sítio importante de incidência do câncer intestinal (McINTYRE et al., 1993).

Apesar da diminuição do pH colônico ser usualmente considerada como mecanismo protetor, pH muito baixo (menor que 6,5) resultante de uma produção local de ácidos graxos de cadeia curta, pode ser um fator de risco (NEWMARK & LUPTON, 1990), causando a estimulação da proliferação das células epiteliais e o subsequente aumento da carcinogênese iniciada quimicamente (JACOBS & LUPTON, 1986; AMES & GOLD, 1990). Além disso, se as fibras alimentares adsorverem carcinogênios ou promotores (ácidos biliares, por exemplo) e essas fibras forem degradadas pelas enzimas bacterianas colônicas, o carcinogênio ou promotor pode ser liberado em solução podendo ser precipitados dentro do epitélio colônico. Tais fatos podem aumentar interações efetivas entre o carcinogênio ou promotor e as células da mucosa do cólon (HARRIS & FERGUSON, 1993).

6.4 - HORMÔNIOS SEXUAIS

Diversos trabalhos têm sugerido que a dieta exerce um papel importante na etiologia do câncer de mama e de outros tipos de câncer hormônio-dependentes (ROSE et al., 1986).

Tem-se observado que mulheres com câncer de mama apresentam altos níveis plasmáticos de estrogênios (TONIOLO et al., 1995) e androgênios (GORDON et al., 1990).

Assim, a ingestão de gorduras e fibras podem modificar o risco de incidência de câncer de mama, respectivamente, pela elevação ou diminuição das concentrações plasmáticas desses esteróides (WYNDER et al., 1986; ROSE & CONNOLLY, 1990).

Comparadas com onívoras, mulheres vegetarianas, antes da menopausa, têm um nível significativamente menor de estradiol e estrona durante a fase luteínica do ciclo menstrual (SHULTZ & LEKLEM, 1983). GOLDIN et al. (1994) reportaram uma diminuição da concentração plasmática de testosterona e androstenediona em mulheres

consumidoras de dieta pobre em gorduras e rica em fibras alimentares. Tal fato pode ser atribuído à maior excreção fecal de estrogênios observado em mulheres vegetarianas (GOLDIN et al., 1982).

O risco de desenvolvimento do câncer de mama mostra-se também associado a uma menarca precoce e menopausa tardia (GAIL et al., 1989), fatores que podem resultar num aumento do número total de ciclos menstruais durante a vida da mulher.

Um alongamento do ciclo menstrual em torno de 2,5 a 3%, foi notado em mulheres que aumentaram o consumo de fibras alimentares de 12 g/dia para 40g/dia concomitante com um declínio do estradiol plasmático. Isso pode resultar na diminuição de aproximadamente 12 ciclos adicionais, ou um ano, sobre o tempo de vida reprodutiva da mulher. Tal redução no número de ciclos menstruais pode contribuir para diminuir a incidência do câncer de mama nessas condições (GOLDIN et al., 1994).

7 - EFEITOS ADVERSOS DAS FIBRAS ALIMENTARES

A fermentação das fibras no intestino grosso leva à produção de gases, podendo acarretar desconforto em determinados indivíduos (FRITZ et al., 1985; LAJOLO et al., 1988).

Além disso, como vimos, o consumo de fibras alimentares pode interferir com a biodisponibilidade dos nutrientes. Tal fato pode implicar em conseqüências indesejáveis à condição nutricional de uma população (ACEVEDO & BRESSANI, 1989).

De maneira geral, parece que o efeito da fibra, em relação à absorção de minerais é importante quando as dietas são deficientes nesses nutrientes, como ocorre na maioria dos países Latino Americanos onde a dieta é principalmente de origem vegetal. Esse efeito da fibra pode ser mais acentuado quando associado ao crescimento, gestação e à senilidade (LAJOLO et al., 1988; ROSSANDER et al., 1992). Assim, fitatos e compostos fenólicos presentes em alimentos fibrosos resultam numa redução da absorção de minerais como cálcio, ferro, zinco, magnésio etc. (BRUNE et al., 1989). Isso ocorre porque o ácido fítico tem a capacidade de quelar íons metálicos di e monovalentes e formar dessa maneira, complexos insolúveis com micronutrientes, tornando-os indisponíveis ao organismo (ERDMAN, 1979; JULIANO, 1980; FROLICH & ASP, 1985).

Contudo, se a presença de fitatos pode diminuir a biodisponibilidade e absorção de cátions, por outro lado, a hipertrofia das paredes intestinais causada pelas fibras alimentares pode aumentar a capacidade de absorção mineral (ROBERFROID, 1993).

Alguns trabalhos trazem resultados contraditórios a esse respeito, não tendo sido verificados efeitos negativos do consumo de goma guar sobre os balanços de ferro, zinco, cobre, cálcio, magnésio e manganês em indivíduos com diabetes melitus não-insulino dependentes (BEHALL et al., 1989) e do consumo do farelo de trigo sobre os balanços de zinco, cobre, cálcio e manganês também em indivíduos diabéticos (LIU et al., 1989).

III - MATERIAIS E MÉTODOS

1 - POLPA DE LARANJA

1.1 - OBTENÇÃO DA POLPA DE LARANJA

A polpa de laranja utilizada como fonte de fibra nas dietas experimentais deste estudo foi obtida como subproduto da produção de suco de laranja pela CITROSUCO PAULISTA - S/A, Limeira, São Paulo, Brasil.

Consideramos como sendo a polpa de laranja o material constituído pelas vesículas que armazenam o suco e a membrana que separa as vesículas em gomos (Fig. 1). Após a extração do suco, esse material é separado no “finisher”, embalado em sacos de polietileno e armazenado a 22°C (AREAS, 1994).

A caracterização da composição química da polpa de laranja foi realizada por AREAS (1994).

1.2 - PROPRIEDADES FÍSICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DA POLPA DE LARANJA

1.2.1 - Granulometria

A granulometria da polpa de laranja foi determinada pela peneiragem de 250 g de amostra durante um período de 20 minutos. Para isso foi usado um agitador Produtest com peneiras de 20, 32, 60, 80 e 100 mesh. Logo após, o conteúdo de cada peneira foi pesado para a verificação de quanto ficou retido em cada uma, em relação ao peso total da amostra inicial.

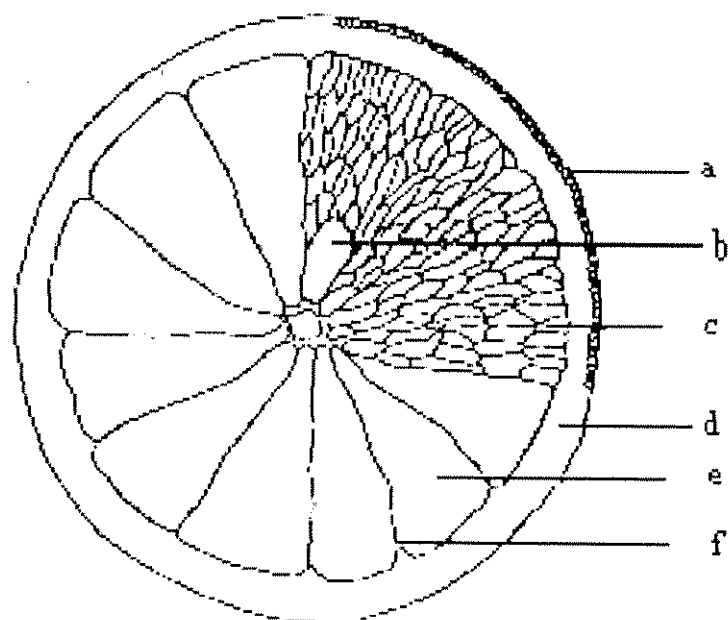


Figura 1 - Secção transversal de uma laranja: a - glândula de óleo essencial; b - semente; c - vesícula de suco; d - albedo; e - polpa; f - membrana (AREAS, 1994).

1.2.2 - Densidade aparente (Dap)

A densidade aparente foi determinada segundo a metodologia desenvolvida por PARROT & THRALL (1978).

1.2.3 - Capacidade de hidratação (Ch)

A capacidade de hidratação foi determinada de acordo com os procedimentos desenvolvidos por QUINN & PATON (1979).

2 - DIETAS

Com relação ao teor de fibras, foram utilizadas as seguintes dietas (Tabela 1), tendo-se observado as normas descritas por REEVES et al., (1993):

- a) 5% de microcelulose (controle);
- b) 20% de polpa de laranja.

As dietas foram preparadas variando-se apenas o teor da polpa de laranja em detrimento do amido e utilizando-se a caseína como fonte protéica.

Tabela 1 - Composição das dietas utilizadas no ensaio biológico (g/100g) (REEVES et al., 1993)

COMPONENTES	DIETA	DIETA
	A	B
Proteína	17,0	17,0
Óleo de soja	7,0	7,0
Mistura mineral	3,5	3,5
Mistura vitamínica	1,0	1,0
Cisteína	0,3	0,3
Colina	0,25	0,25
Microcelulose	5,0	---
Polpa de laranja	---	20,0
Dextrose	23,2	23,2
Amido de milho	42,75	27,75

3 - ENSAIO BIOLÓGICO

3.1 - ANIMAIS UTILIZADOS E FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Para a realização dos ensaios biológicos foram utilizados ratos Wistar, machos, jovens (21 animais) e adultos (24 animais) com aproximadamente 25 e 100 dias de idade e peso médio de $51,42 \pm 8,45$ e $223,95 \pm 17,71$ gramas, respectivamente. Esses animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.

Os ratos jovens e adultos permaneceram 06 e 04 semanas, respectivamente, em gaiolas metabólicas individuais em ambiente com temperatura entre 22°C e 26°C e ciclo claro-escuro de 12 horas.

Os animais foram distribuídos em grupos assim denominados:

- a - J-5 (controle) - animais jovens alimentados com dieta A contendo 5% de microcelulose;
- b - J-20 - animais jovens alimentados com dieta B contendo 20% de polpa de laranja;
- c - A-5 (controle) - animais adultos alimentados com dieta A contendo 5% de microcelulose;
- d - A-20 - animais adultos alimentados com dieta B contendo 20% de polpa de laranja;

3.2 - TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (GTT)

Para a realização do GTT foram utilizados os grupos J-5 e J-20 durante a 5ª semana de experimentação.

Após 24 horas de jejum, foi determinada a glicemia de cada animal através de amostra de sangue coletada da veia caudal. Em seguida, foi introduzida por via oral uma cânula de polietileno até o estômago para a administração da glicose - 0,15g/100g de peso corpóreo. A metade de cada grupo foi usada como controle e recebeu a glicose diluída em 5 mL de água destilada. A outra metade, recebeu a glicose diluída numa solução de 400 mg de polpa de laranja + 5 mL de água destilada (SCHWARTZ et al., 1980).

Posteriormente, foram coletadas amostras de sangue da veia caudal dos animais aos 30, 60, 90 e 120 minutos após a sobrecarga oral de glicose. A glicemia foi determinada por método enzimático, segundo DAUMENIE & HENQUIN (1982).

3.3 - PERFUSÃO INTESTINAL

Para a realização deste procedimento foram utilizados os grupos jovens (J-5 e J-20) e adultos (A-5 e A-20).

Os animais foram mantidos previamente em jejum por 24 horas e anestesiados com injeção intraperitoneal de pentobarbital sódico diluído em 2 mL de soro fisiológico na concentração de 0,1 mL/100g de peso corpóreo.

A perfusão intestinal, representada na Fig.2, foi realizada segundo GOMES-MARCONDES et al., (1997), como segue:

- a - incisão abdominal (aproximadamente 1,5 cm) na altura do estômago;
- b - localização do intestino delgado;
- c - introdução de cânula no duodeno, aproximadamente 2 cm abaixo do piloro, conectada à bomba peristáltica;
- d - incisão abdominal na região pélvica;
- e - introdução de cânula na região distal do íleo, aproximadamente 1 cm antes do ceco;
- f - sutura das incisões.

As soluções que foram perfundidas no intestino dos animais jovens (J-5 e J-20) e adultos (A-5 e A-20) são: Solução de Ringer, Solução de Ringer contendo 138,7 μ mol de Glicose sem e com 0,5% de polpa de laranja, Solução de Ringer contendo 167,5 μ mol Metionina sem e com 0,5% de polpa de laranja. Todas as soluções tiveram pH 7,0 e temperatura monitorada, saindo da bomba peristáltica em torno de 40°C com fluxo de 0,5 a 1 mL/min. Inicialmente toda a alça intestinal foi lavada com a solução de Ringer durante 20 min. Tal procedimento se repetiu entre uma amostra e outra.

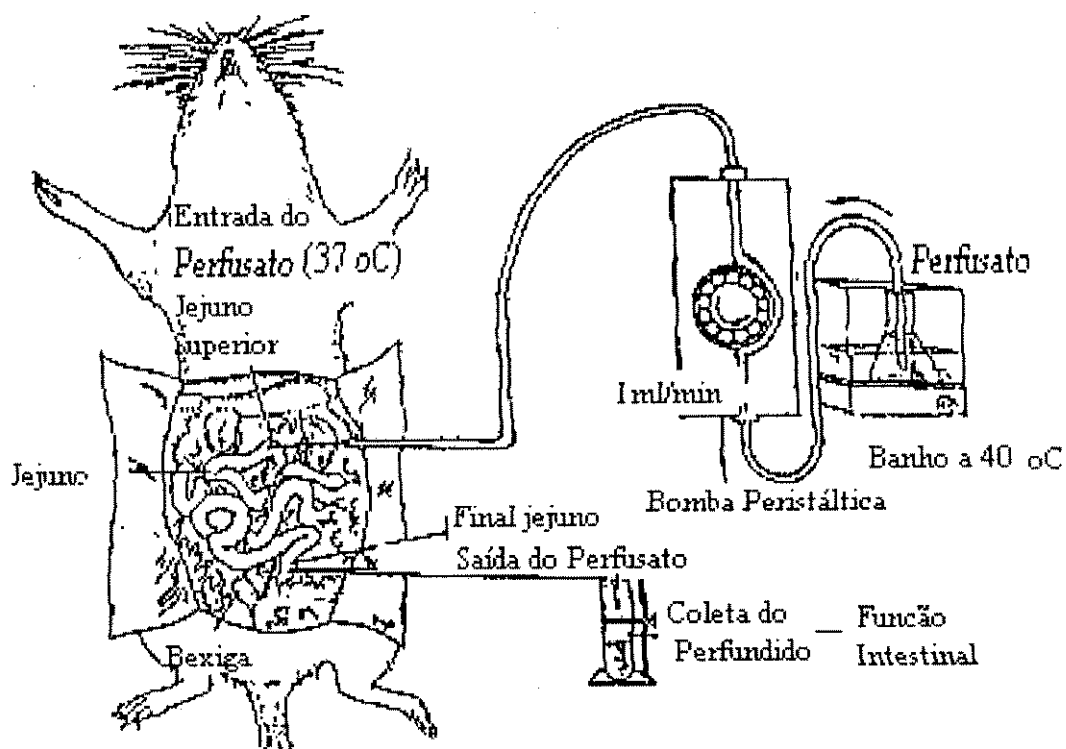


Figura 2 - Representação esquemática da perfusão intestinal (GOMES-MARCONDES et al., 1997).

Apenas os grupos de animais jovens (J-5 e J-20) tiveram a alça intestinal perfundida com solução acrescida de 0,5% de polpa de laranja, pois nosso objetivo com tal procedimento era relacionar os efeitos que a presença física da polpa de laranja poderia causar à taxa de absorção intestinal de nutrientes com prováveis alterações morfológicas induzidas pela ingestão a longo prazo dessa fonte de fibra.

Todas as soluções passaram pelo intestino durante 20 minutos e, da cânula atada ao íleo, foram colhidas 3 amostras de cada solução, durante 2 minutos cada amostra.

As amostras foram conservadas em freezer para posterior análise.

3.4 - SACRIFÍCIO

Após a perfusão intestinal, os animais anestesiados foram sacrificados por punção cardíaca, sendo feita a remoção cirúrgica dos seguintes órgãos:

- a - intestino delgado: esvaziado, medido e pesado. Após, foi cortado um segmento de 4 cm, a contar 3 cm depois do estômago, para análise histológica;
- b - intestino grosso: esvaziado. O cólon foi medido e cortado deixando junto ao ceco um segmento de 3 cm (cólon proximal). O ceco foi esvaziado, lavado e pesado junto com o cólon proximal e conservado para análise histológica.

3.5 - PARÂMETROS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E MORFOLÓGICOS

3.5.1 - Parâmetros Fisiológicos

3.5.1.1 - Peso corporal dos animais: a determinação do peso corporal foi realizada a cada dois dias, em balança para pesagem de animais com precisão de 1 g, sempre no período da manhã. Assim, foi possível avaliar o ganho de peso periódico e cumulativo.

3.5.1.2 - Ingestão de dieta e de água: foram fornecidos aos animais dieta e água à vontade em quantidade e volume conhecidos. Após 48 horas, foram anotadas as sobras, calculando-se as quantidades ingeridas.

3.5.2 - Parâmetros Bioquímicos

Para a realização das dosagens de glicose e metionina, as amostras foram retiradas do freezer e deixadas em temperatura ambiente e, imediatamente após o descongelamento, foram homogeneizadas. As amostras que continham a polpa de laranja, depois de homogeneizadas, foram centrifugadas a 711 G durante 10 minutos, para a precipitação dos resíduos fibrosos.

Segundo GOMES-MARCONDES et al., (1997), para o cálculo da quantidade de metionina e glicose absorvidas pela mucosa intestinal usamos a concentração da substância que entrou no duodeno (μmol) x fluxo de 1 mL/min x tamanho da alça intestinal (100 cm) divididos pela concentração que saiu no final do tubo digestivo; o resultado foi multiplicado por 100 (número padrão para ajustar a espessura da camada limitante de água no intestino delgado).

$$\text{QUANTIDADE ABSORVIDA} = \frac{\text{CONCENT. INICIAL} \times \text{FLUXO} \times \text{COMP. ALÇA}}{\text{CONCENTRAÇÃO FINAL}} \times 100$$

3.5.2.1 - Glicose da solução perfundida no intestino: determinada segundo o método colorimétrico descritos por TRINDER (1969), utilizando-se espectrofotômetro da marca Hewlett Packard (HP), modelo 8452A.

3.5.2.2 - Metionina da solução perfundida no intestino: determinada segundo McCARTHY & SULLIVAN (1941), utilizando-se espectrofotômetro marca Hewlett Packard (HP), modelo 8452A.

3.5.3 - Parâmetros Morfológicos.

A avaliação histológica dos órgãos seguiu os procedimentos descritos por BROWN et al. (1979). O material foi fixado em Bouin, sendo então destinados à inclusão em parafina e microtomia. Os cortes foram corados por tricrômio de Gomori.

4 - PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO

Foi utilizado o teste *t de Student* (GAD & WEIL, 1994) para avaliar a existência de diferenças entre todos os dados avaliados. Estabelecemos $p < 0,05$ como nível de significância.

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 - CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE LARANJA

1.1 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA POLPA DE LARANJA

A tabela 2 relaciona a composição química da polpa de laranja. Observamos que, além da alta concentração de fibras alimentares (71,1%), a polpa de laranja apresentou, ainda, 10,7% de proteínas, 9,9% de açúcares solúveis, 1,2% de gorduras, 5,9% de umidade e 1,2% de cinzas.

Acreditamos que essas frações possam ser relevantes em organismos depletados pela desnutrição pois GONÇALVES (1996), trabalhando com material semelhante, obteve, em animais desnutridos alimentados com dieta rica em polpa de laranja, uma melhora significativa no desenvolvimento corpóreo de tais animais.

Tabela 2 - Composição química da polpa de laranja (AREAS, 1994)

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

1.2 - TEOR DE FIBRA

Na tabela 3 observamos que 55% do material estudado era constituído por substâncias pécicas, 36% pela celulose e 9% por hemicelulose e lignina. De acordo com

SCHNEEMAN (1987) a pectina é uma fonte de fibra altamente solúvel; enquanto a celulose é relativamente insolúvel; a hemicelulose constitui um grupo heterogêneo, exibindo grande variação de solubilidade e, por fim, a lignina, considerada insolúvel. Assim, a polpa de laranja em estudo era constituída por fibras solúveis e insolúveis, com predominância da fração solúvel (55%) em relação à fração insolúvel (45%) do teor total de fibra.

Tabela 3 - Distribuição percentual dos componentes fibrosos da polpa de laranja em relação ao teor de fibra total (AREAS, 1994).

COMPONENTES	(%)
Celulose	36,0
Hemicelulose	3,0
Lignina	6,0
Substâncias pécticas ¹	55,0
Fibra alimentar total	100,0

¹ - ácido anidroutrônico

1.3- GRANULOMETRIA

A tabela 4 contém os dados referentes à granulometria da polpa de laranja. Podemos observar que, 69,83% das partículas ficaram retidas entre as peneiras de 32 e 60 mesh (200 a 500 μm), 29,82% das partículas ficaram retidas entre o fundo e a peneira de 80 mesh (menor que 200 μm) e apenas 0,34% das partículas ficaram retidas na peneira de 20 mesh (maior que 800 μm).

De acordo com PARROT & THRALL (1978) temos o nosso material constituído em sua maioria por partículas de tamanhos médio (69,83%), pequenas (29,82%) e uma discreta parcela de partículas grandes (0,34%).

Comparando-se nossos resultados com os obtidos por AREAS (1994), também analisando a polpa de laranja, encontramos diferenças principalmente quanto à presença

de partículas grandes entre os materiais analisados, uma vez que a polpa de laranja analisada por AREAS (1994) possuía 52,9% de partículas médias, 38,3% de partículas pequenas e 8,9% de partículas grandes.

Acreditamos que tais diferenças na granulometria do material estudado possam ter proporcionado diferentes resultados fisiológicos, pois de acordo com ROEHRIG (1988), a distribuição das partículas em diferentes tamanhos pode influenciar a capacidade de hidratação e a densidade aparente de determinadas fibras alterando, assim, a digestibilidade dos alimentos, ainda que essas fibras sejam de uma mesma fonte.

Tabela 4 - Distribuição dos tamanhos das partículas da polpa de laranja

MESH	ABERTURA (mm)	FRAÇÃO (%)
20	0,84	0,08
32	0,50	0,264
60	0,25	69,83
80	0,177	10,93
100	0,149	2,12
Fundo	--	16,77

1.4 - DENSIDADE APARENTE (Dap) E CAPACIDADE DE HIDRATAÇÃO (Ch)

Os valores encontrados para a densidade aparente (Dap) e capacidade de hidratação (Ch) da polpa de laranja encontram-se relacionados na tabela 5.

Neste estudo o valor obtido para a Dap foi de 0,79 g/mL, valor 72% superior ao obtido por AREAS em 1994 (0,46 g/mL). Tal diferença deveu-se ao fato do material em estudo ser constituído por partículas de tamanhos médio e pequeno, ao passo que o material analisado por AREAS (1994) possuía também uma quantidade significativa de partículas de tamanho grande (8,9%).

Quanto à capacidade de hidratação obtivemos 8,03 g de água/g de amostra seca. Este resultado é 122% superior ao obtido por AREAS (1994), 3,61 g de água/g de matéria seca, analisando material semelhante.

Pelo exposto, observamos que os resultados para a Dap e Ch da polpa de laranja deste estudo são elevadas quando comparadas a outros autores. CHEN et al., (1984) obtiveram resultados para Ch 5,6 g de água/g de matéria seca ao estudarem fibra de polpa cítrica com material pulverizado. FLEURY & LAHAYE (1991) verificaram que partículas pequenas de fibras de diversas fontes, por possuírem maior superfície de contato, apresentaram maior capacidade de hidratação que partículas de tamanhos grande e médio.

Entretando, KIRWAN et al. (1974) sugeriram que a capacidade do farelo de trigo se ligar à água variava em função do tamanho das suas partículas, uma vez que partículas maiores proporcionaram maior retenção hídrica prevenindo a formação de fezes secas. Outros autores (HELLER et al., 1980; MONGEAU & BRASSARD, 1982) obtiveram, também, redução significativa da Ch quando o tamanho médio das partículas da fonte de fibra foi reduzido.

Portanto, se por um lado o tamanho reduzido das partículas aumenta a superfície de contato com a água, por outro lado, partículas maiores podem proporcionar maior retenção hídrica entre si. Dessa forma, acreditamos que a proporção dos componentes na composição da polpa de laranja utilizada, proporcionou maior retenção hídrica e, conseqüentemente, maior Ch em relação ao material fibroso utilizado por AREAS (1994).

Tabela 5 - Densidade aparente - Dap - (g/mL) e Capacidade de hidratação - Ch - (g de água/g de matéria seca) da polpa de laranja

PARÂMETROS	VALORES
Dap	0,79
Ch	8,03

2 - ENSAIOS BIOLÓGICOS

2.1 - TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (GTT)

A tabela 6 e a Fig.3 apresentam os valores referentes à glicemia, antes e após a sobrecarga oral de glicose, dos grupos J-5 e J-20.

Verificou-se que a polpa de laranja na concentração de 0,08 g/mL, após 30 e 60 minutos, reduziu significativamente a glicemia nos grupos J-5 e J-20 que receberam a mistura polpa de laranja + glicose.

Diversos autores têm registrado uma melhoria na tolerância à glicose após a ingestão aguda de diversos tipos de fibras (JENKINS, et al. 1978; DAUMERIE & HENQUIN, 1982).

A redução da resposta glicêmica à dieta é observada principalmente na presença de fibras solúveis, as quais se hidratam rapidamente proporcionando soluções altamente viscosas no trato gastrointestinal (BLACKBURN & JOHNSON, 1981; O'CONNOR et al., 1987; LUND et al., 1989) dificultando a digestão e absorção dos carboidratos devido a um retardo no esvaziamento gástrico (EFFREYS, 1974; JENKINS et al., 1978; HOLT, et al., 1979) e/ou pela limitação da difusão intestinal (JENKINS et al., 1978; FLOURIE et al., 1984).

Outros autores atribuem às fibras alimentares com alta capacidade de hidratação o aumento no volume do conteúdo intestinal, o qual é um dos fatores que controlam sua motilidade. Assim, os efeitos motores ocasionados pelo consumo de fibras podem causar redução no tempo de trânsito boca-ânus, e dessa forma, limitar o tempo de contato da glicose com a mucosa absorptiva do intestino resultando na diminuição da resposta glicêmica. Tal aumento na motilidade intestinal é devido à estimulação mecânica de receptores da mucosa intestinal (TOMLIN & READ, 1988; SATCHITHANANDAM et al., 1990). Portanto, algumas das hipóteses para explicar a diminuição da glicemia, após a ingestão de fibras promotoras do aumento da viscosidade do conteúdo gastrointestinal são: retardo do esvaziamento gástrico, alterações na motilidade intestinal, diminuição no tempo de contato dos nutrientes junto às camadas absorptivas da

mucosa intestinal e redução do acesso da α -amilase aos seus substratos (LECLÈRE et al., 1994).

Por outro lado, um aumento na concentração de açúcares no cólon pode aumentar a produção de ácidos graxos de cadeia curta através do processo de fermentação da flora bacteriana. Segundo alguns autores o aumento na produção desses ácidos graxos aumentam a sensibilidade dos tecidos à insulina (FUKAGAWA et al., 1990) e reduzem a gliconeogênese hepática (ANDERSON, 1986) podendo contribuir para a redução da glicemia. Além disso, a ingestão de fibras insolúveis reduz a ocorrência de períodos de repouso aumentando, assim, a extensão e a velocidade do peristaltismo intestinal o qual, por sua vez, diminui o tempo de contato da glicose com as superfícies absorptivas resultando numa menor resposta glicêmica à ingestão alimentar (CHERBUT et al., 1994).

A polpa de laranja utilizada neste trabalho apresentou em sua composição porcentagens significativas de fibras solúveis e insolúveis. Portanto, os menores valores glicêmicos verificados no teste de tolerância à glicose, após 30 e 60 minutos, foram devidos, provavelmente, à interação de efeitos proporcionados pelas frações solúvel e insolúvel presentes nesta fonte de fibra, ou seja: redução da taxa de esvaziamento gástrico, proporcionado pelo aumento da viscosidade do quimo, e redução do tempo de trânsito intestinal, como verificado por AREAS em 1994.

Além de todos os efeitos fisiológicos proporcionados pela ingestão aguda da polpa de laranja citados acima, observamos na Fig.3 que a mesma também alterou a glicemia dos grupos que a ingeriram cronicamente. De fato, observa-se que o grupo J-20 sem PL, no momento da realização do teste do GTT, apresentou menor elevação da glicemia em relação ao grupo J-5 sem PL. Assim, acreditamos que a polpa de laranja proporcionou alterações na mucosa absorptiva intestinal, o que explicaria uma diminuição na capacidade de absorção de nutrientes, embora o estudo da morfologia, como veremos adiante, não tenha demonstrado lesões nessa mucosa.

Tabela 6 - Glicemia (mg/dL) durante o Teste de Tolerância à Glicose (GTT) de ratos que ingeriram dieta contendo 5% de microcelulose (J-5) e dieta contendo 20% de polpa de laranja (J-20) submetidos à administração oral de glicose (0,15g/100 g de peso corporal) sem e com polpa de laranja (PL, 0,08 g/mL) num volume total de 5 mL.

GRUPO	PESO CORPORAL	PL	INÍCIO 0	30 minutos	60 minutos	90 minutos	120 minutos
J-5	264,60		97,20	166,60	179,00	152,80	130,60
(5)	±12,17	---	±10,18	±20,33	±20,62	±25,69	±21,02
J-5	284,60		97,14	125,80	132,60	133,40	129,20
(5)	± 23,55	0,08	±6,11	±9,23 *	±7,81 *	±12,12	±9,10
J-20	200,83		98,50	160,16	146,50	126,00	102,50
(6)	± 20,86	---	±14,89	±22,45 +	±19,74 +	±6,69 +	±7,28+
J-20	219,20	0,08	84,00	129,50	112,66	120,33	102,00
(6)	± 9,06		±14,96	±15,14 *	±16,60 *	±12,58	±20,95

Resultados expressos em média ± desvio padrão;

() = número de animais.

* diferença significativa em relação aos controles (J-5 e J-20) que receberam a PL (p< 0,05).

+ diferença em relação ao grupo J-5 sem PL

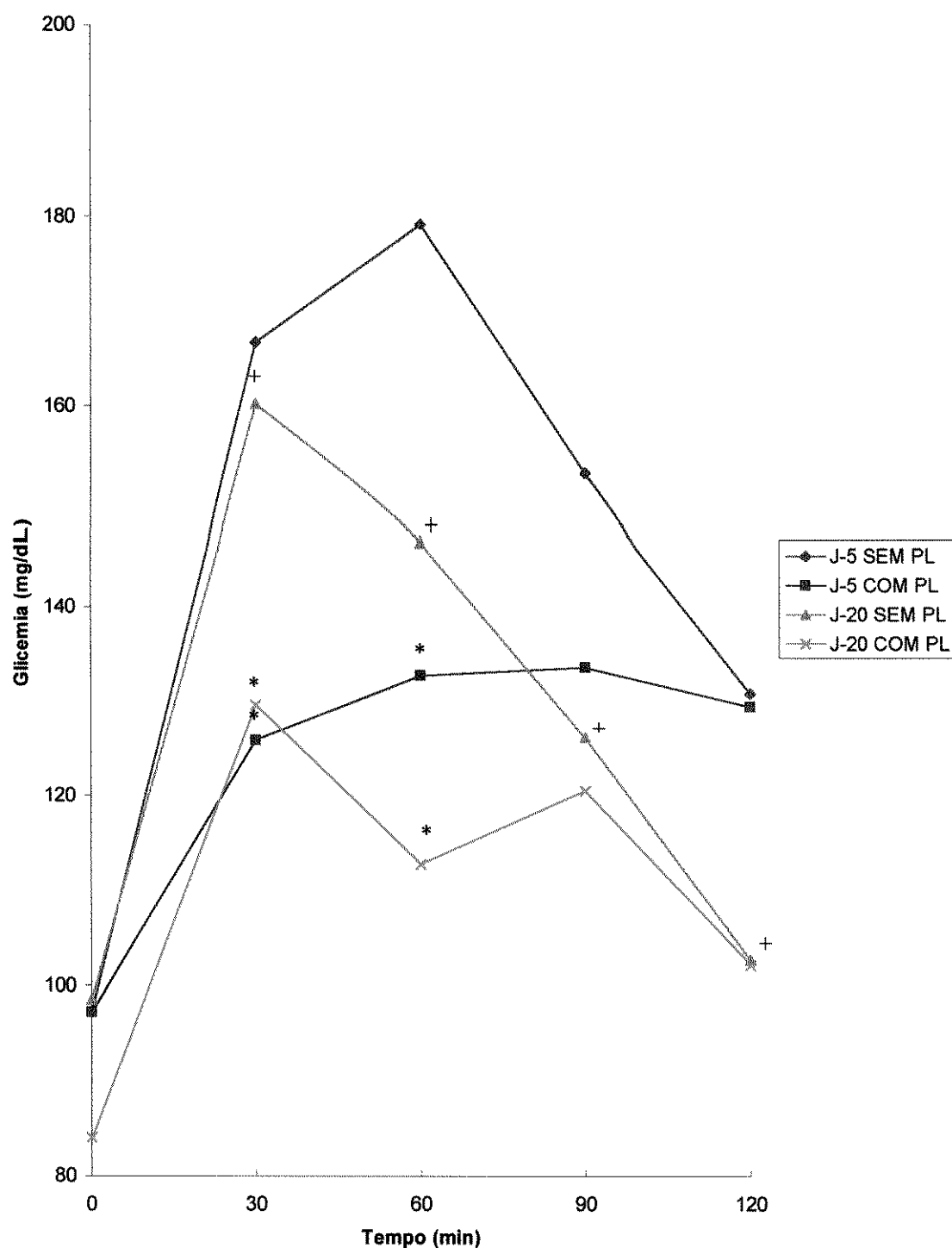


Fig.3 - Glicemia (mg/dL) durante o Teste de Tolerância à Glicose (GTT) em ratos que ingeriram dieta contendo 5% de microcelulose (J-5) e dieta contendo 20% de polpa de laranja (J-20) submetidos à administração oral de glicose (0,15g/100 g de peso corporal) sem e com polpa de laranja (PL, 0,08 g/mL) num volume total de 5 mL.

* diferença significativa em relação aos grupos (J-5 e J-20) que não receberam a PL ($p < 0,05$)

+ diferença em relação ao grupo J-5 sem PL

2.2 - PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

2.2.1 - Ingestão de dieta e água

As Fig. 4 e 5 apresentam a ingestão total de dieta e água dos grupos experimentais jovens e adultos (J-5, J-20, A-5 e A-20), respectivamente, durante todo o período experimental.

BURLEY (1992) relaciona a menor ingestão alimentar de dietas contendo fibras alimentares devido à sensação de saciedade proporcionada por esse material; porém, com relação à ingestão de dieta e água nossos resultados, também como em trabalhos anteriores utilizando polpa de laranja como fonte de fibra (REIS, 1994; AREAS, 1994; GONÇALVES, 1996), não apresentaram diferenças significativas nesse parâmetro entre os grupos estudados.

2.2.2 - Ganho de peso corpóreo

Nas tabelas 7 e 8 estão representados os ganhos de peso dos grupos jovens e adultos, respectivamente, avaliados a cada 7 dias.

Os efeitos das fibras sobre o peso corpóreo diferenciou com a idade dos animais estudados bem como com o tempo de experimentação.

Observamos que o grupo J-20 apresentou redução significativa no ganho de peso enquanto que, no grupo A-20, a diferença não foi significativa apesar de apresentar valores inferiores até o 21º dia.

Assim, concordamos com autores que também verificaram que a inclusão de fibras na dieta de ratos jovens e adultos resultou em menor ganho de peso corpóreo somente para os animais jovens (MIYOSHI et al., 1986; DAVIES et al., 1991; AREAS, 1994; CAVAGLIERI-FELIPPE, 1997).

Acreditamos que os animais jovens, por se encontrarem em fase de ascensão do desenvolvimento, foram mais susceptíveis, provavelmente, à menor utilização dos nutrientes como consequência da presença da polpa de laranja na dieta desses animais.

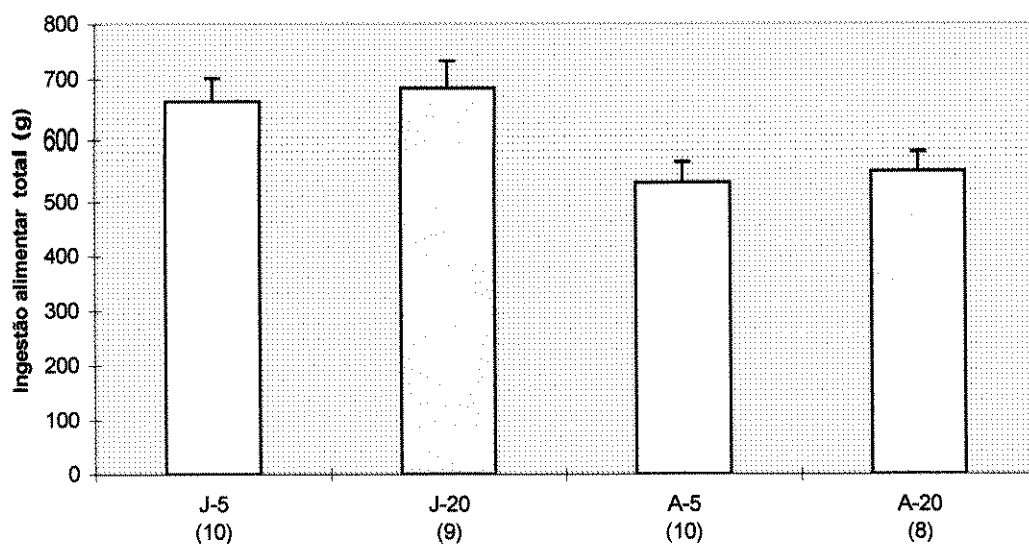


Fig. 4 - Ingestão total de dieta dos grupos jovens e adultos alimentados com dietas contendo 5% de microcelulose (J-5 e A-5), e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20). Resultados expressos em média + desvio padrão.

() número de animais

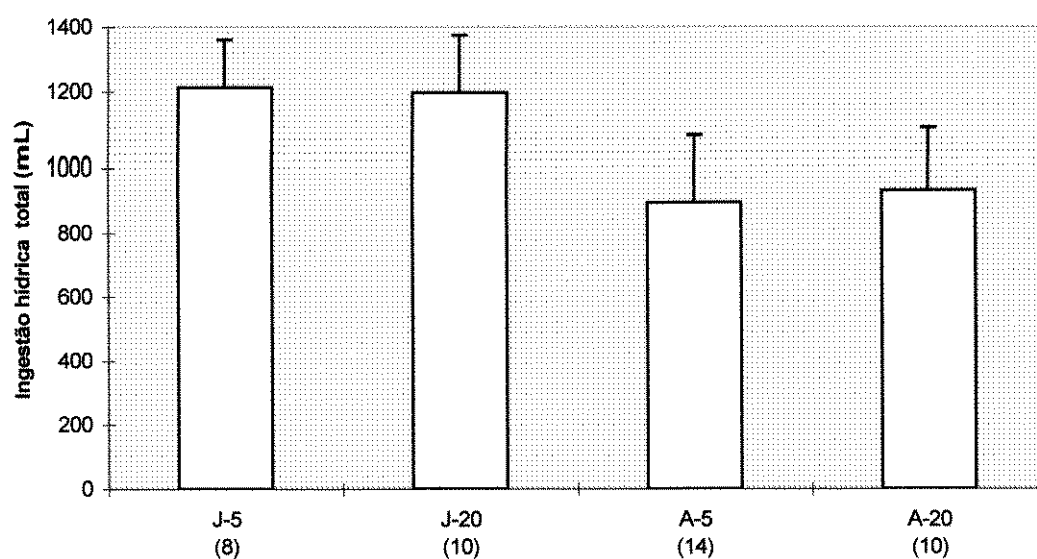


Fig. 5 - Ingestão total de água dos grupos jovens e adultos alimentados com dietas contendo 5% de microcelulose (J-5 e A-5), e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20). Resultados expressos em média + desvio padrão.

() número de animais

Essa proposição encontra justificativa nos valores do Teste de Tolerância à Glicose apresentados anteriormente bem como nos obtidos através da perfusão intestinal, como veremos adiante.

Por outro lado, como os animais jovens permaneceram um tempo maior (6 semanas) em tratamento com a dieta rica em polpa de laranja em relação aos adultos (4 semanas), é provável que tal fato tenha contribuído para determinadas alterações intestinais colaborando, também, para modificar a absorção de nutrientes, como veremos adiante.

Tabela 7 - Ganho de peso (g) cumulativo dos grupos experimentais jovens (J-5 e J-20) durante o período experimental

GRUPO	SEMANAS					
	1	2	3	4	5	6
J-5	36,4	80,70	119,70	163,20	207,30	231,40
(10)	±8,09	±12,38	±15,47	±25,51	±31,95	±29,15
J-20	35,18	77,09	114,81	148,90	183,72	189,36
(11)	±8,54	±13,37	±11,68	±13,17	±18,82	±19,23 *

Resultados expressos em média ± desvio padrão.

() número de animais

* Diferença significativa em relação ao controle($p < 0,05$).

Tabela 8 - Ganho de peso (g) cumulativo dos grupos experimentais adultos (A-5 e A-20) durante o período experimental

GRUPO	SEMANAS			
	1	2	3	4
A-5	21,71	51,84	75,57	90,42
(14)	±7,91	±14,93	±23,82	±20,55
A-20	21,1	31,1	68,3	101,10
(10)	±8,07	±15,02	±18,14	±20,47

Resultados expressos em média ± desvio padrão.

() número de animais.

2.2.3 - Pesos relativos e medida de órgãos

2.2.3.1 - Ceco + Cólon e Intestino delgado

A Fig. 6 representa o peso relativo (g/100g de peso corporal) do intestino delgado dos grupos jovens (J-5 e J-20) e adultos (A-5 e A-20), enquanto que na Fig. 7 observamos o comprimento do intestino delgado (cm) desses mesmos grupos.

Na Fig. 8 observamos o peso relativo (g/100 g de peso corpóreo) do ceco + cólon dos grupos jovens (J-5 e J-20) e adultos (A-5 e A-20), enquanto a Fig. 9 representa o comprimento (cm) do cólon desses mesmos grupos.

No grupo de animais adultos (A-5 e A-20), não se verificaram diferenças significativas entre a extensão e o peso do intestino delgado. Porém, entre os grupos jovens que receberam a polpa de laranja (J-20), houve um significativo aumento no peso, 27% superior ao encontrado no grupo controle (J-5), e tendência a uma maior extensão do intestino delgado.

Segundo alguns autores, aumentando-se a quantidade de fibras na dieta, tem-se um aumento na extensão e peso do intestino delgado de ratos (BROWN et al., 1979; JACOBS & WHITE, 1983; VAHOUNY et al., 1988; GOODLAD & MATHERS, 1990; AREAS, 1994; GONÇALVES, 1996).

Dessa forma, tais fatos deveram-se, provavelmente, às diferenças na resposta adaptativa dos animais jovens devido à ingestão a longo prazo da polpa de laranja. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por SAVORY (1992) onde, em aves, obteve aumento da extensão intestinal ocasionada como resposta adaptativa do organismo quando a digestibilidade do conteúdo intestinal era diminuída pela adição de diferentes tipos e níveis de fibras. Assim, acreditamos que esses resultados contribuíram para as alterações nas taxas de absorção intestinal de glicose e metionina perfundidas sem e com a presença da polpa de laranja, como veremos adiante.

Quanto ao peso do ceco + cólon, os grupos experimentais jovens e adultos (J-20 e A-20) mostraram um aumento de 73,5% e 48% superior aos obtidos pelos seus grupos controles, respectivamente, J-5 e A-5.

Com relação ao comprimento do ceco + cólon, os grupos jovens e adultos que receberam a polpa de laranja na dieta (J-20 e A-20) apresentaram valores 13% e 8% superiores aos encontrados pelos grupos controles, respectivamente, J-5 e A-5.

Diversos autores encontraram aumento do peso cecal e do intestino grosso, em ratos em crescimento suplementados com fibra solúvel (MONGEAU et al., 1991; TAKAHASHI et al., 1994; AREAS, 1994), bem como a extensão do ceco de aves (MOSS, 1989; JORGENSEN et al., 1996a), e porcos (JORGENSEN et al., 1996b). Um provável mecanismo para explicar tais resultados, seria que compostos resultantes da fermentação da fibra, os ácidos graxos de cadeia curta, atuariam como fatores tróficos da mucosa cecal, estimulando o seu crescimento, fato esse que será objeto de futuras investigações.

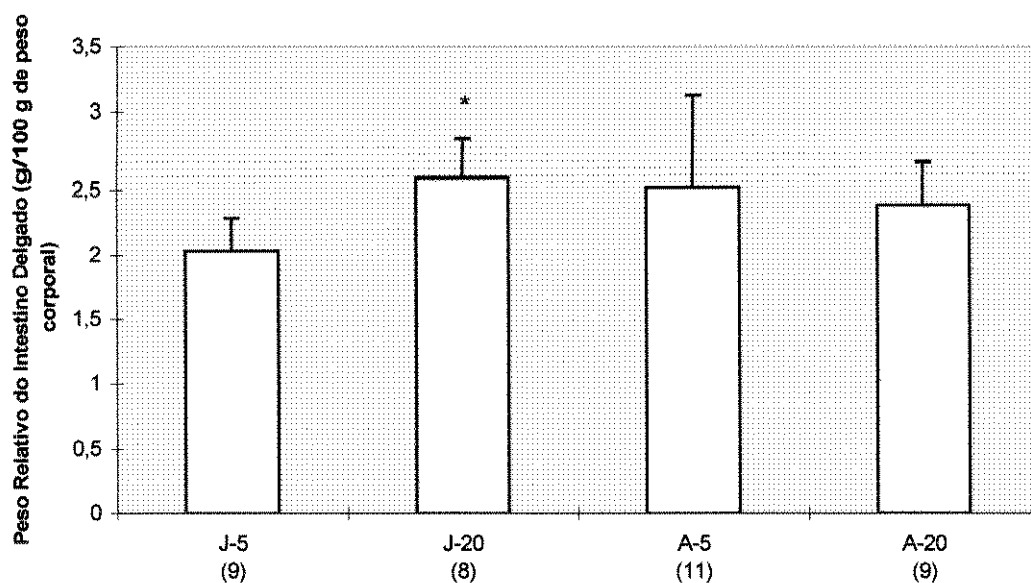


Fig. 6 - Peso relativo do intestino delgado (g/100 g de peso corporal) ao final do ensaio biológico, dos grupos jovens e adultos que consumiram 5% de microcelulose (J-5 e A-5) e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20).

Valores expressos como média + desvio padrão.

() número de animais.

* Diferença significativa em relação ao grupo J-5 ($p < 0,05$).

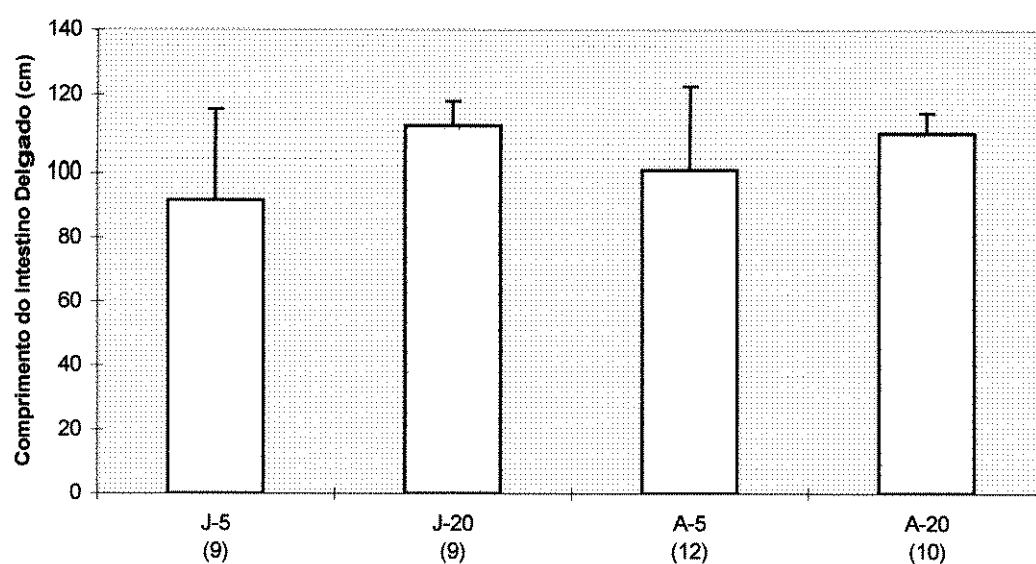


Fig. 7 - Comprimento do Intestino Delgado (cm) ao final do ensaio biológico, dos grupos jovens e adultos que consumiram 5% de microcelulose (J-5 e A-5) e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20).

Valores expressos como média + desvio padrão.

() número de animais

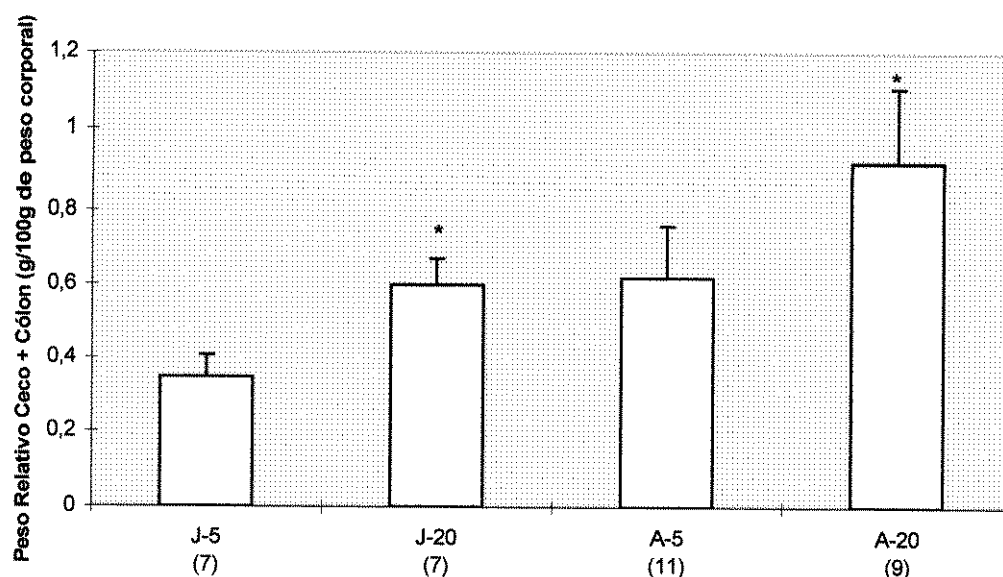


Fig. 8 - Peso relativo do ceco + cólon (g/100 g de peso corporal) ao final do ensaio biológico, dos grupos jovens e adultos que consumiram 5% de microcelulose (J-5 e A-5) e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20).

Valores expressos como média + desvio padrão.

() número de animais

* Diferença significativa ($p < 0,05$) para comparação entre os grupos tratados (J-20 e A-20) e seus respectivos controles (J-5 e A-5).

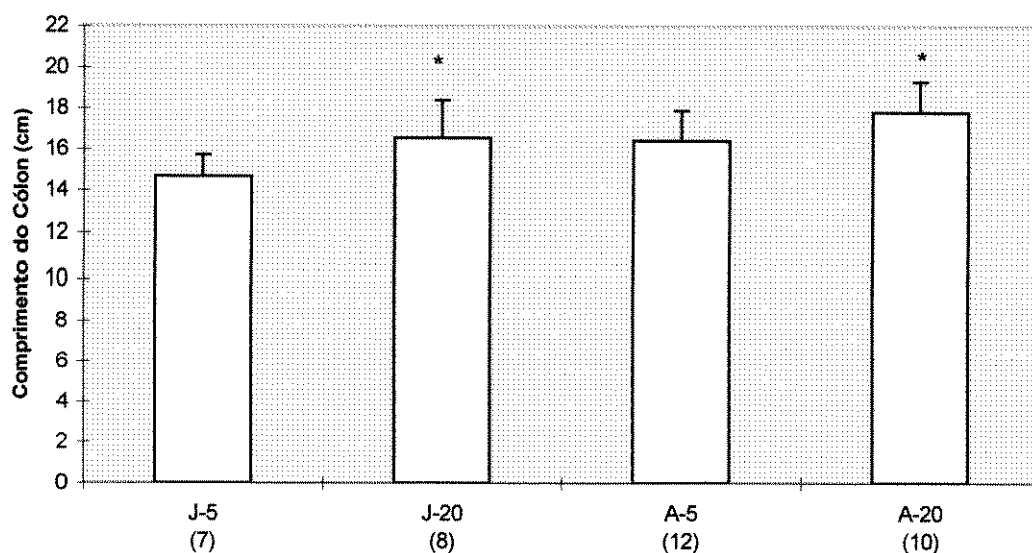


Fig. 9 - Comprimento (cm) do cólon ao final do ensaio biológico, dos grupos jovens e adultos que consumiram 5% de microcelulose (J-5 e A-5) e 20% de polpa de laranja (J-20 e A-20).

Valores expressos como média + desvio padrão.

() número de animais

* Diferença significativa ($p < 0,05$) para comparação entre os grupos tratados (J-20 e A-20) e seus respectivos controles (J-5 e A-5).

2.3 - PARÂMETROS MORFOLÓGICOS

As Fig. 10 e 11 representam a morfologia do intestino delgado dos grupos jovens (J-5 e J-20), enquanto nas Fig. 12 e 13 observamos a morfologia do intestino grosso desses mesmos grupos.

Nas Fig. 14 e 15 observamos a morfologia do intestino delgado dos grupos adultos (A-5 e A-20), enquanto as Fig. 16 e 17 representam a morfologia do intestino grosso desses grupos.

Nossos resultados mostraram um aspecto de normalidade em todos os grupos estudados que se caracterizou pela ausência de descamação do epitélio de revestimento do intestino grossos e da superfície das vilosidades no intestino delgado.

Quanto ao intestino grosso, também foi observado, em todos os grupos experimentais, que o epitélio de revestimento e as glândulas de Lieberkühn permaneceram íntegras.

Contudo, a ingestão de fibras tem sido reportada como indutora de alterações morfológicas no trato intestinal como por exemplo, descamação acentuada da mucosa (TASMAN-JONES et al., 1978; SAVORY, 1992; ROBERFROID, 1993). Em trabalho anterior, AREAS (1994), utilizando a polpa de laranja observou acentuada descamação nos intestinos delgado e grosso dos animais que receberam dieta rica em tal material. Acreditamos que a ausência de alterações morfológicas no trato intestinal dos nossos animais deveu-se, principalmente, às características granulométricas da polpa de laranja utilizada na dieta. Assim, como o nosso material era constituído, principalmente, por partículas menores do que aquelas que constituíam o material utilizado por AREAS (1994), o efeito do atrito das partículas proporcionando descamação celular nos intestinos delgado e grosso não foi relevante.

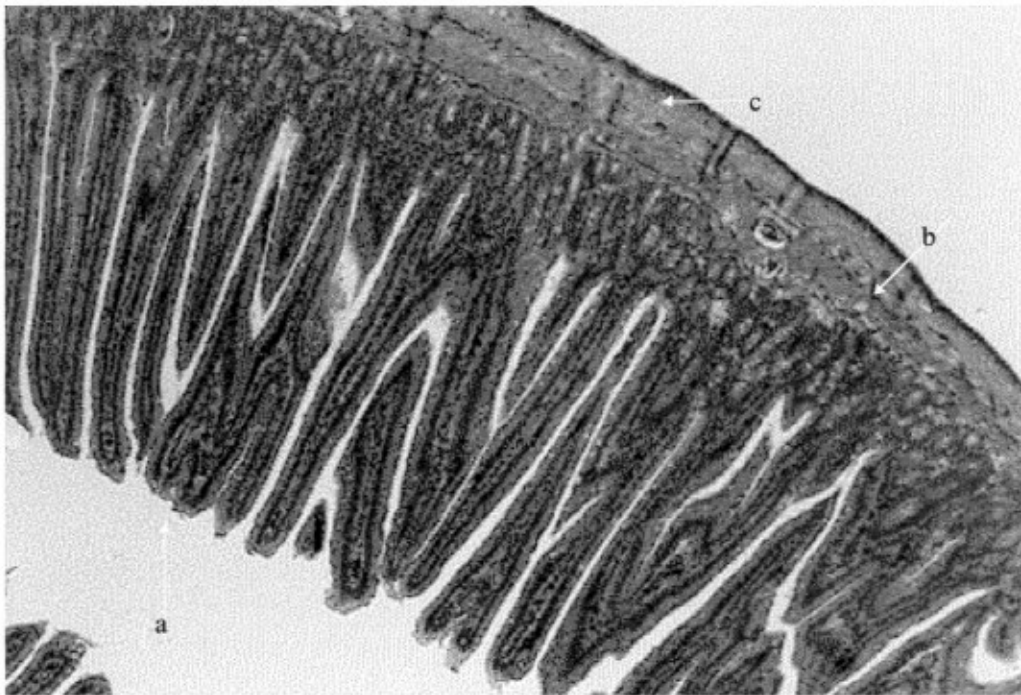


Fig.10 - Fotomicrografia do intestino delgado do grupo jovem controle (J-5) que consumiu dieta contendo 5% de microcelulose, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).

Fixador: Bouin

Coloração: tricrômio de Gomori

Aumento: 81x



Fig. 11 - Fotomicrografia do intestino delgado do grupo jovem tratado (J-20) que consumiu dieta contendo 20% de polpa de laranja, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).

Fixador: Bouin

Coloração: tricrômio de Gomori

Aumento: 160x

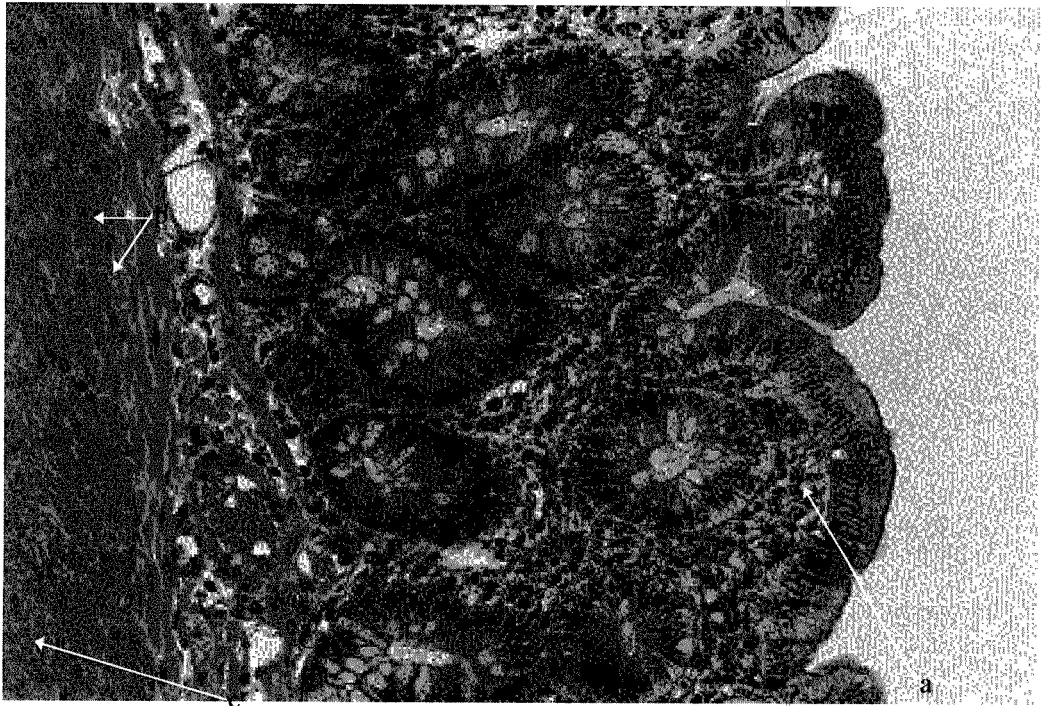


Fig. 12 - Fotomicrografia do intestino grosso do grupo jovem controle (J-5) que consumiu dieta contendo 5% de microcelulose, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).

Fixador: Bouin

Coloração: tricrômio de Gomori

Aumento: 160x

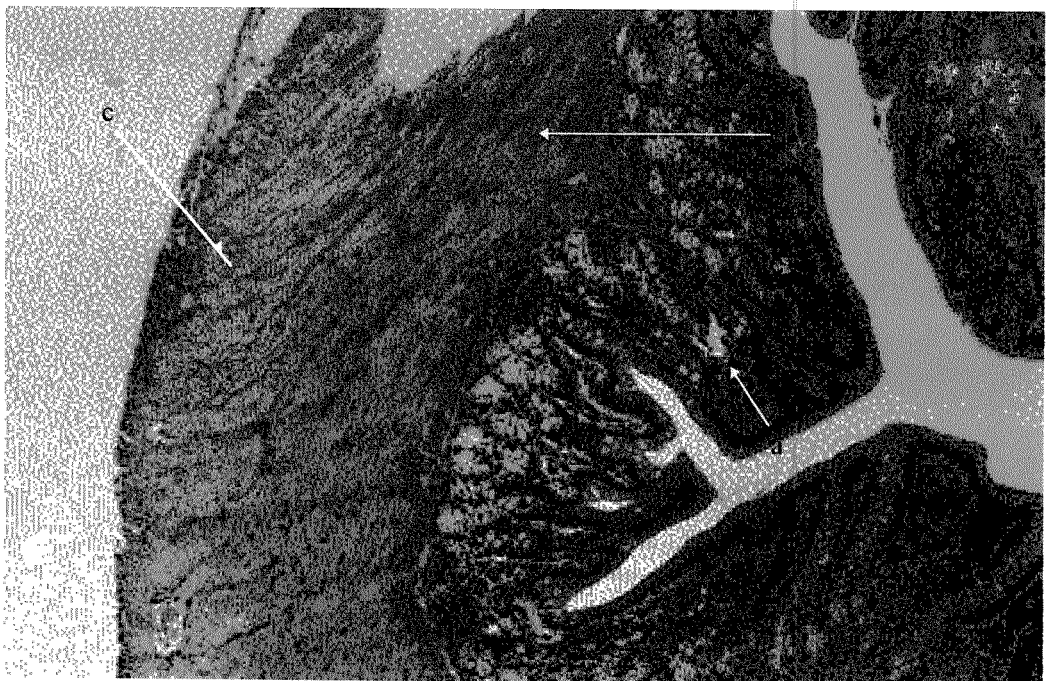


Fig. 13 - Fotomicrografia do intestino grosso do grupo jovem tratado (J-20) que consumiu dieta contendo 20% de polpa de laranja, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).

Fixador: Bouin

Coloração: tricrômio de Gomori

Aumento: 81x

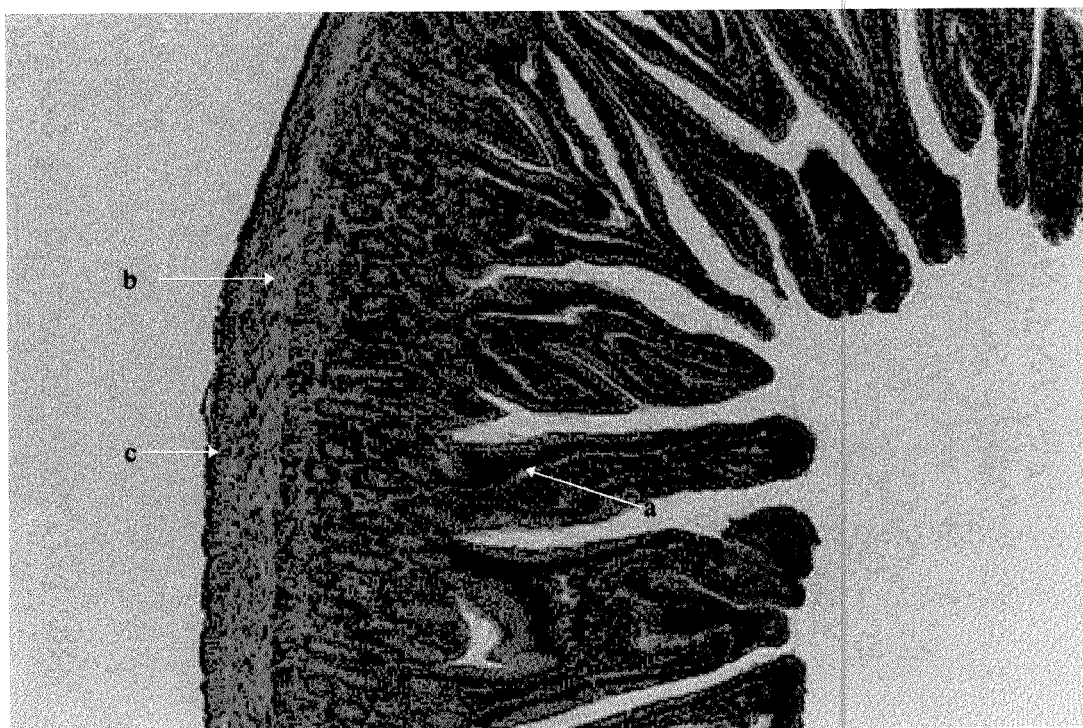


Fig. 14 - Fotomicrografia do intestino delgado do grupo adulto controle (A-5) que consumiu dieta contendo 5% de microcelulose, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).

Fixador: Bouin

Coloração: tricrômio de Gomori

Aumento: 81x

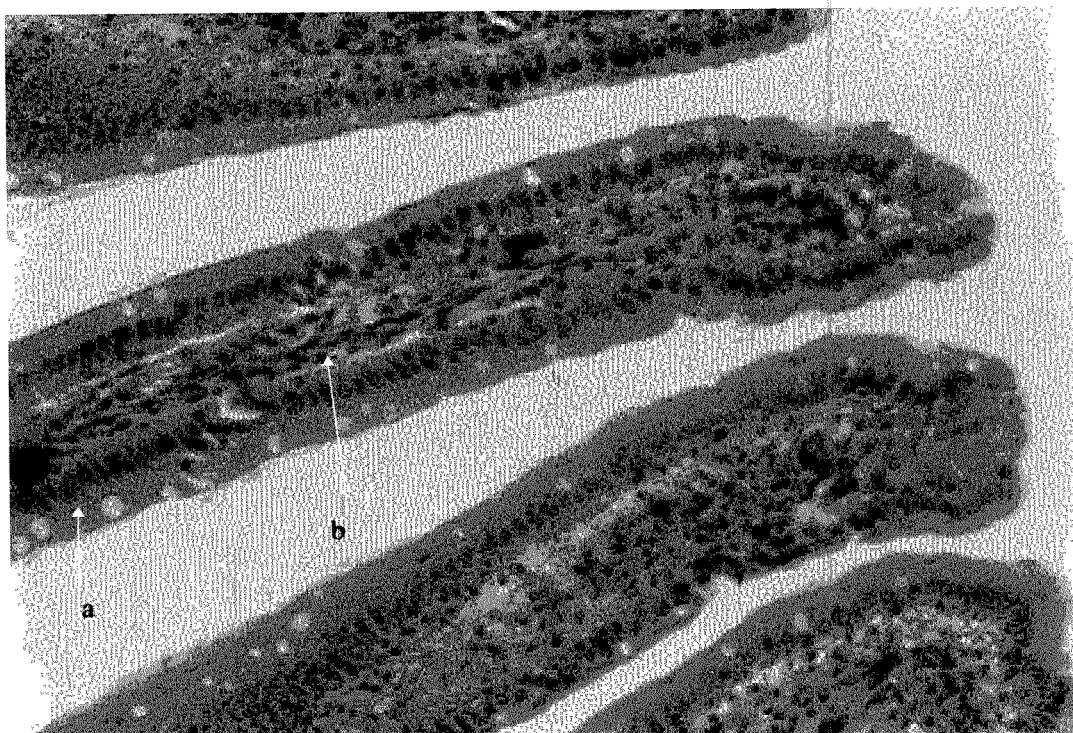


Fig. 15 - Fotomicrografia do intestino delgado do grupo tratado (A-20) que consumiu dieta contendo 20% de polpa de laranja, mostrando o epitélio absorptivo (a), célula caliciforme (b) e lâmina própria.

Fixador: Bouin

Coloração: tricrômio de Gomori

Aumento: 320x

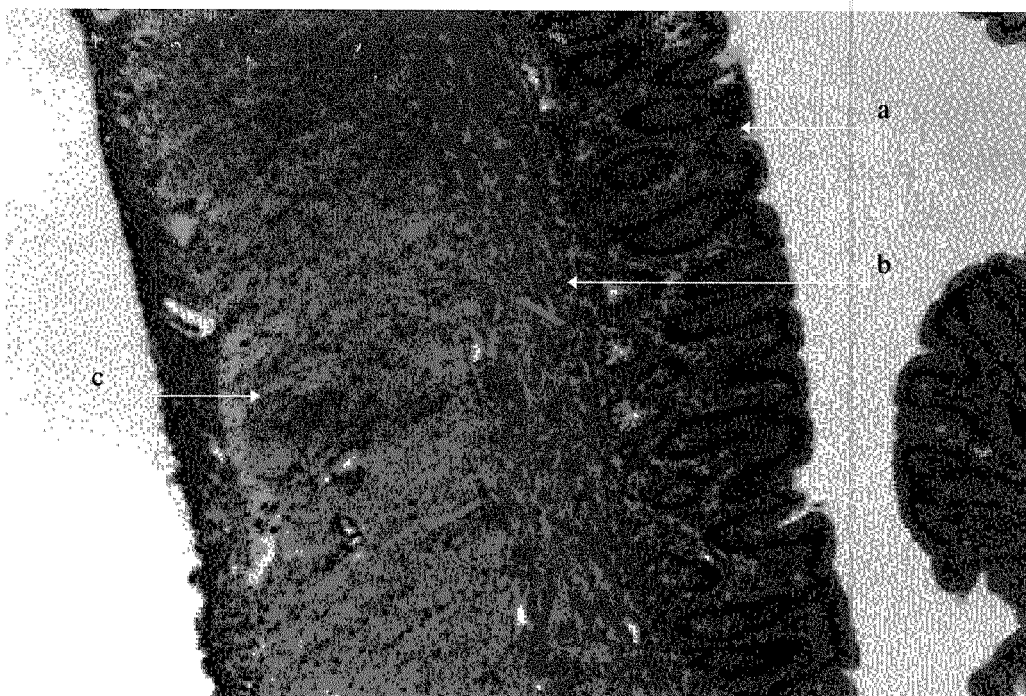


Fig. 16 - Fotomicrografia do intestino grosso do grupo adulto controle (A-5) que consumiu dieta contendo 5% de microcelulose, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).

Fixador: Bouin

Coloração: tricrômio de Gomori

Aumento: 160x

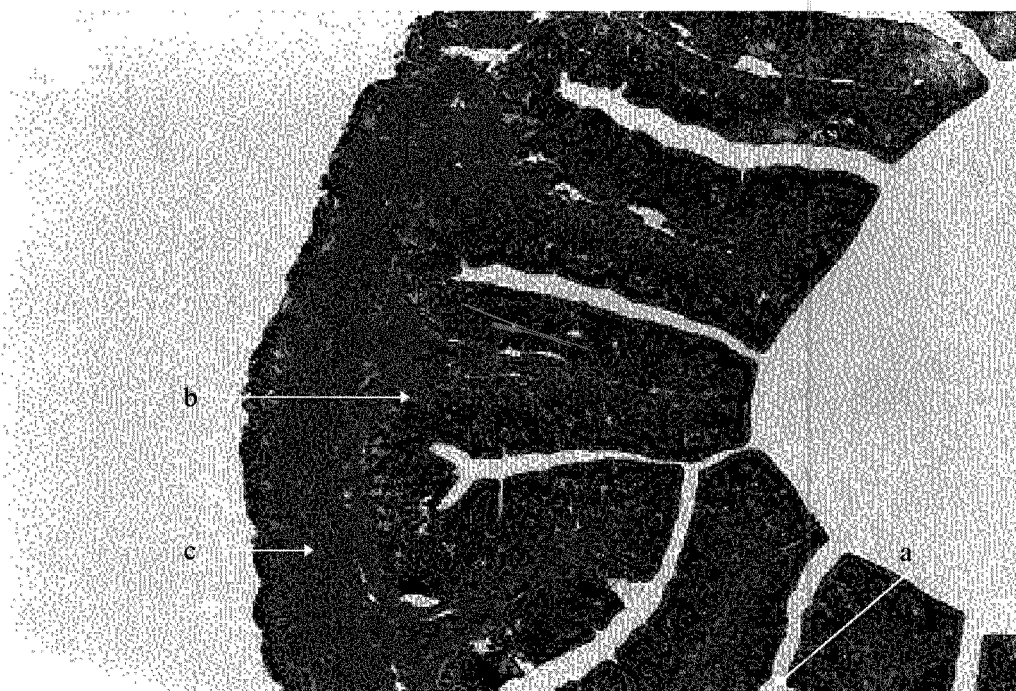


Fig. 17 - Fotomicrografia do intestino grosso do grupo adulto tratado (A-20) que consumiu dieta contendo 20% de polpa de laranja, mostrando as camadas da mucosa (a), submucosa (b) e muscular (c).

Fixador: Bouin

Coloração: tricrômio de Gomori

Aumento: 81x

2.4 - TAXA DE ABSORÇÃO INTESTINAL DE GLICOSE E METIONINA

Na Fig. 18 estão representados os valores da taxa de absorção intestinal de glicose sem a presença da polpa de laranja na solução perfundida nos grupos jovens (J-5 e J-20) e adultos (A-5 e A-20). Na Fig. 19 estão representados os valores da taxa de absorção intestinal de glicose com a presença da polpa de laranja na solução perfundida nos grupos jovens (J-5 e J-20).

A Fig. 20 representa os valores da taxa de absorção intestinal de metionina sem a presença da polpa de laranja na solução perfundida nos grupos jovens (J-5 e J-20) e adultos (A-5 e A-20). A Fig. 21 representa os valores da taxa de absorção intestinal de metionina com a presença da polpa de laranja na solução perfundida nos grupos jovens (J-5 e J-20).

Nossos resultados mostraram que não foram observadas diferenças significativas na absorção intestinal de glicose e metionina perfundidas sem o material fibroso (Fig. 18 e 20); contudo, os grupos J-20 (glicose e metionina) e A-20 (metionina) apresentaram tendência à valores inferiores em relação aos seus respectivos controles.

Embora a dieta rica em polpa de laranja não tenha provocado lesões nas vilosidades intestinais, o aumento na extensão e peso dos intestinos, assim como (provavelmente) na espessura, pode ter refletido em redução da biodisponibilidade do conteúdo intestinal (SAVORY, 1992) contribuindo para uma tendência à menor taxa de absorção intestinal de glicose e metionina nos animais alimentados com dieta contendo 20% de polpa de laranja, mesmo na ausência do material fibroso, durante o teste de perfusão intestinal. Tais resultados vão ao encontro dos obtidos após sobrecarga oral de glicose sem a presença de PL(G.T.T.), onde vimos que os animais jovens (J-20) alimentados a longo prazo com dieta rica em fibras, tiveram menor elevação da glicemia em relação ao grupo controle (J-5). Assim, é provável, que os animais jovens que receberam dieta rica em fibras a longo prazo apresentaram adaptações orgânicas que contribuíram para uma menor resposta glicêmica.

Por outro lado, verificaram-se diferenças significativas nas taxas de absorção desses nutrientes (glicose e metionina) nos grupos J-5 e J-20 quando foram submetidos à perfusão intestinal com a presença da polpa de laranja na solução (Fig. 19 e 21). Tais efeitos podem ser atribuídos à alta capacidade de hidratação da polpa de laranja que,

fixando moléculas de água à sua matriz fibrosa, pode ter aumentado a viscosidade do conteúdo intestinal dificultando a ação das enzimas digestivas (SCHNNEMAN, 1987 e 1989; EDWARDS, 1990; BACH-KNUDSEN et al., 1993; LECLÈRE et al., 1994). Além disso, é provável que tenha havido alterações na motilidade intestinal reduzindo o tempo de contato dos nutrientes junto às camadas absorptivas da mucosa intestinal (BLACKBURN et al., 1984; MORGAN et al., 1985).

Da mesma forma, a redução da taxa de absorção intestinal de metionina acrescida da polpa de laranja na solução perfundida (Fig.21) pode ter sido ocasionada pelos mesmos fatores anteriormente discutidos em relação à glicose.

De fato, SANDBERG et al. (1983) descreveram que a introdução de pectina na dieta humana interferiu na digestão e absorção intestinal tanto da proteína da dieta quanto da endógena. KELSAY et al. (1978), em estudo com humanos, demonstraram que há um significativo aumento na excreção de nitrogênio fecal e uma diminuição na digestibilidade aparente da proteína nos indivíduos alimentados com dieta rica em fibras.

Também há indicações de que a fibra pode interferir na atividade de enzimas proteolíticas (SCHWEIZER & WURSCH, 1991). Assim, as holoceluloses (celulose e hemicelulose), "*in vitro*", mostraram um pequeno efeito na digestibilidade da caseína quando comparadas com a pectina. De fato, resíduos ácidos de pectina podem formar complexos com enzimas e/ou substratos, reduzindo, assim, a extensão da hidrólise da caseína. Devemos recordar que a polpa de laranja em estudo apresentou alto teor de substâncias pécticas e, portanto, essa característica pode ter contribuído para os valores obtidos com o teste de perfusão intestinal.

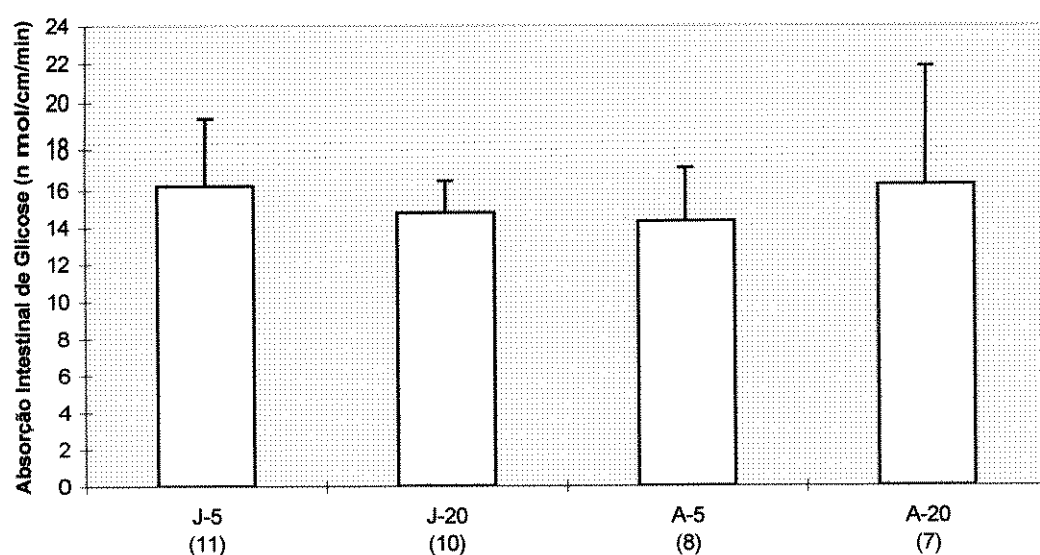


Fig. 18 - Absorção intestinal de glicose (nmol/cm/min) perfundida sem a polpa de laranja nos grupos de animais jovens (J-5 e J-20) e adultos (A-5 e A-20).

Valores expressos como média + desvio padrão.

() número de animais.

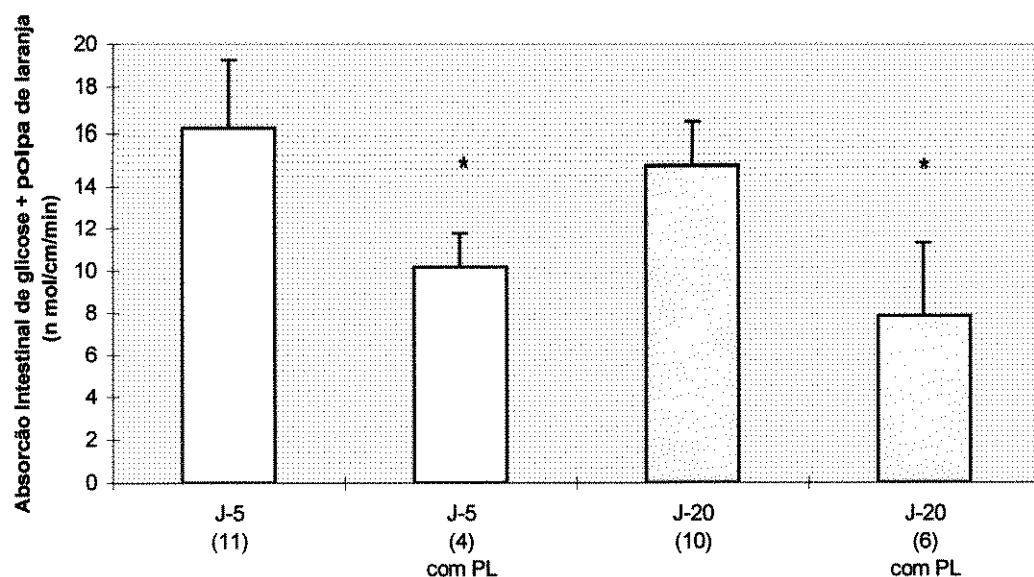


Fig. 19 - Absorção intestinal de glicose (nmol/cm/min) perfundida com a polpa de laranja nos grupos de animais jovens (J-5 e J-20).

Valores expressos como média + desvio padrão.

() número de animais.

* Diferença significativa ($p < 0,05$) para comparação do grupo J-5 com PL e J-5 e J-20 com PL e J-20

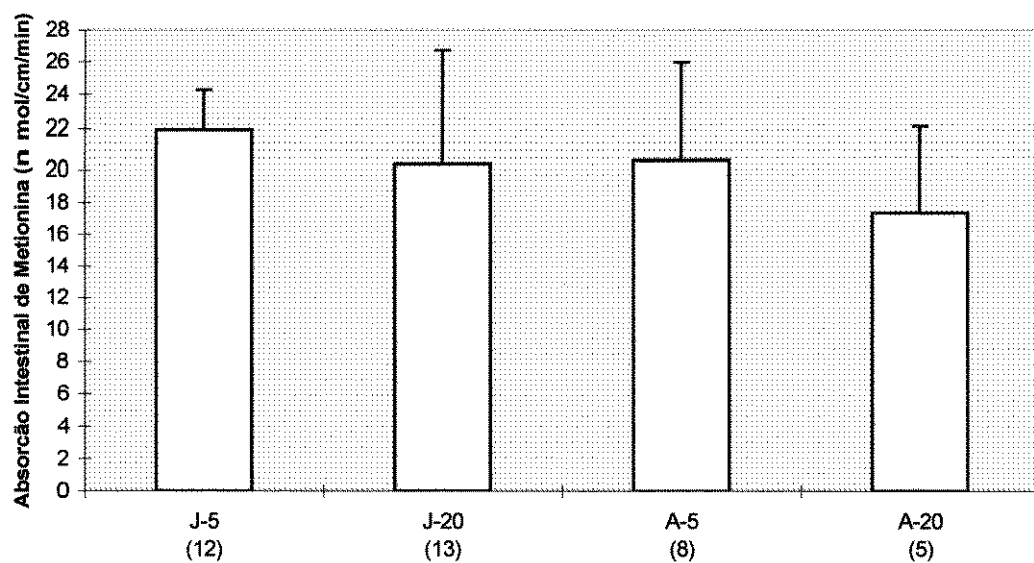


Fig. 20 - Absorção intestinal de metionina (nmol/cm/min) perfundida sem a polpa de laranja nos grupos de animais jovens (J-5 e J-20) e adultos (A-5 e A-20).

Valores expressos como média + desvio padrão.

() número de animais.

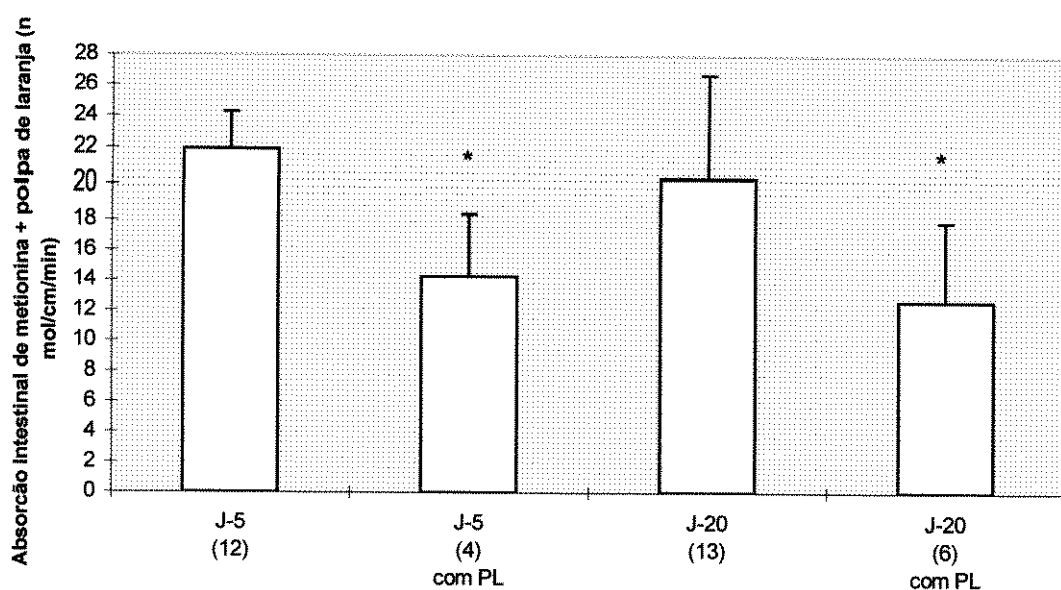


Fig. 21 - Absorção intestinal de metionina (nmol/cm/min) perfundida com a polpa de laranja nos grupos de animais jovens (J-5 e J-20).

Valores expressos como média + desvio padrão.

() = número de animais.

* Diferença significativa ($p < 0,05$) para comparação do grupo J-5 com PL e J-5 e J-20 com PL e J-20

V - CONCLUSÃO

A polpa de laranja utilizada neste estudo:

- a - apresentou elevada capacidade de hidratação (Ch) e densidade aparente (Da), sendo constituída principalmente por partículas de tamanhos médio e pequeno;
- b - reduziu os níveis glicêmicos após 30 e 60 minutos da sobrecarga oral de glicose + PL, durante o G.T.T.;
- c - reduziu o ganho de peso corpóreo nos animais jovens;
- d - não alterou a morfologia das vilosidades intestinais e epitélio de revestimento do intestino grosso; aumentou o peso relativo e o comprimento do intestino grosso dos grupos jovens e adultos; aumentou o peso relativo do intestino delgado do grupo jovem;
- e - reduziu a absorção intestinal “*in vivo*” de glicose e metionina quando perfundida juntamente com esses nutrientes;

Tais efeitos podem ser creditados à elevada capacidade de hidratação da polpa de laranja proporcionando, provavelmente, retardo da taxa de esvaziamento gástrico e redução da absorção intestinal de nutrientes da dieta. As características físico-químicas dessa fonte de fibras não permitiram que ocorressem lesões nas mucosas dos intestinos delgado e grosso, promovendo, contudo, alterações adaptativas com reflexo no peso e extensão dos mesmos.

Portanto, a polpa de laranja utilizada neste experimento poderia ser recomendada como recurso preventivo e/ou terapêutico em determinadas patologias, tais como diabetes e obesidade, tendo em vista seus efeitos sobre a biodisponibilidade dos nutrientes estudados.

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

- ACEVEDO, E. & BRESSANI, R. - Igestion de fibra dietética en los países del istmo centroamericano: Implicaciones. **Archivos Latino-americanos de Nutrición**, 39: 392-404, 1989.
- ACTON, J.C.; BREYER, L.; SATTERLEE, L.D. - Effect of dietary fiber constituents on the *in vitro* digestibility of casein. **J. Food. Sci.**, 47: 556-560, 1982.
- AMES, B.N. & GOLD, L.S. - Too many rodent carcinogens: mitogenesis increases. **Science**, 249: 970-997, 1990.
- ANDERSON, J.W. - Fiber and health: an overview. **Am. J. Gastroenterol.**, 81: 892-897, 1986.
- ANDERSON, J.W.; DEAKINS, D.A.; FLOORE, T.L.; SMITH, B.M.; WHITIS, S.E. - Dietary fiber and coronary heart disease. **Crit. Rev. Food. Sci Nutr.**, 29: 95-147, 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. 158 p.
- 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.; REEVES, R.D. - Soluble dietary fiber and cholesterol influence *in vivo* hepatic and intestinal cholesterol biosynthesis in rats. **J. Nutr.**, 122: 1559-1565, 1992b.

* De acorco com:

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

- 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.*, 2: 11-13, 1992.
- CAVAGLIERI-FELIPPE, C.R. - **Efeito das dietas ricas em fibras sobre o metabolismo de linfócitos e macrófagos.** São Paulo, 1997. Tese (Doutorado), Inst. Cienc. Biomédicas, Universidade de São Paulo. 173 p.
- CAVAGLIERI-FELIPPE, C.R.; POLACOW, M.L.O.; CAMPOS, M.R.; VECCHIA, M.G.; CURI, R. - Wheat bran-but not cat bran - enriched diets increase the mucosal weight of the cecum and colon of newly weaned and aged rats. *Braz.J.Med.Biol. Res.*30:1017-1022, 1997.
- CAVALCANTI, M.L. - Fibras alimentares. *R. Nutr. PUCCAMP*, Campinas, 2: 88-97, 1989.
- CHEN, J.Y.; PIVA, M.; LABUZA, T.P. - Evaluation of water binding capacity of food fiber sources. *J. Food. Sci.*, 49: 59-63, 1984.
- CHERBUT, C.; DESVARANNES, S.B.; SCHNEE, M.; RIVAL, M.R.; GALMICHE, J.P.; DELORT-LAVAL, J. - Involvement of small intestinal motility in blood glucose response to dietary fibre in man. *Br. J. Nutr.*, 71: 675-685, 1994.
- CUMMINGS, J.H. & MACFARLANE, G.T. - The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J. Appl. Bact.*, 70 : 443-459, 1991.
- DAUMENIE, C. & HENQUIM, J.C. - Acute effects of guar gum on glucose tolerance and intestinal absorption of nutrients in rats. *Diabete e Metabolisme*, 8: 1-5, 1982.
- DONANGELO, C.M. & EGGUM, B.O. - Comparative effects of wheat bran and barley husk on nutrient utilization in rats. Protein and energy. *Brit. J. Nutr.*, 54: 741-751, 1985.
- DORGAN, J.F.; REICHMAN, M.E.; JUDD, J.T.; BROWN, C.; LONGCOPE, C.; SCHATZKIN, A.; FORMAN, M.; CAMPBELL, W.S.; FRANZ, C.; KAHLE, L.; TAYLOR, P.R. - Relation of energy, fat, and fiber intakes to plasma concentrations of estrogens and androgens in premenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.*, 64 : 25-31, 1996.
- EASTWOOD, M.A. - The physiological effect of dietary fiber: an update. *Ann. Rev. Nutr.*, 12: 19-35, 1992.

- EDWARDS, C.A. - The mechanisms of action of dietary fibre in promoting colonic propulsion. **Scand. J. Gastroenterol.**, **22** (suppl. 129): 97, 1987.
- EDWARDS, C.A. - Mechanisms of action on dietary fibre on small intestinal absorption and motility. In: FURDA, L. & BRINE, C.J. **New Developments in Dietary Fiber. Physiological, Physicochemical and Analytical Aspects**. New York, Plenum Press, 1990. p. 95-104.
- EDWARDS, C.A. & ROWLAND, L.R. - Bacterial Fermentation in the colon and its measurement. In: SCHWEIZER, T.F. & EDWARDS, C.A. **Dietary Fibre - A Component of Food..** London, Springer-Verlag, 1992. p. 119-136.
- EGGUM, B.O. - The influence of dietary fibre on protein digestion and utilization. In: SCHWEIZER, T.F. & EDWARDS, C.A. **Dietary Fibre - A Component of Food**. London, Springer-Verlag, 1992. p.153-161.
- ENGLYST, H.N. & CUMMINGS, J.H. - Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in the human small intestine. **Am. J. Clin. Nutr.**, **42**: 778, 1985.
- ERDMAN, J.W. - Oilseed phytates: nutritional implications. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **56** (8): 736-741, 1979.
- FERGUSON, L.R. & HARRIS, P.J. - Studies on the role of specific dietary fibres in protection against colorectal cancer. **Mutation Res.**, **350** : 173-184, 1996.
- FERGUSON, L.R.; ROBERTON, M.E.; WATSON, K.P.; HARRIS, P.J. - The adsorption of a range of dietary carcinogens by α -cellulose, a model insoluble dietary fiber. **Mutation Res.**, **319** : 257-266, 1993.
- FLEURY, N. & LAHAYE, M. Chemical and physico-chemical characteristics of fibres from *Laminaria digitata* (Kombu breton). **Sci. Food. Agric.**, **55**: 389-400, 1991.
- FLOURIE, B.; VIDO, N.; FLORENT, C.; BERNIER, J.J. - Effects of pectin on jejunal glucose absorption and unstirred layer thickness in normal man. **Gut**, **25**: 936-941, 1984.
- FRITZ, M.; SIEBERT, G.; KASPER, H. - Dose dependence of breath hydrogen and methane in health volunteers after ingestion of a commercial disaccharide mixture. **Br. J. Nutr.**, **54**: 389-400, 1985.
- FROLICH, W.; ASP, N.G. - Mineral and phytate in the analysis of dietary fiber from cereals. **Cereal Chem.**, **62** (4): 238-242, 1985.

- FUKAGAWA, N.K.; ANDERSON, J.W.; HAGEMAN, G.; YOUNG, V.R.; MINAKER, K.L. - High carbohydrate, high fiber diets increase peripheral insulin sensitivity in health young and old adults. **Am. J. Clin. Nutr.**, **52**: 524-528, 1990.
- GAD, S.C. & WEIL, C.S. - Statistics for toxicologist. In: HAYES, A.W. - **Principles and Methods of Toxicology**. New York, Raven Press, 1994. p.221-274.
- GAIL, M.H.; BUNTON, L.A.; BYAR, D.P.; CORLE, D.K.; GREEN, S.B.; SCHAIRER, C. - Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. **J. Nat. Cancer Inst.**, **81** : 1879-1886, 1989.
- GALLAHER, D. & SCHNEEMAN, B.O. - Effect of dietary fiber on protein digestibility and utilization. In: SPILLER, G.A. **Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition**, CRC Press, Boca Raton, 1986. p.143-164.
- GLICKSMAN, M. - ed. **Food Hydrocolloids**, vol. 2, Boca Raton, FL, CRC Press., 1983. p.199.
- GLICKSMAN, M. - ed. **Food Hydrocolloids**, vol. 3, Boca Raton, FL, CRC Press., 1986. p.247.
- GOLDIN, B.R.; ADLERCREUTZ, H.; GORBACH, S. L.; WARRAM, J.D.; DWYER, J. T., CONLON T. - Estrogen excretion patterns and plasma levels in vegetarian and omnivorous women. **N. Engl. J. Med.**, **307** : 1542-1547, 1982.
- GOLDIN, B.R.; WOODS, M.N.; SPIEGELMAN, D. L.; LONGCOPE, C.; MORRILLABRODE, A.; DWYER, J.T.; GUALTIERI, L.J.; HERTZMARK, E.; GORBACH, S.L. - The effect of dietary fat and fiber on serum estrogen concentrations in premenopausal women under controlled dietary conditions. **Cancer**, **74** (suppl. 3) : 1125-1131, 1994.
- GOMES-MARCONDES, M.C.C.; HONMA, H.N.; AREAS, M.A.; CURY, L. - Effect of Walker 256 tumor growth on intestinal absorption of leucine, methionine and glucose in newly-weaned and mature rats. **Braz. J.**, 1997 (em publicação).
- GONÇALVES, E.M. - **Efeito da polpa de laranja sobre o crescimento e a gestação em ratas alimentadas com dietas normo e hipoproteicas**. Campinas, 1996. Tese (Mestrado), Inst. Biologia, Universidade Estadual de Campinas. 92 p.
- GOODLAD, J.S. & MATHERS, J.C. - Large bowel fermentation in rats given diets containing raw peas (*Pisum sativum*) . **Brit. J. Nutr.**, **64**: 569-587, 1990.

- GORDON, D.T. - Functional properties vs physiological action of total dietary fiber. **Cereal Foods World**, **34** (7): 517-525, 1989.
- GORDON, G.B.; BUSH, T.L.; HELZLSouer, K. J.; MILLER, S.R.; COMSTOCK, G.W. - Relationship of serum levels of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate to the risk of developing postmenopausal breast cancer. **Cancer Res.**, **50** : 3859-3862, 1990.
- GOTTO, A.M. - Interactions of the major risk factors for coronary hear disease. **Am. J. Med.**, **80** (suppl. 2A): 48, 1986.
- HARMUTH-HOENE, A.E. & SCHERDTFEGER, E. - Effect of indigestible polysaccharides on protein digestibility and nitrogen retencion in growing rats. **Nutr. Metab.**, **23**: 399, 1979.
- HARRIS, P.J.; FERGUSON, L.R. - Dietary fibre: its composition and role in protection against colorectal cancer, **Mutation Res.**, **290** : 97-110, 1993.
- HARTLEY, R.D. - A lignin fraction of plant cell walls. **Am. J. Clin. Nutr.**, (suppl. 31): 90-93, 1978.
- HELLENDORRN, 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
- HELLER, S.N.; HACKLER, L.R.; RIVERS, J.M.; VAN SOEST, P.J.; ROE, D.A.; LEWIS, B.A.; ROBERTSON, J. Dietary Fiber: The effect of particle size of wheat bran on colonic function in young aadult men. **Am. J. Clin. Nutr.** **33**: 11734, 1980.
- HINTON, C.L. - **Fruit pectins. Their chemical behavior and jelling properties**. New York, Chemical Publishing Co. p.45, 1940.
- HIPSLEY, E.H. - Dietary "fiber" and pregnancy toxemia. **Brit. Med. J.**, **22**: 420-422, 1953.
- HOLT, S.; HEADING, R.C.; CARTER, D.C. Effect of gel fiber on gastric emptying and absorption of glucose and paracetamol. **Lancet** **1**: 636-639, 1979.
- HOVERSTAD, T. & BJORNEKLETT, A. - Short chain fatty acids and bowel functions in man. **Scand. J. Gastroenterol.**, **19**: 1059, 1984.
- IDE, T.; MORIUCHI, H.; NIHIMOTO, K. - Hypolipidemic effect of guar gum and its enzyme hydrolisate in rats fed highly saturated fat diets. **Ann. Nutr. Metab.**, **35**: 34-44, 1991.

- IKEDA, L.; 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.
- INGRAM, D.M.; BENNETT, F.C.; WILLCOX, D.; DE KLERK, N. - Effect of low-fat diet on female sex hormone levels. **J. Natl. Cancer Inst.**, **79**: 1225-1229, 1987.
- JACOBS, L.R. & LUPTON, J.R. - Relationship between colonic luminal pH, cell proliferation and colon carcinogenesis in 1,2-dimethylhydrazine treated rats fed high fiber diets, **Cancer Res.**, **46** : 1727-1734, 1986.
- JACOBS, R.R. & WHITW, F.A. - Modulation of mucosal cell proliferation in the intestine of rats fed a wheat bran diet. **Am. J. Clin. Nutr.**, **37**: 945, 1983.
- JENKINS, D.J.; JENKINS, A.L.; WOLEVER, T.M.S.; COLLIER, G.R.; RAO, A.V.; THOMPSON, L.U. - Starchy foods and fiber: reduced rate of digestion and improved carbohydrate metabolism. **Scand. J. Gastroenterol.**, 132-141, 1987.
- JENKINS, D.J.A.; LEEDS, A.R.; GASSUL, M.A.; COCHET, B; ALBERTI, G.M.M. - Decreased in postprandial insulin and glucose concentrations by guar and pectin. **Ann. Int. Med.**, **86**: 20-23, 1977.
- JENKINS, D.J.A.; LEEDS, A.R.; NEWTON, C.; CUMMINGS, J.H. - Effect of pectin, guar gum, and wheat fiber on serum-cholesterol. **Lancet**, **1**: 1116, 1975.
- JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; LEEDS, A.R.; GASSULL, M.A.; HAISMAN, P.; DILAWARI, J.; GOFF, D.V.; METZ, G.L.; ALBERTI, K.G.M.M. Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: importance of viscosity. **Br. Med. J.**, **1**: 1392-1394, 1978.
- JOHNSON, T.O. & GEE, J.M. - Gastrointestinal adaptation in response to soluble non-available polysaccharides in the rat. **Br. J. Nutr.**, **55**: 497-505, 1986.
- JORGENSEN H.; ZHAO, X.; KNUDSEN, K.E.B.; EGGUM, B. - The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal tract, digestibility and energy metabolism in broiler chickens. **Brit. J. Nutr.**, **75**: 379-395, 1996a.
- JORGENSEN H.; ZHAO, X; EGGUM, B.O. - The influence of dietary fibre and environmental temperature on the development of the gastrointestinal tract, digestibility, degree of fermentation in the hind-gut and energy metabolism in pigs. **Brit. J. Nutr.**, **75**: 365-378, 1996b.

- JULIANO, B.O. - Properties of rice caryopsis. In: LUH, B.H. **Rice: Production and Utilization**. Westport, AVI Publishing Company, 1980. p.403-438.
- KELSAY, J.L.; BEHALL, K.M.; PRATHER, E.S. - Effect of fiber from fruits and vegetables on metabolic responses of human subjects. I. Bowel transit time, number of defecations, fecal weight, urinary excretions of energy and nitrogen and apparent digestibilities of energy, nitrogen, and fat. **Am. J. Clin. Nutr.**, **31**: 1149, 1978.
- 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.
- KIRWAN, W.O.; SMITH, A.N.; McCONNELL, A.A.; MITCHELL, W.D.; EASTWOOD, M.A. Action of different bran preparations on colonic functions. **Br. Med. J.** **4**, 5938:187, 1974.
- KRITCHEVSKY, D. - Physiological and metabolical effects of dietary fiber. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, **180**: 407-498, 1985.
- LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W.; FILISETTI-COZZI, T.M. C. C. - Considerações sobre carboidratos e fibras. **Arch. Latinoamericanas Nutr.**, **38**: 519-542, 1988.
- LECLÈRE, C.J.; CHAMP, M.; BOILLOT, J.; GUILLE, G.; LECANNU, G.; MOLIS, C.; BORNET, F.; KREMPF, M.; DELORT-LAVAL, J.; GALMICHE, J.P. - Role of viscous guar gum in lowering the glycemic response after a solid meal. **Am. J. Clin. Nutr.**, **59**: 914-921, 1994.
- LEEDS, A.R.; EBIED, F.; RALPHS, D.N.L.; METS, G.; DILAWAR, J.B. - Pectin in the dumping syndrome reduction of symptoms and plasma volume changes. **Lancet**, **16**: 1075-1078, 1981.
- LIU, Z.Q.; CHAO, C.S.; WU, H.W. - Investigation of the effect of a diet with wheat bran on the metabolic balances of Zn, Cu, Ca and Mg in diabetics. **Chung Hua Nei Ko Tsa Chih**, **28**: 741-744, 1989.
- LUND, E.K.; GEE, J.M.; BROWN, J.P.; JOHNSON, I.T. - Effect of oat gum on the physical properties of the gastrointestinal contents and on the uptake of D-galactose and cholesterol by rat small intestine *in vitro*. **Br. J. Nutr.**, **62**: 91-101, 1989.
- MADAR, Z. & ODES, H.S. Dietary fiber research, **Basal Karger**, p.144, 1990.
- MARLETT, J.A. - Analysis of dietary fiber in human foods. In: KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C. & ANDERSON, J.W. - **Dietary Fiber - Chemistry, Physiology and Health Effects**. New York, Plenum Press, 1990. p. 157-166.

- MARLETT, J.A. - Content and composition of dietary fiber in 117 frequently consumed foods. **J. Am. Diet. Assoc.**, **92**: 175-186, 1992.
- McBURNEY, M.I. & THOMPSON, L.U. - Fermentative characteristics of cereal brans and vegetable fibers. **Nutr. Cancer**, **13** : 271-280, 1990.
- McCARTHY, T.E. & SULLIVAN, M. - A new highly specific colourimetric test for methionine. **J. Biol. Chem.**, **141**: 871-876, 1941.
- McCOMB, E.A. & McCREADY, R.M. - Colorimetric determination of pectic substances, **Anal. Chem.**, **24** (10): 1630-1632, 1952.
- McINTYRE, A.; GIBSON, P.R.; YOUNG, G.P. - Butyrate production from dietary fibre and protection against large bowel cancer in a rat model. **Gut**, **34**: 386-391, 1993.
- MILLER, T.L. & WOLIN, M.J. - Fermentation by saccharolytic intestinal bacteria. **Am. J. Clin. Nutr.**, **32**: 164, 1979.
- MIYOSHI, H.; OKUDA, T.; OI, Y.; KOISHI, H. Effects of rice fiber on fecal weight, apparent digestibility of energy, nitrogen and fat, and degradation of neutral detergent fiber in young men. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.**, **32**: 581-589, 1986.
- MONGEAU, R.; BRASSAR, R. Insoluble Dietary Fiber from breakfast and brans: bile salt binding and water-holding capacity in relation to particle size. **Cereal Chem.**, **59**: 413-417, 1982.
- MONGEAU, R.; BRASSARD, R.; MALCOLM, S.; SHAH, B.G. Effect of dietary cereal brans on body weight and blood lipids in a long-term rat experiment. **Cereal Chem.**, **68**: 448-453, 1991.
- MORGAN, L.M.; TREDGER, J.A.; MADDEN, A.; KWASOWSKI, P.; MARKS, V. - The effect of guar gum on carbohydrate fat and protein-stimulated gut hormone secretion. Modification of postprandial gastric inhibitory peptide and gastrin responses. - **Br J. Nutr.**, **53**: 567, 1985.
- MOSS, R. Gut size and the digestion of fibrous diets by tetraonid birds. **J. Exp. Zool.**, **3**: 61-65, 1989.
- NEWMARK, H.L.; LUPTON, J.R. - Determinants and consequences of colonic luminal pH: implications for colon cancer. **Nutr. Cancer**, **14** : 161-173, 1990.
- O'CONNOR, N.; TREDGER, J.; MORGAN, L. - Viscosity differences between various guar gum. **Diabet.**, **20**: 612, 1981.

- OLSON, A.; GRAY, G.M.; CHIU, M. - Chemistry and analysis of soluble dietary fiber. **Food. Technol.**, February: 71-80, 1987.
- PARROT, M.E. & THRALL, B.E. - Functional properties of various fibers: physical properties. **J. Food Sci.**, **43**: 759-764, 1978.
- PETTERSSON, D. & AMAN, P. - Enzyme supplementation of a rye- and wheat-based broiler chicken diet. **Br. J. Nutr.**, **62**: 139-149, 1989.
- PILCH, S.M. - **Physiological Effects and Health Consequences of Dietary Fiber**. Bethesda, Md:Life Sciences Research Office, Federation of American Societies for Experimental Biology, 1987. p. 149-157.
- RAYMOND, W.F. - The nutritive value of forage crops. **Advan. Agron.**, **21**: 2-5, 1969.
- READ, N.W. & EASTWOOD, M.A. - Gastro-intestinal Physiology and Function. In: SCHWEIZER, T.F. & EDWARDS, C.A. **Dietary Fibre - A Component of Food**. London, Springer-Verlag, 1992. p.103.
- REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C.J. - AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. - **Am. J. Nutr.**, 1939-1951, 1993.
- REYES, F.G.R.; OLIVEIRA, S.P.; AREAS, M.A.; RAMALHO, A.C. - Efeito do resíduo fibroso do milho no tempo de trânsito intestinal de ratos. **Ciêñ.Tecnol.Alim.** **9** (1): 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.
- ROEHRIG, K.L. - The physiological effects of dietary fiber - a review. **Food Hidroc.**, **2**: 1-18, 1988.
- ROSE, D.P. & CONNOLLY, J.M. - Dietary prevention of breast cancer. **Med. Oncol. Tumor Pharmacother.**, **7** : 121-130, 1990.
- ROSE, D.P.; BOYAR, A.P.; WYNDER, E.L. - International comparisons of mortality rates for cancer of the brast, ovary, prostate, and colon, and per capita food consumption. **Cancer**, **58** : 2363-2371, 1986.

- ROSSANDER, L.; SANDBERG, A.S.; SANDSTROM, B. - **Dietary Fibre - A Component of Food**. In: SCHEIZER, T.F. & EDWARDS, C.A. London, Springer-Verlag, 1992. p. 197-216.
- SANDBERG, A.S.; AHDERINNE, R.; ANDERSSON, H.; HALLGREN, B.; HULTEN, L. - The effect of citrus pectin on the absorption of nutrients in the small intestine. **Human. Nutr. Clin.**, **37C**: 171-183, 1983.
- SATCHITHANANDAM, S.; VARGOFCAK-APKER, M.; CALVERT, R.S.; LEEDS, A.R.; CASSIDY, M.M. - Alteration of gastrointestinal mucin by fibre feeding in rats. **J. Nutr.**, **120**: 1179, 1990.
- SAVORY, C.J. - Gastrointestinal morphology and absorption of monosaccharides in fowls conditioned to different types and levels of dietary fibre. **Br. J. Nutr.**, **67**: 77-89, 1992.
- SCHALLER, D. - Analysis of dietary fiber. **Food Prod. Dev.**, **11**: 70-74, 1977.
- SCHNEEMAN, B.O. & GALLAHER, D. - Effects of dietary fiber on digestive enzymes. In: Spiller, G.A. (ed). **Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition**, CRC Press, Boca Raton, 1986. p 305-312,
- SCHNEEMAN, B.O. - Dietary Fiber - A Scientific Status Summary by the Institute of Food Technologists'Expert Panel on Food Safety & Nutrition. **Food Tech.**, October: 133-139, 1989.
- SCHNNEMAN , B.O. - Dietary fiber: Physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. **Food Tech.**, February: 104-109, 1986.
- SCHWARTZ, S.E. & LEVINE, G.D. - Effects of dietary fiber on intestinal glucose absorption and glucose tolerance in rats. **Gastroenterology**, **79**: 37-41, 1980.
- SCHWEIZER , T.F. & WÜRSH, P. - The physiological and nutritional importance of dietary fiber. **Experientia**, **47**: 181-186, 1991.
- SCHWEIZER, T.F. & WURSCH, P. - Analysis of dietary fibre. **J. Sci. Food. Agric.**, **30**: 613-619, 1979
- SCHWEIZER, T.F. & WÜRSH, P. - The physiological and nutritional importance of dietary fiber. **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.
- SHULTZ, T.D. & LEKLEM, J.E. - Nutrient intake and hormonal status of premenopausal vegetarian seventh-day adventists and premenopausal nonvegetarians. **Nut. Cancer**, **4**: 247-259, 1983.
- SLAVIN, J.L. - Dietary fiber: Classification, chemical, analyses, and food sources. **J. Am. Diet. Assoc.**, **87**: 1164-1171, 1987.
- SOUTHGATE, D.A.T. - The definition and analysis of dietary fibre. **Nutr. Rev.**, **35**: 31-37, 1977.
- SOUTHGATE, D.A.T. - The dietary fibre hypothesis: a historical perspective. In: SCHWEIZER, T.F. & EDWARDS, C.A. **Dietary Fibre - A Component of Food**. London, Springer-Verlag, 1992, p.3-19.
- TAKAHASHI, H.; YANG, S.I.; KIM, M.; YAMAMOTO, T. Protein and energy utilization of growing rat fed on diets containing intact or partially hydrolysed guar gum. **Com. Biochem. Physiol. a Comp. Physiol.**, **107**: 255-260, 1994.
- TASMAN-JONES, C.; JONES, A.L.; OWEN, R.L.L. - Jejunal morphological consequences of dietary fiber in rats. **Gastroenterol.**, **74**: 1102, 1978.
- THEANDER, O. & ASMAN, P. - Studies on dietary fibre. A method for the analysis and chemical characterisation of total dietary fibre. **J. Sci. Food. Agric.**, **33**: 340-344, 1982.
- THIBAUT, J.F.; LAHAYE, M.; GUILLON, F. - Physico-chemical properties of food plant cell walls. In: SCHWEIZER, T.F. & EDWARDS, C.A., **Dietary Fibre: A Component of Food**. New York, Springer-Verlag, 1992. p.21-39.
- THOMAS, B. - Beitrage zur nomenklatur und analytische pflanzlicher zellwandsubstanzen. In: SCHWEIZER, T.F. & EDWARDS, C.A. **Dietary Fibre: A Component of Food**. Springer-Verlag, New York, pp. 58-101, 1992.
- THORNTON, J. R. - High colonic pH promotes colorectal cancer. **Lancet**, 1081-1082, 1981.
- TOMLIN, J. & READ, N.W. - The effect of inert plastic particles on colonic function in human volunteers. **Br. Med. J.**, **297** : 1175-1176, 1988.

- TONIOLO , P.G.; LEVITZ, M.; ZELENIUCH-JACQUOTTE, et al. - A prospective study of endogenous estrogens and breast cancer in postmenopausal women. **J. Natl. Cancer Inst.**, **87** : 190-197, 1995.
- TORSODOTTIR, I.; ALPSTEN, M.; ANDERSON, H.; EINARSSON, S. Dietary guar gum effects on postprandial blood glucose, insulin and hydroxyproline in humans. **J. Nutr.**, **119**: 1925-1931, 1989.
- TRINDER, P. - Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. **J. Clin. Pat.**, **22**: 158-161, 1969.
- TROWELL, H. Ischaemic heart disease and dietary fibre. **Am. J. Clin. Nutr.**, **25**: 926-932, 1972.
- TROWELL, H. - Dietary fibre ischaemic heart disease and *diabetes mellitus*. **Proc. Nutr. Soc.**, **32**: 151-154, 1973.
- TROWELL, H. - Definitions of fibre (Letter). **Lancet**, **1**: 503, 1974.
- TRUSWELL, A.S. - Dietary fiber and health. **World Rev. Nutr. Diet.**, **72**: 148-164, 1993.
- VAHOUNY, G.V. - Dietary fiber, lipid metabolism, and atherosclerosis. **Fed. Proc.**, **41**: 2801-2806, 1982.
- VAHOUNY, G.V. - Effect of dietary fibre on digestion and absorption. In: JOHNSON, L. R. . **Physiology of the gastrointestinal tract**. New York, Raven Press., 1987. p 1623-1628.
- VAHOUNY, G.V.; SATCHITHANANDAM, S.; CHEN, L.; 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 SOEST, P.J. & WINE, R.H. - Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, **50**: 50-55, 1967.
- VAN SOEST, P.J. - Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fibre and lignin. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, **46**: 829-830, 1963.
- VAN SOEST, P.J. - Dietary fibers: their definition and nutritional properties. **Am. J. Clin. Nutr.**, **31**: S12-S20, 1978.
- WALKER, A.R.P. - The effect of recent changes of food habits and bowel motility. **S.** **21**: 590-596, 1994.