

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

***FITATOS EM FARELO DE ARROZ ESTABILIZADO E SEU EFEITO
REPRESSOR SOBRE A ABSORÇÃO DE CHUMBO PELO RATO***

Florencia Cúneo

Orientador: Prof. Dr. Jaime Amaya Farfán

Dissertação apresentada no formato de artigos
para publicação, como requisito para a obtenção
do título de Mestre em Ciência da Nutrição

PARECER

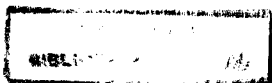
Este exemplar corresponde à
redação final da tese defendida
por Florencia Cúneo aprovada
pela Comissão Julgadora em 17
de junho de 1999.

Campinas-SP

1999

Campinas, 17 de junho de 1999


Prof. Dr. Jaime Amaya Farfán
Presidente da Banca



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA	
V.	Ex.
CHUMBO BC/	38637
PREC.	229/99
	01 <input checked="" type="checkbox"/>
PREC.	R\$ 11,00
DATA	01/09/99
IN.º CPO	

CM-00125847-6

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

C914f

Cúneo, Florencia

Fitatos em farelo de arroz estabilizado e seu efeito repressor sobre a absorção de chumbo pelo rato. / Florencia Cúneo. -- Campinas, SP: [s.n.], 1999.

Orientador: Jaime Amaya-Farfán.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Farelo de arroz. 2. Chumbo. 3. Ácido fítico. 4. Fibras. 5. Dietas. I. Amaya-Farfán, Jaime. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

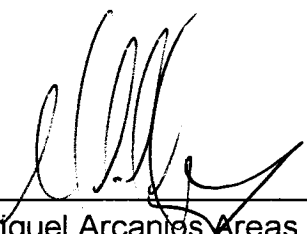
Banca examinadora constituída pelos seguintes professores:


17.6.99
Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán

(Orientador)


Prof. Dra. Semíramis martins Álvares Domene

(Membro)


Prof. Dr. Miguel Arcanjos Areas

(Membro)

Prof. Dr. Félix Reyes Reyes

(Membro)

*Dedico a
minha mãe, Isabel.*

AGRADECIMENTOS

Ao professor Jaime Amaya-Farfán, pela sua valiosa orientação e por brindar-me a oportunidade de realizar este trabalho.

Agradeço o apoio financeiro da FAPESP que contribuiu com a bolsa de mestrado e da FAEP pelo Auxílio à Pesquisa.

À Dilza Mantovani e Marcelo Morgano do Instituto de Tecnologia de Alimentos, que colaboraram nas análises.

À IRGOVEL, Indústria Riograndense de Óleos Vegetais, pelo farelo de arroz cedido e à BASF S.A. pelas vitaminas.

Aos professores da banca examinadora que contribuíram ao aprimoramento do trabalho.

À todos os funcionários do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição e especialmente a Francisco Carraro pela competente colaboração nas análises.

À Luis Abecia Soria pela sua desinteressada colaboração no laboratório.

Às amigas brasileiras e argentinas que me apoiaram durante o transcurso destes anos: Suzana, Luciana, Beatriz, Vera, Derlange, Carla, Iná, Christiane, Mery, Valéria, Cristiane, Cristina, Ivana, Liliana, Mirela, Malena e Graciela.

À minha família e especialmente a minha mãe *Isabel*, meu irmão *Santiago* e meu namorado *Osmar* pelo amor, apoio e estímulo constante.

ÍNDICE

	página
RESUMO GERAL	1
SUMMARY	3
INTRODUÇÃO	5
OBJETIVOS	7
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
1 - A problemática do chumbo.....	8
2 - Efeitos de chumbo em humanos.....	10
3 - Absorção de chumbo.....	11
4 - Distribuição e excreção do chumbo no organismo.....	16
5 - O Farelo de arroz	18
6 - O ácido fítico.....	20
 CAPÍTULO I: DETERMINAÇÃO DE FITATOS POR CLAE EM FARELO DE	
ARROZ ESTABILIZADO ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM FITASE	24
RESUMO	25
ABSTRACT	26
1 - INTRODUÇÃO	27
2 - MATERIAL E MÉTODO	30
2.1 - Matéria prima.....	30
2.1.1 - Processo de desfitinização.....	30
2.2 - Determinação de fitatos totais.....	31
2.3 - Determinação de Tri-, Tetra-, Penta-, e hexafosfatos	
de inositol por CLAE.....	31
2.3.1 – Instrumento.....	31
2.3.2 - Fase móvel	32
2.3.3 - Curva de calibração	32
2.3.4 - Preparação das amostras.....	33
2.3.5 - Procedimento	34
3 -RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

CAPÍTULO II - FARELO DE ARROZ NA DIETA PROTEGE O RATO

CONTRA A INTOXICAÇÃO COM CHUMBO	44
RESUMO	45
ABSTRACT	47
1- INTRODUÇÃO	48
2 - MATERIAL E MÉTODO	49
2.1 - Matéria prima	49
2.1.1 - Farelo de arroz estabilizado desengordurado (F)	49
2.1.2 - Farelo de arroz parcialmente desfitinizado (Fd).....	49
2.2.3 - Caracterização da matéria prima.....	50
2.2 - Animais e dietas.....	50
2.3 - Procedimentos analíticos	53
2.4 - Análise estatística.....	54
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
3.1 - Composição do farelo e das dietas.....	54
3.2 - Desempenho dos animais	57
3.3 – Acumulo orgânico de chumbo	64
4 – CONCLUSÕES	71
5 –REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
CONCLUSÕES GERAIS	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

RESUMO GERAL

O chumbo é um metal pesado de reconhecida toxicidade em humanos e a exposição para a população em geral, por meio dos alimentos e água, continua sendo preocupação dos órgãos de saúde. O grau de absorção e acúmulo de chumbo em animais envolve múltiplos fatores fisiológicos, químicos e nutricionais. As fibras e o ácido fítico já foram apontados como agentes protetores contra a contaminação com chumbo, diminuindo a absorção gastrointestinal e a retenção do metal no organismo. O farelo de arroz, subproduto da industrialização do arroz, além de conter grandes quantidades de fibra alimentar, distingue-se por constituir uma das maiores fontes naturais de ácido fítico. Neste trabalho, descreve-se o efeito da inclusão de farelo de arroz na dieta padrão para o rato, como fonte de ácido fítico, no acúmulo de chumbo em sangue, fígado, rim e osso. As dietas foram preparadas contendo dois níveis de fibra, quatro níveis de ácido fítico e contaminadas ou não com 160mg/Kg de PbO. Utilizou-se celulose micro-cristalina nas dietas controle (C), e farelo de arroz (F) ou farelo de arroz parcialmente desfitinizado (Fd) em diferentes níveis nas dietas com fitatos. Ratos machos Wistar (2 meses, 271g) foram usados em dois experimentos. O experimento 1, consistiu de seis grupos ($n = 7 \times 6$) recebendo: **B** (basal, AIN-93G, 5% de fibra celulósica), **BF** (igual a **B**, exceto que com 17% de F em lugar de celulose, para atingir 5% de fibra insolúvel), **C5** (igual a **B**, mas contaminada), **C1** (semelhante a **C5**, exceto que continha só 1,2% de fibra celulósica), **F5** (igual a **BF**, contaminada), e **F1** (semelhante a **F5**, exceto que continha 4,7% de F fornecendo 1,2% de fibra insolúvel). O experimento 2, consistiu de três grupos ($n = 7 \times 3$) que receberam as dietas a saber: **B** (Basal), **F+Fd** (igual a **F5**, exceto que a fibra era fornecida, 50% por F e 50% por Fd) e **Fd** (igual a **F5**, exceto que a fibra era fornecida por Fd). Os níveis de Pb nos tecidos foram determinados por espectrometria de emissão atômica (ICP-AES). As frações de fosfato de inositol foram determinadas por CLAE no farelo de arroz estabilizado antes e após processo de desfitinização com fitase comercial de arroz. A fração de hexafosfato de inositol (ácido fítico) constitui, independentemente do processo de estabilização e desfitinização, a fração mais abundante no farelo. O tratamento de desfitinização com fitase comercial mostrou ser pouco eficiente na remoção de ácido fítico. Os valores de

Pb no osso, fígado e rim para os animais com dietas **F5**, **F+Fd** e **Fd** foram significativamente inferiores ($P<0,05$) aos dos animais com dietas **C5** e **C1**. Os níveis de chumbo acumulado em rim e fígado, mostraram que a retenção por estes órgãos foi inversamente proporcional à quantidade de fitatos na dieta. O farelo, usado no nível mais baixo (4,7%), ainda mostrou efeito protetor para o organismo, em relação à celulose. Os níveis de Pb observados nos tecidos para a dieta **F1** foram significativamente inferiores ($P<0,05$) àqueles da dieta **C1**. O acúmulo nos tecidos indica que o farelo de arroz em substituição a celulose, fornece ao rato maior proteção contra o envenenamento com chumbo e sugerem que o ácido fítico é fator determinante desse efeito benéfico.

Palavras-chave: *farelo de arroz; chumbo; fitatos; ácido fítico, fitase, fibra alimentar; dieta moderna*

SUMMARY

Lead is recognized as a toxic metal in humans and exposure of the general population through food and water remains a concern of public health authorities. The absorption and distribution of lead in animals involves various chemical, physiological and nutritional factors. Among those, dietary fiber and phytic acid have been proposed to prevent lead poisoning by lowering the gastrointestinal absorption and deposition of the heavy metal. Rice bran or rice polish is a by-product that contains both, unusually large quantities of phytic acid and significant amounts of fiber. The present work describes the effect on the uptake of lead by blood, liver, kidney and bone when stabilized rice bran is added to a standard rat diet as a source of phytic acid. Diets were prepared containing two levels of fiber and four levels of phytic acid. While fiber in the diets was supplied by either micro-crystalline cellulose (C), Control, or rice bran, the source of phytate was either the full-phytate (F) or partially dephytinized bran (Fd) in diets that were either straight or contaminated with 160mg/kg of lead as PbO. Male Wistar rats (two-months old, 271g) were used in two experiments. For experiment 1, six groups ($n = 7 \times 6$) received: **B** (basal, AIN-93G, 5% cellulose fiber), **BF** (same as **B**, but containing 17% of F instead of C, to provide 5% of insoluble fiber), **C5** (same as **B**, but contaminated), **C1** (similar to **C5**, except that contained 1.2% of C), **F5** (same as **BF**, but contaminated), and **F1** (similar to **F5**, except that contained 4.7% of F, supplying 1.2% insoluble fiber). Experiment 2, consisted of three groups, ($n = 7 \times 3$), receiving: **B**, **F+Fd** (same as **F5**, except that the fiber proceeded 50% from F and 50% from Fd) and **Fd** (same as **F5**, except that the fiber was supplied by Fd, only). Lead contents in tissues were determined by atomic emission spectrometry (ICP-AES). The inositol phosphate fractions in the stabilized rice bran were determined by HPLC before and after dephytinization with exogenous phytase. Inositol hexaphosphate (phytic acid) was the major fraction found in the bran, regardless of the processes. Removal of phytate by exogenous phytase proved to be a rather inefficient process. Pb accumulation in femur, liver, and kidney of the animals fed diets **F5**, **F+Fd** and **Fd** were significantly lower ($P < 0.05$) than those consuming diets **C5** e **C1**. The levels of the metal accumulated in kidney and liver showed that retention by these organs was inversely proportional to the quantity of phytate in the diet. Pb values observed in all tissues for diet **F1** were

significantly ($P < 0.05$) lower than for **C1**. Rice bran, when used at its lowest level (4.7%), showed to be effective as a dietary protecting agent, especially in relation to cellulose. Substituting rice bran for cellulose in the diet resulted in significant additional protection to the rat against dietary lead intoxication. The data suggest that phytic acid in rice bran is a determining factor in the prevention of lead absorption by the gut.

Key words: *rice bran; lead; phytate; phytic acid, phytase, dietary fiber; modern diet*

INTRODUÇÃO

A exposição ao chumbo ambiental e ocupacional continua sendo, na atualidade, um sério risco para a saúde. Para a população em geral, a principal via de contaminação por chumbo é através do trato gastrointestinal, mediada pelo consumo de alimentos e bebidas (SCHWARTZ, 1994; IPCS, 1995).

O chumbo ingerido é absorvido através do intestino, sendo que a taxa de absorção está determinada por múltiplos fatores, como idade do indivíduo (KOSTIAL *et al.*, 1978), dose ingerida (AUNGST *et al.*, 1981), forma química do elemento (DIETER *et al.*, 1993) e quantidade de alimento presente no intestino (MASATOSHI *et al.*, 1993), entre outros.

Alguns fatores da alimentação podem afetar a absorção e/ou retenção do chumbo pelo organismo, podendo alterar a sua solubilidade, diminuir o tempo de contato do metal com a mucosa intestinal ou modificar a sua competição com outros nutrientes pelos mesmos sítios e mecanismos de absorção (CONRAD & BARTON, 1978).

Existe uma associação entre o consumo de ácido fítico e a toxicidade do chumbo que ingressa no organismo via trato gastrintestinal. Estudos *in vitro* mostraram que o ácido fítico é capaz de se complexar com metais catiônicos, entre os quais se encontra o chumbo (WISE & GILBERT, 1981; EVANS & MARTINS, 1992). Estudos em ratos mostraram que o ácido fítico na dieta, quando administrado junto com doses altas e baixas de chumbo, diminuía os níveis do metal no sangue e outros tecidos (WISE, 1981; WISE, 1982; ROSE & QUARTERMAN, 1984; TRUELOVE *et al.*, 1985).

O conteúdo de fibra insolúvel na dieta também demonstrou ter um efeito protetor para os ratos que se encontravam ingerindo uma quantidade fixa de litargírio (PbO), monitorado pelo seu nível de deposição nos tecidos moles (SALVA *et al.*, 1996).

A dieta do homem primitivo era rica em grãos integrais, considerados excelentes fontes de fitatos e fibras, assim como era relativamente abundante em folhas, que são fontes de fibras e outros agentes quelantes como ácido oxálico. Fibras e fitatos, são geralmente dois componentes deficientes na alimentação moderna.

O farelo de arroz, subproduto da industrialização do arroz, apresenta como característica composicional importante o seu alto conteúdo de fibras, alcançando até 51g/100g (SLAVIN & LAMPE, 1992), e ácido fítico com valores de aproximadamente 6g/100g (TORÍN, 1996; DOMENE, 1996).

Tendo em conta que na atualidade a contaminação ambiental com chumbo é uma constante ameaça para a população e que existem evidências independentes do efeito protetor tanto da fibra alimentar quanto do ácido fítico, objetivou-se neste trabalho avaliar a capacidade protetora do farelo de arroz, como fonte natural de fibras e fitatos, incorporado à dieta padrão para roedores, no sentido de diminuir a deposição orgânica do chumbo, que ingressa no organismo por meio do trato gastrintestinal. Adicionalmente, pretendeu-se distinguir o efeito protetor dos fitatos daquele proveniente da celulose. Com esse propósito, ratos jovens da raça Wistar, foram alimentados com dietas basais ou contaminadas com litargírio, contendo celulose, farelo de arroz estabilizado e farelo de arroz parcialmente desfitinizado, como fontes de fibra e fitatos em diferentes níveis. Os valores de crescimento, consumo de dieta e eficiência alimentar foram avaliados nos animais. A deposição de Pb no organismo foi avaliada no sangue, fígado, rim e osso. Também foi objetivo deste trabalho conhecer a distribuição das frações de fosfato de inositol em farelo de arroz estabilizado e após tratamento de desfitinização com fitase comercial, para o qual foi utilizada Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

OBJETIVOS

- Determinar a distribuição das frações de fosfato de inositol em farelo de arroz estabilizado, assim como no produto da desfitinização com fitase exógena.
- Estudar em ratos jovens, alimentados com dietas experimentalmente contaminadas com níveis não letais de PbO , o possível efeito protetor do farelo de arroz estabilizado e desengordurado contra a absorção e deposição de chumbo no organismo.
- Distinguir o efeito dos fitatos daquele devido aos demais componentes do farelo de arroz estabilizado, em particular da fibra insolúvel.
- Avaliar o desempenho dos animais alimentados com farelo, com base nos indicadores de consumo alimentar, ganho de peso e eficiência alimentar.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 - A problemática do chumbo

O chumbo é um metal pesado que possui reconhecida toxicidade em humanos. Este metal se encontra amplamente distribuído na natureza devido, não apenas ao seu expressivo uso, senão também por ter sido utilizado sem controle pela indústria, o que faz com que hoje o conceito da distribuição natural tenha pouca importância sob o ponto de vista toxicológico (IPCS, 1995).

Levantamentos indicam que a utilização mundial de chumbo se incrementou durante o período de 1965 a 1990. Embora nos países desenvolvidos a mesma tenha diminuído, nos países menos desenvolvidos o uso do chumbo quase que triplicou entre 1970 e 1990. Muitos países, preocupados em abaixar os níveis de chumbo do meio, limitaram o seu emprego e incentivaram a higiene nas indústrias (IPCS, 1995).

A exposição ao chumbo continua sendo uma ameaça para a saúde da população, principalmente para aqueles países em desenvolvimento, com grande crescimento industrial (MASATOSHI *et al.*, 1993).

Entre as utilizações industriais mais comuns se encontram a produção de baterias, cabos e variados produtos metalúrgicos. No passado, o chumbo já foi muito utilizado na indústria química de tintas, pigmentos e como aditivo da gasolina. Entre as aplicações que estão tendo um uso cada vez mais reduzido, estão as soldas de embalagens metálicas e os produtos cerâmicos (IPCS, 1995).

Algumas ocupações específicas expõem os trabalhadores a altos níveis de chumbo. No Brasil, os estudos confirmam a intoxicação ocupacional com chumbo em trabalhadores mecânicos de veículos automotores (BORGES & FRANCO, 1982), trabalhadores de indústrias de acumuladores elétricos (CARVALHO *et al.*, 1985; ROCHA & HORTA, 1987) e trabalhadores de metalúrgicas (SOUZA *et al.*, 1984), entre outras.

CORDEIRO & LIMA FILHO (1995) estudaram a ocorrência de manifestações neurológicas centrais e periféricas em trabalhadores que apresentaram níveis de exposição considerados insuficientes para causarem saturnismo. Foram encontradas disfunções da condução nervosa periférica e central, além de outras alterações nervosas, mesmo quando os limites de exposição ao chumbo eram inferiores àqueles estabelecidos pela legislação brasileira.

Para populações de sociedades industrializadas, sem exposição ocupacional ao chumbo, a maior fonte de exposição ao metal está constituída pelas bebidas e alimentos, dos quais, processos industriais, práticas agrícolas, processamento de alimentos e os processos geológicos naturais, são as principais vias de contaminação (ALBERTINI *et al.*, 1997; JORDÃO *et al.*, 1996).

O ser humano, como consumidor, se encontra no final de muitas cadeias alimentares e devido à bioacumulação, está às vezes exposto a altas concentrações de agentes tóxicos presentes nos alimentos (CLARKSON, 1995).

Moradores de áreas com alta poluição industrial, como as áreas da Grande São Paulo (FERNICOLA & AZEVEDO, 1981), Cubatão, no Estado de São Paulo (NAOUM *et al.*, 1984) e Santo Amaro, no Estado da Bahia (CARVALHO *et al.*, 1986), apresentaram teores de chumbo plasmáticos elevados.

SANTOS *et al.* (1993) estudaram metais pesados no sangue de crianças entre 1 e 10 anos de idade, no distrito de Cubatão, e encontraram uma média de 17,8 (\pm 5,8) $\mu\text{g/dL}$, enquanto que os valores de chumbo nos peixes e vegetais das regiões mais poluídas do país ultrapassam várias vezes os níveis de segurança permitidos.

Alguns recipientes alimentícios, como pratos cerâmicos, vasilhas esmaltadas e recipientes metálicos, podem constituir importantes fontes de contaminação durante o preparo ou armazenamento de alimentos, principalmente de alimentos ácidos (GRAZIANO & BLUM, 1991; MOHAMED *et al.*, 1995; BACZYNSKYJ & YESS, 1995). O chumbo também está presente nos filtros dos cigarros, sendo que aproximadamente um 5% consegue ser inalado (MUSSALO-RAUHAMAA *et al.*, 1986).

Na população em geral, os depósitos de chumbo nos tecidos aumentam com a idade. Os níveis sangüíneos que em crianças são de 2µg/100ml, podem alcançar na idade adulta 200µg/100ml. Excetuando-se a exposição ocupacional ao metal, as outras formas de contaminação não seriam suficientes para causar uma intoxicação aguda, embora contribuam para aumentar a carga do metal no organismo. Na pessoa normal, parte do chumbo sangüíneo é incorporado no osso, onde se acumula com relativa inocuidade até que, em determinadas circunstâncias metabólicas, o metal é mobilizado e os seus efeitos tóxicos podem chegar a se manifestar de forma aguda (SILBERGELD *et al.*, 1988, BERLIN, *et al.*, 1995).

2 - Efeitos do chumbo em humanos

O chumbo provoca diversas alterações bioquímicas, por apresentar uma configuração eletrônica que lhe confere valência 2 no orbital 6p livre, tendo a capacidade de formar ligações covalentes principalmente com átomos de enxofre de compostos biológicos e também amínicos, carboxílicos e imidazólicos. Nestas condições, o chumbo pode alterar as estruturas terciárias normais de uma molécula e, ao mesmo tempo, destruir a função bioquímica normal, conseguindo inibir enzimas, diminuir a síntese de hemoglobina, interferir na transmissão nervosa periférica e central, alterar a função renal, produzindo até deficiência renal, entre outras modificações (ALBERTINI *et al.*, 1997; FOWLER & DUVAL, 1991).

Nas exposições crônicas, os efeitos mais evidentes se referem a encefalopatia, com irritabilidade, cefaléia, tremor muscular, alucinações, perda de memória e da capacidade de concentração (ALBERTINI *et al.*, 1997).

É conhecida a existência de uma correlação inversa entre a ingestão de chumbo em crianças e o quociente de inteligência (BELLINGER *et al.*, 1992). As crianças apresentam maior susceptibilidade à intoxicação por chumbo do que os adultos, não apenas por absorverem e reterem o metal com maior eficiência ao terem um metabolismo mais ativo, sobretudo nos ossos, mas também por ingerirem maiores quantidades de chumbo (POUNDS *et al.*, 1991).

3 - Absorção do chumbo

O chumbo ingerido com os alimentos, bebidas e partículas de pó ingeridas, é absorvido no intestino, em quantidades que dependem de muitos fatores.

A absorção de Pb é dependente da forma química em que o metal é ingerido, principalmente no que se refere a sua solubilidade. DIETER *et al.* (1993) estudaram a biodisponibilidade de diferentes compostos de chumbo em fêmures de rato, encontrando que o acetato de chumbo teve a maior biodisponibilidade, o óxido de chumbo, ou litargírio, biodisponibilidade intermediária, enquanto que o sulfeto de chumbo apresentou a mais baixa biodisponibilidade. Posteriormente, estes resultados foram confirmados pelo estudo de FREEMAN *et al.* (1996), que alimentando ratos com dietas contaminadas com diferentes sais de Pb e estudando a deposição do metal no sangue, osso, rim e fígado, encontraram que o chumbo na forma de acetato, apresentou o maior acúmulo em todos os órgãos analisados.

Além da forma química do metal, os alimentos que acompanham a dose de chumbo também influenciam a absorção. GARBER & WEI (1974) observaram em ratos uma absorção significativamente maior quando o metal foi administrado depois de um período de jejum.

Muitos componentes da dieta afetam a absorção e/ou excreção de chumbo pelo organismo. Já foi demonstrado, por exemplo, que tanto o citrato de sódio como o suco de laranja adicionados nas dietas, conseguem aumentar a absorção de Pb em ratos. Os efeitos desses componentes e outros da dieta sobre a absorção do metal se devem à propriedade que os mesmos têm de alterar a solubilidade do composto metálico, diminuir o contato do metal com a parede do intestino e competir pelos sítios de absorção ou transporte (GARBER & WEI, 1974; CONRAD & BARTON, 1978)..

O papel do estado nutricional, alterando a suscetibilidade para a intoxicação com Pb, é reconhecido desde o século passado (MAHAFFEY, 1990). O efeito de dietas não balanceadas na absorção gastrintestinal de chumbo foi avaliado por BALDINI *et al.* (1989). Dietas hiperlipídicas, hiperprotéicas, hiperglicídicas e balanceadas corresponderam, nessa ordem, a uma série decrescente de níveis de chumbo sangüíneo no rato.

Experimentos com animais demonstraram que a ingestão prolongada de dietas deficitárias em cálcio e fósforo (QUARTERMAN & MORRISON, 1975), ferro (RAGAN, 1977), selênio (STONE & SOARES, 1976) ou zinco (CERKLEWSKI & FORBES, 1976; BEBE & PANEMANGOLORE, 1996) incrementam a porcentagem de absorção de chumbo no trato gastrointestinal. O 1,25 diidroxicolecalciferol, o metabólito ativo da vitamina D, é capaz de estimular a absorção de chumbo da mesma forma que promoveria a absorção de cálcio (FULLMER, 1990).

A interação entre Ca e Pb é provavelmente o fator nutricional mais estudado, tanto clínica como experimentalmente, indicando que ambos estão metabolicamente relacionados.

Segundo os experimentos *in vitro* levados a cabo por BARTON *et al.* (1978), o cálcio e o chumbo parecem compartilhar o mesmo sítio de absorção no intestino, o que explica o fenômeno pelo qual ratos alimentados com dietas deficitárias em cálcio apresentaram maior absorção de chumbo. Por outro lado, os trabalhos de FULLMER & ROSEN (1990) atribuem ao chumbo alteração do transporte de cálcio e outros minerais, afetando as suas proteínas carregadoras, mais do que a competição pelo mesmos sítios de absorção na superfície da mucosa intestinal.

Estudos em humanos indicam que o consumo elevado de cálcio diminui a absorção e retenção de chumbo em crianças, adolescentes e adultos. Concomitantemente, dietas deficientes em cálcio são associadas com alta prevalência de níveis elevados de chumbo em sangue (IPCS, 1995).

KOSTIAL *et al.* (1991) estudaram os níveis de Pb sangüíneo em dois grupos de mulheres, que diferiram pelo consumo de Ca, de 450mg/dia para um grupo e de 940mg/dia para o outro. A concentração de Pb foi significativamente inferior naquele grupo com maior consumo de Ca, apresentando valores de 69µg/L, em relação a 83µg/L no outro grupo.

O leite já foi reconhecido como um alimento capaz de fornecer proteção contra a contaminação por chumbo. Foi demonstrado por GOYER (1997) que leite, como fonte de Ca, não proporciona um efeito inibitório da absorção intestinal de Pb, propondo-se

que outros componentes do leite, como lactose e gorduras, conseguiriam atuar favorecendo a absorção do metal.

Outros dados indicam que estados de deficiência de ferro no organismo adulto estimularam a absorção, tanto de ferro quanto de chumbo (WATSON *et al.*, 1980).

A deficiência de Fe tem mostrado favorecer a absorção de Pb em experimentos com animais, as experiências de MAJAFER & GOYER (1972) mostraram em ratos que a deposição de chumbo em órgãos, inclusive no osso, é aumentada quando as dietas administradas são deficitárias em ferro. Por outro lado, a adição de ferro na dieta de ratos, também resulta em diminuição da deposição de chumbo (CONRAD & BARTON, 1978).

Uma possível relação entre a ferritina intestinal e o ferro já foi sugerida (GOYER, 1997). Já a população infantil mostra elevadas taxas de absorção e, neste sentido, ZIEGLER *et al.* (1978) observaram em crianças, entre duas semanas e dois anos de idade, uma absorção de 42% do chumbo, quando as quantidades ingeridas superavam os 5µg/kg de peso. Em crianças o risco de toxicidade de chumbo é significativamente maior, particularmente para aquelas pertencentes a famílias de baixa renda, primeiro pela idade, e depois pela presença de estados nutricionais deficitários em cálcio e ferro, além de outros fatores, como a falta de saneamento básico (CONRAD & BARTON, 1978).

Os estudos de CERKLEWSKI & FORBES (1976), em ratos, mostraram que o zinco compete com o chumbo pelos mesmos sítios de absorção. A adição de 200ppm de zinco à dieta, na forma de carbonato, conseguiu reduzir os efeitos tóxicos do chumbo, o que não aconteceu quando 100ppm de zinco foram administrados por via intraperitoneal, deduzindo-se que o efeito protetor do zinco acontece ao nível intestinal. Por outro lado, o aumento de cobre na dieta de ratos aumentou a intoxicação com chumbo. Segundo os autores, níveis de cobre elevado podem alterar o equilíbrio de outros elementos traço como o zinco, criando condições mais favoráveis para o aumento da toxicidade. O mecanismo de competição entre os três metais, evidentemente não está bem esclarecido, pois se o zinco e o cobre também competem pelos mesmos sítios de absorção no duodeno, o cobre deveria substituir o zinco na

regulação da absorção do chumbo. Por outro lado, o Pb parece incrementar a excreção orgânica de Zn (GOYER, 1997).

WISE (1981) encontrou que a toxicidade do chumbo foi diminuída em ratos, que receberam doses tóxicas orais de 1000mg/kg de ração na forma de acetato, quando lhes foi administrado fitato de cálcio junto com a dieta. O grupo de ratos não suplementados com fitato apresentaram níveis de chumbo sangüíneos de 2,3µg/ml, enquanto que o grupo suplementado, valores de 0,6µg/ml. Em um trabalho posterior, o mesmo autor (WISE, 1982) relatou os efeitos do fitato de cálcio, quando as doses de acetato de chumbo administradas aos ratos eram bem inferiores (0, 2, 10 e 50mg/kg de peso), por um período de três e seis meses. O fitato de cálcio foi capaz de influenciar os níveis de chumbo no sangue, mas as diferenças não foram tão marcantes como no primeiro estudo. Concluiu-se que, quanto menor a dose de chumbo, menor o efeito do fitato de cálcio sobre os níveis de chumbo no sangue. As quantidades de chumbo depositadas nos outros tecidos não foram determinadas, não sendo possível prever o efeito global do fitato na deposição e no equilíbrio do metal no organismo.

ROSE & QUARTERMAN (1984) administraram a ratos dietas semi-purificadas com suplementação com fitato (10g/kg de dieta) e acetato de chumbo (200mg/kg de dieta), durante quatro semanas. A adição de fitato reduziu o acúmulo de chumbo nos tecidos analisados (osso, sangue e fígado), em relação a um grupo controle sem fitato, enquanto que a suplementação com fitato não afetou os níveis de zinco e cobre. Em um segundo experimento, administraram a ratos recém-desmamados dietas suplementadas com 200mg/kg de dieta de chumbo, por um período de quatro semanas, seguida de uma dieta suplementada com fitato, desta vez sem adição de chumbo, durante outras quatro semanas. A suplementação com 10g/kg de dieta de fitato não mostrou efeito significativo na remoção de chumbo para nenhum dos tecidos estudados, em comparação a um grupo controle que não recebeu o fitato na dieta.

LEPEN & ADRIAN (1984) estudaram em ratos submetidos a dietas experimentalmente contaminadas com Cd, Pb e Cu, o efeito da suplementação do fitato de sódio (20g/kg de dieta), encontrando que o fitato ocasionou uma diminuição na absorção de Pb e, em contrapartida, um incremento na absorção de Cd e Cu.

Um estudo com macacos foi desenvolvido por TRUELOVE *et al.* (1985) para conhecer os efeitos de dietas com fibras e/ou fitatos na absorção de Pb. Para tanto os animais receberam, a partir do primeiro trimestre de vida, uma dose de 2mg/kg de peso corporal/dia de acetato de chumbo e variadas dietas na seguinte ordem: fórmula láctea mais quantidade restrita de ração própria para primatas, fórmula láctea, fórmula láctea mais celulose, fórmula láctea mais ácido fólico e leite de vaca mais ração própria para primatas e os níveis sanguíneos de chumbo foram determinados logo após cada tratamento. A introdução da fórmula láctea produziu um aumento abrupto de 100 e 400% nos níveis sanguíneos de chumbo, em relação aos níveis iniciais. A adição de celulose não teve efeito nas concentrações sanguíneas de chumbo, enquanto que a adição de ácido fólico causou uma diminuição súbita dos níveis. Os níveis alcançaram os valores mínimos com a dieta de ração própria para primatas e aumentaram com a dieta de leite de vaca.

Já foi observado *in vitro* que vários tipos de fibra alimentar, como celulose (SALVA *et al.*, 1996; ROSE & QUARTERMAN, 1987), pectina, ágar e carragena (ROSE & QUARTERMAN, 1987) são capazes de ligar chumbo em diferentes graus.

Uma membrana semi-permeável foi utilizada por LEE & LEE (1989) para avaliar *in vitro* a capacidade da fibra dietética para inibir a absorção de chumbo. Entre os compostos de fibra estudados, a celulose não teve efeito, a goma guar e a carboximetil-celulose mostraram pouco efeito, enquanto que a pectina e o alginato sódico tiveram o maior efeito inibidor. Entre as fontes de fibra alimentar estudadas, farelo de arroz e farelo de trigo foram as que mostraram maior efeito inibidor.

ITO *et al.* (1987), em um estudo realizado em trabalhadores expostos ao chumbo numa fábrica de aço, encontraram que os níveis sanguíneos do metal estavam correlacionados negativamente com o consumo dietético de fibra, ferro e tiamina.

SALVA *et al.* (1996) desenvolveram um estudo em ratos para avaliar os efeitos da celulose alimentar na absorção intestinal de óxido de chumbo. Para tanto administraram aos animais dietas com diferentes concentrações de celulose (0, 0,5, 1 e 2%) e a concentração de chumbo em sangue, rins, fígado e fezes foram determinadas. Os resultados mostraram que a celulose foi capaz de reduzir a absorção, deposição inicial

e a retenção de chumbo pelo organismo. Quanto maior foi a porcentagem de celulose administrada, maior a quantidade de chumbo excretada nas fezes. Esses autores, também verificaram em experiências *in vitro*, que a celulose mostrou capacidade de reter grandes quantidades de chumbo devido, talvez, à baixa solubilidade do composto. Eles propuseram que este tipo de fibra pode atuar na redução da toxicidade do chumbo por um ou mais dos seguintes mecanismos: “fixação” do chumbo por um grande número de fracas interações físico-químicas fornecidas pela celulose hidratada; retenção mecânica pela massa de celulose hidratada, o que diminuiria a oportunidade de contato do metal com a parede intestinal, e encurtamento do tempo de trânsito do resíduo fecal.

Estudos em animais mostraram que a absorção de chumbo parece obedecer os mesmos princípios que regem a absorção de vários nutrientes minerais, como cálcio e ferro. Assim, a absorção se manifesta como um processo saturável, mediado por um transportador ativo, de tal forma que, quanto maior a dose administrada, menor a porcentagem de absorção (BUSHNELL & DE LUCA, 1983), e que também é suscetível de se complexar aos fitatos e conseqüentemente ser eliminado nas fezes. O conjunto de mecanismos, entretanto, não impede que uma maior exposição leve à maior absorção e deposição no organismo.

4 - Distribuição e excreção do chumbo no organismo:

Estudos em ratos mostraram que logo após a absorção, o chumbo é transportado para o sangue e é distribuído entre os tecidos moles, principalmente rins e fígado, e os tecidos duros, osso e dentes (CONRAD & BARTON, 1978).

Segundo RABINOWITZ *et al.* (1976), o chumbo absorvido não se distribui uniformemente no organismo e três localizações podem ser identificadas: sangue, tecidos moles e osso. Os dois primeiros teriam em humanos uma vida média de aproximadamente 40 dias e aquele do osso, mais estável que os anteriores, uma vida média de aproximadamente 27 anos.

Em adultos, quase 95% do chumbo corporal se localiza no osso, enquanto que em crianças, o depósito desse metal no osso alcança 74% (BARRY, 1981).

O osso acumula chumbo ao longo de toda a vida, constituindo o maior depósito orgânico do metal. O acúmulo de Pb em osso, é considerado como um indicador da carga orgânica. Períodos de crescimento acelerado e mudanças no metabolismo do osso, reduzem a possibilidade de prever, através de um único osso, o conteúdo total do metal na massa óssea corporal. Formando parte da própria matriz óssea existem proteínas transportadoras de cátions, as que têm uma distribuição que difere tanto pela idade óssea, como tipo de osso e idade do sujeito. Relacionado com a distribuição dessas proteínas, é que diferentes tipos de osso têm diferentes quocientes de crescimento e mineralização, assim como densidade final (POUNDS *et al.*, 1991; O'FLAHERTY, 1995).

O chumbo acumulado no osso não tem manifestações tóxicas, porém, o chumbo que se deposita na parte inter-trabecular pode ser uma fonte importante de redistribuição orgânica, uma vez que a exposição ao metal tenha diminuído ou cessado, como é o caso dos trabalhadores expostos ao chumbo quando se afastam dos seus empregos (SCHUTZ *et al.*, 1989, BERLIN *et al.*, 1995; O'FLAHERTY *et al.*, 1982; KEHOE, 1987).

Estados metabólicos como os de desmineralização óssea, caso de doenças como osteoporose, conduzem a liberações maciças do íon, transformando o osso numa fonte interna de Pb que pode ocasionar até intoxicação aguda (POUNDS *et al.*, 1991).

O Pb presente em qualquer um dos compartimentos orgânicos representaria a combinação da incorporação atual, proveniente do ambiente, e o pool interno, proveniente da incorporação pregressa (HAN *et al.*, 1996). Dois exemplos de liberações de chumbo interno são as que naturalmente aparecem durante a menopausa e gravidez. SILBERGELD *et al.* (1988) observaram que as concentrações de chumbo sanguíneo aumentam entre 20 e 25% após a chegada da menopausa. A mobilização do chumbo ósseo até os outros compartimentos orgânicos é considerado um risco latente de toxicidade também durante a gravidez (SILBERGELD, 1990) e por ocorrência de algumas doenças ósseas (SKERFVING & EDLING, 1995).

Tanto em humanos como em animais, o chumbo é eliminado do organismo através da urina e as fezes. O chumbo da dieta ou ambiental, que é ingerido e não é absorvido pelo intestino, é eliminado nas fezes. O chumbo sanguíneo que não é retido e aquele liberado pelos tecidos é excretado na urina ou nas fezes, principalmente por meio da excreção biliar (CONRAD & BARTON, 1978).

Em experimentos realizados por Ito *et al.* (1987), observou-se que ratos aos quais administrou-se acetato de chumbo por via subcutânea, apresentaram níveis menores de chumbo, quando se lhes administrou o metal conjuntamente com um suplemento vitamínico. A excreção de chumbo aumentou nas fezes, o que não se observou na urina, sugerindo que a excreção de chumbo ocorreu por via biliar.

5 - O farelo de arroz

O farelo de arroz, também conhecido como pó ou salvado de arroz, é o primeiro subproduto do beneficiamento do arroz descascado. O farelo propriamente dito consiste no pericarpo e tegumentos, camadas externas que recobrem o grão (PRAKASH, 1996).

A composição porcentual do farelo de arroz depende de muitos fatores, entre eles o tipo de arroz do qual foi obtido, sua qualidade, os pré-tratamentos aos quais pode ser submetido o grão de arroz previamente a ser separado das suas camadas externas, como o tratamento de parbolização, por exemplo, que influi fundamentalmente no conteúdo de lipídeos do farelo, e, em particular, o grau de polimento empregado e o grau de extração de óleo. Aos fatores anteriormente mencionados obedecem as grandes variações nas quantias dos nutrientes para diferentes amostras de farelo, que são relatadas na literatura (GUERRA & JAFFÉ, 1975, TORÍN, 1991; SALUNKLE *et al.*, 1991; DOMENE, 1996).

As características composicionais mostram o farelo de arroz como um subproduto rico em fibra alimentar, com predominância da fração insolúvel sobre a solúvel. Em geral o farelo contém 95% da fibra do grão, sendo que a celulose é o polissacarídeo mais importante (POMERANZ & ORY, 1982). Os dados da literatura mostram valores que superam os 50g por 100g de farelo desengordurado

(SAUNDERS, 1990; SLAVIN & LAMPE, 1992; DIAS *et al.*, 1994; DOMENE, 1996). O farelo de arroz, como fonte de fibras aparece, devido a relação existente entre dietas pobres em fibra e desenvolvimento de doenças crônicas degenerativas, utilizado como suplemento da dieta moderna de adultos (SAUNDERS, 1990; TORRE *et al.*, 1991).

O alto conteúdo protéico do farelo, aproximadamente 15g por 100g, inclui fundamentalmente albuminas e globulinas. Aminoácidos essenciais como triptofano, metionina e fenilalanina, estão presentes em concentração importante. Entretanto, como cereal que é, a lisina constitui o seu principal aminoácido limitante (SALUNKHE *et al.*, 1991).

Entre os carboidratos, o amido é o mais importante e a sua quantidade no farelo está diretamente relacionada ao grau de polimento do grão, já que o amido, originalmente, forma parte do endosperma do grão (SAUNDERS, 1990).

O alto conteúdo de gordura, rico em ácidos graxos insaturados, alcançando valores de 15 a 23g por 100g no farelo integral, representam um importante problema tecnológico de instabilidade devido à intensa atividade das lipases, que se inicia logo após o processamento. A presença da lipoxigenase e os ácidos graxos insaturados leva à deterioração do subproduto por rancificação ácida e oxidativa (WARREN & FARRELL, 1990). Portanto, a utilização do farelo exige extração do óleo e simultânea inativação enzimática, o que dá origem ao farelo estabilizado desengordurado, com valores de gordura inferiores a 5g por 100g (JULIANO, 1980; SAUNDERS, 1990; SALUNKHE *et al.*, 1991).

Quanto à fração mineral, estudos relatam que o farelo de arroz possui níveis elevados de zinco, ferro, cobre, manganês, potássio e fósforo, ao passo que o cálcio se apresenta em pequenas quantidades, tal como outros cereais (SAUNDERS, 1990; WARREN & FARRELL, 1990; DOMENE, 1996).

O alto conteúdo de fósforo do farelo (14.800 a 28.700 mg/kg) fornece uma indicação da alta porcentagem de ácido fítico (BARBER, 1971; SAUNDERS, 1990; WARREN & FARRELL, 1990), visto que nos grãos em geral, 90% do elemento se encontra na forma de fosfato de mioinositol (O'DELL *et al.*, 1972). Segundo O'DELL *et al.* (1972), 80% do ácido fítico do grão de arroz se encontra no pericarpo e 7,6% no

gérmen. Os dados da literatura mencionam valores de fitatos da ordem de 6,25 a 6,9 g/100g para farelo desengordurado (TORÍN, 1991; DOMENE, 1996).

5 - O ácido fítico

Ácido fítico ou *mio*-inositol hexafosfato ($C_6 H_{18} O_{24} P_6$) é um componente natural de todas as sementes, constituindo de 1 a 3% do peso de muitos cereais e oleaginosas, o que geralmente perfaz de 60 a 90% do fósforo total (JULIANO, 1980; ERDMAN, 1983; GRAF, 1983). Estudos demonstraram que a quantidade de ácido fítico contido no grão de arroz está diretamente afetada pela quantidade de fósforo disponível na planta e assume-se que todo o excesso de fósforo é normalmente armazenado na forma de ácido fítico (MAGA, 1982).

O ácido fítico tem várias funções fisiológicas importantes, mas a primordial é a de servir de reservatório de fósforo, cátions e matéria prima para a formação das paredes celulares, o que é fundamental tanto para a germinação, como para o desenvolvimento e crescimento da nova planta. Além disso, supõe-se que o ácido fítico protege as sementes contra o dano oxidativo durante a armazenagem (GRAF, 1983, LÁSZTITY & LÁSZTITY, 1990).

O ácido fítico, em pH intermediário e alcalino, é capaz de formar complexos insolúveis com cátions di e polivalentes (WISE & GILBERT, 1981, EVANS & PIERCE, 1998). Esta propriedade compromete a biodisponibilidade de proteínas e muitos minerais, interferindo na sua absorção ao nível intestinal (LASZTITY & LASZTITY, 1990). As proteínas são susceptíveis a formar complexos ternários com ácido fítico e minerais catiônicos, capacidade que varia de acordo com as diferentes fontes protéicas.

A particular estrutura do ácido fítico sugere o grande potencial quelante atribuído ao composto. O ácido fítico, IP_6 , tem seis prótons de dissociação forte com pK 1,1 até 2,1 e seis prótons de dissociação fraca, com pK 4,6 até 10,0 (ERDMAN, 1983). Devido à dissociação destes prótons, os fitatos podem formar complexos muito fortes, do tipo quelato com metais catiônicos. O ácido fítico, como agente quelante, pode complexar cátions de três formas diferentes: com um único grupo fosfato; com dois grupos fosfato

da mesma molécula e com dois grupos fosfatos de moléculas diferentes (NOLAN & DUFFIN, 1987).

Existem evidências suficientes para afirmar que o ácido fítico compromete a absorção intestinal de zinco (REDDY *et al.*, 1982; TURNLUND *et al.*, 1984; GRAF & EATON, 1984). Já no caso do ferro, os dados não são igualmente conclusivos, provavelmente pelo fato de que só uma porção do ferro é absorvida ao nível do duodeno, a qual seria susceptível a se complexar com o ácido fítico, enquanto que o resto do ferro consegue ser absorvido em outras partes do trato digestivo. Por outro lado, níveis adequados de ácido fítico na dieta teriam um efeito benéfico, minimizando os processos de oxidação catalisados pelo ferro (GRAF & EATON, 1984). Entretanto, resultados de outros estudos sugerem uma relação inversa entre a absorção de Fe e o conteúdo de fitato na dieta (HALLBERG *et al.*, 1987; HALLBERG *et al.*, 1989; TUNTAWIROON *et al.*, 1989).

A influência do ácido fítico sobre a absorção de cálcio é controvertida. NAHAPETIAN & YOUNG (1980) demonstraram que existe uma diminuição na absorção de cálcio em presença de ácido fítico, enquanto que GRAF & EATON (1984) não encontraram efeitos negativos do ácido fítico na absorção do cálcio em ratos.

Os estudos realizados *in vitro* e *in vivo* mostram um grande número de fatores influenciando na biodisponibilidade mineral em relação ao ácido fítico, entre eles: a quantidade de ácido fítico, o pH, quantidade e tipo de cátions presentes e a associação do ácido fítico com proteínas (NOSWORTHY & CALDWELL, 1988; SERRANO *et al.*, 1985).

KELSAY (1987) fez uma revisão de resultados de numerosos estudos com pessoas adultas consumindo dietas variadas e concluiu que não existem efeitos negativos sobre a biodisponibilidade dos minerais em dietas contendo até 2g de ácido fítico por dia.

A utilização do fósforo a partir dos fitatos pela planta envolve o processo natural de desfosforilação enzimática, através da enzima *mio*-inositol fosfohidrolase (fitase),

que atua no ácido fítico (IP_6) transformando-o em inositol e fósforo livre, via intermediários (pentafosfato de inositol, IP_5 , até monofosfato de inositol, IP_1). A localização das fitases no arroz é geralmente na camada de aleurona em contato íntimo com os fitatos (YOSHIDA *et al.*, 1975).

Do ponto de vista nutricional, é importante indicar que a literatura aponta que apenas as frações IP_6 e IP_5 determinam o comprometimento significativo da biodisponibilidade de minerais catiônicos (TOMA & CURTIS, 1986; ROSSANDER *et al.*, 1992; SANDBERG *et al.*, 1989).

O processamento de alimentos ricos em fitatos conduzem a efeitos positivos e negativos sobre a biodisponibilidade de minerais. O calor frequentemente resulta em inativação da enzima fitase, enquanto que outros processos como germinação, fermentação e extrusão seriam capazes de ativar as enzimas, ao passo que a fermentação favorece a absorção de Fe (ROSSANDER *et al.*, 1992).

A partir da fitase naturalmente presente nos grãos, surge a possibilidade de diminuir o conteúdo de fitatos de um alimento. Algumas etapas de processos como maceração, germinação e fermentação já foram propostos como formas efetivas de desfitinização, fornecendo condições favoráveis de atividade para a fitase endógena. TANGENDJAJA *et al.* (1981) conseguiu por incubação de farelo de arroz durante 24 horas a pH 5,1 e 55°C, redução de um 80% dos níveis de ácido fítico.

O farelo de arroz estabilizado possui as fitases inativas, o que impede a utilização de algum dos métodos anteriores, baseados na ativação enzimática, quando o propósito é de conseguir uma desfosforilação. SANBERG & SVANBERG (1991) estudaram a desfitinação de farelo de trigo com fitase endógena inativa, mediante a adição de fitase de trigo comercial, em uma concentração de 1%, a 55°C e pH 5, durante 4 horas, conseguindo uma redução de 55% do ácido fítico.

JAJARAJAH *et al.* (1997) estudaram a matriz de fibra de farelo de trigo antes e após de tratamento de desfitinização com fitase comercial, sob condições de incubação

a temperatura e pH mencionadas anteriormente. Concluíram que este tratamento não conduz a modificações nos componentes da fibra.

Capítulo I

**DETERMINAÇÃO DE FITATOS POR CLAE EM FARELO DE ARROZ
ESTABILIZADO ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM FITASE**

RESUMO

O farelo de arroz constitui uma das maiores fontes naturais de ácido fítico (*myo*-inositol hexafosfato), fato que limita a sua utilização na alimentação humana ou animal. Fitase exógena purificada de trigo foi utilizada na remoção de ácido fítico e a distribuição das frações de polifosfatos de *m*-inositol foram estudadas por CLAE. Depois de 24h de hidrólise, o hexafosfato (IP₆) continuou sendo a fração predominante (81%) enquanto que as frações IP₄ e IP₃ permaneceram insignificantes (0,3 e 0,5%, respectivamente). A redução dos fitatos totais mediante este processo alcançou 37%, provando ser pouco eficaz para farelo estabilizado.

Palavras chave: *farelo de arroz, ácido fítico, fitase*

ABSTRACT

The utilization of rice bran as human food or animal feed is greatly limited by its large content of phytic acid (*myo*-inositol hexaphosphate). Removal of phytic acid with purified exogenous phytase from wheat was attempted and evolution of the *m*-inositol polyphosphate pattern followed by HPLC. After 24h of hidrolysis, the hexaphosphate (IP₆) continued to be the predominant fraction (81%) whereas the IP₄ and IP₃ remained negligible (0.3 and 0.5%, respectively). Total reduction of phytates by this process amounted to 37% and proved to be rather inefficient for the stabilized bran.

Key words: *rice bran, phytic acid, phytase*

1 - INTRODUÇÃO

Ácido fítico ou *mio*-inositol hexafosfato ($C_6 H_{18} O_{24} P_6$) é um componente natural de toda as semente, constituindo 1 a 3 % do peso de muitas leguminosas, cereais e oleaginosas, o que perfaz de 60 a 90% do fósforo total (O'DELL *et al.*, 1972). Os fitatos têm várias funções fisiológicas importantes para a planta durante o seu ciclo de vida, incluindo o armazenamento de fósforo e cátions, fornecendo matéria-prima para a formação das paredes celulares, após a germinação da semente. Além disso, o ácido fítico protegeria a semente contra o dano oxidativo durante a sua armazenagem (ERDMAN, 1979; MAGA, 1982; GRAF, 1983).

Numerosas são as publicações que nos últimos anos ressaltam as propriedades nutricionalmente negativas dos fitatos. O ácido fítico, em pH neutro e alcalino, forma complexos insolúveis com cátions bi e polivalentes o que compromete a biodisponibilidade de alguns minerais, fundamentalmente zinco, cálcio, ferro e cobre (MORRIS & ELLIS, 1980; CHERYAN, 1980, REDDY *et al.*, 1982; OBERLEAS, 1983; GRAF & EATON, 1984; LÁSZTITY & LÁSZTITY, 1990; DOMENE, 1996).

O alto conteúdo de fósforo do grão do arroz (14.800 a 28.700 mg/kg) é concentrado no farelo (BARBER, 1986; SAUNDERS, 1990; WARREN & FARRELL, 1990a), encontrando-se principalmente na forma de fitatos. Segundo O'Dell *et al.* (1972), 85% do ácido fítico do arroz localiza-se no pericarpo, 13% no gérmen e 2% no endosperma. Os dados da literatura mencionam para farelo de arroz completo valores de fitatos totais da ordem de 3,65g e 4,48g, por 100g (RAVINDRAN *et al.*, 1994; BERGMAN *et al.*, 1997), e de 6,25 a 6,9g, por 100g, para farelo de arroz desengordurado (WEBER & CHAUDHARY, 1987; DOMENE, 1996).

O ácido fítico (IP_6) naturalmente presente no farelo de arroz representa 85 a 92% dos fitatos totais (SANDBERG & AHDERLINNE, 1996; LEHRFELD & MORRIS, 1992).

Vários trabalhos ressaltam o possível valor nutritivo do farelo de arroz, subproduto do beneficiamento do arroz descascado, com base na determinação química de nutrientes onde aparece como fonte de proteínas, vitaminas, minerais e fibra. O ácido fítico ou fração hexafosfórica, entretanto, tem sido apontado como o principal determinante da baixa biodisponibilidade de minerais em dietas baseadas em farelo de arroz desengordurado (THOMPSON & WEBER, 1980; WARREN & FARRELL, 1990b; PRAKASH, 1996).

A hidrólise de fitatos em cereais é resultante da atividade das fitases ou fosfoidrolases de *mio*-inositol hexafosfato, que têm como produtos finais fosfato inorgânico livre e o inositol e como produtos intermediários, os penta-, tetra-, tri-, bi- e monofosfato de inositol.

Existem trabalhos mostrando que é possível ativar a fitase endógena do farelo, ocasionando a eliminação quase completa do ácido fítico (SERRANO & THOMPSON, 1984; BARTRIK & SZAFRANSKA, 1987; NAYINI & MARKAKIS, 1983; SANDBERG & SVANBERG, 1991). Esse processo, entretanto, requer a utilização do substrato na sua forma virgem; ou seja, não estabilizada por tratamento térmico. Para a desfitinação por ativação da fitase endógena seria necessária a utilização de grandes fermentadores, passos de hidratação, incubação, seguidos de desidratação e posterior desengorduramento e estabilização. É evidente que o processo é caro, não justificando-se os investimentos para um produto de tão baixo valor de mercado (aprox. US\$ 100/ton). Alternativamente, porém, o desengorduramento poderia ser efetuado por extração inicial do óleo com solvente (evitando o uso de calor forte), mas preservando a atividade da enzima endógena, sem a garantia de diminuição significativa dos custos.

A forma mais racional de aproveitar o farelo, subproduto dos engenhos de arroz, é extraíndo o óleo por prensão e aquecimento, gerando-se o farelo estabilizado, como um novo subproduto. Os tratamentos de estabilização enzimática e desengorduramento envolvem passos de aplicação de temperatura atingindo 50°C, tratamento com vapor, prensagem, alguns deles tendo sido apontados como capazes de produzir

desfosforilação parcial dos ésteres de inositol (TANGENDJAJA, *et al.*; 1981; PHYLIPPY *et al.*, 1988; LEHRFELD, 1989).

Valores de fitatos totais determinados em farelo de arroz mostraram que não ocorre uma redução importante dos compostos fosforilados como consequência do processo de estabilização (DOMENE, 1996). Entretanto valores de distribuição de frações de inositol (IP₆, IP₅, IP₄, e IP₃) no farelo de arroz, após estabilização e desengorduramento, não foram encontrados na literatura.

Do ponto de vista nutricional, é importante destacar que, fundamentalmente as frações de inositol hexa e penta-fosfóricas são as que determinam um comprometimento significativo na biodisponibilidade de minerais, em especial, para os animais monogástricos, enquanto que ésteres menores do que o IP₅ não mostram efeito antinutriente significativo (SANDBERG *et al.*, 1989; ROSSANDER *et al.*, 1992).

A maioria dos métodos de determinação de fitatos em alimentos, entre eles o método oficial, baseia-se na quantificação de fósforo ($-PO_4^{2-}$), considerando o ácido fítico como única fonte de fósforo. Na realidade, outras formas, inclusive aquelas resultantes da desfosforilação dos próprios IP₆ e IP₅, estão normalmente presentes em alimentos que sofreram algum tipo de processamento. Como consequência, é comum ocorrer a superestimação do teor real deste componente (LEHRFELD & MORRIS, 1992), quando se empregam métodos inapropriados.

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), já tem sido utilizada para a identificação de ácido fítico (IP₆; GRAF & DINTZIS, 1982), assim como também dos inositois parcialmente fosforilados (IP₅, IP₄, IP₃; SANBERG & AHDERINNE, 1986; LEHRFELD, 1989). Atualmente está sendo divulgada a utilização de variantes desses métodos, utilizando derivatização pós-coluna com perclorato férrico nonaidratado e ácido perclórico na determinação de ácido fítico em ração para aves (BASF, 1998),.

Neste trabalho, utilizou-se a técnica de CLAE para determinar as frações IP₆, IP₅, IP₄, e IP₃ em farelo de arroz estabilizado (F) e no produto após processo de desfitinação com fitase exógena comercial (Fd). Via de comparação, os fitatos totais

foram determinados no farelo de arroz estabilizado pelo método colorimétrico de LATTA & SKIN (1980).

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1- Matéria prima

Farelo de arroz estabilizado (F), proveniente de IRGOVEL, Indústria Riograndense de Óleos Vegetais Ltda. (Pelotas, RS, Brasil), foi totalmente moído em moinho de facas e peneirado até granulometria de 42 mesh. O material foi conservado em sacos plásticos e mantido a aproximadamente -12°C até a sua utilização. O processo de estabilização, que consiste basicamente na extração do óleo e concomitante inativação térmica das enzimas oxidativas do farelo, foi feita por processo da própria indústria, que consta de várias etapas: seleção e limpeza do farelo, padronização da umidade, prensagem no formato de pellets para extração do óleo, remoção do resíduo com hexano aquecido a 50°C e, por último, aplicação de calor direto e indireto, para eliminação do hexano.

2.1.1 - Processo de desfitinização

Para a obtenção de farelo de arroz desfitinizado (Fd), frações de F foram suspensas com água destilada na relação 1:4 e adicionou-se fitase (Sigma, crude from rice, P-1259), na concentração de 1,13g/100g de F e Chemynol (ChemYUnion; 0,1mL/100mL), como preservante contra crescimento microbiano. O pH foi ajustado com HCl para 5,15 e o sistema incubado em banho-maria na temperatura de 55°C, com agitação mecânica contínua; condições de pH e temperatura ótimas para a fitase

(TANGENDJAJA *et al.*, 1981). Após 24 h, o material obtido foi resfriado, congelado e liofilizado.

2.2 - Determinação de fitatos totais

Aproximadamente 2g de F e Fd, foram suspensos em 40 mL de HCl 0,65N, em temperatura ambiente, com agitação mecânica contínua. Após um período de 1,5 h, o extrato foi centrifugado a 17300×g durante 30 minutos e imediatamente, alíquotas do sobrenadante foram diluídas em água desionizada (1/25mL) e passadas em coluna de vidro contendo 0,5g de resina AG 1-X4 (Bio-rad, 100-200 mesh), segundo as recomendações de HARLAND & OBERLEAS (1986). Para remoção do fósforo inorgânico e outros compostos interferentes, NaCl 0,1M foi passado primeiramente. Os fitatos retidos na coluna foram eluídos da resina com NaCl 0.7M. Seguindo as recomendações de Latta & Eskin (1980), parte do eluato (3mL) foi combinado com 1mL de reagente de Wade (cloreto férrico + ácido sulfosalísílico), agitado em vortex e centrifugado. A absorbância no sobrenadante foi lida em Espectrofotômetro a 500nm. Soluções padrão de ácido fítico (Sigma, P-3168), em concentrações de 0 a 50µg/mL, previamente submetidas ao mesmo tratamento dos extratos, foram utilizadas para a construção de uma curva de calibração.

2.3 - Determinação de Tri-, Tetra-, Penta-, e Hexafosfatos de inositol por CLAE

2.3.1 - Instrumento

As determinações foram realizadas em equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), provido de bomba (Varian 9012), forno para coluna (Varian, Mistral), utilizando o programa Star Chromatography Workstation e detector de índice

de refração (Varian Star 9040 IR). A coluna foi de fase reversa, 100 RP-18, esferas de 5 μ m e um comprimento de 12.5cm (Hibar, Merck).

2.3.2 - Fase móvel

A fase móvel consistiu de solução 0,05M de ácido fórmico : metanol (Merck, grau CLAE), numa relação 49:51, adicionada de 1,5mL/100mL de TBA-OH (hidróxido de tetrabutilamoníaco, Fluka, 40% em água). O pH da solução foi ajustado para 4,3 adicionando ácido sulfúrico 9M. A fase móvel foi filtrada através MF-Millipore (0,45 μ m), sob vácuo e sonicada por 20 min. Todas as soluções foram preparadas em água ultrapura (18,2M Ω).

2.3.3 - Curva de calibração

Ácido fítico, (hexafosfato de *m*-inositol, Sigma, “Dodecasodium salt from rice”, P-3168), foi utilizado para estudar a linearidade da concentração do fitato em relação às áreas dos picos e construção de curva de calibração. Injeções de soluções em concentrações de 2, 4, 6, 8, 12 e 16mg/mL de ácido fítico em água, foram estudadas considerando 893mg de ácido fítico, por grama de sólido, do composto padrão (valor estimado pela determinação prévia de fósforo, usando o método de digestão seca). A curva de calibração se apresenta no Figura 1.

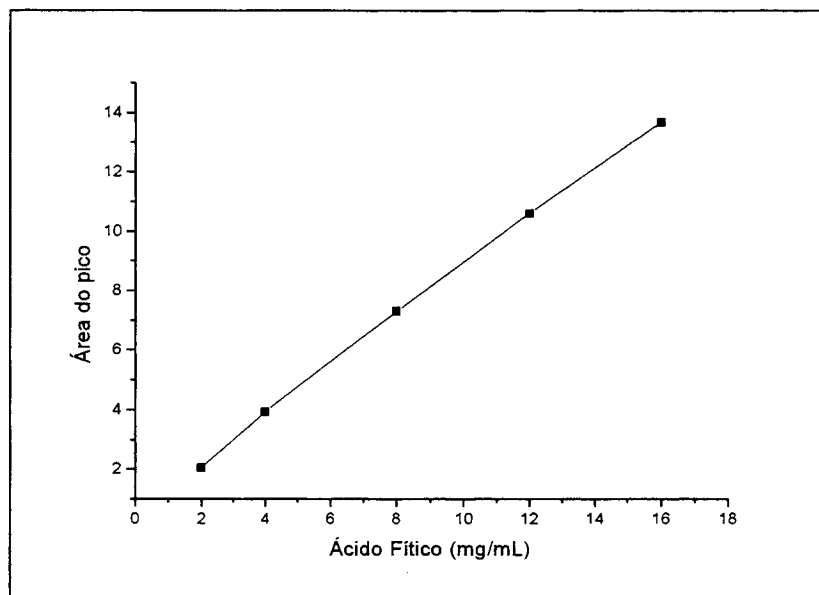


Figura 1. Curva de calibração para o ácido fítico. Os pontos representam concentrações de 2, 4, 8, 12 e 16mg/mL de fitato de sódio. Y: área do pico. R: 0,999. Cada ponto representa a média de três determinações.

2.3.4 - Preparação das amostras

Aproximadamente 0,5g de F e Fd foram suspensos em 20mL de HCl 0,5M, em temperatura ambiente, com agitação mecânica vigorosa e contínua. Após um período de 2h, o extrato foi centrifugado a 17300×g durante 30 minutos. Imediatamente depois, o sobrenadante foi levado a freezer por uma noite e filtrado sob pressão em seringas plásticas de 20mL, usando MF-Millipore (0,22µm). Os fosfatos de inositol foram separados e concentrados utilizando uma modificação do método de GRAF & DINTZIS

(1982). Primeiramente, o filtrado foi concentrado até secar em rotaevaporador, utilizando banho de água com temperatura controlada para não exceder os 40°C e uma bomba de vácuo. O extrato foi dissolvido em 20mL de HCl 0,025M e eluído em coluna de vidro contendo 0,5g de resina AG 1-X4 (Bio-rad, 100-200 mesh), seguido de 10 e 5mL de HCl 0,025M. Os fitatos foram removidos da coluna com dez porções de 1mL de HCl 2M. Este eluato foi coletado e novamente evaporado em temperatura controlada até a secar e, por último, diluído em 1mL de água ultrapura.

2.3.5 - Procedimento

O equipamento foi pré-condicionado durante 1,5 h com fase móvel. Fizeram-se, injeções de 20µl, com um fluxo de 1,5mL por min. O equipamento foi mantido em temperatura constante de 28°C. A fração hexafosfato, foi identificada e quantificada usando o padrão externo de ácido fítico (Sigma, P-3168, curva de calibração).

As frações IP5, IP4 e IP3, foram identificadas através dos tempos de retenção referidos pela literatura (SANDBERG & AHDERINNE, 1986; LEHRFELD, 1989; BURBANO *et al.*, 1995), e quantificadas usando o inositol hexafosfato, como padrão interno, e aplicando fatores relatados por SANDBERG & AHDERINNE (1986) para correção das diferenças das áreas. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor médio de fitatos totais no farelo estabilizado, determinado por método colorimétrico, alcançou 7,53 (\pm 0,66)g por 100g. Este valor foi próximo do encontrado por DOMENE (1996). Esses valores obtidos pelo método colorimétrico, mostraram

também concordância com a somatória das frações determinadas pelo método de CLAE.

Os perfis de distribuição, dos diversos fosfatos de *m*-inositol, obtidos para o padrão de ácido fítico Sigma, as amostras de farelo de arroz (F) e farelo de arroz desfitinizado (Fd), por CLAE, são apresentados nas Figuras 2 e 3, respectivamente.

O ácido fítico (IP₆) no F alcançou 6,69g por 100g, equivalente a 84,8% do teor total, enquanto que o percentual para a fração pentafosfato não superou 1,1. Os fosfatos de inositol encontrados em grãos e legumes usualmente contêm ao redor de 90% do inositol na forma hexafosfórica, correspondendo os restantes 10% à somatória dos penta-, tetra-, ... fosfatos.

Uma pergunta comum entre industriais e consumidores que pretendem empregar o farelo na alimentação humana ou animal é o quanto que o processo de estabilização pode diminuir o teor de fitatos. Aparentemente, o processo de estabilização térmica e desengorduramento do farelo virgem não resulta em ativação suficiente da fitase endógena, capaz de produzir desfosforilação significativa na fase inicial do processo.

No farelo desfitinizado, a quantidade de ácido fítico diminuiu para 4,3g por 100g, o que correspondeu ao 63,3% do valor encontrado no F; ou seja, obteve-se apenas 37% de desfitinização em 24h de hidrólise. Este valor foi pequeno quando comparado aos níveis de desfitinização obtidos por outros pesquisadores que utilizaram o procedimento de ativação da fitase endógena. TANJENDJAJA *et al.* (1981), conseguiram sob as mesmas condições de incubação, com fitase endógena ativada, redução de 70% nos níveis de ácido fítico. SANDBERG & SVANBERG (1991), estudaram a degradação do ácido fítico em farelo de trigo, com fitase endógena inativada em autoclave e incubada com fitase comercial, sob condições ótimas de atividade para a enzima e conseguiram degradação de somente 50%. Em experiência paralela, esses pesquisadores observaram que o mesmo farelo incubado por 24h, sem adição de fitase, não teve qualquer diminuição no nível de fitato.

Na Tabela 1 são apresentadas as frações dos ésteres de inositol para ambas amostras de farelo, F e Fd.

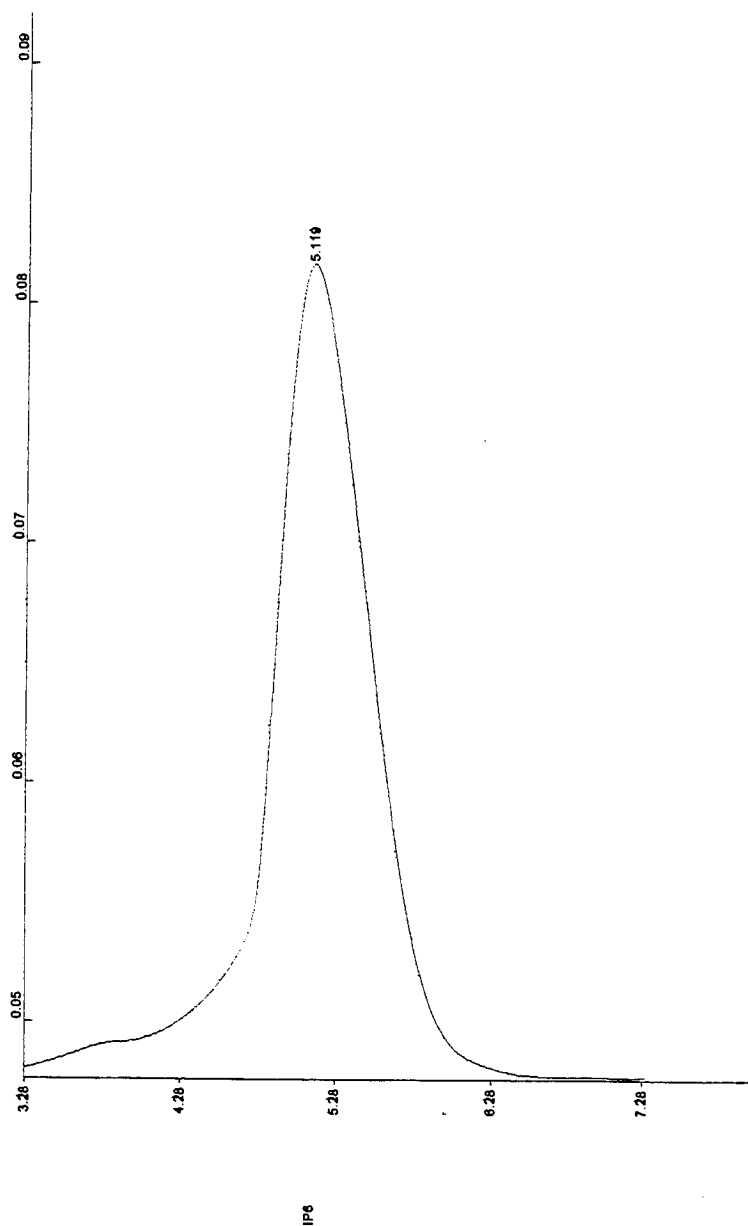


Figura 2. Cromatograma, obtido em coluna de fase reversa, de solução padrão de fítato de sódio (IP_6). X: tempo em minutos e y: resposta no detector RI (índice de refração).

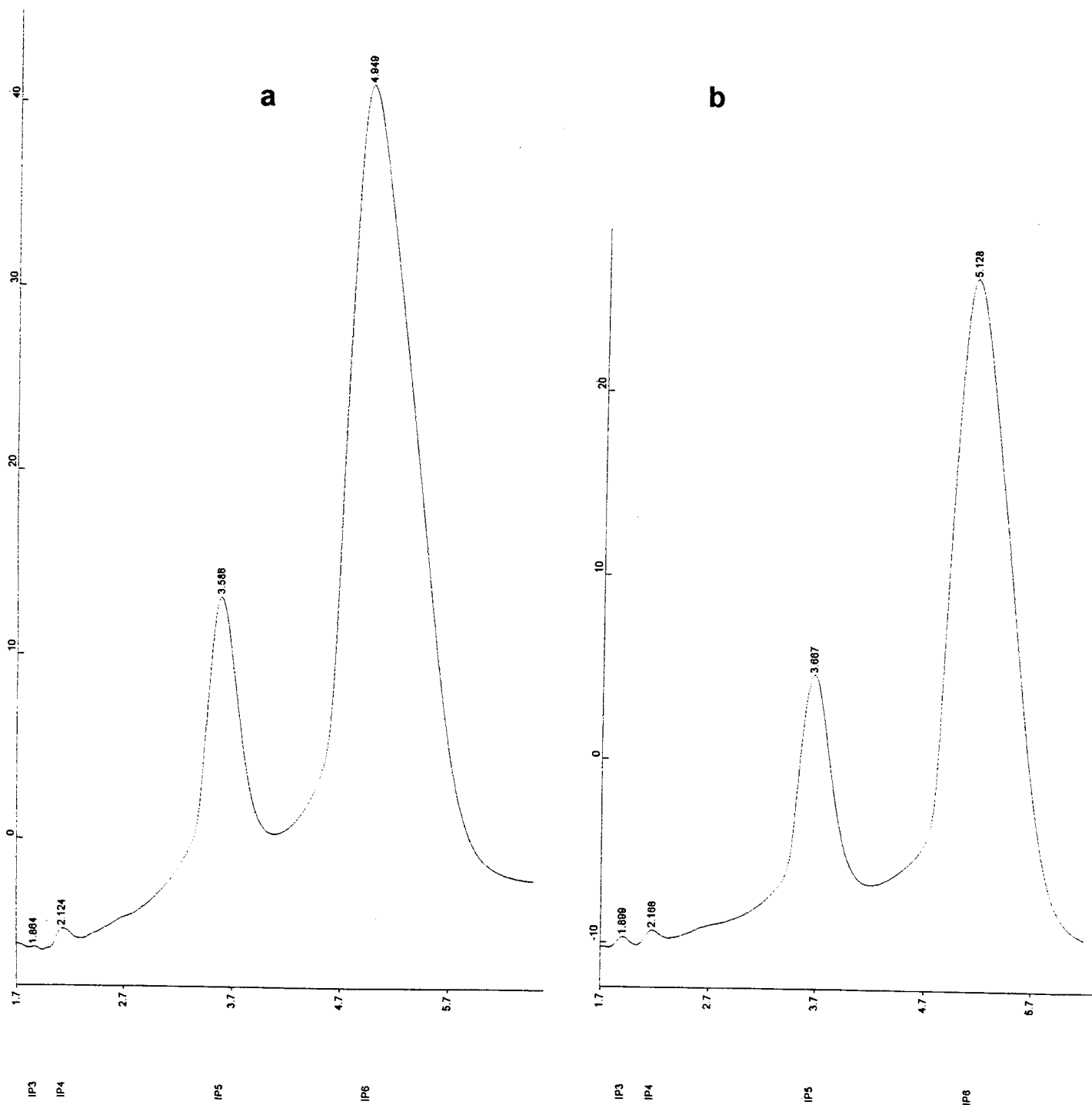


Figura 3. Cromatografia de fase reversa: **a** para amostra de F e **b** para Fd. x: tempo em minutos e y: resposta no detector RI (índice de refração).

Tabela 1. Fosfatos de inositol para amostras de farelo de arroz estabilizado antes (F) e depois (Fd) da desfitinização¹.

Amostra	IP ₆		IP ₅		IP ₄		IP ₃	
	g	%	g	%	g	%	g	%
F ²	6,8 (±0,03)	84,8	1.16 (±0,007)	14,8	0,028 -	0,36 -	0,003 -	0,04 ----
Fd ³	4,3 (±0,02)	81,0	0.96 (±0,009)	18,1	0,013	0,26	0,027	0,51

¹ Valores médios e desvio padrão de três determinações expressos em g/100g (base seca) e em % de total interno.

² Amostra de farelo de arroz estabilizado.

³ Amostra de farelo de arroz estabilizado e submetido a tratamento de desfitinização com fitase comercial.

De um modo geral, foi observado que as quantidades de IP₄ e IP₃ nos farelos foram desprezíveis. As escassas diferenças entre F e Fd, em termos das frações IP₅, IP₄ e IP₃, mostraram que, o tratamento de F com fitase comercial não conduziu ao incremento significativo das frações menores, às expensas das formas maiores. Nesse respeito, resultados similares em farelos tratados com fitase microbiana foram relatados por JAJARAJAH *et al.* (1997).

Apesar de não se ter uma explicação lógica para esse resultado, dada a superioridade numérica das moléculas de IP₆ e IP₅, não é descartável a possibilidade de que os substratos IP₆ e IP₅ se encontrem protegidos na matriz do grânulo da farinha. Foi notável também o fato de que a relação IP₆/IP₅ se mostrou alterada de 1,58, antes do tratamento, para 1,21 após a desfitinação (Tabela 1). Esta alteração, embora não

muito grande, é explicável pela maior ação esperada da enzima pelas formas do substrato presentes em maior concentração.

Em conclusão, o teor de ácido fítico encontrado no farelo industrial estabilizado correspondeu ao já observado naturalmente no grão de arroz integral, confirmando que, mesmo após o processo de estabilização e desengorduramento, são poucas as alterações, do ponto de vista quantitativo ou qualitativo. A fitase comercial exógena de arroz mostrou ser pouco eficaz para a remoção de ácido fítico em farelo estabilizado, conseguindo teores de desfitinação baixos, em relação aos conseguidos através da ativação da fitase endógena, descritos na literatura. A explicação mais plausível para esta observação estaria na localização estratégica que a enzima endógena possui naturalmente com relação ao substrato, na matriz da camada aleurônica. Permanece ainda a ser determinado um meio de imitar tal disposição natural da enzima e substrato para tornar o processo de moagem, maceração e hidrólise mais eficiente. O farelo estabilizado não possui fitase endógena ativa e, portanto, qualquer tratamento para conseguir diminuição expressiva do nível de fitato no F deverá, obrigatoriamente, ser efetuada em etapa anterior ao aquecimento da estabilização; de tal forma que a fitase endógena possa ser utilizada.

Os autores agradecem o apoio da FAPESP pela bolsa (Proc. 97/05788-0) e auxílio a Infra-Estrutura de Pesquisa (Proc. 95/6589-6) e a FAEP pelo auxílio a pesquisa (0854/97).

4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBER, S. Nuevas perspectivas en el aprovechamiento del salvado de arroz. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 116, n. 12, p. 2339-2349, 1986.
2. BARTNIK, M.; SZAFRANSKA, I. Changes in phytate content and phytase activity during the germination of some cereals. **Journal of Cereal Science**, v. 5, p. 5-23, 1987.

3. BASF. Determination of Phytic acid in feed by HPLC. Keeping Current, KC 9803, 1998, p. 1-2.
4. BERGMAN, C. J.; GUALBERTO, D. G.; WEBER, C. W. Mineral binding capacity of dephytinized insoluble fiber from extruded wheat, oat, and rice brans. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 51, p. 295-310, 1997.
5. BURBANO, C.; MUZQUIZ, A.; OSAGIE, G. A.; CUADRADO, C. Determination of phytates and lower inositol phosphates in Spanish legumes by HPLC methodology. **Food Chemistry**, v. 52, p. 321-325, 1995.
6. CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 13, p. 297-355, 1980.
7. DOMENE, M. S. A. Estudo do valor nutritivo mineral do farelo de arroz. Utilização do zinco, ferro, cobre e cálcio pelo rato em crescimento. Campinas, 1996. 104p. Tese (doutor em Ciência da Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
8. ERDMAN, J. W. Oilseed phytates: nutritional implications. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 56, p.736-741, 1979.
9. GRAF, E. Applications of Phytic acid. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 60, n. 11, p. 1861-1866, 1983.
10. GRAF, E.; EATON, W. Effects of phytate on mineral bioavailability in mice. **Journal of Nutrition**, v.114, p. 1092-1198, 1984.
11. GRAF, E.; DINTZIS, R. High-performance chromatographic method for the determination of phytate. **Analytical Biochemistry**, v. 119, p. 413-419, 1982.
12. JAJARAJAH, C. N; TANG, H.; ROBERTSON, J.; SELVENDRA, R. Dephytinisation of wheat bran and the consequences for fibre matrix nonstarch polysaccharides. **Food Chemistry**, v.58, p. 5-12, 1997.
13. HARLAND, B. F.; OBERLEAS, D. Anion exchange method for the determination of phytate in foods collaborative study. **Journal of the Association of Official Analitical Chemists**, v 68, p.667-670, 1986.

14. LÁSZTITY, R.; LÁSZTITY, L. Phytic acid in cereal technology. **Advances in cereal science and technology**, v. 10, p. 309-371, 1990.
15. LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Clinical Nutrition**, v. 45, n. 5, p. 1048-1053, 1983.
16. LEHRFELD, J. High performance chromatography analysis of phytic acid on a pH-stable, macroporous polymer column. **Cereal Chemistry**, v. 66, n. 6, p. 510-515, 1989.
17. LEHRFELD, J.; MORRIS, E. R. Overestimation of phytic acid in foods by the AOAC anion-exchange method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 2208-2210, 1992.
18. MAGA, J. A. Phytate: Its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 1-9, 1982.
19. MORRIS, E. R.; ELLIS, R. Effect of dietary phytate/zinc molar ratio on growth and bone zinc response of rats fed semi-purified diets. **Journal of Nutrition**, v. 110, p. 1037-1045, 1980.
20. NAYINI, N. R.; MARKAKIS, P. Effect of fermentation time on the inositol phosphates of bread. **Journal of Food Science**, v. 48, p. 262, 1983.
21. OBERLEAS, D. Phytate contents in cereals and legumes and methods of determination. **Cereal Foods World**, v. 28, p. 352-357, 1993.
22. O'DELL, B. L.; DeBOLLAND, A. R.; KOIRTYOHANN, S. R. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, p. 718-721, 1972.
23. PHILLIPPY, B.Q.; JOHNSTON, M.R.; TAO, S.H.; FOX, M.R.S. Inositol phosphates in processed foods. **Journal of Food Science**, v. 53, p. 496-499, 1988.

24. PRAKASH, J. Rice bran: properties and food uses. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 36, n. 6, p. 537-552, 1996.
25. RAVINDRAN V.; RAVINDRAN, G.; SIVALOGAN, S. Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. **Food Chemistry**, v. 50, n. 2, p. 133-136, 1994.
26. REDDY, N. R.; SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K. Phytate in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, v.28, 1-92, 1982.
27. ROSSANDER, L.; SANDBERG, H.S.; SANDSTROM, B. **The influence of dietary fibre on mineral absorption and utilisation.** In: SCHWEEIZER, T.F.; EDWARDS, C.A. Dietary fibre a component of food. Nutritional function in health and disease. London: Springer-Verlag, 1992, p. 197-216.
28. SANDBERG, A. S.; AHDERINNE, R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta and hexaphosphates in foods and intestinal contents. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 3, p. 547-550, 1986.
29. SANDBERG, A. S; CARLSSON, N. G.; SVANBERG, U. Effects of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates on in vitro estimation of iron availability. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 1, p. 159-162, 1989.
30. SANDBERG, A. S.; SVANBERG, U. Phytate hidrolisis by phytase in cereals; effects on in vitro estimation of iron availability. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 5, p. 1330-1333, 1991.
31. SAUNDERS, R. M. The properties of rice bran as a foodstuff. **Cereal Foods World**, v. 35, n. 7, p. 632-636, 1990.
32. SERRANO, M. R.; THOMPSON, L. V. Removal of phytic acid and protein phytic acid interaction in rapeseed . **Journal of the Agricultural Food Chemistry**, v. 32, p. 38-40, 1984.
33. TANGENDJAJA, K.; BUCKLE, A.; WOOTON, M. Dephosphorylation of phytic acid in rice bran. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1021-1024, 1981.

34. THOMPSON, S. A.; WEBER, C. W. Effect of dietary fiber sources on tissue mineral levels in chicks. **Poultry Science**, v. 60, p. 840-845, 1981.
35. WARREN, B. E.; FARRELL, D. J. The nutritive value of full-fat and defatted Australian rice bran. III. The apparent digestible energy content of defatted rice bran in rats and pigs and the metabolisability of energy and nutrients in defatted and full-fat bran in chickens and adult cockerels. **Animal Food Science and Technology**, v. 7, n. 3, p. 219-228, 1990.
36. WARREN, B. E.; FARRELL, D. J. The nutritive value of full-fat and defatted Australian rice bran. I Chemical composition. **Animal Food Science and Technology**, v. 7, n. 3, p. 219-228, 1990.
37. WEBER, F. E.; CHAUDHARY, V. K. Recovery and nutritional evaluation of dietary fiber ingredients from barley by products. **Cereal Foods World**, v. 32, n. 8, p. 548-550, 1987.

CAPÍTULO II

FARELO DE ARROZ NA DIETA PROTEGE O RATO CONTRA A INTOXICAÇÃO COM CHUMBO

RESUMO

Fibras e fitatos têm sido sugeridos isoladamente como agentes protetores contra o envenenamento com chumbo. O presente trabalho objetivou investigar o efeito da inclusão de farelo de arroz (F), como fonte de fibras e fitatos, na deposição de chumbo no organismo do rato, quando alimentado com dieta padrão contaminada com litargírio (PbO). Para tanto, dois experimentos foram realizados com ratos machos Wistar (60 dias, 271g). O experimento 1, consistiu de seis grupos de sete animais cada, recebendo dietas padrão com celulose ou farelo: **B** (basal, AIN-93G, 5% de fibra celulósica), **BF** (igual a **B**, exceto que com 17% de F em lugar de celulose, para atingir 5% de fibra insolúvel), **C5** (igual a **B**, mas contaminada com 160mg/kg de PbO), **C1** (semelhante a **C5**, exceto que continha 1,2% de fibra celulósica), **F5** (igual a **BF**, contaminada com 160mg/kg de PbO), e **F1** (semelhante a **F5**, exceto que continha 4,7% de F fornecendo 1,2% de fibra insolúvel). O experimento 2, consistiu de três grupos, de sete animais cada, recebeu dietas padrão com celulose ou farelo parcialmente desfitinizado (Fd), a saber: **B**, **F+Fd** (igual a **F5**, exceto que a fibra era fornecida, 50% por F e 50% por Fd) e **Fd** (igual a **F5**, exceto que a fibra era fornecida por Fd). O crescimento e consumo de dieta dos animais foi controlado semanalmente. Os níveis de Pb em sangue, fígado, rins e osso foram determinados por espectrometria de emissão atômica (ICP-AES). Após 28 dias de alimentação, os resultados de crescimento e eficiência alimentar mostraram que o F não produziu efeitos negativos aparentes, ao passo que os valores de Pb no osso, fígado e rim para os animais com dietas **F5**, **F+Fd** e **Fd** foram significativamente inferiores ($P<0,05$) aos dos animais com dietas **C5** e **C1**. Os níveis de chumbo acumulado em rim e fígado, mostraram que a retenção por estes órgãos foi inversamente proporcional às quantidades de fitatos na dieta. O farelo, usado no nível mais baixo (4,7%), já mostrou efeito protetor para o organismo, em relação à celulose. Os valores de Pb observados nos tecidos para a dieta **F1** foram significativamente inferiores ($P<0,05$) àqueles da dieta **C1**. Conclui-se que substituição da celulose da dieta padrão pelo farelo de arroz proporciona proteção ao rato contra o envenenamento

com chumbo alimentar, num estágio em que nem a contaminação nem os níveis de farelo, manifestam qualquer efeito negativo no crescimento do animal jovem.

Palavras-chave: *farelo de arroz; chumbo; fitatos; fibra alimentar; dieta moderna*

ABSTRACT

It has been suggested that both dietary fiber and phytates, individually play a role in the prevention of lead poisoning. The purpose of the present investigation was to study the uptake of lead by the body from a standard rat diet that was both contaminated with litharge (PbO) and added with rice bran (F) as a source of fiber and phytates. Male Wistar rats (60-day old, 271g) were used in two experiments. For experiment 1, six groups ($n = 7 \times 6$) received the standard diet containing either cellulose (C) or rice bran: **B** (basal, AIN-93G, 5% cellulose fiber), **BF** (same as **B**, but added with 17% of F instead of C, to provide 5% of insoluble fiber), **C5** (same as **B**, but contaminated with 160mg/kg PbO), **C1** (similar to **C5**, except that contained 1,2% of C), **F5** (same as **BF**, contaminated with 160mg/kg PbO), and **F1** (similar to **F5**, except that contained 4,7% of F, supplying 1,2% insoluble fiber). Experiment 2, consisted of three groups, ($n = 7 \times 3$), receiving the standard diet containing either C or dephytinized F (Fd), as follows: **B**, **F+Fd** (same as **F5**, except that the fiber proceeded 50% from F and 50% from Fd) and **Fd** (same as **F5**, except that the fiber was supplied by Fd, only). Growth and food consumption was monitored weekly. Lead contents of blood, liver, kidney and bone were determined by atomic emission spectrometry (ICP-AES). On the 28th day of feeding results of growth and food efficiency indicated that while F did not produce any apparent detrimental effects, Pb accumulation in femur, liver, and kidney of the animals fed diets **F5**, **F+Fd** and **Fd** were significantly lower ($P < 0,05$) than those consuming diets **C5** e **C1**. The levels of the metal accumulated in kidney and liver showed that retention by these organs was inversely proportional to the quantity of phytate in the diet. Pb values observed in all tissues for diet **F1** were significantly ($P < 0,05$) lower than for **C1**. Rice bran, when used at its lowest level (4,7%), showed to be effective as a dietary protecting agent, especially in relation to cellulose. It is concluded that substitution of rice bran for the cellulose of a rat standard diet brings about significant protection to animals exposed to dietary contamination with lead. Neither the levels of rice bran used nor the extent of the contamination appeared to have acute clinical or nutritional consequences.

Key words: *rice bran; lead; phytate; dietary fiber; modern diet*

1 - INTRODUÇÃO

O chumbo ambiental e ocupacional continua a apresentar uma ameaça para a saúde pública, sendo que a principal via de contaminação para a população em geral é por meio dos alimentos e bebidas (SCHWARTZ, 1994; BOGDEN *et al.*, 1997).

Quando se avalia o risco da exposição ao chumbo para uma população, devem-se considerar os hábitos alimentares e os padrões de consumo da população. De modo geral, o desenvolvimento de um país está associado a um aumento no consumo de alimentos. Esse incremento, porém, não apresenta características homogêneas para todos os gêneros, e sim aumentos seletivos em relação ao consumo de gorduras e carnes, com diminuição concomitante no grupo dos cereais, especialmente no de grãos integrais. Tais mudanças nos hábitos alimentares conduzem a alterações na absorção de metais presentes na dieta, entre eles os contaminantes (GOYER, 1997). A preocupação atual está voltada principalmente para o impacto que a dieta moderna pode trazer para a saúde da população (BALDINI *et al.*, 1989).

Tanto o fitato de cálcio (WISE, 1981; ROSE & QUATERMAN, 1984), como a fibra dietética insolúvel (SALVA *et al.*, 1996), quando incorporados à dieta de animais têm mostrado isoladamente efeito benéfico, no sentido de diminuir a deposição de Pb em diversos órgãos. É importante salientar que tal efeito benéfico foi notado apenas quando o fitato de cálcio foi fornecido ao animal concomitantemente com o chumbo e não através de uma fonte natural de fibras e fitatos

O farelo de arroz é um subproduto agroindustrial que se distingue pelos seus altos teores de fitatos (~6%), fibras (~38%) (WEBER, *et al.*, 1993; RAVINDRAN, *et al.*, 1994, DOMENE, 1996), além de proteínas, enquanto que a sua fração mineral possui abundantes quantidades de zinco, cobre e ferro, contrastando com níveis ínfimos de cálcio (WARREN & FARRELL, 1990; SAUNDERS, 1990, DOMENE, 1996).

O objetivo do presente trabalho foi quantificar o possível efeito protetor, que a inclusão de farelo de arroz, em substituição da celulose microcristalina, da dieta padrão para roedores (AIN-93), traria para o rato, diminuindo o acúmulo de chumbo em quatro

tecidos. Os parâmetros a serem monitorados foram o consumo e eficiência alimentar e ganho de peso, assim como a deposição de Pb em sangue, fígado, rim e osso.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Matéria-prima

2.1.1 - Farelo de arroz estabilizado e desengordurado (F)

Utilizou-se farelo de arroz estabilizado proveniente de IRGOVEL, Indústria Riograndense de Óleos Vegetais Ltda. (Pelotas, RS, Brasil). O processo de estabilização, que consiste basicamente na extração do óleo e concomitante inativação térmica de enzimas oxidativas do farelo, foi feita pela própria indústria envolvendo os passos de seleção e limpeza do farelo, padronização da umidade (8%), secagem no formato de *pellets*, extração do óleo com hexano aquecido a 50°C e, por último, aplicação de calor direto e indireto, para eliminação do hexano. O farelo, na forma de *pellets* foi moído em moinho de facas e peneirado totalmente até granulometria de 42 mesh. O material foi estocado em sacos de polietileno e mantido a, aproximadamente, - 12°C até sua utilização.

2.1.2 - Farelo de arroz parcialmente desfitinizado (Fd)

Para a obtenção de farelo de arroz parcialmente desfitinizado frações de farelo foram suspensas em água destilada na relação 1:4 junto com fitase (Sigma, bruta, de arroz, P-1259), a qual foi adicionada em concentração de 1,13%, e Chemynol (mistura de parabenos, ChemyUnion), 0.1mL/100mL de suspensão para prevenir crescimento microbiano. O ajustado com HCl para 5,15 e incubado em banho-maria a 55°C com agitação mecânica contínua, condições de pH e temperatura ótimas para fitase

(TANGENDJAJA *et al.*, 1981). Após 24h, o material obtido foi resfriado, congelado e liofilizado.

2.1.3 - Caracterização química da matéria-prima

No farelo foram determinadas as seguintes características composicionais: umidade, por método gravimétrico (A.A.C.C., 1983), proteína total pelo método de Kjeldahl (A.O.A.C., 1975), utilizando 5,95 como fator de conversão para proteína de arroz (HOLLAND, *et al.*, 1991), lipídeos totais (BLIGH & DYER, 1959), cinzas (método 08-01 da A.A.C.C., 1983), fibra alimentar solúvel e insolúvel por método gravimétrico-enzimático (PROWSKY, 1992) e carboidratos determinados por diferença, usando a fórmula: $100 - (\text{proteínas} + \text{lipídeos} + \text{fibra solúveis e insolúveis} + \text{cinzas})$. O conteúdo de proteína total na caseína, a ser utilizada nas dietas experimentais, foi determinado (A.O.A.C., 1975) utilizando 6,38 como fator de conversão para proteína de caseína (SGARBIERI, 1996). As análises foram realizadas em triplicata e expressas em base seca, com exceção das fibras que foram calculadas à partir de amostras compostas.

Os conteúdos de frações de inositol fosfato foram determinados nos farelos, por HPLC seguindo as recomendações de SANBERG & AHDERINNE (1986). Para tanto, o material foi extraído em HCl 0,5M, purificado em resina AG 1-X4, concentrado em rotaevaporador e diluído em água ultrapura.

2.3 - Animais e dietas

Ratos machos da raça Wistar, recém-desmamados (22d), provenientes do CEMIB (Biotério Central da Unicamp), foram mantidos em gaiolas coletivas plásticas durante um período de crescimento de 42 dias. Durante esse período, os animais receberam dieta comercial para roedores (NUVITAL, Curitiba) e água "*ad libitum*". Na segunda parte do ensaio, os animais, já com pouco mais de 2 meses de idade, foram distribuídos em grupos com médias de pesos semelhantes ($171 \pm 1g$), empregando

como metodologia a separação em blocos, conforme os pesos e após, distribuição aleatória em grupos. A partir desse momento, foram oferecidas aos animais as dietas experimentais. Durante todo o ensaio, os animais tiveram livre acesso à dieta e água, mantendo as condições ambientais no laboratório em $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, e ciclos de luz/escuro de 12h. Observando-se o protocolo da Comissão de Ética da FEA para Experimentação com Animais, o ensaio biológico se levou a cabo em dois experimentos.

Experimento 1. Quarenta e dois ratos foram distribuídos em grupos de 7 animais cada, recebendo as seguintes dietas-tratamento:

B (basal): dieta com a composição da AIN-93 G, contendo 50g/kg de dieta de celulose microcristalina, equivalentes a 5% de fibra insolúvel.

BF (basal com farelo): igual a AIN-93 G, só que contendo quantidades suficientes de farelo, substituindo a celulose, para atingir 50g/kg de dieta de fibra insolúvel.

C1 (controle contaminada, baixa em fibra): igual a **B**, mas com baixo teor de fibra insolúvel (12g/kg de dieta) proporcionado por celulose microcristalina e contaminada com PbO.

C5 (controle contaminada): dieta com a composição da AIN-93 G, contendo 50g/kg de dieta de celulose microcristalina, equivalentes a 5% de fibra insolúvel e contaminada com PbO.

F-1 (farelo, contaminada e baixa em fibra): dieta contendo quantidades suficientes de farelo para atingir 12g/kg de dieta de fibra insolúvel, contaminada com PbO.

F5 (farelo contaminada): igual a AIN-93 G, só que contendo quantidades suficientes de farelo, substituindo a celulose, para atingir 50g/kg de dieta de fibra insolúvel, contaminada com PbO.

Separadamente e sob as mesmas condições preparatórias do primeiro experimento, se desenvolveu um segundo experimento.

Experimento 2. Vinte e um ratos, distribuídos em três grupos de 7 animais cada, receberam as seguintes dietas-tratamento:

B (basal): dieta com a composição da AIN-93 G, contendo 50g/kg de dieta de celulose microcristalina, equivalentes a 5% de fibra insolúvel.

F+Fd (basal com F e Fd, contaminada): AIN-93 G contendo quantidades suficientes de F, em substituição da celulose, fornecendo 50g/kg de dieta de fibra insolúvel, sendo 50% proveniente de farelo e 50% proveniente de farelo desfitinizado e contaminada com PbO.

Fd (basal com farelo de arroz desfitinizado e contaminada): contendo quantidades suficientes de Fd, substituindo a celulose, para atingir 50g/kg de dieta de fibra insolúvel e contaminada com PbO.

Na formulação das dietas se utilizou caseína (Cassab, SP), óleo de soja (Lisa), amido e amido dextrinizado (Refinações de Milho Brasil), celulose microcristalina (Whatman), açúcar refinado (União), farelo de arroz estabilizado e farelo de arroz estabilizado e parcialmente desfitinizado, vitaminas (BASF S.A.) e sais minerais (Merck). Os teores de umidade no farelo desfitinizado já liofilizado, foram corrigidos para restituir os valores anteriores ao tratamento de desfitinação.

Para a formulação das dietas-tratamento, se seguiram as recomendações do American Institute of Nutrition para ratos em crescimento, AIN-93 G (REEVES, 1993). Os valores composicionais esperados nas dietas foram: proteínas (19,3%), fibra (5%), carboidratos (64%) e lipídeos (16,7%). A densidade energética esperada foi de 3766Cal. por Kg/dieta.

Para que as dietas fossem isoprotéicas e isoenergéticas, na substituição da celulose por F e Fd, foram realizados ajustes quanto aos teores de proteínas, energia e lipídeos, considerando os valores de composição do farelo de arroz.

As dietas-tratamento foram contaminadas com óxido de chumbo (PbO), incorporado na forma de pó e misturado progressivamente às dietas na quantidade final de 160ppm (~147 mg/kg de Pb), dosagem que não compromete visivelmente o crescimento do animal (SALVA, 1996), que é equivalente a ~10 vezes a recomendação tolerável provisória semanal para uma pessoa adulta, aprovada pela comissão de *experts* em aditivos alimentares (JECFA/FAO/WHO), considerando a relação de peso rato/homem de 300g/70kg e uma ingestão diária para o rato de 15g. Os animais permaneceram em gaiolas individuais de aço inoxidável por um período de teste de 4 semanas. O consumo de dieta foi controlado durante o transcurso de todo o experimento e o ganho de peso e consumo da dieta de cada animal, apurados semanalmente.

No final do ensaio, os ratos foram anestesiados em ambiente de éter etílico e amostras de sangue coletadas por punção cardíaca. Rins, fígado e fêmures foram extirpado, pesados e identificados individualmente. As amostras de sangue, fígados e rins foram congeladas e liofilizadas. Os fêmures foram cuidadosamente descarnados mediante o uso de tesouras e bisturi e conservados em freezer, junto com os tecidos liofilizados.

2.3 - Procedimentos analíticos nos tecidos:

Tanto amostras de dietas como de sangue, rins, fígado e fêmures de cada rato, foram submetidos a mineralização por digestão seca, segundo as recomendações de SKURIKHIN (1993). Este método, envolve oxidação completa de substâncias orgânicas em mufla e sua solubilização com ácido nítrico e água deionizada.

Os conteúdos de Pb nas amostras dos tecidos e dietas, foram determinados por meio de espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) em equipamento BAIRD ICP 2000, usando brancos e soluções padrão. Todos os reagentes utilizados foram p.a. Merck.

Os resultados foram submetidos a análise de variância monovariada e as médias comparadas pelo teste de Tukey, usando o programa Statistica e considerando $P < 0,05$ como critério de significância.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Composição do farelo e das dietas

Os dados obtidos sobre a composição do farelo de arroz, foram consistentes com os já relatados na literatura (GUERRA & JAFFÉ, 1975, WARREN & FARRELL, 1990; DOMENE, 1996; TORÍN 1996), sendo constituído de proteínas, 15,69 ($\pm 0,59$)g; cinzas 10,41 ($\pm 0,59$)g, lipídeos 4,62 ($\pm 0,03$)g e carboidratos, 17,75g, por 100g de farelo.

Esses valores mostraram que o processo de estabilização e desengorduramento baixou o teor de gordura do farelo para próximo de 1/5 do conteúdo natural, como já foi indicado na literatura (JULIANO, 1980; SAUNDERS, 1990; SALUNKHE, 1991).

Noventa e cinco por cento da fibra do grão se encontra no farelo, sendo que a celulose é o polissacarídeo mais importante (POMERANZ & ORY, 1982). Os teores de fibra encontrados, 5,54 de solúvel e 32,48% de insolúvel confirmam o farelo de arroz como uma importante fonte de ambos os tipos de fibra alimentar.

A quantidade de farelo necessária para substituir a fibra insolúvel na dieta padrão (AIN 93) foi de 170g/kg de dieta, enquanto que para a dieta com 1,2% de fibra insolúvel, a quantidade necessária de farelo diminuiu para 47,2g/kg de dieta. As formulações das dietas são apresentadas na Tabela 1.

Os valores encontrados de fitatos, 6,79 ($\pm 0,29$)% para IP₆ e de 1 ($\pm 0,27$)% para IP₅, revelam que o farelo de arroz, constitui uma das maiores fontes naturais de ácido fítico, especialmente após o processo de desengorduramento.

Várias são as alternativas disponíveis para diminuir o conteúdo de ácido fítico de um alimento (MAGA, 1982): a ativação da fitase endógena mediante um processo de maceração e ajuste do pH, promoção de germinação de grão intacto e fermentação dos carboidratos do produto, mediante a adição de leveduras e adição de fitase exógena, seguida de incubação (ROSSANDER *et al.*, 1992). Neste estudo, entretanto, o tratamento selecionado está limitado à adição de fitases exógenas, ainda impedindo a modificação da matriz original do farelo, visto que tais modificações podem interferir no desenho experimental. É importante justamente conservar ao máximo a natureza da matéria prima, principalmente em relação à fibra dietética. Sob estas limitações, a incorporação de fitase comercial foi a alternativa considerada mais apropriada (JAJARAJAH *et al.*, 1997).

As porcentagens das frações de inositol encontradas no farelo desfitinizado (Tabela 2) foram, 4,3% para IP₆ e 0,7% para IP₅. Contrariamente ao esperado, não se alcançou uma elevada desfosforilação, conseguindo redução de apenas 35,8%, em relação aos teores originais do farelo. Por outro lado, as frações menores (IP₃ e IP₄) se encontravam presentes em quantidades desprezíveis.

Os valores determinados de Pb nas dietas mostraram-se adequados com as quantidades adicionadas, 144 ($\pm 8,25$)mg/kg. Enquanto que as dietas basais continham 0,20 ($\pm 0,02$)mg/kg.

Tabela 1. Composição das dietas subministradas aos ratos nos experimentos 1 e 2.

Ingredientes	Dietas ¹							
	B ²	BF	C5 ⁶	F5 ⁶	C1 ⁶	F1 ⁶	F+Fd ⁶	Fd ⁶
Amido ³	397	354	397	354	421	408	354	354
Caseína ³	200	159	200	159	200	192	159	159
Amido dextrinizado ³	132	117	132	117	139	135	117	117
Sacarose ³	100	89	100	89	106	102	89	89
Óleo de soja ³	70	59	70	59	70	68	59	59
Farelo	-	170	-	170	-	42,7	85	-
Farelo desfitinizado	-	-	-	-	-	-	85	170
Celulose	50	-	50	-	12	-	-	-
Mist. Vitam. ⁴	10	10	10	10	10	10	10	10
Mist.Mineral. ⁵	35	35	35	35	35	35	35	35

¹ Valores em g/kg de dieta. Todas as dietas adicionadas com *L*-cistina (3g/kg), bitartarato de colina (2,5g/kg) e tetrabutildroquinona (0,014g/kg), segundo recomendações da AIN 93-G.

² B é igual a AIN-93 G, administrada nos experimentos 1 e 2.

³ Quantidade necessária para ajuste, considerando os valores de proteínas, carboidratos e lipídeos aportados pelo farelo.

⁴ Mistura vitamínica, contendo por kg de dieta: ácido nicotínico 30mg, pantotenato 15mg, piridoxina 6mg, tiamina 5mg, riboflabina 6mg, ácido fólico 2mg, vit. K 750µg, D-biotina 200µg, vit. B12 25µg, vit. A 4000UI, vit. D3 1000UI, vit. E 75UI, segundo recomendações da AIN 93-G.

⁵ Mistura mineral contendo, por kg de dieta: Cálcio 5000mg, Fósforo 3000mg, Potássio 3600mg, Enxofre 300mg, Sódio 1039mg, Cloreto 1631mg, Magnésio 513mg, Ferro 45mg, Zinco 38mg, Manganês 10mg, Cobre 6mg, Iodo 0,2mg, Molibdênio 0,15mg, Selênio 0,18, Silício 5mg, Cromo 1mg, Flúor 1mg, Níquel 0,5mg, Boro 0,5mg, Lítio 0,1mg, Vanádio 0,1mg.

⁶ Contaminada com PbO (160 ppm).

Tabela 2. Conteúdo de fosfatos de inositol das dietas para os experimentos 1 e 2, determinados por HPLC no farelo (F) e farelo desfitinizado (Fd).

Frações	Dietas ¹				
	BF	F5	F+Fd	Fd	F1
IP ₃ + IP ₄ ²	0,04	0,04	0,028	0,016	0,011
IP ₅ ³	1,7	1,7	1,4	1,2	0,4
IP ₆ ⁴	10,2	10,2	8,7	7,1	2,6
IP ₆ + IP ₅	11,9	11,9	10,1	8,3	2,9

¹ Valores em g/kg de dieta, base úmida.

² Inositol trifosfato e inositol tetrafosfato. Somatória dos picos individuais.

³ Inositol penta-fosfato.

⁴ Inositol hexa-fosfato.

3.2 - Desempenho dos animais

Estudos anteriores mostraram que o farelo, quando utilizado na dieta de animais, como fonte de nutrientes e micronutrientes ou, como suplemento protéico, vitamínico e/ou mineral, teria um valor nutritivo muito aquém do esperado, em relação ao seu alto conteúdo de nutrientes. Nesse respeito, a literatura parece ser unânime em atribuir o baixo valor nutritivo ao forte poder quelante do ácido fítico (THOMPSON & WEBER, 1980; WARREN & FARRELL, 1990; PRAKASH, 1996).

Sabe-se que Zn, Fe e Ca, são minerais essenciais para o organismo cuja biodisponibilidade se torna seriamente comprometida, quando doses elevadas de fitatos fazem parte da dieta (LÖNNERDAL *et al.*, 1988; TORRE *et al.*, 1991; ROSSANDER *et al.*, 1992; SAHA *et al.*, 1994; LÓPEZ *et al.*, 1998), em especial fitatos altamente fosforilados, como o IP₆ e IP₅ (SANDBERG *et al.*, 1989; LÖNNERDAL *et al.*, 1989; ROSSANDER *et al.*, 1992). Por sua vez, é de interesse notar que estes mesmos

minerais são apontados ou reconhecidos como potentes antagonistas da absorção de Pb. Dietas deficitárias em Ca, Fe e/ou Zn estão associadas à maior incorporação de Pb pelo organismo (CERKLEWISKE & FORBES, 1976; QUATERMAN *et al.*, 1978; BEBE & PANAMANGALORE, 1996). Em contrapartida, quando o Pb se deposita em um órgão, é muito provável que um mineral essencial foi deslocado ou deixou de ser absorvido (GOYER, 1997).

A biodisponibilidade mineral em produtos vegetais, é um intrigante tópico sobre o qual várias questões relacionadas aos efeitos do ácido fítico e das fibras dietéticas ainda não foram respondidas. Os alimentos ricos em fibras são capazes de influenciar a absorção intestinal de minerais e outros nutrientes. Visto que o ácido fítico e a fibra alimentar, ocorrem juntos em dietas ricas em grãos, é difícil separar os efeitos destes dois componentes na utilização dos minerais essenciais.

A capacidade das fibras insolúveis de trigo, aveia e arroz, livres de fitatos, de se complexar com minerais, foi estudada por BERGMAN *et al.* (1997). Nesse estudo, a fibra insolúvel fornecida pelo farelo de arroz, foi a que apresentou menor capacidade de complexação para Cu, Ca e Zn, resultados que foram associados aos baixos teores de lignina no farelo de arroz, em relação ao trigo e aveia. Os mesmos autores observaram aumento da capacidade complexante de Ca e Zn para a fibra do arroz extrudada a 165 até 180°C, sem concluir qual razão, química ou físico-química, seria a responsável por esse efeito.

Tanto o estado nutricional em minerais, como a composição da dieta, são fatores que reconhecidamente afetam a absorção e biodisponibilidade dos minerais, sejam estes essenciais ou tóxicos. Neste estudo, minerais altamente passíveis de sofrerem complexação pelos fitatos encontravam-se em quantidades que ultrapassavam, com exceção do Ca, as necessidades do rato (THOMPSON & WEBER, 1981).

Em geral, considera-se que o farelo de arroz, como outros grãos, possui baixa biodisponibilidade de cálcio, o que é atribuído aos altos teores de fitatos e às pequenas quantidades de cálcio ali presentes (LÓPEZ, *et al.*, 1991). O fornecimento diário de cálcio, proporcionado por uma dieta padrão para animais em crescimento, é bastante

Tabela 3. Valores de ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar observados nos animais do experimento 1¹.

Dietas	Ganho de Peso (g)	Consumo (g)	Eficiência Alimentar ²
B	79 ± 19a b	533 ± 64a	0,15 ± 0,03a b
BF	92 ± 25a	567 ± 19a	0,15 ± 0,04a b
C1 ³	64 ± 13a b	487 ± 37a	0,13 ± 0,02a b
C5 ³	56 ± 15b	491 ± 23a	0,11 ± 0,03a
F1 ³	78 ± 19a b	538 ± 73a	0,15 ± 0,02a b
F5 ³	89 ± 10a	579 ± 58a	0,16 ± 0,01b

¹ Valores representam médias de 7 animais e seus desvios-padrão. Médias que não apresentam letra em comum, dentro da mesma coluna, são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

² Relação ganho de peso/dieta consumida.

³ Dietas contaminadas com 160mg/kg de PbO.

Tabela 4. Valores de ganho de peso, consumo de dieta e eficiência alimentar observados nos animais do experimento 2¹.

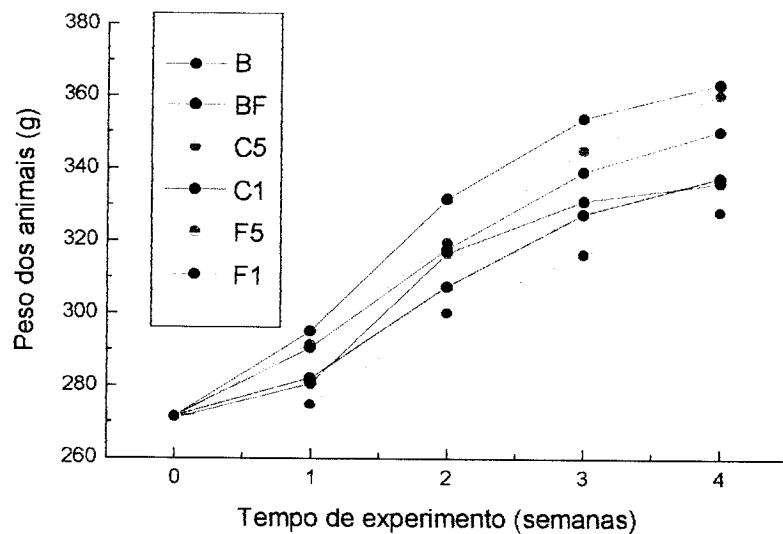
Dietas	Ganho de Peso (g)	Consumo (g)	Eficiência Alimentar ²
B	117 ± 10	704 ± 47	0.14 ± 0.06
F+Fd ³	98 ± 13	718 ± 62	0.14 ± 0.02
Fd ³	105 ± 22	699 ± 55	0.15 ± 0.03

¹ Valores representam médias de 7 animais e seus desvios-padrão. Médias que não apresentam letra em comum, dentro da mesma coluna, são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

² Relação ganho de peso/dieta consumida.

³ Dietas contaminadas com 160 mg/kg de PbO.

a



b

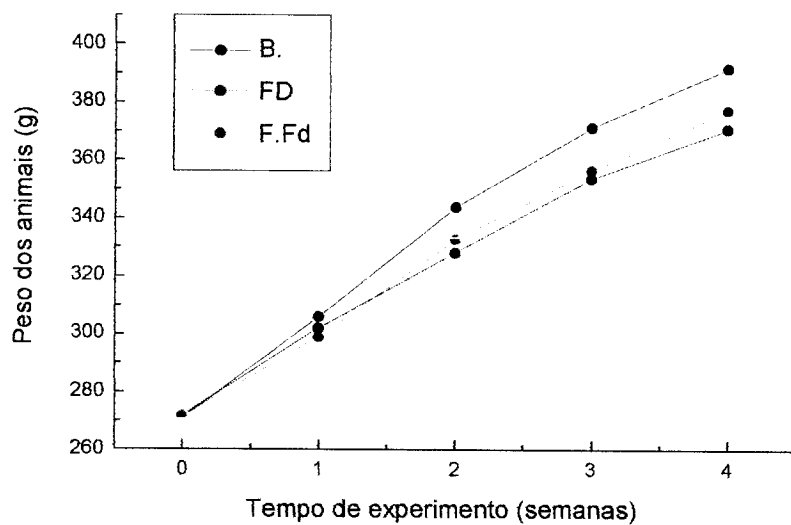


Figura 1. a, consumo de dieta semanal correspondente aos animais de Experimento1; **b**, para os animais do Experimento 2.

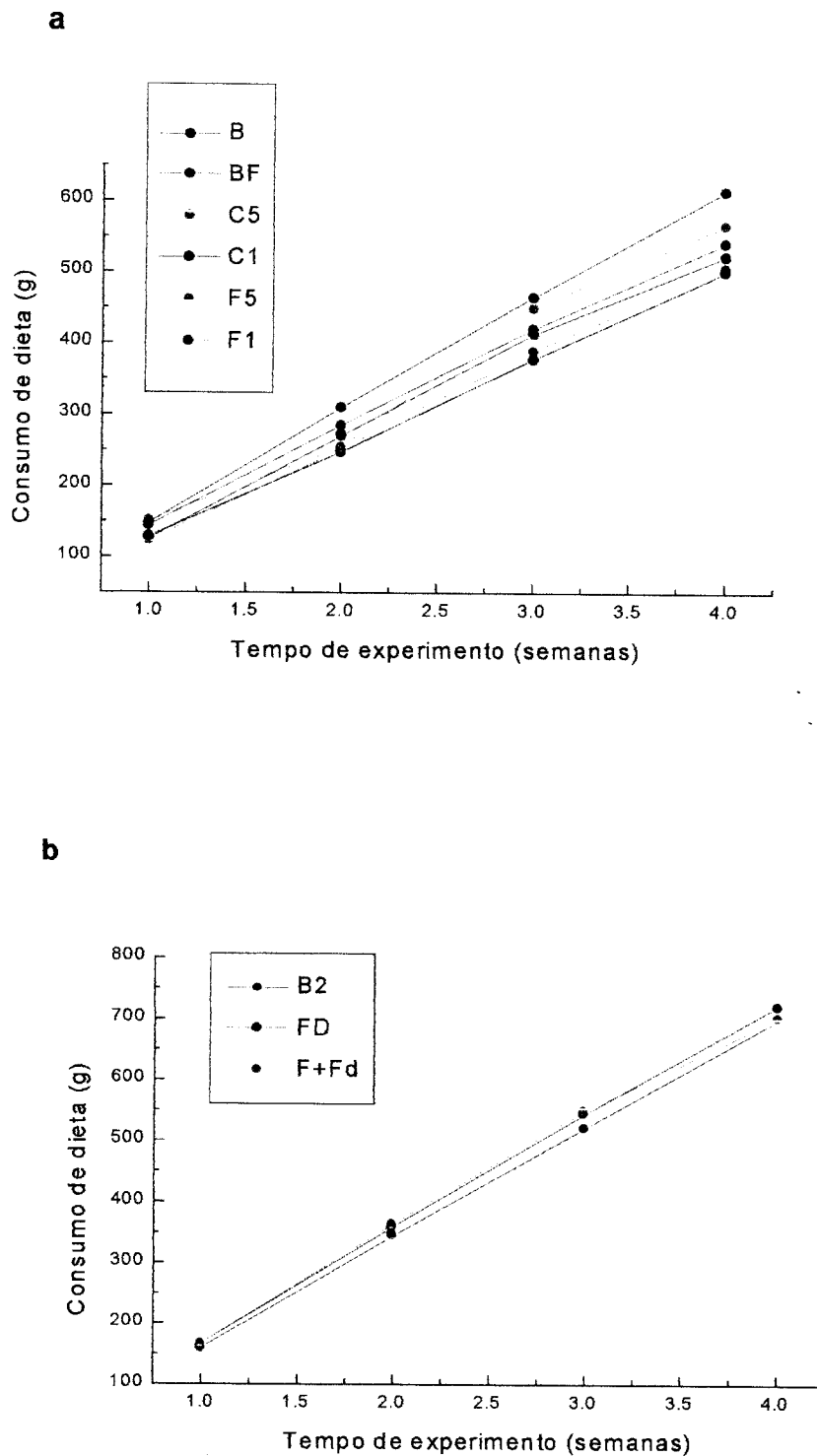


Figura 2. a, evolução semanal do ganho de peso dos animais do Experimento 1; b, para os animais do Experimento 2.

3.4 - Acúmulo orgânico de chumbo

De maneira geral, as dietas com farelo forneceram proteção significativamente superior do que as dietas com celulose sobre a retenção do metal pelos órgãos rim, fígado e osso.

O tipo de contaminação, utilizando doses intermediárias de Pb em condições sub-crônicas, entretanto, propiciou nos animais uma intoxicação não aguda, onde não houve comprometimento do crescimento, nem aparecimento de sinais visíveis, como alopecia ou perda de reflexos primários.

A incorporação orgânica de chumbo foi estudada em sangue, fígado, rim e osso, por constituírem-se estes nos principais tecidos e órgãos de deposição do metal, sendo os resultados apresentados na Tabela 5. Os pesos dos órgãos, rim, fígado e osso, assim como a relação entre o peso dos órgãos e o peso corpóreo dos animais, ao final do experimento, são apresentados na Tabela 6.

O conteúdo de chumbo no sangue não guardou relação com o tipo de dieta-tratamento administrado, com exceção da dieta **F5**, onde o teor foi tão baixo quanto nas dietas não contaminadas **B** e **BF** (Tabela 5). Este fato, coerente com os dados de crescimento e eficiência alimentar, sugeriu a existência de um efeito protetor do farelo já em nível de absorção. A análise do sangue total, e não do plasma, fração onde se concentra a maior parte do metal, foi realizada a fim de observar qualquer coerência com os resultados dos órgãos. A verdadeira utilidade deste parâmetro já foi questionada por outros pesquisadores, sendo mais aplicada em casos de intoxicação aguda (MYLROE *et al.*, 1977; CONRAD & BARTON, 1978). Em termos metabólicos, o sangue constitui um tecido de transição ou de carreamento e distribuição do metal até outros tecidos, como rim, fígado e osso, onde este permanece por períodos médios ou longos.

Tabela 5. Chumbo depositado em sangue, fígado, rim e osso para animais dos dois experimentos¹.

Dietas	Sangue ²	Fígado ²	Rim ²	Osso ²
B ⁴	0,26 ± 0,17ab	0,16 ± 0,05a	0,4 ± 0,3a	0,23 ± 0,2a
BF ⁴	0,11 ± 0,06a	0,15 ± 0,08a	0,4 ± 0,4ab	0,36 ± 0,3a
C1 ^{3,4}	0,43 ± 0,1b	1,34 ± 0,34b	13 ± 2c	60 ± 16b
C5 ^{3,4}	0,46 ± 0,04b	1,34 ± 0,21b	13 ± 2,1c	65 ± 6b
F1 ^{3,4}	0,35 ± 0,2b	0,90 ± 0,2cb	8,0 ± 3d	35 ± 16d
F5 ^{3,4}	0,30 ± 0,1ab	0,56 ± 0,07ac	3,4 ± 0,8ab	15 ± 4c
B ⁵	0,30 ± 0,2ab	0,18 ± 0,0a	0,7 ± 0,3ab	< 0,1a
F+Fd ^{3,5}	0,34 ± 0,1b	0,73 ± 0,28c	4,3 ± 2b d	11 ± 0,6c
Fd ^{3,5}	0,38 ± 0,1b	0,67 ± 0,30c	5,0 ± 1b d	14 ± 2c

¹ Médias (mg Pb/kg de tecido, base úmida) e desvios-padrão para cinco órgãos por grupo.

² Valores que não apresentam letra comum dentro da mesma coluna são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

³ Dietas contaminadas com 160mg/kg de PbO

⁴ Dietas do experimento 1

⁵ Dietas do experimento 2

Tabela 6. Médias de peso dos órgãos e relações de peso órgão/peso corpóreo para rim, fígado e osso nos animais dos dois experimentos.

Dietas	Rim (g) ^{1,4}	Rim/ corporal (g x10) ⁵	Fígado (g) ¹	Fígado/ corporal (g x10) ⁵	Osso (g) ^{1,3}	Osso/ corporal (g x10) ⁵
B	2,1 ± 0,2b	0,26	9,7 ± 1ab	1,2	2,0 ± 0,2	0,2
BF	2,1 ± 0,2b	0,23	10,1 ± 1ab	1,1	1,9 ± 0,1	0,2
C1 ²	2,3 ± 0,2b	0,36	9,1 ± 1b	1,4	2,1 ± 0,1	0,3
C5 ²	2,4 ± 0,2a	0,42	8,7 ± 0,3a	1,5	2,1 ± 0,1	0,3
F1 ²	2,5 ± 0,3a	0,32	9,5 ± 1ab	1,2	2,0 ± 0,2	0,2
F5 ²	2,4 ± 0,2ab	0,27	9,8 ± 1ab	1,1	1,9 ± 0,1	0,2
B	2,7 ± 0,3a	0,23	9,9 ± 0,8ab	1,0	2,1 ± 0,2	0,2
Fd ²	2,1 ± 0,2b	0,20	10,5 ± 0,7ab	1,0	2,1 ± 0,1	0,2
F+Fd ²	2,2 ± 0,1b	0,24	11,1 ± 0,9ab	1,1	2,1 ± 0,1	0,2

¹ Valores representam médias de 7 animais e seus desvios-padrão. Médias que não apresentam letra em comum, dentro da mesma coluna, são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

² Dietas contaminadas com 160mg/kg de PbO.

³ Valores de osso correspondem a somatória de ambos fêmurs.

⁴ Valores de rim correspondem a somatória de ambos rins.

⁵ Relação de peso corpóreo/peso do órgão.

Existem relatos de que quanto menor o conteúdo de Pb na dieta, menor a capacidade do fitato de modular os níveis de chumbo sanguíneos. WISE (1982), monitorou as concentrações de Pb no sangue de roedores depois de administrar doses

crônicas moderadas de acetato de Pb (0, 2, 5, 10 e 50 mg/kg de dieta), por períodos de 3 e 6 meses, com ou sem adição de 20mg de fitato de cálcio. Na dieta com 10mg/kg de acetato de Pb, diferenças significativas na redução do Pb no sangue, atribuíveis ao fitato, foram notadas só após 6 meses de alimentação; enquanto que para 50mg/kg, as diferenças foram observadas já após os três meses. Considerando que o sangue não reflete o nível de contaminação do organismo para doses intermediárias, acreditamos que no mencionado estudo, o efeito protetor dos fitatos tenha sido mascarado, pois não forneceu informação sobre a situação em outros tecidos.

No presente estudo, os animais com dietas contaminadas alcançaram decerto concentrações consideravelmente superiores no rim do que no fígado ou no sangue (Tabela 5), em concordância com relatos afirmando que o rim constitui dentre os tecidos moles, o órgão mais susceptível à intoxicação com chumbo (MYLROIE, *et al.*, 1977; HAYASHI, *et al.*, 1993; BEBE & PANEMANGALORE, 1996). Os valores no rim foram até 10 vezes maiores do que os encontrados em fígado para as dietas com celulose (**C5** e **C1**). Entretanto, essa relação diminuiu para 9 na dieta **F1** e para 6 ou 7 nas dietas **F5**, **Fd** e **F+Fd**, mostrando que houve variação na suscetibilidade do rim em relação às quantidades de fitato na dieta.

Dentre as dietas contaminadas, a dieta **F5** foi a que conseguiu os acúmulos mais baixos, tanto no tecido renal como hepático, seguida progressivamente das dietas com menor conteúdo de fitatos (**F+Fd**, **Fd** e **F1**); vindo por último, as dietas com celulose (**C5** e **C1**), estas últimas não diferindo significativamente entre si. O efeito protetor do farelo quando no nível de 17% na dieta foi tão visível, que os níveis de chumbo no fígado e rim para a dieta **F5**, não diferiram significativamente dos níveis alcançados pelas dietas basais (**B** e **BF**). O farelo de arroz no nível mais baixo, 4% (dieta **F1**), ainda mostrou proteção em relação à dieta homóloga com celulose (**C1**), tanto no rim ($P < 0,05$), como no fígado ($P < 0,065$).

É importante ressaltar aqui que, mesmo não tendo se obtido desfitinação total do farelo no laboratório, o processo enzimático foi útil, no sentido de mostrar que valores intermediários de fitatos na dieta resultaram em acúmulos proporcionais de chumbo em rim e fígado, como visto para as dietas **Fd** e **F+Fd** (Tabela 5). Isto significa que existe

um efeito protetor resultante da adição do farelo, que corresponde especificamente ao fitato e que é independente dos outros componentes do farelo. Teste de correlação entre Pb-no-órgão e fitato-ingrido mostrou valores de R de 0,970, 0,953 e 0,865 para rim, fêmur e fígado, respectivamente (Figura 3).

Também, com relação à distribuição do chumbo no organismo, é sabido que em animais com dietas contaminadas, o osso é o órgão que apresenta maior acúmulo, tanto em termos de concentração como em termos absolutos, dada a massa total do mesmo. O resultado de substituir a fibra celulósica da dieta padrão por farelo, neste trabalho, foi a clara tendência do metal pesado a se depositar menos no osso. Para os animais com dietas não contaminadas (**B** e **BF**), as concentrações de Pb foram semelhantes em todos os tecidos, mesmo levando em conta o fato de que os teores de chumbo renal foram maiores do que os hepáticos.

De forma semelhante ao o observado em rim e fígado, os ossos dos animais alimentados com dietas contendo farelo, apresentaram menor acúmulo de Pb. Em contraposição, esses mesmos animais foram os que tiveram maior consumo de dieta, portanto, os mais expostos ao contaminante. As concentrações de Pb ósseo resultantes das dietas **F5**, **F+Fd**, **Fd** e **F1** diferiram significativamente daqueles das dietas com celulose, **C5** e **C1**, atingindo valores até 1/6 destes últimos.

O osso, não se mostrou tão sensível às variações nas quantidades de fitato na dieta quanto foram os tecidos hepático e renal, exceto para os animais do grupo **F1** (2,9% de fitatos), o qual apresentou concentrações de deposição significativamente superiores às das dietas **F5**, **F+Fd** e **Fd** (11,9; 10,1 e 8,3 g/kg de fitatos, respectivamente), mas ainda significativamente inferiores aos dos animais com dietas com celulose **C5** e **C1**. Mesmo nessas circunstâncias, no osso foi também possível observar que o acúmulo de chumbo no organismo está diretamente relacionado com o fitato contido no farelo.

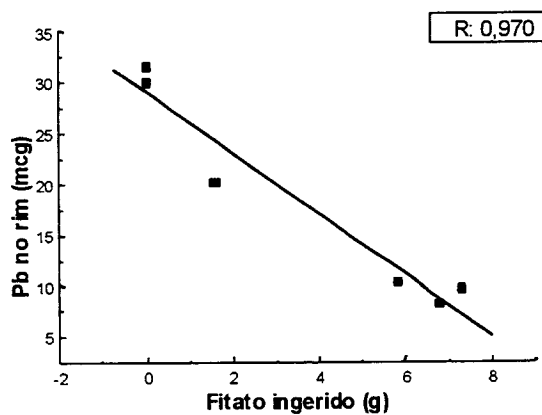
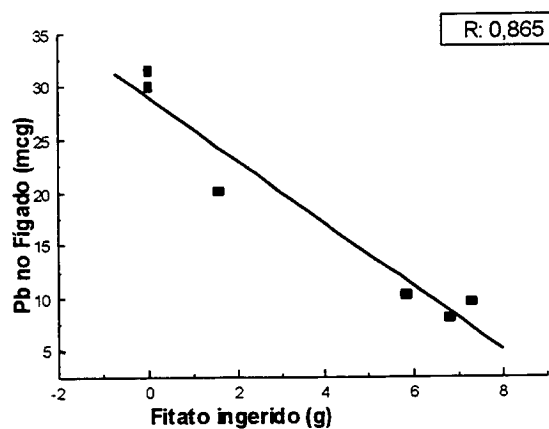
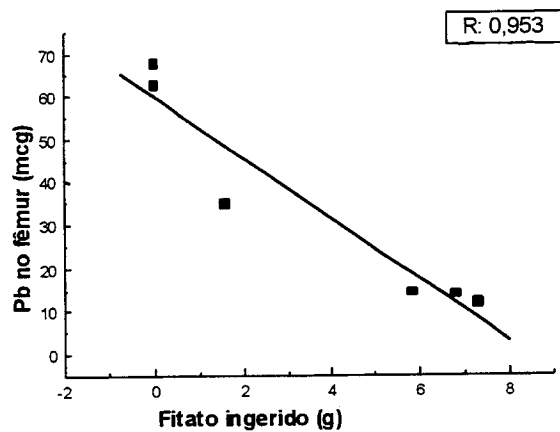


Figura 3. Correlação entre o chumbo depositado em osso, fígado e rim (órgão inteiro) e a quantidade de fitato ingerido.

Como fora observado para fígado e rim, o efeito protetor da dieta **F+Fd** foi tão forte no osso que os níveis de deposição de chumbo não diferiram significativamente dos encontrados para as dietas basais. Neste órgão, tampouco houve diferenças significativas de acúmulo entre as dietas **C5** e **C1**. Conclui-se então, que não foi a fibra insolúvel o fator determinante do nível de deposição nos diferentes órgãos estudados.

Em trabalhos anteriores, SALVA *et al.* (1996) encontraram que a celulose consegue diminuir as taxas de deposição no rim e fígado, quando a sua concentração na dieta, é superior a 1% e em relação à ausência total de fibra

Todas as dietas com farelo forneciam iguais quantidades de fibra insolúvel do que as dietas com celulose, porém continham quantidades consideráveis de fibra solúvel, em níveis de 8g/kg de dieta para **F5**, **F+Fd** e **Fd**, e 2g/kg, na dieta **F1**. É sabido que a fibra solúvel na dieta de ratos consegue não só aumentar a viscosidade dos ácidos biliares e formar géis (MATHESON *et al.*, 1994; BUHMAN *et al.*, 1998), como de se complexar *in vitro* com o chumbo (CONRAD & BARTON, 1978; ROSE & QUATERMAN, 1992). É sabido também que uma das vias de eliminação fecal do chumbo orgânico é através da secreção biliar (GARBER & WEI, 1974). Portanto, dietas com importantes aportes de fibra solúvel, as quais induzem maior excreção de ácidos biliares, deverão ser responsáveis pela complexação de Pb e menor reabsorção de bile em nível intestinal, contribuindo para um menor acúmulo de chumbo nos órgãos. Não podemos então descartar neste estudo o efeito combinado da inibição da absorção e o estímulo da eliminação de chumbo, ambos atribuíveis à fibra solúvel do farelo. Contudo se detectável, esse efeito deveria se manifestar entre a dieta **F1** e as demais com farelo e contaminante (**F5**, **F+Fd** e **Fd**). Tal diferença, de fato ocorreu e foi significativa para osso e fígado, mas no rim, só o foi entre **F1** e **F5**. Apesar desse efeito ser evidente, não nos foi possível separá-lo do efeito do fitato.

Por outro lado, EVANS & MARTIN (1992) estudaram por calorimetria sob condições ácidas, as reações entre numerosos cátions divalentes e ácido fítico encontrando, que o Pb^{2+} exibe a maior afinidade de complexação com o ácido fítico, sendo capaz de ligar 5,3 moles de Pb. Nossas dietas apresentaram razões molares $IP_6:Pb^{2+}$ de 26, 22, 18 para a dieta **F5**, **F+Fd** e **Fd**, respectivamente, e 6 para **F1**. Na

teoria, pelos resultados obtidos, muitos dos sítios de complexação dos fitatos podem ter sido ocupados pelo Pb^{2+} , o que consequentemente possibilitaria uma melhor absorção de metais essenciais, diminuindo a susceptibilidade dos mesmos para ser complexados pelos fitatos.

As diferenças as de acúmulo do presente estudo em relação aos da literatura, resultam das próprias diferenças inerentes aos desenhos experimentais, nível de contaminação e forma química do Pb utilizado, idade dos animais, e duração do experimento, entre outros. É importante ressaltar, que trabalhos sobre a capacidade dos fitatos e da fibra, de agirem como antagonistas da absorção de Pb, utilizaram dietas semi-purificadas, isentas de fibra dietética, adicionadas de fitato de sódio comercial, enquanto que neste estudo, fibra e fitatos foram incorporados à dieta fazendo parte de uma fonte complexa, tentando não remover os componentes e interações normais da alimentação.

4 - CONCLUSÕES

Nossos dados confirmaram que o farelo de arroz desengordurado e estabilizado, adicionado a uma dieta padrão como fonte de fibra e proteína, protege o rato contra o acúmulo de chumbo alimentar. Nas concentrações de farelo utilizadas não se apresentaram consequências negativas aparentes para o animal, segundo os indicadores de crescimento, consumo de dieta e eficiência alimentar. Em relação ao farelo, a fibra celulósica, quando presente em concentrações superiores a 1%, não tem efeito protetor significativo.

Com base nos resultados deste estudo e outros anteriores, podemos afirmar que para avaliação de dietas, que contêm níveis de contaminação intermediários, o osso é o principal alvo da deposição orgânica, apresentando os valores de concentração mais elevados, além de ser um dos maiores órgãos do animal. O rim, foi o segundo órgão acumulador do chumbo alimentar, seguido do fígado. Dadas as condições dos

experimentos, e considerando que o sangue total funciona como veículo distribuidor, o caminho preferencial de incorporação deste metal pesado é do sangue para o osso. Órgãos como fígado e rim são receptores intermediários, sendo que o rim mostra afinidade expressivamente maior, talvez devido à complexação irreversível do Pb com as proteínas dos canais de íons retentores de minerais.

A extrapolação dos resultados para humanos não é direta. Na tentativa de se encontrar uma aplicação prática, devem ser considerados vários fatores, a saber: 1) que para a população em geral, a exposição crônica ao chumbo ocorre em níveis muito baixos; 2) a adição direta de fitatos purificados aos alimentos industrializados não seria uma opção adequada pois as populações, tanto infantil como idosa, não devem exceder o consumo de fitatos, sob pena de prejudicarem a sua deposição de massa óssea ou acelerarem certas osteopenias; 3) as fibras solúveis do farelo ainda podem ter papel importante no efeito protetor. 4) não existem dados de ingestão recomendável de fitatos para uma dieta sadia, mas sugestões gerais podem ser feitas para grupos populacionais com baixo consumo de grãos integrais, geralmente moradores das grandes áreas urbanas, com maior risco de exposição a metais tóxicos. 5) que o rato possui aproximadamente 30 vezes mais atividade fitásica intestinal do que o homem (IQBAL *et al.*, 1994).

A dieta moderna, sem dúvida, continua sendo bastante pobre em fitatos, compostos estes considerados ainda hoje como antinutrientes por muitos estudiosos. Na medida em que gêneros como arroz integral, trigo e outros grãos integrais, são componentes da dieta urbana que vão perdendo espaço para os produtos dos cereais refinados e polidos, devemos reconsiderar o outro lado destes compostos; se ora eles aparecem como fatores antinutricionais, ora como agentes protetores da saúde. Pesquisas deveriam ser desenvolvidas para responder a pergunta de quais seriam os níveis de ingestão de fitatos adequados ou recomendáveis em humanos.

Os autores agradecem o apoio da FAPESP pela bolsa (Proc. 97/05788-0) e auxílio a infraestrutura (Proc. 95/6589-6) e a FAEP pelo auxílio a pesquisa. A Dilza Mantovani e Marcelo Morgano do ITAL pela colaboração nas análises de chumbo.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods**. 8th ed. American Association of Cereal Chemist, 1993.
2. AMIN, R. J.; VENKALAKRISHNA-BLATT, H.; PANCHAL, G. M. Effect of lead on anorexia and body weight in albino rats. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 37, n. 2, p. 115-120, 1993.
3. AOAC. Official methods of analysis. **Association of Official Analytical Chemists**. 12 ed, p. 805, 1975.
4. BALDINI, M.; CORE, E.; MANTOVANI, A.; STACCHINI, A.; ZANASI, F. Effects of unbalanced diets on the long-term metabolism of a toxicant 1- lead in rats: Preliminary note. **Food Additives and Contaminants**, v. 6, n.1, p. 117-124, 1989.
5. BEBE, F.N.; PANEMANGALORE, M. Modulation of tissue trace metal concentrations in weanling rats fed different levels of zinc and and exposed to oral lead and cadmium. **Nutrition Research**, v. 16, n. 8, p. 911-917, 1996.
6. BERGMAN, C. J.; GUALBERTO, D. G.; WEBER, C. W. Mineral binding capacity of dephytinized insoluble fiber from extruded wheat, oat and rice brans. **Plant Foods for Human Nutrition**, n. 51, p. 295-310, 1997.
7. BLIGHT, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extration and purification. **Cannadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.
8. BOGDEN, E. G.; DYER, W. J.; LOURIA, D. B. Lead poisoning. One approach to a problem that won't go away. **Environmental Health Perspectives**, v. 105, n. 12, p. 1284-1287, 1997.

9. BUHMAN, K. K.; FURUMOTO, E. J.; DONKIN, S.; STORY, J. A. Dietary psyllium increases fecal bile acid excretion and bile acid biosynthesis in rats. **Journal of Nutrition**, 128, p. 1199-1203, 1998.
10. CERKLEWISKI, F. L.; FORBES, R. M. Influence of dietary zinc on lead toxicity in the rat. **Journal of Nutrition**, v. 110, p. 689-696, 1976.
11. CONRAD, E. C.; BARTON, M. D. Factors affecting the absorption and excretion of lead in the rat. **Gastroenterology**, v. 74, p. 731-740, 1978.
12. EVANS, W.; MARTIN, C. J. Interactions of inositol hexaphosphate with Pb(II) and Be(II). A calorimetric study XVIII. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 45, p. 105-113, 1992.
13. GARBER, B. T.; WEI, E. Influence of dietary factors on the gastrointestinal absorption of lead. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 27, p. 685-691, 1974.
14. GOYER, R. A. Toxic and essential metal interactions. **Annual Review of Nutrition**, v. 17, p. 37-90, 1997.
15. GUERRA, M. J.; JAFFÉ, W. G. Estudios nutricionales en salvado de arroz. **Archivos latinoamericanos de Nutrición**, v. 25, n.4, p. 401-417, 1975.
16. HAMMOND, P. B.; MINNEMA, D. J.; SHULKA, R. Lead exposure lowers the set point for food consumption and growth in weanling rats. **Toxicological Applied Pharmacology**, v. 106, n. 1, p. 80-87, 1993.
17. HAMMOND, P. B.; SUCCOP, P. A. Effects of supplemental nutrition on lead-induced depression of growth and food consumption in weanling rats. **Toxicology and applied Pharmacology**, v. 131, p. 80-84, 1995.
18. HAYASHI, M. YAMAMOTO, K.; YOSHIMURA, M.; KISHIMOTO, T.; SHITARA, A. Effects of fasting on distribution and excretion of lead following long term exposure in rats. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 24, p. 201-205, 1993.

19. HOLLAND, B.; WELCH, A.; UNWIN, I.; BUSS, D.; PAUL, A.; SOUTHGATE, D.
McCance and Widdowson's. The composition of foods. 5.ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1991, 462 p.
20. IQBAL, T. H.; LEWIS, K. O.; COOPER, B. T. Phytase activity in the human and rat small intestine. **Gut**, v. 35, p. 1233-1236, 1994.
21. JAJARAJAH, C. N.; TANG, H.; ROBERTSON, J.; SELVENDRA, R.
Dephytinisation of wheat bran and the consequences for fibre matrix nonstarch polysaccharides. **Food Chemistry**, v.58, p. 5-12 1997.
22. JULIANO, B. O. Properties of rice caryopsis. In: LUB, B. H. Rice: production and utilization. Westport: AVI Publishing Company, 1980, p. 403-438.
23. LÖNNERDAL, B.; BELL, J. G.; HENDRICKS, A.; BURNS, R. A.; KEEN, C. L.
Effects of phytate removal on zinc absorption from soy formula. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, p. 1301-1306, 1988.
24. LÖNNERDAL, B.; SANDBERG, A. S.; SANDSTRÖM, B.; KUNZ, C. Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption on suckling rats. **Journal of Nutrition**, v. 119, p. 211-214, 1989.
25. LÓPEZ, H. W.; COUNDRAY, C.; BELLANGER, J.; YOUNES, H.; DEMIGNÉ, C.; RÉMÉSY, C. Intestinal fermentation lessens the inhibitory effects of phytic acid on mineral utilization in rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1192-1198, 1998.
26. MAGA, J. A. Phytate: Its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, n. 1, p.1-9, 1982.
27. MATHESON, H. B.; STORY, J. A. Dietary psyllium hydrocolloid and pectin increase bile acid pool size and change bile acid composition in rats. **Journal of Nutrition**, v. 124, p. 1161-1165, 1994.
28. MYLROIE, A. A.; MOORE, R.; EROGBOGBO, U. Influence of dietary factors on plasma and tissue lead concentrations and lead toxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 41, p. 361-367, 1977.

29. POMERANZ, Y.; ORY, R. L. Rice processing and utilization. In: *Handbook of Processing in Agriculture*. Vol. II, Parte 1. Plant Products, ed. Wolff, I. A., p. 139-150. Boca Raton, FL: CRC Press, 1982.
30. PRAKASH, J. Rice bran: properties and food uses. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 36, n. 6, p. 537-552, 1996.
31. PROWSKY, L.; ASP, N. G.; SCHWEIZER, T. F.; DEVRIES, J. W.; FURDA, I. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products. Interlaboratory study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 75, n. 2, p. 360-367, 1992.
32. QUATERMAN, J.; MORRISON, J. N.; HUMPHRIES, W. R. The influence of high dietary calcium and phosphate on lead uptake and release. **Environmental Research**, n. 17, p. 60-67, 1978.
33. RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; SIVALOGAN, S. Total phytate contents of various foods and feedstuffs of plant origin. **Food Chemistry**, v. 50, n.2, p. 133-136, 1994.
34. REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76. A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.
35. RIMBACH, G. WALTER, A.; MOST, E.; PALLAUF, J. Effect of microbial phytase on zinc bioavailability and cadmium and lead accumulation in growing rats. **Food and Chemical Toxicity**, 36, p. 7-12, 1998.
36. ROOBINS, K.; NORTON, H.; BAKER, D. Estimation of nutrient requirements from growth data. **Journal of Nutrition**, v. 109, n.10, p. 1710-1714, 1979.
37. ROSE, H. E.; QUATERMAN, J. Effects of dietary phytic acid on lead and cadmium uptake and depletion in rats. **Environmental Research**, v. 35, n. 2, p. 482-489, 1984.

38. ROSSANDER, L.; SANDBERG, H. S.; SANDSTROM, B. The influence of dietary fibre on mineral absorption and utilization. In: SCHWEEIZER, T.F.; EDWARDS, C.A. **Dietary fibre a component of food. Nutritional function in health and disease**. London: Springer-Verlag, 1992, p. 197-216, 1992.
39. SAHA, P. R.; WEAVER, C. M.; MOSON, A. C. Mineral bioavailability in rats from intrinsically labeled whole wheat flour of various phytate levels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 42, p. 2531-2535, 1994.
40. SALUNKHE, D. K.; CHAVAN, J. K.; ADSULE, R. N.; KADAN, S. S. In: World Oilseeds Chemistry, Technology and Utilization. **Rice**. AVI, Van Nostrand Reinhold, 1991, p. 424-444.
41. SALVA, T. J. G.; AMAYA FARFÁN, J.; WILKE, B. C. Efeito da celulose alimentar na absorção intestinal do chumbo. **Journal of Biomolecular Medicine and Free Radicals**, v. 54, n. 1, p. 159-161, 1996.
42. SANDBERG, A. S.; AHDERINNE, R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta and hexaphosphates in foods and intestinal contents. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 3, p. 547-550, 1996.
43. SANDBERG, A. S.; CARLSSON, N. G.; SVANBERG, U. Effects of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates on in vitro estimation of iron availability. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 1, p. 159-162, 1989.
44. SAUNDERS, R.M. The properties of rice bran as a foodstuff. **Cereal Foods World**, v. 35, n. 7, p. 632-636, 1990.
45. SCHWARTZ, J. Societal benefits of reducing lead exposure. **Environmental Research**, v. 66, n. 1, p. 105-124, 1994.
46. SGARBIERI, V. C. Proteínas em alimentos protéicos. Propriedades - Degradações - Modificações. São Paulo: Livraria Varela, 1996, 517p.

47. SKURIKHIN, I. M. Methods of Analysis for Toxic Elements in Foods. Part IV. General Method of Ashing for the Determination of Toxic Elements. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 76, n. 2, p. 257-262, 1993.
48. TANGENDJAJA, K.; BUCKLE, A.; WOOTON, M. Dephosphorylation of phytic acid in rice bran. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1021-1024, 1981.
49. THOMPSON, S. A.; WEBER, C. W. Effect of dietary fiber sources on tissue mineral levels in chicks. **Poultry Science**, v. 60, p. 840-845, 1981.
50. TORRE, M.; RODRIGUEZ A. R.; SAURA-CALIXO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **Critical Reviews of Food Science and Nutrition**, v.1, p. 1-22, 1991..
51. WARREN, B. E.; FARRELL, D. J. The nutritive value of full-fat and defatted Australian rice bran. I Chemical composition. **Animal Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 7, n. 3, p. 219-228, 1990.
52. WEBER, C. W.; KOHLHEPP, E. A.; INDOURAIN, A.; OCHOA, J. Binding capacity of 18 fiber sources for calcium. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 1831-1935, 1993.
53. WISE, A. Protective action of calcium phytate against acute lead toxicity in mice. **Bulletin of Environmental Contaminants and Toxicology**, v. 27, n.6, p. 630-633, 1981.
54. WISE, A. Blood Lead After Chronic Feeding to Mice of Lead Acetate with Calcium Phytate in the diet. **Bulletin of Environmental Contaminants and Toxicology**, v. 29, n.11, p. 550-553, 1982.

CONCLUSÕES GERAIS

- O estudo das frações de fosfato inositol nos farelos mostraram que o teor de ácido fítico em farelo de arroz industrial, submetido a processo de estabilização e desengorduramento com calor, corresponde com aquele naturalmente presente no grão.
- O processo de desfitinização com fitase comercial é pouco eficaz na remoção de ácido fítico em farelo de arroz com fitase endógena inativa.
- O farelo de arroz desengordurado e estabilizado incorporado a dieta de roedores como fonte de fibras e proteínas num nível máximo de 5%, em substituição da celulose, não prejudica o crescimento, consumo de dieta nem eficiência alimentar, ao passo que fornece proteção ao rato contra a intoxicação com chumbo, diminuindo a absorção e incorporação do metal pelos tecidos.
- O ácido fítico, mostrou ter efeito protetor independente do resto dos componentes do farelo. Entretanto, fibra celulósica em concentrações superiores a 1%, não teve efeito protetor significativo.
- Um efeito inibidor da absorção e estímulo da eliminação do chumbo atribuível a fibra solúvel do farelo não conseguiu ser descartada neste estudo.
- A extrapolação dos resultados deste estudo para humanos não pode ser direta.
- Consideramos necessário reavaliar os reconhecidos efeitos antinutritivos dos fitatos e considerar seus potenciais efeitos benéficos, tendo em conta que a dieta moderna é, para a maioria da população, pobre em fitatos é que a aparição de casos de intoxicação com chumbo constitui uma realidade na população em geral e, especialmente, naqueles indivíduos com maior susceptibilidade pela sua situação biológica ou pelas suas diferenças no padrão de consumo de alimentos, como são as crianças e os adolescentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBERTINI, S.; OETTERER, M.; PRADO FILHO, L. G. Fontes de contaminação e toxicologia por chumbo. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, 1997.
2. AUNGST, B. J.; DOCLE, J. A.; FUNG, H. The effect of dose on the disposition of lead in rats after intravenous and oral administration. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 61, n. 1, p. 48-57, 1981.
3. BACZYNSKYJ, W. M.; YESS, N. J. U. S. Food Drug Administration monitoring of lead in domestic and imported ceramic dinnerware. **Journal of AOAC International**, v. 78, n. 3, p. 610-613, 1995.
4. BALDINI, M.; CORE, E; MANTOVANI, A.; STACCHINI, A.; ZANASI, F. Effects of unbalanced diets on the long-term metabolism of a toxicant 1- lead in rats: Preliminary note. **Food Additives and Contaminants**, v. 6, n.1, p. 117-124, 1989.
5. BARBER, S. Nuevas perspectivas en el aprovechamiento del salvado de arroz. **Revista de Agroquímica y tecnología de alimentos**, v.11, n. 2, p.181-186, 1971.
6. BARRY, P. S. I. Concentrations of lead in the tissues of children. **British Journal of Individual Medicine**, v.38, p. 61-71, 1981.
7. BARTON, J. C.; CONRAD, M. E.; NUBY, S.; HARRISON, L. Effects of iron on the absorption and retention of lead. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v.92, p. 536-547, 1978.
8. BEBE, F. N.; PANEMANGALORE, M. Modulation of tissue trace metal concentrations in weanling rats fed different levels of zinc and and exposed to oral lead and cadmium. **Nutrition Research**, v. 16, n. 8, p. 911-917, 1996.
9. BERLÍN, K.; GERLARDSOSON, L.; BORYESSON, J.; LINDH, E.; LUNDSTRON, N.; SCHULTZ, A.; SFERFVING, S.; EDLING, C. Lead intoxication caused by skeletal

10. BELLINGER, D. C.; STILES, K. M.; NEEDLEMAN, H. L. Low-level exposure, intelligence and academic achievement: A long-term follow up study. **Pediatrics**, v. 90, p. 855-861, 1992
11. BORGES, P. C.; FRANCO, A. R. Intoxicação saturnínica em mecânicos de veículos auto-motores da cidade de Riberão Preto - SP. **Medicina**, v. 15, n. 4, p. 233-236, 1982.
12. BUSHNELL, P. J.; DELUCA H. The effects of lactose on the absorption and excretion of lead. **Journal of Nutrition**, v. 113, n. 4, p. 365-378, 1983.
13. CAVALHO, F. M.; SILVANY, N.; KUNIZ, A.; LIMA, M. E. C.; TAVARES, T.; ALT, F. Intoxicação por chumbo e cádmio em trabalhadores de oficinas para reforma de baterias em Salvador, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 19, n. 5, p. 411-420, Out. 1985.
14. CARVALHO, F.; TAVARES, T. M.; SOUZA, S. P.; LINHARES, P. Absorção e intoxicação por chumbo e cádmio em pescadores da região do Rio Subae. **Ciência e cultura**, v. 35, n. 3, p. 360-366, 1983.
15. CERKLEWISKI, F. L.; FORBES, R. M. Influence of dietary zinc on lead toxicity in the rat. **Journal of Nutrition**, v. 110, p. 689-696, 1976.
16. CLARKSON, T. W. Environmental contaminants in food. **American Journal of Chemical Nutrition**, 61 (Suppl.), p. 6825-6865, 1995.
17. CONRAD, M. E.; BARTON J. C. Factors affecting the absorption and excretion of lead in the rat. **Americam Gastroenterological Association**, v. 74, n. 4, p. 731-740, 1978.
18. CORDEIRO, R.; LIMA-FILHO E. C. A inadequação dos valores dos limites de tolerância biológica para a prevenção da intoxicação profissional pelo chumbo no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.11, n. 1, p. 177-186, 1995.
19. DIAS, L. C. G. D.; REYES, F.; CAMARGO, J. L. V.; RODRIGUES, M. A. M. Conteúdos de celulose, hemicelulose e lignina no farelo de arroz fresco. **Revista de Nutrição da PUCCAMP**, v. 7, n. 1, p. 62-70, 1994.

18. CORDEIRO, R.; LIMA-FILHO E. C. A inadequação dos valores dos limites de tolerância biológica para a prevenção da intoxicação profissional pelo chumbo no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.11, n. 1, p. 177-186, 1995.
19. DIAS, L. C. G. D.; REYES, F.; CAMARGO, J. L. V.; RODRIGUES, M. A. M. Conteúdos de celulose, hemicelulose e lignina no farelo de arroz fresco. **Revista de Nutrição da PUCCAMP**, v. 7, n. 1, p. 62-70, 1994.
20. DIETER, M.; MATHEWS, H. B.; JEFFCOATE, R. A.; MOSEMAN R. F. Bioavailability of lead found in mine tailings from Alaska. **Journal of Toxicological and Environmental Health**, v. 39, n.1, p. 79-93, 1993.
21. DOMENE, S. M. A. **Estudo do valor nutritivo mineral do farelo de arroz. Utilização do zinco, ferro, cobre e cálcio pelo rato em crescimento.** Campinas, 1996. 104p. Tese (Doutor em Ciência da Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
22. ERDMAN, G. Applications of Phytic Acid. **Journal of the American Oil Chemistry**, v. 60, n. 11, 1983.
23. EVANS W. J.; MARTINS, C. J. Interactions of inositol hexaphosphate with Pb (II), Be (II). A calorimetric study. XVIII. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 45, 105-113, 1992.
24. EVANS, W. J.; PIERCE, A. G. Interaction of phytic acid with the metal ions copper (II), cobalt (II), iron (III), magnesium (II) and manganese (II). **Journal of Food Science**, v. 47, n. 3, p. 1014-1015, 1998.
25. FERNICOLA, N. A.; AZEVEDO, F. A. Níveis de chumbo e atividade gama-aminolevulínico (gama-ALAD) no sangue da população da Grande São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**; v. 15, n. 3, p. 272-282, 1981.
26. FOWLER, B. A., DUVAL, G. Effects of lead on the kidney: roles of high-affinity lead-binding proteins. **Environmental Health Perspectives**, v. 91, p. 77-80, 1991.

27. FREEMAN, G. B.; DILL, J. A.; JOHNSON, J. D.; KURTZ, P. J.; PARHAM, F.; MATHEWS, H. B. Comparative absorption of lead from contaminated soil and lead salts by weanling fischer 344 rats. **Fundamental and Applied Toxicology**, v. 33, n. 1, 1996.
28. FULLMER, C. S. Intestinal lead and calcium absorption: effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and lead status. **Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine**, v. 194, n. 3, p. 258-264, 1990.
29. FULLMER, C. S.; ROSEN, J. F. Effects of dietary calcium and lead status on intestinal calcium absorption. **Environmental Research**, v. 51, p. 91-99, 1990.
30. GARBER, B. T.; WEI, E. Influence of dietary factors on the gastrointestinal absorption of lead. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 27, p. 685-691, 1974.
31. GOYER, R. A. Toxic and essential metal interactions. **Annual Review of Nutrition**, v. 17, p. 37-90, 1997.
32. GRAF, E. Applications of phytic acid. **Journal of American Oil Chemists Society**, v. 60, n. 3, p. 1861-1867, 1983.
33. GRAF, E.; EATON, J. W. Effects of phytate on mineral bioavailability in mice. **Journal of Nutrition**, v. 114, n. 7, p. 1192-1198, 1984.
34. GRAZIANO, J. H.; BLUM, C. Lead exposure from lead cristal. **Lancet**, v. 337, p. 141-142, Jan. 1991.
35. GUERRA, M. J.; JAFFÉ, W. G. Estudios nutricionales en salvado de arroz. **Archivos latinoamericanos de Nutrición**, v. 25, n.4, p. 401-417, 1975.
36. HALLBERG, L.; ROSSANDER, L.; SKANBERG, A. B. Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 45, p. 988-996, 1987.

37. HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ROSSANDER-HULTHÉN, L. Rice and iron absorption in man. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 49, p. 140-144, 1989.
38. HAN, S.; QIAO, X.; SIMPSON, S.; AMERI, P.; KEMP, F.W.; BOGDEN, J. D. Weight loss alters organ concentrations and contents of lead and some essential divalent metals in rats previously exposed to lead. **Journal of Nutrition**, v. 126, n. 1, p. 317-323, 1996.
39. IPCS **Environmental Health Criteria 165: Inorganic Lead**. Geneva, World Health Organization, p. 300, 1995.
40. ITO, Y.; NINYA, Y.; OTANY, M.; SARAI, S.; SHIMA, S. Effect of food intake on blood lead concentration in workers occupationally exposed to lead. **Toxicology Letters**, v. 37, n. 2, p. 105-114, 1987.
41. JAJARAJAH, C. N; TANG H.; ROBERTSON, J.; SELVENDRA, R. Dephytinisation of wheat bran and the consequences for fibre matrix nonstarch polysaccharides. **Food Chemistry**, v.58, p 5-12 1997.
42. JORDÃO, C. P.; PEREIRA, J. C.; BRUNE W.; PEREIRA J.; BRAATHEN P. C. Heavy metal dispersion from industrial wastes in the Vale do Aço minas Gerais, Brasil. **Environmental Technology**, v. 17, n. 5, p. 489-500, 1996
43. JULIANO, B. O. Properties of rice caryopsis. In: LUH, B.H. **Rice: production and utilization**. Wesport, AVI. Publishing Company, 1980, p. 403-438.
44. KEHOE, R.A. Studies of lead administration and elimination in adult volunteers under natural and experimentally induced conditions over extended periods of time. **Food Chemical and Toxicology**, v. 25, n. 6, p. 425- 493, 1987.
45. KELSAY, J. L. Effects of fiber, phytic acid and oxalic acid in the diet on mineral bioavailability. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 82, n. 10, 1987.
46. KOSTIAL, K.; KELLO, D; JUGO, S. Influence of age on metal metabolism and toxicity. **Environmental Health Perspectives**, v. 25, p. 81-86, 1978.

47. KOSTIAL, K.; DEKANIC, D.; TELISMAN, S.; BLANUSA, M.; DUVANCIC, S.; PRPICMAJIC, D.; PONGRACIC, J. Dietary calcium and blood lead levels in women. **Journal of Biological Trace Element Research**, v. 28, n. 3, p. 181-185, 1991.
48. LÁSZTITY, R.; LÁSZTITY, L. Phytic acid in cereal technology. **Advances in cereal science and technology**, v. 10, p. 309-371, 1990.
49. LEE, S. R.; LEE, K. S. A suppressive effect of dietary fiber on *in vitro* absorption of lead. **Korean Journal of Food Science and Technology**, v. 21, n. 1, p. 63-67, 1989.
50. LEMPEN, B.; ADRIAN, J. Interaction between the sodium phytate and toxic metals. **Medicine et Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 113-117, 1984.
51. MAGA, J. A. Phytate: Its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 1-9, 1982.
52. MAHAFFEY, K. R. Environmental lead toxicity: nutrition as a component of intervention. **Environmental Health Perspectives**, v. 89, p. 75-78, 1990.
53. MAHAFFEY, K. R.; GOYER, R. A. The influence of iron deficiency on tissue content and toxicity of ingested lead in rat. **Journal of Laboratory Clinical Medicine**, v. 79, n. 1, p. 128-136, 1972.
54. MASATOSHI, H.; KAZULIRO, Y.; MAKOTO, Y.; TORU, K.; ATSUSHI, S. Effects of fasting on distribution and excretion of lead following long term lead exposure in rats. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 24, p. 201-205, 1993.
55. MOHAMED, N.; CHIN, Y. M.; POK, F. W. Leaching of lead from local ceramic tableware. **Food Chemistry**, v. 54, n. 3, p. 245-249, 1995.
56. MUSSALO-RAUHAMAA, H.; SALMELA, S.S.; LEPPANEN, A.; PYSALO, H. Cigarettes as a source of some trace and heavy metals and pesticides in man. **Archives of Environmental Health**, v. 41, n. 1, p. 49-55, 1986.

57. NAHAPETIAN, A.; YOUNG, V. R. Metabolism of phytate in rats: effects of low and high dietary calcium intakes. **Journal of Nutrition**, v. 110, n. 7, p. 1458-1472, 1980.
58. NAOUM, P. C.; MOURO, C. A.; RUIZ, M. A. Alterações hematológicas induzidas por poluição industrial em moradores e industriários de Cubatão, SP (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, v. 18, n. 4, p. 271-277, 1984.
59. NOLAN, K. B.; DUFFIN, P. A. Effects of phytate on mineral bioavailability. In vitro studies on Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} (also Cd^{2+}) solubilities in the presence of phytate. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 40, p. 79-85, 1987.
60. NOSWORTHY, N.; CALDWELL, R. A. The interaction of zinc II and phytic acid with soja bean glycinim. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 44, p. 143-150, 1988.
61. O'DELL, B. L.; BURPO, C. E.; SAVAGE, J. E. Evaluation of zinc availability in foodstuffs of plant and animal origin. **Journal of Nutrition**, v. 102, p. 653-660, 1972.
62. O'FLAHERTY, E. J.; HAMMOND, P. B.; LERNER S. I. Dependence of apparent blood lead half-life on the length of previous lead exposure in humans. **Fundamental Applied Toxicology**, v. 2, p. 49-54, 1982.
63. POMERANZ, Y.; ORY, R. L. **Rice processing and utilization**. In: Handbook of Processing in Agriculture. Vol. II, Parte 1. Plant Products, ed. Wolff, I. A., p. 139-150. Boca Raton, Fl: CRC Press, 1982.
64. POUNDS, J. G.; LONG, G. J.; ROSEN, J. F. Cellular and molecular toxicity of lead in bone. **Environmental Health Perspectives**, v. 91, p. 17-32, 1991.
65. PRAKASH, J. Rice bran proteins: properties and food uses. **Critical Reviews in Food Nutrition**, v. 36, n. 6, p. 537-552, 1996.
66. QUARTERMAN, J.; MORRISON, J. N. The effects of dietary calcium and phosphorus on the retention and excretion of lead in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 34, n. 3, p. 351-362, 1975.

67. RABINOWITZ, M. B.; WETHERILL G. M.; KOPPLE J. D. Kinetics analysis of lead metabolism in healthy humans. **Journal of Clinical Investigation**, v. 58, p. 260-270, July-Dec. 1976.
68. RAGAN, H. A. Effect of iron deficiency on the absorption of lead and calcium in the rat. **Journal of Laboratory Clinical Medicine**, v. 90, n. 5, p. 700-706, May 1977.
69. REDDY, N. R. SATHE, S. K.; SALUNKLE, D. K. Phytates in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, v. 8, p. 1-92, 1982
70. ROCHA, L. A. R.; HORTA, G. O. **Avaliação da intoxicação profissional por chumbo em indústrias de acumuladores eletricos na grande Belo Horizonte**. In: V CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE MEDICINA DO TRABALHO, 5, Florianópolis, Associação Nacional de Medicina do Trabalho, 1987, p. 375-397.
71. ROSE, H. E.; QUARTERMAN, J. Effects of dietary phytic acid on lead and cadmium uptake and depletion in rats. **Environmental Research**, v. 35, n. 2, p. 482-489, 1984.
72. ROSE, H. E.; QUARTERMAN, J. Dietary fibers and heavy metal retention in the rat. **Environmental Research**, v. 42, n. 1, p. 166-175, 1987.
73. ROSSANDER, L.; SANDBERG, H. S.; SANDSTROM, B. The influence of dietary fibre on mineral absorption and utilization. In: SCHWEIZER, T.F.; EDWARDS, C.A. **Dietary fibre a component of food. Nutritional function in health and disease**. London: Springer-Verlag, 1992, p. 197-216.
74. SALUNKHE, D. K.; CHAVAN, J. K.; ADSULE, R. N.; KADAN, S. S. In: World Oilseeds Chemistry, Technology and Utilization. **Rice**. AVI, Van Nostrand Reinhold, 1991, p. 424-444.
75. SALVA, T. J. G.; FARFÁN, J. A.; WILKE, B. C. Efeito da celulose alimentar na absorção intestinal do chumbo. **Journal Biomolecular Medicine Free Radicals**, v.2, n. 3, p. 85-89, 1996.

76. SANDBERG, A. S.; CARLSSON, N. G.; SVANBERG V. Effects of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates on *in vitro* estimation of iron availability. **Journal of food Science**, v. 54, n. 1, p. 159-161, 1989.
77. SANDBERG, A. S.; SVANBERG, U. Phytate hydrolysis by phytatase in cereals; effects on *in vitro* estimation of iron availability. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 5, 1991.
78. SANTOS FILHO, E.; SILVA, R.; BARRETTO, H. C.; INOMATA, O. N.; LEMES, V. R.; SUKUMA, A.; SCORSAFAVA, M. A. Concentrações sangüíneas de metais pesados e praguicidas organoclorados em crianças de 1 a 10 anos. **Revista de Saúde Pública**, v. 27, n. 1, p. 59-67, 1993.
79. SAUNDERS, R. M. The properties of rice bran as a foodstuff. **Cereal Foods World**, v. 35, n. 7, p. 632-636, 1990.
80. SCHUTZ, A. S.; RANSTAM, J.; SKERFVING, S.; TEJNING S. Blood - lead levels in school children in relation to industrial emission and automobile exhausts. **Ambio**, v. 13, n. 2, p. 115-117, 1989.
81. SCHWARTZ, J. Societal benefits of reducing lead exposure. **Environmental Research**, v.66, n. 1, p. 105-124, 1994.
82. SERRANO, M. R.; Thompson, I. V.; SAVOIE, L.; PARENT, G. Effect of phytic acid on the *in vitro* rate of digestibility of rapeseed proteins and amino acids. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 1689-1692, 1985.
83. SILBERGELD, E. K.; SCHWARTZ, J.; MAHAFFEY, K. R. Lead and osteoporoses: mobilization of lead from bone in menopausal women. **Environmental Research**, v. 47, n. 1, p. 79-94, 1988.
84. SILBERGELD, E. K. Lead in bone: implications of toxicity during pregnancy and lactation. **Environmental Health Perspective**, 91, p. 63-70, 1990.

85. SKERFVING, S.; EDLING, C. Lead intoxication caused by skeletal disease. **Scandinavian Journal of Work and Environmental & Health**, v. 21, n. 4, p. 296-300, 1995.
86. SLAVIN, J. L.; LAMPE, J. W. Health benefits of rice bran in human nutrition. **Cereal Foods World**, v. 37, n. 10, p. 760-763, 1992.
87. SOUZA, M. G. F.; CARVALHO, R. D. S.; SPINDOLA, A. G. Hemoglobina AS em trabalhadores expostos ao chumbo inorgânico. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 46, n. 12, p. 14-16, 1984.
88. STONE C. H.; SOARES J. H. The effect of dietary selenium level of lead toxicology in the Japanese quail. **Poultry Science**, v. 55, n. 1, p. 341-349, 1976.
89. TANGENDJAJA, K.; BUCKLE, A.; WOOTON, M. Dephosphorylation of phytic acid in rice bran. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1021-1024, 1981.
90. TOMA, R. B.; CURTIS, D. J. Dietary fiber: effect on mineral bioavailability. **Food Technology**, v. 40, p. 111-116, 1986.
91. TORIN, H. R. **Utilização do farelo de arroz industrial. Composição e valor nutritivo em dietas recuperativas**. Campinas, 1991. 147p. Tese (Mestre em Ciência da Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
92. TORÍN, H. R. **Dietas a base de farelo de arroz. Efeito na composição mineral do fêmur de ratos , avaliado por processamento da imagem radiográfica**. Campinas, 1996. 104p. Tese (Doutor em Ciência da Nutrição) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
93. TORRE M.; RODRÍGUEZ, R. A.; SAURA-CALIXTO Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 1, n1, p. 1-22, 1991.

94. TRUELOVE, J. F.; GILBERT, S. G.; RICE, D. C. Effect of diet on blood lead concentration in cynomolgus monkey. **Fundamental Applied Toxicology**, v. 5, n. 3, p. 588-596, 1985.
95. TUNTAWIROON, M.; SRITONGKUL, N.; ROSSANDER-HULTHÉN, L. Rice and iron-absorption in man. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.44, p. 489-497, 1989.
96. TURNLUND, J. R.; KING, J. C.; GONG, B.; GONG B.; KEYES, W. R.; MICHEL, M. C. A. stable isotope study of cooper absorption in young men: effect of phytate and α -celulose. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 40, p. 1071-1077, 1984.
97. WARREN, B. E.; FARRELL, D. J. The nutritive value of full-fat and defatted Australian rice bran. I Chemical composition. **Animal Food Science and Technology**, v. 7, n. 3, p. 219-228, 1990.
98. WATSON, W. S.; HUME, R.; MOORE, M. R. Oral absorption of lead and iron. **Lancet**, v. 2, n.8188, p. 236-237, 1980.
99. WISE, A. Protective action of calcium phytate agaist acute lead toxicity in mice. **Bulletin Environmental Contamination and Toxicity**, v. 27, n. 6, p. 630-633, 1981.
100. WISE, A. Blood lead levels after chronic feeding to mice of lead acetate with calcium phytate in the diet. **Bulletin Environmental Contamination and Toxicity**, v. 29, p. 550-553, 1982.
101. WISE, A; GILBURT, D. J. Binding of cadmium and lead to calcium phytate complex in vitro. **Toxicology Letters**, v. 9, n. 1, p. 45-50, 1981.
102. YOSHIDA, T.; TANAKA, K.; KASAI, Z. Phytase activity associated with isolated aleurone particles of rice grains. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 39, p. 289-290, 1975.
103. ZIEGLER, E. E.; EDWARDS B. B.; JENSEN, R. L.; MAHAFFEY, K. R.; FOMON, S. J. Absorption and retention of lead by infants. **Pediatric Research**, v. 12, n. 1, p. 29-34, 1978.