EFEITOS DA PECTINA CÍTRICA DE ALTA E BAIXA METOXILAÇÃO E DA CELULOSE NOS NÍVEIS SÉRICOS DE COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS EM RATOS HIPERLIPIDÊMICOS

VIVIAN RAHMEIER FIETZ
Nutricionista

Orientador: Profa Dra **JOCELEM MASTRODI SALGADO**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
Junho 1998

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Fietz, Vivian Rahmeier
Efeitos da pectina cítrica de alta e baixa metoxilação e da celulose nos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos em ratos hiperlipidêmicos / Vivian Rahmeier Fietz. - - Piracicaba, 1998.
60 p.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Animal de laboratório 2. Colesterol 3. Dieta 4. Fibra alimentícia 5. Pectina 6. Rato 7. Sistema cardiovascular I. Título

CDD 612.17

Dedico e Ofereço esse trabalho
ao meu esposo e amigo **Ricardo**
e às nossas queridas filhas,
Beatriz e Luiza, pelo amor e carinho.

"Tende o mesmo sentimento uns para com os outros; em lugar de serdes orgulhosos, condescendei com o que é humilde; não sejais sábios aos vossos próprios olhos.'

(Romanos 12.16)

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelas bençãos e à Jesus Cristo, pela salvação.

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", em particular ao Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela formação recebida e acolhimento dos professores e funcionários.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro.

À Profª. Drª. Jocelem Mastrodi Salgado, pelo apoio, oportunidade e orientação durante a realização desse trabalho.

Ao Engº. Agrônomo Carlos Ricardo Fietz, pela amizade, apoio e pelas inúmeras leituras, correções e revisões do trabalho.

À técnica Maria de Lourdes Perin Storer, pelo incentivo e auxílio nas análises laboratoriais.

À secretária Raquel Iracema da Silva, pela amizade, compreensão e estímulo em todos os momentos e pela frase "...no final tudo dá certo...".

À Profª. Solange G. Canniatti-Brazaca, pela revisão do texto, troca de idéias e comentários importantes no desenvolvimento do trabalho.

À Profª. Marília Oetterer, pelo carinho, pela revisão do texto, troca de idéias, comentários e dicas no desenvolvimento da dissertação.

À Profª. Sônia Maria de S. Piedade, pela colaboração nas análises estatísticas do experimento.

Ao Prof. Luiz Eduardo Gutierrez, pelos ensinamentos e revisão do trabalho.

Ao Prof. Jorge Horri, pelos ensinamentos e apoio durante o curso de Mestrado.

Às Bibliotecárias Beatriz Helena Giongo e Midian Gustinelli, pelo auxílio nas correções e organização das referências bibliográficas.

À secretária Regina Lúcia de Mello Lourenço pela compreensão e apoio constantes.

À Braspectina, pelo fornecimento das pectinas.

A todos os meus colegas da pós-graduação, pelos momentos alegres e difíceis, em particular às amigas Graziela F. Perpétuo e Ingrid Garboggini.

A todos os amigos e irmãos da Igreja Metodista Betânia de Piracicaba, pelo acolhimento.

Aos meus pais e demais familiares, que sempre ajudaram, mais do que eles imaginam.

A todos que de alguma forma contribuíram nos bons momentos do tempo de Piracicaba.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS.....viii

LISTA DE TABELAS.....x

RESUMO.....xii

SUMMARY.....xiv

1 INTRODUÇÃO.....1

2 REVISÃO DE LITERATURA.....4

2.1 Aspectos gerais das fibras alimentares.....4

2.2 Colesterol.....6

2.3 Colesterol e doenças coronárias.....8

2.4 Pectina.....11

2.5 Principais mecanismos de ação hipolipidêmica das fibras dietéticas.....16

2.6 Ação da pectina no metabolismo lipídico.....18

2.7 Fibras e uréia.....19

3 MATERIAL E MÉTODOS.....20

3.1 Local do experimento.....20

3.2 Matéria prima.....20

3.3 Análises química e física das pectinas.....20

3.3.1 Umidade, cinzas e proteína bruta.....21

3.3.2 Lipídeos totais.....21

3.3.3 Fibra dietética.....21

3.3.4 Granulometria.....21

3.4 Primeiro ensaio biológico....22
3.4.1 Preparo das dietas....22
3.4.2 Animais utilizados....23
3.4.3 Coleta e análise bioquímica do sangue....24
3.5 Segundo ensaio biológico....24
3.6 Análise estatística....25

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO....26
4.1 Caracterização das pectinas....26
4.1.1 Composição química....26
4.1.2 Granulometria....27
4.1.3 Grau de metoxilação....27
4.2 Primeiro ensaio biológico....28
4.2.1 Análises bioquímicas....28
4.2.2 Ganho de peso e ingestão alimentar....31
4.3 Segundo ensaio biológico....34
4.3.1 Análises bioquímicas....34
4.3.2 Ingestão alimentar e ganho de peso....46

5 CONCLUSÕES....49

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS....51

LISTA DE FIGURAS

Página

1 Ganho de peso dos animais proporcionado pelas dietas no primeiro ensaio biológico.....32

2 Ingestão alimentar dos animais proporcionada pelas dietas no. primeiro ensaio biológico.....33

3 Níveis séricos de colesterol total em ratos "Wistar" aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento.....39

4 Níveis séricos de triglicerídeos em ratos "Wistar" aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento.....40

5 Níveis séricos de HDL-colesterol em ratos "Wistar" aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento.....41

6 Níveis séricos de LDL-colesterol em ratos "Wistar" aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento.....42

7 Níveis séricos de glicose em ratos " Wistar " aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento.....43

8 Níveis séricos de uréia em ratos " Wistar " aos 0, 45, 60, e 90 dias dias de experimento.....45

9 Ingestão alimentar dos animais proporcionada pelas dietas no segundo ensaio biológico.....46

10 Ganho de peso dos animais proporcionado pelas dietas no segundo ensaio biológico.....47

LISTA DE TABELAS

Página

1 Conteúdo de pectina em algumas frutas.....13

2 Fermentabilidade de fibras solúveis.....15

3 Composição (g/100g) das dietas controle e suplementadas com HMP, LMP e celulose.....23

4 Composição química (g/100g) das pectinas HMP e LMP.....26

5 Granulometria das pectinas HMP e LMP.....27

6 Concentração plasmática de colesterol aos 15 dias (COL 15) e aos 30 dias (COL 30) e de triglicerídeos (TRIG) e uréia aos 30 dias em animais tratados com as dietas experimentais.....28

7 Concentração plasmática de HDL-colesterol e LDL-colesterol aos 30 dias em animais tratados com as dietas experimentais.....30

8 Concentração plasmática de coelsterol total, triglicerídeos, uréia, HDL-colesterol e glicose aos 45 dias em animais tratados com as dietas experimentais.....35

9 Concentração plasmática de colesterol total, triglicerídeos, uréia, HDL-colesterol, LDL-colesterol e glicose aos 60 dias em animais tratados com as dietas experimentais.....36

10 Concetração plasmática de colesterol total, triglicerídeos, uréia, HDL-colesterol, LDL-colesterol e glicose aos 90 dias em animais tratados com as dietas experimentais.....37

EFEITOS DA PECTINA CÍTRICA DE ALTA E BAIXA METOXILAÇÃO E DA CELULOSE NOS NÍVEIS SÉRICOS DE COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS EM RATOS HIPERLIPIDÊMICOS

Autor: **VIVIAN RAHMEIER FIETZ**

Orientador: Prof[a]. Dr[a]. **JOCELEM MASTRODI SALGADO**

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da pectina, de alta (HMP) e de baixa (LMP) metoxilação, e da celulose nos níveis séricos de: a) colesterol total; b) triglicerídeos; c) HDL-colesterol e d) LDL-colesterol em ratos hiperlipidêmicos. Também foram realizadas as determinações dos níveis plasmáticos de uréia e glicose.

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Experimental do Departamento de Economia Doméstica da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP) no período de março a dezembro de 1997. Foram realizados dois experimentos em ratos (*Rattus norvegicus* var. albinos, linhagem Wistar) machos e adultos, com peso médio inicial de 220 a 250 g. Os experimentos tiveram duração de 30 dias (primeiro ensaio biológico) e de 90 dias (segundo ensaio).

No primeiro ensaio biológico os animais foram divididos em 13 grupos de seis. Um grupo recebeu uma dieta padrão (testemunha) e os demais, dietas com níveis diferenciados de pectina (HMP e LMP) e celulose (5; 10; 15 e 20%). Houve redução no ganho de peso dos animais com o aumento dos níveis de fibra. Os tratamentos com celulose produziram menor efeito hipolipidêmico e os com HMP proporcionaram os resultados mais significativos. As dietas com 10 e 15% de HMP apresentaram maior capacidade de reduzir os níveis séricos de colesterol, triglicerídeos e uréia.

O segundo ensaio foi conduzido com base nos resultados mais satisfatórios obtidos no primeiro experimento. Neste, os animais foram divididos em 4 grupos de 18. Um grupo recebeu uma dieta padrão (testemunha) e os demais, dietas com diferentes concentrações de HMP (5, 10, 15%). Como no primeiro ensaio, observou-se redução no ganho de peso dos animais com o incremento das concentrações da pectina. Não houve reversão do efeito hipolipidêmico durante o período do ensaio. As dietas com 10 e 15% de HMP proporcionaram o efeito mais significativo na redução dos níveis plasmáticos de colesterol total, triglicerídeos, LDL-colesterol, uréia e glicose e no aumento dos níveis séricos da fração HDL-colesterol.

EFFECTS OF HIGH AND LOW METHOXYL CITRIC PECTIN AND CELLULOSE ON SERUM LEVELS OF CHOLESTEROL AND TRIGLYCERIDES IN HYPERLIPIDEMIC RATS

Author: **VIVIAN RAHMEIER FIETZ**

Adviser: Prof[a]. Dr[a]. **JOCELEM MASTRODI SALGADO**

SUMMARY

The aim of this work was to evaluate the effect of high (HMP) and low (LMP) methoxyl pectin and cellulose on serum levels of: a) total cholesterol; b) tryglicerides; c) HDL-cholesterol, and d) LDL-cholesterol in hiperlipidemic rats. The plasmatic levels of urea and glucose were also determined.

The trial was conducted at the Laboratório de Bromatologia e Nutrição Experimental do Departamento de Economia Doméstica da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP) from March throgh December, 1997. Two experiments were performed in rats (*Rattus norvegicus* var. albinos, strain Wistar), male adults with initial average weight of 220 to 250 g. The experiments lasted 30 days (first biological trial) and 90 days (second trial).

On the first biological trial animals were divided into 13 blocks of six rats each. One group received a standard diet (control) and the remaining ones were fed on diets with different levels of pectin (HMP and LMP) and cellulose

(5; 10; 15, and 20%). Body weight decreased as fiber levels increased. Cellulose treatments produced a lesser hypolipidemic effect and those with HMP provided more significant results. Diets with 10 and 15% HMP had a higher capacity to reduce the serum cholesterol, triglycerides, and urea.

The second trial was based on the more satisfactory results found in the first experiment. Here animals were divided into 4 groups of 18 rats each. One group received a standard diet (control) and the remaining ones were fed on different concentrations of HMP (5, 10, 15%). Likewise the first trial, a decreased body weight was observed as pectin concentrations increased. No hypolipidemic effect reversion occurred during the trial period. Diets with 10 and 15% HMP had a more significant effect on reducing plasmatic levels of total cholesterol, triglycerides, LDL-cholesterol, urea, and glucose, and on the increased serum levels of the HDL-cholesterol fraction.

1 INTRODUÇÃO

Cerca de 25% das causas de morte no mundo devem-se às doenças coronárias. A incidência é maior nos países desenvolvidos, mas essas doenças também afetam a população dos países em desenvolvimento. As principais conseqüências deste problema são: aumento dos gastos em saúde pública, redução da qualidade de vida, aumento nos sofrimentos dos pacientes e de mortes súbitas. Essas conseqüências ressaltam a importância de pesquisas que busquem meios de prevenção e profilaxia dessas doenças.

Muitos fatores contribuem para o desenvolvimento das doenças coronárias, principalmente, a hipertensão, a hiperlipidemia e o tabagismo. Além destes o desenvolvimento dessas doenças é também afetado por: diabetes melittus, obesidade, vida sedentária, tensões psicossociais, certos fatores dietéticos e, nas mulheres, a ausência de hormônios sexuais na menopausa (Mahan & Arlin,1995).

Dentre as hiperlipidemias, os altos níveis de colesterol sérico, especialmente da lipoproteína LDL, são considerados os fatores de maior risco. Porém, a hipertrigliceremia também está relacionada com as doenças coronárias.

Os altos níveis de colesterol sérico, frações de colesterol e de triglicerídeos podem ser tratados com rigorosa dietoterapia, redução do peso corpóreo e exercícios físicos. O uso de drogas hipolipidêmicas também tem sido recomendado nos tratamentos das hiperlipidemias. Essas drogas atuam diminuindo os níveis plasmáticos de triglicerídeos e de colesterol e o seu

sucesso depende do tipo de dieta ingerida, principalmente dos ácidos graxos, que devem ser na maioria poliinsaturados (Penachiotti et al., 1996).

Os hipolipidêmicos químicos possuem múltiplas ações em organismos normais. Essa terapia utilizada em humanos está associada com muitas reações adversas e efeitos indesejáveis, como dores musculares e indisposições (Reddy & Lalwani, 1983), reação de toxicidade sistêmica, elevando assim a taxa de mortalidade não cardiovascular (Alves & Gerude, 1995).

A partir da década de 70 as propriedades hipolipidêmicas das fibras dietéticas vêm apresentando grande interesse nas pesquisas. As populações que tem sua alimentação rica em carboidratos complexos sofrem menos de aterosclerose e das demais doenças coronárias. Por outro lado, altas ingestões de sacarose e outros mono e dissacarídeos têm influência no desenvolvimento de cardiopatias coronarianas.

As fibras dietéticas são consideradas como um grupo, apesar de não produzirem efeitos similares no metabolismo lipídico (Tsai et al., 1976). As fibras dietéticas solúveis em água são mais eficazes do que as insolúveis na redução dos níveis plasmáticos de colesterol, tanto em animais como em humanos.

As fibras dietéticas encontradas nos cereais podem controlar os níveis séricos de colesterol. Porém, para que apresente algum efeito, o cereal deve ser parcialmente solúvel em água, sendo assim dependente do tipo de fibra dietética que o compõe. O efeito hipolipidêmico parece ser neutro em dietas compostas exclusivamente por celulose (Jackson et al., 1994).

Vários trabalhos realizados com ratos mostram que a ingestão de fibras dietéticas solúveis em água, como a pectina e o farelo de aveia produzem um decréscimo dos níveis de colesterol sérico e hepático (Nishina & Freedland, 1990b). Esse efeito hipocolesterolêmico das fibras solúveis em água pode ser atribuído à alteração que as mesmas provocam na absorção e no metabolismo dos nutrientes, principalmente dos lipídeos.

A pectina é um polissacarídeo complexo, encontrado em células de várias plantas superiores. Ao contrário da celulose, dietas compostas com pectina têm se mostrado eficazes na redução dos níveis de colesterol plasmático e hepático tanto em ratos como em humanos (Anderson et al., 1990b).

Nesse trabalho formulou-se as seguintes hipóteses: a) a pectina apresenta eficácia na redução dos níveis séricos de colesterol; b) o efeito das pectinas é diferenciado, de acordo com o seu grau de metoxilação; c) a celulose não produz efeito sobre a lipidemia; d) a pectina apresenta efeito mais significativo quando utilizada em dosagens maiores e e) a pectina exerce efeito na glicemia e nos níveis séricos de uréia.

Com base nessas hipóteses, esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes quantidades de pectina, de alta e de baixa metoxilação, e de celulose sobre os níveis séricos de: a) colesterol total; b) triglicerídeos e c) das frações HDL e LDL-colesterol.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais das fibras alimentares

Trowell (1975), inicialmente definiu fibras dietéticas como todos polissacarídeos e a lignina da dieta que não são digeridas pelas secreções endógenas do trato digestivo humano. Mais tarde, Trowell et al. (1976) concluíram que algumas fibras podem ser parcial ou totalmente hidrolisadas por bactérias ceco-colônicas. Essas bactérias utilizam energia de fontes monossacarídeas para realizar a degradação das fibras dietéticas (Selvendran & Verne, 1990).

Atualmente, em função de avanços nos estudos, sabe-se que as fibras dietéticas e a estrutura dos polissacarídeos são físico-quimicamente mais complexas do que se imaginava. A definição original de fibras foi assim modificada com a inclusão do termo fibra dietética total, que inclue as porções "solúvel" e "insolúvel" e também em função do que ocorre no trato gastrointestinal. O método de análise e o processo de extração exercem grande influencia nas quantidades da porção solúvel e insolúvel encontradas nos alimentos (Marlett, 1990).

A partir da década de 70, a função das fibras dietéticas têm sido amplamente explorada pelos serviços de saúde e nutrição humana e recebido atenção especial em pesquisas científicas. Vários "claims" são utilizados para falar do seu valor curativo e profilático. Porém, das várias propriedades a elas atribuídas, apenas a constipação intestinal foi confirmada e o controle da

diverticulose pode ser considerado como um efeito provável. Dentre as possíveis propriedades, mas que ainda não foram completamente comprovadas, pode-se citar: o controle e a prevenção de hiperlipidemias, de hemorróidas e veias varicosas, isquemia, câncer do cólon e reto, diabete, apendicite, obesidade, pedras nas vesículas, flebites, cárie dentária, colite ulcerativa e redução dos efeitos causados pela ingestão de substâncias tóxicas (Anderson, 1990b).

Segundo Selvendran & Verne (1990), os principais componentes das fibras dietéticas são os polissacarídeos complexos, alguns associados com polifenóis (incluindo lignina) e proteína. A característica de solubilidade dos polímeros determina os efeitos fisiológicos e influencia a sua degradação pelas bactérias colônicas. As fibras com baixos níveis de ésteres de ácido ferúlico são totalmente degradadas pelas bactérias fecais. Já os polímeros fortemente ligados (especialmente os ácidos de arabinoxilanas) e a celulose em tecidos lignificados são mais resistentes a essa degradação.

Ainda não existe um ADI (Ingestão diária aceitável) específico para as fibras dietéticas. Segundo Al-Shoshan (1992), para indivíduos adultos, a ingestão diária de 20 a 35 g é essencial para o funcionamento normal do intestino e para a prevenção de certas doenças, como constipação e diverticulites no cólon. As dietas vegetarianas estritas, as moderadamente ricas em fibras e as dietas ocidentais contêm, em média, respectivamente, 60, 35 e 20 g de fibras. A ingestão excessiva de fibras dietéticas pode interferir no metabolismo e na absorção de oligoelementos, indispensáveis ao metabolismo de macronutrientes, e ainda provocar distúrbios abdominais, gases e diarréia.

A introdução de fibras dietéticas na alimentação dos indivíduos deve ser feita de forma gradual, pois o organismo humano necessita de algum tempo para adaptar-se. Além disso, o efeito da ingestão das fibras somente é verificado após a fase de adaptação (Anderson et al., 1990a).

As fibras possuem diversos efeitos sobre o sistema digestivo. Uma alimentação mais rica em fibras requer maior mastigação, o que estimula o

fluxo de saliva. Esse mecanismo afeta diretamente o hipotálamo, produzindo a sensação de saciedade. Também ocorrem mudanças significativas nos níveis séricos de insulina, glucagon e outros hormônios pancreáticos e gastrointestinais que são sensíveis à insulina. A insulina age como chave para a regulação hormonal, tanto para o catabolismo como para o anabolismo dos lipídeos, enquanto o glucagon antagoniza esses efeitos. Estudos nessa área sugerem que os níveis de glicose sérica, insulina e glucagon afetam os níveis de colesterol hepático e a síntese de lipoproteínas (Anderson et al., 1988).

Cervato et al. (1997), em estudo realizado no Estado de São Paulo constataram que a contribuição calórica dos lipídeos e das proteínas, em detrimento dos carboidratos, estavam acima dos padrões recomendados. Sabe-se ainda que o grupo das fibras dietéticas também não está em quantidade recomendada na dieta habitual da população ocidental. Como exemplos pode-se citar vários produtos manufaturados, oferecidos em supermercados e outros estabelecimentos comerciais, em que a fibra foi suprimida. Segundo Lanza et al. (1987), o uso de fibras dietéticas como suplemento pode elevar o atual consumo diário na dieta americana de 10 a 15g para a quantidade desejável de 30 até 40 g/dia.

2.2 Colesterol

O colesterol pode ser endógeno ou exógeno. O endógeno é sintetizado pelo organismo a partir do acetil CoA e o colesterol exógeno provém da dieta alimentar.

Segundo Angelis & Ctenas (1993), a biossíntese de colesterol é um processo comum a todos os tecidos. O fígado e o intestino contribuem com a maior parte (respectivamente, 84 e 12%), ocorrendo também na pele e nos demais tecidos. No fígado, está presente nas células do parênquima e no intestino (íleo) ocorre nas criptas e nas vilosidades. A excreção dá-se pela bile

ou é liberada na corrente sangüínea como lipoproteínas. A síntese de colesterol é controlada pela enzima HMGCoA (hidroximetilglutaril CoA-redutase) e o efeito hipocolesterolêmico geralmente está ligado ao aumento da sua atividade. Esse mecanismo foi verificado por Fernandez et al. (1994) em experimento realizado com porquinhos-da-índia (*Cavia cobaya*). Os autores observaram um aumento na atividade da enzima quando os animais receberam dietas com 12,5% de pectina e, consequentemente, redução nos níveis séricos de colesterol.

O colesterol corporal é formado pela soma do sintetizado e do oriundo da absorção intestinal (dieta e circulação entero-hepática). Em associação com os aminoácidos taurina e glicina, formam os ácidos biliares primários ou conjugados. No intestino, por ação de bactérias, formam-se os ácidos biliares secundários. Segundo Moundras et al. (1994), esses compostos podem ser reabsorvidos ou então excretados na presença de fibras dietéticas. As fibras produzem um complexo com os ácidos biliares no lúmem intestinal, reduzindo a atividade de reabsorção no intestino delgado, causando maior excreção fecal.

O bloqueio da reabsorção de sais biliares do intestino para o fígado, por drogas ou pela ação de fibras dietéticas, induz a um aumento da biossíntese de colesterol, utilizando assim, mais do colesterol endógeno. Esse mecanismo contribui para a redução do colesterol total no organismo.

Quimicamente, o colesterol é definido como um éster de esteróides. É classificado como lipídeo derivado, sendo encontrado como álcool livre ou combinado com ésteres de ácidos graxos. Os esteróides estão associados a lipídeos que apresentam o núcleo comum do ciclopentano-peridro-fenantreno. O colesterol ocorre somente em tecidos animais, onde faz parte da estrutura das membranas celulares de praticamente todos os tecidos. Também está presente no plasma sangüíneo, associado às lipoproteínas (Lehninger,1993).

O colesterol é precursor de hormônios sexuais, ácidos biliares, ácido cólico, vitaminas D_2 e D_3 e outras. Cerca de 80% deste éster são convertidos em ácidos biliares, responsáveis pela emulsão dos lipídeos no processo de

absorção. No plasma sangüíneo, está na forma livre ou esterificado com ácidos graxos. Tanto os ácidos biliares como o colesterol são reabsorvidos no íleo terminal e no intestino grosso, voltando para o fígado, onde novamente são excretados pela bile (Kritchevski & Story, 1974).

Segundo Anderson et al. (1988), no caso de dietas pobres ou sem colesterol, como a dos vegetarianos puros, este é sintetizado principalmente pelo fígado, conforme a necessidade do organismo.

Altos níveis plasmáticos de colesterol são observados principalmente nas hiperlipemias, mas também ocorrem no hipotireoidismo, nas diabetes, na gravidez e nas nefroses (Krause & Mahan, 1991).

2.3 Colesterol e doenças coronárias

No início dos estudos sobre as doenças coronárias, mais especificamente da aterosclerose, pensava-se que as mesmas fossem conseqüências de injúrias mecânicas ou devido a toxinas, presentes nos alimentos, principalmente nas proteínas de origem animal (Kritchevski, 1995).

Kritchevski (1995) elaborou uma revisão sobre o desenvolvimento das pesquisas sobre as doenças coronárias, com o objetivo de mostrar como diversos autores concluíram que o colesterol era um dos principais agentes causadores da aterosclerose. O autor cita Ignatowski[1] (1909) que, alimentando coelhos com proteína animal, verificou o desenvolvimento de nefrites, cirrose hepática e pronunciada aterosclerose. Também cita Kon[2] (1913) e Kon[3] (1914) que verificaram que a quantidade total de lipídeos na dieta era importante para o desenvolvimento de doenças coronárias, como a aterosclerose. Kritchevski

---

[1] IGNATOWSKI, A. Über die wirkung des tierischen eiweisses auf die aorta und die parenchymatosen organe der kaninchen. **Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.** v.198, p.248-270, 1909.

[2] KON Y. Referat über arteriosklerose. **Trans. Jpn. Pathol. Soc.** 3: 8-19, 1913.

[3] kON Y. Futterungsversuche an saugetieren mit leberpulver und eigelb. **Trans Jpn. Pathol. Soc.** 4: 105-112,1914.

(1995), ainda mostra que estudos subseqüentes (Anitschlow & Chalatow[4] , 1913) também consideraram os elevados níveis de colesterol sérico como um dos fatores responsáveis pelo desenvolvimento de doenças coronárias. Diecke[5] (1926) correlacionou definitivamente as doenças coronárias com hipercolesterolemia.

A relação entre o colesterol plasmático e as doenças coronárias foram observadas e comprovadas através de estudos onde concluíram que: a) o colesterol é um componente importante da placa de ateroma; b) a hipercolesterolemia, adquirida pela dieta ou de forma genética, leva à aterosclerose; c) níveis plasmáticos de colesterol estão diretamente correlacionados com a prevalência de doenças coronárias e com a gravidade da aterosclerose e d) a capacidade das lipoproteínas de transportarem colesterol até a parede arterial interfere na incidência da doença (Alves & Gerude, 1995). Segundo esses autores, os níveis plasmáticos de triglicerídeos tendem a ser maiores em pacientes portadores de doenças coronárias e, por isso, também são considerados como um fator de risco.

Os principais efeitos do colesterol e lipídeos são: a) alterar os níveis de colesterol sérico; b) influenciar na agregação de plaquetas e c) originar depósitos nas paredes das artérias (Anderson et al., 1988).

Segundo Grundy & Denke (1990), as doenças coronárias continuam sendo causas importantes de morte no mundo ocidental. A concentração do colesterol plasmático, a distribuição dos lipídeos corpóreos e as dietas ricas em ácidos graxos saturados são reconhecidas como as maiores causas das doenças coronárias.

Os ácidos graxos saturados encontram-se em maior quantidade nos tecidos animais e seu aumento tem influência três vezes maior nas doenças coronárias do que o colesterol. Deve-se ressaltar que indivíduos com altos

---

[4] ANITSCKOW, N. & CHALATOW, S. Über experimentelle cholesterin-steatose und ihre bedeutring für die eutstehung einiger pathologischer prozess. **Zentralbl. Allg. Pathol. Anat.** 24: 1-9, 1913.

[5] DIECKE, O. Beobachtungen an kaninchen mit künstlicher cholesterinzufuhr. **Krankheitsorschung.**3:399-418, 1926.

níveis de colesterol e triglicerídios séricos são mais suscetíveis a doenças coronárias (Oliveira & Quintão, 1992).

Segundo Krause & Mahan (1991), os ácidos graxos poliinsaturados possuem capacidade de reduzir os níveis de colesterol sérico por mecanismos ainda desconhecidos. A retirada de uma certa quantidade de gordura saturada da dieta, como uma forma de reduzir o colesterol sérico, é duas vezes mais eficaz do que acrescentar uma quantidade igual de gordura poliinsaturada.

A concentração do colesterol plasmático é controlada por vários fatores, incluindo a entrada do colesterol dietético e a liberação das lipoproteínas na circulação, por meio de vias dependentes e independentes de receptores (Jackson et al., 1994).

As lipoproteínas no sangue são complexos hidrossolúveis com alto peso molecular e que transportam lipídeos. Esses elementos são compostos por colesterol, fosfolipídeos, triglicerídeos e proteínas em diferentes proporções. Deve-se ressaltar que sempre que houver altos níveis de colesterol e triglicerídeos séricos, haverá também altas concentrações de lipoproteínas (Anderson et al., 1988).

Segundo Mahan & Arlin (1995), as lipoproteínas séricas são: (a) quilomícrons (constituídos de triglicerídeos absorvidos na dieta); b) VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade, compostas por triglicerídeos, colesterol e apoproteínas); c) LDL (lipoproteínas de baixa densidade que carregam 2/3 do colesterol sérico total) e d) HDL (lipoproteínas de alta densidade).

De acordo com Alves & Gerude (1995), as hiperlipoproteinemias são causadas por distúrbios no transporte dos lipídeos como conseqüência da síntese acelerada ou retardo na degradação das lipoproteínas transportadoras do colesterol e dos triglicerídeos do plasma.

Evidências epidemiológicas indicam que níveis elevados da fração HDL-colesterol estão inversamente associados com a incidência de doenças coronárias. A função protetora desta fração é devida ao transporte do

colesterol, dos tecidos periféricos para o fígado. Nos estudos de Framinghan, baixos níveis de HDL foram identificados como fatores de risco para as doenças coronárias em homens e mulheres de 49 a 82 anos. Observou-se ainda aumento dos índices das doenças quando os níveis da fração LDL-colesterol estavam elevados (Anderson et al., 1988), devido a formação de faixas de gordura na aorta (Anderson et al., 1990b).

A aterosclerose é uma doença com origens complexas e a suscetibilidade dos indivíduos à mesma diferem marcadamente. Segundo Lehninger (1993), a aterosclerose é indiscutivelmente influenciada pela dieta, porém, existe ainda a predisposição genética.

O tabagismo também está associado com o aumento dos níveis séricos de triglicerídeos, do colesterol total, fração LDL, apolipoproteínas A_1 e B e redução da fração HDL (Craig et al., 1989). A modificação desses níveis independe da dieta e do consumo de álcool e, de acordo com Thompson et al. 1992, o monóxido de carbono pode ser o responsável pelas doenças coronárias, em função da maior produção de radicais livres, alterando assim, o processo metabólico pelo aumento do catabolismo de antioxidantes. Portanto, pacientes fumantes têm maior tendência de adquirir doenças aterogênicas.

2.4 Pectina

Pectina é um termo genérico dado a um grupo de substâncias que são polissacarídeos estruturais e estão presentes nas paredes das células de todos os tecidos de plantas superiores. As membranas celulares das plantas dicotiledôneas contém aproximadamente 35% de pectina, e a lamela média, que está situada entre a membrana primária da célula, é particularmente rica em pectina. Juntamente com a celulose e a hemicelulose a pectina atua como cimento intracelular, conferindo firmeza e estrutura aos tecidos (Kertesz, 1951),

similar ao colágeno que é uma substância intracelular de origem animal (Lehninger, 1993)

Segundo Robinson (1991), a pectina é fundamentalmente um polímero linear composto por resíduos de ácido D-galacturônico esterificado, unidos por ligações glicosídicas $\alpha(1,4)$ axial-axial. Como a maioria dos polissacarídeos, o peso molecular exato das pectinas ainda é desconhecido, podendo conter mais de 1000 resíduos de monossacarídeos por molécula.

O termo *pectin* deriva do grego e significa solidificar. Segundo Kertesz (1951), o termo genérico pectina é utilizado para ácidos pécticos, solúveis em água e com variado conteúdo de ésteres de metila e de grau de neutralização. A capacidade de formar géis na presença de íons de Ca^{+2} ou de açúcar e ácido é a propriedade mais importante das pectinas. A característica física de geleificar é conseqüência da formação de uma fase tridimensional contínua de ligações cruzadas pelos polímeros das moléculas. Um gel pode ser definido como um produto que possui forma estrutural firme, quando uma fase líquida contínua está embebida em uma matriz macromolecular dispersa, ou como um líquido com resistência finita.

A quantidade de grupos carboxílicos esterificados e os resíduos de ácido urônico, presentes em forma de ésteres de metila, variam e dependem da espécie de planta e do cuidado utilizado na sua extração. Entre os exemplos típicos de géis de polissacarídeos estão o agar, o alginato, a carragena e as pectinas (Thakur et al.,1997).

A molécula de pectina pode desesterificar-se mediante a ação de ácidos ou álcalis ou por processos enzimáticos, resultando em ácidos pécticos e polímeros de ácido α-D- galacturônico. As preparações comerciais de pectina são classificadas de acordo com o grau de metoxilação e pelo conteúdo de ácidos pécticos. Essa classificação está relacionada com a porcentagem de grupos carboxílicos esterificados com metanol. Segundo Oakenfull & Scott (1984), as pectinas podem ser classificadas em dois grupos ou categorias: a)

pectinas com alto teor de grupos metoxílicos (quando contém mais de 50% de seus grupos carboxílicos estão esterificados e formam géis na presença de altas concentrações de açúcar e ácido) e b) pectinas de baixo teor de grupos metoxílicos (quando até 50% de seus grupos carboxílicos estão esterificados e formam géis na presença de cátions divalentes, tais como cálcio, não exigindo açúcar ou ácido).

A pectina está presente na parede celular de várias plantas, porém algumas variedades de maçã e os bagaços (casca e albedo) de laranja são as duas principais fontes comerciais dessa fibra. Em base seca, o conteúdo de pectina nessa fonte pode chegar a 15 e 30%, respectivamente (Dreher, 1987). A Tabela 1 mostra o conteúdo de pectina presente em algumas frutas.

A extração de pectina ocorre por hidrólise ácida a quente, seguida por um processo de precipitação alcoólica ou alcalina. A substância resultante (pectina em estado bruto) é submetida então à purificação, secagem, moagem e homogeneização (Robinson, 1991).

Tabela 1. Conteúdo de pectina em algumas frutas.

Fruta	Substâncias pécticas (%)
Maçã (*Malus spp)*	0,5 - 1,6
Banana (*Musa acuminata L.*)	1,5 - 2,5
Beterraba (*Beta vulgaris*)	1,0
Limão (bagaço) (*Citrus limon*)	2,5 - 4,0
Manga (*Mangifera indica L.*)	0,3 - 0,4
Laranja (bagaço) (*C. sinensis*)	3,5 - 5,5
Mamão (*Carcia Papaya*)	0,7 - 1,0

Fonte: Anderson et al. 1990 (b).

As pectinas são substâncias insolúveis em álcool, solúveis em água e parcialmente solúveis em xaropes. A formação dos géis depende da característica do meio (pH, teor de sólidos solúveis e conteúdo de cálcio) e do tipo de pectina utilizada. A HMP (pectina de alta metoxilação) forma géis com conteúdo de sólidos solúveis superiores a 60% e com pH em torno de 2,8 a 3,4. A LMP (pectina de baixa metoxilação) tem a propriedade de formar géis termoreversíveis, pela interação com cálcio em uma larga faixa de sólidos solúveis (10 a 80%) e de pH (2,6 a 6,0). Essa pectina apresenta ainda a capacidade de formar gel tanto a quente quanto a frio (Anderson et al.,1990a).

Provavelmente a pectina é a fibra mais estudada na categoria das solúveis em água. Moundras et al. (1994) citam vários autores (Fernandez[6] et al., 1992; Kay and Truswell[7] , 1977; Reddy[8] et al. , 1980) que afirmam que a pectina serve de substrato para as bactérias e é fermentada no cólon do intestino grosso. Os produtos dessa fermentação incluem hidrogênio, dióxido de carbono, metano, água e ácidos graxos de cadeia curta, como acetato, propionato e butirato. Esses ácidos graxos são quase totalmente absorvidos e podem interferir no metabolismo dos lipídeos e/ou alterar a absorção do colesterol e de ácidos biliares, possuindo, assim, efeito hipocolesterolêmico. A Tabela 2 mostra a fermentabilidade das principais fontes de fibras dietéticas.

Segundo Cummings & Branch (1986), um dos principais resultados da fermentação é a formação de ácidos graxos voláteis (VFA) e a concentração desses ácidos nas fezes é significativamente afetada pelo tipo de fibra. Conforme os autores, a celulose proporcionou menores concentrações e a pectina produziu altos níveis de VFA. Parte do butirato é metabolizado pela mucosa do intestino grosso e o restante desse ácido e do propionato são enviados ao fígado, enquanto que o acetato é metabolizado pelos tecidos

---

[6] FERNANDEZ, M.L. et al. Prickly pear (*Opuntia sp.*) pectin revers low density lipoprotein receptor suppression induced by a hypercholesterolemic diet in guinea pigs. **J. Nutr.** 122: 2330-2340, 1992.

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

[8] REDDY, B.S. et al. Effect of dietary wheat bran, alfalfa, pectin and carrageenan on plasma cholesterol and fecal bile acid and neutral sterol excretion in rats. **J. Nutr**. 110: 1247-1254, 1980.

periféricos. A partir desses resultados, os autores verificaram que a produção de VFA contribue com aproximadamente 5% do valor calórico total (VCT) consumido nas 24 horas do dia. Essa porcentagem também varia em função da quantidade de fibras solúveis presentes na dieta.

Tabela 2. Fermentabilidade de fibras solúveis.

Fonte	Fermentabilidade (%)
Goma arábica	71
Agar	21 a 28
Carragenas	9 a 16
Pectinas	70 a 85
Guar	76

Fonte: Dreher ,(1987).

As pectinas estão presentes nos alimentos humanos há mais de 40.000 anos. Segundo FAO (1969), a pectina é considerada um aditivo seguro, sem ADI específico, desde que tenha uma boa prática de manufatura. São utilizadas na indústria de alimentos como agente geleificante, espessante, texturizante, emulsificante e estabilizante. Também é utilizada como substituta das gorduras e de açúcar em alimentos "diet" ou "light", em cremes vegetais, sorvetes, produtos de panificação e derivados de queijo (Hauksson & Hedetoft,1996).

2.5 Principais mecanismos de ação hipolipidêmica das fibras dietáticas

As fibras não possuem as mesmas funções no organismo. As solúveis têm propriedades e efeitos diferentes das insolúveis em água. Por não possuírem propriedades nutricionais, em termos de calorias totais, o valor das fibras foi esquecido por algum tempo. Nas últimas décadas tem havido um novo interesse nas fibras, em função do seu valor profilático nas enfermidades crônico-degenerativas não transmissíveis, como as doenças coronárias.

O efeito hipolipidêmico das fibras pode ser atribuído a suas propriedades e características físico-químicas e a sua ação no trato gastrointestinal. As suas principais propriedades físicas e químicas são a capacidade de absorver água, a solubilidade, a capacidade de adsorção com outras substâncias e a degradabilidade (Anderson et al., 1990a).

A viscosidade e a capacidade de formar géis das fibras dietéticas determinam a sua solubilidade. Segundo Schneeman, (1986), essa propriedade pode alterar a motilidade intestinal e diminuir a mistura de nutrientes com as enzimas digestivas. Também pode interferir na digestão e na absorção dos lipídeos dietéticos e/ou aumentar a excreção fecal dos ácidos biliares e dos esteróis neutros, agindo como seqüestrantes dos ácidos biliares. A excreção dos sais biliares deve-se a capacidade de adsorção das fibras com diversas moléculas orgânicas (Kay & Truswell, 1977). Após a ingestão de fibras solúveis ocorre um aumento de esteróis e ácidos biliares na excreção fecal (Schneeman, 1986).

Ratos alimentados com fibras solúveis, utilizando pectina e "psyllium" (*Plantago ovata*), apresentaram maior atividade da enzima colesterol 7 α-hidroxilase (EC 1.14.13.17), responsável pela biossíntese de ácidos biliares no fígado, do que os alimentados com fibras insolúveis ou parcialmente solúveis, utilizando celulose ou farelo de aveia. Esse aumento no "pool" dos ácidos biliares deve-se ao aumento no catabolismo do colesterol para conversão em

ácidos biliares (Matheson et al., 1995). A regulação da homeostase do colesterol corporal pode ser atribuído ao aumento da biossíntese do colesterol hepático em resposta às fibras solúveis (Arjmandi et al., 1992).

De um forma geral, os principais mecanismos hipolipidêmicos das fibras dietéticas são: a) modificar o conteúdo de sais biliares e interferir na absorção e metabolismo dos lipídeos; b) produzir VFA, a partir das fibras solúveis em água, e alterar a biossíntese do colesterol e c) alterar a concentração de hormônios como a insulina, o glucagon e outros, em resposta à ingestão de fibras (Anderson et al., 1990b).

Como já visto anteriormente, as fibras solúveis podem ser parcial ou completamente fermentadas por bactérias do cólon. A produção de VFA pode interferir na biossíntese e metabolismo hepático de colesterol. Segundo Anderson & Chen (1979), os ácidos graxos, principalmente o propionato, podem contribuir para o efeito hipocolesterolêmico e interferir no metabolismo do colesterol no fígado. Já para Arjmandi et al. (1992), a produção dos VFA não foi responsável pela inibição da biossíntese e, portanto, na redução dos níveis séricos de colesterol.

Uma alimentação rica em fibras pode melhorar o quadro clínico geral de pacientes portadores de alguma doença crônico-degenerativa não contagiosa. Segundo Jenkins et al. (1983), dietas ricas em fibras diminuem o requerimento de insulina. Assim, baixas concentrações de insulina podem reduzir a síntese de colesterol e ácidos graxos. Esse tipo de alimentação, ainda produz maior saciedade, resultando em menor ingestão calórica e assim prevenindo doenças como a obesidade (Duncan et al., 1983).

2.6 Ação da pectina no metabolismo lipídico

De acordo com Thakur et al. (1997), vários estudos, realizados com humanos e animais, mostram que as pectinas auxiliam na redução dos níveis de colesterol sérico. Um consumo mínimo de 6 g/dia foi necessário para produzir um efeito significativo na redução do colesterol e valores inferiores a este não se mostraram efetivos. Em tratamentos com duração de 2 semanas houve redução de 13% dos níveis de colesterol sérico. Em alguns pacientes com risco de doenças cardíacas, a suplementação da dieta normal com pectina reduziu em 7,6% os níveis plasmáticos de colesterol. A ingestão de pectina provinda de "prickly pear" (*Opuntia spp*) diminuiu os níveis da fração LDL-colesterol e afetou a absorção dos lipídeos em porquinhos-da-índia, alterando a homeostase do colesterol hepático. Os resultados de alguns experimentos mostraram que ocorreu um prolongamento do esvaziamento gástrico, de 23 para 50 minutos, nas refeições suplementadas com pectina. Estudos em humanos e animais ileostomisados mostraram que a hidrólise da pectina ocorre principalmente no cólon, por ação das bactérias.

Em experimento realizado com porquinhos-da-índia, Fernandez et al. (1994), verificaram que a pectina cítrica produziu efeito mais significativo quando a dieta dos animais era hiperlipídica e com grandes quantidades de ácidos graxos saturados. Os autores também observaram que houve efeito mais significativo com altas doses de pectina, sendo os melhores resultados obtidos com concentrações de 12,5% dessa fibra.

Judd & Truswell (1982) estudaram o efeito da adição de 15 g de LMP e de HMP na dieta habitual de 10 pessoas jovens, adultas e sadias. Observaram que os níveis séricos do colesterol diminuiram em 16 e 18%, respectivamente, com a utilização de LMP e HMP. Os níveis da fração HDL e de triglicerídeos não tiveram alterações. Os autores concluiram que essa redução nos níveis séricos de colesterol não apresentou diferença significativa para os dois tipos de pectina.

No entanto Judd & Truswell (1985), em experimento realizado com ratos, observaram que a HMP foi mais efetiva do que a LMP na redução dos níveis séricos de colesterol.

Segundo Glore et al. (1994), em sua revisão bibliográfica sobre a influência de algumas fibras solúveis no metabolismo lipídico, descreveram que os efeitos hipolipidêmicos dependem do tipo de dieta e das quantidades de fibras consumidas. Os autores concluíram que a pectina apresenta um potencial para reduzir os níveis séricos de lipídeos. Os efeitos mais satisfatórios podem ser conseguidos com um consumo diário de 6 a 40 g, dependendo da dieta ingerida e da resposta do organismo

2.7 Fibras e uréia

O nível sérico de uréia é um importante parâmetro indicador das funções do fígado e dos rins. Os principais fatores que podem alterar os valores séricos da uréia são: nefrites, obstrução intestinal ou urinária, pneumonia, envenenamento por metais, síndrome de Addison, choque cirúrgico, diabetes e doenças cardíacas.

A redução nos níveis plasmáticos do catabólito uréia ocorre quando os aminoácidos da dieta são utilizados corretamente na biossíntese das proteínas corporais e quando não há aminoácidos em excesso para sofrerem degradação oxidativa e serem utilizados na produção de energia. As fibras fazem com que a proteína seja utilizada de maneira correta e assim, promovem uma redução dos níveis séricos de uréia (metabólito tóxico) no sangue.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local do experimento

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Experimental do Departamento de Economia Doméstica da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP), no período de março a dezembro de 1997.

3.2. Matéria prima

Utilizou-se como fontes de fibra solúvel e insolúvel, respectivamente, pectina cítrica, de alta (HMP) e de baixa (LMP) metoxilação, e celulose microcristalina. As pectinas foram fornecidas pela Empresa Citrus Colloids S/A, cujo nome comercial é Braspectina. A celulose (Avicel) foi adquirida da empresa Merck.

3.3 Análises química e física das pectinas

As pectinas foram analisadas com o objetivo de avaliar o seu grau de pureza. Realizaram-se as seguintes determinações:

3.3.1. Umidade, cinzas e proteína bruta

Os teores de umidade, cinzas e proteína bruta foram determinados de acordo com a metodologia recomendada pela AOAC (1975). Para obtenção do teor de proteína, o valor do nitrogênio total obtido pelo método micro Kjeldahl, foi multiplicado pelo fator 6,25.

3.3.2 Lipídeos totais

Os valores médios de lipídeos totais foram obtidos de acordo com a metodologia apresentada por Bligh & Dyer (1959).

3.3.3 Fibra dietética

O procedimento para determinação dos teores de fibra dietética total baseou-se na metodologia apresentada pela AOAC (1990), que utiliza uma combinação dos métodos enzimáticos e gravimétricos.

3.3.4 Granulometria

A granulometria das pectinas foi determinada através de análise física, utilizando o equipamento Granutest com peneiras de 48, 60, 80 e 100 mesh. A quantidade de amostra peneirada foi de 100 g. Após 30 minutos, o conteúdo das peneiras foi pesado e a porcentagem de retenção calculada.

3.4. Primeiro Ensaio Biológico

O primeiro ensaio biológico teve duração de 30 dias e foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de várias concentrações das pectinas HMP e LMP e de celulose no controle dos níveis de colesterol e triglicerídeos séricos. Também foi avaliada a influência das duas pectinas nos níveis plasmáticos das frações de colesterol HDL e LDL.

3.4.1 Preparo das dietas

As dietas foram preparadas conforme determinação da AOAC (1975), nos níveis de 5, 10, 15 e 20% de pectina (HMP e LMP) e de celulose. Também foi elaborada uma dieta sem adição de fibra (controle ou padrão), utilizada como testemunha. Todos os tratamentos tiveram adição de banha de porco, adquirida junto à empresa Sadia, e foram consideradas hiperlipidêmicas.

A adição das fibras foi em detrimento do amido, cuja fonte foi o produto comercial "Maizena" . A caseína foi utilizada como fonte proteica.

A Tabela 3 apresenta a composição das treze dietas avaliadas. Semanalmente foram elaboradas 2 kg de cada dieta. Após o preparo, as mesmas foram embaladas em sacos plásticos, etiquetadas e mantidas sob refrigeração entre 5 a 8°C.

Tabela 3. Composição (g/100g) das dietas controle e suplementadas com HMP, LMP e celulose.

Componente	Dieta												
	1[1]	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Caseína	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15.0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Banha porco	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Óleo de milho	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Mist. mineral	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mist. vitamina.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
HM (pectina)	0,0	5,0	10,0	15,0	20,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
LM (pectina)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	10,0	15,0	20,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Celulose	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	10,0	15,0	20,0
Amido	70,5	65,5	60,5	55,5	50,5	65,5	60,5	55,5	50,5	65,5	60,5	55,5	50,5

[1]Dieta controle

3.4.2 Animais Utilizados

Utilizaram-se ratos machos e adultos (*Rattus norvegicus* var. albinos), da linhagem Wistar, obtidos de cruzamentos sucessivos do biotério do Departamento de Economia Doméstica da ESALQ/USP. Os animais apresentavam peso corporal entre 200 a 250 g e idade média de 15 semanas. Foram utilizados 90 animais selecionados ao acaso, dos quais seis foram sacrificados no início do experimento, após jejum de 12 horas. O sangue desses animais foi coletado pela técnica de punção cardíaca, e os resultados das análises realizadas foram denominados de inicial. Os demais ratos foram divididos em 13 grupos de seis para a avaliação das dietas. Os animais permaneceram em gaiolas individuais, em ambiente com temperatura entre 22 a 23^{0}C. A iluminação ambiental foi controlada para 12 horas de luz e 12 horas

de obscuridade. Os animais receberam alimentos e água "ad libitum", sendo o peso corporal e o consumo da dieta registrados semanalmente.

3.4.3 Coleta e análise bioquímica do sangue

O sangue dos animais foi coletado após jejum de 12 horas. Para determinação do colesterol aos 15 dias (COL 15), o sangue foi retirado da extremidade da cauda. Na análise do colesterol aos 30 dias (COL 30), dos níveis de triglicerídeos (TRIG) e de uréia, os animais foram sacrificados e o sangue retirado pela técnica de punção cardíaca. O sangue foi analisado logo após a coleta.

O conteúdo plasmático de colesterol total, triglicerídeos, uréia e HDL-colesterol foi quantificado por teste enzimático colorimétrico, empregando-se os kits da indústria química clínica BIO-DIAGNÓSTICA Ltda (Colesterol BD 301; triglicerídeos BD 510-S e uréia BD 201). Os métodos utilizados para determinação do colesterol total e HDL-colesterol seguem os procedimentos descritos por Allain et al (1974). Os de triglicerídeos e uréia seguem, respectivamente, os descritos por Wieland (1974) e Tabacco et al (1979). A determinação da glicemia foi através do aparelho glucometer da ENCORE e os níveis plasmáticos de LDL-colesterol, pela fórmula de Friedewald et al. (1972):

$$\text{LDL colesterol} = \text{colesterol total} - \frac{\text{triglicerídeo}}{5} - \text{HDL colesterol} \qquad (1)$$

3.5 Segundo ensaio biológico

No segundo ensaio utilizaram-se 72 animais, ou seja, 4 grupos de 18. Os tratamentos foram definidos com base nos resultados mais satisfatórios do

primeiro ensaio, ou seja, todos as dietas com HMP. Para isso foram avaliadas as dietas de 1 a 4, de acordo com a Tabela 3. Os animais foram mantidos em gaiolas por 45, 60 e 90 dias, com água e alimento "ad libitum", seguindo o mesmo procedimento do primeiro ensaio. Após 45 dias, seis animais de cada grupo foram sacrificados, e realizadas coletas de sangue e análises bioquímicas, conforme a metodologia apresentada no item 3.4.3. Os mesmos procedimentos foram realizados aos 60 e 90 dias. A avaliação até aos 90 dias pode ser justificada por haver um risco de reversão do efeito da pectina nas concentrações plasmáticas dos elementos analisados.

3.6 Análise Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, tendo cada tratamento seis repetições, conforme metodologia descrita por Pimentel Gomes (1982). Os tratamentos foram comparados pelo teste F da análise de variância e teste de Tukey, utilizando-se os programas estatísticos SAEG da Universidade Federal de Viçosa (1992).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das pectinas

4.1.1 Composição química

Os resultados da composição centesimal para umidade, proteína, cinzas, extrato etéreo e fibra dietética das pectinas estão apresentados na Tabela 4.

Os conteúdos de umidade e lipídeos podem ser considerados semelhantes nas duas pectinas analisadas. A LMP apresentou níveis maiores de proteína e de cinzas, enquanto que a HMP apresentou níveis superiores de fibra dietética.

Tabela 4. Composição química (g/100g) das pectinas HMP e LMP

Componentes[1]	HMP	LMP
Umidade	6,1	6,8
Proteína	7,0	19,8
Cinzas	0,3	3,4
Lipídeos	0,2	0,2
Fibra dietética	82,2	67,6
Não determinado	4,2	2,2

[1] Média de três repetições

4.1.2 Granulometria

A Tabela 5 apresenta os resultados da granulometria das pectinas HMP e LMP. O material analisado era constituído, basicamente, de partículas de pequeno tamanho. Tanto a HMP como a LMP, apresentaram uma pequena proporção de partículas de tamanho médio e grande.

Os resultados deste teste físico foram satisfatórios, uma vez que fibras constituídas de partículas pequenas apresentam maior capacidade de ligarem-se à ácidos biliares. A ingestão dessas fibras também produz menor volume fecal quando comparado com a de fibras constituídas de partículas maiores, indicando uma maior fermentação pelas bactérias (Dreher, 1987).

Tabela 5. Granulometria das pectinas HMP e LMP

Mesh	**Retenção (g/100g)**	
	HMP	**LMP**
48	0,1	0,2
60	0,1	0,1
80	0,2	0,3
100	0,6	8,3

4.1.3 Grau de metoxilação

De acordo com a empresa fabricante as pectinas HMP e LMP utilizadas nos ensaios possuíam, respectivamente, grau de metoxilação de 63,5 e menos de 25,0 %. A maioria dos trabalhos para avaliação do efeito hipolipidêmico utilizam a HMP. No entanto, Judd & Truswell (1982), testando voluntários humanos, também obtiveram resultados satisfatórios com a LMP.

4.2 Primeiro ensaio biológico

4.2.1 Análises bioquímicas

A Tabela 6 apresenta o efeito dos tratamentos nos níveis séricos de colesterol total, aos 15 e 30 dias, e de triglicerídeos e uréia, aos 30 dias de experimento.

Tabela 6. Concentração plasmática de colesterol aos 15 dias (COL 15) e aos 30 dias (COL 30) e de triglicerídeos (TRIG) e uréia aos 30 dias em animais tratados com as dietas experimentais.

Dietas Experimentais	Concentração Plasmática (mg/dl)			
	COL 15	COL 30	TRIG	URÉIA
Controle[1]	82,21[2]±1,4[a3]	80,47±1,2[a]	81,99±1,7[a]	48,38±1,3[a]
5% de HMP	71,29±1,2[de]	65,41±1,2[e]	74,75±1,4[ef]	41,62±1,3[d]
10% de HMP	70,31±1,7[e]	62,62±1,2[f]	72,73±1,3[fg]	38,82±1,2[e]
15% de HMP	70,03±1,4[e]	61,79±1,2[f]	71,89±1,2[g]	37,94±1,2[e]
5% de LMP	74,09±1,2[c]	70,99±1,0[d]	77,78±1,4[cd]	46,32±0,9[abc]
10% de LMP	73,39±1,4[cd]	69,87±0,9[d]	77,27±1,1[de]	45,88±1,2[bc]
15%de LMP	72,42±1,4[cde]	68,96±0,9[d]	74,54±1,3[efg]	43,94±1,1[cd]
5% de Celulose	80,53±1,2[ab]	78,52±1,2[ab]	81,48±1,6[ab]	48,38±1,3[a]
10% de Celulose	79,34±1,0[b]	77,84±1,3[bc]	80,20±1,1[abc]	46,76±1,3[ab]
15% de Celulose	79,41±1,6[b]	76,01±1,2[c]	78,79±1,6[bcd]	44,12±1,2[c]

[1] Sem adição de fibra;
[2] Média ± desvio padrão de seis animais por tratamento, (exceto 15% de LMP e 10% de celulose, com cinco);
[3] Médias com letra(s) diferente(s) na vertical diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

Praticamente todos os tratamentos produziram efeito nos níveis séricos de colesterol, triglicerídeos e uréia. O melhor efeito foi observado nos níveis 10 e 15% de HMP. As dietas com 5% de HMP e com 10 e 15% de LMP não produziram diferenças significativas no controle do colesterol total aos 15 dias e nos níveis séricos de triglicerídeos. Aos 30 dias, a dieta com 5% de HMP proporcionou um controle mais efetivo do colesterol sérico do que os tratamentos com 10 e 15% de LMP.

O tratamento com 5% de celulose não proporcionou diferença significativa em relação à dieta padrão ou controle. Os tratamentos com 10 e 15% reduziram os níveis de colesterol e o com 15% também diminuiram os níveis plasmáticos de triglicerídeos. Porém, em relação aos tratamentos com HMP e LMP, o efeito da celulose foi bem menos significativo. Os resultados obtidos com as dietas com 5% de celulose estão de acordo com Bell et al. (1989). Segundo essee autores, muitas vezes a celulose pode ser utilizada como placebo, pois não apresenta efeito significativo nos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos. No entanto, nas concentrações de 10 e 15%, os resultados foram diferentes dos obtidos pelos autores, o que pode ser atribuído aos baixos níveis de celulose (inferiores a 10%) que os mesmos utilizaram.

De maneira geral, os tratamentos com HMP foram mais efetivos do que os com LMP e confirmam estudos anteriores que mostram a importância do grau de metoxilação das fibras (Judd & Truswell, 1985). Os resultados também estão de acordo com Jackson et al. (1994) que consideram que as fibras solúveis possuem efeito mais significativo do que as insolúveis em água no controle das hiperlipidemias.

Os tratamentos com 5 e 10% de celulose e 5% de LMP, em relação à dieta controle, não diminuiram os níveis séricos de uréia, enquanto que as dietas com 10 e 15% de LMP e com 15% de celulose proporcionaram redução. Não houve diferença estatística entre as dietas com 5% de HMP e 15% de LMP, sendo o resultado mais efetivo no controle dos níveis plasmáticos de uréia proporcionado pelos tratamentos com 10 e 15% de HMP. Segundo

Krause & Mahan (1991), pacientes hiperlipidêmicos também possuem alterações no metabolismo das proteínas onde a uréia é o principal produto eliminado do seu catabolismo. Com a ingestão de dietas ricas em fibras, há redução da uremia o que, normalmente, é um indicativo da maior eficiência do metabolismo proteico. Porém, poucos trabalhos foram desenvolvidos correlacionando esses dois fatores.

Na Tabela 7, está apresentado o efeito das pectinas HMP e LMP nos níveis séricos de HDL e LDL-colesterol.

Os níveis de HDL, praticamente não se modificaram com o aumento das concentrações de pectina. As dietas controle e com 5% de HMP não diferiram estatisticamente, enquanto as demais produziram um aumento significativo nos níveis séricos.

Tabela 7. Concentração plasmática de HDL-colesterol e LDL-colesterol aos 30 dias em animais tratados com as dietas experimentais

Dietas Experimentais	HDL-colesterol	LDL-colesterol
Controle[1]	20,40[2]± 1,1[a3]	42,86 ±3,3[b]
5% de HMP	25,5 ±2,8[a]	38,45± 4,6[ab]
10% de HMP	28,00± 3,5[b]	29,00 ±4,8[a]
15% de HMP	27,50 ±2,6[b]	24,86± 2,7[a]
5% de LMP	26,00± 4,6[b]	29,43 ±4,1[ab]
10% de LMP	25,00± 4,3[b]	29,41± 4,0[ab]
15% de LMP	27,50± 4,5[b]	26,20 ±4,2[a]

[1] Sem adição de fibra;
[2] Média ± desvio padrão de seis animais por tratamento, (exceto controle, com cinco);
[3] Médias com letra(s) diferente(s) na vertical diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

As concentrações plasmáticas da fração LDL-colesterol foram reduzidas em todos os tratamentos, menos no controle. Porém, as dietas com 10 e 15% de HMP e com 15% de LMP foram mais significativas. Isso ocorreu, provavelmente, devido à redução dos níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos e pela elevação dos índices de HDL, proporcionados pelas dietas.

As pectinas elevaram os níveis de HDL e reduziram a fração LDL-colesterol. Segundo Anderson et al. (1990b), este comportamento é benéfico, pois promove a remoção do colesterol presente nos tecidos e na parede arterial, levando-o ao fígado para catabolismo e excreção, reduzindo, assim, os riscos de doenças cardiovasculares.

Com base nesses resultados, concluiu-se que a pectina pode ser considerada positiva quando incluída na dieta habitual de pacientes hiperlipidêmicos. No entanto, não se pode extrapolar esse efeito para seres humanos, uma vez que o ensaio foi realizado com animais.

4.2.2 Ganho de peso e ingestão alimentar

De maneira geral, houve redução no ganho de peso dos animais com o aumento dos níveis de HMP, LMP e celulose. Pode-se observar também que a dieta padrão foi o tratamento que proporcionou o maior ganho de peso nos animais (Figura 1). A ingestão alimentar dos animais foi maior com as dietas de celulose do que com as demais (Figura 2). Esse comportamento pode ser atribuído ao caráter hidrofílico de certas fibras, como as pectinas e as gomas, que fazem com que a taxa de esvaziamento gástrico seja mais lenta, aumentando a saciedade e, consequentemente, reduzindo a ingestão de alimentos.

O menor ganho de peso também pode ser atribuído às concentrações elevadas de fibras dietéticas na alimentação, que proporcionaram uma barreira física na absorção dos nutrientes e aumentaram a excreção fecal (Krotkiewski,

1984). Além disso, o valor calórico total das dietas, em função do aumento das concentrações de fibras, foi inferior à dieta padrão, o que reduziu a energia metabolizável (Blackburn & Johnson, 1981), apesar das fibras solúveis contribuirem com o valor calórico total da dieta (Cummings & Branch, 1986).

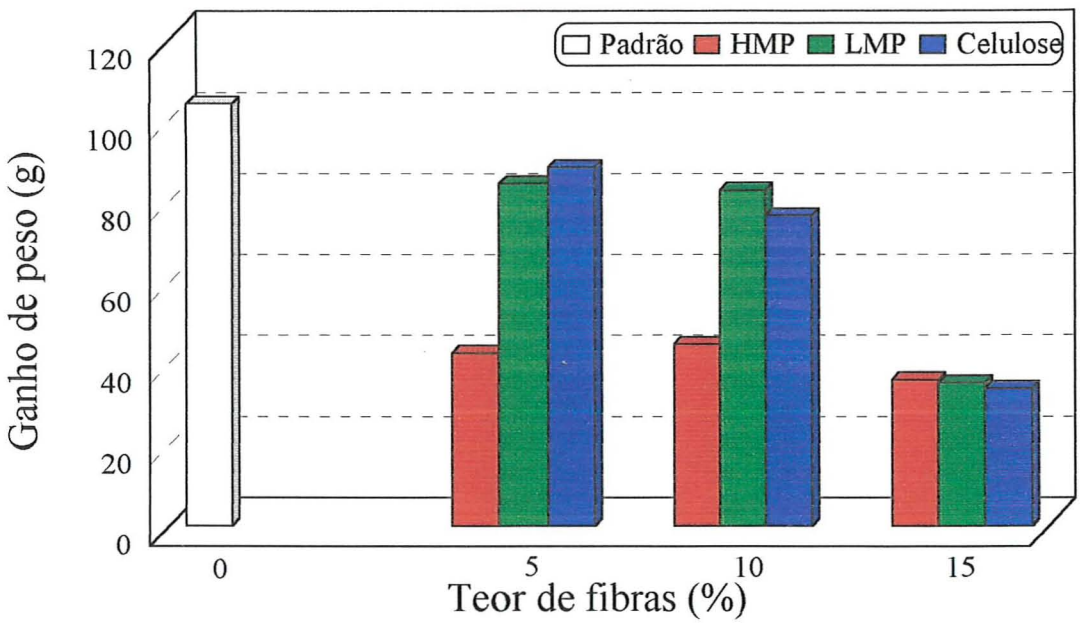

Figura 1. Ganho de peso dos animais proporcionado pelas dietas no primeiro ensaio biológico.

Apesar da pectina não possuir ADI (Ingestão diária aceitável) específica, verificou-se que as dietas com concentrações de 20% de pectina e de celulose proporcionaram diarréia e redução no peso de todos animais e causaram a morte de alguns. Portanto, esse tratamento não foi avaliado, por não haver justificativa de sua utilização. Esse efeito pode ser atribuído ao consumo excessivo de fibras que provoca um complexo com os nutrientes e, dessa forma, impede a plena digestão e absorção, bem como acarreta outros distúrbios abdominais (Mahan & Arlin, 1995).

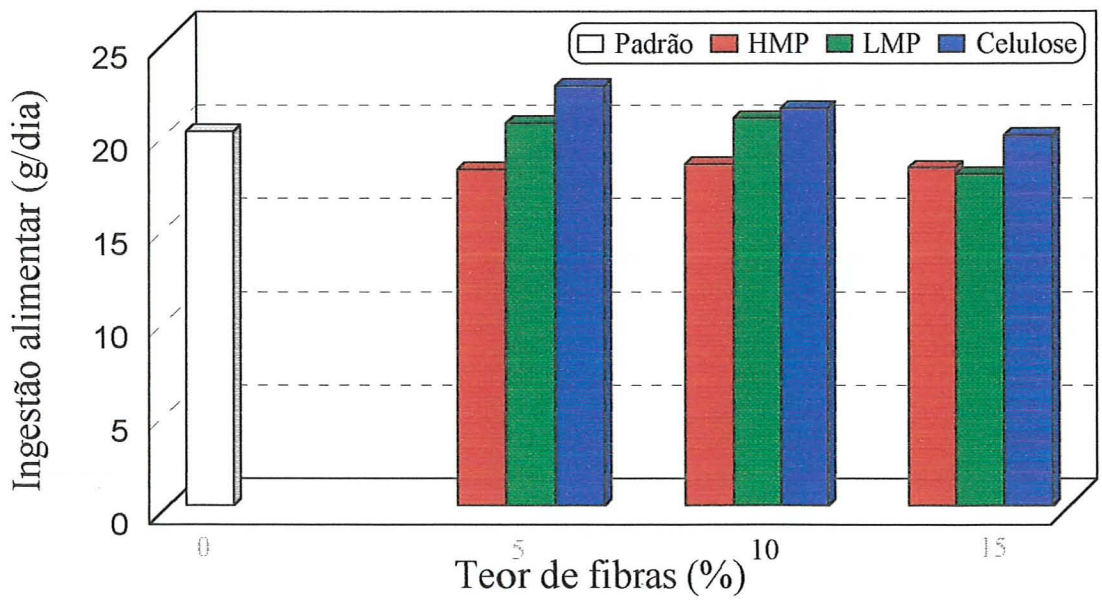

Figura 2. Ingestão alimentar dos animais proporcionado pelas dietas no primeiro ensaio biológico.

4.3 Segundo ensaio biológico

A maioria dos ensaios biológicos que avaliam pectinas em animais têm duração de até 30 dias e utilizam concentrações inferiores a 10%. No entanto, Glore et al. (1994) descreveram trabalhos em que as maiores reduções dos níveis plasmáticos dos lipídeos ocorreram quando foram utilizadas doses de pectina superiores a 10% em ensaios com mais de 30 dias de duração. Além disso, pode ocorrer reversão do efeito da pectina nos níveis séricos dos lipídeos. Por esses motivos, optou-se em avaliar o efeito da HMP até aos 90 dias. Os tratamentos foram definidos com base nos resultados mais satisfatórios do primeiro experimento. Também foram avaliados os níveis séricos de glicose e uréia, como uma forma de complementação dos resultados.

4.3.1 Análises bioquímicas

Nas Tabelas 8, 9 e 10 pode-se observar o efeito das dietas experimentais nos níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos, uréia, HDL, LDL-colesterol e glicose aos 45, 60 e 90 dias de tratamento.

De maneira geral, os tratamentos apresentaram comportamento diferenciado. A dieta controle, hiperlipidêmica e isenta de fibras dietéticas, elevou os níveis séricos de todos elementos analisados, exceto do HDL-colesterol, onde houve redução.

As dietas com 5, 10 e 15% de HMP produziram diferenças significativas nos níveis séricos de colesterol total. Aos 45 e 60 dias de experimento, os níveis séricos diminuiram com o aumento das concentrações. Aos 90 dias também houve redução, mas a diferença proporcionada pelas concentrações 10 e 15% de HMP não foi significativa. Esses resultados estão de acordo com

Thakur et al. (1997), que observaram que a pectina reduz os níveis plasmáticos de colesterol total.

Tabela 8. Concentração plasmática de colesterol total, triglicerídeos, uréia, HDL-colesterol, LDL-colesterol e glicose aos 45 dias em animais tratados com as dietas experimentais.

Concentração Plasmática	Dietas Experimentais			
(mg/dl)	Controle	5% HMP	10% HMP	15% HMP
Colesterol total	80,48[1]±1,2[a2]	75,20±2,2[b]	69,10±1,4[c]	61,98±2,4[d]
Triglicerídeos	81,96±1,7[a]	56,45±2,1[b]	52,00±2,1[c]	48,38±1,6[d]
Uréia	48,36±1,3[a]	42,56±1,5[b]	38,63±1,6[c]	35,75±1,2[d]
HDL-colesterol	21,50±1,9[b]	25,5±2,9[ab]	28,00±3,5[a]	27,50±2,6[a]
LDL-colesterol	42,56±2,9[a]	38,41±4,6[a]	30,66±2,4[b]	24,83±2,5[c]
Glicose	137,66±7,2[a]	134,16±6,9[a]	120,40±2,6[b]	119,66±4,7[b]

[1] Média ± desvio padrão de seis animais por tratamento (exceto 15% de LMP e 10% de celulose, com cinco);
[2] Médias com letra(s) diferente(s) na horizontal diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

Todas as dietas com HMP, e nas três determinações realizadas, proporcionaram redução significativa nos níveis séricos de triglicerídeos. Portanto, esses resultados indicam a possibilidade da pectina ser benéfica no tratamento de pacientes com hipertrigliceremia. No entanto, esses resultados diferem dos obtidos por Judd & Truswell (1985), que observaram não haver mudanças nos níveis de triglicerídeos com a ingestão de pectina.

Tabela 9. Concentração plasmática de colesterol total, triglicerídeos, uréia, HDL-colesterol, LDL-colesterol e glicose aos 60 dias em animais tratados com as dietas experimentais.

Concentração Plasmática (mg/dl)	Dietas Experimentais			
	Controle	5% HMP	10% HMP	15% HMP
Colesterol total	86,70[1]±2,1[a2]	69,70±1,8[b]	62,96±1,2[c]	59,91±1,2[d]
Triglicerídeos	83,50±1,3[a]	60,68±1,6[b]	56,55±1,7[c]	52,25±1,4[d]
Uréia	54,56±1,1[a]	39,18±1,4[b]	35,33±1,4[c]	31,21±1,4[d]
HDL-colesterol	21,16±1,5[b]	26,8±4,7[ab]	28,00±2,9[a]	27,83±5,0[a]
LDL-colesterol	41,46±1,4[a]	29,88±4,6[b]	23,63±3,1[c]	21,66±5,7[c]
Glicose	143,0±6,2[a]	127,66±6,5[b]	124,83±4,7[b]	119,83±3,8[b]

[1] Média ± desvio padrão de seis animais por tratamento, (exceto 10% de HMP, com cinco);
[2] Médias com letra(s) diferente(s) na horizontal diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

Houve redução dos níveis séricos de uréia com o aumento das concentrações de HMP. Porém, aos 90 dias de experimento as dietas com 5 e 10% não proporcionaram diferenças significativas entre si e as com 10 e 15% produziram o mesmo efeito. Assim como no primeiro ensaio, com a redução da uremia pode-se observar que houve maior eficiência do metabolismo proteico na presença de pectina.

As dietas controle e com 5% de HMP não proporcionaram diferenças significativas na fração HDL aos 45 e 60 dias. Nessas duas épocas de avaliação os tratamentos com 10 e 15% de HMP produziram um aumento significativo dessa fração. Aos 90 dias todas as dietas com HMP aumentaram a fração do HDL-colesterol, inclusive a de 5%. Esse comportamento indica a influência do tempo de experimento nos níveis séricos dos elementos avaliados.

O tratamento com 5% de HMP aos 45 dias não reduziu os níveis de LDL-colesterol. Porém, aos 60 e 90 dias proporcionou efeito estatisticamente

diferente da dieta controle. As dietas com 10 e 15% reduziram os níveis de LDL nas três épocas de avaliação do experimento. Segundo Anderson et al. (1990b), a redução dos níveis séricos da fração LDL deve-se ao aumento da ingestão de fibras solúveis, que aumenta a fermentação e produção de VFA, cujo mecanismo, indiretamente, reduz a síntese dessa fração.

A dieta controle e a com 5% de HMP não produziram diferenças nas concentrações plasmáticas de glicose aos 45 dias. Nas demais épocas de avaliação, todas as dietas com HMP reduziram os níveis de glicose, sem no entanto, diferir estatisticamente. Esses resultados podem ser justificados pelo fato de dietas ricas em fibras, geralmente, reduzirem a necessidade de insulina e a concentração plasmática de glicose, tanto em pessoas diabéticas como não. Esse comportamento deve-se, principalmente, à reduções da taxa de esvaziamento gástrico, de tempo de trânsito intestinal e de absorção dos carboidratos. Além disso, baixas concentrações de insulina também podem reduzir a síntese de colesterol e de ácidos graxos (Jenkins et al., 1983).

Tabela 10. Concentração plasmática de colesterol total, triglicerídeos, uréia, HDL-colesterol, LDL-colesterol e glicose aos 90 dias em animais tratados com as dietas experimentais.

Concentração Plasmática	Dietas Experimentais			
(mg/dl)	Controle	5% HMP	10% HMP	15% HMP
Colesterol total	92,91[1]±1,7[a2]	61,01±1,6[b]	56,60±1,4[c]	55,06±2,0[c]
Triglicerídeos	86,50±2,1[a]	52,70±2,5[b]	47,70±1,5[c]	43,86±1,5[d]
Uréia	59,20±2,1[a]	36,11±1,7[b]	33,14±1,4[bc]	31,03±1,5[c]
HDL-colesterol	21,16±1,5[b]	27,50±4,1[a]	27,40±3,7[a]	26,50±2,1[a]
LDL-colesterol	54,43±0,8[a]	22,96±4,1[b]	19,70±4,0[b]	19,76±3,6[b]
Glicose	148,50±7,0[a]	120,00±4,1[b]	117,60±2,3[b]	111,83±9,8[b]

[1] Média ± desvio padrão de seis animais por tratamento, (exceto 10% de HMP, com cinco);
[2] Médias com letra(s) diferente(s) na horizontal diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

De maneira geral, observou-se modificações nos níveis plasmáticos com o aumento das concentrações de pectina nas dietas. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Hunnighake et al. (1994), que avaliaram o efeito de algumas fibras solúveis em pacientes hipercolesterolêmicos. Os autores constataram que o efeito foi mais significativo com o aumento do consumo de fibras e que a suplementação da dieta convencional com pectina ou goma guar, pode ser uma forma segura de garantir a ingestão diária adequada de fibras e, assim, melhorar a saúde.

Os efeitos das dietas, em função do tempo de experimento, podem ser visualizados nas Figuras 3 a 8. Nessas figuras estão os resultados dos níveis séricos de colesterol, triglicerídeos, LDL-colesterol, HDL-colesterol, glicose e uréia no tempo inicial (cujas amostras foram obtidos de animais sacrificados no início do experimento e sem nenhum tratamento) e aos 45, 60 e 90 dias.

Nas três épocas avaliadas, todos os tratamentos com HMP proporcionaram diferenças significativas em relação à dieta controle. Assim, verificou-se que a duração do experimento influenciou os resultados, o que pode ser atribuído ao fato do organismo necessitar de um tempo para adaptar-se às fibras (Cassidy et al., 1982). Além disso, a utilização de fibras em tempos e concentrações maiores pode alterar a morfologia celular do intestino delgado e proporcionar a proliferação de bactérias ceco-colônicas.

Utilizou-se a expressão controle para as dietas que, em relação aos níveis iniciais, diminuiram os níveis plasmáticos dos elementos analisados. A redução foi utilizada para quando foram obtidas concentrações plasmáticas iguais ou menores do que daqueles dos ratos normais.

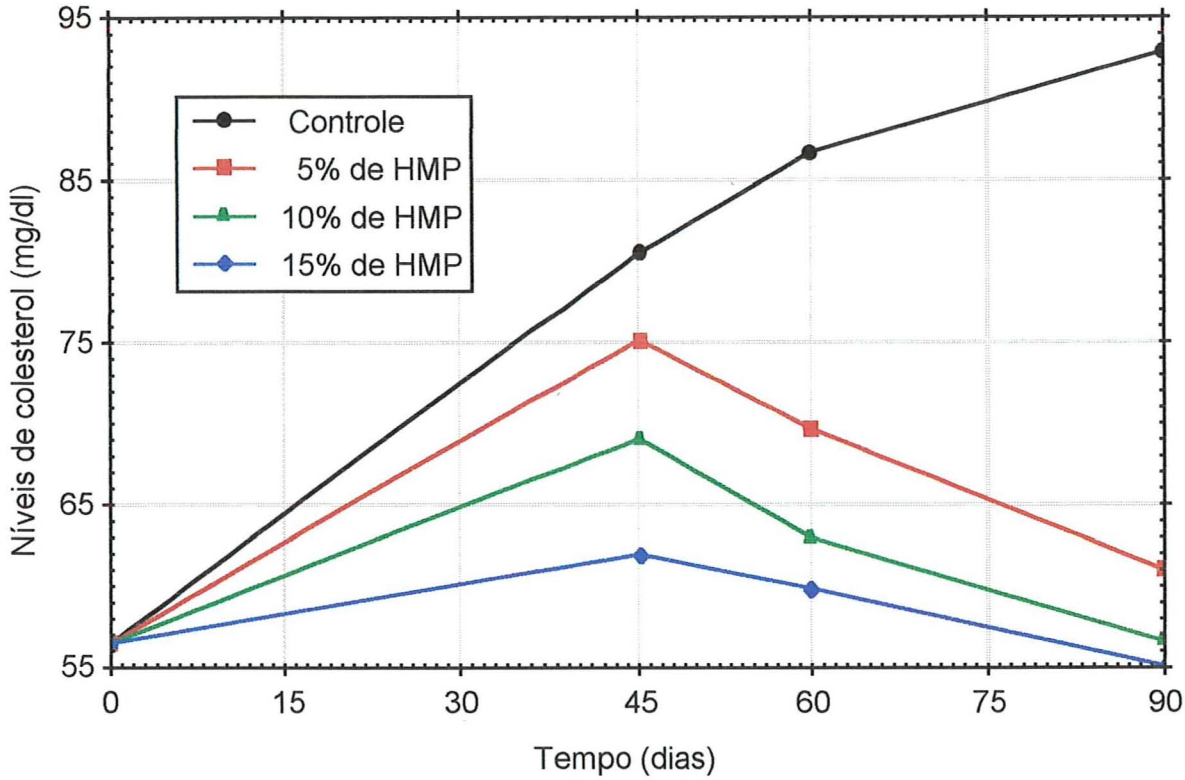

Figura 3. Níveis séricos de colesterol total em ratos "Wistar" aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento.

Todas as dietas hiperlipidêmicas elevaram os níveis de colesterol do tempo inicial até aos 45 dias (Figura 3). Porém, com o incremento das concentrações de HMP as taxas médias de aumento reduziram-se, comportamento que pode ser visualizado pela menor inclinação das retas que representam os tratamentos com essa pectina. Aos 90 dias, as dietas com 10 e 15% de HMP controlaram e reduziram os níveis séricos de colesterol, enquanto que o tratamento com 5% houve apenas o controle. No entanto, com a dieta padrão houve um aumento constante da colesterolemia. Pode-se também observar, que os efeitos foram mais significativos com as dietas de maior concentração e após aos 45 dias de duração do ensaio. Schinnick et al. (1990)

observou que ratos alimentados com dieta hiperlipidêmica e com fibras solúveis, somente apresentaram efeito hipocolesterolêmico quando as dosagens foram de 8 e 10%.

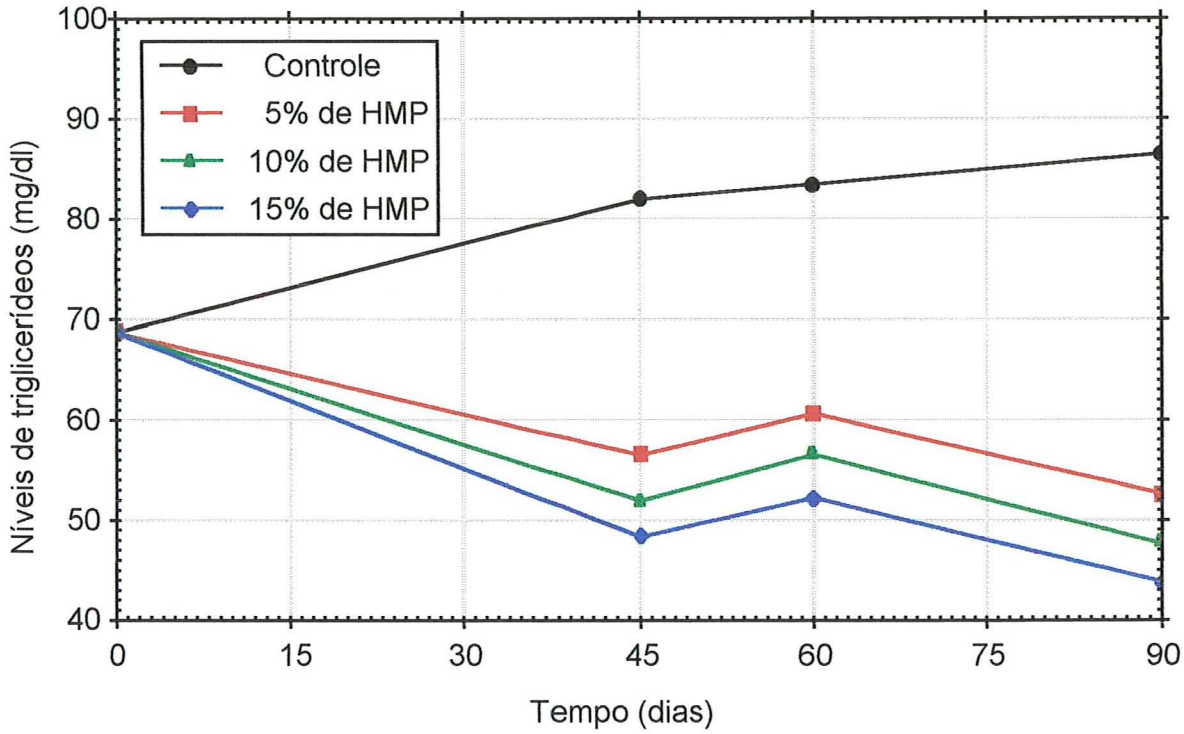

Figura 4. Níveis séricos de triglicerídeos em ratos "Wistar" aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento.

As dietas com pectina reduziram os níveis séricos de triglicerídeos até aos 45 dias (Figura 4). Após esse período os níveis aumentaram e dos 60 dias até o final do ensaio, novamente apresentaram uma redução. A dieta controle produziu um aumento constante nas concentrações plasmáticas de triglicerídeos. Porém, a taxa de aumento foi menor após aos 45 dias de experimento. Alguns trabalhos que avaliaram dietas com pectina não observaram mudanças nos níveis plasmáticas de triglicerídeos (Nishina & Freedland, 1990b e Abbey et al.,1993). Porém, o decréscimo na triglicerimia

observado neste trabalho, segundo Fernandez et al. (1994), pode ser atribuído às mudanças e variações do conteúdo de triglicerídeos contidos nas lipoproteínas no momento do sacrifício dos animais.

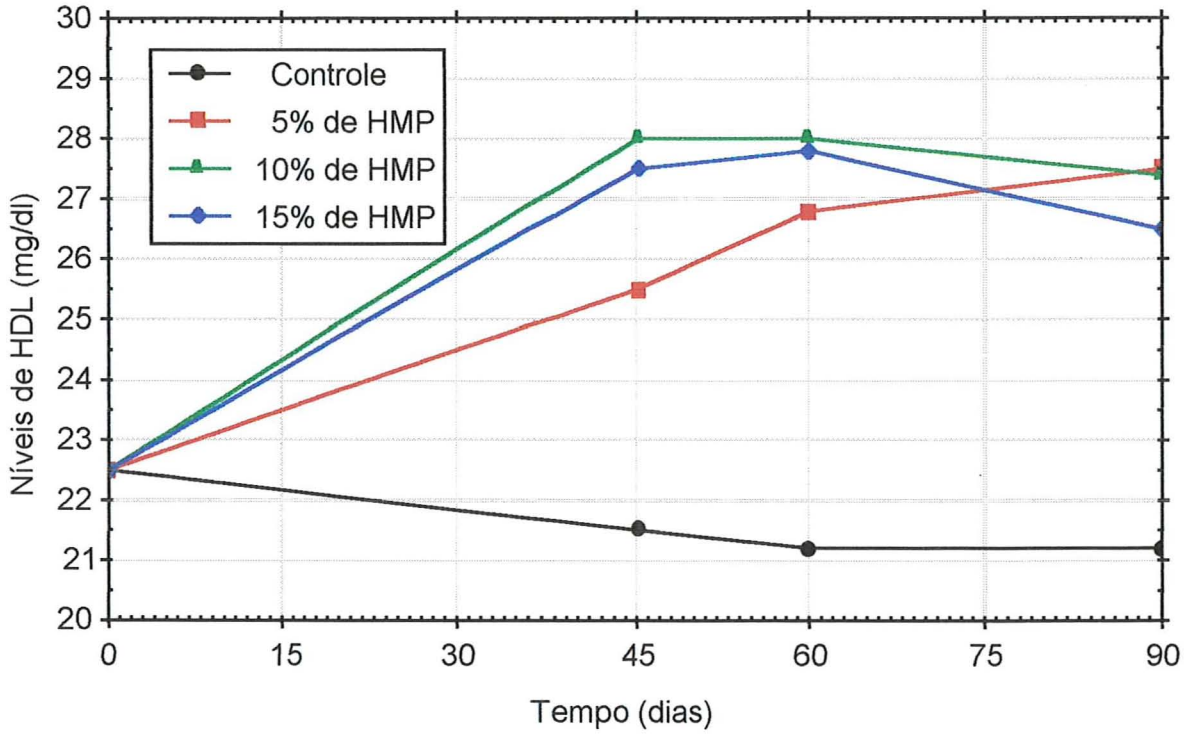

Figura 5. Níveis séricos de HDL-colesterol em ratos "Wistar" aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento.

Até aos 45 dias de ensaio, todas as dietas com HMP aumentaram os níveis da fração HDL-colesterol (Figura 5). No período de 45 a 60 dias, as concentrações plasmáticas da HDL praticamente estabilizaram-se nos tratamentos com 10 e 15% de pectina, ocorrendo uma pequena redução após esse período. A dieta com 5% de HMP proporcionou aumento dos níveis de HDL durante todo o experimento. No final do ensaio os níveis de 5 e 10% de HMP produziram o mesmo efeito. O tratamento padrão reduziu os níveis plasmáticos de HDL até aos 60 dias, que praticamente estabilizaram-se após

esse período. Esses resultados estão de acordo com Dreher (1987), de que a ingestão de pectina pode aumentar os níveis plasmáticos da fração HDL-colesterol quando a dieta for hiperlipidêmica.

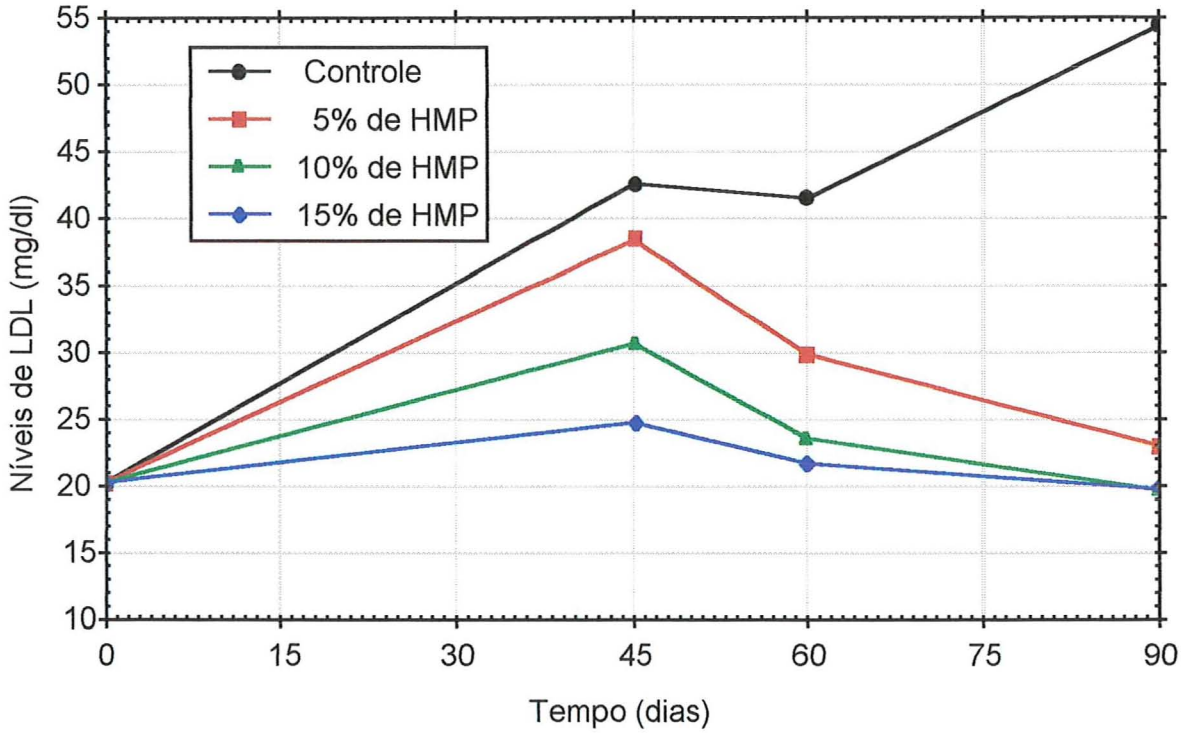

Figura 6. Níveis séricos de LDL-colesterol em ratos "Wistar" aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento

Os níveis da fração LDL-colesterol foram influenciados pela duração do experimento (Figura 6). Todas as dietas do tempo inicial até aos 45 dias de ensaio produziram aumento nos níveis de LDL. Porém, esse efeito foi minimizado com o aumento das concentrações de HMP. Após 45 dias, os tratamentos com HMP controlaram os níveis plasmáticos de LDL. Com a dieta padrão, os níveis de LDL foram praticamente estáveis no intervalo de 45 aos

60 dias. No entanto, no período de 60 aos 90 dias houve aumento nos níveis plasmáticos dessa fração. Esses resultados estão de acordo com Thakur et al. (1997), de que a pectina pode reduzir os níveis séricos da fração LDL-colesterol.

Nos dois ensaios realizados, as dietas com pectina proporcionaram reduções significativas nos níveis séricos de LDL e de colesterol total. O controle das concentrações sangüíneas desses elementos é importante na prevenção de doenças coronárias e níveis elevados desses lipídeos estão diretamente relacionados com a doença aterosclerótica prematura. Portanto, conclui-se que a pectina pode ser benéfica na prevenção de doenças coronárias.

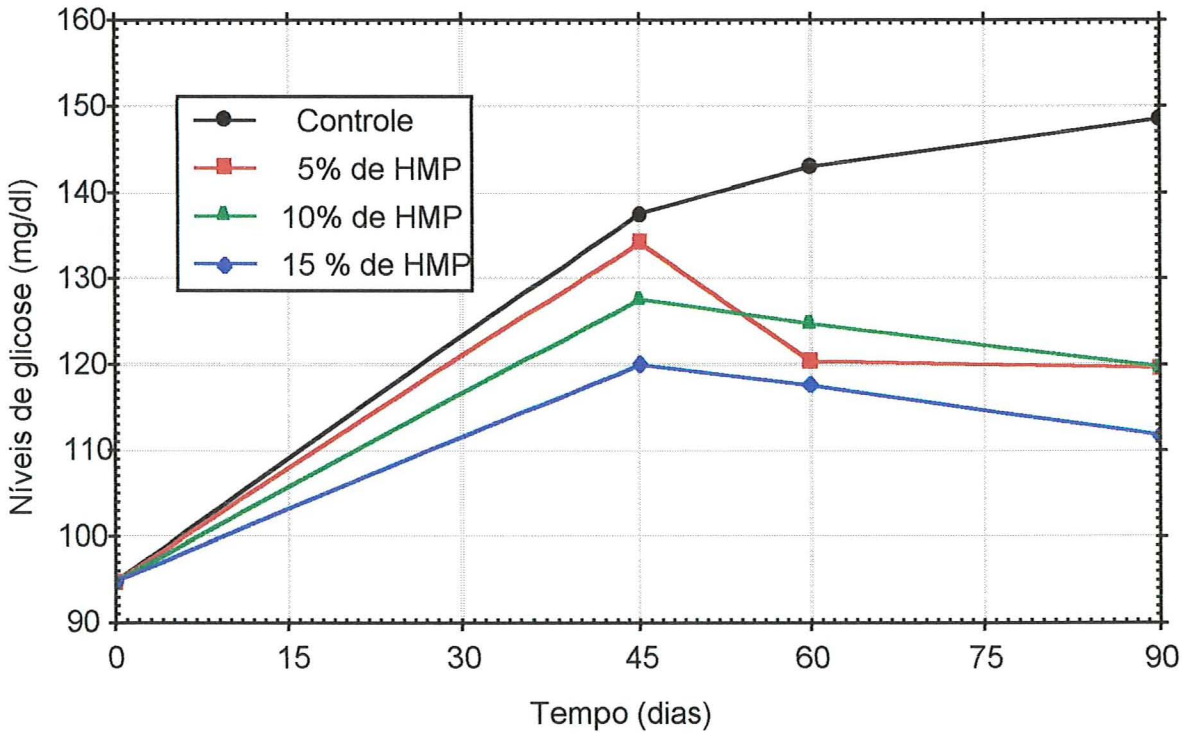

Figura 7. Níveis séricos de glicose em ratos "Wistar" aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento

Até 45 dias, todas as dietas produziram aumento da glicemia (Figura 7). Após esse período, houve efeito da pectina e os níveis plasmáticos de glicose decresceram. A dieta padrão aumentou a glicemia durante todo o ensaio. O tratamento com 5% de HMP, em comparação com o de 10%, proporcionou efeito mais significativo até 60 dias. Porém, no final do experimento as duas dietas produziram efeitos semelhantes. O tratamento com 15% de HMP foi o que proporcionou o melhor controle da glicemia. Nessa dieta, a taxa média de aumento foi a menor até 45 dias e após esse período, reduziu os níveis plasmáticos de glicose.

Alguns autores relacionam o diabetes mellitus secundário com a baixa ingestão de fibras dietéticas (Krause & Mahan, 1991). Nesse ensaio observou-se que mesmo em animais não diabéticos, porém hiperlipidêmicos, houve aumento da glicemia, sendo esse efeito minimizado com a ingestão de pectina. Todas as dietas com HMP produziram resultados satisfatórios. No entanto, o efeito dos tratamentos foi mais nítido após 45 dias. Leeds et al. (1981) verificaram que dietas suplementadas com pectina podem reduzir os níveis séricos de glicose, e que o consumo de fibras pode modificar a quantidade e a função dos receptores de glicose dos tecidos periféricos e ainda aumentar a sensibilidade à insulina.

Todos os tratamentos com HMP reduziram os níveis séricos de uréia (Figura 8). O efeito mais significativo foi até aos 60 dias. Após esse período, os níveis séricos de uréia tenderam a estabilizar-se. Conforme salientado anteriormente, esse comportamento pode ser positivo para saúde humana, uma vez que o metabolismo das proteínas é mais efetivo em dietas ricas em fibras.

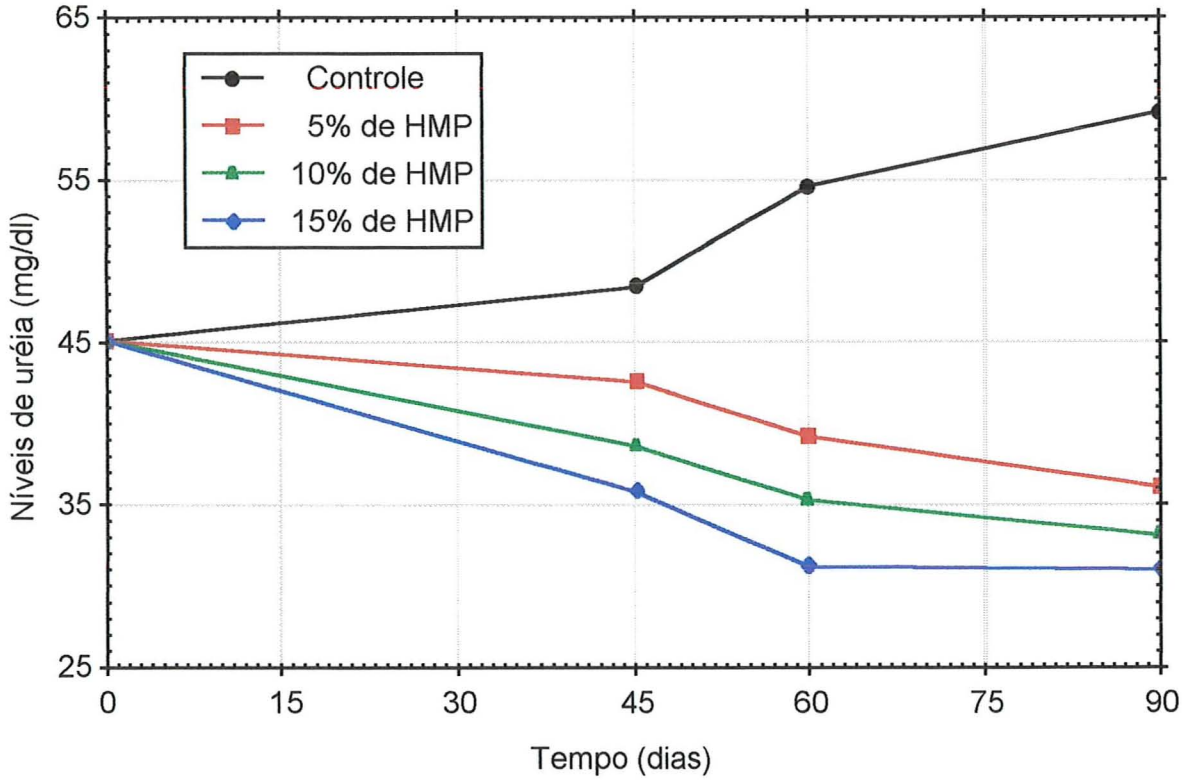

Figura 8. Níveis séricos de uréia em ratos "Wistar" aos 0, 45, 60 e 90 dias de experimento.

Pode-se observar que a duração do ensaio teve influência nos resultados obtidos. Caso o experimento fosse interrompido aos 45 dias, não seriam observados os resultados satisfatórios dos tratamentos aos 60 e 90 dias. De uma maneira geral, verificou-se que não houve reversão do efeito hipolipidêmico da pectina. Apesar das altas concentrações de HMP utilizadas, os animais permaneceram fisicamente íntegros. No entanto, não foram determinados parâmetros nutricionais para essa afirmação.

4.3.2. Ingestão alimentar e ganho de peso

Assim como observado no primeiro ensaio biológico, apesar da similaridade da ingestão alimentar de todos os grupos de animais (Figura 9), as dietas proporcionaram diferentes ganhos de peso (Figura 10).

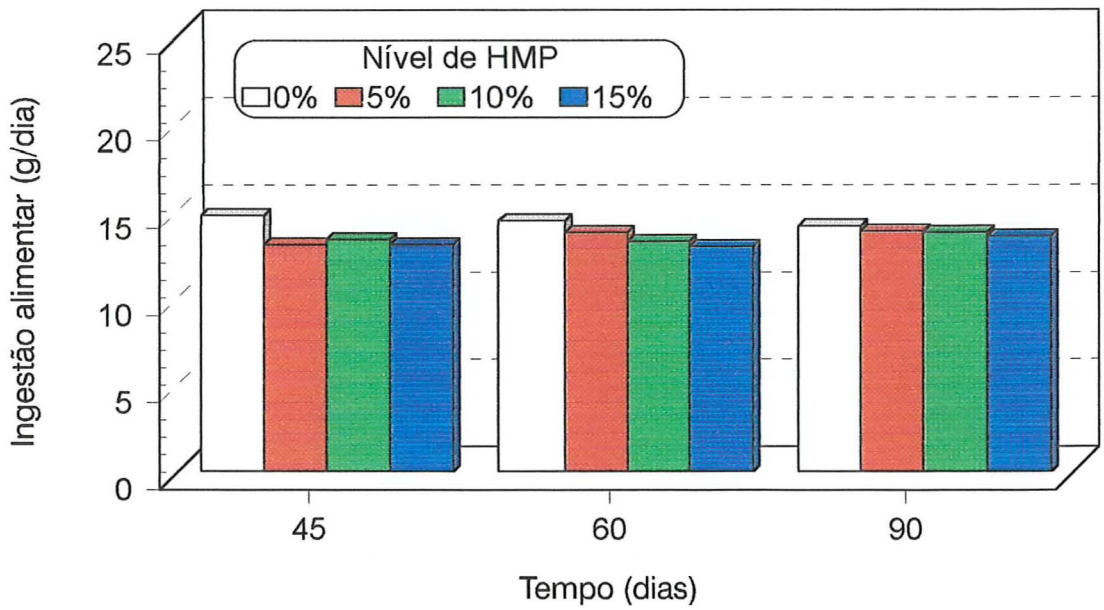

Figura 9. Ingestão alimentar dos animais proporcionada pelas dietas no segundo ensaio biológico.

Os animais tratados com HMP, em relação à dieta controle, apresentaram diferença na ingestão alimentar aos 45 e 60 dias de experimento. Porém, aos 90 dias, o consumo foi praticamente igual. Esse comportamento, provavelmente, ocorreu em função da menor palatibilidade das dietas com pectina e da necessidade dos animais adaptarem-se à nova dieta.

Esses resultados, segundo Judd & Truswell (1985), podem ser atribuídos à ingestão alimentar dos animais melhorar em ensaios de maior duração.

O mesmo comportamento foi verificado no ganho de peso dos ratos (Figura 10). A diferença em relação à dieta controle foi inicialmente grande, sendo o efeito reduzido no final do ensaio.

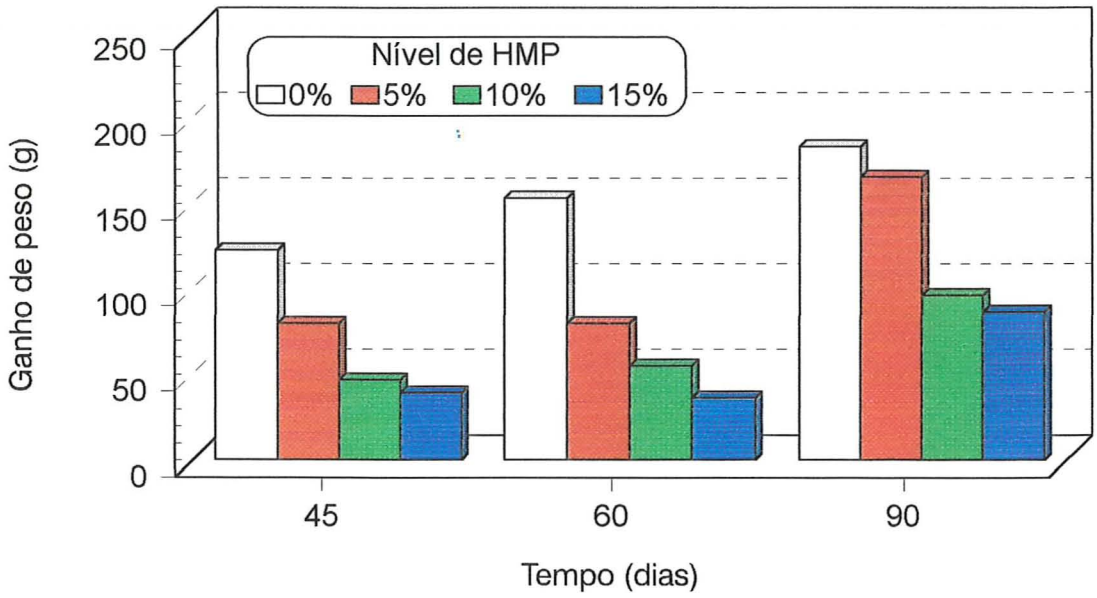

Figura 10. Ganho de peso dos animais proporcionado pelas dietas no segundo ensaio biológico.

Pode-se observar também que o aumento nas concentrações de HMP resultou em menores ganhos de peso. Esses resultados estão de acordo com Mickelson et al. (1979), que observaram redução no ganho de peso em jovens escolares, quando a dieta dos mesmos foi suplementada com pectina cítrica. Esse comportamento também pode ser atribuído à menor eficiência de conversão alimentar e às alterações que ocorrem no metabolismo lipídico. De

acordo com Krotkievski, 1984), alguns estudos demonstram que dietas ricas em fibras podem prevenir e/ou auxiliar no tratamento da obesidade.

5. CONCLUSÕES

A análise e interpretação dos resultados obtidos nos ensaios com animais permitiram concluir que:

a) de uma maneira geral, os tratamentos com a pectina de alta metoxilação (HMP) foram mais efetivos do que com as pectinas de baixa metoxilação (LMP). As dietas com 10 e 15% de HMP apresentaram maior capacidade de reduzir os níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos e LDL-colesterol e de aumentar as concentrações plasmáticas da fração HDL-colesterol;

b) o efeito da celulose foi considerado estatisticamente insignificante, na redução dos níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos e uréia, quando comparado aos tratamentos com pectinas;

c) os tratamentos com concentrações de 20% de fibra, proporcionaram redução de peso e diarréia em todos os animais e causaram a morte de alguns. Portanto não se recomenda sua utilização na elaboração de dietas para experimentos em ratos;

d) não foi verificado reversão do efeito hipolipidêmico da HMP;

e) os tratamentos com adição de fibras dietéticas (HMP, LMP e celulose), proporcionaram menor ganho de peso nos animais do que a dieta controle, apesar da ingestão alimentar ter sido maior com dietas contendo celulose. Nas dietas com maior concentração, o ganho de peso dos ratos foi menor;

f) a HMP também possue capacidade de reduzir níveis séricos de uréia e glicose em ratos hiperlipidêmicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBEY, M. ; TRIANTAFILIDIS, C. ; TOPPING, D.L. Dietary non-starch polysaccharides interact with cholesterol and fish oil in their effects on plasma lipids and hepatic lipoprotein receptor activity in rats. **Journal of Nutrition,** v. 123, p. 900-908, 1993.

ALLAIN, C.C.; POON, L.S.; CHAN, C.S.G.; RICHMOND, W.; FU, P.C. Enzymatic determination of serum total cholesterol. **Clinical chemistry,** v. 20, p. 470-475, 1974.

AL-SHOSHAN, A.A. Study of the regular diet of selected hospitals of Ministry of Health in Saudi Arabia: intake of fatty acids, cholesterol and fiber. **The Indian Journal Nutrition Dietetic,** v. 29, p. 126-131, 1992.

ALVES, D.C. ; GERUDE, M. Insuficiência coronariana. In: AUGUSTO, A.L.P.; ALVES, D.C.; MANNARINO, I.C. ; GERUDE, M. **Terapia Nutricional**. São Paulo: Atheneu, 1995. cap. 9, p.76-80.

ANDERSON, J.W. ; CHEN, W. J. L. Plant fiber. Carbohydrate and lipid metabolism. **American Journal of Clinical Nutrition,** v. 32, p. 346-363, 1979.

ANDERSON, J.W. ; DEAKINS, D.A. ; BRIDGES, S.R. Hypocholesterolemic effects and proposed mechanisms. In: KRITCHEVSKY, D. ; BONFIELD, C. ; ANDERSON, J.W. **Dietary Fiber: chemistry, physiology, and health effects**. 1. ed. New York e London: Plenum Press, 1990a. cap. 25, p.339-363.

ANDERSON, J.W., DEAKINS,D.A.; FLOORE, T.L.; SMITH, B.M.; WHITIS, S.E. Dietary fiber and coronary heart disease. **Food Science and Nutrition,** v. 29, n.2, p. 95-147, 1990b.

ANDERSON,.L.; DIBBLE, M.V.; TURKKI, P.R.; MITCHELL, H.S.; RYNBERGE, N.H.J. **Nutrição.** 17. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 737p.

ANGELIS, R. de; CTENAS, M.L.de B. **Boletim Sadia de cuidados nutricionais cardiovasculares;** biossíntese e metabolismo do colesterol. São Paulo: Sadia, 1993. 31p.

ARJMANDI, B.H.; CRAIG, J.; NATHANI, S.; REEVES, R.D. Soluble dietary fiber and cholesterol influence in vivo hepatic and intestinal cholesterol biosynthesis in rats. **Journal of Nutrition**, v. 122, p.1559-1565, 1992.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 12. ed. Washington, 1975, 1018p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 15. ed. Washington, 1990, 1105p.

BELL, L.P. ; HECTORNE, K. ; REYNOLDS, H. ; BALM, T.K. ; HUNNINGHAKE, D.B. Cholesterol-lowering effects of psyllium hydrophilic mucilloid: adjunct therapy to a prudent diet for patients with mild to moderate hypercholesterolemia. **Journal American Medical Association**. v. 261, p. 3419 - 3424, 1989.

BLACKBURN, N.A. ; JOHNSON, I.T. The effect of guar gum on the viscosity of the gastrointestinal contents and on glucose uptake from the perfused jejunum in the rat. **British Journal of Nutrition,** v. 46, n. 2, p. 239-246, 1981.

BLIGH, E.G. ; DYER, W.J. A Rapid method of total lipid excretion and purification. **Canadian Journal of Biochemistry Physiology,** v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

CASSIDY,M.M.; LIGHTFOOT, F.G. ; VAHOUNY, G.V. Dietary fiber, bile acids, and intestinal morphology. In: VAHOUNG, G.V & KRITCHEVSKY, D. **Dietary fiber in health and disease**. New York: Plenum Press, 1982. p.53.

CERVATO, A. M.; MAZZILLI, R.N.; MARTINS, I.S.; MARUCCI, M.F.N. Dieta habitual e fatores de risco para doenças cardiovasculares. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 3, p. 227-235, 1997.

CRAIG, W.Y.; PALOMAKI, G.E. e HADDOW, J.E. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations. **British Medical Journal,** v. 298, p. 784-788, 1989.

CUMMINGS, J.H. ; BRANCH, W.S. Fermentation and the production of short-chain fatty acids in the human large intestine. In: VAHOUNG, G.W. ; KRITCHEVSKY, D. **Dietary fiber: basic and clinical aspects.** New York: Plenum Press. 1986. p.131-149.

DREHER,M.L. **Handbook of dietary fiber.** New York:Marcel Dekker, 1987. 468p.

DUNCAN, K.H.; BACON, J.A.; WEINSIER, R.L. The effects of high and low energy density diets on satiety, energy intake, and eating time of obese and nonobese subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 37, n. 5, p. 763-767, May 1983.

FAO - FOOD AGRICULTURAL ORGANIZATION Nutrition Meetings. Rep. Ser., n. 46A, p. 133, 1969.

FERNANDEZ, M.L.; SUN, D.M.; TOSCA, M.A.; McNAMARA, D.J. Citrus pectin and cholesterol interact to regulate hepatic cholesterol homeostasis and lipoprotein metabolism: A dose-response study in guinea-pigs. **American Journal of Clinical Nutrition,** v.59, p.869-878, 1994.

FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, p. 499-502, 1972.

GLORE, S.R.; VAN TREECK, D.; KNEHANS, A.W. ; GUILD, M. Soluble fiber and serum lipids: A literature review. **Journal American Diet Association,** v. 94, n. 4, p. 425-436, 1994.

GRUNDY, S.M. ; DENKE, M.A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. **Journal of Lipids**, v. 31, p. 1149-1172, 1990.

HAUKSSON, H.; HEDETOFT, S. Tecnologia para redução de colesterol em alimentos: uso de pectinas como substituto de gordura. In: SEMINÁRIO: "Colesterol: Análise, ocorrência, redução em alimentos e implicações na saúde", 1, Campinas, 1996. **Trabalhos Apresentados.** Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1996. p.19-23.

HUNNIGHAKE, D.B.; MILLER, V.T.; LaROSA, J.C.; KINOSIAN, B.; BROWN, V.; HOWARD, W.J.; DISERIO, F.J.; O'CONNOR, R.R. Hypocholesterolemic effects of a dietary fiber suplement. **American Journal of Clinical Nutrition,** v. 59, p. 1050-1054, 1994.

JACKSON, K.A.; SUTER, D.A.I. and TOPPING D.L. Oat, bran, barley and malted barley lower plasma cholesterol relative to wheat bran but differ in their effects on liver cholesterol in rats fed diets with and without cholesterol. **Journal of Nutrition**, v. 124, n. 9, p. 1678-1684, 1994.

JENKINS, D.J.A.; WONG, G.S.; PATTEN, R., BIRD, J.; HALL, M.; BUCKLEY, G.C.; McGUIRE, V.; REICHERT, R.; LITTLE, J.A. Leguminous seeds in the dietary management of hyperlipidemia. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 38, p. 567-573, 1983

JUDD, P.A. ; TRUSWELL, A.S. Comparison of the effects of hight and low methoxyl pectin on blood and faecal lipids in man. **British Journal of Nutrition,** v. 48, n. 03, p. 451-458, 1982.

JUDD, P.A. ; TRUSWELL, A.S. The hypocholesterolaemic effects of pectins in rats. **British Journal of Nutrition,** v. 53, n. 3, p. 14-29, 1985.

KAY, R.M. ; TRUSWELL, A.S. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 30, p. 171-175, 1977.

KERTESZ, Z. I. **The pectic substances.** New York: Interscience. 1951. 628p.

KRAUSE, M.V. ; MAHAN, L.K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 7. ed. São Paulo: Rocca, 1991. 981p.

KRITCHEVSKY, D. Dietary protein, cholesterol and atherosclerosis: A review of the early history. **The Journal of Nutrition,** v. 125, p. 589s -593s, 1995.

KRITCHEVSKI, D.E.; STORY, J.A. Binding of bile salts in vitro by nonnutritive fiber. **Journal of Nutrition,** v. 104, n. 4, p. 458-462, 1974.

KROTKIEWSKI, M. Effect of guar-gum on body-weight hunger ratings and metabolism in obese subjects. **British Journal of Nutrition,** v. 52, n. 1, p. 97-105, 1984.

LANZA, E.; JONES, D.Y. ; BLOCK, G. & KESSLER, L. Dietary fiber intake in the US population. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, p. 790-797, 1987.

LEEDS, A.R.; RALPHS, D.N.L.; EBIED, F.; METZ, G.; DILAWARI, J.B. Pectin and the dumping syndrome, reduction of the symptoms and plasma volume changes. **Lancet,** v. 1, p. 1075-1078, 1981.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. 8. ed. São Paulo: Sarvier, 1993. 725p.

MAHAN, L.K. ; ARLIN, M. T. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 8. ed. São Paulo: Rocca, 1995. 957p.

MARLETT, J.A. Analysis of dietary fiber in human foods. In: KRITCHEVSKY, D. ; BONFIELD, C. ; ANDERSON, J.W. **Dietary fiber: chemistry, physiology, and health effects.** New York: Plenum Press, 1990. cap.3, p.31-48.

MATHESON, H.B.; COLÓN, I.S. ; STORY, J.A. Cholesterol 7α-hydroxilase activity is increase by dietary modification with psyllium hydrocoloid, pectin, cholesterol and cholestyramine in rats. **Journal of Nutrition,** v. 125,n. 3, p. 454-458,.1995.

MICKELSON, O.; MAKDAN, D.D.; COTTON, R.H.; TITCOMB, S.T.; COLMEY, J.C.; GATTY, R. Effects of a hight fibre diet on weight loss in college-age males. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 32, p. 1703-1709, 1979.

MOUNDRAS, C.; BEHR, S.R.; DEMIGNÉ, C.; MAZUR, A.; RÉMESY, C. Fermentable polysaccharides that enhance fecal bile acid excretion lower plasma cholesterol and apolipoprotein E-rich HDL in rats. **Journal of Nutrition,** v. 124, p. 2179-2188, 1994.

NISHINA, P.M. ; FREEDLAND, R.A. The effects of dietary fiber feeding on choleterol metabolism in rats. **Journal of Nutrition**, v. 120, p. 800-805, 1990b.

OAKENFULL, D.; SCOTT, A. Hydrofobic interaction in the gelation of hight methoxyl pectins. **Journal Food Science**, v. 49, n. 4, p. 1093, 1984.

OLIVEIRA, H.C.F.; QUINTÃO, E.C.R. Colesterol na aterogênese. In: QUINTÃO , E.C.R. **Colesterol e aterosclerose.** Rio de Janeiro: Qualitymark, 1992. p.45-49.

PENACHIOTTI, G.L., ROTSTEIN, N.P.; AVELDAÑO, M.I. Effects of clofibrate on Lipids and Fatty Acids of Mouse Liver. **Lipids**, v. 31, n. 2, p. 179-185, 1996.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 10.ed., São Paulo:Nobel, 1982. 468p.

REDDY, J.K. ; LALWANI, N.D. Carcinogenesis by hepatic peroxisome proliferators. evaluation plasticizers to humans. **CRC Critical Review Toxicology,** v. 12, p.1-58, 1983.

ROBINSON, D.S. **Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1991. 516p.

SCHINNICK, F.L.; INK, S.L.; MARLETT, J.A. Dose response to a dietary oat bran fraction in cholesterol-fed rats. **Journal of Nutrition**, v. 120, p. 561-568, 1990.

SCHNEEMAN, B.O. Dietary fiber: physical and chemical properties, methods and analysis, and physiological effects. **Food Technology**, v. 40, n. 2, p. 104-110, 1986.

SELVENDRAN, R.R. ; VERNE, A.V.F.V. The chemistry and properties of plant cell walls and dietary fiber. In: KRITCHEVSKY, D. ; BONFIELD, C. ; ANDERSON, J.W. **Dietary fiber: chemistry, physiology, and heath effects**. New York:Plenum Press, 1990. cap. 1, p.7-13.

THAKUR, B.R.; SINGH, R.K.; HANDA, A.K. Chemistry and uses of pectin - a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition,** v. 37, n. 1, p. 47-73, 1997.

TABACCO, A. ; MEIATTINE, F. ; MODA, E. ; TARLI, P. Symplicit enzymic/colorimetric serum urea nitrogen determination. **Clinical Chemistry**, v. 25, p. 336-337, 1979.

THOMPSON, R. L. ; MARGETTS, B. M. ; WOOD, D. A. ; JACKSON, A. A. Cigarette smoking and food and nutrient intakes in relation to coronary heart disease. **Nutrition Research Reviews**, v. 5, p. 131-152, 1992.

TROWELL, H. Refined carbohydrate foods and fibre. In: BURKITT, D.P. ; TROWELL, H. **Refined carbohydrate foods and disease**. London: Academic Press, 1975. p.23-41.

TROWELL, H. ; SOUTHGATE, D.A.T. ; WOLEVER, T.M.S.; LEEDS, A.R. ; GASSUL, M.A. ; JENKINS, D.J.A. Dietary fibre redefined. **Lancet**, v. 1, p. 967, 1976.

TSAI, A.C.; ELIAS, J.; KELLEY, J.J.; LIN, R.S.C. ; ROBSON J.R.K. Influence of certain dietary fibers on serum and tissue cholesterol levels in rats. **Journal of Nutrition,** v. 106, p. 118-123, 1976.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. Central de Processamento de Dados. **SAEG** - Sistema para análises estatísticas e genéticas. Viçosa:UFV / CPD, 1992. 94p.

WIELAND, O. **Methods of enzymatic analysis**. Washington:Academic Press, 1974. v. 3.