

# 4 Metodologias para avaliar a disponibilidade de minerais e vitaminas

<b>1. Disponibilidade biológica dos minerais .....</b>	<b>131</b>
1.1. <i>Introdução .....</i>	<b>131</b>
1.2. <i>Digestibilidade e disponibilidade dos minerais .....</i>	<b>131</b>
1.3. <i>Disponibilidade biológica do fósforo .....</i>	<b>134</b>
1.3.1. <i>Metodologias para determinar disponibilidade do fósforo .....</i>	<b>135</b>
1.3.2. <i>Digestibilidade aparente e verdadeira do fósforo .....</i>	<b>141</b>
1.3.3. <i>Técnicas in vitro para determinar disponibilidade de P dos fosfatos .....</i>	<b>146</b>
<b>2. Disponibilidade biológica das vitaminas .....</b>	<b>147</b>
2.1. <i>Introdução .....</i>	<b>147</b>
2.2. <i>Metodologia para determinar a disponibilidade da vitamina E .....</i>	<b>149</b>
<b>3. Referências bibliográficas .....</b>	<b>152</b>

# Metodologias para avaliar a disponibilidade de minerais e vitaminas

## Capítulo 4

### 1. Disponibilidade biológica dos minerais

#### 1.1. Introdução

Disponibilidade biológica dos minerais pode ser definida como sendo a capacidade da fonte do mineral em suportar os processos fisiológicos em um animal. A disponibilidade dos minerais das fontes e dos alimentos varia, e as diferenças podem ser medidas e comparadas. Pouco se sabe a respeito da forma na qual os minerais estão presentes nos alimentos ou dos fatores que controlam a biodisponibilidade por causa das dificuldades de sua determinação, pois, normalmente, não é determinada a molécula ou o complexo a que o mineral está ligado.

A idade e espécie do animal, dieta e técnicas experimentais devem ser avaliadas para a seleção de um método satisfatório para estimar a biodisponibilidade de um elemento mineral em particular.

As dietas basais utilizadas em ensaio de biodisponibilidade devem ser adequadas nutricionalmente para produzir a resposta animal desejada; a concentração dietética do mineral deve ser menor que o requerimento do animal; e a fonte do elemento mineral deve representar a maior porção da concentração dietética do elemento (Ammerman, 1995).

#### 1.2. Digestibilidade e disponibilidade dos minerais

Para preparar esta parte do capítulo, foram consultadas literaturas básicas que tratam especificamente sobre digestibilidade e disponibilidade dos minerais. Os livros de referência foram Ammerman *et al.* (1995) e Underwood e Suttle (1999) e o capítulo de Baker (2000).

A digestibilidade, ou seja, absorção do mineral pelo animal pode indicar estimativas da biodisponibilidade. Entretanto, nem sempre a absorção é igual à biodisponibilidade.

Os ensaios de digestibilidade convencionais são a forma mais comum de avaliação da capacidade do alimento de suprir o mineral para o animal. Por meio deles, obtém-se a absorção aparente, calculada pela fórmula:

---

Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos

$$\text{Digestibilidade aparente} = \frac{\text{consumo} - \text{excreção feca}}{\text{consumo}}$$

Como nas fezes se encontram não apenas a fração não absorvida do alimento, mas também a chamada fração fecal endógena, os valores de digestibilidade aparente são mais baixos que os de digestibilidade verdadeira, não sendo indicada para a avaliação da absorção de minerais, como cálcio, fósforo, zinco, manganês e cobre, devido à grande participação da fração endógena desses elementos nas fezes dos animais.

A fração fecal endógena, utilizada para o cálculo da absorção verdadeira, pode ser estimada por marcação dos tecidos corporais com o isótopo do elemento em estudo.

A excreção endógena total pode ser estimada pelo uso de radioisótopos apropriados. O cálculo para determinação da excreção endógena fecal com o uso de um isótopo é expresso por:

$$\text{Exc. end. fecal} = \frac{\text{atividade específica nas fezes}}{\text{atividade específica no plasma}} \times \text{exc}$$

Outras formas de se determinar a excreção fecal endógena envolvem a utilização de dietas livres do elemento ou o uso de equações de regressão da retenção do elemento em relação a diferentes taxas de ingestão, obtidas em ensaios de balanço. Esses dois últimos métodos apresentam valores de excreção endógena mais variáveis que aqueles obtidos pelo método isotópico.

A fração endógena total é composta da excreção endógena mínima e da excreção endógena variável. A fração endógena mínima representa inevitável perda do elemento pelo corpo do animal. A fração endógena variável pode variar em quantidade, sendo influenciada pelo consumo e pela biodisponibilidade do mineral.

Para a determinação da digestibilidade verdadeira é descontada da excreção total as perdas endógenas totais, conforme fórmula a seguir:

$$\text{Digestibilidade verdadeira} = \frac{\text{Cons.} - (\text{Exc. fecal tot.} - \text{Exc. en})}{\text{Consumo}}$$

Em ruminantes, a absorção verdadeira de certos minerais tem sido obtida pelo uso de duplas coletas ou técnicas comparativas. Na primeira coleta, o animal é alimentado apenas com a dieta basal. Na segunda, o animal é alimentado com a dieta basal mais o mineral. A manutenção de consumo similar para o mesmo animal entre os dois períodos de coleta é importante para a obtenção de dados uniformes. Essa técnica é usada para estimar a absorção *verdadeira* do fósforo com a seguinte fórmula:

$$\text{Dig. verdadeira} = \frac{(\text{CPT col.2} - \text{CPT col.1}) - (\text{PFT col.2} - \text{PFT col.1})}{(\text{CPT col.2} - \text{CPT col.1})}$$

Em que: CPT = Consumo total de fósforo e PFT = Fósforo fecal total.

A urina é a forma de excreção de muitos minerais, como o sódio, magnésio, iodo e potássio. Esses minerais têm alta taxa de absorção, e os valores de digestibilidade aparente e verdadeira são próximos por não levarem em conta as correções da excreção urinária. Já o manganês, zinco, ferro, cobre, cálcio, fósforo são excretados principalmente pelas fezes, sendo mínimas as quantidades excretadas pela urina.

A biodisponibilidade dos minerais tem sido avaliada em ensaios de crescimento. A resposta do crescimento de pintinhos tem sido usada como critério na determinação da biodisponibilidade de vários macro e microminerais, pelo fato desses animais possuírem crescimento rápido, baixa reserva do nutriente estudado e também exigência nutricional elevada.

Outros critérios usados para avaliar a biodisponibilidade dos minerais são relacionados a seguir.

**Desenvolvimento ósseo:** é o critério mais utilizado em aves e suínos jovens para estimar biodisponibilidade de cálcio e fósforo. Em geral, utiliza-se tibia (aves) ou o metatarso (suínos) como osso-referência. O bico e o dedo do pé das aves também têm sido utilizados.

**Enzimas ou componentes essenciais:** alguns minerais participam na formação de enzimas ou de compostos essenciais. Dessa forma, a biodisponibilidade dos minerais pode ser determinada avaliando-se nos animais o seu efeito sobre os níveis desses compostos ou enzimas. Por exemplo, os níveis de glutathione peroxidase dependente de selênio têm sido usados como indicadores para a biodisponibilidade de selênio.

**Acumulação nos tecidos:** o acúmulo do elemento mineral em vários tecidos também pode ser utilizado para medir a biodisponibilidade. Nesse tipo de ensaio, são necessários poucos animais para detectar diferenças estatísticas entre o padrão e a fonte avaliada.

**Uso de isótopos estáveis radioativos:** as estimativas de biodisponibilidade de minerais podem ser determinadas pelo acúmulo de isótopos estáveis radioativos em determinados órgãos. As estimativas de absorção de elementos minerais têm sido obtidas por isótopos intrínsecos e extrínsecos.

Os isótopos intrínsecos estão presentes na planta ou animal, e resulta, posteriormente, na marcação do tecido em que eles foram retidos. Assume-se que o isótopo e o elemento mineral são utilizados da mesma maneira pelo animal. Os isótopos extrínsecos são introduzidos no alimento e deve ser ingerido de forma idêntica ao elemento mineral e resulta, também, na marcação do tecido em que foram retidos.

Os radioisótopos podem ser aplicados para determinar a absorção dos minerais, principalmente para quantificar a fração endógena, isto é, os minerais que foram absorvidos e excretados novamente. Segundo os princípios descritos por Comar (1953), após a injeção de um radioisótopo ( $^{45}\text{Ca}$ ) via venosa, seguida da coleta total de fezes e análises do radioisótopo e do mineral estável, calcula-se o Ca endógeno fecal:

$$\text{Ca endógeno fecal} = \frac{\text{Atividade específica do Ca da:}}{\text{Atividade específica do Ca en}}$$

Atividade específica é a taxa da concentração do radioisótopo em relação ao mineral estável. Para determinar a atividade específica do mineral endógeno, assume-se que as amostras de sangue ou urina são tomadas para quantificar o endógeno numa condição de equilíbrio. Após quantificar a fração endógena, o coeficiente de absorção do Ca pode ser calculado.

$$\text{Coeficiente de absorção Ca} = \frac{\text{Ca ingerido} - (\text{Ca fezes} \cdot \text{Ca ingerid}}{\text{Ca ingerid}}$$

**Desaparecimento dos minerais em sacos colocados no trato gastrintestinal:** o alimento é colocado em sacos de material não digestíveis, sendo, posteriormente, introduzido no rúmen. O desaparecimento do mineral dentro do rúmen ou compartimento gástrico tem sido utilizado como indicador da biodisponibilidade. O aprimoramento da técnica envolve a remoção dos sacos do rúmen, lavagem com HCl-pepsina para simular as condições do abomaso, e a sua reintrodução no duodeno mediante uma cânula para coleta de fezes (Emanuele *et al.*, 1991).

**Solubilidade *in vitro*:** a determinação da solubilidade *in vitro* de fontes de minerais com vários solventes tem sido utilizada para estimar o grau de aproveitamento dos minerais pelos animais. Entretanto, os resultados obtidos por esta técnica são de baixa precisão para indicar a biodisponibilidade dos minerais.

## 2. Disponibilidade biológica das vitaminas

### 2.1. Introdução

Existem poucas informações na literatura a respeito da biodisponibilidade das vitaminas presentes nos alimentos, sejam de origem vegetal ou animal. A maioria das vitaminas nos alimentos encontram-se na forma complexada ou ligada, e processos digestivos são necessários para convertê-las em moléculas que possam ser absorvidas e utilizadas pelos animais.

**Tabela 12** - Solubilidade relativa do fósforo em ácido cítrico e fluido abomasal e coeficientes de disponibilidade do fósforo *in vivo*, determinados com aves e suínos.

	Solubilidade (%)			Disponibilidade <i>in vivo</i> (%)	
	Ácid. cítrico		Abomaso (x <sub>2</sub> )	Aves (Y <sub>1</sub> )	Suínos (Y <sub>2</sub> )
	1:100(x <sub>1</sub> )	1:500			
Fosfato bicálcico	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Fosf. monoamônio	102,17	96,31	189,23	100,30	100,40
Fosfato parc. defl.	18,76	25,55	25,61	61,23	85,80
Fosfato de Araxá	22,04	59,35	8,80	51,77	66,50
Fosfato de Patos	30,15	75,03	9,61	60,58	70,80
Superfosfato triplo	106,98	101,02	229,51	92,79	101,10
Equações:					
Aves:	Y <sub>1</sub> = 46,425 + 0,933X <sub>1</sub>		R <sup>2</sup> = 0,95		
	Y <sub>1</sub> = 59,410 + 0,196X <sub>2</sub>		R <sup>2</sup> = 0,79		
Suínos:	Y <sub>2</sub> = 67,203 + 0,319X <sub>1</sub>		R <sup>2</sup> = 0,72		
	Y <sub>2</sub> = 74,408 + 0,139X <sub>2</sub>		R <sup>2</sup> = 0,73		

Rostagno *et al.* (1993).

A literatura consultada sobre disponibilidade das vitaminas foram as publicações de Baker (Baker, 1995; Baker, 2000) e o CD sobre vitaminas da Roche (2000).

As dificuldades em se avaliar a biodisponibilidade das vitaminas em ensaios com animais, envolvem os estoques de vitamina no organismo que impossibilitam o aparecimento de deficiências durante o período de experimentação. Além disso, quando uma deficiência consegue ser provocada, as características avaliadas acabam sendo de difícil compreensão, pelo fato de estarem relacionadas a distintos fatores.

Cinco pontos devem ser cuidadosamente considerados na avaliação da biodisponibilidade de vitaminas:

- a) são necessários períodos de adaptação para que níveis de deficiência sejam evidenciados;
- b) a atividade da enzima-chave na qual a vitamina em estudo é componente ou co-fator é mais importante que medidas de desempenho;
- c) substâncias precursoras devem ser controladas (metionina para colina, triptofano para niacina, por exemplo);
- d) efeitos de coprofagia devem ser considerados; e
- e) o uso de inibidores vitamínicos específicos ou antagonistas podem influenciar na veracidade de obtenção dos resultados.

Os valores de biodisponibilidade das vitaminas dos alimentos para os animais são escassos, sendo os dados publicados, principalmente com aves e ratos, faltando informações com outras espécies e ainda de vitaminas, como tiamina, vitamina K, B12 e E. No caso da vitamina A, as informações existentes restringem-se ao caroteno. Na **Tabela 13**, encontram-se valores de biodisponibilidade de vitaminas do milho e farelo de soja relatados por Baker (1995) e Roche (2000).

**Tabela 13** - Biodisponibilidade de vitaminas expressas em % do milho e farelo de soja.

Vitaminas/ Alimentos	Milho	Farelo de Soja
Riboflavina - B2	59'	59'
Vitamina B6	40	60
Niacina	10-15	60
Ac. Pantotênico	100	100
Ac. Fólico	50	50
Biotina	100	100
Colina	-	60-90

1.- Dieta milho e farelo de soja. Fontes: Baker (1995) e Roche (2000).