



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

MILENA DO PRADO FERREIRA

**AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *in vitro* DE MACRO E  
MICROMINERAIS EM FARINHAS ALIMENTÍCIAS**

---

Londrina  
2020

MILENA DO PRADO FERREIRA

**AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *in vitro* DE MACRO E  
MICROMINERAIS EM FARINHAS ALIMENTÍCIAS**

Exame de Defesa apresentado à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley.

Londrina  
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

F383a Ferreira, Milena do Prado.  
Avaliação da bioacessibilidade in vitro de macro e microminerais em farinhas alimentícias / Milena do Prado Ferreira. - Londrina, 2020.  
76 f. : il.

Orientador: César Ricardo Teixeira Tarley.  
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2020.  
Inclui bibliografia.

1. Química - Tese. 2. Digestão - Tese. 3. Farinhas como alimento - Tese. I. Tarley, César Ricardo Teixeira. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

MILENA DO PRADO FERREIRA

**AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *in vitro* DE MACRO  
E MICROMINEIRAIS EM FARINHAS ALIMENTÍFICAS**

Exame de Defesa apresentado à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profa. Dra. Maria Luiza Zeraik  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profa. Dra. Karla Bigetti Guergoletto  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 27 de fevereiro de 2020.

Dedico esse trabalho ao meu esposo (Jean Carlo) por me apoiar e me incentivar a todo momento por um sonho que se tornou um objetivo de vida. Também dedico aos meus familiares que ajudaram de diversas formas nesses dois anos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por se fazer tão presente em mais essa fase da minha vida, me capacitando e me dando forças para vencer todos os obstáculos.

Agradeço imensamente o meu orientador Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley pelos conhecimentos transmitidos, pela sua total disponibilidade, pela paciência, pelo direcionamento em frente aos diversos contratemplos e dificuldades nesses dois anos de mestrado. Também agradeço pela confiança, pelas críticas feitas, pois elas que nos impulsionam a sermos melhores. Além de ser uma experiência única, poder crescer profissionalmente ao lado de um grande profissional, a quem admiro muito.

Agradeço principalmente ao meu marido, Jean Carlo, que esteve ao meu lado me apoiando, nessa fase da minha vida tão intensa. Me motivando em momentos de dúvida, encorajando e acreditando em meu potencial. Sendo conselheiro e ouvinte, compartilhando de todas as etapas superadas e das decepções vividas.

Aos nossos pais que cuidaram de nós. Pelas orações, pelo apoio, por acreditarem em um futuro melhor. Minha mãe Ester, que presenciou de perto cada dia e carinhosamente cuidou da minha alimentação nesses anos de mestrado. Minha irmã, meus cunhados e minha cunhada que se alegraram com cada etapa concluída, me incentivando sempre. Tia Adélia e a Luciane que me deram abrigo inúmeras vezes quando precisei.

A todos os amigos de conquistei, especialmente do nosso grupo de pesquisa LADEMA e do GMPC. Pessoas que de uma forma especial e única tornaram esse processo mais leve e descontraído.

A Marcia com quem tive a oportunidade de trabalhar e colocar na prática o que estudei na graduação, que me incentivou a conquistar algo mais e me direcionou os caminhos para iniciar essa jornada. A Priscila Brugin que foi quem intermediou o meu ingresso na UEL. Minha amiga Sharise que despertou em mim a paixão pela pesquisa, que me encoraja e me orienta até hoje a tomar certas decisões.

A todos os professores que de alguma forma contribuíram para o enriquecimento de minha formação acadêmica, onde muitos foram fonte de exemplo e inspiração. Assim como, a infraestrutura da Universidade de Londrina e da Universidade Norte do Paraná que possibilitaram a realização dos experimentos.

*“Àquele que é poderoso para fazer infinitamente mais do que tudo quanto pedimos ou pensamos, segundo o poder que opera em nós, a esse seja glória em Cristo Jesus por todas as gerações. Amém”.*

Efésios 3:20,21

FERREIRA, Milena do Prado. **Avaliação da bioacessibilidade *in vitro* de macro e micromineirais em farinhas alimentícias.** 2020. 76 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

## Resumo

O interesse em consumir alimentos funcionais vem crescendo nos últimos anos diante dos benefícios proporcionados à saúde humana. Entretanto, seu real valor nutricional está atrelado à efetiva absorção e metabolização pelo organismo. A simulação gastrointestinal *in vitro* permite estimar a fração bioacessível, àquela que contribui para o bom funcionamento fisiológico. Na literatura são reportados, em maior quantidade, trabalhos que fazem uso de ensaios *in vitro* para inferir a real capacidade antioxidante de alguns alimentos. Porém, a bioacessibilidade de minerais é ainda pouco investigada. Farinhas de maracujá, aveia e banana verde tem despertado interesse do mercado consumidor pois apresentam aspecto nutricional importante, mas trabalhos ainda não foram realizados acerca da bioacessibilidade de macro e microminerais nestas amostras. Neste sentido, o objetivo deste trabalho está pautado na quantificação da concentração total de macro (Mg e Ca) e microminerais (Zn, Fe, Mn e Cu) nestas farinhas, bem como na avaliação da bioacessibilidade empregando um método de digestão *in vitro* padronizado pela BARGE (Grupo de Pesquisa em Bioacessibilidade da Europa). Essa metodologia foi escolhida por ter sido empregada a diferentes matrizes e apresentar estimativas satisfatórias quando comparada a testes *in vivo*. O conteúdo total dos minerais foi determinado por espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS), após digestão ácida assistida por micro-ondas, assim como as frações bioacessíveis e residuais após ensaios *in vitro*. Determinou-se ainda a composição centesimal e o teor de ácido fítico, o qual reduz a bioacessibilidade pela complexação com metais di e trivalentes. Foi possível observar que as farinhas de aveia podem ser classificadas como produtos com alto teor de proteínas, apresentando valores superiores a 12 g 100g<sup>-1</sup>, sendo também a amostra com maior teor de ácido fítico, apresentando uma média de 10,1 mg g<sup>-1</sup> desse antinutriente. As farinhas de maracujá e banana verde, destacaram-se na concentração de cinzas, concordando com os resultados de concentração total de Ca e Mg que foram maiores nessas amostras. Em geral, as maiores concentrações totais de minerais (mg Kg<sup>-1</sup>) foram para Mg (587,1 - 1614,0), Ca (228,1 - 1085,8) e Fe (25,7 - 248,1), seguido de Mn (33,7 - 80,9), Zn (10,3 - 34,9) e Cu (1,7 - 5,2), para todas as farinhas analisadas. As maiores frações bioacessíveis gastrointestinais (%) foram obtidas para Mg (84,1 - 100,6), Mn (80,0 - 109,3), Cu (69,7 - 98,1) e Zn (56,4 - 91,7). A fração bioacessível para Ca e Fe foi menor no trato gastrointestinal, chegando a apresentar valores de bioacessibilidade inferiores a 20%. Essa baixa bioacessibilidade está relacionada a possível formação de complexos com agente quelantes, como o ácido fítico, que pode ser evidenciado, principalmente, nas farinhas de aveia que apresentaram o maior teor. As farinhas analisadas são, portanto, ótimas fontes de Mg e Cu, contribuindo com até mais de 30% da ingestão diária recomendada em 100g de alimento. Portanto, esse estudo revela a importância de avaliar a fração bioacessível, reforçando que o conhecimento apenas do conteúdo total de macro e micronutrientes não é suficiente para inferir se um alimento possui alto valor nutricional.

**Palavras-chave:** digestão gastrointestinal; banana verde; maracujá; aveia; UBM (BARGE).

FERREIRA, Milena do Prado. **Avaliação da bioaccessibilidade *in vitro* de macro e micromineirais em farinhas alimentícias.** 2020. 76 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

### Abstract

The interest in consuming functional foods has grown in recent years in view of the benefits provided to human health. However, its real nutritional value is linked to the effective absorption and metabolism by the body. *In vitro* gastrointestinal simulation allows estimating the bioaccessible fraction, the one that contributes to good physiological functioning. In the literature, more studies are reported that use *in vitro* tests to infer the real antioxidant capacity of some foods. However, the bioaccessibility of minerals is still poorly investigated. Passion fruit, oat and green banana flour has aroused the interest of the consumer market as they have an important nutritional aspect, but work has not yet been done on the bioaccessibility of macro and micro minerals in these samples. In this sense, the objective of this work is based on the quantification of the total concentration of macro (Mg and Ca) and micro minerals (Zn, Fe, Mn and Cu) in these flours, as well as in the bioaccessibility evaluation using a method of *in vitro* digestion standardized by BARGE (Bioaccessibility Research Group in Europe). This methodology was chosen because it was used in different matrices and had satisfactory estimates when compared to *in vivo* tests. The total content of the minerals was determined by flame atomic absorption spectrometry (F AAS), after microwave-assisted acid digestion, as well as the bioaccessible and residual after *in vitro* tests. The proximate composition and phytic acid content were also determined, which reduces bioaccessibility by complexing with di and trivalent metals. It was possible to observe that oatmeal can be classified as products with a high protein content, presenting values greater than 12 g 100g<sup>-1</sup>, and the sample also has a higher phytic acid content, presenting an average of 10.1 mg g<sup>-1</sup> of that antinutrient. The flours of passion fruit and green banana, stood out in the concentration of ash, agreeing with the results of total concentration of Ca and Mg that were higher in these samples. In general, the highest total mineral concentrations (mg Kg<sup>-1</sup>) were for Mg (587.1 - 1614.0), Ca (228.1 - 1085.8) and Fe (25.7 - 248.1), followed by Mn (33.7 - 80.9), Zn (10.3 - 34.9) and Cu (1.7 - 5.2), for all flours analyzed. The largest bioaccessible gastrointestinal fractions (%) were obtained for Mg (84.1 - 100.6), Mn (80.0 - 109.3), Cu (69.7 - 98.1) and Zn (56.4 - 91.7). The bioaccessible fraction for Ca and Fe was lower in the gastrointestinal tract, reaching bioaccessibility values below 20%. This low bioaccessibility is related to the possible formation of complexes with chelating agents, such as phytic acid, which can be evidenced, mainly, in oatmeal that presented the highest content. The flours analyzed are, therefore, great sources of Mg and Cu, contributing up to more than 30% of the recommended daily intake in 100g of food. Therefore, this study reveals the importance of assessing the bioaccessible fraction, reinforcing that knowledge of the total macro and micronutrient content alone is not enough to infer whether a food has high nutritional value.

**Key words:** gastrointestinal digestion; green banana; passion fruit; oat; UBM (BARGE).

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> –	Estrutura sugerida para complexo de fitato com componentes presentes em alimentos .....	21
<b>Figura 2</b> -	Curvas de distribuição das espécies em função do pH para o sistema contendo 0,1 mmol de ácido fítico 36 °C e $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ . .....	23
<b>Figura 3</b> –	Esquema representativo para a obtenção das frações bioacessível e biodisponível dos componentes ingeridos por meio de alimentos.....	26
<b>Figura 4</b> -	Diagrama esquemático do protocolo de extração gástrica e gastrointestinal da metodologia UBM.....	41
<b>Figura 5</b> -	Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de minerais (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas de banana verde na fase gástrica .....	54
<b>Figura 6</b> -	Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de minerais (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas de banana verde na fase gastrointestinal.....	54
<b>Figura 7</b> -	Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de minerais (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas da casca de maracujá na fase gástrica .....	56
<b>Figura 8</b> -	Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de minerais (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas da casca de maracujá na fase gastrointestinal .....	57
<b>Figura 9</b> -	Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de minerais (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas de aveia na fase gástrica .....	58
<b>Figura 10</b> -	Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de minerais (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas de aveia na fase gastrointestinal.....	59

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Teores de macro e microminerais de IDR <sup>1</sup> para adultos de 19 a 50 anos e UL <sup>2</sup> .....	14
<b>Tabela 2</b> - Principais fontes e funções dos minerais essenciais .....	15
<b>Tabela 3</b> - Constituintes dos quatro fluidos corporais simulados da metodologia UBM.....	38
<b>Tabela 4</b> - Programa de aquecimento de micro-ondas para tratamento das amostras .....	40
<b>Tabela 5</b> - Valores (média ± desvio padrão, n=3) encontrados na análise centesimal nas farinhas de banana verde (BV), casca de maracujá (MR) e aveia (AV).....	43
<b>Tabela 6</b> - Conteúdo de ácido fítico presente nas farinhas de aveia (AV), banana verde (BV) e casca de maracujá (MR) (média ± desvio padrão, n=3).....	45
<b>Tabela 7</b> - Resultados das concentrações (média ± desvio padrão, n=3) de Fe, Mn, Zn, Ca e Mg em material de referência certificado.....	46
<b>Tabela 8</b> - Teores totais (média ± desvio padrão, n=3) de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu em amostras de farinha de banana verde (BV), farinha da casca de maracujá (MR) e farinha de aveia (AV).....	47
<b>Tabela 9</b> - Concentrações de minerais (média ± desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nas farinhas de banana verde (BV), casca de maracujá (MR) e aveia (AV) após digestão gástrica.....	51
<b>Tabela 10</b> - Concentrações de minerais (média ± desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nas farinhas de banana verde (BV), casca de maracujá (MR) e aveia (AV) após digestão gastrointestinal .....	52
<b>Tabela 11</b> - Contribuição (%) do consumo das farinhas de banana verde (BV), casca de maracujá (MR) e aveia (AV) para o IDR dos elementos para uma porção de 100g de alimento, antes e após digestão <i>in vitro</i> .....	61

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Ácido fólico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Bpm	Batidas por minuto
AV	Farinha de aveia
BARGE	Grupo de Pesquisa em Bioacessibilidade da Europa ( <i>Bioaccessibility Research Group of Europe</i> )
BV	Farinha de banana verde
F AAS	Espectrometria de absorção atômica em chama ( <i>flame atomic absorption spectrometry</i> )
HDL	Lipoproteína de alta densidade ( <i>High density lipoprotein</i> )
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDR	Ingestão Diária Recomendada
LDL	Lipoproteína de baixa densidade ( <i>Low density lipoprotein</i> )
LQ	Limite de quantificação
MR	Farinha de maracujá azedo
PBET	Teste de Extração Fisiológica ( <i>Physiologically Extraction Test</i> )
Rpm	Rotação por minuto
SHIME	Simulador do Ecossistema Microbiano Intestinal Humano ( <i>Human Intestinal Microbial Ecosystem Simulator</i> )
UBM	Método Unificado de Bioacessibilidade ( <i>Unified Bioaccessibility Method</i> )
UL	Limite tolerável de ingestão ( <i>Tolerable Upper Intake Levels</i> )

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	13
2.1	NUTRIENTES ESSENCIAIS PARA O METABOLISMO .....	13
2.2	MINERAIS .....	13
2.3	ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	16
2.3.1	Farinha de banana verde.....	17
2.3.2	Farinha da casca de maracujá azedo .....	18
2.3.3	Farinha de aveia .....	19
2.4	FATORES ANTINUTRICIONAIS .....	20
2.5	BIOACESSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> .....	24
2.6	TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	32
<b>3</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	34
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	34
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	35
4.1	AMOSTRAS .....	35
4.2	INSTRUMENTAÇÃO .....	35
4.3	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	36
4.4	ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CENTESIMAL .....	38
4.5	DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE ÁCIDO FÍTICO .....	39
4.6	MINERALIZAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	39
4.7	SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL <i>IN VITRO</i> .....	40
4.8	ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	42
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	43
5.1	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	43
5.2	CONTEÚDO DE ÁCIDO FÍTICO.....	45
5.3	CONTEÚDO TOTAL DE MINERAIS .....	46
5.4	BIOACESSIBILIDADE DOS MINERAIS.....	50

5.5	CONTRIBUIÇÃO NUTRICIONAL DO CONSUMO DAS FARINHAS FUNCIONAIS .....	60
6	<b>CONCLUSÕES</b> .....	63
7	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	65

## 1. INTRODUÇÃO

Considerando que é cada vez maior o número de indivíduos que estão se preocupando com a saúde e o bem estar, os estudos sobre a avaliação da concentração de constituintes inorgânicos em alimentos é de grande relevância, devido, principalmente, ao crescente interesse da população em relação ao que se ingere (SOUZA et al., 2018).

Nesse contexto, a procura por alimentos funcionais aumentou, pois atendem essa demanda de consumidores, sendo um termo que ganhou maior ênfase nos últimos anos (MORAES, COLLA, 2006). Contudo, esse termo surgiu na década de 80 no Japão e refere-se a alimentos presentes na dieta normal que contribuem nas funções fisiológicas e, ainda, promovem benefícios à saúde, atrelado à redução do risco de doenças crônicas (ANVISA, 1999).

Dentre a variedade de alimentos funcionais disponíveis no mercado, fazem parte as farinhas derivadas de subprodutos de frutas, vegetais e cereais. Esse tipo de produto, além de possuir nutrientes que muitas vezes estão presentes em concentrações maiores que na parte comestível, contribuem diretamente na redução de resíduos gerados pela indústria alimentícia (FAO, 2016; AMORIM, 2014). Farinhas de banana verde, maracujá e aveia se fazem presentes na dieta diária de muitos indivíduos, contribuindo diretamente na ingestão de nutrientes essenciais como minerais, vitaminas, proteínas, fibras, lipídeos, além de auxiliar na prevenção de diabetes, melhorar taxas de colesterol, contribuir para o bom funcionamento do intestino, combater radicais livres, ajudar na imunidade, regular a pressão sanguínea, entre outros benefícios (ANDRADE et al., 2018; ANYASI, JIDEANI, MCHAU, 2018; COELHO et al., 2018; SMULDERS et al., 2018).

Contudo, algumas substâncias naturalmente presentes em plantas, vegetais, cereais e hortaliças, como: oxalatos, fitatos, taninos, fibras e ácidos graxos, podem influenciar na disponibilidade de minerais, proteínas e vitaminas reduzindo sua absorção quando esses são ingeridos. Na classe dos fitatos se destaca o ácido fítico, que possui habilidade de formar quelantes com íons polivalentes, com o  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  entre outros, formando complexos insolúveis resistentes à ação do trato intestinal (QU et al., 2018; RASANE et al., 2015; BENEVIDES et al., 2011).

Nesse sentido, quando um alimento é ingerido, juntamente com os nutrientes podem estar presentes substância antinutricionais e até mesmo contaminantes. Porém, isso não significa que todos os nutrientes ou contaminantes ingeridos estarão bioacessíveis e serão

absorvidos pelo organismo (RODRIGUES et al., 2018). Desse modo, a informação do conteúdo total de uma substância num alimento indica, de maneira bastante grosseira, seu valor nutricional. O conceito de bioacessibilidade retrata sobre a fração que é liberada a partir da matriz alimentar no trato gastrointestinal e fica disponível para absorção intestinal (SOUZA et al., 2018). Os testes de bioacessibilidade podem ser realizados *in vitro* ou *in vivo*. Os testes *in vivo* são realizados por meio de estudos de balanço de massa, concentração tecidual, cabelos e unhas. Porém, testes *in vitro* são geralmente utilizados, através de extrações que simulam as condições fisiológicas durante a digestão humana, podendo ser estáticos ou dinâmicos (SOUZA et al., 2018; TOKALIOGLU et al., 2014).

Os modelos estáticos levam em consideração, na maioria das vezes, as três áreas principais do sistema digestivo: boca, estômago e intestino, considerando os parâmetros de temperatura, velocidade de agitação, pH, tempo de digestão e a composição química e enzimática dos fluidos salivar, gástrico, duodenal e biliar. Alguns modelos consideram apenas o estômago e o intestino delgado (SOUZA et al., 2018; CARDOSO et al., 2015).

Os testes *in vitro* são utilizados para determinação de diferentes componentes em uma variedade de matrizes, como: vegetais (WANG et al., 2019; YIN et al., 2017; ALTUNDAG et al., 2015; MAURER et al., 2010), sementes (BERENGUEL, PESSÔA, ARRUDA, 2018; SOUZA et al., 2018; HERRERA-AGUDELO, MIRÓ, ARRUDA, 2017), peixes e frutos do mar (CHI et al., 2018; MAULVAULT et al., 2011), frutas e polpas (COSTA, MERCADANTE, 2018; PEREIRA et al., 2018; HERAS et al., 2017; SCHULZ et al., 2017; KHOUZAM et al., 2011), leite e derivados (SANCHÓN et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; FERREIRA-LAZARTE et al., 2017), entre outras. No entanto, não há informações sobre bioacessibilidade de elementos metálicos essenciais em alguns alimentos de elevado valor nutricional, tais como farinhas de maracujá, banana verde e aveia usualmente comercializadas em lojas de produtos naturais.

Diversos métodos de digestão *in vitro* são descritos na literatura, alguns exemplos de modelos gastrointestinais estáticos são: os testes PBET (Teste de Extração Fisiológica) (RUBY et al., 1996), solubilidade, dialisabilidade (LUTEN et al., 1996; MILLER et al., 1981), o modelo da rede INFOGEST (MINEKUS et al., 2014) e o método padronizado UBM (Método Unificado de Bioacessibilidade) (WRAGG et al., 2009; OOMEN et al., 2003). Dos métodos dinâmicos, o mais empregado é o modelo gastrointestinal TNO (TIM) (OOMEN et al., 2002; MINEKUS et al., 1995) e o SHIME (Simulador do Ecosistema Microbiano Intestinal Humano) (MOLLY et al., 1994).

O método UBM foi desenvolvido pelo grupo BARGE (Grupo de Pesquisa em Bioacessibilidade da Europa), com intuito de desenvolver um procedimento padronizado e validado de bioacessibilidade *in vitro*, para estudar bioacessibilidade humana. É capaz de fornecer dados reprodutíveis e robustos, sendo um protocolo detalhado de orientações e recomendações, contendo as justificativas para o emprego de cada parâmetro. Consiste na simulação dos processos químicos que ocorrem na boca, estômago e no intestino, usando soluções sintéticas. Esse método simula a composição dos sucos gastrointestinais o mais próximo do real sendo amplamente empregado por vários autores em diferentes amostras (WANG et al., 2019; ZHU et al., 2019 INTAWONGSE, KONGCHOUY, DEAN, 2018; SOUZA et al., 2018; ALTUNDAG et al., 2015). Na determinação de componentes em matrizes alimentares, proporciona uma ideia inicial do comportamento desses componentes ingeridos, de seu transporte, absorção e bioacessibilidade. Ainda, autores relatam sua confiabilidade quando comparado com modelo *in vivo* (LI et al., 2015).

Assim, pensando na relevância em conhecer o real valor nutricional de um alimento, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a bioacessibilidade de minerais em farinhas de maracujá, banana verde e aveia. Para esse propósito, o método UBM foi aplicado para avaliar a bioacessibilidade de Ca, Mg, Cu, Fe, Zn e Mn. As concentrações totais, bioacessíveis e residuais desses minerais foram quantificadas por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Juntamente, foi determinada a composição centesimal e o conteúdo de ácido fítico, buscando uma correlação com valores de bioacessibilidade.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 NUTRIENTES ESSENCIAIS PARA O METABOLISMO

Sabe-se que é necessária a ingestão de nutrientes essenciais para o bom funcionamento das funções fisiológicas e bioquímicas do organismo humano. Esses nutrientes estão divididos em macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídios) e micronutrientes (vitaminas e minerais). Sendo que, nutriente é qualquer substância proveniente de um alimento, que proporciona energia e/ou contribui para o crescimento, o desenvolvimento e a manutenção da saúde e da vida (MARTINS et al., 2017).

Os carboidratos são as principais fontes de energia às células. As proteínas fornecem aminoácidos essenciais e são importantes para o crescimento e reparação de tecidos. Os lipídeos ou gorduras, contribuem com ácidos graxos essenciais, além de manter a temperatura corporal e proteger os órgãos vitais (NORTON, et al., 2015). As vitaminas são fundamentais na manutenção do metabolismo evitando distúrbios no balanço metabólico e os minerais são responsáveis por funções específicas do corpo humano, como, por exemplo: o cálcio que auxilia na contração muscular e formação dos ossos, o cobre que compõe várias enzimas, o ferro que constitui a hemoglobina, dentre outros (GHARIBZAHEDI, JAFARI, 2017; PADOVANI et al., 2006).

### 2.2 MINERAIS

Os minerais regulam o metabolismo de várias enzimas, pressão osmótica, atividade muscular e neurológica, facilitam a transferência de compostos essenciais através de membranas e, em alguns casos, fazem parte dos elementos constituintes dos tecidos corporais (GHARIBZAHEDI, JAFARI, 2017). A deficiência de qualquer um dos minerais essenciais pode resultar em graves distúrbios metabólicos e comprometer a saúde do organismo. A maioria são considerados essenciais e são tradicionalmente divididos em macrominerais (macroelementos ou elementos de volume) e microminerais (microelementos ou elementos traço).

Dentre os macrominerais, pode-se citar o cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na), potássio (K) e magnésio (Mg), onde a Ingestão Diária Recomendada (IDR) para esses elementos é necessária em quantidades acima de 260 mg dia<sup>-1</sup>. Por sua vez, a ingestão dos microminerais tais como: ferro (Fe), selênio (Se), cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês (Mn), é necessária em

quantidades inferiores à 15 mg dia<sup>-1</sup>, como o caso do selênio (55 µg dia<sup>-1</sup>). Exemplos de “elementos ultra-traço” são: molibdênio (Mo), vanádio (V), níquel (Ni), lítio (Li), boro (B) e bromo (Br) (PADOVANI et al., 2006). Os valores de IDR citados acima são para adultos (homens/mulheres) saudáveis, podendo variar quando comparado para crianças, gestantes e lactantes (ANVISA, 2005).

Da mesma forma que existem regulamentações contendo valores recomendados, há também regulamentações para o limite máximo tolerável da ingestão desses nutrientes (Níveis de ingestão máxima toleráveis - *Tolerable Upper Intake Levels* - UL) (ANVISA, 2018). Na Tabela 1 estão apresentados valores recomendados e limites toleráveis para alguns minerais e na Tabela 2 é especificado fontes de alimentos de alguns minerais e suas funções no organismo humano.

**Tabela 1** - Teores de macro e microminerais de IDR<sup>1</sup> para adultos de 19 a 50 anos e UL<sup>2</sup>

Macrominerais			Microminerais		
Minerais	IDR (mg dia <sup>-1</sup> )	UL (mg dia <sup>-1</sup> )	Minerais	IDR (mg dia <sup>-1</sup> )	UL (mg dia <sup>-1</sup> )
Mg	260,0	350,0 <sup>a</sup>	Fe	14,0	45,0
			Zn	7,0	40,0
Ca	1000,0	2500,0	Cu	0,9	10,0
			Mn	2,3	11,0

Fonte: ANVISA, 2005; ANVISA, 2018

<sup>a</sup>A UL para o magnésio representa a ingestão na forma de suplemento apenas e não inclui a ingestão do nutriente a partir do alimento e da água.

<sup>1</sup>IDR (Ingestão Diária Recomendada). <sup>2</sup>UL (Níveis de ingestão máxima toleráveis)

Dessa maneira, uma dieta balanceada é relevante para se adquirir quantidades necessárias desses nutrientes que o ser humano requer diariamente. Nesse contexto, pode-se observar que as exigências dos consumidores em relação aos alimentos mudaram consideravelmente nos últimos anos. Cada vez mais, eles acreditam que os alimentos contribuem para a saúde fornecendo nutrientes necessários para o organismo, além de evitar doenças relacionadas à nutrição e melhorar o bem-estar, físico e mental (SOUZA, et al., 2018).

Essa mudança gerou no mercado alimentício uma nova postura das indústrias, levando a oferta de produtos mais saudáveis e nutritivos, conseqüentemente, os alimentos funcionais tornaram-se mais conhecidos e presentes na mesa desses consumidores.

**Tabela 2** - Principais fontes e funções dos minerais essenciais

<b>Minerais</b>	<b>Principais fontes</b>	<b>Principais funções</b>
<i>Macrominerais</i>		
Cálcio (Ca)	Verduras, leguminosas, leite e produtos lácteos, tofu fortificado e leite de soja fortificado, salmão, sardinha	Importante para ossos, dentes, sistema imunológico, coagulação sanguínea e regulação da pressão arterial
Magnésio (Mg)	Nozes, leguminosas, vegetais verdes, leite e produtos lácteos, frutos do mar, chocolate, água potável	Encontrado nos ossos, necessário para a formação de proteína, contração muscular, sistema imunológico e transmissão nervosa
<i>Microminerais</i>		
Cobre (Cu)	Feijão cozido, grão de bico, castanha de caju, gergelim, cereais integrais, abacates, órgãos de animais, frutos do mar, alimentos fermentados de soja	Componente em muitas enzimas, é indispensável na absorção do ferro e proteína, essencial para o bom funcionamento dos órgãos e processos metabólicos, ajuda no combate infecções
Ferro (Fe)	Caju, avelã, feijão, cereais integrais, farelo, folhas verdes escuras, frutos secos, fígado (frango), frutos do mar (ostras, mexilhões), carne, ovos, aves, tofu	Papel importante na respiração humana, auxiliando o transporte de oxigênio e dióxido de carbono no sangue, necessário para o metabolismo energético
Zinco (Zn)	Gérmen de trigo, espinafre, abóbora, castanhas, feijão, marisco, carne, peixe, aves, porco, cacau em pó	Importante para o funcionamento normal do cérebro e atividade adequada do sistema nervoso, vital para o crescimento adequado e normal da estrutura óssea humana, prevenção da osteoporose
Manganês (Mn)	Nozes, feijão, grãos integrais, chá preto, frutos do mar, peixe, pão.	Como parte da vitamina B12 é usado na anemia perniciosa (formação de glóbulos vermelhos), ajuda a resolver os casos de fadiga e problemas digestivos e neuromusculares

**Fonte:** Gharibzahedi e Jafari, 2017.

### 2.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Devido à busca por uma alimentação mais saudável, os alimentos funcionais ganharam destaque. Esse conceito foi inicialmente introduzido no Japão em meados dos anos 1980, em referência aos alimentos usados como parte de uma dieta normal que demonstram benefícios fisiológicos ou reduzem o risco de doenças crônicas (MORAES, COLLA, 2006). Esse termo é definido pela Portaria nº 398/1999, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), como sendo: “todos aqueles alimentos ou ingrediente que além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou benefícios à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica” (ANVISA, 1999).

Existem diversos alimentos funcionais, que vão desde produtos orgânicos, frutas e legumes *in natura*, até os mais variados alimentos industrializados, como bebidas, produtos lácteos, produtos de confeitaria, de panificação e cereais matinais. As farinhas de frutas, cereais e vegetais vem ganhando espaço no mercado e fazem parte desse segmento alimentar. Devido à versatilidade de seu uso, tornaram-se ingredientes interessantes de serem introduzidos como fonte de nutrientes à dieta (KUMAR, KATHURIA, KUMAR, 2017; SIRÓ et al., 2008).

A indústria de alimentos gera quantidades consideráveis de resíduos, ano após ano. Segundo a pesquisa realizada pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO - *Food and Agriculture Organization of the United Nations*), aproximadamente 1,3 bilhão de toneladas de alimentos são desperdiçados ou perdidos anualmente em todo o mundo, isso representa cerca de um terço de toda a produção para consumo humano. As maiores perdas vêm de frutas e legumes, eles respondem por até 50% da produção e ocorrem principalmente durante as etapas de processamento e pós-colheita (FAO, 2016).

A obtenção, a utilização na elaboração de novos produtos e o estudo nutricional de farinhas alternativas tem ganhado destaque no meio científico (UDOMKUN et al., 2019; RIBEIRO et al., 2018; RYBICKA, GLISZCZYNSKA-SWIGŁO, 2017; MARQUES et al., 2016). Elas proporcionam de forma geral a inserção de nutrientes na alimentação diária, além de ser uma forma de introduzir alimentos que muitas vezes não são ingeridos, por falta de preferência, na forma *in natura*, exemplos disso são as farinhas de berinjela, feijão branco, aveia entre outras. A produção de farinhas de legumes, frutas e cereais contribuem significativamente para a redução de resíduos

e desperdícios, como: as farinhas de semente de abóbora (SIMWAKA et al., 2017), casca de uva (ABREU et al., 2019), casca de abacaxi (NERES, SOUZA, BEZERRA, 2015), talo de beterraba (SOUZA, MATTANNA, 2019), etc. Esse tipo de produto tem como principal vantagem ser de fácil aquisição, podendo ser elaborado pelo próprio consumidor com a utilização de equipamentos de fácil acesso e manuseio (AMORIM, 2014).

As farinhas de maracujá, banana verde e aveia se adequam na categoria de farinhas funcionais. Contribuem na prevenção da diabetes, melhoram as taxas de colesterol e de triglicérides, contribuem para o bom funcionamento e atuam no combate de infecções gastrointestinais, além de conterem quantidade relevantes de nutrientes (ANYASI, JIDEANI, MCHAU, 2018; COELHO et al., 2018; SMULDERS et al., 2018).

### 2.3.1 Farinha de banana verde

A banana é a fruta mais consumida mundialmente, sendo o Brasil o terceiro maior produtor desse alimento, ficando atrás apenas da China e da Índia. Em novembro/2018 o Brasil produziu 6.810.442 milhões de tonelada, em uma área colhida de aproximadamente 453.263 mil hectares e um rendimento médio de 15,03 t/ha (IBGE, 2018).

Nutritiva, acessível à maioria da população e disponível o ano todo, a banana é uma fonte barata de energia, minerais e vitaminas. Apresenta em sua composição nutricional minerais como: fósforo, cálcio, ferro, manganês, cobre, alumínio e o zinco, sendo considerada uma boa fonte de magnésio e potássio. Contém vitaminas B (tiamina – B<sub>1</sub>, riboflavina – B<sub>2</sub>, niacina – B<sub>3</sub>, e piridoxina – B<sub>6</sub>) e C (ácido ascórbico), sendo o amido resistente (AR) o principal componente da banana verde, representando mais de 60% do peso seco do fruto. O AR atua como fibra alimentar, melhorando assim o trânsito intestinal e contribuindo para formação da microbiota local. A banana verde possui baixo teor de açúcar, é rica em compostos fenólicos (principalmente taninos), antioxidantes e flavonóides (que atuam na proteção da mucosa gástrica). Ajuda a controlar a diabetes por ter baixo índice glicêmico, diminui o colesterol e os triglicérides, porque favorece que estas moléculas se unam ao bolo fecal, sendo eliminadas do corpo (ANDRADE et al., 2018; ANYASI, JIDEANI, MCHAU, 2018; QAMAR, SHAIKH, 2018; SILVA et al., 2015).

A farinha de banana verde é obtida pela secagem natural ou artificial, através de bananas verdes ou semi-verdes das variedades: Prata, Terra, Cavendish, Nanica ou Nanicão. Pode ser

elaborada através da secagem e moagem só da casca, ou só da polpa ou utilizando ambas as partes (SILVA et al., 2015).

Existem vários estudos que reportam sobre a composição química, conteúdo de minerais e vitaminas, compostos bioativos, amido resistente e capacidade antioxidante da farinha de banana verde (CAMPUZANO, ROSELL, CORNEJO, 2018; NERIS et al., 2018; ANYASI, JIDEANI, MCHAU, 2018; BRITO et al., 2017; BI et al., 2017; SAVLAK, TÜRKER, YESILKANAT, 2016; GONÇALVES et al., 2016; SANTOS et al., 2010).

Também há relatos de diversas aplicações da farinha de banana verde no desenvolvimento de novos produtos na literatura com objetivo de agregar valor nutricional ao produto final. Alguns exemplos são: elaboração de pão (ESHAK, 2016), pão de mel (FREITAS et al., 2017), barra de cereais (CARVALHO, CONTI-SILVA, 2018), macarrão (ZANDONADI et al., 2012; VERNAZA, GULARTE, CHANG, 2011), biscoito tipo *cookie* (AGAMA-ACEVEDO et al., 2012), *snacks* (WANG, ZHANG, MUJUMDAR, 2012), pré-mistura para bolo (BORGES et al., 2010), sorvete (YANGILAR, 2015), entre outros.

### 2.3.2 Farinha da casca de maracujá azedo

O Brasil aparece como o principal produtor mundial de maracujá. Em 2017 o país produziu 554.598 toneladas (EMBRAPA, 2018). É uma fruta tropical que é consumida pela população de diferentes maneiras. É rico em fibra do tipo solúvel, vitamina B3 (niacina), pectina, ferro, cálcio e fósforo. A vitamina B3, ajuda na prevenção de problemas gastrointestinais. Os minerais atuam na prevenção de anemia, na formação celular e contribuem para o crescimento e fortalecimento dos ossos. É responsável por diminuir os níveis do colesterol, auxiliar na digestão, prevenir o diabetes e ajudar no controle do ganho de peso corporal (COELHO et al., 2018; COELHO et al., 2017; SOUZA et al., 2008).

Uma das maneiras de consumir o maracujá é na forma de farinha, que pode ser obtida da mesma forma que a farinha de banana verde, atuando como fonte enriquecedora de nutrientes (ZANATTA et al., 2010). Inúmeras aplicações e estudos do conteúdo nutricional foram relatados na literatura, assim como os benefícios proporcionados à saúde. Por exemplo, alguns trabalhos afirmam o grande potencial nutricional presente na polpa, casca e semente de maracujá de diferentes espécies através das análises de composição centesimal, pectina, compostos bioativos,

minerais e capacidade antioxidante (VUOLO et al., 2019; REIS et al., 2018; COELHO et al., 2018; SOUZA et al., 2018; NOVAES et al., 2017). Redução do estresse oxidativo e de citocinas inflamatórias foi observado em estudo realizado por Vuolo e colaboradores (2019) que suplementou com farinha da casca de maracujá a dieta de ratos obesos, revertendo a peroxidação lipídica e a adiposidade. Foram observados propriedades anti-inflamatórias intestinais e aumento da barreira protetora intestinal no estudo realizado por Cazarin e colaboradores (2016), que também utilizaram a farinha obtida da casca. Estudo realizado por Marques e colaboradores (2016) comprovou a eficácia da ingestão de farinha da casca de maracujá sobre a redução do colesterol total e dos triacilglicerídeos após 30 dias, onde as concentrações de LDL diminuíram e HDL aumentaram.

### 2.3.3 Farinha de aveia

A aveia caracteriza-se como um cereal de clima frio e úmido, originária da Ásia e do Mediterrâneo. No Brasil a região Sul produz praticamente toda aveia colhida no país (SANDRIN, 2013). Segundo estimativa do IBGE, a produção até novembro de 2018 foi de aproximadamente 928.000 mil toneladas, mostrando um acréscimo em relação a outubro de 2017, onde produziu aproximadamente 877.230 mil toneladas (IBGE, 2019).

A aveia é fonte de fibra solúvel  $\beta$ -glucana (LEE, KANG, 2018; NIU et al., 2017), possui elevados teores de proteínas e de ácido oleico e linoleico (HAGUER et al., 2012), é rica em vitaminas B, E, minerais (K, Mg, Ca, etc.) (YAVER, BILGIÇLI, 2019; RYBICKA, GLISZCZYNSKA-SWIGŁO, 2017) e possui propriedades antioxidantes (LEE, KANG, 2018; DEĞIRMENCIOĞLU et al., 2016). Contribui na redução do colesterol, ajuda no controle da diabetes e reduz os riscos de doenças cardíacas através de efeitos positivos sobre o nível de glicose no sangue, auxilia no controle do peso corporal e da pressão arterial. Também, auxilia para o bom funcionamento intestinal (SMULDERS et al., 2018; DEĞIRMENCIOĞLU et al., 2016; BAN et al., 2015).

Shebini e colaboradores (2014) formularam *snacks* substituindo 25% a 50% de farinha de trigo por farinha de aveia. Investigaram alteração na composição centesimal e paralelamente fizeram um estudo com 74 mulheres obesas as quais foram submetidas a testes de glicemia, colesterol total, colesterol HDL e LDL, triglicerídeos e monitoraram pressão arterial no período de

4 semanas. Observaram nos *snacks* elaborados com maior concentração de farinha de aveia um aumento de proteínas (15%), cinzas (190%), lipídeos (36%) e fibras (239%). Nos parâmetros bioquímicos foi observado efeito benéfico à saúde, sendo os parâmetros lipídicos séricos os que resultaram maior redução, 10% para triglicerídeos, ~5% para colesterol total e LDL, e aumento no HDL em 9%.

Aumento de proteínas, fibras, lipídeos e cinzas também foi observado por Chauhan e colaboradores (2018) na elaboração de pães e macarrão com adição de diferentes concentrações de farinha de aveia (10% a 25%). Lee e Kang (2018) relataram não apenas aumento de proteínas, cinzas e fibras em biscoitos tipo *cookies* com 20% e 40% de farinha de aveia, mas também aumentos expressivos de fenólicos totais e atividade antioxidante.

Dessa maneira, as farinhas mencionadas podem conter quantidades significativas de nutrientes e contribuir efetivamente na saúde o que motiva o estudo mais aprofundado delas. Porém, juntamente com os nutrientes, pode conter algumas substâncias que atuam como inibidores da absorção dos mesmos, tornando-se assim relevante o conhecimento dessas substâncias também.

## 2.4 FATORES ANTINUTRICIONAIS

Antinutrientes podem ser gerados naturalmente em plantas por metabolismo das espécies ou durante o processamento de alimentos. Os principais antinutrientes encontrados em vegetais são: o ácido fítico, taninos, oxalato, saponinas, fenólicos, lectinas e alcaloides, dos quais, o ácido fítico tem papel de destaque. O ácido fítico (AF) é responsável por cerca de 0,5% a 5% ( $m\ m^{-1}$ ) do peso de muitos cereais e leguminosas. No entanto, alguns desses antinutrientes podem exercer efeitos benéficos à saúde, quando em baixas concentrações ou ingeridos em horários distantes das refeições principais (GEMEDE, RATTA, 2014).

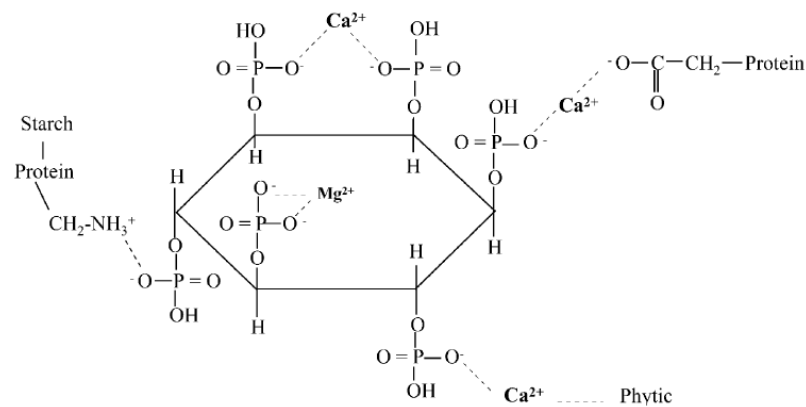
Esses componentes podem interferir na digestibilidade, absorção ou utilização dos nutrientes, e se ingerido em altas concentrações podem acarretar danos à saúde, como diminuir sensivelmente a disponibilidade biológica dos aminoácidos essenciais e de minerais. Além disso, podem causar irritações e lesões da mucosa gastrointestinal, interferindo assim, na seletividade e eficiência dos processos biológicos (BENEVIDES et al., 2011).

O AF promove benefícios à saúde atuando como antioxidante. Porém, o efeito mais significativo do fitato na nutrição humana é o seu potencial de reduzir a absorção de minerais,

proteínas e vitaminas por possuir efeito quelante. Além disso, ele também inibe a ação de algumas proteínas importantes responsáveis pela digestão (em pH baixo) como:  $\alpha$ -amilase, pepsina e tripsina. Isto é particularmente um problema em países de baixa renda, onde a dieta é baseada em alimentos básicos (cereais e leguminosas) (RASANE et al., 2015; KUMAR et al., 2010).

Na estrutura química do AF há seis grupos fosfatos aniônicos, nos quais há átomos de oxigênio com elétrons livres, o que facilita a complexação com cátions ( $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) e proteínas formando complexos insolúveis, como é possível observar na Figura 1. Esta complexação acarreta na diminuição da disponibilidade desses minerais no organismo (QU et al., 2018; CHERYAN, RACKIS, 1980).

**Figura 1** – Estrutura sugerida para complexo de fitato com componentes presentes em alimentos



Fonte: Dendougui e Schwedt, 2004

Esse antinutriente é encontrado na forma de mio-inositol-1,2,3,4,5,6-hexadiidrogênio-fosfato, também chamado de ácido hexafosfórico mio-inositol. Barre e colaboradores (1954) relatam que seis grupos funcionais estão fortemente dissociados com um  $pK_a$  de cerca de 1,8, dois são funções ácidas fracas com um  $pK_a$  de 6,3 e quatro estão tão fracamente dissociados ( $pK_a$  9,7) que eles não podem ser determinados pelos métodos usuais de titulação. Costello e colaboradores (1976) obtiveram resultados similares, seis na faixa de ácido forte ( $pK_a$  1,5), um na faixa de ácidos fracos ( $pK_a$  5,7), outros dois com  $pK_a$  6,8 – 7,6 e três ácidos muito fracos ( $pK_a > 10,0$ ). Nolan e Duffin (1987) reforçam essas informações mencionando que sua molécula possui seis prótons fortemente dissociados com  $pK_a$  entre 1,1 – 2,1, outros três fracamente ácidos com  $pK_a$  entre 5,7 – 7,6 e os três restantes estão na faixa de ácidos muito fracos,  $pK_a$  entre

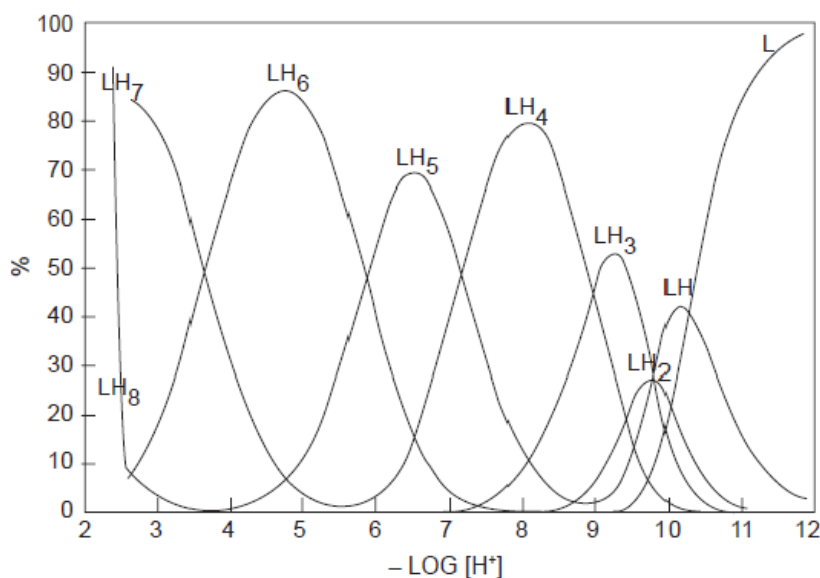
10,4 e 12,0. Esses resultados indicam o enorme potencial quelante da estrutura, mostrando que em todos os valores de pH o AF encontra-se carregado negativamente. Dessa forma ele pode formar complexos tanto em pH mais baixos quanto em meio alcalino.

Diante disso, o pH é um fator importante na solubilidade dos fitatos, sendo geralmente mais solúvel em pH baixo que em pH alto. Assim, sob as condições ácidas da digestão gástrica os complexos entre o AF e os minerais são geralmente mais solúveis. Dado que a precipitação ocorre em pH próximo de 7,0 o aumento do pH durante a passagem do estômago para o intestino delgado ocasiona a redução da absorção de certos minerais (SCHLEMMER et al., 2009). O AF ligado a  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  tendem a ser solúveis em pH menor que 4–5, enquanto sais de Mg são solúveis em valores de pH até 7,5 (NOLAN & DUFFIN, 1987).

O AF pode ser parcialmente desfosforilado formando pentafofato ( $\text{IP}_5$ ), tetrafofato ( $\text{IP}_4$ ), trifosfato ( $\text{IP}_3$ ) e, possivelmente, inositol difosfato ( $\text{IP}_2$ ) e monofosfato ( $\text{IP}_1$ ), por ação de fitases endógenas. O  $\text{IP}_5$  e  $\text{IP}_6$  apresentam o maior efeito negativo na biodisponibilidade de minerais. Os demais compostos formados têm baixa capacidade de ligar-se a minerais ou os complexos formados são mais solúveis (GARCÍA-ESTEPA, GUERRA-HERNÁNDEZ, GARCÍA-VILLANOVA, 1999).

O complexo formado predominantemente nos pH fisiológico humano (2,5 - 7,5) é o hexaprotonado ( $\text{LH}_6$ ), podendo ainda haver formação de penta ( $\text{LH}_5$ ) e heptaprotonados ( $\text{LH}_7$ ) (Figura 2).

**Figura 2** - Curvas de distribuição das espécies em função do pH para o sistema contendo 0,1 mmol de ácido fítico 36 °C e  $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ .



Fonte: De Carli et al., 2006

Os métodos analíticos existentes para determinação de AF, baseiam-se geralmente no alto poder de quelação com íon férrico, formando um complexo insolúvel em meio ácido. Contudo, são relatados na literatura vários métodos para sua determinação, como a espectroscopia UV/VIS (ÖZKAYA et al., 2018; EAGLING et al., 2014; DAHIYA et al., 2014; HARLAND, OBERLEAS, 1986), ressonância magnética nuclear (KEMME et al., 1999), fluorescência (CHEN et al., 2007), titulação de complexação e precipitação (BURGOS-LUJÁN, TONG, 2015; KONIETZNY, GREINER, 2003; FEBLES et al., 2001; GARCÍA-ESTEPA, GUERRA-HERNÁNDEZ, GARCÍA-VILLANOVA, 1999), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (DUONG et al., 2017; NAPPI et al., 2006; LESTIENNE et al., 2005), cromatografia gasosa (PARK et al., 2006; MARCH, SIMONET, GRASES, 2001), eletroforese capilar (DENDOUGUI, SCHWEDT, 2004; BUSCHER et al., 1994) e ainda por biossensor amperométrico (MAK et al., 2004).

Porém, dentre os métodos citados a espectroscopia UV/VIS e o HPLC são as técnicas mais empregadas. No entanto, o equipamento de HPLC possui alto custo de aquisição e o procedimento é demorado quando comparado com o método colorimétrico que é mais simples e menos dispendioso para o ensaio de um grande número de amostras. É possível o uso combinado das duas técnicas para melhores resultados. Contudo, a titulometria é uma técnica utilizada a muitos anos, sendo bastante conhecida e acessível a qualquer laboratório. O método titulométrico baseia-se em uma extração inicial ácida, seguido de um excesso de  $\text{Fe}^{3+}$  com intuito de precipitar o fitato ( $\text{Fe}$ -

fitato). A determinação pode ser feita de forma direta pela determinação de fosfato, inositol ou ferro precipitado ou indiretamente medindo o excesso de ferro no sobrenadante (KONIETZMY, GREINER, 2003). No método indireto (titulação de complexação) é adicionado um ligante para formar um complexo intermediário do excesso de  $\text{Fe}^{3+}$  (ferro-ligante). O ligante utilizado pode ser: tiron, tiocianato de amônio, salicilato de sódio, ácido salicílico ou ácido sulfossalicílico, o último é o mais empregado. Essa solução é então titulada com EDTA formando outro complexo (ferro-EDTA) mudando a cor da solução (GARCÍA-VILLANOVA, GARCÍA-VILLANOVA, LOPES, 1982).

Mesmo assim, diante o que foi exposto, o conhecimento do conteúdo nutricional total e de substâncias que podem atuar como inibidoras de nutrientes é insuficiente para dizer o verdadeiro valor nutricional de um alimento, onde, não necessariamente estarão na forma disponível para absorção após serem ingeridas. Nesse sentido, existem os testes *in vitro* para simulação do sistema gastrointestinal, os quais permitem estimar a fração bioacessível dos nutrientes.

## 2.5 BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO*

Como visto, quando um alimento é ingerido, além dos nutrientes que ele fornece ao organismo, podem estar presentes componentes antinutricionais e até mesmo contaminantes. Contudo, isso não significa que todos os nutrientes/contaminantes ingeridos estarão bioacessíveis e serão absorvidos pelo organismo. Assim, a quantidade total encontrada de um nutriente ou contaminante presente em um alimento pode ser diferente tanto da quantidade disponível para a absorção após a digestão (bioacessibilidade), quanto da quantidade de substância que atravessou a parede celular e está disponível para ser utilizada pelas células (biodisponibilidade) (RODRIGUES et al., 2018; INTAWONGSE, KONGCHOUY, DEAN, 2018; CARDOSO et al., 2015; TOKALIOGLU et al., 2014).

A disponibilidade dos micronutrientes pode ser influenciada pela forma química em que estes estão presente na superfície do intestino, capacidade de solubilização das espécies dos elementos, possibilidade de ionização dos compostos solúveis, presença de outras substâncias que são ingeridas concomitantemente e que podem competir com o micronutriente ou auxiliar no processo de absorção intestinal (proteínas e vitaminas), concentração dos constituintes nos

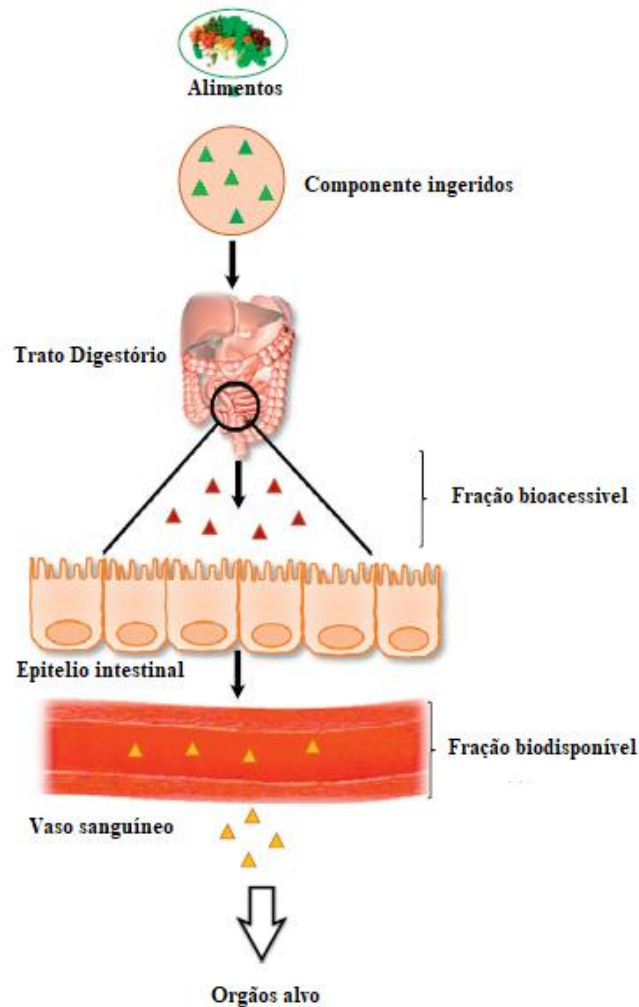
alimentos, estado fisiológico do indivíduo, assim como, fitatos e outros agentes quelantes que se ligam ao nutriente e o torna indisponível para absorção (HUANG, 2007).

A biodisponibilidade está relacionada à quantidade de um nutriente em um alimento que pode ser absorvido ou armazenado e utilizado nas funções fisiológicas, estando incluídas nesse processo a absorção, transporte e estocagem. Somente certas quantidades de todos os nutrientes de um alimento serão usadas efetivamente pelo corpo. A biodisponibilidade dos minerais varia de menos de 1% a mais de 90% e é um fator chave para a eficácia alimentar (NOSRATPOUR, JAFARI, 2019).

Uma maneira de quantificar a biodisponibilidade é através de testes *in vivo* e *in vitro*. Os testes *in vivo* são realizados em seres humanos e animais, são estudos dispendiosos, demorados e complexos de realizar. A determinação da quantidade de nutrientes absorvidos é realizada através de balanço de massa, pela concentração tecidual e pela técnica de lavagem integral (ALEGRIA-TORÁN, BARBERA-SÁEZ, CILLA-TATAY, 2015). Por sua vez nos testes *in vitro*, mede-se a biodisponibilidade fazendo uso geralmente de células Caco-2, onde o quimo obtido (fração bioacessível) é colocado em contato com essas células para o estudo da absorção dos nutrientes. Essas células são extraídas da mucosa do intestino delgado humano e representam quase toda a absorção dos nutrientes da digestão gastrointestinal, pois 90% da absorção dos nutrientes ocorre na região do intestino delgado (RANA et al., 2019; GARCÍA-NEBOTI, BARBERÁ, ALEGRÍA, 2013; MAURER et al., 2010).

A bioacessibilidade refere-se à quantidade de um determinado nutriente presente em um alimento (para cada nutriente tem-se uma bioacessibilidade específica) que é liberado no trato gastrointestinal durante a digestão (fração bioacessível), tornando-se disponível para a absorção intestinal, chegando até a corrente sanguínea (SOUZA et al., 2018). A fração bioacessível é a quantidade máxima de um nutriente ou contaminante que pode ser absorvido através do epitélio intestinal. Cabe salientar que o conteúdo total de um nutriente presente em um alimento, geralmente é liberado parcialmente durante a digestão, assim como, a quantidade absorvida pelo organismo normalmente é menor que a quantidade presente na fração bioacessível (CARDOSO et al., 2015). Na Figura 3, são ilustradas as frações bioacessíveis e biodisponíveis dos componentes quando um alimento é ingerido.

**Figura 3** – Esquema representativo para a obtenção das frações bioacessível e biodisponível dos componentes ingeridos por meio de alimentos



Fonte: Guerra et al., 2012

Os testes de bioacessibilidade são geralmente realizados *in vitro*, porém testes *in vivo* também são realizados, por estudos de balanço de massa, concentração tecidual, cabelos e unhas. Os testes *in vitro*, são extrações que simulam as condições fisiológicas durante a digestão humana (SOUZA et al., 2018; TOKALIOGLU et al., 2014).

Os testes *in vitro* têm sido amplamente utilizados na determinação da bioacessibilidade de macronutrientes como carboidratos (BELLMANN et al., 2018), proteínas (GALÁN, DRAGO, 2014) e lipídeos (GRASSBY et al., 2017). Assim como, na determinação de micronutrientes, como sais minerais, vitaminas e oligoelementos (TAN et al., 2019; BRYSEWSKA et al., 2019; SOUZA et al., 2018; INTAWONGSE, KONGCHOUY, DEAN, 2018; BERENGUEL, PESSÔA,

ARRUDA, 2018; CARBAÑERO, MADRID, CÁMARA, 2004), compostos secundários de plantas, incluindo carotenoides (COSTA, MERCADANTE, 2018; RODRIGUES, MARIUTTI, MERCADANTE, 2016) e polifenóis (PEŠIĆ et al., 2019; HERAS et al., 2017; STANISAVLJEVIĆ et al., 2015), bem como para estudar contaminantes em solos (RODRIGUES et al., 2018; FOULKES, et al., 2016; WRAGG et al., 2011). Esta preferência está relacionada ao menor custo de análises por não envolver questões éticas, além da possibilidade de controle das condições experimentais, podendo haver resultados repetitivos, reproduzíveis, com menor tempo e incerteza. A maior desvantagem é que os valores obtidos são uma estimativa, sabendo que as condições reais do organismo não podem ser totalmente reproduzidas e o metabolismo hepático não é considerado (CARDOSO et al., 2015).

Durante as últimas décadas, vários métodos de digestão *in vitro* para determinação de bioacessibilidade foram desenvolvidos. São divididos em métodos estáticos e dinâmicos, sendo o primeiro mais utilizado devido ao seu custo/benefício. Os modelos dinâmicos são relativamente complexos, caros de configurar e manter, e permite testar apenas uma amostra de cada vez, tornando-se assim um método que requer muito tempo, sendo de difícil acesso para a maioria dos pesquisadores. Os modelos estáticos simulam as condições fisiológicas do trato gastrointestinal, levando em consideração, na maioria das vezes, as três áreas principais do sistema digestivo: boca, estômago e intestino, considerando os parâmetros de temperatura, velocidade de agitação, pH, tempo de digestão e a composição química e enzimática dos fluidos salivar, gástrico, duodenal e biliar. (SOUZA et al., 2018; CARDOSO et al., 2015).

Dentre os modelos gastrointestinais estáticos estão presentes:

O PBET (Teste de Extração Fisiológica) é o pioneiro dentre os métodos de digestão gastrointestinal *in vitro*. É constituído por duas etapas, a primeira é a fase gástrica composta por uma solução de pepsina, ácido maleico, ácido cítrico, ácido acético e ácido láctico em pH 1,3 (duração 1 h). A segunda etapa (fase intestinal) é composta por uma solução de sais biliares, amilase e pancreatina em pH 7,0 (duração 3 h). A amostra é incubada a uma temperatura constante de 37 °C (DANG et al., 2018; LLORENTE-MIRANDES, et al., 2016; RUBY et al., 1996). Contudo, é um método simplista, sendo que os fluidos não levam em consideração os sais presentes no sistema digestório, os quais promovem o equilíbrio iônico e promove o tamponamento de cada fase.

O método de solubilidade é baseado na simulação da digestão gastrointestinal (fase gástrica: HCl e pepsina a pH 2,0, sob agitação por 2 h; fase intestinal: bile, pancreatina NaHCO<sub>3</sub>, pH 7,5, duração 2 h, temperatura nos processos: 37 °C). No final do processo o produto obtido da fase intestinal é centrifugado, obtendo-se um sobrenadante e um precipitado, onde na fração solúvel é verificado o teor de mineral bioacessível. No método de dialisabilidade a simulação gastrointestinal é realizada como no método de solubilidade, a diferença é que após a fase gástrica é adicionada uma membrana semipermeável que representa a parede intestinal. O método mensura a fração de minerais solúveis de baixo peso molecular, dentro da membrana. Então, entende-se que os compostos dialisados estarão disponíveis para absorção (HERBELLO-HERMELO, et al., 2018; SILVA et al., 2017; GALÁN e DRAGO, 2014; ETCHEVERRY, GRUSAK e FLEIGE, 2012; MILLER et al., 1981).

O protocolo de digestão *in vitro* da rede INFOGEST descreve as fases oral, gástrica e intestinal, sendo que, pH específico, concentrações de eletrólitos e enzimas caracterizam cada fase. Esse protocolo foi desenvolvido para análise de alimentos considerando as condições do sistema digestório alimentado. Porém, esse método trabalha com grandes quantidades de enzimas, agregando um alto custo ao modelo. Na fase oral está presente a enzima  $\alpha$ -amilase e o fluido salivar simulado, constituído de: KCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, MgCl<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, HCl e CaCl<sub>2</sub> a pH 7,0 (duração 2 min). Na fase gástrica está presente a enzima pepsina e o fluido gástrico simulado, constituído de: KCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, MgCl<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>, NaCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, HCl e CaCl<sub>2</sub> a pH 3,0 (duração 2 h). Por fim, a fase intestinal tem-se presente a pancreatina, a bile e o fluido intestinal simulado, constituído de: KCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, MgCl<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>, NaCl, HCl e CaCl<sub>2</sub> a pH 7,0 (duração 2 h) (SILVA, FARIAS, CADORE, 2018; HERAS et al., 2017; ASSUNÇÃO et al., 2016; MINEKUS et al., 2014).

O método UBM foi desenvolvido pelo grupo BARGE, uma rede que reúne institutos internacionais e grupos de pesquisa para estudar bioacessibilidade humana de contaminantes prioritários em solos como o arsénio, chumbo e cádmio através do trato gastrointestinal. Entretanto, atualmente é empregado para diversos tipos de amostras. Este método foi modificado a partir da metodologia RIVM (Instituto Nacional Holandês de Saúde Pública e o Meio Ambiente) e inclui uma fase inicial de saliva, compartimento do estômago e intestino simulado, em condições de jejum (OOMEN et al., 2003). A primeira fase (boca) a saliva simulada possui quantidades de KCl, KSCN, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaCl, NaOH, uréia, mucina, ácido úrico e  $\alpha$ -amilase em pH 6,5 (duração 10 s). Na

segunda fase (estômago) o suco gástrico é constituído de KCl, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaCl, NH<sub>4</sub>Cl, CaCl<sub>2</sub>, HCl, glicose, ácido glucorônico, uréia, glucosamina, albumina, pepsina e mucina em pH 1,2 (duração 1 h). A última etapa (intestino delgado) consiste em dois fluidos, fluido 1 chamado de duodenal constituído por KCl, NaCl, HCO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>, albumina, pancreatina, lipase e uréia, e o fluido 2 chamado biliar constituído por KCl, NaCl, HCl, NaHCO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>, albumina, bile e uréia, tendo um pH final 6,3 (duração 4 h) (ZHU et al., 2019; INTAWONGSE, KONGCHOUY, DEAN, 2018; SOUZA et al., 2018; HERRERA-AGUDELO, MIRÓ, ARRUDA, 2017; STANISAVLJEVIĆ et al., 2015; WRAGG et al., 2011).

Dos métodos dinâmicos, os mais empregados são:

O modelo comercial gastrointestinal (TIM) que foi desenvolvido pela Organização dos Países Baixos (TNO), sendo sofisticado e complexo. Consegue simular os movimentos peristálticos, o esvaziamento do estômago gradativo, a variação do pH gástrico e intestinal, e a secreção de suco digestivo durante o processo. As câmaras do modelo são controladas computacionalmente. O processo inicia-se com pH 5,0 com a adição de saliva (eletrólitos e  $\alpha$ -amilase), após 5 minutos é misturado o conteúdo gástrico (pepsina, lipase e ácido gástrico – HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>) é transferido para o compartimento do estômago. Inicialmente com pH 5,0 ocorre um decaimento controlado para pH 3,5, 2,5 e 2, em um período de 30, 60 e 90 minutos, respectivamente. Em seguida é transferido gradualmente para o compartimento intestinal (suco pancreático com bicarbonato, protease, lipase, amilase e bile) que compõem de duodeno (pH 6,5), jejuno (pH 6,8) e o íleo (pH 7,2). A duração total da digestão leva 360 minutos. O transporte do quimo é dado por movimento peristálticos e membranas de diálise são utilizadas para remover contaminantes bioacessíveis, pequenos complexos, metabólitos digestivos e água do quimo por difusão passiva. A fração medida no dialisado reflete a fração bioacessível disponível para absorção. A desvantagem desse método é o tempo de análise, tendo em vista que é possível fazer uma única amostra por vez (BELLMANN et al., 2018; ALMINGER et al., 2014; ETCHEVERRY, GRUSAK, FLEIGE, 2012; OOMEN et al., 2002).

O SHIME (Simulador do Ecosistema Microbiano Intestinal Humano) é um simulador gastrointestinal humano que reproduz o modelo *in vitro* do ecossistema microbiano gastrointestinal humano. Consiste de cinco compartimentos que simulam a fase gástrica, intestino delgado, cólon ascendente, cólon transversal e cólon descendente. Os compartimentos do estômago e intestino delgado são compostos por fontes complexas de hidratos de carbono, proteínas, como adição de

mucinas e, uma mistura de minerais e de vitaminas (VAN DE WIELE, et al., 2014; MOLLY et al.1994). O pH na fase gástrica é fixado em 2,0, o intestino delgado, tipicamente, opera a ligeiramente ácido a pH neutro, o pH dos compartimentos do cólon é controlado entre 5,6 - 5,9 na fase ascendente, 6,1 - 6,4 na transversal e 6,6 - 6,9 no cólon descendente. A microbiota fecal é escolhida como inóculo para os compartimentos do cólon do reator SHIME. Esse modelo é geralmente utilizado para estudo de capacidade de fermentação no cólon, sobrevivência de probióticos, agentes patogênicos no trato digestivo superior e novos medicamentos. É um método que requer muito tempo de análise, levando até semanas (VAN DE WIELE, et al., 2015).

Conforme mencionado, a simulação gastrointestinal pode ser estática, onde as concentrações e volumes são pré-fixados e os processos físicos não são reproduzidos como: cisalhamento, hidratação, mudanças nas condições ao longo do tempo e peristaltismo, ou dinâmica, onde ao longo da digestão ocorrem mudanças na concentração e/ou volumes, redução do tamanho de partículas e difusão e partição de nutrientes são considerados (ALMINGER et al., 2014; FERNÁNDEZ-GARCÍA, CARVAJAL-LÉRIDA, PÉREZ-GÁLVEZ, 2009).

No presente trabalho foi empregado o método UBM, uma metodologia amplamente empregada por vários autores com intuito de conhecer a bioacessibilidade de metais tóxicos ingeridos através da ingestão de solos contaminados (ZHU et al., 2019; FOULKES et al., 2016; DENYS et al., 2012; PELFRÊNE et al., 2011; BROADWAY et al., 2010; ROUSSEL et al., 2010), porém, como já mencionado, esse método vem sendo estendido para diversos outros tipos de amostras, como peixes (CHI et al., 2018; MAULVAULT et al., 2011), suco de frutas (STANISAVLJEVIĆ et al., 2015), vegetais (PELFRÊNE et al., 2015), suplementos nutricionais (TOKALIOGLU et al., 2014), frutas e grãos (SOUZA et al., 2018; BERENGUEL, PESSÔA, ARRUDA, 2018), entre outras, mostrando assim, ser uma excelente alternativa para ensaios de bioacessibilidade *in vitro*.

Por exemplo, no trabalho de Li e colaboradores (2015) os autores investigaram a bioacessibilidade de ácido perfluorooctanóico (PFOA) em diferentes alimentos, como: sucos, leite, carnes, ervilha, camarão, óleo de milho e feijão. Empregaram 3 diferentes métodos *in vitro* (UBM, PBET, IVD) e um modelo *in vivo*. No estudo, correlacionaram a biodisponibilidade obtida pelo método *in vivo* com a bioacessibilidade obtida pelos métodos *in vitro*. Nos testes *in vivo* foi observado que quanto maior a concentração de conteúdo lipídico nos alimentos menor a

biodisponibilidade relativa de PFOA. O método UBM foi o único que apresentou essa correlação negativa, mostrando ser o método mais indicado dentre os três aplicados, segundo os autores.

Herrera-Agudelo, Miró e Arruda (2017) investigaram a bioacessibilidade de Cu, Fe, Mn e Zn em soja transgênica e não transgênica, e a influência do período de cultivo. Percentuais maiores para ambas amostras foram encontrados na fase gástrica para Fe, Mn e Zn, 18 a 38%, 15 a 42% e 38 a 52%, respectivamente, quando comparados com a fase gastrointestinal, 6 a 11%, 5,7 a 15% e 3 a 19%, respectivamente. Justificam a menor bioacessibilidade na fase gastrointestinal, devido à presença elevada de fitatos em sementes de soja, o qual reduz a disponibilidade desses elementos. Em contrapartida, obtiveram valores maiores na fase gastrointestinal (6,6 – 10%) quando comparado a fase gástrica (5,7 – 8,18%) para Cu. Alegam que a solubilidade do Cu foi maior em pH intestinal, podendo estar relacionado à ocorrência de espécies orgânicas de baixo peso molecular como ácidos orgânicos (ascórbicos, succínicos e málicos), que são conhecidos como responsáveis pelo aumento da bioacessibilidade de vários metais no trato gastrointestinal, incluindo o Cu. Relatam também que há influência do período de cultivo sobre o conteúdo total dos elementos nas amostras analisadas. O ferro, por exemplo, foi favorecido no verão.

Souza e colaboradores (2018) avaliaram a bioacessibilidade *in vitro* de macro e microminerais presente em semente e farinha de linhaça (marrom e dourada) e semente gergelim (branco, preto e marrom). Observaram que independente das amostras a bioacessibilidade dos elementos foi <40% na fase gástrica e <20% na fase gastrointestinal. Concluem, que a linhaça dourada é a que apresentou maior teor total e fração bioacessível de minerais quando comparado com as demais amostras analisadas.

No estudo de Berenguel, Pessôa e Arruda (2018), os autores determinam telúrio em castanha do Brasil. Encontraram nas frações gástricas e gastrointestinais 32% e 30%, respectivamente, em relação ao teor total de telúrio presente na castanha do Brasil. Segundo cálculos efetuados pelos autores, 23 castanhas seriam o suficiente para atingir o limite de exposição recomendado de telúrio, que é de  $0,1 \text{ mg m}^{-3}$  durante oito horas de trabalho, segundo o Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH).

No sul da Tailândia, os pesquisadores Intawongse, Kongchouy e Dean (2018) determinaram a bioacessibilidade de Mn, Fe, Cu, Zn, Cd e Pb em algas marinhas de seis mercados locais apenas na fase gástrica. Dentre os elementos quantificados o Mn foi considerado o elemento com maior bioacessibilidade no estudo, (71,8 – 85,3%). O Cu o segundo mais bioacessível (44,3

– 56,3%) seguido do Zn (37,3 – 47,4%), Cd (41,8 – 46,7%), Pb (22,3 – 32,0%) e o Fe obteve a menor fração bioacessível (11,5 – 16,5%). Em relação aos elementos tóxicos (Cd e Pb), mesmo apresentando quase 50% de bioacessibilidade (Cd), as concentrações foram abaixo dos níveis máximos tolerados.

Perante o exposto, esse método pode ser empregado para diferentes propostas, demonstrando ser confiável seus resultados quando comparado com o processo *in vivo*, como evidenciado por Li e colaboradores (2015).

## 2.6 TÉCNICAS ANALÍTICAS

Para a quantificação de íons metálicos em amostras de matrizes biológicas, ambientais e alimentícias, existem diversos métodos como colorimétricos, titulométricos, dentre outros (HATAT-FRAILE, BARBEAU, 2019; MILLER, RUTZKE, 2010). Contudo, as técnicas espectroanalíticas são amplamente aplicadas destacando-se a espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS), a espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e a espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) (HATAT-FRAILE, BARBEAU, 2019; DUTRA et al., 2018; MILLER, RUTZKE, 2010; SKOOG et al., 2006). Usualmente técnicas espectroanalíticas são mais empregadas em laboratórios de rotina, dentre as citadas, o FAAS tem sido amplamente utilizado devido ao seu custo/benefício e simplicidade quando comparado as outras técnicas.

As medidas em espectrômetros de absorção e emissão atômicas requerem, geralmente, a introdução de amostra na forma líquida. Para isso, é necessário um preparo inicial da amostra, conhecido como mineralização ou digestão, que pode ser feito por via seca ou úmida a fim de promover a degradação da matéria orgânica no intuito de deixar o analito disponível para a determinação. Para alimentos, a via úmida com ácido é a mais empregada (KRUG, 2016; SKOOG et al., 2006).

A decomposição da matéria orgânica por via úmida pode ser feita em sistemas abertos, com aquecimento condutivo em chapa de aquecimento ou bloco digestor, ou ainda, em sistemas fechados sendo atualmente a técnica mais utilizada pelos pesquisadores, onde emprega-se forno de micro-ondas com cavidade. Neste tipo de decomposição, seja por sistema aberto ou fechado, à

amostra é aquecida na presença de um ácido mineral oxidante concentrado ou diluído ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{HF}$  ou  $\text{HClO}_4$ ), podendo ser uma mistura de ácidos ou mistura de um ácido com peróxido de hidrogênio (agente oxidante auxiliar) (THANGAVELU et al., 2019; TARANTINO et al., 2017; KRUG, 2016).

O tratamento por micro-ondas em relação aos outros métodos apresenta inúmeras vantagens, dentre elas, aquecimento rápido, ambiente controlado (temperatura, pressão e tempo), maior eficiência, baixo risco de contaminação, possibilidade de trabalhar com volumes menores de ácido e pequenas quantidades de amostra, além de evitar perdas de elementos voláteis (TARANTINO et al., 2017; LINK, KINGSTON, 2000).

### 3. OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo determinar concentração total e a fração bioacessível de macro e microminerais (Ca, Mg, Cu, Fe, Zn e Mn), após simulação gastrointestinal *in vitro* de farinhas de maracujá, banana verde e aveia, fazendo uso da espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).

#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição centesimal das farinhas de aveia, banana verde e maracujá.
- Determinar o conteúdo de fitatos (ácido fítico) por titulação complexométrica.
- Determinar a bioacessibilidade por meio da metodologia *in vitro* UBM.
- Correlacionar a composição da amostra (minerais, ácido fítico e composição centesimal) com porcentagens de bioacessibilidade, através de análise estatística.
- Avaliar a exatidão da digestão ácida por meio da análise de material certificado de pão integral (*Brown Bread* - BCR – 191).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 AMOSTRAS

As amostras foram adquiridas em casas de produtos naturais e supermercados das cidades de Apucarana, Arapongas e Londrina. Foram adquiridas 3 marcas de farinha de banana verde e 2 marcas de farinha de aveia e 2 marcas da casca de maracujá. As amostras foram codificadas da seguinte maneira: farinha de banana verde (BV), farinha da casca de maracujá (MR) e farinha de aveia (AV).

Sendo:

- BV1 – marca: Q-Vita; BV2 – marca: Tui; BV3 – marca: a granel.
- MR1 – marca: Q-Vita; MR2 – marca: Tui.
- AV1 – marca: Quaker; AV2 – marca: a granel.

Segundo os fabricantes, as farinhas de banana verde foram produzidas a partir da secagem da casca e polpa de bananas nanicas. As farinhas da casca de maracujá azedo foram obtidas apenas da casca. E as farinhas de aveia, produzidas a partir do endosperma (parte interna do grão).

### 4.2 INSTRUMENTAÇÃO

A digestão ácida das amostras foi realizada utilizando um forno de micro-ondas de laboratório de alta pressão (Milestone ETHOS one, Sorisole, Itália) equipado com 10 recipientes de polímero perfluoroalcoxi (PFA) com capacidade de 100 mL, após a mineralização das amostras, as mesmas foram subsequentemente levadas a quase secura em uma chapa de aquecimento (Marconi MA 239, Piracicaba, SP, Brasil). Para a quantificação dos minerais foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica de chama (FAAS, Shimadzu AA-7000, Tóquio, Japão) com uma lâmpada de deutério para a correção da radiação de fundo. Utilizou-se como fonte de radiação lâmpadas de cátodo oco (Hamamatsu Photonics, K.K) para a quantificação da concentração de cálcio, magnésio, cobre, zinco, ferro e manganês. O comprimento de onda (nm) usado foi: Fe – 248,3, Cu – 324,8, Zn – 212,9, Mn – 279,5, Ca – 422,7 e Mg – 285,2. A chama foi composta por uma mistura de ar-acetileno com vazões de 15,0 L min<sup>-1</sup> e 2,0 L min<sup>-1</sup>, respectivamente.

A composição centesimal foi determinada utilizando uma estufa de secagem (Nevoni NV1.3, Barueri, SP, Brasil), um forno mufla (Quimis Q-318M, Diadema, SP, Brasil), um bloco

digestor (Quimis Q-327A242), um destilador de nitrogênio (Tecnal TE 036/1, Piracicaba, SP, Brasil) e um determinador de gordura (Tecnal TE 044).

Para a análise de ácido fítico foram utilizados um banho maria (Quimis Q-215D1), uma chapa de aquecimento (Marconi MA 239), um shaker (IKA Werke KS 131 B, Staufen, Alemanha), uma centrífuga (Daiki DT 4500, Coréia) e um medidor de pH (Metrohm® 826, Herisau, Switzerland).

Para as análises de bioacessibilidade utilizou-se uma centrífuga (Daiki DT 4500), um medidor de pH (Metrohm® 826) e um banho termostático com agitação (Marconi MA 093/1, Brasil). Para a pesagem dos reagentes e amostras utilizou-se uma balança analítica (Shimadzu AUX 220, Tóquio, Japão).

#### 4.3 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Todas as vidrarias e frascos utilizados neste trabalho foram previamente descontaminados em banho de HNO<sub>3</sub> 10% (v v<sup>-1</sup>) durante um período mínimo de 24h. Água deionizada ultrapura, com resistividade de 18,2 MΩ cm obtida por meio de um sistema de purificação ELGA PURELAB® Maxima (High Wycombe, Bucks, Reino Unido), foi empregada no preparo de soluções e diluições.

Para a análise centesimal foram utilizados ácido sulfúrico concentrado (95-99%), sulfato de sódio anidro (99%) e hidróxido de sódio (98%) adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, RJ, Brasil), sulfato de cobre pentahidratado (98%) adquirido da Biotec (Brasil), vermelho de metila P.A e verde de bromocresol P.A adquiridos da Nuclear (Brasil), ácido bórico (99,0%) adquirido da Chemco (Brasil), éter de petróleo (30-70%) e acetona (99,5%) adquirido da Synth (São Paulo, SP, Brasil).

Para análise de ácido fítico foram utilizados HCl (37%) adquirido da Anidrol (Diadema, SP, Brasil) sulfato de sódio anidro (Vetec), cloreto de ferro anidro (99,9%) e EDTA anidro (≥99%) adquiridos da Sigma-Aldrich® (Steinheim, Alemanha), ácido sulfossalicílico (95-97%) adquirido da Química Moderna (São Paulo, Brasil) e glicina (100%, Synth)

Para digestão total das amostras foram utilizados ácido nítrico (≥65% v v<sup>-1</sup>, Sigma-Aldrich®) e peróxido de hidrogênio (29% v v<sup>-1</sup>, Synth). Foi empregado soluções monoelementar de referência (Specsol®, Jacareí, SP, Brasil) para construção das curvas analíticas, através de diluições sucessivas das soluções estoque de 1000 mg L<sup>-1</sup> de Ca, Zn, Fe, Mg, Cu e Mn nas seguintes

concentrações 0,2 a 3,0 mg L<sup>-1</sup> (Ca), 0,1 a 1,5 mg L<sup>-1</sup> (Zn), 0,5 a 3,0 mg L<sup>-1</sup> (Fe), 0,01 a 0,30 mg L<sup>-1</sup> (Mg), 0,03 a 0,50 mg L<sup>-1</sup> (Cu) e 0,1 a 5,0 mg L<sup>-1</sup> (Mn).

Nos ensaios de bioacessibilidade as enzimas e reagentes da Sigma-Aldrich® utilizados foram: α-amilase (espécie bacilo – A6814), mucina tipo II suína (M1778), pepsina, da mucosa gástrica suína (P7000), lipase do pâncreas de suíno (L3126), pancreatina do pâncreas de suíno (P7545), bile bovina (B3883), albumina bovina (A7906), ácido D-glucurônico, cloridrato de glucosamina, ácido úrico, tiocianato de potássio (≥99%) e cloreto de sódio (99,5%). Os demais sais usados foram cloreto de potássio (99%, Química Moderna), fosfato monobásico de potássio (98%) e cloreto de cálcio anidro (99-107%) adquiridos da Nuclear, bicarbonato de sódio (99,7-100,3%), cloreto de amônio (99,5%), sulfato de sódio (99%) e D (+) glucose adquiridos da Synth, cloreto de magnésio hexahidratado (99-102%, Merck, Darmstadt, Germany), fosfato monobásico de sódio (J. T. Baker) e uréia (CAAL). Na Tabela 3 é apresentado detalhadamente a quantidade usada de cada constituinte nos fluidos usados nos testes *in vitro*. Soluções de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> e HCl 1,0 mol L<sup>-1</sup> foram usadas para ajuste de pH.

**Tabela 3** - Constituintes dos quatro fluidos corporais simulados da metodologia UBM

Fluido Salivar	Fluido Gástrico	Fluido Duodenal	Fluido Biliar
<i>Inorgânico</i> (500 mL)			
KCl 896 mg	KCl 824 mg	KCl 564 mg	KCl 376 mg
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 888 mg	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 266 mg	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 80 mg	NaHCO <sub>3</sub> 5785 mg
KSCN 200 mg	CaCl <sub>2</sub> 400 mg	MgCl <sub>2</sub> 50 mg	NaCl 5,259 mg
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 570 mg	NH <sub>4</sub> Cl 306 mg	NaHCO <sub>3</sub> 5607 mg	0,18 mL HCl 37%
NaCl 298 mg	NaCl 2752 mg	NaCl 7,012 mg	
1.8 mL NaOH 1.0 M	8.3 mL HCl 37%	0,18 mL HCl 37%	
<i>Orgânico</i> (500 mL)			
Ureia 200 mg	Ureia 85 mg	Ureia 100 mg	Ureia 250 mg
	Ácido glucurônico 20 mg		
	Glicose 650 mg		
	Cloridrato de glucosamina 330 mg		
<i>Adicional</i> (1000 mL)			
α-amilase 145 mg	Pepsina 1000 mg	CaCl <sub>2</sub> 200 mg	CaCl <sub>2</sub> 222 mg
Mucina 50 mg	Mucina 3000 mg	Lipase 500 mg	Bile 6000 mg
Ácido úrico 15 mg	Albumina bovina 1000 mg	Albumina bovina 1000 mg	Albumina bovina 1800 mg
		Pancreatina 3000 mg	
pH 6,5±0,5	pH 1,1±0,1	pH 7,4±0,2	pH 8,0 ±0,2

Fonte: o autor

#### 4.4 ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A caracterização das farinhas em relação a umidade (105 °C), cinzas (550 °C), proteínas (Kjeldahl, N = 6,25) e lipídeos (extração por Soxhlet) seguiram as normas da AOAC (1995). Primeiramente foi realizada a análise de umidade e após sua quantificação foi dada sequência nas demais análises da composição centesimal, fazendo uso desta amostra seca.

#### 4.5 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE ÁCIDO FÍTICO

O conteúdo de AF foi determinado segundo a metodologia de García-Esteva e colaboradores (1999), com pequenas modificações. O protocolo seguido foi: 2,5 g de amostra foram extraídas sob agitação mecânica com 20,0 mL de solução extratora, composta de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  10% em 0,4 mol  $\text{L}^{-1}$  de HCl, durante 3 horas à temperatura ambiente com os frascos tampados. Posteriormente à mistura foi centrifugada a 5000 rpm durante 30 min. Em seguida, 5,0 mL do sobrenadante foram transferidos para um balão de fundo chato e foram adicionados 5,0 mL de HCl 0,4 mol  $\text{L}^{-1}$ , 5,0 mL de  $\text{FeCl}_3$  0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  e 5,0 mL de ácido sulfossalicílico 20%. O balão foi então agitado suavemente e selado com uma rolha de borracha para evitar a evaporação. Posteriormente, o frasco foi aquecido em banho de água fervente por 15 min.

Após o resfriamento até temperatura ambiente, sob água corrente, a mistura foi centrifugada a 5000 rpm durante 10 min. O sobrenadante foi coletado e o resíduo foi lavado várias vezes com pequenos volumes de água destilada. O sobrenadante e as frações lavadas foram diluídas para 50,0 mL. Uma alíquota (10,0 mL) foi ajustada para pH  $2,5 \pm 0,5$  por adição de glicina ( $\pm 0,75$ g), tamponando o meio e em seguida foi avolumado para 100 mL. A solução foi então aquecida a 70-80 °C, e enquanto ainda aquecida, foi titulada com solução de EDTA 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  até a cor da mistura no erlenmeyer mudar de vermelho-marrom para amarelo claro. Para os cálculos foi empregado o fator de 4:6 para Fe:P, respectivamente, ou 4:1 para Fe e ácido fítico, respectivamente.

#### 4.6 MINERALIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para determinação do conteúdo total de minerais, as farinhas foram primeiramente secas a 105 °C até massa constante. Cerca de 400 mg de amostra seca foram pesadas em balança analítica e transferidas para frascos de Teflon® do forno de micro-ondas, seguido da adição de 12,0 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado. A mineralização foi realizada utilizando o programa de aquecimento descrito na Tabela 4, como sugerido no trabalho de Brito e colaboradores (2017), com modificações. Após a mineralização, as amostras digeridas foram levadas a quase secura em chapa de aquecimento. Neste momento foram adicionados 2,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (29%) com intuito de ajudar na oxidação completa da matéria orgânica. Em seguida, as amostras foram transferidas para balões volumétricos e completadas até 10,0 mL com água ultrapura. O mesmo procedimento foi realizado para o

material certificado (SRM) de *Brown Bread* (BCR – 191). O procedimento foi realizado em triplicata tanto para amostras como para brancos analíticos.

**Tabela 4** - Programa de aquecimento de micro-ondas para tratamento das amostras

Etapa	Tempo (min)	T (°C)	E (W)
1	13	0 - 120	700
2	16	120 - 170	700
3	10	170 - 190	700
4	10	190	700

Fonte: o autor

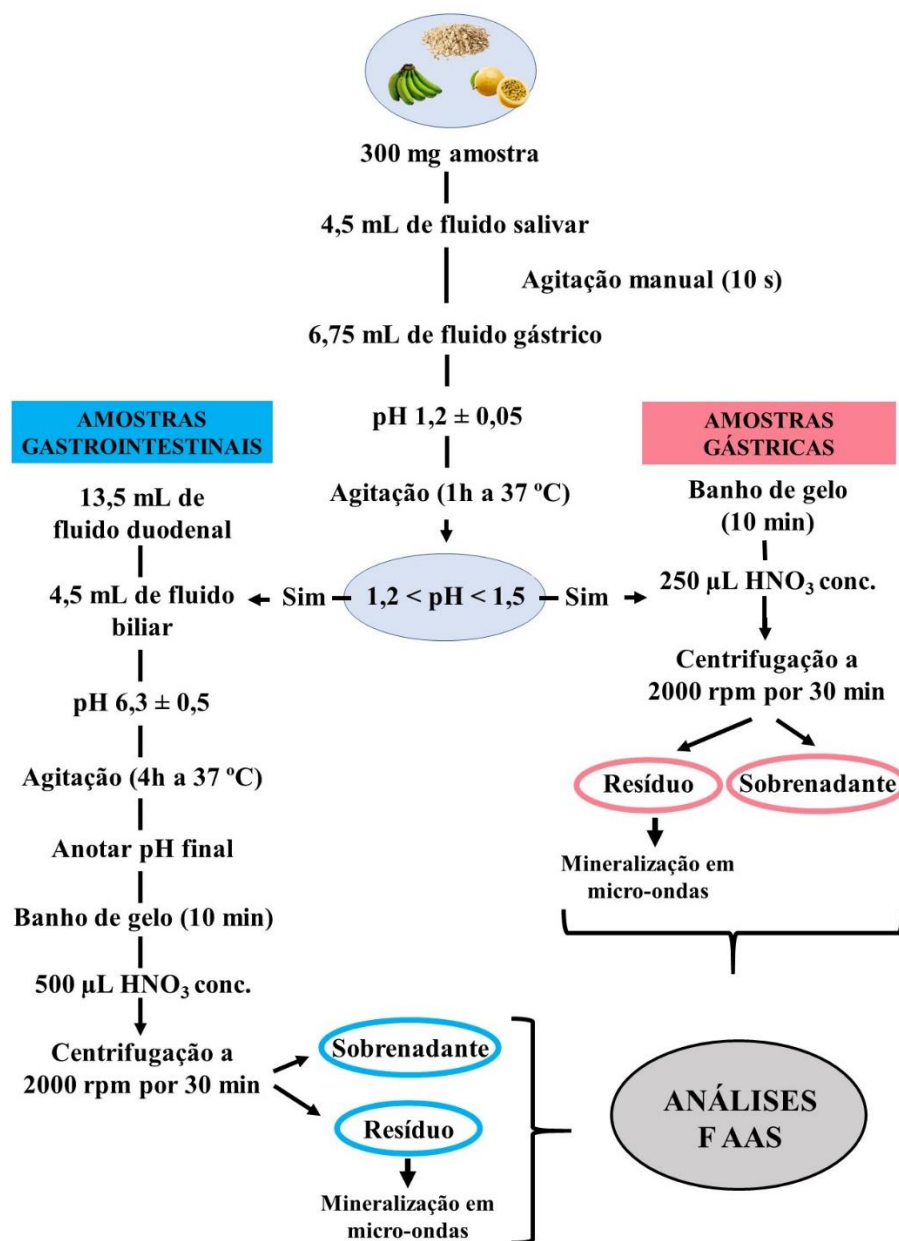
#### 4.7 SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO*

Os ensaios de bioacessibilidade *in vitro* foram baseados em três etapas sequenciais de extração: digestão salivar, gástrica e intestinal, conforme o descrito no método UBM (WRAGG et al., 2011) (Figura 4). Todas as determinações foram feitas em triplicata (n = 3), acompanhadas de brancos analíticos para corrigir eventuais interferências e/ou contaminações. Para garantir um controle analítico nos ensaios de bioacessibilidade foi realizado o balanço de massa (total = bioacessível + resíduo).

Os fluidos foram preparados um dia antes da realização das extrações de bioacessibilidade para assegurar que todos os constituintes químicos estivessem completamente dissolvidos. O pH de cada fluido foi verificado e ajustado para os limites requeridos (com NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> ou HCl a 1,0 mol L<sup>-1</sup>): saliva 6,5 ± 0,5, gástrico de 0,9 – 1,0, duodenal 7,4 ± 0,2 e biliar 8,0 ± 0,2.

Para a simulação da fase gástrica, foram pesados 300 mg de amostra seca e foram adicionados 4,5 mL de fluido salivar e 6,75 mL de fluido gástrico. O pH foi ajustado para 1,2 ± 0,05. A mistura foi subsequentemente colocada em um banho termostático com agitação (168 bpm) a 37 °C por 1 h. Posteriormente, as amostras foram colocadas em banho de gelo por 10 min e subsequentemente centrifugadas. Após a centrifugação as frações solúveis (sobrenadante) e insolúveis (resíduo) foram separadas e acidificadas com 250 µL de HNO<sub>3</sub> concentrado. As amostras que não foram analisadas imediatamente, foram mantidas sob refrigeração a 4 °C por um período máximo de 5 dias.

**Figura 4** - Diagrama esquemático do protocolo de extração gástrica e gastrointestinal da metodologia UBM



Fonte: o autor

A simulação da fase gastrointestinal foi realizada de maneira semelhante à fase gástrica, porém, após 1 h de agitação a  $37^\circ\text{C}$ , foram adicionados 13,5 mL de fluido intestinal e 4,5 mL de fluido biliar, o pH foi ajustado para  $6,3 \pm 0,5$  e a mistura foi colocada em um banho termostático com agitação (168 bpm) a  $37^\circ\text{C}$  por 4 h. Ao final desse tempo, as amostras foram colocadas em

banho de gelo por 10 min e subsequentemente centrifugadas. Após centrifugação, as frações solúveis e insolúveis foram separadas e acidificadas com 500 µL de HNO<sub>3</sub> concentrado.

Os sobrenadantes acidificados, das fases gastrointestinal e gástrica, foram subsequentemente filtrados usando papel de filtro qualitativo. Os sólidos residuais (frações não bioacessíveis) foram mineralizados usando o mesmo procedimento descrito na Seção 2.5. Após mineralização e aquecimento até quase secura na placa de aquecimento, o volume foi reconstituído em balão volumétrico de 5,0 mL com água ultrapura. Os elementos metálicos presentes nas frações bioacessíveis (sobrenadantes) e não bioacessíveis (resíduos) foram quantificados por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS).

A porcentagem (%) de bioacessibilidade foi calculada conforme a Equação 1:

$$FB (\%) = \frac{BE}{TE} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Em que BE é a fração de elemento bioacessível (mg Kg<sup>-1</sup>), dada pela concentração de um elemento encontrado nos extratos gástrico ou gastrointestinal, e TE é a concentração total de elemento (mg Kg<sup>-1</sup>) nas amostras das farinhas funcionais analisadas após digestão por micro-ondas.

#### 4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As diferenças entre as amostras foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) unidirecional, com base no teste de Tukey no nível de significância de 95%, utilizando o pacote de software StatSoft STATISTICA versão 7.0 (Tulsa, EUA, 1984-2004). Foi realizada correlações entre a bioacessibilidade de minerais e a composição das amostras através do coeficiente de correlação de Spearman, para tal, foi utilizado o software R para obtenção dos gráficos de correlações entre as variáveis.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Os teores de lipídeos, proteínas e cinzas das farinhas de banana verde, casca de maracujá e aveia estão apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5** - Valores (média  $\pm$  desvio padrão, n=3) encontrados na análise centesimal nas farinhas de banana verde (BV), casca de maracujá (MR) e aveia (AV)

Amostras (base seca)	Análises (%)		
	Lipídeos	Proteínas	Cinzas
BV1	1,2 $\pm$ 0,1 <sup>e</sup>	7,5 $\pm$ 0,2 <sup>d</sup>	3,2 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
BV2	1,9 $\pm$ 0,1 <sup>cd</sup>	4,1 $\pm$ 0,1 <sup>g</sup>	4,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
BV3	1,1 $\pm$ 0,1 <sup>e</sup>	5,0 $\pm$ 0,1 <sup>f</sup>	4,4 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
MR1	3,5 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	8,4 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	4,4 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
MR2	1,9 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	7,2 $\pm$ 0,1 <sup>e</sup>	2,3 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>
AV1	7,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	13,7 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	1,3 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>
AV2	7,0 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	14,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,4 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>

**Fonte:** o autor

Letras diferentes na vertical indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança

Os lipídeos possuem diversas funções no organismo, como por exemplo: transportar vitaminas lipossolúveis e ajudar na formação dos hormônios (NORTON et al., 2017). Os resultados obtidos para lipídeos variaram de 1,1 a 7,2%, apresentando diferença significativa entre as amostras ( $p < 0,05$ ), onde os maiores valores são referentes a amostras de farinha de aveia (AV). Resultados publicados estão de acordo com valores encontrados nesse trabalho (YAVER, BILGIÇLI, 2019; CHAUHAN et al., 2018; LEE, KANG, 2018; LIMA et al., 2016; SANTOS et al., 2015).

Obeve-se valores entre 4,1 a 14,7% de proteínas. Diferenças significativas foram observadas para todas as amostras e, novamente, as AV apresentaram as maiores concentrações (13,7 e 14,7%), seguido das MR (7,2 e 8,4%) e BV (4,1 a 7,5%). As proteínas são moléculas orgânicas compostas de aminoácidos responsáveis pelo crescimento e pela reparação de tecidos, sendo de grande importância no organismo (NORTON et al., 2015). Segundo a Resolução nº 54/2012 um alimento pode ser classificado como fonte de proteínas se apresentar concentração maior que 6 g 100g<sup>-1</sup> e como alto teor se apresentar concentração maior que 12 g 100g<sup>-1</sup> (ANVISA,

2012). Nesse contexto, as amostras BV1 e todas MR podem ser classificadas como fonte de proteínas e as AV podem ser classificadas como alimento com alto teor de proteínas.

Ainda, a legislação brasileira regula o conteúdo de proteínas na farinha de trigo, que deve apresentar pelo menos 7% (ANVISA, 1996). Não existe legislação específica para farinhas funcionais, assim, com base na legislação para farinha de trigo, com exceção das amostras BV2 e BV3, todas as amostras atendem ao mínimo recomendado. Valores concordantes foram encontrados em outros trabalhos para a farinha de banana verde (CAMPUZANO, ROSELL, CORNEJO, 2018; BI et al., 2017; BEZERRA et al., 2013; VERNAZA, GULARTE, CHANG, 2011), farinha de maracujá (TOLEDO et al., 2018; LIMA et al., 2016; SANTOS et al., 2015) e farinha de aveia (YAVER, BILGÇLI, 2019; YILMAZ et al., 2019; CHAUHAN, KAMAR, 2018).

Estudo recente mostra que valores de proteínas e lipídeos podem apresentar diferenças na mesma amostra de farinha quando há variação na granulometria. No estudo, grânulos menores apresentaram os maiores valores para esses parâmetros (BRITO et al., 2019).

O teor de umidade é um fator crítico para a vida de prateleira e estabilidade alimentar, onde o processo de secagem interfere diretamente no teor de umidade do produto final (RODRIGUEZ-JIMENEZ et al., 2018). A umidade nas amostras variou de 7,7 a 10,7%, valores dentro do limite estabelecido na Resolução nº263/2005 que exige o máximo de 15% de umidade em farinhas (ANVISA, 2005).

É de conhecimento que as cinzas representam uma porcentagem da matéria mineral de um alimento, sendo o resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica (FERREIRA, ROBERTO, CAMISA, 2018). Os teores obtidos para cinzas variaram entre 1,4 a 4,9%, havendo diferença significativa entre as amostras ( $p < 0,05$ ), sendo os menores teores encontrados nas AV. Diferença entre as amostras pode estar relacionada ao solo onde foram cultivadas e períodos de cultivo também podem interferir na composição mineral de um alimento (HERRERA-AGUDELO, MIRÓ, ARRUDA, 2017).

Em geral, a farinha de aveia possui maiores teores de lipídeos em relação as outras farinhas e as farinhas de maracujá e banana verde se destacaram na quantidade do teor de cinzas. A ordem crescente de valores de proteínas para as farinhas foi: banana verde < maracujá < aveia, enquanto para umidade todas as farinhas encontram-se dentro da legislação.

## 5.2 CONTEÚDO DE ÁCIDO FÍTICO

As concentrações de AF nas amostras variaram entre 5,1 a 10,1 mg g<sup>-1</sup> como pode ser observado na Tabela 6. Diferenças significativas ao nível de 5% entre as amostras foram observadas. As farinhas de aveia apresentaram as maiores concentrações de AF (10,1mg g<sup>-1</sup>). Yaver e Bilgiçli (2019) investigaram o teor de AF em diferentes farinhas (trigo, centeio, aveia, cevada, grão de bico, soja e mistura de farinhas), dentre todas, a farinha de soja (25,2 mg g<sup>-1</sup>) e aveia (12,5 mg g<sup>-1</sup>) foram as que apresentaram maiores teores. Valores similares também foram encontrados por Klettke, Marchetti e Foppa (2014) em farinha de aveia, 12,4 mg g<sup>-1</sup>.

**Tabela 6** - Conteúdo de ácido fítico presente nas farinhas de aveia (AV), banana verde (BV) e casca de maracujá (MR) (média ± desvio padrão, n=3)

Amostras	Ácido Fítico (mg g <sup>-1</sup> )
BV1	7,6 ± 0,1 <sup>b</sup>
BV2	5,1 ± 0,2 <sup>d</sup>
BV3	5,1 ± 0,1 <sup>d</sup>
MR1	6,3 ± 0,1 <sup>c</sup>
MR2	6,3 ± 0,1 <sup>c</sup>
AV1	10,1 ± 0,1 <sup>a</sup>
AV2	10,1 ± 0,1 <sup>a</sup>

**Fonte:** o autor

Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança

Esse antinutriente é responsável por cerca de 0,5 a 5% (m m<sup>-1</sup>) do peso de muitos cereais e leguminosas (GEMEDE, RATTA, 2014). Lott et al. (2000) relatam a concentração de AF em diferentes cereais, legumes, sementes e frutas. Com os dados apresentados no trabalho, foi possível observar que as sementes são os alimentos com maior teor de AF, como por exemplo a linhaça que contém 35,9 mg g<sup>-1</sup> e o gergelim 47,1 mg g<sup>-1</sup>. Por sua vez, dentre as muitas variedades de frutas investigadas pelos autores, as concentrações de AF variaram de 0,1 a 17,9 mg g<sup>-1</sup>, onde a média dos teores de AF em frutas foi de 7,4 mg g<sup>-1</sup> (0,74%).

Amorim (2016) investigou fatores antinutricionais em farinha da casca de maracujá, assim como de outras farinhas produzidas a partir de subproduto de frutas. Os antinutrientes investigados foram ácido fítico, oxalato, nitrato e taninos condensados e, os valores obtidos foram: 12,4 mg g<sup>-1</sup>, 1,2 mg 100g<sup>-1</sup>, 5,89 mg 100g<sup>-1</sup> e 0,3 mg 100g<sup>-1</sup>, respectivamente, para farinha da casca de maracujá. Esses resultados mostram que dentre todos os antinutrientes analisados o AF está presente em maior concentração, enfatizando a relevância de sua quantificação.

### 5.3 CONTEÚDO TOTAL DE MINERAIS

As curvas analíticas foram preparadas usando soluções padrão aquosas em 0,014 mol L<sup>-1</sup> (v v<sup>-1</sup>) de HNO<sub>3</sub>. Os coeficientes de determinação para as curvas de todos os analitos foram satisfatórios ( $R^2 > 0,99$ ). Os limites de quantificação (LQ) foram calculados como a concentração de cada analito que corresponde a dez vezes o desvio padrão de dez medições independentes da solução em branco divididas pela inclinação da curva analítica. Os limites de quantificação obtidos (mg Kg<sup>-1</sup>) foram: 7,0 (Ca), 0,5 (Cu), 7,5 (Fe), 0,5 (Mg), 4,5 (Mn), e 1,4 (Zn).

Para avaliar a exatidão da metodologia de decomposição total, um material certificado de referência foi analisado e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 7. A aplicação do teste *t* de Student, no nível de confiança de 95%, mostrou concordância entre os valores certificados, não sendo encontrada diferença estatística, comprovando a exatidão do método de digestão ácida assistido por micro-ondas.

**Tabela 7** - Resultados das concentrações (média ± desvio padrão, n=3) de Fe, Mn, Zn, Ca e Mg em material de referência certificado

Elemento	NIST Brown Bread BCR-191		
	Certificado (mg Kg <sup>-1</sup> )	Encontrado (mg Kg <sup>-1</sup> )	(%)
Fe	40,7±2,3	37,4±2,6	92
Mn	20,3±0,7	21,8±0,8	107
Zn	19,5±0,5	19,6±0,4	101
Cu	2,6±0,1	2,5±0,1	94
Ca	410,0	394,5±6,9	96
Mg	500,0	486,2±3,7	97

Fonte: o autor

Após assegurar a exatidão do método de digestão por micro-ondas, a concentração total dos minerais nas amostras de farinha de banana verde, maracujá e aveia foi determinada e os resultados obtidos estão reunidos na Tabela 8. De acordo com os resultados obtidos, alguns elementos apresentaram variação em suas concentrações, mesmo comparando amostras da mesma farinha. A ordem crescente das concentrações dos minerais nas amostras foram: Mg ≥ Ca > Fe ≥ Mn ≥ Zn > Cu.

**Tabela 8** - Teores totais (média  $\pm$  desvio padrão, n=3) de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu em amostras de farinha de banana verde (BV), farinha da casca de maracujá (MR) e farinha de aveia (AV)

Amostras (base seca)	Elementos (mg Kg <sup>-1</sup> )					
	Ca	Mg	Mn	Fe	Zn	Cu
BV1	327,1 $\pm$ 4,7 <sup>e</sup>	991,6 $\pm$ 3,1 <sup>e</sup>	51,9 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	89,8 $\pm$ 2,0 <sup>c</sup>	14,5 $\pm$ 0,3 <sup>d</sup>	3,3 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>
BV2	747,2 $\pm$ 6,5 <sup>c</sup>	1614,0 $\pm$ 6,7 <sup>a</sup>	80,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	110,9 $\pm$ 5,2 <sup>b</sup>	10,3 $\pm$ 0,4 <sup>e</sup>	3,1 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>
BV3	278,8 $\pm$ 1,9 <sup>f</sup>	1105,3 $\pm$ 5,4 <sup>d</sup>	62,1 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>	25,7 $\pm$ 0,4 <sup>e</sup>	10,4 $\pm$ 0,3 <sup>e</sup>	2,2 $\pm$ 0,1 <sup>e</sup>
MR1	910,0 $\pm$ 2,5 <sup>b</sup>	1305,9 $\pm$ 5,7 <sup>b</sup>	52,1 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	110,6 $\pm$ 4,5 <sup>b</sup>	14,2 $\pm$ 1,4 <sup>d</sup>	1,7 $\pm$ 0,1 <sup>f</sup>
MR2	1085,8 $\pm$ 8,2 <sup>a</sup>	1263,5 $\pm$ 3,2 <sup>c</sup>	33,7 $\pm$ 0,7 <sup>d</sup>	248,1 $\pm$ 5,4 <sup>a</sup>	18,3 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>	3,0 $\pm$ 0,2 <sup>d</sup>
AV1	228,1 $\pm$ 3,3 <sup>e</sup>	608,8 $\pm$ 5,5 <sup>f</sup>	50,6 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	37,5 $\pm$ 0,9 <sup>d</sup>	29,4 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>	3,7 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>
AV2	468,2 $\pm$ 5,2 <sup>d</sup>	587,1 $\pm$ 4,4 <sup>f</sup>	60,9 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>	41,8 $\pm$ 0,2 <sup>d</sup>	34,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	5,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>

Fonte: o autor

Letras diferentes em colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança

Os resultados indicam que o conteúdo de Zn e Cu são maiores nas amostras de aveia, apresentando uma média de 32,2 e 4,4 mg Kg<sup>-1</sup>, respectivamente, uma vez que, os cereais são uma das principais fontes desses minerais (GHARIBZAHEDI, JAFARI, 2017). O cobre é fundamental para o metabolismo energético (respiração celular) e metabolismo de nutrientes (especialmente ferro). O zinco participa de muitas reações do metabolismo celular, incluindo processos fisiológicos, tais como função imune, defesa antioxidante, crescimento e desenvolvimento. Valores similares para esses tipos de amostras foram reportados na literatura (YAVER, BILGIÇLI, 2019; RYBICKA, GLISZCZYNSKA-SWIGŁO, 2017; BRITO et al., 2017; KAN, 2015).

A concentração de Ca variou de 228,1 a 1085,8 mg Kg<sup>-1</sup>, apresentando diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as amostras, sendo observado a maior concentração na amostra MR2. O cálcio está relacionado à contração muscular, ativação enzimática, diferenciação celular, resposta imune e atividade neuronal, pela interação com inúmeras proteínas distribuídas em diferentes compartimentos celulares (PU, CHEN, ZUE, 2016). Brito e colaboradores (2017) avaliaram diferentes tipos de farinhas adquiridas no comércio local de João Pessoa, dentre elas farinhas de maracujá, banana verde e aveia obtiveram como concentrações média 1465,8 mg Kg<sup>-1</sup>, 452,5 mg Kg<sup>-1</sup> e 470,2 mg Kg<sup>-1</sup>, respectivamente, valores próximos com os obtidos no presente trabalho. Outros trabalhos reportados na literatura apresentaram valores similares (YAVER, BILGIÇLI, 2019; RYBICKA, GLISZCZYNSKA-SWIGŁO, 2017; YANGILAR, 2015).

Dentre todos os elementos analisados, o Mg apresentou a maior concentração, variando de 587,1 a 1305,9 mg Kg<sup>-1</sup>, diferenças significativas ao nível de 5% entre as amostras foi observado. As amostras de banana e maracujá foram as que apresentaram os maiores teores desse elemento, sendo a BV2 a amostra com maior concentração. O Mg faz parte da composição mineral dos ossos, além de atuar como cofator com mais de 600 enzimas. Perda de apetite e depressão são exemplos do que a deficiência desse mineral pode causar. Contudo, o seu excesso pode causar diarreia, náusea e insuficiência renal (BAAIJ, HOENDEROP, BINDELS, 2015). No estudo de Anyasi, Jideani e Mchau (2018), os autores quantificaram Ca, Mg, P, K e S em farinhas a partir da polpa de bananas, as concentrações obtidas para Mg ficaram em um intervalo de 844,6 a 1229,6 mg Kg<sup>-1</sup>, dados que concordam com o presente estudo. Valores próximos foram obtidos por Brito e colaboradores (2017), 880,3 mg Kg<sup>-1</sup> e 977,8 mg Kg<sup>-1</sup> para farinha de banana verde e maracujá, respectivamente. Novaes e colaboradores (2017) obtiveram resultados próximos para farinha de maracujá (1330,0 mg Kg<sup>-1</sup>).

Variação na concentração entre as farinhas foi observado para Mn (33,7 – 80,9 mg Kg<sup>-1</sup>), onde, segundo os resultados a amostra BV2 apresentou maior teor desse elemento. O Mn ajuda na formação de cartilagem e ossos (ZHANG et al., 2018; GHARIBZAHEDI, JAFARI, 2017), contudo, estudos relatam que a contaminação por Mn pode provocar alterações motoras e cognitivas, e altas concentrações na infância pode levar a uma toxicidade que afeta o desenvolvimento de ossos e cartilagens além de estar associado a doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer (NASCIMENTO, GONZALEZ, 2018; CATALÁN-VÁZQUEZ, RIOJAS-RODRÍGUEZ, PELCASTRE-VILLAFUERTE, 2013). Eshak (2016) relata valores similares de Mn (54,7 mg Kg<sup>-1</sup>) para farinha de banana verde. Novaes e colaboradores (2017), Pita (2012) e Salgado e colaboradores (2010) obtiveram valores dentro da faixa de concentração obtida neste trabalho para farinha de maracujá, 41,4 mg kg<sup>-1</sup>, 32,5 mg kg<sup>-1</sup> e 17,5 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

As concentrações obtidas de Fe nas farinhas de banana verde e aveia (25,7 a 110,9 mg Kg<sup>-1</sup>) são similares a outros trabalhos (YAVER, BILGIÇLI, 2019; BRITO et al., 2017; YANGILAR, 2015; AQUINO et al., 2014), por sua vez, as farinhas da casca de maracujá apresentaram concentrações superiores a dados reportados na literatura (BRITO et al., 2017; NOVAES et al., 2017). Dentre as amostras analisadas as farinhas MR1, MR2 e BV2 se destacam devido as altas concentrações de Fe. Esse mineral é um nutriente essencial e está envolvido em uma variedade de funções vitais, incluindo transporte de oxigênio, síntese de DNA, energia metabólica e respiração celular (GHARIBZAHEDI, JAFARI, 2017). As principais fontes alimentares desse elemento são: fígado, frutos do mar, feijão, carne entre outros. Entretanto, os níveis de Fe presentes nas farinhas de banana verde e maracujá são consideravelmente altos quando comparado a essas fontes alimentares.

Oliveira e colaboradores (2018), determinaram Fe e outros minerais em diferentes tipos de feijões (cru e cozido). A variação da concentração de Fe total independente da variedade do feijão, estando cru ou cozido, foi de 56,0 a 94,0 mg Kg<sup>-1</sup>, valores dentro da faixa encontrada nesse estudo. Vieira e colaboradores (2018) determinaram Fe em músculo, fígado e rins bovinos, suínos e de frangos. As amostras de fígado variaram de 59,1 a 104,6 mg Kg<sup>-1</sup> e amostras de músculo variaram de 2,4 a 20,6 mg Kg<sup>-1</sup>, resultados correspondentes ou mesmo inferiores aos obtidos para as farinhas aqui investigadas. Os dados obtidos para Fe indicam que todas as farinhas apresentam, em geral, elevadas concentrações de Fe, quando comparadas com alimentos ricos desse mineral.

As diferenças observadas entre as concentrações dos minerais analisados, para todas as amostras, podem ser associadas como já mencionado, a matéria-prima utilizada, a forma como se a obteve, a disposição de nutrientes presentes no solo, as práticas agrícolas e as mudanças climáticas podem influenciar a capacidade de absorção das frutas e cereais utilizados para elaboração das farinhas (HERRERA-AGUDELO et al., 2017; SOUZA et al., 2012).

#### 5.4 BIOACESSIBILIDADE DOS MINERAIS

Os resultados das frações bioacessíveis (%) para os minerais presentes nas farinhas analisadas na fase gástrica e gastrointestinal são apresentados nas Tabelas 9 e 10. Como pode ser observado no balanço de massa (Tabela 9 e 10), os resultados variaram de 84,9 a 118,2%, demonstrando a confiabilidade das análises de bioacessibilidade.

O conhecimento da bioacessibilidade em ambas as fases permite visualizar o comportamento desses elementos, como a sua solubilidade, conforme o alimento passa pelo trato digestório. Geralmente, os minerais são solúveis em meio ácido (estômago) e pouco solúveis em meio neutro ou alcalino (intestino) podendo haver precipitação e formação de complexos insolúveis. Contudo, a absorção dos nutrientes ocorre efetivamente no intestino delgado através das vilosidades e microvilosidades (TOKALIOGLU et al., 2014; AIRES, 2013). Nesse sentido, o conhecimento do comportamento dos elementos nessas fases é extremamente relevante, principalmente na fase gastrointestinal.

As maiores frações bioacessíveis foram observadas para o Mg, Mn e Zn, para ambas as fases analisadas, gástrica e gastrointestinal. Para os três elementos a bioacessibilidade foi predominantemente maior que 70%. Segundo Herrera-Agudelo e colaboradores (2017), o Mg e o Mn tendem a ser mais solúveis em pH intestinal. As farinhas da casca de maracujá e de aveia apresentaram as maiores concentrações de Mn bioacessível.

A bioacessibilidade do Zn pode ser prejudicada pela formação de sais insolúveis e pela complexação com antinutrientes. Pode-se observar que a bioacessibilidade de Zn reduz na fase gastrointestinal. Na literatura é relatado a co-precipitação de Zn como um complexo de Zn-Ca-fitado, na presença de altas concentrações de Ca (KHOUZAM, POHL, LOBINSKI, 2011). Nesse contexto, a amostra MR2 pode ter apresentado a menor fração bioacessível na fase gastrointestinal por possuir a maior concentração de Ca dentre as amostras (Tabela 8). Ainda, a bioacessibilidade de Zn pode estar relacionada a outros fatores como a formação de sais, complexação com moléculas orgânicas ou estar ligado a componentes presentes na matriz que não permitem sua liberação.

**Tabela 9** - Concentrações de minerais (média  $\pm$  desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nas farinhas de banana verde (BV), casca de maracujá (MR) e aveia (AV) após digestão gástrica

Metais	Amostras	Concentração em mg Kg <sup>-1</sup>			(%)	
		Total	FB	Resíduo	FB	Balanco de massa
Mn	BV1	51,9 $\pm$ 0,1	39,6 $\pm$ 0,9	5,9 $\pm$ 0,6	(76,3%)	87,7
	BV2	80,9 $\pm$ 0,2	64,2 $\pm$ 0,9	5,9 $\pm$ 0,4	(79,4%)	86,7
	BV3	62,1 $\pm$ 1,4	46,4 $\pm$ 0,9	7,1 $\pm$ 0,1	(74,7%)	86,2
	MR1	52,1 $\pm$ 0,3	45,7 $\pm$ 0,5	5,4 $\pm$ 0,3	(87,7%)	98,1
	MR2	33,7 $\pm$ 0,7	27,4 $\pm$ 0,4	4,6 $\pm$ 0,3	(81,3%)	95,0
	AV1	50,6 $\pm$ 0,3	44,7 $\pm$ 0,7	4,8 $\pm$ 0,6	(88,4%)	97,8
	AV2	60,9 $\pm$ 1,4	55,7 $\pm$ 0,9	6,0 $\pm$ 0,5	(91,5%)	101,3
	Zn	BV1	14,5 $\pm$ 0,3	14,8 $\pm$ 0,9	2,1 $\pm$ 0,1	(102,1%)
BV2		10,3 $\pm$ 0,4	9,5 $\pm$ 0,4	1,7 $\pm$ 0,4	(92,2%)	108,7
BV3		10,4 $\pm$ 0,3	7,4 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 0,9	(71,2%)	94,2
MR1		14,2 $\pm$ 1,4	11,5 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,2	(80,9%)	98,6
MR2		18,3 $\pm$ 0,2	14,3 $\pm$ 0,5	3,4 $\pm$ 0,3	(78,3%)	96,7
AV1		29,4 $\pm$ 0,6	25,7 $\pm$ 0,9	3,4 $\pm$ 0,8	(87,3%)	99,0
AV2		34,9 $\pm$ 0,2	28,3 $\pm$ 0,1	7,7 $\pm$ 1,1	(81,1%)	113,2
Cu		BV1	3,3 $\pm$ 0,1	1,9 $\pm$ 0,0	1,1 $\pm$ 0,2	(57,6%)
	BV2	3,1 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,3	(67,7%)	103,2
	BV3	2,2 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,1	(63,6%)	118,2
	MR1	1,7 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,8	0,7 $\pm$ 0,6	(62,0%)	105,9
	MR2	3,0 $\pm$ 0,2	2,1 $\pm$ 0,7	1,3 $\pm$ 1,0	(68,9%)	113,3
	AV1	3,7 $\pm$ 0,1	2,2 $\pm$ 1,3	1,4 $\pm$ 0,8	(59,8%)	97,3
	AV2	5,2 $\pm$ 0,2	2,9 $\pm$ 0,5	2,2 $\pm$ 0,6	(55,8%)	98,1
	Fe	BV1	89,8 $\pm$ 2,0	23,6 $\pm$ 2,6	60,3 $\pm$ 4,1	(26,3%)
BV2		110,9 $\pm$ 5,2	42,1 $\pm$ 4,9	77,1 $\pm$ 3,8	(38,0%)	107,5
BV3		25,7 $\pm$ 0,4	7,7 $\pm$ 0,4	19,2 $\pm$ 4,4	(30,0%)	104,7
MR1		110,6 $\pm$ 4,5	37,3 $\pm$ 0,7	74,2 $\pm$ 3,7	(33,7%)	100,8
MR2		248,1 $\pm$ 5,4	86,1 $\pm$ 0,2	133,0 $\pm$ 3,1	(34,7%)	88,3
AV1		37,5 $\pm$ 0,9	8,2 $\pm$ 1,4	30,0 $\pm$ 5,0	(21,8%)	101,9
AV2		41,8 $\pm$ 0,2	8,4 $\pm$ 4,1	38,3 $\pm$ 0,5	(20,2%)	111,7
Ca		BV1	327,1 $\pm$ 4,7	147,7 $\pm$ 4,6	208,7 $\pm$ 7,1	(45,2%)
	BV2	747,2 $\pm$ 6,5	348,7 $\pm$ 9,3	488,5 $\pm$ 6,3	(46,7%)	112,0
	BV3	278,8 $\pm$ 1,9	152,3 $\pm$ 9,6	132,1 $\pm$ 2,8	(54,6%)	102,0
	MR1	910,0 $\pm$ 2,5	368,6 $\pm$ 2,4	501,4 $\pm$ 3,8	(40,5%)	95,6
	MR2	1085,8 $\pm$ 8,2	474,5 $\pm$ 1,7	653,7 $\pm$ 1,8	(43,7%)	103,9
	AV1	228,1 $\pm$ 3,3	66,4 $\pm$ 2,1	152,1 $\pm$ 1,7	(29,1%)	95,8
	AV2	468,2 $\pm$ 5,2	129,7 $\pm$ 3,1	386,7 $\pm$ 3,6	(27,7%)	110,3
	Mg	BV1	991,6 $\pm$ 3,1	873,7 $\pm$ 6,0	129,4 $\pm$ 3,6	(88,1%)
BV2		1614,0 $\pm$ 6,7	1144,4 $\pm$ 6,5	319,0 $\pm$ 5,6	(70,9%)	90,7
BV3		1105,3 $\pm$ 5,4	1039,7 $\pm$ 4,7	9,6 $\pm$ 0,3	(94,1%)	94,9
MR1		1305,9 $\pm$ 5,7	935,0 $\pm$ 0,8	198,5 $\pm$ 0,7	(71,6%)	86,8
MR2		1263,5 $\pm$ 3,2	971,6 $\pm$ 4,7	199,6 $\pm$ 1,8	(76,9%)	92,7
AV1		608,8 $\pm$ 5,5	529,7 $\pm$ 1,0	40,8 $\pm$ 0,1	(87,0%)	93,7
AV2		587,1 $\pm$ 4,4	446,8 $\pm$ 5,4	51,4 $\pm$ 0,7	(76,1%)	84,9

Fonte: o autor

**Tabela 10** - Concentrações de minerais (média  $\pm$  desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nas farinhas de banana verde (BV), casca de maracujá (MR) e aveia (AV) após digestão gastrointestinal

Metais	Amostras	Concentração em mg Kg <sup>-1</sup>			Concentração (%)	
		Total	FB	Resíduo	FB	Balanco de massa
Mn	BV1	51,9 $\pm$ 0,1	43,9 $\pm$ 0,9	4,3 $\pm$ 0,5	(84,6%)	92,9
	BV2	80,9 $\pm$ 0,2	68,6 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,1	(84,8%)	90,6
	BV3	62,1 $\pm$ 1,4	49,7 $\pm$ 0,9	2,9 $\pm$ 1,2	(80,0%)	87,9
	MR1	52,1 $\pm$ 0,3	47,5 $\pm$ 1,1	4,8 $\pm$ 0,4	(91,2%)	100,4
	MR2	33,7 $\pm$ 0,7	31,4 $\pm$ 2,2	4,6 $\pm$ 0,6	(93,3%)	106,8
	AV1	50,6 $\pm$ 0,3	50,9 $\pm$ 2,0	5,2 $\pm$ 0,1	(100,7%)	110,8
	AV2	60,9 $\pm$ 1,4	66,6 $\pm$ 0,7	4,9 $\pm$ 1,7	(109,3%)	117,4
	Zn	BV1	14,5 $\pm$ 0,3	13,3 $\pm$ 0,4	1,9 $\pm$ 0,6	(91,7%)
BV2		10,3 $\pm$ 0,4	8,1 $\pm$ 0,1	1,9 $\pm$ 1,0	(78,6%)	97,1
BV3		10,4 $\pm$ 0,3	7,9 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,5	(76,0%)	90,4
MR1		14,2 $\pm$ 1,4	10,2 $\pm$ 0,7	3,6 $\pm$ 2,5	(71,5%)	97,2
MR2		18,3 $\pm$ 0,2	10,3 $\pm$ 3,2	5,3 $\pm$ 2,2	(56,4%)	85,2
AV1		29,4 $\pm$ 0,6	21,1 $\pm$ 1,6	10,3 $\pm$ 0,8	(71,9%)	106,8
AV2		34,9 $\pm$ 0,2	26,1 $\pm$ 1,6	9,8 $\pm$ 3,2	(74,8%)	102,9
Cu		BV1	3,3 $\pm$ 0,1	2,3 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,2	(69,7%)
	BV2	3,1 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,3	(87,1%)	103,2
	BV3	2,2 $\pm$ 0,1	1,7 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 1,7	(77,3%)	113,6
	MR1	1,7 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,4	0,5 $\pm$ 1,1	(84,9%)	117,6
	MR2	3,0 $\pm$ 0,2	2,2 $\pm$ 0,7	1,1 $\pm$ 0,4	(72,1%)	110,0
	AV1	3,7 $\pm$ 0,1	3,6 $\pm$ 0,8	0,7 $\pm$ 0,7	(98,1%)	116,2
	AV2	5,2 $\pm$ 0,2	4,8 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,8	(92,4%)	113,5
	Fe	BV1	89,8 $\pm$ 2,0	19,2 $\pm$ 0,1	69,0 $\pm$ 2,4	(21,4%)
BV2		110,9 $\pm$ 5,2	39,3 $\pm$ 1,0	88,8 $\pm$ 1,9	(35,4%)	115,5
BV3		25,7 $\pm$ 0,4	7,1 $\pm$ 0,2	20,3 $\pm$ 3,2	(27,6%)	106,6
MR1		110,6 $\pm$ 4,5	31,7 $\pm$ 1,3	65,6 $\pm$ 6,8	(28,7%)	88,0
MR2		248,1 $\pm$ 5,4	84,4 $\pm$ 0,12	138,7 $\pm$ 0,9	(34,0%)	89,9
AV1		37,5 $\pm$ 0,9	7,5 $\pm$ 2,3	34,1 $\pm$ 1,6	(19,9%)	110,9
AV2		41,8 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,8	40,9 $\pm$ 0,5	(17,9%)	115,8
Ca		BV1	327,1 $\pm$ 4,7	77,1 $\pm$ 3,4	247,8 $\pm$ 5,7	(23,6%)
	BV2	747,2 $\pm$ 6,5	207,5 $\pm$ 6,9	532,1 $\pm$ 8,1	(27,8%)	99,0
	BV3	278,8 $\pm$ 1,9	94,0 $\pm$ 4,7	205,5 $\pm$ 4,7	(33,7%)	107,4
	MR1	910,0 $\pm$ 2,5	266,6 $\pm$ 4,9	716,2 $\pm$ 5,7	(29,3%)	108,0
	MR2	1085,8 $\pm$ 8,2	346,4 $\pm$ 7,4	895,8 $\pm$ 3,4	(31,9%)	114,4
	AV1	228,1 $\pm$ 3,3	42,7 $\pm$ 5,1	211,7 $\pm$ 4,1	(18,7%)	111,5
	AV2	468,2 $\pm$ 5,2	76,8 $\pm$ 3,7	357,2 $\pm$ 3,5	(16,4%)	92,7
	Mg	BV1	991,6 $\pm$ 3,1	997,2 $\pm$ 9,6	99,7 $\pm$ 3,4	(100,6%)
BV2		1614,0 $\pm$ 6,7	1525,3 $\pm$ 10,7	102,0 $\pm$ 6,4	(94,5%)	100,8
BV3		1105,3 $\pm$ 5,4	929,4 $\pm$ 6,5	165,9 $\pm$ 5,7	(84,1%)	99,1
MR1		1305,9 $\pm$ 5,7	1140,1 $\pm$ 4,6	152,8 $\pm$ 0,9	(87,3%)	99,0
MR2		1263,5 $\pm$ 3,2	1215,5 $\pm$ 5,4	115,0 $\pm$ 1,4	(96,2%)	105,3
AV1		608,8 $\pm$ 5,5	562,5 $\pm$ 0,8	87,1 $\pm$ 0,4	(92,4%)	106,7
AV2		587,1 $\pm$ 4,4	499,0 $\pm$ 3,6	114,5 $\pm$ 0,2	(85,0%)	104,5

Fonte: o autor

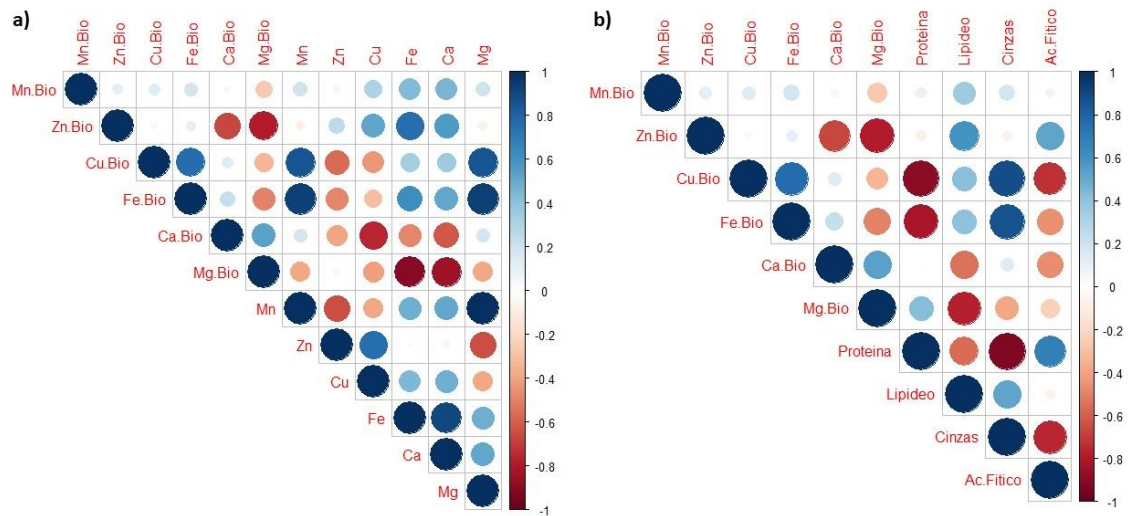
No presente trabalho observou-se que a fração bioacessível de Cu apresentou um acréscimo na fase gastrointestinal, variando de 69,7 a 98,1%. Inibidores da absorção de cobre são açúcares, proteínas, aminoácidos e histidina, em vez de fibras alimentares (YIN et al., 2017; SZYMCZYCHA-MADEJA, WELNA, POHL, 2015). Por outro lado, em meio ácido o AF forma fortes ligações eletrostáticas com resíduos básicos de aminoácil precipitando proteínas abaixo de pH 5,0 e, cátions polivalentes podem formar pontes metálicas entre AF e proteínas (GRAF, EATON, 1990). As amostras de aveia possuem os maiores teores de proteínas (13,7 e 14,7%) e apresentaram valores inferiores de bioacessibilidade na fase gástrica, podendo estar associada a interação comentada entre AF e proteínas.

As frações bioacessíveis para Ca foram baixas, variando de 27,7 a 54,6% na fase gástrica e de 16,4 a 33,7% na fase gastrointestinal. Alguns componentes presentes em alimentos como taninos, fitatos, oxalatos, fosfatos, carbonatos e até mesmo fibras podem atuar como inibidores afetando negativamente a bioacessibilidade de Ca, através da formação de complexos insolúveis ou pela precipitação devido à formação de sais insolúveis, como fosfato de cálcio em pH gastrointestinal (QU et al., 2018). As menores frações bioacessíveis foram na fase intestinal, sendo as farinhas de aveia a apresentarem os menores valores de bioacessibilidade. Os resultados podem estar relacionados principalmente as maiores concentrações de AF nessas amostras. Na fase gástrica as amostras de banana verde apresentaram maior bioacessibilidade. As frações bioacessíveis de Ca presente nas farinhas da casca de maracujá são semelhantes as encontradas nas farinhas de banana verde, uma vez que os teores de AF são semelhantes.

O Fe apresentou bioacessibilidade menor que 40% (Tabelas 9 e 10). O pH intestinal pode gerar complexos insolúveis de Fe com polifenóis e antinutrientes (citados anteriormente), como precipitar na forma de hidróxido de ferro, reduzindo a absorção desse elemento (OLIVEIRA et al., 2018). Assim como o cálcio, o ferro apresentou menores frações bioacessíveis na fase gastrointestinal, sendo as farinhas de aveia as amostras com menor bioacessibilidade de Fe, podendo ser pela maior concentração de AF. O estado de oxidação do ferro também interfere na sua disponibilidade, no pH intestinal o ferro férrico ( $Fe^{3+}$ ) é insolúvel, enquanto o ferro ferroso ( $Fe^{2+}$ ) é solúvel (BRYSEWSKA et al., 2019). Nos vegetais, leguminosas e grãos integrais predomina o Fe na forma não-heme ( $Fe^{3+}$ ), onde sua bioacessibilidade é menor (OLIVEIRA, ROCHA, FERNANDES, 2014). Em geral, essa baixa bioacessibilidade para Ca e Fe foi observada por outros autores que analisaram linhaça e gergelim (SOUZA et al., 2018), sementes de soja (HERRERA-AGUDELO, MIRÓ, ARRUDA, 2017), sementes de melancia (LAKSHMI, KAUL, 2011), queijo branco, pão, frutas e vegetais (KHOUZAM, POHL, LOBINSKI, 2011).

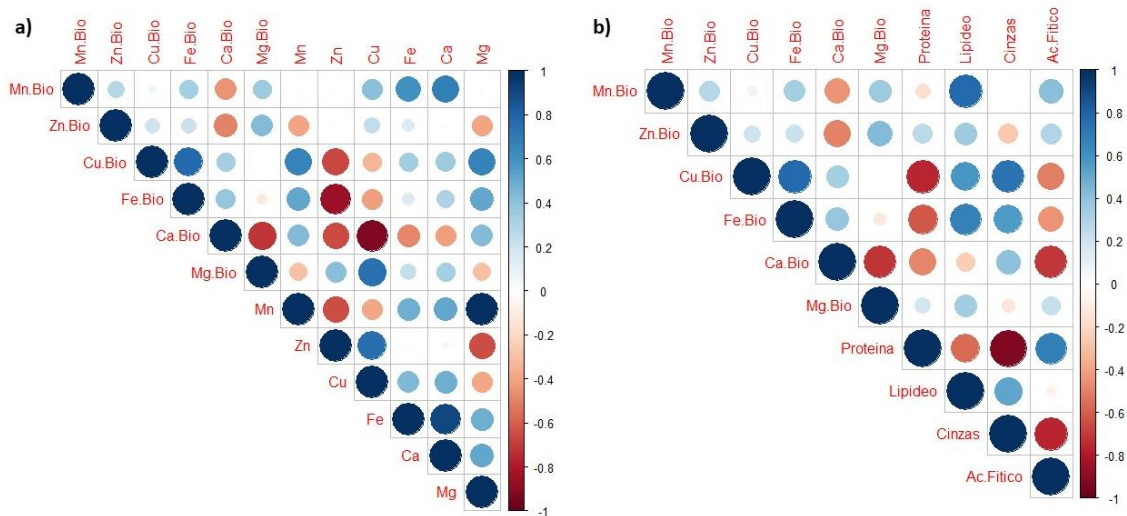
Neste trabalho, foi avaliada a influência da composição das farinhas analisadas (teor de minerais, composição centesimal e ácido fítico) sobre a bioacessibilidade dos minerais por meio da análise dos coeficientes de correlação entre estas variáveis. Os resultados estão apresentados nas Figuras 5 e 6 referentes as farinhas de banana verde, 7 e 8 referentes as farinhas da casca de maracujá e 9 e 10 referentes as farinhas de aveia.

**Figura 5** - Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de mineral (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas de banana verde na fase gástrica



Fonte: o autor

**Figura 6** - Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de mineral (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas de banana verde na fase gastrointestinal.



Fonte: o autor

Nas figuras 5 e 6, pode-se observar com as correlações que o Mn.Bio (mangânês bioacessível), que esse elemento não interage de forma negativa com a composição da matriz, sendo a maior correlação, com lipídeos de forma positiva na fase gastrointestinal (Figura 6b). Esses dados justificam a maior bioacessibilidade em ambas as fases apresentadas nas Tabelas 9 e 10. As menores concentrações de Mg bioacessível apresentadas na Tabela 9 podem estar relacionadas a maior interação desse elemento com a composição da matriz na fase gástrica, como pode ser observado na Figura 5 correlações negativas com minerais, proteínas, cinzas e AF. Por outro lado, na fase gastrointestinal o Mg.Bio apresentou correlação positiva com a matriz (Figura 6), justificando o aumento da bioacessibilidade de Mg nessa fase (Tabela 10).

O Zn.Bio apresentou correlações negativas com Ca.Bio e Mg.Bio na fase gástrica. No entanto, não é observado correlação negativa entre AF e Zn.Bio, indicando que a interação com esse antinutriente deve ocorrer através da co-precipitação mencionada, como um complexo de Zn-Ca-fitato, uma vez que existe correlação negativa entre Ca.Bio e AF (Figuras 5b e 6b). Dessa forma, a maior redução da bioacessibilidade na amostra BV2 da fase gástrica para fase gastrointestinal (redução de 13,6%), pode ser devido a maior concentração de Ca nessa amostra. Entretanto, essa relação não pode ser aplicada a amostra BV3, em razão de que a mesma apresentou a menor concentração de Ca, todavia não apresentou uma pequena redução, mas sim um pequeno aumento (Tabela 9 e 10).

Correlação negativa entre Cu e proteínas é evidenciada nas Figuras 5b e 6b, como também com o AF, comprovando a redução de Cu principalmente na fase gástrica (Tabela 9). Na duas fases o Cu.Bio interage negativamente com Zn e correlação positiva pode ser observada com Fe.Bio e Mg.Bio em ambas as fases (Figura 5a e 6a). Segundo Gibson (2007), o excesso de Zn pode interferir na absorção de Cu pelo organismo.

Nas Figura 5 e 6 pode-se observar que o Ca apresentou correlações negativas com diversos minerais (Zn, Cu e Fe), dentre eles a interação com Zn foi mais significativa. Lipídeos, proteínas e AF também apresentaram correlações negativas com Ca.Bio. Esses dados mostram como a composição da matriz pode interferir na bioacessibilidade de Ca.

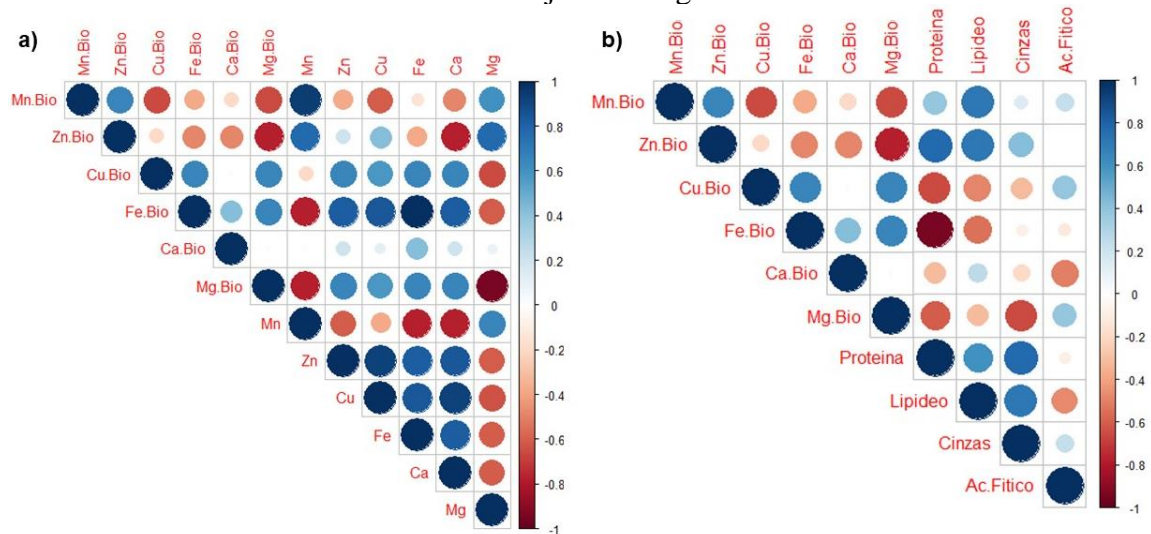
A correlação negativa entre Fe.Bio e AF pode justificar a menor bioacessibilidade de Fe na amostra BV1 (Tabela 8 e 9), uma vez que a mesma apresentou os maiores teores desse componente. É relatado na literatura a co-precipitação de Fe com proteínas e lipídeos no trato digestório, diminuído sua bioacessibilidade (BRYSEWSKA et al., 2019). Essa relação é evidenciada nas Figuras 5b e 6b, sendo apresentada correlação negativa entre Fe.Bio e proteínas. Dessa forma, pode-se inferir que a bioacessibilidade de Fe é inversamente

proporcional a concentração de proteínas. Além disso, foi observado uma forte correlação positiva com Mg na fase gástrica e forte correlação negativa com Zn na fase gastrointestinal.

Analisando as correlações para farinha da casca de maracujá, o Mn.Bio apresentou correlações negativas na fase gástrica com minerais (Figura 7a), porém essas interações negativas são reduzidas na fase gastrointestinal (Figura 8a). Interações com a composição centesimal e AF na fase gastrointestinal não são significativas (Figura 8b). Algumas interações competitivas podem ocorrer entre minerais com propriedades semelhantes, o que interfere na bioaccessibilidade desses elementos (HEMALATHA et al., 2009). O Zn foi menos bioacessível nas farinhas da casca de maracujá quando comparado as outras amostras (Tabela 9 e 10). Pode-se inferir que seja pela maior interação negativa desse elemento com os minerais, principalmente na fase intestinal. Forte correlação com Ca pode ser observado nas Figuras 7a e 8a, novamente, o Zn.Bio pode estar co-precipitando como complexo de Zn-Ca-fitato, sendo que também não apresentou correlações significativas com AF.

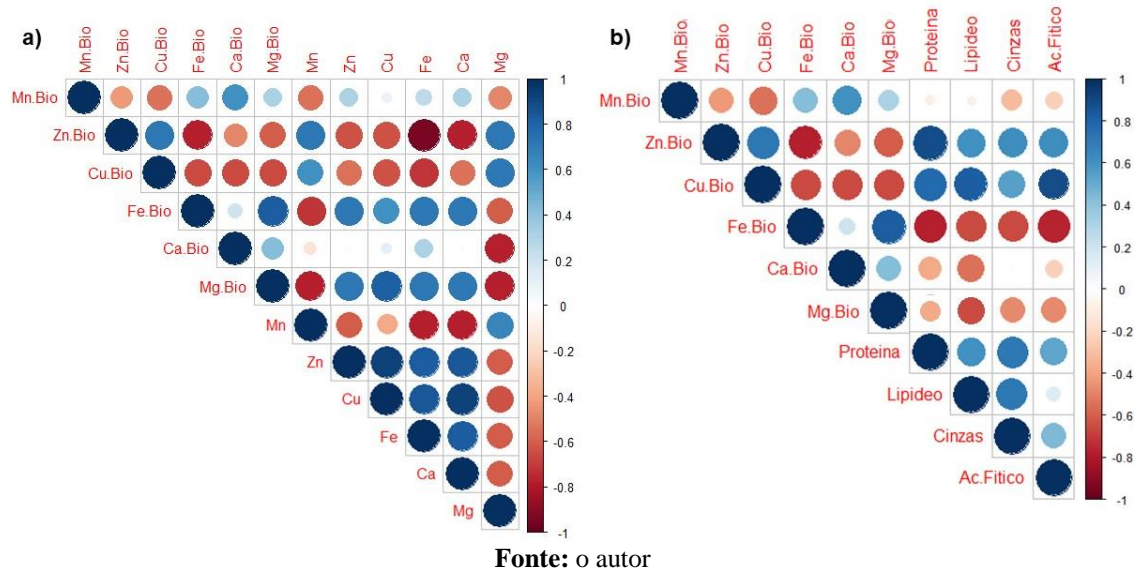
Através da Figura 7 pode-se perceber que a bioaccessibilidade de Cu na fase gástrica é afetada principalmente pelo Mg e proteínas. Entretanto na Figura 8a observa-se correlação negativa com mais minerais, estando em concordância com a menor bioaccessibilidade na amostra MR2 comparada a MR1, uma vez que apresentou teor total maior para Ca, Fe, Zn e Cu (Tabela 8). Elementos em menores concentrações podem sofrer inibição de elementos com mesma carga em maiores concentrações (COZZOLINO, 1997).

**Figura 7** - Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de mineral (a) e com a composição centesimal e ácido fitico (b) das farinhas da casca de maracujá na fase gástrica



Fonte: o autor

**Figura 8** - Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de mineral (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas da casca de maracujá na fase gastrointestinal



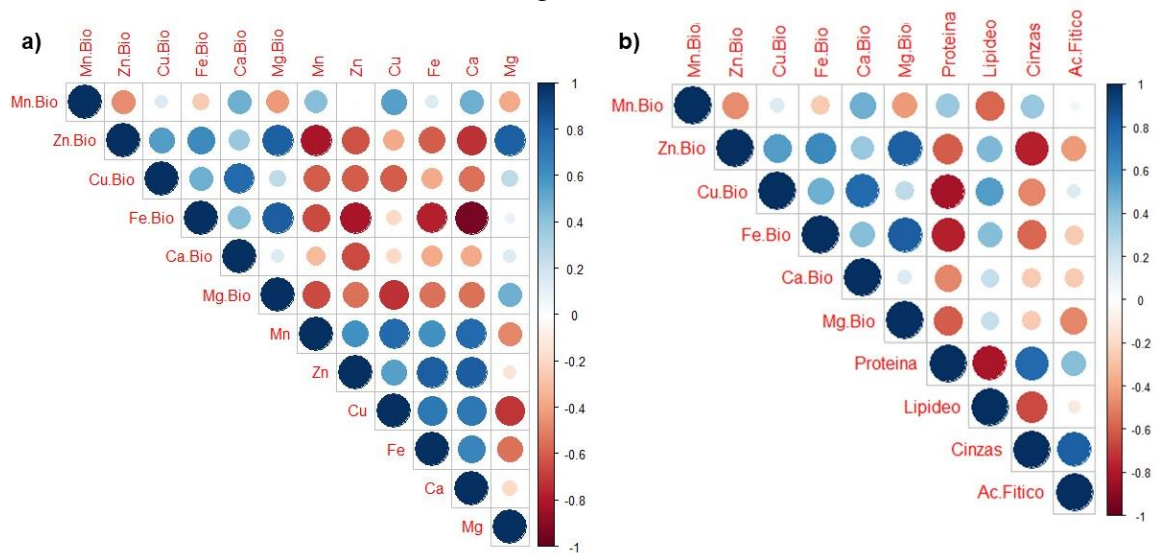
A bioacessibilidade de Fe e Ca foram menores na fase intestinal (Tabela 10), pela Figura 8b pode-se observar que esses elementos sofrem mais interações negativas quando comparado com a fase gástrica (Figura 7b). O Fe.Bio apresentou correlação negativa com Mn e Mg (Figura 7a e 8a). Na literatura é relatado o efeito inibitório do Mn sobre a bioacessibilidade de Fe (ROSSANDER-HULTEN et al., 1991). De todos os metais quantificados o Mg foi o único que apresentou interação significativa com Ca.Bio (Figura 8a).

Nas Figura 7a e 8a pode-se observar que a concentração de Mg.Bio é inversa da concentração total de Mn, contudo apresentou correlações positivas com os demais minerais. Na Figura 7b e 8b são apresentadas interações de Mg.Bio com a composição centesimal, sendo na fase gastrointestinal a mais significativa com lipídeos. Segundo Corte-Real e Bohn (2018), os autores relatam sobre a interação de ácidos graxos com metais divalentes (Ca, Mg, Zn e Fe), formando complexos pouco solúveis no trato gastrointestinal. Em relação ao conteúdo total dos minerais, nas Figuras 7a e 8a pode-se observar que Mg total possui correlação negativa com a concentração total dos demais minerais. A absorção de nutrientes do solo pelo alimento pode sofrer interferências provocadas pela competição entre os elementos, em função da concentração desses cátions no solo (MELO, ALLEONI, 2019).

Nas correlações referentes as farinhas de aveia o Mn.Bio na fase gástrica (Figura 9) apresentou correlações negativas com Zn.Bio, Mg.Bio, Mg e lípídeos. Na fase gastrointestinal obteve-se frações bioacessíveis elevadas, sendo que na Figura 10a pode-se observar que a bioacessibilidade de Mn é inversamente proporcional a bioacessibilidade da maioria dos minerais. Assim, quanto mais Mn.Bio menor fração bioacessível dos outros minerais nas amostras de aveia. Na Figura 10b não existe interações significativas com a composição centesimal e AF.

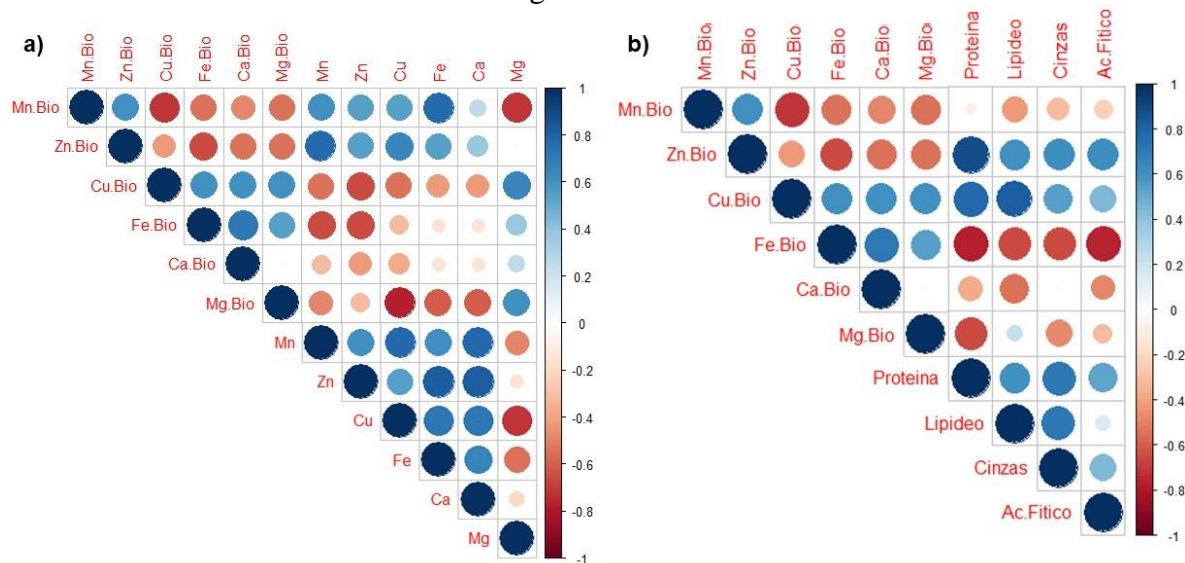
A bioacessibilidade de Zn é afetada negativamente pela concentração total dos minerais, proteínas e AF na fase gástrica (Figura 9a), na fase gastrointestinal o Zn.Bio interage com a frações bioacessíveis dos minerais (Figura 10a). Figura 10b não existem interações negativas com a composição centesimal como pode-se observar na Figura 9b. Aparentemente, uma maior interação ocorre na fase gástrica, contudo, valores menores de bioacessibilidade de Zn são encontrados na fase gastrointestinal (Tabela 10). Possivelmente, outros fatores estão inibindo a bioacessibilidade de Zn.

**Figura 9** - Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de minerais (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas de aveia na fase gástrica



Fonte: o autor

**Figura 10** - Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais com teor total de mineral (a) e com a composição centesimal e ácido fítico (b) das farinhas de aveia na fase gastrointestinal



**Fonte:** o autor

Através das correlações, pode-se observar que existe uma maior interação do Cu.Bio com a matriz na fase gástrica. Na Figura 9b foi apresentado correlação negativa entre esse elemento e proteína, confirmando o que foi discutido anteriormente. Ainda, o Cu.Bio interage negativamente com a maioria dos metais quantificados (Figura 9a). Dessa forma, valores superiores de bioacessibilidade na fase intestinal para Cu (Tabela 10), deve-se provavelmente as menores interações inversas com os metais na fase intestinal (Figura 9a) e por apresentar correlações positivas com a composição centesimal e AF (Figura 9b).

O Fe.Bio apresentou forte correlação negativa com Ca, Zn e Mn (Figura 9a), sendo que o efeito inibitório de Ca e Mn sobre a bioacessibilidade Fe é relatado na literatura (GIBSON, 2007; ROSSANDER-HULTEN et al., 1991). As farinhas de aveia apresentaram frações bioacessíveis de Fe menores em relação as outras amostras, possivelmente devido ao alto teor de AF, lipídeos e proteínas que apresentam propriedades quelantes com esses minerais, correlações negativas com esses parâmetros são evidenciadas nas Figuras 9b e 10b. A bioacessibilidade de Ca também foi inferior. Analisando as Figuras 9 e 10, o cálcio interage negativamente com a matriz tanto na fase gástrica quanto na fase gastrointestinal, indicando que diversos fatores podem dificultar a bioacessibilidade de Ca no trato gastrointestinal.

A bioacessibilidade de Mg nas farinhas de aveia apresentou interação inversa com os outros metais, assim com a composição centesimal e AF (Figuras 9 e 10). A amostra AV1 teve bioacessibilidade mais pronunciada que a AV2 em ambas as fases, uma vez que contém menor teor de proteínas.

De acordo com os resultados apresentados, pode-se observar de modo geral, os elementos apresentaram elevados valores de bioacessibilidade para Mg e Mn, sendo que as farinhas da casca de maracujá e de aveia foram as que apresentaram as maiores frações bioacessíveis de Mn ao final da simulação gastrointestinal (>90%) (Tabela 9 e 10). Farinhas de aveia apresentaram valores inferiores para bioacessibilidade de Cu na fase gástrica (Tabela 9) podendo estar relacionado ao maior conteúdo de proteínas presente nestas amostras. Também foi a amostra com as menores frações bioacessíveis de Ca e Fe, possivelmente devido ao alto teor de AF, lipídeos e proteínas que apresentam propriedades quelantes com esses minerais (Figuras 9b e 10b). A menor bioacessibilidade de Zn foi encontrada na amostra MR2 a mesma que apresentou a maior concentração de Ca total (Tabela 8) dentre todas as amostras analisadas.

### 5.5 CONTRIBUIÇÃO NUTRICIONAL DO CONSUMO DAS FARINHAS FUNCIONAIS

A Secretaria de Vigilância Sanitária a fim de fixar identidade e características mínimas de qualidade para alimentos comercializados que utilizam a Informação Nutricional Complementar, estabelece por meio da Portaria nº 27/1998, parâmetros que permite o fabricante inferir se o produto vendido possui uma ou mais propriedades particulares, relacionadas ao seu valor energético e o seu conteúdo de proteínas, gorduras, carboidratos, fibras alimentares, vitaminas e ou minerais. Em relação ao conteúdo absoluto, essa legislação dita que um produto pode ser classificado em relação a vitaminas e minerais recebendo o atributo de “fonte”, quando esse atender o mínimo de 15% da IDR de referência por 100g (sólidos) e, “alto teor” quando atender o mínimo de 30% da IDR de referência por 100g (sólidos) (ANVISA, 1998). Na Resolução nº 269/2005 são apresentados valores recomendados de IDR (para adultos, gestantes, lactantes e crianças) para proteína, vitaminas e minerais, com o intuito de controlar distúrbios nutricionais e doenças associadas à alimentação e nutrição (ANVISA 2005).

Nesse contexto, foram realizados os cálculos de contribuição da IDR, em %, para todas as amostras referente a média dos valores do conteúdo total. Com intuito de avaliar a contribuição verdadeira em relação aos minerais investigados, foram realizados também os cálculos de contribuição da IDR para a média dos valores de bioacessibilidade na fase gástrica e gastrointestinal (Tabela 11). Os cálculos foram realizados considerando uma porção de 100g de alimento e o IDR de Ca (1000 mg), Fe (14 mg), Mg (260 mg), Zn (7 mg), Cu (0,9 mg) e Mn (2,3 mg) para adultos (ANVISA, 2005).

De acordo com a Tabela 11 e considerando os valores reconhecidos de IDR, as farinhas de banana verde são fontes de Zn (>15% da IDR) e possuem alto teor de Mg, Fe e Cu (>30%

da IDR). Por sua vez, as farinhas de aveia apresentaram serem fontes de Mg e Fe e possuem alto teor de Zn e Cu. Ao contrário das farinhas de aveia, as farinhas da casca de maracujá são fontes de Zn e Cu e apresentaram terem alto teor de Mg. Dessa forma, pode-se perceber que dentre as amostras os minerais que contribuem mais significativamente são Zn, Cu e Mg, quando levado em consideração o conteúdo total.

**Tabela 11** - Contribuição (%) do consumo das farinhas de banana verde (BV), casca de maracujá (MR) e aveia (AV) para o IDR dos elementos para uma porção de 100g de alimento, antes e após digestão *in vitro*

Elemento	Amostras	Conteúdo total	Fração Bioacessível Fase Gástrica	Fração Bioacessível Fase Gastrointestinal
Ca	BV	4,5	2,2	1,3
	MR	10,0	4,2	3,1
	AV	3,5	1,0	0,6
Mg	BV	47,6	39,2	44,2
	MR	49,4	36,7	45,3
	AV	23,0	18,8	20,4
Mn	BV	282,4	217,6	235,1
	MR	186,5	158,9	171,5
	AV	242,4	218,3	255,4
Fe	BV	53,9	17,5	15,9
	MR	128,6	44,1	41,5
	AV	28,3	5,9	5,4
Zn	BV	16,7	15,6	14,0
	MR	23,2	18,4	14,6
	AV	45,9	43,1	31,6
Cu	BV	31,6	20,0	24,8
	MR	26,1	17,8	20,0
	AV	49,4	28,3	46,7

**Fonte:** o autor  
IDR – Ingestão diária recomendada.

Contribuições obtidas de Mn referente a IDR chamam atenção, uma vez que os valores são superiores a 100%, tanto para o conteúdo total quanto para as frações bioacessíveis. No entanto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) também estabelece limites toleráveis para ingestão de minerais (Níveis Toleráveis de Ingestão Superior - UL), que determina para o Mn um limite de 11,0 mg dia<sup>-1</sup> (ANVISA, 2018). Quando esse valor é considerado, resultados próximos de 50% são obtidos e as amostras não apresentariam riscos de toxicidade para a saúde (NASCIMENTO, GONZALEZ, 2018; CATALÁN-VÁZQUEZ, RIOJAS-RODRÍGUEZ, PELCASTRE-VILLAFUERTE, 2013).

O mesmo caso pode ser considerado para as farinhas de maracujá que apresentaram 128,6% de contribuição para Fe em relação ao conteúdo total. Se considerado o valor de UL

para ferro, que é de  $45 \text{ mg dia}^{-1}$ , a contribuição desse elemento seria de  $\sim 40\%$ , embora haja um decréscimo quando observado as contribuições nas fases gástrica e gastrointestinal. Todas as amostras apresentaram um decréscimo na contribuição de Fe para IDR após a digestão gastrointestinal quando comparado aos valores obtidos do conteúdo total. Essa redução, como já discutido é devido a interação desse elemento com componentes da matriz. Entretanto, as farinhas de banana verde podem ser classificadas como fonte de Fe (15,9%) e as farinhas da casca de maracujá com alto teor de Fe (41,5%). Esses dados mostram que nas amostras quanto maior concentração total de Fe maior a contribuição da IDR.

Dessa forma, quando se leva em consideração as frações bioacessíveis, as concentrações para a contribuição de IDR são reduzidas. Os elementos mais afetados ao passar pela simulação do trato gastrointestinal foram o Ca e o Fe, sendo que nenhuma amostra mostrou-se ser boa fonte de cálcio. Pode-se inferir que o Mg e o Cu foram um dos poucos elementos que mantiveram contribuições significativas classificando as amostras como fonte ou com alto teor. Para ingestão de Fe a farinha da casca de maracujá seria mais indicada, como a farinha de aveia para Zn.

Mesmo a contribuição de alguns minerais ser baixa, o consumo dessas farinhas é indicado quando comparado a outras amostras, como no caso da linhaça e gergelim, que segundo Souza e colaboradores (2018), mesmo que essas amostras tenham apresentado conteúdos totais superiores,  $14,9$  a  $21,2 \text{ mg Kg}^{-1}$  para Cu e  $1030,0$  a  $3349,0 \text{ mg Kg}^{-1}$  para Ca, não foi possível detectar frações bioacessíveis na fase gastrointestinal para esses minerais. Esses dados inferem que ter um conteúdo total alto de algum mineral, não indica, necessariamente, que esse mineral apresentará uma contribuição nutricional elevada, uma vez que a matriz alimentar influencia diretamente nessa relação.

Ainda, as farinhas apresentaram valor nutricional maior que carnes (porco, galinha e carne vermelha) em relação ao conteúdo total e bioacessível de Ca, Cu, Fe e Mg segundo resultados obtidos por Menezes e colaboradores (2018), onde descrevem frações bioacessíveis menores que 50% para todos os elementos. O conteúdo total de Ca, Cu, Fe e Mg para as amostras variam de  $68$  a  $142 \text{ mg Kg}^{-1}$ ,  $0,65$  a  $2,8 \text{ mg Kg}^{-1}$ ,  $16$  a  $42 \text{ mg Kg}^{-1}$  e de  $556$  a  $1289 \text{ mg Kg}^{-1}$ , respectivamente.

Assim, avaliar a contribuição considerando apenas o conteúdo total mostra ser insuficiente para estimar o risco ou benefício relacionado ao consumo dos alimentos, visto que, pode haver redução na contribuição desses elementos após passar o trato digestório.

## 6. CONCLUSÕES

Foram estudadas amostras comerciais de farinhas de banana verde, casca de maracujá e aveia, com intuito de estimar o real valor nutricional oferecido por esses produtos. Através dos resultados obtidos, evidenciou-se que a farinha de aveia pode ser classificada como produto de alto teor de proteínas e a farinha da casca de maracujá como fonte de proteína, já que contribuem com mais de 12 e 6 g 100g<sup>-1</sup>, respectivamente, segundo a Resolução n° 54/2012. Dentre as amostras analisadas, as farinhas de aveia se destacaram na quantidade do teor de lipídeos. Em relação ao teor de ácido fítico, as farinhas de aveia foram as amostras com maior concentração. Esse valor era esperado já que esse tipo de componente é mais presente em cereais do que em frutas.

Considerando apenas o teor total dos minerais, independente da farinha analisada, quantidades relevantes de Mg e Ca foram encontradas. As farinhas de aveia apresentaram os maiores valores para Zn e Cu, e as farinhas da casca de maracujá para Fe. Variações no mesmo tipo de amostras podem estar relacionadas à disposição de nutrientes presentes no solo assim como as práticas agrícolas e às mudanças climáticas que influenciam na composição nutricional final das frutas e cereais.

Com o estudo de bioacessibilidade, foi possível uma compreensão mais ampla a respeito do aporte nutricional das farinhas analisadas. A avaliação da bioacessibilidade mostrou que nem sempre o valor total de um mineral, presente em um alimento, será disponibilizado para absorção quando esse passar pelo processo de digestão e que a fração bioacessível varia de elemento para elemento dependendo da sua solubilidade no trato gastrointestinal e, de sua interação com componentes presentes na matriz.

Em relação aos resultados obtidos nos testes *in vitro*, as farinhas mostraram que os elementos Mg, Mn, Zn e Cu possuem valores altos de bioacessibilidade, chegando a 100%. Entretanto Fe e Ca foram os minerais com menor bioacessibilidade, independente da fase analisada. Segundo a correlação de Spearman a redução da bioacessibilidade desses elementos pode estar fortemente relacionada a interações com a matriz.

De modo geral, pode-se inferir que as amostras em relação ao conteúdo total podem ser consideradas uma fonte de Zn e com alto teor de Mg, Fe e Cu em relação a contribuição da IDR. Quando analisado os resultados obtidos de bioacessibilidade na fase gastrointestinal, cada amostra se destaca em elementos diferentes, como as farinhas de aveia que apresentaram ter alto teor de Zn e Cu. Farinhas de banana verde e da casca de maracujá apresentaram perfil mais

semelhante, onde indicam ser fontes de Cu e possuírem alto teor de Mg. Dessa forma as farinhas podem ser consideradas como alimentos relevantes para ingestão desses minerais.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABREU, J. *et al.* Antioxidant capacity, phenolic compound content and sensory properties of cookies produced from organic grape peel (*Vitis labrusca*) flour. **International Journal of Food Science and Technology** 2019, 54, 1215–1224
- AGAMA-ACEVEDO, E. *et al.* Starch digestibility and glycemic index of cookies partially substituted with unripe banana flour. **LWT - Food Science and Technology** 2012, 46, 177-182.
- AIRES, M. M. Fisiologia. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013, 1335 p.
- ALEGRÍA-TORÁN, A.; BARBERÁ-SÁEZ, R.; CILLA-TATAY, A. Bioavailability of minerals in foods. **Handbook of Mineral Elements in Food**, 2015, 41-67.
- ALMINGER, M. *et al.* *In Vitro* Models for Studying Secondary Plant Metabolite Digestion and Bioaccessibility. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 2014, 13, 413-436.
- ALTUNDAG, H. *et al.* Investigation of the Influence of Selected Soil and Plant Properties from Sakarya, Turkey, on the Bioavailability of Trace Elements by Applying an In Vitro Digestion Model. **Biological Trace Element Research** 2015, 168, 276-85.
- AMORIM, E. G. Elaboração alternativa de produtos a partir de resíduos alimentares. **Veredas Favip** 2014, 7, 50-60.
- AMORIM, Q. S. Resíduos da indústria processadora de polpas de frutas: capacidade antioxidante e fatores antinutricionais. Dissertação de Mestrado 2016, 89p.
- ANDRADE, B. A. *et al.* Produção de farinha de banana verde (*Musa spp.*) para aplicação em pão de trigo integral. **Brazilian Journal Food Technology** 2018, 21, 1-10.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 354, de 18 de julho de 1996. Aprovar a “**Norma Técnica referente a Farinha de Trigo**”. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1996/prt0354\\_18\\_07\\_1996.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1996/prt0354_18_07_1996.html)>. Acesso em: 18 novembro 2018.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Estabelece as “**Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos**”. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1999/prt0398\\_30\\_04\\_1999.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1999/prt0398_30_04_1999.html)>. Acesso em: 10 junho 2018.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “**Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**”. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC\\_269\\_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3)> Acesso em: 10 junho 2018.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 54 de novembro de 2012. Dispõe sobre o **Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar**. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/%2033880/2568070/rdc0054\\_12\\_11\\_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864](http://portal.anvisa.gov.br/documents/%2033880/2568070/rdc0054_12_11_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864)> Acesso em: 5 agosto 2018.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Justificativas para os limites mínimos**

**e máximos de nutrientes, substâncias bioativas e enzimas da proposta regulatória de suplementos alimentares.** 2018. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/3845226/0/Justificativa\\_Limites\\_Suplementos.pdf/e265ccd0-8361-4d8e-a33f-ce8b2ca69424](http://portal.anvisa.gov.br/documents/3845226/0/Justificativa_Limites_Suplementos.pdf/e265ccd0-8361-4d8e-a33f-ce8b2ca69424)> Acesso em: 28 setembro 2019.

ANYASI, T. A.; A. JIDEANI, I. O.; MCHAU, G. R. A. Phenolics and essential mineral profile of organic acid pretreated unripe banana flour. **Food Research International**, 2018, 104, 100–109.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC International. 16. ed. Arlington, AOAC, 1995.

AQUINO, C. F. Teores de minerais em polpas e cascas de frutos de cultivares de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 2014, 49, 546-553.

ARPAJAN, S. *et al.* Bioaccessibility of Cd, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn in Hazelnut and Walnut Kernels Investigated by Enzymolysis Approach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 2013, 61, 6086-91.

BAAIJ, J. H. F.; HOENDEROP, J. G. J.; BINDELS, R. J. M. Magnesium in man: implications for health and disease. **Physiological Reviews** 2015, 95, 1-46.

BAN, Y.; QIU, J.; REN, C.; LI, Z. Effects of different cooking methods of oatmeal on preventing the diet-induced increase of cholesterol level in hypercholesterolemic rats. **Lipids in Health and Disease** 2015, 14, 135-163.

BARRE, R., COURTOIS, J. E.; WORMSER, G. Etude de la structure de l'acide phytique au moyen de ses courbes de titration et de la conductivite de ses solutions. **Bulletin de la Société Chimique de France** 1954, 36, 455-474.

BELLMANN, S. *et al.* Human glycemic response curves after intake of carbohydrate foods are accurately predicted by combining in vitro gastrointestinal digestion with in silico kinetic modeling. **Clinical Nutrition Experimental** 2018, 17, 8-22.

BENEVIDES, C. M. J. *et al.* Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional** 2011, 18, 67-79.

BERENGUEL, O.; PESSÔA, G. S.; ARRUDA, M. A. Z. Total content and in vitro bioaccessibility of tellurium in Brazil nuts. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology** 2018, 48, 46–51.

BEZERRA, C. V. *et al.* Green banana (*Musa cavendishii*) flour obtained in spouted bed – Effect of drying on physico-chemical, functional and morphological characteristics of the starch. **Industrial Crops and Products** 2013, 41, 241–249.

BI, Y. *et al.* Molecular structure and digestibility of banana flour and starch. **Food Hydrocolloids** 2017, 72, 219-227.

BORGES, A. M. *et al.* Estabilidade da pré-mistura de bolo elaborada com 60% de farinha de banana verde. **Ciência e Agrotecnologia** 2010, 34, 173-181.

BRITO, A. L. B. *et al.* Determination of inorganic constituents and physicochemical characterization of functional flour samples. **Microchemical Journal** 2017, 132, 112–118.

BRITO, T. B. *et al.* Fruit and vegetable residues flours with different granulometry range as raw material for pectin-enriched biodegradable film preparation. **Food Research International**

2019, 121, 412–421.

BROADWAY, A. *et al.* Determination of the bioaccessibility of chromium in Glasgow soil and the implications for human health risk assessment. **Science of the Total Environment** 2010, 409, 267-277.

BRYZSEWSKA, M. A. *et al.* In vitro bioaccessibility and bioavailability of iron from breads fortified with microencapsulated iron. **LWT - Food Science and Technology** 2019, 99, 431–437.

BURGOS-LUJÁN, I.; TONG, A. Z. Determination of Phytic Acid in Juices and Milks by Developing a Quick Complexometric-Titration Method. **Food Analytical Methods** 2015, 8, 1836–1841.

BUSCHER, B. A. P. *et al.* Determination of inositol phosphates in fermentation broth using capillary zone electrophoresis with indirect UV detection. **Journal of Chromatography A**, 1994, 678, 145-150.

CABAÑERO, A. I.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. Selenium and mercury bioaccessibility in fish samples: an in vitro digestion method. **Analytica Chimica Acta** 2004, 526, 51–61.

CAMPUZANO, A.; ROSELL, C. M.; CORNEJO, F. Physicochemical and nutritional characteristics of banana flour during ripening. **Food Chemistry** 2018, 256, 11–17.

CARDOSO, C. *et al.* Bioaccessibility assessment methodologies and their consequences for the risk/benefit evaluation of food. **Trends in Food Science & Technology** 2015, 41, 5-23.

CARVALHO, V. S.; CONTI-SILVA, A. C. Cereal bars produced with banana peel flour: evaluation of acceptability and sensory profile. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 2018, 98, 134-139.

CATALÁN-VÁZQUEZ, M.; RIOJAS-RODRÍGUEZ, H.; PELCASTRE-VILLAFUERTE, B. E. Risk: for whom? Representations of mining activity by different social actors in the molango manganese district of Hidalgo, Mexico. **Risk Analysis** 2014, 34, 28-43.

CAZARIN, C. B. B. *et al.* Intestinal anti-inflammatory effects of Passiflora edulis peel in the dextran sodium sulphate model of mouse colitis. **Journal of Functional Foods** 2016, 26, 565–576.

CHAUHAN, D. *et al.* Effect of Incorporation of Oat Flour on Nutritional and Organoleptic Characteristics of Bread and Noodles. **Current Research in Nutrition and Food Science Journal** 2018, 6, 148-156.

CHEN, Y. *et al.* Fluorimetric determination of phytic acid in urine based on replacement reaction. **Analytica Chimica Acta** 2007, 605, 185–191.

CHERYAN, M.; RACKIS, J. J. Phytic acid interactions in food systems. **Food Science and Nutrition** 1980, 13, 297-335.

CHI, H. *et al.* In vitro model to assess arsenic bioaccessibility and speciation in cooked shrimp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 2018, 66, 4710–4715

COELHO, E. M. *et al.* Physicochemical properties, rheology and degree of esterification of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa*) peel flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 2018, 1, 166-173.

COELHO, E. M.; GOMES, R. G.; MACHADO, B. A. S.; OLIVEIRA, R. S.; LIMA, M. S.;

- AZEVEDO, L. C.; GUEZ, M. A. U. Passion fruit peel flour e technological properties and application in food products. **Food Hydrocolloids** 2017, 62, 158-164.
- CORTE-REAL, J.; BOHN, T. Interaction of divalent minerals with liposoluble nutrients and phytochemicals during digestion and influences on their bioavailability – a review. *Food Chemistry*, 2018, 252, 285–293.
- COSTA, G. A.; MERCADANTE, A. Z. In vitro bioaccessibility of free and esterified carotenoids in cajá frozen pulp-based beverages. **Journal of Food Composition and Analysis** 2018, 68, 53-59.
- COSTELLO, A. J. R.; GLONEK, T.; MYERS, T. C. <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance-pH titrations of myo-inositol hexaphosphate. **Carbohydrate Research** 1976, 46, 159-171.
- COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. *Revista Nutrição*, 1997, 10 87-98.
- DAHIYA, P. K. *et al.* Nutritional characteristics of mung bean foods. **British Food Journal** 2014, 116, 1031-1046.
- DANG, F. *et al.* Oral bioaccessibility of silver nanoparticles and ions in natural soils: Importance of soil properties. **Environmental Pollution** 2018, 243, 364-373.
- DE CARLI, L. *et al.* P. I. B. Estudo da estabilidade do complexo ácido fítico e o íon Ni (II). **Ciência e Tecnologia de Alimentos** 2006, 26, 19-26.
- DEĞIRMENÇIOĞLU, N. *et al.* The impact of drying techniques on phenolic compound, total phenolic content and antioxidant capacity of oat flour tarhana. **Food Chemistry** 2016, 194, 587-594.
- DENDOUGUI, F.; SCHWEDT, G. In vitro analysis of binding capacities of calcium to phytic acid in different food samples. **European Food Research and Technology** 2004, 219, 409–415.
- DENYS, S. In Vivo Validation of the unified BARGE method to assess the bioaccessibility of arsenic, antimony, cadmium, and lead in soils. **Environmental Science & Technology** 2012, 46, 6252–6260.
- DUONG, Q. H. *et al.* Determination of myo-inositol phosphates in tree nuts and grain fractions by HPLC-ESI-MS. **Journal of composition and analysis** 2017, 59, 74-82.
- DUTRA, M. C. P. *et al.* Integrated analyses of phenolic compounds and minerals of Brazilian organic and conventional grape juices and wines: Validation of a method for determination of Cu, Fe and Mn. **Food Chemistry** 2018, 269, 157-165.
- EAGLING, T. *et al.* Iron bioavailability in two commercial cultivars of wheat: comparison between wholegrain and white flour and the effects of nicotianamine and 2'-deoxymugineic acid on iron uptake into Caco-2 cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 2014, 62, 10320-10325.
- ESHAK, N. S. Sensory evaluation and nutritional value of balady flat bread supplemented with banana peels as a natural source of dietary fiber. **Annals of Agricultural Sciences** 2016, 61, 229-235.
- ETCHEVERRY, P.; GRUSAK, L. M. A.; FLEIGE, E. Application of in vitro bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, iron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, D, and E. **Frontiers in Physiology** 2012, 3, 1-22.

- FAO. United Nations Food and Agriculture Organization. Food losses and waste in Latin America and the Caribbean. 2016.
- FEBLES, C. I. *et al.* Phytic acid level in infant flours. **Food Chemistry** 2001, 74, 437–441.
- FERREIRA, M. P.; ROBERTO, S. B.; CAMISA, J. Caracterização e aceitabilidade de barras de cereais enriquecidas com colágeno hidrolisado. **Revista Virtual de Química** 2018, 10, 155-171.
- FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; CARVAJAL-LÉRIDA, I; PÉREZ-GÁLVEZ, A. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. **Nutrition Research** 2009, 29, 751-760.
- FOULKES, M. *et al.* Bioaccessibility of U, Th and Pb in solid wastes and soils from an abandoned uranium mine. **Journal of Environmental Radioactivity** 2017, 173, 85-96.
- FREITAS, M. C. J. *et al.* Honey Breads made with flour of different varieties of green banana. **Demetra** 2017, 12, 465-482.
- GALÁN, M. G.; DRAGO, S. R. Effects of soy protein and calcium levels on mineral bioaccessibility and protein digestibility from enteral formulas. **Plant Foods for Human Nutrition** 2014, 69, 283–289.
- GARCÍA-ESTEPA, R. M.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. Phytic acid content in milled cereal products and breads. **Food Research International** 1999, 32, 217-221.
- GARCÍA-NEBOT, M. J.; BARBERÁ, R.; ALEGRÍA, A. Iron and zinc bioavailability in Caco-2 cells: Influence of caseinophosphopeptides. **Food Chemistry** 2012, 138, 1298–1303.
- GARCÍA-VILLANOVA, R.; GARCÍA-VILLANOVA, R. J.; LOPE, C. R. Determination of phytic acid by complexometric titration of excess of iron (iii). **Analyst** 1982, 107, 1503-1506.
- GEMEDE, H. F.; RATTA, N. Antinutritional factors in plant foods: Potential health benefits and adverse effects. **International Journal of Nutrition and Food Sciences** 2014, 3, 284-289.
- GHARIBZAHEDI, S. M. T.; JAFARI, S. M. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. **Trends in Food Science & Technology** 2017, 62, 119-132.
- GIBSON, R. S. The role of diet- and host-related factors in nutrient bioavailability and thus in nutrient-based dietary requirement estimates. **Food and Nutrition Bulletin**, 2007, 28, 77-100.
- GONÇALVES, J. Q. *et al.* Secagem da casca e polpa da banana verde (*Musa acuminata*): propriedades físicas e funcionais da farinha. **Global Science Technology** 2016, 9, 62-72.
- GRAF, E; EATON, J. W. Antioxidant functions of phytic acid. **Free Radical Biology & Medicine** 1990, 8, 61-69.
- GRASSBY, T. *et al.* In vitro and in vivo modeling of lipid bioaccessibility and digestion from almond muffins: The importance of the cell-wall barrier mechanism. **Journal of Functional Foods** 2017, 37, 263–271.
- HAGER A. S. *et al.* Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. **Journal of Cereal Science** 2012, 56, 239-247.

- HARLAND, B. F.; OBERLEAS, D. Anion-exchange method for determination of phytate in foods: Collaborative study. **Journal of the AOAC** 1986, 69, 667-670.
- HATAT-FRAILE, M. M.; BARBEAU, B. Performance of colorimetric methods for the analysis of low levels of manganese in water. **Talanta** 2019, 194, 786–794.
- HEMALATHA, S. *et al.* Influence of exogenous iron, calcium, protein and common salt on the bioaccessibility of zinc from cereals and legumes. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, 2009, 23, 75–83.
- HERAS, R. M. L.; PINAZO, A.; HEREDIA, A.; ANDRÉS, A. Evaluation studies of persimmon plant (*Diospyros kaki*) for physiological benefits and bioaccessibility of antioxidants by in vitro simulated gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, 2017, 214, 478–485.
- HERRERA-AGUDELO, M. A.; MIRÓ, M.; ARRUDA, M. A.Z. In vitro oral bioaccessibility and total content of Cu, Fe, Mn and Zn from transgenic (through *cp4* EPSPS gene) and nontransgenic precursor/successor soybean seeds. **Food Chemistry** 2017, 225, 125-131.
- HUANG, H-Y. *et al.* Multivitamin/mineral supplements and prevention of chronic disease: Executive summary. **The American Journal of Clinical Nutrition** 2007, 85, 265S–268S.
- IBGE, 2019. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola. Estatística da Produção Agrícola. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>>. Acesso em: 03 março 2020.
- IBGE, 2018. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457>> Acesso em: 03 março 2020.
- INTAWONGSE, KONGCHOUY, M.; N.; DEAN, J. R. Bioaccessibility of heavy metals in the seaweed *Caulerpa racemosa* var. *corynephora*: Human health risk from consumption. **Instrumentation Science & Technology** 2018, 46, 628-644.
- KAN, A. Characterization of the fatty acid and mineral compositions of selected cereal cultivars from turkey. **Records of Natural Products** 2015, 9, 124-134.
- KEMME, P. A. *et al.* Quantification of inositol phosphates using <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy in animal nutrition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 1999, 47, 5116-5121.
- KHOUZAM, R. B.; POHL, P.; LOBINSKI, R. Bioaccessibility of essential elements from white cheese, bread, fruit and vegetables. **Talanta** 2011, 86, 425– 428.
- KLETTKE, V. C.; MARCHETTI, M. M.; FOPPA, T. Avaliação físico química do extrato de aveia (*Avena sativa* L.) na inibição da tirosinase como potencial utilização para tratamento de olheiras. **Revista Internacional de Educação Superior** 2014, 3, 71-78.
- KONIETZNY, U.; GREINER, R. Phytic Acid: Properties and Determination. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition** (Second Edition) 2003, 4546-4565.
- KRUG, F. S. Métodos de preparo de amostras para análise elementar. São Paulo: EditSBQ – Sociedade Brasileira de Química, 2016.
- KUMAR, V., *et al.* Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. **Food Chemistry** 2010, 120, 945–959.
- LAKSHMI, A. J.; KAUL, P. Nutritional potential, bioaccessibility of minerals and functionality

- of watermelon (*Citrullus vulgaris*) seeds. **LWT - Food Science and Technology** 2011, 44, 1821-1826.
- LEE, N-Y.; KANG, C-S. Quality Improvement and Antioxidant Activity of Sugar-Snap Cookies Prepared Using Blends of Cereal Flour. **Preventive Nutrition and Food Science** 2018, 23, 160-165.
- LESTIENNE, I. *et al.* Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chemistry** 2005, 89, 421–425.
- LI, K. *et al.* In Vivo Bioavailability and In Vitro Bioaccessibility of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) in Food Matrices: Correlation Analysis and Method Development. **Environmental Science & Technology** 2015, 49, 150-158.
- LIMA, G. C. *et al.* *Passiflora edulis* peel intake improves insulin sensitivity, increasing incretins and hypothalamic satietogenic neuropeptide in rats on a high-fat diet. **Nutrition** 2016, 32, 863–870.
- LINK, D. D.; KINGSTON, H. M. Use of microwave-assisted evaporation for the complete recovery of volatile species of inorganic trace analytes. **Analytical Chemistry** 2000, 72, 2908-2913.
- LLORENTE-MIRANDES, T. *et al.* Assessment of arsenic bioaccessibility in raw and cooked edible mushrooms by a PBET method. **Food Chemistry** 2016, 194, 849–856.
- LUTEN, J. *et al.* Interlaboratory trial on the determination of the in vitro iron dialysability from food. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 1996, 72, 415-424.
- MAK, W. C. *et al.* Novel biosensors for quantitative phytic acid and phytase measurement. **Biosensors and Bioelectronics** 2004, 19, 1029–1035.
- MARCH, J. G.; SIMONET, B. M.; GRASES, F. Determination of phytic acid by gas chromatography–mass spectroscopy: application to biological samples. **Journal of Chromatography B**, 2001, 757, 247–255.
- MARTINS, F. C. O. L. *et al.* Compostos orgânicos e inorgânicos contendo selênio: revisão de métodos analíticos e perspectivas para análises químicas. **Química Nova** 2017, 40, 1204-1214
- MARQUES S. S. F. *et al.* Evaluation of the effects of passion fruit peel flour (*Passiflora edulis fo. flavicarpa*) on metabolic changes in HIV patients with lipodystrophysyndrome secondary to antiretroviral therapy. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 2016, 26, 420–426.
- MAULVAULT, A. L. *et al.* Bioaccessibility of Hg, Cd and As in cooked black scabbard fish and edible crab. **Food and Chemical Toxicology** 2011, 49, 2808–2815.
- MAURER, F. *et al.* Plant genetic factors for iron homeostasis affect iron bioavailability in Caco-2 cells. **Food Research International** 2010, 43, 1661–1665.
- MELO, V. F.; ALLEONI, L. R. F. Química e Mineralogia do Solo. 1ª Edição, Editora **SBCS** - volume único, 2019, 1381 p.
- MENEZES, E. A. *et al.* Bioaccessibility of Ca, Cu, Fe, Mg, Zn, and crude protein in beef, pork and chicken after thermal processing. **Food Chemistry** 2018, 240, 75–83.
- MILLER, D. *et al.* An in vitro method for estimation of iron availability from meals. **The**

**American Journal of Clinical Nutrition** 1981, 34, 2248-2256.

MILLER, D. D., RUTZKE, M. A. Atomic Absorption Spectroscopy, Atomic Emission Spectroscopy, and Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. New York: Springer Science Business Media 2010, 602p.

MINEKUS, M. *et al.* A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. **Food & Function** 2014, 5, 1113-1124.

MINEKUS, M. *et al.* A multicompartamental dynamic computer-controlled model simulating the stomach and small intestine. **Alternatives to Laboratory Animals** 1995, 23, 197-209.

MOLLY, K. *et al.* Validation of the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME) reactor using microorganism-associated activities. **Microbial Ecology in Health and Disease** 1994, 7, 191–200.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia** 2006, 3, 109–122.

KUMAR, A.; KATHURIA, D.; KUMAR, J. Bioactive and functional ingredients from dairy products. *In*: MUDGIL, D.; BARAK, S. Functional foods: sources and health benefit. India: Scientific Publishers, 2017, p.239-278.

NAPPI, G. U. *et al.* Validação de métodos para determinação dos ácidos fítico e oxálico em multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** 2006, 26, 811-820.

NASCIMENTO, T. F. V. O.; GONZALEZ, F. G. Impactos do manganês na saúde pública. **Revinter** 2018, 11, 32-53.

NERES, J. P. G.; SOUZA, R. L. A.; BEZERRA, C. F. Iogurte com polpa e farinha da casca do abacaxi. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes** 2015, 70, 262-269.

NERIS, T. S. *et al.* Avaliação físico-química da casca da banana (*Musa spp.*) in natura e desidratada em diferentes estádios de maturação. **Ciência e Sustentabilidade** 2018, 4, 5-21.

NEVES, L. C. Farinha de trigo: consumo da população brasileira e sua implicação na ingestão de ferro e ácido fólico. Dissertação de Mestrado 2017, 77p.

NIU, Q. *et al.* Solvent Retention Capacities of Oat Flour. **International Journal of Molecular Sciences** 2017, 18, 590-601.

NORTON, J. E. *et al.* Functional food microstructures for macronutrient release and delivery. **Food & Function** 2015, 6, 651-662.

NOSRATPOUR, M; JAFARI, S. M. Bioavailability of minerals (Ca, Mg, Zn, K, Mn, Se) in food products. **Encyclopedia of Food Chemistry** 2019, 148-154.

NOVAES, C. G. *et al.* Screening of *Passiflora L.* mineral content using principal component analysis and Kohonen self-organizing maps. **Food Chemistry** 2017, 233, 507–513.

OLIVEIRA, A. P. *et al.* Effect of cooking on the bioaccessibility of essential elements in different varieties of beans (*Phaseolus vulgaris L.*). **Journal of Food Composition and Analysis** 2018, 67, 135-140.

OLIVEIRA, F.; ROCHA, S.; FERNANDES, R. Iron metabolism: from health to disease. **Journal of Clinical Laboratory Analysis** 2014, 28, 210-218.

ÖZKAYA, B. *et al.* Changes in the functional constituents and phytic acid contents of firiks

- produced from wheats at different maturation stages. **Food Chemistry** 2018, 246, 150-155.
- OOMEN, A. G. *et al.* Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. **Environmental Contamination and Toxicology** 2003, 44, 281–287.
- OOMEN, A. G. *et al.* Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. **Environmental Science & Technology** 2002, 36, 3326-3334.
- PADOVANI, R. M. *et al.* Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. **Revista de Nutrição** 2006, 19, 41-760.
- PARK, H-R. *et al.* Determination of the phytic acid levels in infant foods using different analytical methods. **Food Control** 2006, 17, 727–732.
- PELFRÊNE, A. *et al.* Assessing Cd, Pb, Zn human bioaccessibility in smelter-contaminated agricultural topsoils (northern France). **Environ Geochem Health** 2011, 33, 477–493.
- PELFRÊNE, A. Use of an in vitro digestion method to estimate human bioaccessibility of Cd in vegetables grown in smelterimpacted soils: the influence of cooking. **Environ Geochem Health** 2015, 37, 767-778.
- PEŠIĆ, M. B. *et al.* In vitro digestion of meat- and cereal-based food matrix enriched with grape extracts: How are polyphenol composition, bioaccessibility and antioxidant activity affected? **Food Chemistry** 2019, 284, 28–44.
- PITA, J. S. L. Caracterização físico-química e nutricional da polpa e farinha da casca de maracujazeiros do mato e amarelo. Dissertação de Mestrado 2012, 77 p.
- PU, F.; CHEN, N.; XUE, S. Calcium intake, calcium homeostasis and health. **Food Science and Human Wellness** 2016, 5, 8-16.
- QAMAR, S., SHAIKH, A. Therapeutic potentials and compositional changes of valuable compounds from banana- A review. **Trends in Food Science & Technology** 2018, 79, 1–9.
- QU Z. *et al.* A novel fluorimetric sensing strategy for highly sensitive detection of phytic acid and hydrogen peroxide. **Analytica Chimica Acta** 2018, 1039, 74-81.
- RANA, S. *et al.* Effect of sodium caseinate and vitamin A complexation on bioaccessibility and bioavailability of vitamin A in Caco-2 cells. **Food Research International** 2019, 121, 910-918.
- RASANE, P.; JHA, A.; KUMAR, A.; SHARMA, N. Reduction in phytic acid content and enhancement of antioxidant properties of nutricereals by processing for developing a fermented baby food. **Journal of Food Science and Technology** 2015, 52, 219–3234.
- REIS, L. C. R. *et al.* Antioxidant potential and physicochemical characterization of yellow, purple and orange passion fruit. **Journal of Food Science and Technology** 2018, 55, 2679–2691.
- RIBEIRO, T. H. S. *et al.* Physicochemical and sensory characterization of gluten-free fresh pasta with addition of passion fruit peel flour. **Ciência Rural** 2018, 48, 1-9.
- RODRIGUES, S. M. *et al.* Evaluation of a single extraction test to estimate the human oral bioaccessibility of potentially toxic elements in soils: Towards more robust risk assessment. **Science of the Total Environment** 2018, 635, 188–202.

- RODRIGUES, D. B.; MARIUTTI, L. R. B.; MERCADANTE, A. Z. An in vitro digestion method adapted for carotenoids and carotenoid esters: moving forward towards standardization. **Food & Function** 2016, 7, 4992-5002.
- RODRIGUEZ-JIMENEZ, J. R. *et al.* Physicochemical, functional, and nutraceutical properties of eggplant flours obtained by different drying methods. **Molecules** 2018, 23, 3210-3223.
- ROSSANDER-HULTEN, L. *et al.* Competitive inhibition of iron absorption by manganese and zinc in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition** 1991, 54, 152-156.
- RUBY, M. V. *et al.* Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. **Environmental Science & Technology** 1996, 30, 422-430
- RYBICKA, I.; GLISZCZYNSKA-SWIGŁO, A. Minerals in grain gluten-free products. The content of calcium, potassium, magnesium, sodium, copper, iron, manganese, and zinc. **Journal of Food Composition and Analysis** 2017, 59, 61–67.
- SALGADO, J. M. *et al.* Effects of different concentrations of passion fruit peel (*Passiflora edulis*) on the glycaemic control in diabetic rat. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** 2010, 30, 784-789.
- SANDRIN, R. Caracterização físico-química de diferentes frações da aveia (*avena sativa l.*) e atividade antioxidante de seus extratos. **Dissertação de Mestrado**. 2013, p.161.
- SANTOS, J. C. *et al.* Processamento e avaliação da estabilidade da farinha de banana verde. **Exacta** 2010, v. 8, 219-224.
- SANTOS, P. A. *et al.* Whey powder, broken rice grains and passion fruit peel flour in extruded breakfast cereals: physical, chemical and functional characteristics. **Food Science and Technology Research** 2015, 21, 317-325.
- SAVLAK, N.; TURKER, B.; YESILKANAT, N. Effects of particle size distribution on some physical, chemical and functional properties of unripe banana flour. **Food Chemistry** 2016, 213, 180–186.
- SCHLEMMER, U. *et al.* Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. **Molecular Nutrition & Food Research** 2009, 53, S330 –S375.
- SHEBINI, S. M. E. *et al.* Chemical, rheological and sensory properties of wheat-oat flour composite snacks and its healthy beneficial effect. **International Journal of Food and Nutritional Sciences** 2014, 3, 34-43.
- SIMWAKA, J. E. *et al.* Effect of fermentation on physicochemical and antinutritional factors of complementary foods from millet, sorghum, pumpkin and amaranth seed flours. **International Food Research Journal** 2017, 24, 1869-1879.
- SILVA, A. A. *et al.* Farinha de banana verde como ingrediente funcional em produtos alimentícios. **Ciência Rural** 2015, 45, 2252-2258.
- SIRÓ, I. *et al.* Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - A review. **Appetite** 2008, 51, 456–467.
- SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, Fundamentos de Química Analítica, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006, 1026p.
- SMULDERS, M. J. M. *et al.* Oats in healthy gluten-free and regular diets: A perspective. **Food**

**Research International**. 2018, 110, 3-10.

SOUZA, L. A. *et al.* Determination and in vitro bioaccessibility evaluation of Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P and Zn in linseed and sesame. **Microchemical Journal** 2018, 137, 8-14.

SOUZA, M. M. P.; MATTANNA, P. Desenvolvimento de produtos enriquecidos com farinha de talos de beterraba. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde** 2018, 20, 16-26.

SOUZA, M. W. S.; FERREIRA, T. B. O.; VIEIRA, I. F. R. Composição centesimal e propriedades funcionais tecnológicas da farinha da casca do maracujá. **Alimentos e Nutrição Araraquara** 2008, 19, 33-36.

STANISAVLJEVIC, N. *et al.* Antioxidant and antiproliferative activity of chokeberry juice phenolics during in vitro simulated digestion in the presence of food matrix. **Food Chemistry** 2015, 175, 516–522.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; WELNA, M.; POHL, P. Solubility and bioaccessibility of Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, P, Sr and Zn in slim coffee infusions by in vitro gastrointestinal digestion. **Journal of the Brazilian Chemical Society** 2015, 26, 1781-1789.

TAN, Y. *et al.* Impact of an indigestible oil phase (mineral oil) on the bioaccessibility of vitamin D3 encapsulated in whey protein-stabilized nanoemulsions. **Food Research International** 2019, 120, 264-274.

TARANTINO, T. B. *et al.* Microwave-assisted digestion using diluted nitric acid for multi-element determination in rice by ICP OES and ICP-MS. **Food Analytical Methods** 2017, 10, 1007–1015.

THANGAVELU, S. K. *et al.* Microwave assisted acid hydrolysis for bioethanol fuel production from sago pith waste. **Waste Management** 2019, 86, 80–86.

TOKALIOGLU, S. *et al.* Bioaccessibility of Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Se and Zn from nutritional supplements by the unified BARGE method, **Food Chemistry** 2014, 150, 321–327.

TOLEDO, N. M. V. *et al.* Potentials and pitfalls on the use of passion fruit by-products in drinkable yogurt: physicochemical, technological, microbiological, and sensory aspects. **Beverages** 2018, 4, 47-62.

UDOMKUN, P. *et al.* Promoting the use of locally produced crops in making cereal-legume-based composite flours: An assessment of nutrient, antinutrient, mineral molar ratios, and aflatoxin content. **Food Chemistry** 2019, 286, 651–658.

VAN DE WIELE, T. *et al.* Prebiotic effects of chicory inulin in the simulator of the human intestinal microbial ecosystem. **FEMS Microbiology Ecology** 2004, 51, 143–153.

VAN DE WIELE, T. *et al.* The Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME®). editors. Source: The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models [Internet]. Cham (CH): Springer; 2015. Chapter 27.

VERNAZA, M. G.; GULARTE, M. A.; CHANG, Y, K. Addition of green banana flour to instant noodles: rheological and technological properties. **Ciência e Agrotecnologia** 2011, 35, 1157-1165.

VIEIRA, A. L. *et al.* Evaluation of an improved closed-vessel conductively heated digestion system for the analysis of raw meat samples by ICP techniques. **Journal of Analytical Atomic**

**Spectrometry** 2018, 33, 1354-1362.

VUOLO, M. M. *et al.* *Passiflora edulis* peel flour and health effects. **Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention**, 2. Ed. 2019, 249-258.

VUOLO, M. M. *et al.* Passion fruit peel intake decreases inflammatory response, reverts lipid peroxidation and adiposity in diet-induced obese rats. **Nutrition Research** 2019, In Press, Journal Pre-proof.

YANGILAR, F. Effects of green banana flour on the physical, chemical and sensory properties of ice cream. **Food Technology and Biotechnology** 2015, 53, 315–323.

YAVER, E.; BILGIÇLI, N. Effects of different dephytinisation methods on chemical properties of commercial and traditional breads prepared from composite flour. **Food Chemistry** 2019, 276, 77-83.

YIN, N. *et al.* Investigation of bioaccessibility of Cu, Fe, Mn, and Zn in market vegetables in the colon using PBET combined with SHIME. **Scientific Reports** 2017, 7, 17578- 17585.

YILMAZ, R. *et al.* Development of SYBR green-based real time PCR assays for detection and quantification of adulteration in wheat-based composite breads and their inhouse validation. **Journal of Cereal Science** 2019, 85, 91–97.

WANG, P. *et al.* Variability of chromium bioaccessibility and speciation in vegetables: The influence of in vitro methods, gut microbiota and vegetable species. **Food Chemistry** 2019, 277, 347–352.

WANG, Y.; ZHANG, M.; MUJUMDAR, A. S. Influence of green banana flour substitution for cassava starch on the nutrition, color, texture and sensory quality in two types of snacks. **LWT - Food Science and Technology** 2012, 47, 175-182.

WRAGG, J. *et al.* Interlaboratory trial of a unified bioaccessibility procedure. Nottingham: Open, British Geological Survey 2009.

WRAGG, J. *et al.* An inter-laboratory trial of the unified BARGE bioaccessibility method for arsenic, cadmium and lead in soil. **Science of the Total Environment** 2011, 409, 4016–4030.

ZANATTA, C.L.; SCHLABITZ, C.; ETHUR, E.M. Avaliação físico-química e microbiológica de farinhas obtidas a partir de vegetais não conformes à comercialização. **Alimentos e Nutrição** 2010, 21, 459-468.

ZANDONADI, R. P. *et al.* Green Banana Pasta: An Alternative for Gluten-Free. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics** 2012, 12, 1068-1072.

ZHANG, L. *et al.* Influence of manufacturing process on the contents of iron, copper, chromium, nickel and manganese elements in Crush, Tear and Curl black tea, their transfer rates and health risk assessment. **Food Control** 2018, 89, 241-249.

ZHU, X. *et al.* As, Cd, and Pb relative bioavailability in contaminated soils: Coupling mouse bioassay with UBM assay. **Environment International** 2019, 130, 104875.