

UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS RICOS EM CÁLCIO NA
FORTIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO

MÁRCIA CRISTINA DE PAULA CESÁRIO

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”

Orientadora: Profa. Karla Silva Ferreira

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ

Dezembro-2008

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 035/2009

Cesário, Márcia Cristina de Paula

Utilização de resíduos agroindustriais ricos em cálcio na fortificação de produtos de panificação / Márcia Cristina de Paula Cesário . – 2008.

53 f. : il.

Orientador: Karla Silva Ferreira

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Bibliografia: f. 49 – 53.

1. Cálcio 2. Casca de ovo 3. Carcaça de tilápia 4. Biodisponibilidade 5. Análise sensorial I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 664.752

UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS RICOS EM CÁLCIO NA
FORTIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO

MÁRCIA CRISTINA DE PAULA CESÁRIO

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal

Aprovada em 09 de Dezembro de 2008

Comissão Examinadora

Professora Neuza Maria Brunoro Costa
(Ph. D., Ciência dos Alimentos/Nutrição Humana) - UFV
Co-orientadora

Professora Selma Bergara Almeida
(Doutora, Tecnologia de Alimentos) - UENF

Professor Fábio da Costa Henry
(Doutor, Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de
Produtos de Origem Animal) - UENF

Professora Karla Silva Ferreira
(Doutora, Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - UENF
Orientadora

Aos meus queridos pais, José Cesário Filho e Ana Fernandes de Paula Cesário, e ao meu irmão Marcelo de Paula Cesário (in memoriam)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me guiar em direção aos caminhos certos e me orientar a tomar as melhores decisões;

Aos meus pais, José Cesário e Ana Fernandes, pelo amor, pelas orações e por existirem em minha vida. Aos meus sobrinhos lindos, estímulos que me fazem sempre querer ir mais adiante. Ao Juba, por me distrair e me fazer rir nos momentos mais tensos;

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal), pela concessão da bolsa;

À Professora Karla Silva Ferreira, a quem sempre respeitei e admirei, pela confiança e incentivo constante;

Aos parceiros, Professor Alcimar das Chagas Ribeiro e Sr. Rubens, pela contribuição ao projeto e pela confiança depositada nos autores desse trabalho;

Ao professor Fábio da Costa Henry e à professora Selma Bergara Almeida, pela disponibilidade e atenção ao longo dos experimentos;

A todos os demais professores do LTA, pela amizade e disposição em ajudar;

Aos funcionários e bolsistas do LTA, em especial aos amigos do laboratório 109, pela ajuda, confiança, incentivo, pelas festas, risadas, cafés nas madrugadas, companhia no laboratório durante os feriados, enfim por terem me proporcionado três ótimos anos de trabalho na UENF;

A Regina, pelo apoio e carinho sincero, nesses últimos momentos de UENF;

À Professora Neuza Maria Brunoro Costa, pela co-orientação, atenção e disponibilidade em me receber no Departamento de Nutrição e Saúde da UFV.

A todo o pessoal do laboratório de Nutrição Experimental do DNS-UFV, pela simpatia com a qual me receberam e pelo apoio no decorrer do experimento;

À nova amiga e “sócia” Juliana Vidigal, pela ajuda, companheirismo e amizade, que foram fundamentais para que tudo tivesse um desfecho perfeito;

Ao antigo e eterno amigo Cassiano Oliveira da Silva, pela orientação, amizade, pelos elogios aos meus cafés, pelos forrós, pelas risadas, enfim, por tudo;

Ao meu novo amigo e irmão, João Tomaz, pelos forrós, pelas saídas, risadas, pelo carinho, apoio e por ter sempre me proporcionado momentos de muita descontração;

Ao meu amigo querido, Thiago Soares, por toda a ajuda e carinho nesses três anos de UENF;

À minha amiga Lélia Cápua, que me ensinou muito e que sempre estará no meu coração!

Aos amigos Tony, Ramon, Roberto, Beth, Jorge, Érika, Inês, Alessandra, Marcela Campanharo, Maria José Mota, Valdinéia, Índio, Erneida, Paula, Marquisson, Júlio, Sônia e Maurício Dan, por terem me proporcionado uma estadia alegre e familiar em Campos dos Goytacazes;

À amiga Janete Golinski, pelo ombro amigo, pelos conselhos nas horas certas e pelos churrascos gaúchos inesquecíveis;

Aos Lamas, Fábio, Tarcísio, Luiz Ricardo, Márcio, Bruno, Edinho, Well e Abelardo Silva pela amizade que nunca acabará;

Aos queridos e inesquecíveis amigos Claudiney e Adilson, pelo carinho e amizade ao longo de todos esses anos;

Aos meus eternos amigos Leonardo Teixeira e Andréa Sasso, obrigada pelo amor, pelo apoio, pelas orações, enfim por existirem em minha vida!

A todos que colaboraram, direta ou indiretamente, na realização desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS E QUADROS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1 O cálcio	03
2.2 Papel biológico do cálcio	03
2.3 Absorção do cálcio	04
2.4 Excreção do cálcio	06
2.5 Biodisponibilidade do cálcio	07
2.5.1 Uso do modelo animal na determinação da biodisponibilidade de cálcio	10
2.6 Recomendações e fontes de cálcio	10
2.7 Deficiência de cálcio	11
2.8 Toxicidade	11
2.9 Fortificação de alimentos com cálcio	12
4. TRABALHOS	13
4.1 AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DE SAIS DE CÁLCIO PRODUZIDOS A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS	13
Resumo	13
Abstract	15
1. INTRODUÇÃO	15
2. MATERIAIS E MÉTODOS	18

2.1	Elaboração de sais de cálcio	18
2.1.1	Preparo do pó da casca de ovo incinerada e acidificada	18
2.1.2	Preparo da carcaça de tilápia do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) incinerada	18
2.1.3	Preparo do pó da casca de ovo sem tratamento	19
2.1.4	Determinação do teor de cálcio	19
2.2	Ensaio biológico	19
2.2.1	Modelo experimental	19
2.2.2	Preparo das dietas	20
2.2.3	Parâmetros: cálculos	21
2.3	Análise estatística	21
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
3.1	Consumo de rações	22
3.2	Absorção e retenção corporal	23
3.2.1	Absorção aparente e fracional	23
3.2.2	Retenção corporal	25
4.	CONCLUSÕES	26
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
4.2	ANÁLISE SENSORIAL DE PÃO E BOLO FORTIFICADOS COM SAIS DE CÁLCIO PRODUZIDOS A PARTIR DE CASCAS DE OVOS E CARCAÇA DE TILÁPIA	30
	Resumo	30
	Abstract	31
1.	INTRODUÇÃO	32
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	35

2.1 Preparo do pó da casca de ovo incinerada e acidificada	35
2.2 Preparo carcaça de tilápia do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) incinerada	36
2.3 Determinação do teor de cálcio	36
2.4 Formulação do pão de batata	36
2.5 Formulação do bolo	38
2.6 Análise sensorial: teste de comparação múltipla	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4. CONCLUSÃO	44
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

TABELAS E QUADROS

1	Composição da dieta com base na AIN-93M	20
2	Composição da mistura de minerais (mix mineral) sem cálcio	21
3	Parâmetros nutricionais em ratos alimentados com rações adicionadas de diferentes fontes dietéticas de cálcio	22
4	Absorção de cálcio em ratos alimentados com diferentes fontes dietéticas de cálcio	23
5	Formulação do pão de batata padrão	36
6	Formulação do bolo caseiro padrão	38
7	Escala de notas de intensidade do teste de comparação múltipla	40
8	Análise de variância do teste de comparação múltipla das amostras de pão de batata fortificados com diferentes proporções de citrato produzido a partir das cascas de ovo	42

9	Análise de variância do teste de comparação múltipla de bolo fortificado com citrato de cálcio produzido a partir de cascas de ovos incineradas e acidificadas	43
10	Análise de variância do teste de comparação múltipla de bolo fortificado com fosfato de cálcio produzido a partir de carcaça de peixe incinerada	43

LISTA DE FIGURAS

1	Desenho esquemático da perda de cálcio pelo corpo	07
2	Fluxograma de preparo de amostras de pão de batata caseiro	37
3	Fluxograma de preparo de amostras de bolo simples de massa branca	39
4	Ficha (resumida) utilizada no teste de comparação múltipla	41

RESUMO

CESÁRIO, Márcia Cristina de Paula; M.Sc; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; dezembro, 2008; Utilização de resíduos agroindustriais ricos em cálcio na fortificação de produtos de panificação; Co-orientadora: Neuza Maria Brunoro Costa; Orientadora: Karla Silva Ferreira.

As cascas de ovos e as carcaças de tilápia representam matéria-prima de baixo custo para o enriquecimento de produtos com cálcio, e sua utilização na produção de sais fonte de cálcio auxilia reduzir o descarte, promovendo também redução no impacto ambiental. Visando a utilização da casca de ovo e da carcaça de Tilápia como fonte de cálcio na fortificação de alimentos, propôs-se neste trabalho avaliar a biodisponibilidade do cálcio desses resíduos após tratamento térmico e químico; e avaliar a viabilidade do emprego desses sais na fortificação de alimentos utilizando-se para isto de análise sensorial de pães e bolos fortificados. Produziu-se a partir da casca de ovo, citrato, e a partir da carcaça de Tilápia, fosfato de cálcio, e analisou-se a biodisponibilidade por meio de ensaio biológico com 32 ratos (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*), machos, adultos, com cerca de 9 semanas, distribuídos em 4 grupos. A fim de avaliar a absorção de cálcio ministrou-se dietas com diferentes fontes de cálcio, carcaça de peixe incinerada, casca de ovo incinerada e acidificada, pó da casca de ovo sem tratamento e carbonato de cálcio (CaCO_3). Concluiu-se que não houve diferença de absorção dos sais testados em relação ao controle. Para avaliação da viabilidade de fortificação de alimentos foram desenvolvidas formulações de pão fortificado com cálcio de casca de ovos incineradas e acidificadas, bolos fortificados com cálcio de casca de ovos incineradas e com carcaça de tilápia incinerada. Foi adicionado cálcio, em cada formulação, na proporção de 30, 40 e 50% da IDR de cálcio. Analisou-se as características sensoriais dos produtos, em um teste de comparação múltipla, no qual concluiu-se que os produtos fortificados não diferiram estatisticamente do produto de referencia, sem sais de cálcio.

ABSTRACT

CESÁRIO, Márcia Cristina de Paula; M.Sc; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; dezembro, 2008; Use of residues rich in calcium in fortification of bakery products ; Co-advisee: Neuza Maria Brunoro Costa; Adviser: Karla Silva Ferreira.

The eggshells and the Tilapia's carcass represent raw materials of low cost to the enrichment of products with calcium, and their use in the production of calcium salts reduce the discard, also promoting a reduction in the pollution. It is proposed in this paper to evaluate the calcium bioavailability of such waste after heating and chemical treatment, and to assess the feasibility of the use of these salts in food fortification, using for this a sensory analysis test of fortified breads and cakes. Bioavailability of incinerated eggshell, calcium citrate, and the Tilapia's carcass, calcium phosphate, was analyzed by using 32 rats (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*), male, adult, with about 9 weeks, divided into 4 groups. In order to evaluate the absorption of calcium diets were provided with different sources of calcium: incinerated fish carcass, incinerated eggshell and acidified, eggshell without treatment and calcium carbonate (CaCO₃). There was no difference in absorption of salts tested in relation to control. To evaluate the feasibility of fortification with these salts, formulations were developed with fortified bread with calcium from incinerated eggshell and acidified and fortified cakes with calcium from eggshell incinerated and acidified and fish carcass incinerated. It was added calcium in each formulation, in proportion, 30, 40 and 50% of DRI. A multiple comparison test was carried out, which concluded that the fortified products did not differ statistically from the reference product, without calcium salts.

1. INTRODUÇÃO

Segundo o conhecimento popular, a adição de resíduos, especialmente a casca de ovo aos alimentos confere a estes propriedades nutritivas, e por isso tem sido amplamente utilizada.

A casca de ovo de galinha é uma biocerâmica, que protege o conteúdo do ovo, além de ter seu uso favorável na alimentação humana, devido à sua composição mineral, que compreende até 94 % de carbonato de cálcio.

No 1º trimestre de 2008 foram produzidas 570 mil dúzias de ovos de galinha, apresentando um aumento de 8,2% em relação a 2007 (IBGE, 2008) e gerando um volume grande de resíduos, considerando-se que um ovo grande pesa em média 60 g e cerca de 10 % deste peso é constituído pela casca.

A tilápia é o segundo peixe de água doce mais criado no mundo para aproveitamento do tecido muscular, destinado à produção de filés. Os resíduos da filetagem de tilápias representam 62 a 66% da matéria-prima desperdiçada. Tais resíduos são boas fontes de minerais e têm sido empregados na fabricação de ração para peixes (Boscolo *et al.*, 2002).

As cascas de ovos e as carcaças de tilápia representam matéria-prima de baixo custo para o enriquecimento de produtos com cálcio, e sua utilização na produção de sais fonte de cálcio auxilia a reduzir o descarte, promovendo também redução no impacto ambiental. Entretanto, a biodisponibilidade dos nutrientes e a interferência no sabor dos alimentos fortificados com cascas de ovos e carcaças de tilápia devem ser avaliadas, ao se utilizar estes resíduos na alimentação humana.

O cálcio desempenha importante papel na calcificação de ossos e dentes, além de participar também de outras funções no organismo. A ingestão de quantidades adequadas e biodisponíveis de cálcio contribuem para mineralização óssea durante períodos de rápido crescimento e para a manutenção da massa e densidade ósseas. Entretanto, seu consumo é geralmente inadequado, seja pela dieta pobre em fontes desse mineral e, ou pela presença na dieta de fontes pouco biodisponíveis de cálcio, o que pode contribuir para o desenvolvimento da osteoporose. No Brasil, a ingestão de cálcio está muito abaixo

dos valores considerados ideais, e segundo estudos perfaz cerca de 60%, em média, do consumo recomendado.

O conhecimento das potencialidades e dos fatores interferentes do uso destes resíduos como fonte de cálcio são de fundamental importância, e demandam estudos para potencializar a extração ou obtenção destes compostos em nível industrial, bem como a fortificação de alimentos importantes na dieta do brasileiro. Considerando tais aspectos, este trabalho teve como objetivo avaliar a biodisponibilidade do cálcio oriundo de resíduos agroindustriais, bem como sua utilização na fortificação de alimentos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O cálcio

O cálcio é um elemento amplamente difundido na natureza na forma de giz, granito, casca de ovos, conchas, água “dura”, ossos, chifre, pérolas, e pedra calcária (STRAIN e CASHMAN, 2005, COSTA, 2008).

Também no corpo humano é o mineral mais abundante em relação aos demais elementos inorgânicos, correspondendo a cerca de 1 a 2% do peso corporal. Sua maior distribuição, 99%, ocorre nos ossos e dentes, mas também se encontra presente, em menor quantidade, no sangue, espaços extracelulares e tecidos moles (JUNG et al, 2006; HEANEY, 2000).

2.2 Papel biológico do cálcio

Como componente principal de ossos e dentes, o cálcio é um nutriente indispensável para o crescimento e desenvolvimento dos mesmos (MÉNDEZ e WYATT, 2000).

A ingestão adequada deste mineral é necessária também para regulação de alguns processos, além da proteção do esqueleto e dentes, como a contração muscular, apoptose, divisão celular, dentre outras (FISHBEIN, 2004).

O cálcio atua como um elemento de ação estrutural, principalmente, devido à formação e manutenção do tecido ósseo (SITTIKULWITI et al, 2004), conferindo, juntamente com outros minerais sua rigidez característica (WEAVER, 1998).

O tecido ósseo, constantemente renovado, serve como um reservatório para o Ca (WOSJE e SPECKER, 2000), em sua maioria armazenado na forma de um complexo cálcio-fosfato, a hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ (CALVO, 1993; WOOD, 2000). Dessa forma, há a garantia da manutenção das concentrações séricas e no fluido extracelular, mesmo em condições de deficiência deste mineral na dieta (GUEGUEN e POINTILLART, 2000; WHO, 1998; CALVO, 1993).

Em crianças e adolescentes a taxa de formação óssea predomina, em idosos a

mobilização é maior, o que resulta em uma perda gradual de massa óssea ao longo dos anos. Se a cota diária de Ca para manutenção das funções celulares não é alcançada pela dieta há uma remoção do cálcio ósseo (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997).

2.3 Absorção do cálcio

O Ca está presente nos alimentos na forma de sais ou associado a outros componentes da dieta na forma de complexos de íons cálcio, necessitando ser liberado em forma solúvel, e provavelmente ionizada, antes que possa ser absorvido. A maior parte da absorção deste mineral nos seres humanos ocorre no intestino delgado, pelas vias paracelular (absorção entre as células intestinais) e a transcelular (absorção através das células intestinais), sendo liberado no sangue (figura 1) (WASSERMAN e FULLMER, 1995).

A via paracelular, ou difusão passiva, é dependente da concentração de cálcio no lúmen intestinal, já a via transcelular, ou transporte ativo, envolve um mecanismo de bomba, dependente de energia e de um carreador molecular, a calbindina. Esta via é saturável e sujeita à regulação fisiológica e nutricional por meio da vitamina D (BUZINARO et al, 2006; PANSU e BRONNER, 1999).

A concentração de cálcio dietético influi diretamente em sua absorção. O baixo teor de cálcio iônico circulante é detectado pela glândula paratireóide, que regula a produção de paratormônio (PTH), estimulando a conversão de 25-hidroxivitamina D para a forma ativa 1,25-diidroxivitamina-D. Esse hormônio atua no intestino, aumentando o transporte ativo de cálcio através do enterócito e ajuda a manter, a longo termo, a homeostase desse mineral (WOOD, 2000).

A vitamina D é modificada primeiro no fígado e, em seguida, nos rins, para um hormônio, o calcitriol, mais conhecido como diidroxicalciferol ou 1,25-diidroxivitamina D. O calcitriol estimula, na região proximal do intestino delgado, a ligação cálcio-proteína (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000).

O movimento transcelular envolve três etapas: entrada através da parede celular, difusão pelo citoplasma e saída pela membrana lateral de célula. A entrada do cálcio se dá através da borda em escova do enterócito via canais de cálcio (BRONNER, 1987).

A absorção por difusão passiva ocorre em todas as partes do intestino e depende de elevadas concentrações desse mineral (BRONNER, 1987).

A proporção de cálcio absorvido pela via paracelular é influenciada pela quantidade de cálcio solubilizado no intestino, pela permeabilidade a esse mineral e pelo trânsito intestinal (BRONNER, 2003).

A absorção intestinal de cálcio é inversamente proporcional à ingestão, ou seja, o intestino absorve proporcionalmente mais quando a ingestão é baixa (WOOD, 2000, GRÜDTNER, 1997). Alguns autores relatam faixas de absorção para o cálcio que variam de 23 a 37% (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000)

Sais de cálcio com baixa biodisponibilidade podem apresentar baixa absorção e além dessa variável, fatores tais como pH, fitatos, taninos, oxalatos, lipídios da dieta entre outros têm sido relatados como relevantes na absorção de cálcio (GRÜDTNER, 1997).

O meio alcalino do intestino acarreta menor solubilização e precipitação do cálcio dietético (BRONNER, 1999) e a presença de oligossacarídeos no lúmen intestinal favorece a absorção de cálcio, uma vez que serve de substrato para fermentação bacteriana, com conseqüente redução do valor do pH do meio, e ionização do cálcio, aumentando sua solubilidade (LOBO, 2004, RASCHKA e DANIEL, 2005).

A lactose favorece a absorção de cálcio, quelando o mineral e formando um complexo lactose-cálcio, de baixo peso molecular, forma pela qual o cálcio pode ser transportado através da mucosa intestinal (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000; ALLEN e WOOD, 1994).

A eficiência da absorção é reduzida com a idade, ou na presença de insuficiência renal, devido à redução da habilidade para síntese de 1,25 – dihidroxivitamina D (GRÜDTNER, 1997).

2.4 Excreção do Cálcio

A excreção do cálcio se dá pela urina, fezes e por outros fluidos como suor, sêmen e menstruação (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997).

A perda de cálcio pelas fezes é de cerca de 100 a 200 mg/dia e pela pele de 15 mg/dia, embora o suor excessivo possa aumentá-la (ALLEN e WOOD, 1994, COSTA, 2008).

A carga filtrada pelo rim é determinada pela taxa de filtração glomerular e pela concentração plasmática do cálcio não filtrado (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997). Apenas 2% do cálcio filtrado nos rins são excretados na urina, sendo os 98,0% restantes

reabsorvidos. A maioria do transporte ocorre por difusão passiva, no túbulo proximal, no ramo ascendente da alça de henle e ductos coletores e conectores. O transporte ativo acontece no túbulo distal e talvez, no proximal. Em um mesmo indivíduo ocorrem grandes flutuações diárias na excreção urinária de cálcio. Cerca de 50% do cálcio excretado na urina estão na forma ionizada, o restante encontra-se complexado com sulfato, fosfato, citrato e oxalato (ALLEN e WOOD, 1994).

Altas concentrações de sódio na dieta reduzem a reabsorção renal de cálcio, o que resulta em uma maior excreção urinária de cálcio. Essa interferência do sódio na excreção de cálcio tem sido demonstrada em estudos com humanos em todas as faixas etárias e em ensaios biológicos (SARIC *et al.*, 2005).

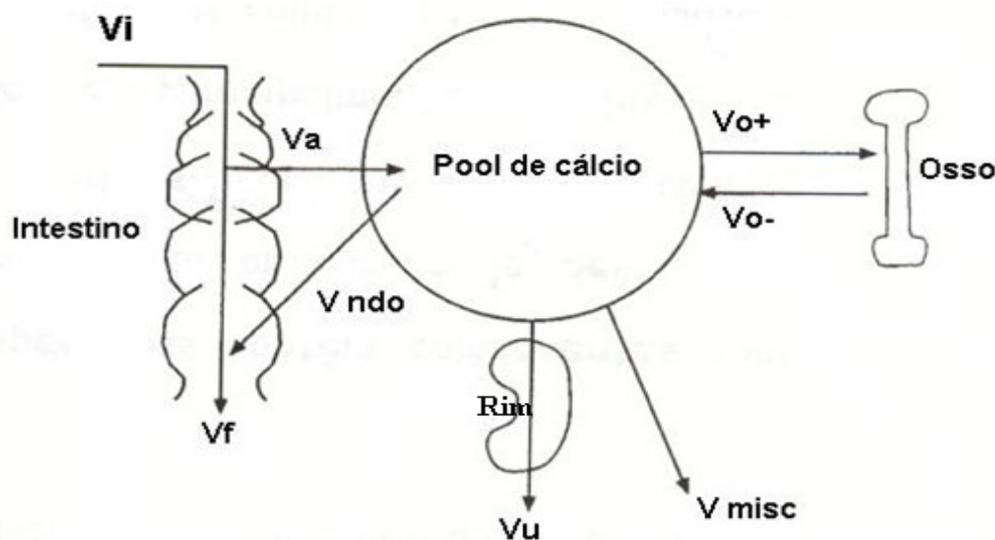


Figura 1. Desenho esquemático da perda de cálcio pelo corpo. O pool de cálcio inclui o cálcio em solução no plasma sanguíneo, nos fluidos extracelulares, e associado ao osso, descrito em unidades de massa, por exemplo, mmol, V_i = ingestão de cálcio pela alimentação; V_a = absorção de cálcio dos alimentos; V_{ndo} = cálcio endógeno excretado nas fezes; V_u = cálcio excretado na urina; V_f = cálcio excretado nas fezes; V_{misc} = cálcio perdido pelo corpo via corrente sanguínea, sêmen, fluido menstrual, leite; V_{o+} = cálcio depositado no osso; V_{o-} = cálcio reabsorvido no osso. v 's, por exemplo, proporção descrita em unidades de massa por unidade de tempo, mmol/d. V_t = razão de entrada de cálcio ou saída de cálcio no pool, por exemplo equivale a $V_a + V_{o-} = V_u + V_{ndo} + V_{o+} + V_{misc}$. Balanço de cálcio no corpo = $V_{o+} - V_{o-}$.

Fonte: Adaptado de BRONNER e PANSU (1999).

2.5 Biodisponibilidade do Cálcio

A utilização de uma fonte de cálcio não está associada apenas ao teor de cálcio em uma molécula ou alimento, mas principalmente à quantidade absorvida e utilizada, pois diversos fatores se interpõem de maneira positiva ou negativa a essa absorção (BORON, 2004), tornando-se questionável se um nutriente presente na dieta será realmente

utilizado pelo organismo.

O termo biodisponibilidade, inicialmente utilizado na área farmacológica, estabelecia uma relação entre presença, absorção e utilização de um princípio ativo presente em uma droga (COZZOLINO e MICHELAZZO, 2005).

A partir da década de 80 esse termo começou a ser também utilizado na área de nutrição, a partir do conhecimento de que a simples presença do nutriente no alimento ou dieta ingerido não garantia sua utilização pelo organismo. Esta utilização dependeria da forma química do nutriente no alimento, da quantidade ingerida e da presença de agentes ligantes e de outras substâncias ingeridas concomitantemente (BORON, 2004).

Inicialmente o termo biodisponibilidade foi definido como a proporção do nutriente que é digerido, absorvido e metabolizado pelo organismo, capaz de estar disponível para o uso ou armazenamento passando em seguida a ser definido como a proporção do nutriente que é realmente utilizada pelo organismo (COZZOLINO e MICHELAZZO, 2005).

Em 1997, na Conferência Internacional de Biodisponibilidade, em Wageningen, Holanda, foi proposta uma redefinição para o termo que conceitua biodisponibilidade como fração de qualquer nutriente ingerido que tem o potencial para suprir demandas fisiológicas em tecidos alvos (COZZOLINO e MICHELAZZO, 2005).

Entre os nutrientes com maior enfoque em biodisponibilidade encontram-se os minerais, cujos estudos tiveram grande avanço a partir da década de 70, com desenvolvimento de técnicas analíticas mais sensíveis e precisas (COZZOLINO e MICHELAZZO, 2005).

Para o estudo da biodisponibilidade de minerais, as técnicas mais utilizadas são as de repleção e depleção, balanço químico, de radioisótopos e de isótopos estáveis (FILISSETTI e LOBO, 2005; COZZOLINO, 2005; COSTA, 2008).

A técnica de depleção e repleção de um nutriente é um dos métodos utilizados em modelo animal, porém por questões éticas, não é aconselhado o seu uso em humanos (RIBEIRO e COZZOLINO, 2005).

O balanço químico é o método tradicionalmente utilizado em estudos de absorção de nutrientes, permitindo quantificar a diferença entre ingestão e excreção de nutrientes (RIBEIRO e COZZOLINO, 2005).

A biodisponibilidade dos minerais pode, também, ser avaliada pela concentração do mineral em determinados tecidos, como na avaliação de retenção de cálcio nos ossos

(WOSJE e SPECKER, 2000; FILISETTI e LOBO, 2005) ou por meio de marcadores bioquímicos que sinalizam a concentração dos minerais no organismo (FILISETTI e LOBO, 2005).

A biodisponibilidade do cálcio é influenciada pela natureza do composto mineral, pela fonte alimentar e pela composição total da refeição (BERNER *et al.*, 1990, GUÉGUEN e POINTILLART, 2000).

Os principais inibidores da absorção de cálcio são o ácido oxálico e o fitato, (COSTA, 2008).

O sódio e o cloreto diminuem a utilização de cálcio, pelo aumento de sua excreção renal e não exercem influência na absorção intestinal. Os efeitos das proteínas na absorção intestinal de cálcio são pequenos, contudo, o aumento da ingestão de proteínas acarreta redução na retenção de cálcio, pois aumenta sua perda urinária (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000).

A lactose, principalmente em crianças, favorece a absorção de cálcio, por meio da interação com as células absorptivas do intestino, alterando as junções intercelulares, aumentando a permeabilidade do cálcio ou ainda, por uma ação osmótica (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000). E ainda tem sido apontada como potencializadora da absorção de cálcio em ratos (SANT'ANA, 1997).

Heaney (2000) demonstrou que a biodisponibilidade do cálcio do "leite" de soja enriquecido com cálcio é menor do que o do leite de vaca.

Em relação à solubilidade dos sais de cálcio, sabe-se que a razão de absorção desses sais, tais como acetato, lactato, gluconato, citrato e carbonato de cálcio parecem ser similares e ficam na faixa de 25 a 40%, na ausência de refeições (SILVA e COZZOLINO, 2005). No entanto, os alimentos aumentam a absorção de suplementos de cálcio tanto nas formas solúveis quanto nas insolúveis em indivíduos normais. Uma absorção de 20% com estômago vazio pode aumentar para 30-35% junto com o alimento (SILVA e COZZOLINO, 2005). Esse aumento se dá, aparentemente, devido ao aumento do suco gástrico e ao esvaziamento lento do estômago, o que poderia melhorar a taxa de absorção desse elemento devido ao fato de sais solúveis de cálcio serem mais solúveis em meio ácido do que em neutro (SILVA e COZZOLINO, 2005).

O carbonato de cálcio é absorvido em cerca de 30% e é a forma preferida em suplementos por causa de seu peso molecular relativamente baixo, acarretando pílulas menores. O citrato de cálcio é mais rapidamente absorvido que o carbonato, embora essa

diferença, aparentemente, não tenha influência na disponibilidade do mineral (SILVA e COZZOLINO, 2005).

2.5.1 Uso do modelo animal na determinação da biodisponibilidade de cálcio

Os modelos animais têm sido utilizados para medir a utilização, a função e o destino dos nutrientes, como cálcio (STRAIN e CASHMAN, 2005).

Muitas espécies são utilizadas no estudo da nutrição, dentre estas linhagens como o rato Wistar e o camundongo chinês Charles River ou o coelho branco da Nova Zelândia (STRAIN e CASHMAN, 2005).

Os ratos são considerados um modelo muito útil para estudos de biodisponibilidade de cálcio, pois seus mecanismos de absorção são similares aos da espécie humana e muitos fatores dietéticos e fisiológicos afetam a absorção de cálcio de maneira similar. É o modelo animal mais usado em estudos de absorção de cálcio (CASHMAN e FLYNN, 1996).

Em um estudo realizado por Weaver et al. (1987) ratos que receberam dieta rica em fibras e suplementadas com CaCl_2 apresentaram resultados de biodisponibilidade de cálcio similares aos resultados encontrados em humanos, indicando que o rato é um bom modelo para estimar a absorção de cálcio em humanos (SANT'ANA, 1997).

2.6 Recomendações e fontes de cálcio

A ingestão adequada ou AI é utilizada quando não há dados suficientes para a determinação da necessidade média estimada ou *Estimated Average Requirement* (EAR) (COZZOLINO, 2005).

A recomendação preconizada para cálcio é de 1000 mg para adultos, 1300 mg para adolescentes e 1200mg para idosos. Crianças possuem recomendações diferenciadas em função da idade (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997).

As principais fontes alimentares de cálcio, até então conhecidos são o leite e seus derivados, sorvete, salmão, sardinha com ossos, ostras, moluscos, couve, brócolis dentre outros (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997; RANGANATHAN *et al.*, 2005, COSTA, 2008).

Os produtos de leite são os alimentos com maior densidade de cálcio nas dietas ocidentais (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997), contribuindo, em média, com 70 % do cálcio de tais dietas (GUÉGUEN e POINTLLART, 2000).

Os alimentos de origem vegetal não são boas fontes de cálcio (STRAIN e CASHMAN, 2005).

2.7 Deficiência de Cálcio

O tecido ósseo, um tecido bastante dinâmico e complexo, juntamente com a cartilagem, constitui o sistema esquelético. Embora pareça um tecido rígido e inerte, o osso é, na realidade, um tecido dinâmico e suprido por nervos e vasos sanguíneos (MORAIS e BURGOS, 2007, SILVA e COZZOLINO, 2005).

No esqueleto, o cálcio é mobilizado de duas formas distintas. A primeira é representada pela simples transferência dos íons de cálcio dos cristais de hidroxiapatita para o líquido intersticial, do qual o cálcio passa para o sangue. As estruturas ósseas mais jovens e pouco calcificadas, que existem mesmo no osso adulto, em virtude da remodelação contínua, são as que recebem e cedem cálcio mais facilmente (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1995).

O segundo mecanismo é mais lento e decorre da ação do PTH sobre o tecido ósseo. O PTH causa aumento no número de osteoclastos e reabsorção da matriz óssea, com liberação de cálcio (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1995).

Se há consumo inadequado contínuo ou absorção intestinal insatisfatória de cálcio, a concentração de cálcio circulante é mantida, em grande parte, às custas da massa esquelética, pelo aumento da taxa de reabsorção óssea (MORAIS e BURGOS, 2007), que em taxas elevadas num quadro de deficiência.

2.8 Toxicidade

As informações disponíveis a respeito de intoxicação por Cálcio dizem respeito ao uso de suplementos (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997).

Dentre os efeitos adversos possíveis destacam-se a formação de cálculos renais

(nefrolitíase), insuficiência renal (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997, COSTA, 2008) e danos à absorção de ferro (LOBO e TRAMONTE, 2004, COSTA, 2008).

A quantidade máxima de cálcio permitida para consumo é de 2500 mg/ dia para crianças, adolescentes, adultos, gestantes e lactantes (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997).

2.9 Fortificação de alimentos com cálcio

De acordo com o Ministério de Saúde considera-se alimento fortificado ou enriquecido todo aquele ao qual for adicionado um ou mais nutrientes essenciais contidos naturalmente ou não, no mesmo, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo, e, ou prevenir ou corrigir deficiências demonstradas em um ou mais nutrientes, na alimentação da população, ou em grupos específicos da mesma (BRASIL, 2000).

Como estratégia de combate a algumas deficiências nutricionais inclui-se a fortificação de alimentos com minerais e mesmo o uso de suplementação, em populações de risco, possibilitando a minimização de perdas ósseas associadas à idade e ao desenvolvimento da osteoporose (LOBO e TRAMONTE, 2004). Da mesma forma, produtos alimentícios têm sido fortificados com cálcio, leite e derivados, pães, biscoitos, iogurtes dentre outros (KAJISHIMA *et al.*, 2003; BORON, 2004).

As formas de cálcio mais indicadas para utilização em enriquecimento são os sais orgânicos de cálcio, devido à sua solubilidade, e por conseqüência, melhor absorção pelo organismo. Vários sais de cálcio tais como carbonato de cálcio e citrato de cálcio são usados, especialmente no enriquecimento de leites e bebidas lácteas (SINGH, 2007).

4. TRABALHOS

4.1 AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DE SAIS DE CÁLCIO PRODUZIDOS A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Márcia Cristina de Paula Cesário^{*}, Neuza Maria Brunoro Costa^{**}, Karla Silva Ferreira^{*}, Selma Bergara Almeida^{*}; Thiago Silva Soares^{*}

^{*}Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, CEP 28015-620, Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil.

^{**} Laboratório de Nutrição Experimental, Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Av. Ph Rolfs, s/n, CEP: 36570000, Viçosa – MG, Brasil.

RESUMO

No Brasil o uso da casca de ovos como fonte de cálcio na alimentação é muito comum, principalmente na produção de multimisturas. A biodisponibilidade do cálcio é influenciada pela natureza do composto mineral, pela fonte alimentar e pela composição total da refeição. Este trabalho teve como objetivo avaliar a biodisponibilidade de cálcio, obtido a partir de cascas de ovos incineradas e acidificadas, carcaça de peixe incinerada e pó de casca de ovo em relação a uma fonte padrão de cálcio, CaCO_3 . O ensaio biológico foi realizado com 32 ratos (*Rattus norvegicus*, *albinus*, *Wistar*), machos adultos, com cerca de 8 semanas, distribuídos em 4 grupos. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas, ambiente climatizado ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), ciclo claro/escuro de 12 horas. Os animais foram alimentados diariamente e pesados semanalmente; o acesso à água e ração foi *ad libitum*. Foram oferecidas 4 tipos de rações: ração AIN-93M adicionada de cálcio da carcaça de peixe incinerada, ração AIN-93M adicionada de cálcio da casca de ovos incinerada e acidificada, ração AIN-93M adicionada de cálcio do pó da casca de ovos e a ração controle, AIN-93M cuja fonte de cálcio foi CaCO_3 . Após 7 dias de adaptação dos animais à dieta procedeu-se à coleta diária de urina e fezes. Não foi observado diferença significativa em relação ao consumo da ração e em relação ao ganho de peso entre os grupos ($p < 0,05$). O cálcio da carcaça de peixe e casca de ovo incinerados apresentaram absorção, retenção corporal e balanço mineral, similares aos resultados da fonte padrão, CaCO_3 , não havendo diferenças significativas. E o cálcio do pó da casca de ovo apresentou valores inferiores ($p < 0,05$), em relação à fonte padrão, CaCO_3 , em

relação a todos os parâmetros avaliados.

Palavras-chave: cálcio; casca de ovo; carcaça de peixe; carbonato de cálcio; biodisponibilidade.

EVALUATION OF BIOAVAILABILITY OF CALCIUM SALTS PRODUCED FROM AGRICULTURAL WASTE

Márcia Cristina de Paula Cesário*, Neuza Maria Brunoro Costa**, Karla Silva Ferreira*, Selma Bergara Almeida*; Thiago Silva Soares*, *

Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, CEP 28015-620, Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil.

** Laboratório de Nutrição Experimental, Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Av. Ph Rolfs, s/n, CEP: 36570000, Viçosa – MG, Brasil.

ABSTRACT

In Brazil the use of eggshell as a source of calcium in the diet is very common, especially in the production of nutritional supplement (multimixture). The bioavailability of calcium is influenced by the nature of the mineral compound, the food source and by the total meal. This study aimed to evaluate the bioavailability of calcium, from eggshells incinerated and acidified, fish carcasses incinerated and of eggshell powder on a standard calcium source, CaCO₃. The essay was carried out with 32 adult male rats (*Rattus norvegicus*, albinos, Wistar), 8 weeks old, divided into 4 groups. The animals were kept in metabolic cages, temperature controlled environment (22 ± 2° C), light / dark cycle of 12 hours. The animals were fed daily and weighed once a week, access to water and food were ad libitum. Four diets were offered: AIN-93M diet plus calcium of the fish carcass incinerated, AIN-93M diet plus calcium for egg shell incinerated and acidified, AIN-93M diet plus calcium powder of shell eggs and feed control, AIN-93M whose source of calcium was CaCO₃. After 7 days of adaptation to the diet, feces and urine were collected daily. No significant effect was observed in food consumption and weight gain between groups (p>0.05). The calcium from incinerated fish carcass and eggshell showed similar absorption, retention and body mineral balance to the control CaCO₃, with no significant differences (p>0.05). Calcium from eggshell powder showed lower values than CaCO₃ diet, for all measured parameters. Therefore, the incineration process improved bioavailability of eggshell calcium.

1. INTRODUÇÃO

A suplementação de cálcio na dieta a partir de fontes alternativas é uma prática comum, um hábito em algumas culturas. No Japão conchas de moluscos destacam-se entre as principais fontes de cálcio na dieta junto ao leite (SHIMBO et al., 1996). Na Malásia, conchas de mariscos são moídas e esse pó rico em cálcio consumido por mulheres grávidas. Cal mineral é usada em mingaus no Peru e em “tortillas” na América Central (BEAUSSET, 1992 *apud* SANT’ANA, 1997).

A utilização de resíduos na produção de complementos à alimentação humana é uma prática muito comum no Brasil, e teve seu início no Pará em 1978. (BITTENCOURT, 1998). Atualmente alimentação alternativa é reforçada com a produção e consumo da multimistura, que reúne em uma mistura complexa, vários alimentos, tendo como fonte de cálcio o pó da casca de ovo (PACHECO, 2007, VIZEU et al, 2005).

A casca dos ovos de galinha é composta de uma matriz mineral, contendo carbonato de cálcio (94%), carbonato de magnésio (1%), fosfato de cálcio (1%) e também de uma fração de matéria orgânica (4%) (STADELMAN, 2000).

No Brasil foram produzidas 570 mil dúzias de ovos de galinha, no 1º trimestre de 2008 (IBGE, 2008), gerando uma elevada quantidade de resíduos agroindustriais, já que cerca de 10% do peso de um ovo é constituído pela casca (BROSTOW *et al.*, 1999).

Em Taiwan, a indústria de alimentos gera anualmente cerca de $1,3 \times 10^4$ toneladas de cascas de ovos, descartada sem nenhum tratamento prévio. Apenas uma pequena parcela deste resíduo é reutilizada como fertilizante ou na correção do pH (TSAI *et al.*, 2006).

Alguns estudos apontam a utilização da matriz mineral e de componentes da membrana da casca de ovo de galinha como fonte de cálcio e outros nutrientes na ração animal (DAENGPOROK, 2002; CHRISTMAS E HARMS, 1976 *apud* TSAI, 2006).

SANTANA *et al.*, (2000), estudando o valor nutritivo de alimentos alternativos, encontraram que o pó da casca de ovo contém 30,8 g de cálcio por 100 gramas do

produto.

Cascas de ovos são uma fonte efetiva de cálcio tanto para humanos, mamíferos e plantas e que, sua transformação em pó favorece a uma absorção mais elevada de cálcio quando comparada a outras fontes minerais (BORON, 2004). Neves (1998), em um estudo com cascas de ovos, comprovou a viabilidade do uso das mesmas como matéria inorgânica em implantes ósseos (NEVES, 1998).

As cascas de ovos podem ser utilizadas como fertilizantes, suplemento para ração animal (DAENGPOROK *et al.*, 2002), suplemento de Ca em multimisturas (SANTOS *et al.*, 2004; MADRUGA *et al.*, 2004) e em alimentos (DAENGPOROK *et al.*, 2002; NAVES, 2007).

Para a escolha dos sais a serem adicionados aos alimentos, deve ser considerada sua biodisponibilidade e solubilidade. BORON *et al.* (2006), em um estudo de suplementação de iogurte com cálcio originado de cascas de ovos de galinha, salientaram que a casca do ovo foi usada como matéria-prima para sintetizar o sal de citrato de cálcio, pois o mesmo é mais biodisponível que o carbonato de cálcio.

A tilápia é o segundo peixe de água doce mais criado no mundo para aproveitamento do tecido muscular, destinado à produção de filés. Os resíduos da filetagem de tilápias representam 62 a 66% da matéria-prima desperdiçada. Tais resíduos são boas fontes de minerais e têm sido empregados na fabricação de ração para peixes. (BOSCOLO *et al.*, 2002).

Em relação à solubilidade dos sais de cálcio sabe-se que a absorção de sais como acetato, lactato, gluconato, citrato e carbonato apresenta similaridade, variando de 25 a 40% (SILVA e COZZOLINO, 2005). No entanto, os alimentos aumentam a absorção de suplementos de cálcio tanto nas formas solúveis quanto nas insolúveis em indivíduos saudáveis. Uma absorção de 20 % na ausência de alimentos pode aumentar para 30-35 % quando o mineral é ingerido em uma refeição (SILVA e COZZOLINO, 2005).

O carbonato de cálcio é absorvido em cerca de 30%, sendo a forma preferida em suplementos por causa de seu peso molecular relativamente baixo. O citrato de cálcio é mais rapidamente absorvido que o carbonato, embora essa diferença aparentemente não tenha influência na disponibilidade do mineral (SILVA e COZZOLINO, 2005).

As cascas de ovos e as carcaças de tilápia representam matéria-prima de baixo custo para o enriquecimento de produtos com cálcio, e sua utilização na produção de sais fonte de cálcio auxilia na redução do descarte, promovendo também redução no impacto

ambiental. Entretanto a biodisponibilidade dos nutrientes e a interferência no sabor dos alimentos fortificados das cascas de ovos e carcaças de tilápia devem ser avaliados, ao se utilizar estes resíduos na alimentação humana.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a biodisponibilidade de três fontes de cálcio produzidas a partir de resíduos agroindustriais, cascas de ovos com e sem tratamento e carcaça de tilápia (*Oreochromis niloticus*).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes-RJ e de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa-MG.

2.1. Elaboração dos sais de cálcio

2.1.1 Preparo do pó da casca de ovo incinerada e acidificada:

Após testes foi desenvolvido um método para produção do sal de cálcio a partir das cascas de ovos.

As cascas de ovos brancos de galinha foram lavadas em água corrente e secas em estufa com circulação forçada de ar, a 105 °C, por 2 horas. Em seguida foram trituradas manualmente, obtendo-se fragmentos de cascas. Estes fragmentos foram acondicionados em sacos plásticos e armazenados em local arejado, seco e protegido de luz.

O pó de casca foi incinerado em mufla em temperatura de 800 °C por 5 horas, sendo o remanescente triturado em multiprocessador de alimentos. Posteriormente, este material foi acondicionado em um béquer, adicionado de água destilada na proporção de 1:2 e homogeneizado. Aferiu-se o pH com auxílio de um potenciômetro (pHmetro) e registrou-se os valores na faixa de 11 a 12. A esta mistura adicionou-se ácido cítrico P.A., até que se alcançasse valores de pH em torno de 7,0, favorecendo à formação do citrato de cálcio, como resultado da reação entre o ácido cítrico e o óxido de cálcio. A solução foi seca em estufa com circulação forçada de ar, a 105 °C, por 24 horas, obtendo-se desta

forma o citrato de cálcio em pó a partir da casca de ovo calcinada.

2.1.2 Preparo da carcaça de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) incinerada:

Após testes foi desenvolvido um método para produção do sal de cálcio a partir da carcaça de tilápia.

As carcaças foram desidratadas em estufa com circulação forçada de ar, a 105 °C, por 4 horas. Em seguida foram trituradas manualmente, obtendo-se um pó de carcaça, e incineradas em mufla a temperatura de 800 °C por 6 horas, sendo o resíduo mineral resultante, triturado em multiprocessador de alimentos, obtendo-se assim o fosfato de cálcio.

2.1.3 Preparo do pó da casca de ovo sem tratamento

O preparo do pó da casca de ovo foi feito de acordo com Naves et al. (2007), que seguem o modelo de produção da Pastoral da Criança. As cascas foram lavadas em água corrente, imersas em solução de hipoclorito de sódio por 10 minutos e fervidas durante 10 minutos. Após esse procedimento, as cascas foram secas em estufa a 50° C por 2 horas, trituradas em multiprocessador de alimentos e peneiradas com auxílio de uma peneira, obtendo-se o pó da casca de ovo.

2.1.4 Determinação do teor de cálcio.

Para a determinação do teor de cálcio nos resíduos com e sem tratamento, nas dietas, fezes e urina, realizou-se digestão nitroperclórica (AOAC, 1998) e diluição do extrato com água deionizada e cloreto de lantânio ($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Procedeu-se a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica.

Todas as vidrarias e utensílios utilizados na produção dos sais e na análise do cálcio foram desmineralizados, utilizando-se de imersão em solução de HCl 20%, por 24 horas, sendo posteriormente enxaguados com água deionizada.

2.2 Ensaio biológico

2.2.1 Modelo experimental

Foram utilizados 32 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus* classe Rodentia) da linhagem Wistar, adultos (cerca de 4 semanas de idade), com peso médio de 250 g (± 27), provenientes do Biotério do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da UFV.

Os animais foram separados em 4 grupos (n=08) e mantidos em gaiolas de aço inoxidável individuais, em condições de temperatura e luminosidade controladas, a 25 \pm 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, por 14 dias.

Durante o experimento, o ganho de peso foi registrado no primeiro dia de experimento e ao final de cada semana até o fim do ensaio biológico. O consumo alimentar dos animais foi registrado diariamente. Os animais receberam dieta AIN-93M (Reeves *et al.*, 1993) e água deionizada *ad libitum*.

Os animais dos grupos testes receberam dieta AIN-93M sem cálcio na mistura mineral e acrescida do cálcio de cada fonte alternativa, carcaça de peixe, cascas de ovos incineradas e acidificadas e pós da casca de ovo, respectivamente. O grupo controle recebeu a dieta AIN-93M (Reeves *et al.*, 1993), cuja fonte de cálcio foi CaCO₃ P.A.

Devido a problemas técnicos na análise de cálcio nos resíduos os grupos cujo cálcio era proveniente das fontes alternativas receberam cerca de 55% das recomendações de cálcio para ratos, 2,75g ca/kg de dieta, enquanto os animais do grupo controle receberam dieta AIN-93M sem modificações com 100 % das recomendações de cálcio para ratos, 5g ca/kg de dieta.

2.2.2 Preparo das dietas

As dietas foram preparadas de acordo com AIN-93M (Reeves *et al.*, 1993) indicada para animais adultos (Tabela 1) e armazenadas sob refrigeração.

Tabela 1 - Composição da dieta com base na AIN-93M.

Ingredientes	g/Kg de dieta
Caseína (>85% proteína)	140
Amido dextrinizado (90-94 % tetrassacarídeos)	155
Sacarose	100
Óleo de soja	40
Fibra (celulose)	50
Mix de minerais (AIN-G93) (sem cálcio na dieta deficiente)	35
Mix vitamínico (AIN-G93)	10
L-Cistina	1,8
Bitartarato de colina	2,5
Amido de milho	466

Fonte: Adaptado de Reeves *et al.*, (1993).

Os ingredientes foram pesados individualmente em balança analítica e semi-analítica (mix mineral). A mistura de minerais, sem cálcio, utilizada foi preparada conforme composição mostrada na Tabela 2 e para cada grupo adicionou-se a fonte de cálcio específica.

Inicialmente misturaram-se os ingredientes manualmente em utensílios plásticos, previamente desmineralizados e enxaguados com água deionizada, e a seguir estes ingredientes foram homogeneizados em bateadeira semi-industrial por, aproximadamente, 15 minutos.

Tabela 2 - Composição da mistura de minerais (mix mineral) sem cálcio.

	Ingredientes	g/kg mistura
Benéficos	Fosfato de Potássio monobásico, 22,76% P _i ; 28,73% K	250
	Cloreto de sódio, 39,34% Na; 60,66% Cl	74
	Sulfato de potássio, 44,87% K; 18,39% S	47
	Citrato de Potássio, tri-potássio, monohidratado, 36,16% K	28
	Óxido de Magnésio, 60,32% Mg	24
	Citrato Férrico, 16,5 % Fe	6,06
	Carbonato de Zinco, 52,14 % Zn	1,65
	Carbonato de Manganês, 47,79% Mn	0,63
	Carbonato de Cobre, 57,47 % Cu	0,30
	Iodato de Potássio, 59,3 % I	0,01
	Selenato de Sódio anidro, 41,79 % Se	0,01025
	Paramolibdato de amônio 4 hidrato, 54,34% Mo	0,00795
	Meta Silicato de Sódio anidro, 9,88 % Si	1,45
	Sulfato de cromo e potássio 12 hidrato, 10,42 % Cr	0,275
Potencialmente benéficos	Ácido bórico, 17,5 % B	0,0815
	Fluoreto de Sódio, 42,41% F	0,0635
	Carbonato de Níquel, 45 % Ni	0,0318
	Cloreto de Lítio, 16,38 % Li	0,0174
	Vanadato de Amônio, 43,55 % V	0,0066
	Sacarose	567

Fonte: Adaptado de Reeves *et al.*, (1993).

2.2.3 Parâmetros: cálculos

Foram utilizadas as seguintes equações para cálculos dos resultados em cada parâmetro:

Absorção fracional (mg/dia): ingestão – excreção fecal

Absorção aparente (%): $(\text{ingestão} - \text{excreção fecal}) \text{ ingestão}^{-1} \times 100$

Retenção corporal: $[\text{ingestão} - (\text{excreção fecal} + \text{excreção urinária}) \text{ ingestão}^{-1}] \times 100$

Balanço mineral: $[\text{ingestão} - (\text{excreção fecal} + \text{excreção urinária})]$

Coeficiente de eficiência alimentar (CEA): $\text{ganho de peso} / \text{consumo de ração}$

2.3 Análise estatística

Utilizou-se o desenho experimental de delineamento em blocos casualizados, com 8 repetições por tratamento e 4 tratamentos. Os dados foram analisados por análise de variância e as médias comparadas utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para tal utilizou-se o programa Statistica 5.5.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Consumo das rações

A aceitação das rações testadas é um fator importante, pois resultados diferentes nos parâmetros subseqüentes poderiam ter sido influenciados pelo consumo deficitário ou excessivo de um ou mais grupos de animais.

Tabela 3: Parâmetros nutricionais de ratos alimentados com rações adicionadas de diferentes fontes dietéticas de cálcio¹.

Parâmetros	Fonte de Cálcio			
	G1 (Carcça de peixe incinerada)	G2 (Casca de ovo incinerada)	G3 (pó da casca de ovo sem tratamento)	G4 CaCO ₃ (Controle)
Peso inicial (g)	249 ^a ± 34	251 ^a ± 27	252 ^a ± 26	251 ^a ± 25
Peso final (g)	283 ^a ± 23	296 ^a ± 22	292 ^a ± 20	292 ^a ± 20
Ganho de peso (g)	33 ^a ± 15	44 ^a ± 11	10 ^a ± 12	41 ^a ± 18
Consumo ração (g) total	110 ^a ± 7,6	118 ^a ± 7	118 ^a ± 7,6	121 ^a ± 11
CEA ²	0,30 ^a ± 0,13	0,38 ^a ± 0,09	0,34 ^a ± 0,10	0,33 ^a ± 0,14

Médias com letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

1. Resultados expressos como média, \pm desvio padrão, n=8.

2. coeficiente de eficiência alimentar, que corresponde à relação entre ganho de peso e o consumo de ração.

Não foi constatada diferença significativa ($p>0,05$) entre o consumo das rações avaliadas. Resultados semelhantes foram obtidos por Boron (2004), ao comparar CaCO_3 , pó da cascas de ovo e citrato produzido a partir do tratamento de cascas de ovos imersas em solução de ácido cítrico. Estes resultados indicam que, as rações com fosfato de cálcio (carcaça de peixe incinerada), citrato de cálcio (casca de ovo incinerada e acidificada) e carbonato de cálcio (pó da casca de ovo sem tratamento), foram bem aceitas pelos animais e a adição desses sais não interferiu no consumo das rações.

Em relação aos parâmetros ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar (CEA), também se observou que os maiores valores foram encontrados no grupo que recebeu citrato de cálcio. Entretanto, não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos. As rações ofertadas mostraram-se isocalóricas, e apesar das variações nos valores de CEA, não houve prejuízo no crescimento dos animais.

3.2 Absorção e retenção corporal:

3.2.1 Absorção aparente e fracional:

A absorção de cálcio é influenciada pela idade do animal, forma química do sal de cálcio e composição da dieta. Na Tabela 4 são apresentados os valores obtidos para os parâmetros relacionados à absorção de cálcio.

Tabela 4 - Absorção de Cálcio de ratos alimentados com diferentes fontes dietéticas de cálcio ¹

Parâmetros	Fonte de Cálcio			
	G1 (Carcaça de peixe incinerada)	G2 (Casca de ovo incinerada)	G3 (pó da casca de ovo sem tratamento)	G4 CaCO_3 (Controle)
Consumo de cálcio (mg/dia) ¹	57 ^b \pm 3,4	50 ^b \pm 3	56 ^b \pm 3,4	92 ^a \pm 8,2
Absorção Aparente ¹ (%)	42 ^a \pm 10	36 ^{ab} \pm 11	28 ^b \pm 8,3	47 ^a \pm 7,5
Retenção corporal ¹ (%)	41 ^a \pm 10	35 ^{ab} \pm 11	27 ^b \pm 7,9	47 ^a \pm 7,5
Absorção Fracional (mg/dia)	22 ^b \pm 5,8	18 ^b \pm 6,2	16 ^b \pm 5,0	44 ^a \pm 9,6
Balanço Mineral	22 ^b \pm 5,8	18 ^b \pm 6,2	15 ^b \pm 4,8	44 ^a \pm 9,6

Médias com letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade,

¹ Resultados expressos como média, \pm desvio padrão, n=8.

As dietas enriquecidas com CaCO_3 (controle) continham maiores teores de cálcio, de forma que o consumo de cálcio pelo grupo controle diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) dos demais grupos, que apresentaram menor consumo, em função da menor adição de cálcio à ração durante o preparo. No entanto, o menor consumo do mineral não afetou a absorção nos animais que consumiram fosfato e citrato de cálcio, uma vez que os resultados de absorção aparente nestes grupos, não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) do grupo controle.

HEANEY (1990), ao comparar a absorção fracional do CaCO_3 e do fosfato tribásico de cálcio em um ensaio com humanos usando rádio isótopos, observou que estes sais apresentaram valores de absorção fracional muito próximos. A formação de complexos solúveis de fosfato de cálcio no intestino aumenta absorção desse sal (WEAVER, 1998), contribuindo para absorção tão elevada quanto a de uma fonte padrão como o CaCO_3 .

O fosfato de cálcio, estudado neste experimento, é uma fonte de cálcio oriunda da carcaça de peixe. A ingestão de peixes, juntamente aos ossos do animal, representa uma rica fonte de cálcio (Buzinaro et al. (2006). Hansen et al., (1998) compararam a absorção do cálcio em humanos com duas refeições distintas: uma contendo pequenos peixes indígenas Bengali e outra com leite de vaca. Não houve diferenças no percentual de absorção de cálcio em relação às duas fontes desse mineral.

Diferente dos resultados encontrados, alguns autores relatam valores de absorção para o citrato de cálcio maiores quando comparados com outras fontes de cálcio. Suplementos de cálcio na forma de CaCO_3 , citrato de cálcio, citrato-malato de cálcio e provenientes de cascas de ostras testados em função de sua absorção em humanos e animais, apresentaram resultados de absorção similares entre eles, apesar de alguns experimentos apontarem vantagens na absorção de citrato e citrato-malato em relação aos demais (AUGSPURGER & BAKER, 2004). E ainda segundo HEANEY (1990), em um ensaio com humanos usando radioisótopos, o citrato de cálcio apresentou menor valor de absorção fracional que o carbonato de cálcio e que o fosfato tribásico de cálcio.

De acordo com RANHOTRA et al. (1997), em ratos recém-desmamados, o valor de absorção fracional encontrado para o citrato de cálcio, 86%, foi maior quando comparado ao carbonato de cálcio, cujo valor foi de 79%.

Contraopondo-se a esses autores, BORON (2004), em estudo com ratos recém-desmamados, ao comparar a absorção aparente entre citrato de cálcio obtido de cascas de ovos e CaCO_3 , concluiu que a absorção desses dois sais não difere entre si ($p>0,05$).

O carbonato de cálcio do pó da cascas de ovo, sem tratamento, apresentou menor absorção aparente quando comparado ao CaCO_3 ($p<0,05$), contraopondo os resultados observados por NAVES et al (2004), que em um ensaio para avaliar a utilização biológica do cálcio em ratos recém-desmamados, concluíram que o carbonato de cálcio da casca de ovo “in natura” quando comparado ao CaCO_3 mostrou-se tão biodisponível quanto esse sal.

Quando se avaliam os dados referentes à absorção fracional média (mg/dia), balanço {Ingestão de Ca – (Ca fecal +Ca urinário)} todos os três tratamentos testados apresentaram valores inferiores ao controle, pois estes grupos receberam um teor menor de cálcio em relação ao grupo 4 e assim a absorção em termos absolutos seria com certeza menor, diferindo estatisticamente do grupo controle, não se verificando isto quando analisamos a absorção em termos percentuais.

O pó da casca de ovo utilizado no ensaio foi preparado conforme as instruções da pastoral da criança, a exemplo da metodologia empregada também por NAVES et al. (2007), não havendo, aparentemente, fatores que possam ter influenciado negativamente a absorção.

3.2.2 Retenção corporal

O teor de cálcio presente na dieta não é determinante na real utilização desse mineral, já que parte do cálcio ingerido é excretado diretamente nas fezes e posteriormente na urina (GUÉGEN e POINTLLART, 2000, HEANEY, 2000).

No presente estudo o teor de cálcio ingerido pelos ratos dos grupos-teste, que receberam fosfato de cálcio, citrato de cálcio e pó da casca de ovo, foi significativamente menor do que aquele ingerido pelos ratos do grupo controle cuja a fonte de cálcio foi carbonato de cálcio . No entanto entre os grupos testes não houve diferença significativa ($p>0,05$) quanto ao teor de cálcio ingerido.

As alterações esperadas seriam no sentido de aumentar a absorção, uma vez que

esta é inversamente proporcional à ingestão (GRUDTNER et al., 2000), e de reduzir a excreção de cálcio, pois em situações de maior concentração o organismo excreta o excedente e, em períodos de menor disponibilidade endógena, há uma tendência a diminuir o balanço e reter mais cálcio (BORON, 2004).

No presente estudo houve aumento na retenção de cálcio, porém esta elevação se repetiu de forma similar e sem diferenças significativas ($p>0,05$) tanto no grupo controle, que recebeu o teor de cálcio preconizado por REEVES et al, (1993), 5g de Ca/kg de dieta, quanto nos grupos que receberam fosfato e citrato de cálcio, cujos ratos consumiram apenas 58 e 55%, respectivamente, do teor recomendado de cálcio, cerca de 2,75g Ca/kg de dieta. Demonstrou-se dessa forma que a ingestão de menor quantidade de cálcio não afetou a excreção urinária nesses grupos ($p>0,05$). O grupo que recebeu pó da casca de ovo sem tratamento apresentou menor retenção corporal de cálcio ($p<0,05$).

4. CONCLUSÕES

O citrato de cálcio obtido a partir de cascas de ovos e o fosfato de cálcio proveniente da carcaça de tilápia, ambos incinerados, são fontes viáveis de cálcio, pois não diferiram quanto à biodisponibilidade em relação ao sal padrão, CaCO_3 , utilizado como controle. Já o pó da casca de ovo não incinerada mostrou-se menos biodisponível. Dessa forma, o aproveitamento desses resíduos para produção de sais de cálcio parece viável do ponto de vista nutricional. A incineração e a acidificação da casca de ovo favoreceram a biodisponibilidade de cálcio, tornando esses resíduos tratados, fontes alternativas para suprir as necessidades diárias desse mineral.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUGSPURGUER, N.R.; BAKER, D.H) Phytase improves dietary calcium utilization in chicks, and oyster shell, carbonate, citrate, and citrate-malate forms of calcium are equally bioavailable. **Nutrition Research**.24(4), p 293-301, 2004.

BORON, L. **Citrato de cálcio obtido da casca e ovo: Biodisponibilidade e uso como suplemento alimentar**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos alimentos) Santa Catarina – SC, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

BORON, L.; BOUARD, C.; GUILLOPE, V.; AMBONI, R.D.M.; CAMPOS, C.M.T.; AMANTE, E.A. Avaliação da viabilidade do uso de citrato de cálcio obtido da casca do ovo como suplemento alimentar em iogurtes enriquecidos com cálcio. **Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes"**, v.61, n. 350, p. 3-10, 2006.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, FÁBIO. Farinha de Varredura de Mandioca (*Manihot esculenta*) na Alimentação de Alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.546-551, 2002.

BROSTOW, W.; RIVERA, E. M.; ARAIZA, M.; CASTANO, V. M.; DIAZ-ESTRADA, J. R.; HERNANDEZ, R.; RODRIGUEZ, J. R. Synthesis of hydroxyapatite from eggshells. **Materials Letters**, v. 41, p.128-134, 1999.

BITTENCOURT, S.A. Uma alternativa para a política nutricional brasileira? **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.14, n.3, p.629-636, 1998.

DAENGPOROK, W.; MINE, Y.; GARNJANAGOONCHORN W. Fermented pork sausage fortified with commercial or hen eggshell calcium lactate. **Meat Science**. vol. 62, p.199-204, 2002.

HEANEY, R.P.; RECKER, R.P.; WEAVER, C.M. Absorbability of calcium sources. The limited role of solubility. **Calcified Tissue International**, v 46, 300-304, 1990.

LOBO, A. S.; TRAMONTE, V.L.C. Efeitos da suplementação e da fortificação de alimentos sobre a biodisponibilidade de minerais. **Rev. Nutr., Campinas**, 17(1):107-113, 2004

LOBO, A. R. **Efeito dos frutanos (frutooligossacarídeos) na biodisponibilidade de cálcio e magnésio em ratos"**. Tese (Mestrado em Ciência Farmaceuticas) São Paulo – SP, Universidade de São Paulo – USP, 138 p, 2004

MADRUGA, M. S.; SANTOS, H. B.; BION, F. M.; ANTUNES, N. L. M. Avaliação nutricional de uma dieta suplementada com multimistura: estudo em ratos. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. 24, 1, p. 129-133, 2004.

MARTINO, H.S.D. **Fatores antinutricionais e biodisponibilidade e minerais em soja geneticamente modificada**. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa UFV, 99 p., 2001

MÉNDEZ, R.O.; WYATT, J. Contenido y absorción del calcio proveniente de la dieta del noroeste de México. Una retrospectiva bibliográfica. **Arch. Latin.Nutr.**, 50(4): 330-

333., 2000.

NAVES, M. M. V. - Pó da casca de ovo como fonte de cálcio: qualidade nutricional e contribuição para o aporte adequado de cálcio. **Revista da UFG**, vol. 5, n. 1, 2003. Disponível em: www.preoc.ufg.br.

NAVES, M.M.V.; FERNANDES, D.C.; PRADO, C.M.M. TEIXEIRA, L.S.M. Fortificação de alimentos com o pó da casca de ovo como fonte de cálcio. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.27, n.1, p.99-103,2007.

NEVES, M. **Alternativas para Valorização da Casca de Ovo como Complemento Alimentar e em Implantes ósseos**. 73p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, 1998.

PACHECO, J.T. Daleprane, J.B. Boaventura, G.B. O efeito da alimentação alternativa nos indicadores biológicos e químicos de ratos em crescimento alimentados com a dieta do município de Quissamã/RJ. **Rev. Saúde. Com**; 3(2): 35-47, 2007

RANHOTRA, G.S.; GELROTH, J.A.; LEINEN, S.D.; RAO, A. Bioavailability of calcium in a high calcium whey fraction. **Nutrition Research**, v.17, n.11/12, p. 1663-1670, 1997.

REEVES,P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY JR., G.C. AIN-93 Purified diets for Laboratory Rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76 A Rodent Diet. **Journal of Nutrition**, v.123, p.1939-1951, 1993.

SANT'ANA, L.F.R. **Biodisponibilidade de Cálcio e Ferro em multimisturas utilizadas como alternativa alimentar**. Tese (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV, 127 p.,1997

SANTA'ANA, LFR.; COSTA,N.M.B.C.; OLIVEIRA,M.G.A.; GOMES, M.R.A. Valor nutritivo e fatores antinutricionais de multimisturas utilizadas como alternativa alimentar. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 3, p.129-135, 2000.

SANTOS, L. A. S.; LIMA, A. M. P.; PASSOS, I. V.; SANTOS, L. M. P.; SOARES, M. D.; SANTOS, S. M. C. Uso e percepções da alimentação alternativa no estado da Bahia: um estudo preliminar. **Revista de Nutrição**, v. 14, p. 35-40, 2001.

SHIMBO S.; IMAI, Y.; TOMINAGA, N.; GOTOH, T.; YOKOTA, M.; INOBUCHI, N.; IKEDA Y.; WATANABE, T.; MOON C.-S. ; IKEDA M. Insufficient calcium and iron intakes among general female population in Japan, with special reference to inter-regional differences. **Journal of trace elements in medicine and biology**, vol. 10, n.

3, p. 133-138, 1996.

SILVA, A. G. H.; COZZOLINO, S. M. F. In: Cozzolino, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1. ed. Barueri: Editora Manole, 421-446, 2005

SINGH, G.; ARORA, S.; SHARMA, G.S.; SINDHU, J.S.; KANSAL, V.K.; SANGWAN, R.B. Heat stability and calcium bioavailability of calcium-fortified milk. **LWT**, Haryana, v.40, p.625-631, 2007.

STADELMAN, W.J. Quality Identification of Shell Eggs. In: STADELMAN, W.J.; COTTERILL, O.J. **Egg science and Technology**. 4 ed.,2000.

STRAIN, J.J.; CASHMAN, K.D. In: GIBNEY, M.J.; VORSTER, H.H.; KOK, F.I., **Introdução à nutrição humana**. 1.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 162-204, 2005.

TSAI, W.T.; YANG, J.M.; LAI, C.W.; CHENG, Y.H.; LIN, C.C.; YEH, C.W. Characterization and adsorption properties of eggshells and eggshell membrane. **Bioresource Technology**, v.97, n.3, 2006.

WEAVER, C.M. Calcium in food fortification strategies. **Int. Dairy Journal**, 8:443-449, 1998

WOSJE, K.S.; Specker, B.L. Role of calcium in bone health during childhood. **Nutr.Rev.**, 58 (9): 253-268, 2000

4.2 ANÁLISE SENSORIAL DE PÃO E BOLO FORTIFICADOS COM SAIS DE CÁLCIO PRODUZIDOS A PARTIR DE CASCAS DE OVOS E CARÇAÇA DE TILÁPIA

Márcia Cristina de Paula Cesário*, Karla Silva Ferreira*, Selma Bergara Almeida*, Fábio da Costa Henry*

*Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, CEP 28015-620,Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil.

RESUMO

Pães e bolos são produtos amplamente consumidos, e assim apropriados para o enriquecimento com nutrientes ou compostos especiais. O cálcio é um dos nutrientes cuja ingestão é deficiente em diversos grupos populacionais. O uso de resíduos agrícolas, tais como a casca de ovo e a carcaça de peixes, na alimentação, como fonte de cálcio é benéfico por contribuir para elevar a ingestão deste elemento. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade sensorial de pão de batata fortificado com citrato de cálcio de cascas de ovos incineradas e acidificadas, e de bolos caseiros fortificados com citrato de cálcio de cascas de ovos incineradas e acidificadas e fosfato de cálcio de carcaças de tilápia incineradas. Foram elaborados pães de batata e bolos fortificados com três concentrações de cálcio, 300mg/100 g de produto pronto, 400mg/100g de produto pronto e 500mg/100g de produto pronto. Foram realizados testes de análise sensorial de comparação múltipla. Cada formulação foi comparada com uma amostra referência (R), sem adição de cálcio. Avaliaram-se os atributos odor, cor, sabor e textura. As formulações avaliadas não diferiram significativamente em relação à amostra padrão (R), não havendo, desta forma comprometimento dos produtos testados quanto aos parâmetros de qualidade sensorial avaliados. Assim pode-se concluir que é viável sua utilização na fortificação de pães e bolos.

Palavras-chave: pão; bolo; citrato de cálcio; fosfato de cálcio; análise sensorial

SENSORY ANALYSIS OF BREAD AND CAKE FORTIFIED WITH CALCIUM SALTS PRODUCED FROM EGG SHELLS AND TILAPIA CARCASS.

Márcia Cristina de Paula Cesário*, Karla Silva Ferreira*, Selma Bergara Almeida*, Fábio da Costa Henry*

Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, CEP 28015-620, Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil.

ABSTRACT

Bread and cake are products widely consumed, suitable for enrichment with special nutrients or compounds. Calcium is a nutrient whose intake is deficient in several groups. The use of the eggshell and fish carcass in food, as a source of calcium is beneficial by helping to increase the intake of this element. The purpose of this study was to evaluate the sensory quality of homemade potato bread fortified with calcium citrate of eggshells incinerated and acidified. and cakes fortified with calcium citrate of eggshells incinerated and acidified and fish carcass incinerated. The products were fortified with three concentrations of calcium, 300 mg/100 g of product, 400 mg/100g of product and 500 mg/100g of product. Sensory multiple comparison tests was carried out. Each formulation was compared with a reference sample (R), without the addition of calcium. It was evaluated the attributes odor, color, flavor and texture. None of the formulations evaluated differed significantly from the standard sample (R), ($p > 0.05$), without compromising the product tested based on the parameters evaluated. Then its concluded that its use is viable in the bread and cake fortification.

1. INTRODUÇÃO

O cálcio é um mineral importante para o organismo, em especial na mineralização óssea (WEAVER E HEANEY, 2003). A ingestão adequada garante melhor densidade óssea, retardando a perda óssea e o desenvolvimento de osteoporose (LANZILOTTI, 2003; WEINSIER e KRUMDIECK, 2000).

A osteoporose é observada em mulheres no período pós-menopausa, em idosos, mas também em adolescentes com amenorréia. A baixa ingestão de alimentos fontes de cálcio durante as fases de crescimento contribui significativamente ao desenvolvimento precoce da osteoporose (WEINSIER e KRUMDIECK, 2000; MANTOANELLI *et al.*, 2002; LANZILOTTI, 2003)

O pão é um produto popular, consumido na forma de lanches ou com refeições, e

apreciado devido à sua aparência, aroma, sabor, preço e disponibilidade (BATTOCHIO et al, 2006).

A história dos pães está diretamente relacionada à história da humanidade. Existem dados que registram a utilização do pão e produtos à base de trigo há 3000 – 4000 anos a. C. em povos da Mesopotâmia e Egito. A evolução da tecnologia de panificação deve-se principalmente ao grande consumo deste produto. É um alimento de grande importância do ponto de vista nutricional, em função do seu conteúdo protéico, e por ser fonte de energia, advinda principalmente do seu elevado teor de carboidratos (QUAGLIA, 1991 *apud* BOWLES e DEMIATE, 2006).

Devido ao seu amplo consumo (BRASIL, 2007), revela-se um produto que pode ser enriquecido, fornecendo nutrientes ou componentes especiais (WANG e BARBER, 2002).

O bolo é um produto obtido pela mistura, homogeneização e cocção de uma massa preparada com farinhas, fermentadas ou não, e outras substâncias alimentícias como leite, ovos e gordura. A farinha de trigo constitui o principal componente das formulações por fornecer a matriz em torno da qual os demais ingredientes são misturados para formar a massa (EL-DASH e CAMARGO, 1982).

O bolo vem adquirindo crescente importância no que se refere ao consumo e comercialização no Brasil. Embora não constitua alimento básico como o pão, o bolo é aceito e consumido por pessoas de qualquer idade (EL-DASH e CAMARGO, 1982). Este alimento figura entre os mais consumidos de acordo com resultados de inquéritos alimentares (RIVERA e SOUZA, 2006; DALLA COSTA, 2007).

O desenvolvimento tecnológico possibilitou mudanças nas indústrias transformando a produção em pequena para grande escala (MOSCATO *et al.*, 2004). Pesquisas têm comprovado que a melhoria das matérias-primas comuns (BORGES *et al.*, 2006; BARONI, 2003) e alternativas (MOSCATO *et al.*, 2004;) tem disponibilizado alternativas para o consumo de alimentos mais nutritivos e com características sensoriais mais aceitáveis.

A fortificação de alimentos com nutrientes é uma prática aceita e amplamente empregada para reforçar o valor nutritivo e prevenir ou corrigir deficiências de um ou mais nutrientes (NABESHIMA *et al.*, 2005; ASSUNÇÃO e SANTOS, 2007)

A exemplo disso, a Universidade Federal de São Paulo (Unifesp) participou do desenvolvimento de um pão francês enriquecido com ferro para combater anemia. O pão fortificado com ferro e intitulado "superpãozinho", começou a ser distribuído em uma

escola municipal de São Bernardo do Campo, com o intuito de ajudar a reduzir os altos índices de anemia encontrados no país (BRASIL, 2007).

De acordo com a portaria n ° 31, de 13 de janeiro de 1998 para Alimentos Enriquecidos ou Fortificados é permitido o enriquecimento ou fortificação desde que 100mL ou 100g do produto, pronto para consumo, forneçam no mínimo 15% das *Dietary Reference Intakes* (DRIs), no caso de líquidos, e 30% no caso de sólidos. Os nutrientes devem estar na sua forma elementar ou sal composto de comprovada biodisponibilidade e presentes em concentrações que não impliquem ingestão excessiva ou insignificante do nutriente adicionado, considerando as quantidades derivadas de outros alimentos da dieta e as necessidades do consumidor a que se destina (BRASIL, 1998).

No Brasil a criação da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) tem aumentado, principalmente devido ao valor nutricional da carne, textura agradável e paladar, proporcionando uma boa aceitação do filé. Além da facilidade do cultivo desse peixe (SOUZA e MARANHÃO, 2001). Os dados sobre a produção de tilápias não são exatos, mas a produção desse peixe tem se destacado nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul, especialmente no Oeste do Paraná (MACIEDO-VIEGAS *et al.*, 1997), principalmente devido ao crescimento da indústria de processamento (SOUZA e MARANHÃO, 2001).

A carcaça de peixes compreende o tronco sem cabeça, vísceras e pele (MACIEDO-VIEGAS *et al.*, 1997). A carcaça de tilápia, representada basicamente pelos ossos desse peixe, compreende um reservatório de cálcio, assim como o tecido ósseo de qualquer outro animal.

Os ossos são uma fonte de cálcio, prontamente disponível para a manutenção dos níveis normais da sua concentração plasmática (FISHBEIN, 2004). No osso, a hidroxiapatita constitui o principal componente mineral, formada de cálcio e fósforo, é um dos tipos de fosfatos de cálcio mais utilizado como biocerâmica (APARECIDA *et al.*, 2007).

A elevada produção de ovos no Brasil (IBGE, 2007) gera um montante de resíduos, as cascas, que podem ser utilizadas como fertilizantes, suplemento para ração animal (DAENGPROK *et al.*, 2002) e como fonte de Ca em multimisturas (SANTOS *et al.*, 2004; MADRUGA *et al.*, 2004), principalmente na fortificação de alimentos (NAVES, 2007), além da síntese de sais de cálcio tais como citrato (BORON *et al.*, 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade sensorial de produtos de panificação fortificados com citrato de cálcio e fosfato de cálcio, produzidos a partir de

cascas de ovos incineradas e acidificadas e carcaça de tilápia incinerada, respectivamente.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para fortificação dos produtos foi utilizada adição mínima de 30% das DRIs por 100 g de produto pronto, conforme prevê a portaria nº. 31 de 13 de janeiro de 1998 (BRASIL, 1998). A partir do nível mínimo estabeleceram-se mais dois níveis de adição, de 40 e 50% da recomendação de cálcio por 100 g de produto pronto.

A formulação padrão, sem adição de cálcio, foi nomeada de formulação R e as três formulações acrescidas de citrato de cálcio obtido a partir de cascas de ovos de C30, C40 e C50, de acordo com o nível de adição no produto.

O processo de fabricação dos produtos foi idêntico para todas as quatro formulações, diferindo apenas na etapa de adição do sal de cálcio.

2.1 Preparo do pó da casca de ovo incinerada e acidificada:

As cascas de ovos brancos de galinha foram lavadas em água corrente e secas em estufa com circulação forçada de ar, a 105 °C, por 2 horas. Em seguida, foram trituradas manualmente, obtendo-se um pó de cascas, e acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em local arejado, seco e protegido de luz.

O pó de casca foi incinerado em mufla em temperatura de 800 °C por 5 horas, sendo o remanescente triturado em multiprocessador de alimentos. Posteriormente este material foi acondicionado em um béquer, adicionado de água destilada na proporção de 1:2 e homogeneizado. Aferiu-se o pH com auxílio de um potenciômetro (pHmetro) e registrou-se os valores na faixa de 11 a 12. A esta mistura adicionou-se ácido cítrico P.A., até que se alcançasse valores de pH em torno de 7,0, favorecendo à formação do citrato de cálcio, como resultado da reação entre o ácido cítrico e o óxido de cálcio. A solução foi colocada em estufa com circulação forçada de ar, a 105 °C, por 24 horas, obtendo-se desta forma o citrato de cálcio em pó a partir da casca de ovo incinerada.

2.2 Preparo da carcaça de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) incinerada

As carcaças foram desidratadas em estufa com circulação forçada de ar, a 105 °C, por 4 horas. Em seguida foram trituradas manualmente, obtendo-se um pó de carcaça, e incineradas em mufla à temperatura de 800 °C por 6 horas, sendo o resíduo mineral resultante, triturado em multiprocessador, armazenado e rotulado como fosfato de cálcio.

2.3 Determinação do teor de cálcio.

Para a determinação do teor de cálcio nas cascas de ovos incineradas e acidificadas e na carcaça de tilápia incinerada, realizou-se digestão nitroperclórica (AOAC, 1998) e diluição do extrato com água deionizada e cloreto de lantânio ($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Procedeu-se a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica.

Todas as vidrarias e utensílios utilizados na produção do sal de cálcio e na análise do cálcio foram desmineralizados, utilizando-se de imersão em solução de HCl 20%, por 24 horas, sendo posteriormente enxaguados com água deionizada.

2.4 Formulação do pão de batata

A Tabela 1 apresenta a formulação do pão de batata padrão.

Tabela 1 - Formulação do pão de batata padrão.

Ingredientes	g/kg de produto
Batata-inglesa	250
Farinha de trigo	500
Ovo de galinha inteiro	94
Gema de ovo de galinha	50
Leite pasteurizado integral	182
Óleo de soja	60
Açúcar cristal	88
Sal refinado	6

O fluxograma do preparo do pão é mostrado na Figura 1. Inicialmente, etapa 1, misturou-se o fermento biológico e o açúcar, formando uma pasta na qual foram acrescentados ovos, sal, a batata cozida, leite e o citrato de cálcio. Os ingredientes foram

homogeneizados em uma batedeira doméstica por 60 segundos.

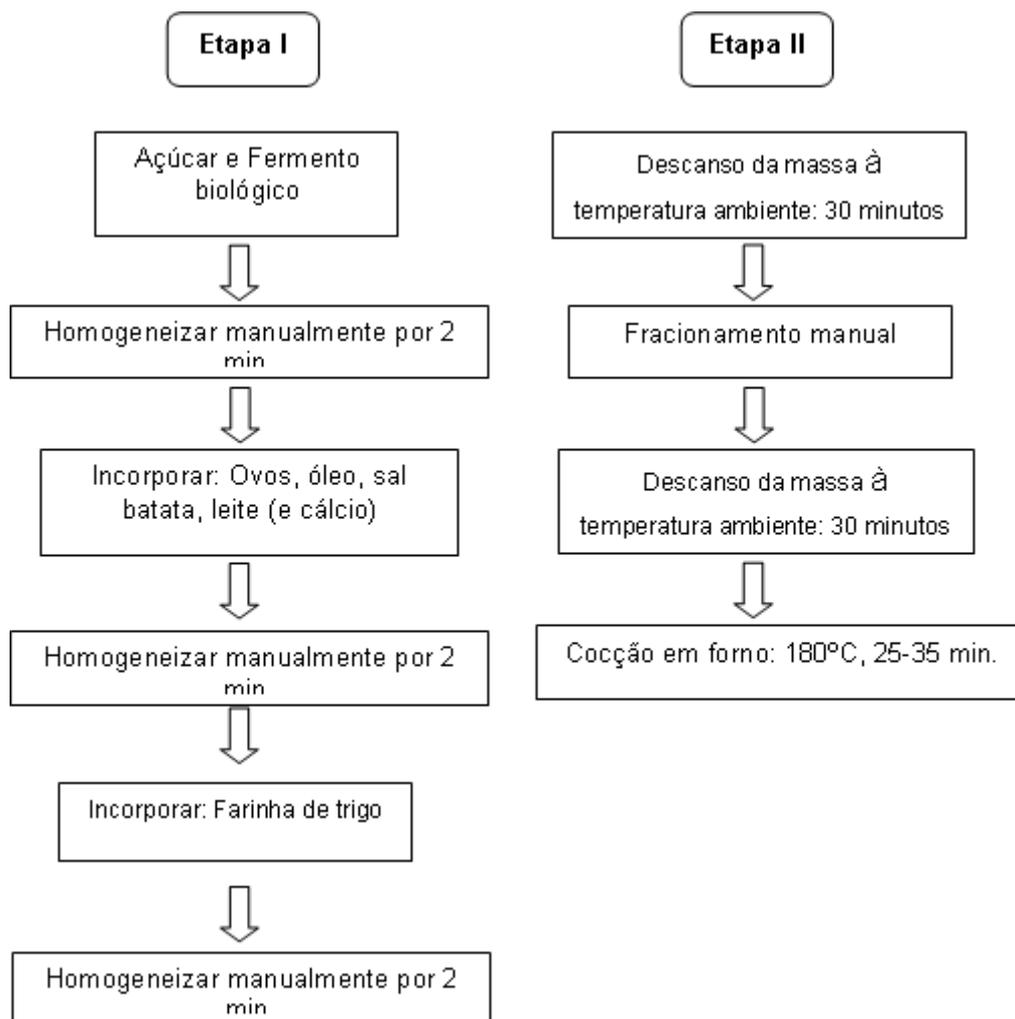


Figura 1: Fluxograma de preparo de amostras de pão de batata caseiro.

Em seguida adicionou-se a farinha de trigo, misturando-se manualmente, até a obtenção de uma massa lisa e elástica.

Na segunda etapa a massa foi deixada em repouso por 30 minutos sobre a bancada. Após o período de descanso, a massa foi fracionada em porções de 14 g, retornando-se ao repouso por mais 30 minutos, seguida de cocção. Os pães foram assados em temperatura de 180°C por 25 minutos.

Cada formulação foi preparada, assada e armazenada individualmente. Os pães foram armazenados em recipientes plásticos por período de 24 horas, sendo em seguida avaliados sensorialmente quanto aos atributos odor, cor, sabor e textura, conforme descrição no item 2.6.

2.5 Formulação do bolo

A formulação do bolo padrão (R), sem adição de cálcio, é mostrada na Tabela 2.

Os produtos foram enriquecidos com os sais de cálcio produzidos, fostato e citrato de cálcio. Três formulações de bolo foram elaboradas para cada sal de cálcio, totalizando

8 formulações, 3 fortificadas com citrato de cálcio, 3 com fosfato de cálcio e 2 bolos padrão, sem adição de cálcio.

Tabela 2: Formulação do bolo caseiro padrão.

Ingredientes	g ou mL por kg de produto pronto
Farinha de trigo	367
Gema de ovos de galinha	74
Clara de ovos de galinha	116
Margarina	229
Açúcar	301
Amido de milho	12
Leite pasteurizado integral	104
Fermento químico	18
Sal refinado	1,2

A primeira etapa (Figura 2) do preparo do bolo consistiu em homogeneizar gemas, açúcar e margarina com auxílio de uma batedeira obtendo-se um creme claro e espesso. A esta mistura foram acrescentados farinha, amido de milho, leite, sal e o suplemento de cálcio, nos casos das formulações enriquecidas. Na segunda etapa (Figura 2) a clara foi submetida à agitação mecânica até formação de claras em neve, sendo em seguida incorporadas à massa juntamente com o fermento químico. A massa final foi distribuída em uma forma de alumínio, conduzida ao forno a gás, preaquecido (10 minutos) e assada à temperatura de 220°C por 30 minutos.

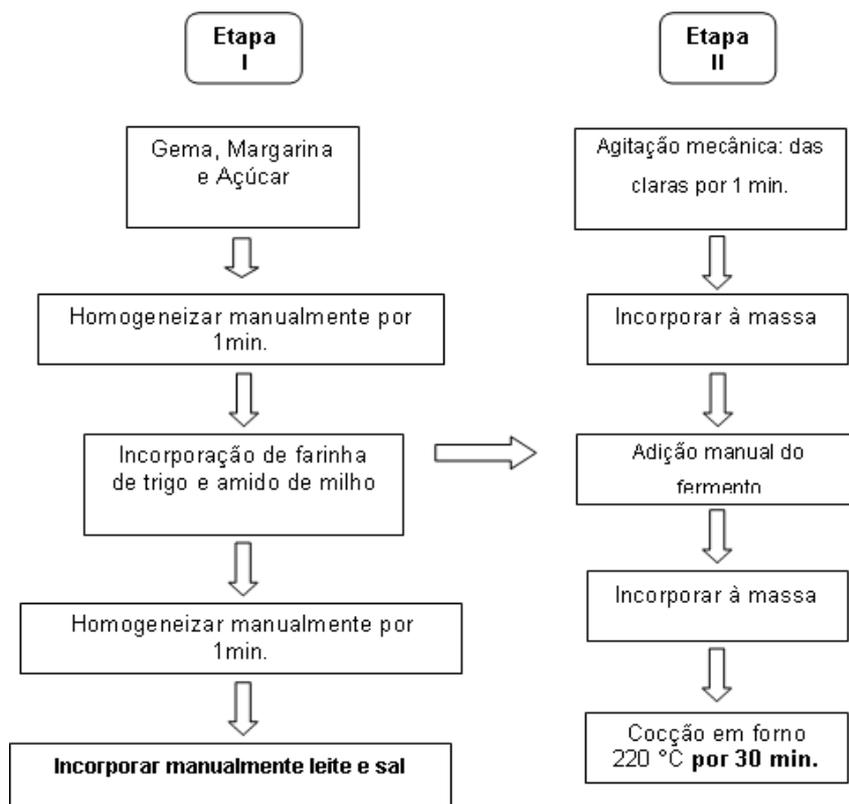


Figura2: Fluxograma de preparo de amostras de bolo simples de massa branca

2.6 Análise sensorial: teste de comparação múltipla

O teste de comparação múltipla (CHAVES, 2003) foi realizado utilizando-se a amostra padrão ou referência (R) e três amostras com diferentes concentrações de cálcio. Os atributos avaliados foram cor, odor, sabor e textura.

Os julgadores receberam uma ficha (Figura 2) na qual, deveriam avaliar cada amostra teste e classificá-la de acordo com a qualidade apresentada em relação à amostra referência (R).

Foi solicitada além de classificação em relação à qualidade, a intensidade da diferença de qualidade entre a amostra testada e a referência (R), quando houvesse (Tabela 3). Esta classificação de diferença deveria ser feita quando os produtos apresentassem uma diferença pequena, moderada, grande ou intensa.

Tabela 3. Escala de notas de intensidade do teste de comparação múltipla.

Intensidade	Qualidade		
	Inferior	Superior	Igual
Pequena	4	6	-
Moderada	3	7	-
Grande	2	8	-
Extrema	1	9	-
Igual	-	-	5

A codificação das amostras foi feita com números de três dígitos escolhidos de forma aleatória não havendo seqüência entre os números dos códigos. As amostras foram apresentadas de forma monádica (uma de cada vez) e seqüencial (uma após a outra), aleatoriamente. Foram servidas no teste uma unidade de pão e uma fatia de bolo, com peso de 15 gramas cada.

A avaliação foi feita por 30 provadores não treinados, selecionados aleatoriamente entre funcionários e estudantes da UENF, com faixa etária entre 20 e 53 anos, de ambos os sexos, em cabines individuais.

Posteriormente às avaliações cada julgamento foi transformado em escores conforme descrito a seguir. Amostras que apresentassem qualidade inferior a R e pequena recebiam nota 4, qualidade inferior a R e moderada, nota 3, qualidade inferior a R e grande, nota 2 e qualidade inferior a R extrema, nota 1. Amostras com qualidade

superior a R e pequena, nota 6, superior a R e moderada, nota 7, superior a R e grande, nota 8 e superior a R e extrema, nota 9. As amostras declaradas iguais R, na qualidade, receberam nota 5 no quesito intensidade da diferença.

Para análise dos resultados foi utilizada análise de variância ANOVA e a 5% de probabilidade.

Nome:

Sexo:

Idade:

As amostras de PÃO (BOLÃO) apresentadas deverão ser avaliadas em relação à QUALIDADE da COR, ODOR, SABOR e TEXTURA. Será apresentada uma amostra de referência marcada com a letra **(R)**, com a qual deverão ser comparadas as demais amostras.

Por favor, determine, marcando um **X** na linha correspondente, se cada amostra-teste apresenta igual, maior ou menor nível de qualidade em relação a cada atributo acima citado. Exemplo: “se você marcou com **X** Qualidade do Sabor Maior que R significa que você achou a amostra em questão mais saborosa que amostra R”.

Em seguida na escala de intensidade, também marcando um **X**, classifique o tamanho da diferença se houver esta diferença em relação à amostra **R**.

Entre as avaliações das amostras enxágüe a boca com água e espere 30 segundos.

Qualidade do Odor (Cheiro)

Código das Amostras

543

324

467

Maior que R

Igual a R

Menor que R

Intensidade da diferença

Pequena

Moderada

Grande

Extrema

Figura 3. Ficha (resumida) utilizada no teste de comparação múltipla dos pães e bolos avaliados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do teste de comparação múltipla, dos atributos sensoriais testados nas amostras de pão de batata desenvolvidos neste trabalho estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 4: Médias, desvios padrão e resultados da Análise da Variância das respostas do teste sensorial de comparação múltipla com relação aos atributos odor, cor, sabor e textura das amostras de pão de batata fortificado com citrato de cálcio produzido a partir de cascas de ovos incineradas e acidificadas.

Amostras	Grau de diferença em qualidade sensorial em relação a R ¹			
	Odor	Cor	Sabor	Textura
Pão C30 (300 mg Ca/100g)	4,8 ± 1,36	5,2 ± 1,41	5,3 ± 2,01	5,5 ± 2,06
Pão C40 (400 mg Ca/100g)	4,6 ± 1,84	5,5 ± 1,61	4,8 ± 2,14	4,9 ± 1,27
Pão C50 (500 mg Ca/100g)	5,4 ± 1,80	6,0 ± 1,77	5,4 ± 2,51	5,2 ± 1,98
Nível de significância (p) ²	0,2032	0,0939	0,4705	0,4417

¹ Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=30.; 1 = extrema e menor que de R; 2 = grande e menor que de R; 3 = moderada e menor que de R; 4 = pequena e menor que de R; 5 = igual; 6 = extrema e maior que de R; 7 = grande e maior que de R; 8 = moderada e maior que de R; 9 = pequena e maior que de R.

²nível de significância obtido na Análise da Variância, significativo se menor que 0,05.

Alguns autores afirmam que a adição de cálcio na proporção de 300 mg de cálcio para 454 g de pão não acarreta má qualidade do produto (RANHOTRA et al., 1997). Entretanto, o emprego de sais minerais em grandes quantidades no enriquecimento de alimentos pode ser fator negativo, pois tais quantidades podem alterar o perfil sensorial dos produtos com o aparecimento de sabor e odor de giz, textura granulosa similar a areia e mudança de cor (BARUFFALDI e OLIVEIRA, 1998). Desta forma, o controle na quantidade de sal empregado, bem como a avaliação de alterações sensoriais no produto devem ser feitos.

Os resultados obtidos (Tabela) demonstram que nenhuma das formulações diferiu significativamente ($p > 0,05$), da amostra padrão (R), não havendo assim alteração nos parâmetros sabor, odor, cor e textura nas amostras de pães de batata enriquecidos com até 500mg de Ca por 100g de pão.

BORON et al. (2004) estudaram a viabilidade do emprego de citrato de cálcio produzido a partir de cascas de ovos em biscoitos e iogurtes e concluíram que este sal não conferiu propriedades sensoriais indesejáveis aos produtos. No trabalho destes autores o citrato de cálcio foi obtido por imersão de pó de casca de ovo em solução de

ácido cítrico, com posterior formação de citrato de cálcio. KAJISHIMA et al. (2003) observaram que a adição de sais de cálcio na proporção de 800mg de Ca/100g de pão francês não interferiu nas características reológicas desse produto. UMBELINO et al. (2001) também não observaram diferenças significativas entre iogurte de soja enriquecido com citrato de cálcio e uma amostra padrão, sem adição de cálcio.

Os resultados referentes aos atributos sensoriais avaliados nas amostras de bolo estão apresentados nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 5: Médias, desvios padrão e resultados da Análise da Variância das respostas do teste sensorial de comparação múltipla com relação aos atributos odor, cor, sabor e textura das amostras de bolo fortificado com citrato de cálcio produzido a partir de cascas de ovos incineradas e acidificadas.

Amostras	Grau de diferença em qualidade sensorial em relação a R ¹			
	Odor	Cor	Sabor	Textura
Bolo C30 (300 mg Ca/100g)	4,3 ± 1,53	5,0 ± 1,33	5,0 ± 1,79	5,4 ± 1,68
Bolo C40 (400 mg Ca/100g)	5,0 ± 1,19	4,6 ± 1,08	4,6 ± 1,67	5,2 ± 1,80
Bolo C50 (500 mg Ca/100g)	4,7 ± 1,78	4,8 ± 1,13	4,8 ± 1,38	4,6 ± 1,47
Nível de significância (p) ²	0,7956	0,0618	0,6940	0,1272

¹ Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=30.; 1 = extrema e menor que de R; 2 = grande e menor que de R; 3 = moderada e menor que de R; 4 = pequena e menor que de R; 5 = igual; 6 = extrema e maior que de R; 7 = grande e maior que de R; 8 = moderada e maior que de R; 9 = pequena e maior que de R.

²nível de significância obtido na Análise da Variância, significativo se menor que 0,05.

Tabela 6. Médias, desvios padrão e resultados da Análise da Variância das respostas do teste sensorial de comparação múltipla com relação aos atributos odor, cor, sabor e textura das amostras de bolo fortificado com fosfato de cálcio produzido a partir de carcaça de peixe incinerada.

Amostras	Grau de diferença em qualidade sensorial em relação a R ¹			
	Odor	Cor	Sabor	Textura
Bolo C30 (300 mg Ca/100g)	5,3 ± 1,03	5,3 ± 1,25	5,2 ± 1,92	5,3 ± 1,41
Bolo C40 (400 mg Ca/100g)	5,3 ± 1,78	5,7 ± 1,46	5,4 ± 1,67	5,5 ± 1,80
Bolo C50 (500 mg Ca/100g)	4,5 ± 1,05	5,4 ± 1,15	5,9 ± 1,40	5,8 ± 1,64
Nível de significância (p) ²	0,0337	0,4327	0,1889	0,4329

¹ Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=30.; 1 = extrema e menor que de R; 2 = grande e menor que de R; 3 = moderada e menor que de R; 4 = pequena e menor que de R; 5 = igual; 6 = extrema e maior que de R; 7 = grande e maior que de R; 8 = moderada e maior que de R; 9 = pequena e maior que de R.

²nível de significância obtido na Análise da Variância, significativo se menor que 0,05.

Tanto as formulações fortificadas com citrato de cálcio (Tabela 5), quanto as fortificadas com fosfato de cálcio (Tabela 6) não diferiram significativamente ($p < 0,05$) da amostra padrão (R), não havendo assim alteração de sabor, odor, cor e textura nas amostras de bolos enriquecidas com até 500 mg de Ca por 100g.

BORON et al., (2004) estudaram a viabilidade do emprego de citrato de cálcio produzido a partir de cascas de ovos em biscoitos e iogurtes e concluíram que este sal não conferiu propriedades sensoriais indesejáveis aos produtos. UMBERLINO et al. (2001) também não observaram diferenças significativas entre iogurte de soja enriquecido com citrato de cálcio e fosfato de cálcio em relação à amostra padrão, sem cálcio.

KAJISHIMA et al. (2003) observaram que a adição de fosfato de cálcio em pão francês na proporção de 800mg de Ca/100g de produto pronto não interferiu nas características reológicas desse alimento. CASÉ et. al. (2005) concluíram que a qualidade global de amostras de "leite" de soja adicionado de fosfato tricálcio alcançou a melhor avaliação, em um teste de avaliação sensorial realizado por uma equipe de provadores treinados.

Os resultados dos trabalhos acima mencionados, que avaliaram a aceitação dos alimentos fortificados, evidenciam que a adição desse sal de cálcio não alterou as características sensoriais de outros produtos alimentícios.

4. CONCLUSÃO

A adição de citrato de cálcio obtido a partir da casca de ovo e de fosfato de cálcio obtido a partir de carcaça de tilápia tratados, em pães e bolos é viável, pois nas concentrações avaliadas, não conferiu características sensoriais estatisticamente diferentes do produto de referência. Dessa forma, a utilização de tais resíduos na fortificação desses produtos de panificação pode contribuir para o aumento da ingestão diária de cálcio.

5. REFERÊNCIAS BIBLIGRÁFICAS

- APARECIDA, A.H.; LIA FOOK, M.V.; SANTOS, M.L.; GUASTALDI, A.C. Estudo da influência dos íons k^+ , mg^{2+} , so_4^{2-} e co_3^{2-} na cristalização biomimética de fosfato de cálcio amorfo (ACP) e conversão a fosfato octacálcico (OCP). **Quim. Nova**, vol. 30, n. 4, p. 892-896, 2007.
- ASSUNÇÃO, M.C.F.; SANTOS, I.S. Efeito da fortificação de alimentos com ferro sobre anemia em crianças: um estudo de revisão. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.23, n.2, p.269-281, 2007.
- BARONI, C.F.S.C.; PENTEADO, P.T.P.S.; GEMIN, C.A.B.; BORGET, L.D.; WILLE, G.M.F.C. Desenvolvimento de mistura em pó para bolo inglês *light* com frutas. **Visão Acadêmica**, v. 4, n. 2, p.113-120, 2003.
- BARUFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. **Fundamentos de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo, Atheneu, v.3, 1998.
- BATTOCHIO, J.R.; CARDOSO, J.M.P.; KIKUCHI, M.; MACCHIONE, M.; MODOLO, J.S.; PAIXÃO, A.L.; PINCHELLI, A.M.; DA SILVA, A.R.; DE SOUSA, V.C.; WADA, J.K.A.; WADA, J.K.A.; BOLINI, H.M.A. Perfil Sensorial de pão de forma integral. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n.2, p.428-433, 2006.
- BORGES, J.T.S.; PIROZI, M.R.; DELLA LUCIA, S.M.; PEREIRA, P.C.; MORAES, A.R.F.; CASTRO, V.C. Utilização de farinha mista de aveia e trigo na elaboração de bolos. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 145-162, 2006
- BORON, L. **Citrato de cálcio obtido da casca e ovo: Biodisponibilidade e uso como suplemento alimentar**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos alimentos) Santa Catarina-SC, Universidade Federal de Santa Catarina. 2004.
- BRASIL. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE PANIFICAÇÃO E CONFEITARIA. Análise do mercado de pães, 2002/2003. Disponível em: <http://www.abip.org.br>. Acesso em: 10 mai. 2007.
- BOWLES, S.; DEMIATE, I.M. Caracterização físico-química de *okara* e aplicação em pães do tipo francês. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.26, n.3,652-659, 2006.
- BRASIL. Portaria RDC n. 90, de 18 de outubro de 2000. **Aprova o regulamento técnico referente a alimentos adicionados de nutrientes essenciais, constante do anexo desta Portaria. Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: <http://e->

legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=64. Acesso em 10 de abril de 2007.

CASÉ, F.; DELIZA, R.; ROSENTHAL, A.; MANTOVANI, D.; FELBERG, I. Produção de 'leite' de soja enriquecido com cálcio. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.25, n.1, 86-91, 2005.

CHAVES, J. B. P.; SPROSSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa: UFV, 2001. 81 p.

DAENGPOROK, W.; MINE, Y.; GARNJANAGOONCHORN, W. Fermented pork sausage fortified with commercial or hen eggshell calcium lactate. **Meat Science**. v. 62, p.199-204, 2002.

DALLA COSTA, M.C.; CORDONI JUNIOR, L.; MATSUO, T. Hábito alimentar de escolares adolescentes de um município do oeste do Paraná. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.20, n.5, p.461-471, 2007.

EL-DASH, A.A.; CAMARGO, C.O.; DIAZ, N.M. **Fundamentos da tecnologia de panificação**. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio e Tecnologia, p. 1-243, 1982.

FISHBEIN, L. Multiple sources of dietary calcium: some aspects of its essentiality. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v39, p.69-80, 2004.

KAJISHIMA, S.; PUMAR, M.; GERMANI, R. Efeito de adição de diferentes sais de cálcio nas características da massa e na elaboração de pão francês. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.2, 222-225, 2003.

LANZILLOTTI, H. S. LANZILLOTTI, R.S.; TROTE, A.P.R.; DIAS, A.S.; BORNAND, B. COSTA, E.A.M.M. Osteoporose em mulheres na pós-menopausa, cálcio dietético e outros fatores de risco. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 181-193, 2003.

MACEDO-VIEGAS, E.M.; SOUZA, M.L.R.; KRONKA, S.N. Estudo da carcaça de tilápia do Nilo (*oreochromis niloticus*), em quatro categorias de peso. **Revista UNIMAR** v19, n3, p.863-870, 1997

MANTOANELLI, G.; VITALLE, M. S. S.; AMANCIO, O. M. S. Amenorréia e osteoporose em adolescentes atletas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 319-332, 2002.

MOSCATTO, J. A.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H.; HAULY, M. C. O. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 634-640, 2004.

- NABESHIMA, E.H.; ORMENESE, R.C.S.C.; MONTENEGRO, F.M.; TODA, E.; SADAHIRA, M.S. Propriedades tecnológicas e sensoriais de pães fortificados com ferro. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.25, n.3, p. 506-511, 2005
- NAVES, M.M.V.; FERNANDES, D.C.; PRADO, C.M.M. TEIXEIRA, L.S.M. Fortificação de alimentos com o pó da casca de ovo como fonte de cálcio. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.27, n.1, p.99-103,2007.
- RANHOTRA, G.S.; GELROTH, J.A.; LEINEN, S.D.; RAO, A. Bioavailability of calcium in a high calcium whey fraction. **Nutrition Research**, v.17, n.11/12,p. 1663-1670, 1997.
- RIVERA, F.S.R.; SOUZA, E.M.T. Consumo alimentar de escolares de uma comunidade rural. **Comum. Ciênc. Saúde**;v17, n2, p.111-119, 2006.
- SANTOS, H. B.; MADRUGA, M.S.; BION, F.M.; ANTUNES, N.L.M., MENDES, K.; ÀGUIDA, R. Estudos bioquímicos e hematológicos em ratos sobre biodisponibilidade de minerais numa dieta enriquecida com multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p.613-618, 2004.
- SOUZA, M.L.R.; MARANHÃO, T.C.F. Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 897-901, 2001.
- UMBELINO, D. C.; ROSSI, E. A.; CARDELLO, H. M. A. B.; LEPERA, J. S. Aspectos tecnológicos e sensoriais do “iogurte” de soja enriquecido com cálcio. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, vol. 21, n. 3, p. 276-280, 2001.
- WANG, J.; ROSELL, C. M.; de BARBER, C. B. Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. **Food Chemistry**, v. 79, p.221-226, 2002.
- WEINSIER, R. L.; KRUMDIECK, C. L. Dairy foods and bone health: examination of the evidence. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 72, n. 3, p. 681-689, 2000.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso da casca de ovos e da carcaça de tilápia após tratamento térmico e/ou químico mostrou-se viável, pois ambos são boas fontes de cálcio biodisponível, além de conferirem aos produtos fortificados qualidade sensorial similar à dos produtos convencionais.

O emprego destas fontes de cálcio poderá contribuir para o aumento do consumo desse mineral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, L.H.; WOOD, R.J. (1994) Calcium and phosphorus. *In*: Shils, M.E. et. al. **Modern Nutrition in health and disease**. Lippincott Williams & Wilkins 8.ed. EUA, 144-164.
- AMAYA-FARFAN, J. (1994) Fatores nutricionais que influem na formação e manutenção do osso. **Revista de Nutrição Puccamp**, Campinas, 7(2):148-172,
- AZEREDO, E.M.C. (1998). **Efeito da adição de citrato de sódio e fosfato de sódio sobre a biodisponibilidade de cálcio em leite “UHT”**. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV, 64 p.
- BIANCO, S.M.; PINHEIRO, P.C.M.S.; CORRÊA, M.G. (1994) Raquitismo: Uma visão ortopédica. **Revista Brasileira de Ortopedia**. 29(11-12).
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa de saúde do idoso**. (1999). Disponível em <http://www.saude.gov.br>. Acesso em: Abril de 2007.
- BRASIL. Portaria RDC n. 90, de 18 de outubro de 2000. **Aprova o regulamento técnico referente a alimentos adicionados de nutrientes essenciais, constante do anexo desta Portaria**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=64>. Acesso em: 10 abr. 2007.
- BERNER, L.A.; MCBEAN, L.D., LOFGREN, P.A. (1990) Calcium and Chronic Disease Prevention: Challenges to the Food Industry. **Food Technology**, 44(3): 50-66
- BORON, L. (2004) **Citrato de cálcio obtido da casca e ovo: Biodisponibilidade e uso como suplemento alimentar**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos alimentos) Santa Catarina – SC, Universidade Federal de Santa Catarina
- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, FÁBIO. (2002) Farinha de Varredura de Mandioca (*Manihot esculenta*) na Alimentação de Alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.546-551.
- BRONNER, F. (1987) Intestinal calcium absorption : mechanisms and applications. **The Journal of Nutrition**. 117:1347-1352.

- BRONNER, F. (2003). Mechanisms of calcium absorption. **Journal of Cellular Biochemistry**. 88(2): 387-393.
- BRONNER, F.; PANSU, D. (1999) Recent advances in nutritional science. **J. Nutr.**, 129:9-12.
- BUZINARO, E F.; ALMEIDA, R. N. A.; MAZETO, G.M. F. S. (2006) Biodisponibilidade do cálcio dietético. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, 50(5):852-861.
- CALVO, M.S. (1993) Dietary phosphorus, calcium metabolism and bone. **J.Nutr.**, Filadelfia,12:1627-1633.
- COSTA, N.M.B. (2008) Minerais. *In*: COSTA, N.M.B.; PELUZIO, M.C.G. **Nutrição Básica e Metabolismo**. Editora UFV, 1^a ed., p. 263-359.
- COZZOLINO, S.M.F. (2005) Recomendação de nutrientes. *In*: Cozzolino, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1. ed. Barueri: Editora Manole, 13-37.
- COZZOLINO, S.M.F.; MICHELAZZO, F.B. (2005) Biodisponibilidade: Conceitos, definições e aplicabilidade. *In*: Cozzolino, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1. ed. Barueri: Editora Manole, 3-11.
- FILISETTI, T.M.C.; LOBO, A. R. (2005) Fibra alimentar e seu efeito na biodisponibilidade de minerais. *In*: Cozzolino, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1. ed. Barueri: Editora Manole, 174-212
- FISHBEIN, L. (2004). Multiple sources of dietary calcium: some aspects of its essentiality. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 39:69-80.
- FRAZÃO, P.; NAVEIRA, M. (2006) Prevalência de osteoporose: uma revisão crítica. **Rev Bras Epidemiol.**, 9(2): 206-14
- GRANNER, D.K. (1998) Hormônios que regulam o metabolismo do cálcio. *In*: Harper, H.A. **Bioquímica**. 8.ed., São Paulo: Editora Atheneu, , 539-546.
- GRÜDTNER, V.S.; WEINGRILL,P.; FERNANDES, A.L.(1997). Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Rev. Bras. Reumatol.** , 37(3):143-151.
- GUÉGUEN, L., POINTILLART, A., (2000). The bioavailability of dietary calcium. **J. Am. Coll. Nutr.** 19: 119S–136S.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. (2002) **Tratado de Fisiologia Médica**. Guanabara Koogan, 10^a ed.

HEANEY, R.P. There should be a dietary guidelines for calcium? **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71,p. 658-660, 2000

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. (2008) Indicadores do IBGE: Estatística da produção pecuária. Disponível em < ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/12_2008.zip >. Acesso em 30 de Novembro de 2007.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride**. Washington, D.C.: National Academy Press, 432 p.

JUNG,W-K.; MOON, S-H.; KIM, S-K. (2006). Effect of chitooligosaccharides on calcium bioavailability and bone strength in ovariectomized rats. **Life Sciences**, 78: 970-976.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. (1995) Tecido ósseo. *In*: Junqueira, L.C.; Carneiro, J. **Histologia Básica**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 167-181.

KAJISHIMA, S.; PUMAR, M.; GERMANI, R. (2003). Efeito de adição de diferentes sais de cálcio nas características da massa e na elaboração de pão francês. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.2,222-225.

KUNG, A.W.C., LUK, K.D.K., CHU, L.W., CHIU, P.K.Y.(1998).Age-related osteoporosis in Chinese: an evaluation of the response of intestinal calcium absorption and calcitropic hormones to dietary calcium deprivation. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, 68:1291-1297.

LANZILLOTTI, H.S.; LANZILLOTTI, R.S.; TROTTE, A.P.R.; DIAS, A.S.; BORNAND,B.; COSTA, E.A.M.M. (2003). Osteoporose em mulheres na pós-menopausa, cálcio dietético e outros fatores de risco. **Rev. Nutr.**, Campinas, 16(2):181-193.

LOBO, A. R.(2004) "**Efeito dos frutanos (frutooligosacarídeos) na biodisponibilidade de cálcio e magnésio em ratos**". Tese (Mestrado em Ciência Farmaceuticas) São Paulo – SP, Universidade de São Paulo – USP, 138 p.

- MAVROPOULOS, E. (1999). **A hidroxiapatita como absorvedor de metais**. [Mestrado] Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública;. 105 p.
- MECHICA, J.B. (1999) Raquitismo e Osteomalácia. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.** 43 (6): 457-466.
- MÉNDEZ, R.O.; WYATT, J. (2000) Contenido y absorción del calcio proveniente de la dieta del noroeste de México. Una retrospectiva bibliográfica. **Arch. Latin.Nutr.**, 50(4): 330-333.
- MORAIS,G.Q.; BURGOS,M.G.P.A (2007) Impacto dos nutrientes na saúde óssea: novas tendências. **Revista brasileira de ortopedia.** 42, (.7).
- MOROHASHI, T.; SANO, T.; OTHA, A.; YAMADA, S. (1998) Calcium absorption in the intestine is enhanced by fructooligosaccharide feeding in rats. **J.Nutr.**, 128:1815-1818
- PANSU, D.; BRONNER, F. (1999) Nutritional aspects of calcium absorption. **Journal of Nutrition.**129, p. 9-12,
- RANGANATHAN, R; NICKLAS, T.A. YANG, S-J.; BERENSON, G.S. (2005). The Nutritional Impact of Dairy Product Consumption on Dietary Intakes of Adults (1995-1996): The Bogalusa Heart Study. **Journal of the American Dietetic Association**, 105(9): 1391-1400.
- RASCHKA, L.; DANIEL,H. (2005) Diet composition and age determine the effects of inulin-type fructans on intestinal calcium absorption in rat. **European Journal of Nutrition.** 44, p. 360-364.
- RIBEIRO, M.A.; COZZOLINO, S.M.F. (2005) Metodologia para a estimativa da biodisponibilidade de nutrientes. In: Cozzolino, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1. ed. Barueri: Editora Manole, 39-61
- ROCHA, F.A.C.; JUNIOR, F.S.S. (2005) Osteoporose e Gravidez. **Rev Bras Reumatol**, 45(3): 141-5.
- ROSADO, G. P.; ROSADO, L.E.F.P.L. (2002). Minerais. In: Neto, F.T., **Nutrição clínica**. 1.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 50-64
- SANT'ANA, L.F.R. (1997). **Biodisponibilidade de Cálcio e Ferro em multimisturas utilizadas como alternativa alimentar**. Tese (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV, 127 p.

- SARIC', M. PIASEK,M.; BLANUSA, M.; KOSTIAL,K.; ILICH,J.Z. (2005) Sodium and calcium intakes and bone mass in rats revisited. **Nutrition**, 21(5).
- SILVA, A. G. H.; COZZOLINO, S. M. F. In: Cozzolino, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1. ed. Barueri: Editora Manole, 421-446, 2005
- SINGH, G.; ARORA,S.;SHARMA, G.S.; SINDHU, J.S.;KANSAL, V.K.; SANGWAN, R.B. (2007) Heat stability and calcium bioavailability of calcium-fortified milk. **LWT**, Haryana, 40:625-631.
- SITTIKULWITI, S.; SIRICHAKWAL, P.P.; PUWASTIEN, P.; CHAVASITI,V.; SUNGPUAG, P. (2004). In vitro bioavailability of calcium from chicken bone extract powder and its fortified products. **Journal of food composition and analysis**, 17: 321-329.
- STRAIN, J.J.; CASHMAN, K.D. (2005). *IN: GIBNEY, M.J.; VORSTER, H.H.; KOK, F.I., Introdução à nutrição humana*. 1.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 162-204.
- ULRICH, C.M., GEORGIO, C.C., SNOW-HARTER, C.M., GILLIS, D.E. (1996) Bone mineral density in mother--daughter pairs: Relations to lifetime exercise, lifetime milk consumption, and calcium supplements. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda,63: 72-79
- WASSERMAN, R.; FULLMER, C. (1995). Vitamin D and intestinal calcium transport: facts, speculations and hypotheses. **J.Nutr.**, 125:1971S-9S
- WEAVER, C.M. (1998) Calcium in food fortification strategies. **Int. Dairy Journal**, 8:443-449.
- Heaney, R.P.; Weaver, C.M. Newer. (2005). Perspectives on Calcium Nutrition and Bone Quality. **Journal of the American College of Nutrition**. Vol. 24, No. 90006.
- WHO, 1998. HUMAN VITAMIN AND MINERAL REQUIREMENTS. Draft Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Bangkok, Thailand, September. **World Health Organization**, Geneva. p. 151–179.
- WOOD, R.J. (2000) Searching for the determinants of intestinal calcium absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**. 72,675-676.
- WOSJE, K.S.; SPECKER, B.L. (2000) Role of calcium in bone health during childhood. **Nutr.Rev.**, 58 (9): 253-268.