



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO E DA FERMENTAÇÃO NA  
BIODISPONIBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES EM  
MULTIMISTURAS**

**VIVIAN FEDDERN**

**Profª. Drª. Leonor Almeida de Souza Soares**  
**ORIENTADORA**

**Profª. Drª. Eliana Badiale Furlong**  
**CO-ORIENTADORA**

**RIO GRANDE, FEVEREIRO DE 2007**

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO E DA FERMENTAÇÃO NA  
BIODISPONIBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES EM  
MULTIMISTURAS**

Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, da Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leonor Almeida de Souza Soares.

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana Badiale Furlong

**RIO GRANDE**  
**FEVEREIRO 2007**

**“Entrega o teu caminho ao Senhor,  
confia nele, e o mais ele fará”.**  
***Salmo 37.5***

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, que me deu vida, força de vontade e saúde para conquistar mais esta etapa e me permitiu conhecer tantas pessoas que foram importantes ao longo desta caminhada.

A FURG, por ter me oferecido mais este curso, para aprimoramento da minha qualificação profissional.

A minha família, pelo amor, carinho, apoio, incentivo, dedicação e compreensão durante estes anos que muitas vezes fiquei longe de vocês.

Ao André Marins e sua família pelo amor, carinho, incentivo, dedicação, apoio nestes anos de estudo e trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leonor Almeida de Souza Soares, pela orientação, amizade, companheirismo, carinho, paciência, dedicação e colaboração para meu crescimento pessoal e profissional.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana Badiale Furlong pelo incentivo, dicas e cedência do laboratório, reagentes, para que fosse possível a realização do projeto de mestrado.

À Katiane Nogueira e Stephanie Pinto que, sempre que puderam, me ajudaram nas análises laboratoriais.

Aos responsáveis e técnicos dos laboratórios de Bioquímica e de Engenharia Bioquímica que permitiram o uso de seus equipamentos.

À Giniani, Jaqueline, Melissa, Adélia, Maria do Carmo, Charlene, Cristina e Jesus que me deram muitas dicas, força e contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

À Tia Guerda, que gentilmente me hospedou em Pelotas, durante a realização do experimento biológico na UFPEL.

A todos alunos da disciplina de Avaliação Biológica de 2006 - FURG, que ajudaram na confecção das dietas e nos procedimentos necessários na eutanásia dos animais: Prof<sup>a</sup>

Dr<sup>a</sup> Rosane Rodrigues (Prof<sup>a</sup> colaboradora da disciplina), Doutoranda Mirian Ribeiro Galvão Machado, Química de Alimentos Andréa Teixeira, Paula Vergara da Silva, Cristina Moreira da Silveira, Vânia Machado Recart, Ana Priscila Centeno da Rosa, Leandra Zafalon Jaekel, Paula Lobo Marco.

Aos acadêmicos de Veterinária (Lucas De Carli Meneghello, Vagner Lucheze e Tanaia Mabília da Silva) e Química de Alimentos (Matheus Vaz), que ajudaram durante todo experimento biológico e na confecção das dietas, respectivamente. Ao Rafael Aldrighi Tavares, ao Mestre em Clínica Veterinária Vinícius Coitinho Tabeleão e Patrícia, pela ajuda na eutanásia dos animais.

Ao pessoal do Biotério Central e do Laboratório de Processamento de Alimentos da UFPEL, por ter permitido a realização do experimento biológico.

À banca, pelas sugestões.

À CAPES, pela bolsa de mestrado.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xi</b>
<b>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>2</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>4</b>
2.1    Objetivo Geral .....	4
2.2    Objetivos Específicos.....	4
<b>CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>5</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>6</b>
3.1    Multimistura.....	6
3.1.1    Formulações de Multimisturas Comerciais .....	6
3.1.2    Constituintes da Multimistura .....	7
3.1.2.1    Farelos .....	7
3.1.2.2    Farinhas .....	8
3.1.2.3    Sementes .....	9
3.1.2.4    Matérias-primas moídas.....	9
3.1.3    Estudos Realizados .....	10
3.1.3.1    Multimisturas administradas para crianças .....	10
3.1.3.2    Multimisturas administradas em ratos.....	12
3.1.4    Fermentação .....	15
3.1.4.1    Fermentação em estado sólido.....	17
3.1.4.2    Microrganismo.....	19
3.1.5    Fatores antinutricionais .....	23
3.2    Proteínas.....	25
3.2.1.1    Avaliação da Qualidade das Proteínas .....	25
3.2.1.1.1    Métodos Biológicos.....	26
3.2.1.1.1.1    Balanço de Nitrogênio (BN).....	26
3.2.1.1.1.2    Digestibilidade <i>in vivo</i> .....	27
3.2.1.1.1.3    Utilização Líquida de Proteína (NPU).....	27
3.2.1.1.1.4    Valor Biológico.....	28
3.2.1.1.1.5    Quociente de Eficiência Protéica (PER) .....	29
3.2.1.1.1.6    Quociente de Eficiência Líquida de Proteína (NPR).....	30
3.2.1.1.1.7    Coeficiente de Eficiência Alimentar (FER).....	30
3.2.1.1.2    Importância da utilização de animais de experimentação .....	30
3.3    Cálcio .....	31
3.3.1    Biodisponibilidade do cálcio .....	32
3.3.2    Fatores que afetam a absorção de cálcio .....	32
3.3.3    Cálcio no sangue .....	34
3.3.4    Excreção do cálcio .....	34
<b>CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO.....</b>	<b>35</b>
<b>CAPÍTULO III.1 – EFEITOS DA FERMENTAÇÃO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E NUTRICIONAIS DO FARELO DE ARROZ .....</b>	<b>37</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>38</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>39</b>

<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
2.1	Amostra.....	40
2.2	Fermentação com <i>S. cerevisiae</i> .....	40
2.3	Composição físico-química.....	41
2.4	Digestibilidade in vitro.....	41
2.5	Metionina disponível.....	42
2.6	Cálcio.....	42
2.7	Açúcares redutores.....	42
2.8	Caracterização Micotoxicológica.....	43
2.9	Análise estatística.....	43
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>46</b>
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>47</b>
<b>6</b>	<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>50</b>
<b>CAPÍTULO III.2 – INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO E DA FERMENTAÇÃO NAS</b>		
<b>PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E NUTRICIONAIS DE MULTIMISTURAS.....</b>		
	<b>RESUMO.....</b>	<b>51</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>53</b>
2.1	MATERIAL.....	53
2.1.1	Matérias - Primas.....	53
2.2	METODOLOGIA.....	54
2.2.1	Multimisturas.....	54
2.2.1.1	Composição físico-química.....	55
2.2.1.2	Valor nutricional.....	55
2.2.2	Análise estatística.....	55
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>56</b>
3.1	Composição físico-química das multimisturas.....	56
3.2	Digestibilidade protéica e Metionina disponível das multimisturas.....	58
3.3	Açúcares redutores das multimisturas fermentadas.....	59
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>60</b>
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>61</b>
<b>CAPÍTULO III.3 – RESPOSTA BIOLÓGICA A DIFERENTES DIETAS CONTENDO</b>		
<b>MULTIMISTURAS FERMENTADAS E NÃO FERMENTADAS E FARELOS DE TRIGO OU</b>		
<b>ARROZ.....</b>		
	<b>RESUMO.....</b>	<b>63</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>65</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>66</b>
2.1	MATERIAL.....	66
2.1.1	Matérias - Primas.....	66
2.1.2	Ingredientes para Ensaio Biológico.....	66
2.1.3	Animais.....	66
2.2	METODOLOGIA.....	66
2.2.1	Multimisturas.....	66

2.2.2	Dietas .....	67
2.2.3	Determinação da composição proximal .....	69
2.2.4	Experimento Biológico .....	69
2.2.4.1	<i>Coeficiente de Eficiência Alimentar</i> .....	70
2.2.4.2	<i>Razão de Eficiência Líquida Protéica (NPR)</i> .....	70
2.2.4.3	<i>Razão de Eficiência Protéica (PER)</i> .....	70
2.2.4.4	<i>Digestibilidade in vivo</i> .....	71
2.2.4.5	<i>Testes bioquímicos</i> .....	71
2.2.5	Análise estatística .....	71
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>72</b>
3.1	Composição proximal das dietas .....	72
3.2	Ensaio biológico .....	74
3.2.1	Composição proximal das excretas .....	74
3.2.2	Indicativos biológicos .....	76
3.2.3	Recuperação dos animais desnutridos .....	84
3.2.4	Testes bioquímicos .....	88
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>89</b>
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>90</b>
	<b>APÊNDICE I – Misturas minerais e vitamínicas .....</b>	<b>94</b>
	<b>APÊNDICE II – Misturas e peletização das dietas caseína e aprotéica .....</b>	<b>95</b>
	<b>APÊNDICE III – Tukey para pesos dos animais alimentados de oito dietas de multimistura e caseína.....</b>	<b>96</b>
	<b>APÊNDICE IV– Tukey para pesos dos animais recuperados mediante 4 diferentes dietas. ....</b>	<b>99</b>
	<b>CAPÍTULO IV – CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>101</b>
	<b>CAPÍTULO V – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAL.....</b>	<b>103</b>



**LISTA DE TABELAS****ARTIGO I**

Tabela 1: Rendimento do farelo de arroz. ....	43
Tabela 2: Valores de cálcio, metionina, acidez e pH dos farelos. ....	46

**ARTIGO II**

Tabela 1: Formulações das multimisturas estudadas. ....	55
Tabela 2: Composição físico-química das multimisturas elaboradas. ....	56
Tabela 3: Digestibilidade protéica <i>in vitro</i> e metionina disponível ....	58

**ARTIGO III**

Tabela 1: Formulações das multimisturas estudadas. ....	67
Tabela 2: Composição das dietas de multimistura, aprotéica e caseína (g). ....	68
Tabela 3: Composição proximal das dietas de multimistura, caseína e aprotéica (%). ....	72
Tabela 4: Composição proximal das excretas das ratas que ingeriram dietas de multimisturas, caseína e aprotéica (%). ....	75
Tabela 5: Consumo diário médio de dieta (g) por rato ao longo do experimento. ....	78
Tabela 6: Coeficiente de eficiência alimentar de ratos submetidos à dieta caseína e dietas de multimistura. ....	79
Tabela 7: Razão de eficiência líquida protéica e Razão de eficiência protéica de dietas de multimistura e caseína. ....	80
Tabela 8: Digestibilidade protéica aparente e verdadeira <i>in vivo</i> ....	83
Tabela 9: Avaliações biométricas, pesos de órgãos, ganhos de peso e parâmetros biológicos de ratas renutridas. ....	86
Tabela 10: Glicemia e cálcio plasmático de ratas submetidas a diferentes dietas. ....	88

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de aproveitamento do nitrogênio (HERNÁNDEZ et al., 1996). ..... 26

### ARTIGO I

Figura 1: Composição proximal e digestibilidade dos farelos..... 44

Figura 2: Açúcares redutores em função do tempo de fermentação..... 45

### ARTIGO II

Figura 1: Preparo das matérias-primas que misturadas constituíram as multimisturas. .... 54

Figura 2: Açúcares redutores ao longo de 6h de fermentação..... 60

### ARTIGO III

Figura 1: Distribuição das ratas ..... 69

Figura 2: Variação de peso das ratas ao longo dos 28 dias de experimento..... 76

Figura 3: Pesos médios dos órgãos das ratas ..... 82

Figura 4: Relações órgãos/peso corporal das ratas. .... 82

Figura 5: Comprimento e distância entre braços das ratas alimentadas de diferentes dietas.  
..... 84

Figura 6: Recuperação das ratas desnutridas mediante diferentes dietas..... 85

## RESUMO

As misturas à base de farelo de cereais, popularmente denominadas de multimisturas, vêm se destacando no combate a desnutrição infantil em comunidades de baixa renda, por serem um suplemento de baixo custo e por aportarem nutrientes como minerais, vitaminas e proteínas. Este trabalho objetivou avaliar a biodisponibilização de nutrientes em multimisturas através da alteração da composição e de um processo fermentativo. Para tal, foi realizada a caracterização físico-química e nutricional dos farelos de arroz fermentado e não fermentado e foram também elaboradas, caracterizadas físico-química e nutricionalmente e avaliadas biologicamente oito multimisturas que diferiram quanto ao tipo de farelo (trigo ou arroz); presença ou ausência de pó de folha de mandioca; submetidos ou não a processo fermentativo em estado sólido com *Saccharomyces cerevisiae* durante 6h a 30°C. As multimisturas foram peletizadas constituindo as dietas que foram administradas em ratas da cepa *Wistar/UFPEL*, avaliadas pelo coeficiente de eficiência alimentar, razão de eficiência protéica, razão de eficiência líquida protéica e digestibilidades *in vivo* aparente e verdadeira. Foram realizados ainda testes bioquímicos como determinação de glicose sanguínea e cálcio plasmático nas ratas. Os resultados permitiram concluir que a fermentação do farelo de arroz ocasionou uma diminuição nos valores de pH, metionina disponível e carboidratos, proporcionando um aumento da acidez, dos açúcares redutores, cinzas e fibras. Os teores de cálcio, proteína e lipídios não foram alterados. As multimisturas com farelo de arroz apresentaram médias dos teores de lipídios (18,1%), cinzas (14,1%), fibras (7,8%), acidez (3,1%), digestibilidade *in vitro* (80,8%) mais elevadas do que as multimisturas com farelo de trigo, as quais, por sua vez, apresentaram teores de proteínas (14,5%), carboidratos (68,9%) e pH (7,8) maiores que as com farelo de arroz. A fermentação, em algumas multimisturas, ocasionou aumento nos conteúdos de proteínas, minerais, fibras e acidez, porém uma diminuição dos carboidratos, metionina disponível e pH. Com relação aos efeitos biológicos, a fermentação ocasionou aumento no coeficiente de eficácia alimentar na maioria das multimisturas, não influenciando o quociente de eficiência protéica, o quociente de eficiência líquida protéica, a digestibilidade *in vivo* ou *in vitro*, a glicemia e o cálcio plasmático. A presença da folha de mandioca não influenciou na composição físico-química das multimisturas, mas tendeu a apresentar melhores coeficientes de eficácia alimentar que as demais multimisturas. As multimisturas contendo farelo de trigo apresentaram valores de digestibilidade *in vivo* superiores às multimisturas com farelo de arroz.

**Palavras-chave:** Avaliação Biológica; Biodisponibilidade; Digestibilidade *in vivo*; Multimistura; Ratos.

## ABSTRACT

The mixtures based on cereal brans, popularly denominated “multimisturas”, are standing out to combat infantile malnutrition in communities of low income, by being a low cost supplement and for containing nutrients, such as minerals, vitamins and proteins. In virtue of existence controversies on the real nutritional value of the “multimisturas”, this work aimed at evaluating the bioavailability of nutrients in “multimisturas” by altering the formulation and a fermentative process. Therefore, it was made the physical-chemical and nutritional characterization of fermented and not fermented rice bran, and it was also elaborated, characterized physical-chemical and nutritionally and biologically evaluated eight “multimisturas”, which differed from each other by the source of bran (rice or wheat bran), presence or not of cassava leaf powder and being or not submitted to a solid-state fermentation process with *Saccharomyces cerevisiae* during 6h at 30°C. The “multimisturas” were manually made in pellets, constituting the diets, which were administered in female *Wistar/UFPEL* rats. The diets were evaluated by Food Efficiency Ratio (FER), Net Protein Ratio (NPR), Protein Efficiency Ratio (PER) and apparent and true *in vivo* digestibility. Biochemical tests as the blood glucose determination and plasmatic calcium in female *Wistar/UFPEL* rats were also realized. The results allowed concluding that the fermentation of the rice bran caused a decrease on pH, available methionine and carbohydrates, providing an increase of the acidity, reducing sugars, ashes and fibers. Calcium, protein and lipids contents were not altered. The “multimisturas” with rice bran presented averages of lipids (18,1%), ashes (14,1%), fibers (7,8%), acidity (3,1%), *in vitro* availability (80,8%) higher than the “multimisturas” with wheat bran, which presented proteins (14,5%), carbohydrates (68,9%) and pH (7,8) values higher than the “multimisturas” with rice bran. In some “multimisturas”, the fermentation caused an increase in proteins, fibers, acidity, but a decrease in carbohydrates, available methionine and pH. With relationship to the biological effects, the fermentation caused a FER increase in most of the “multimisturas”, not influencing PER, NPR, *in vivo* or *in vitro* digestibility, glycemia and plasmatic calcium. The presence of cassava leaf, didn't influence the physical-chemical composition of multimisturas, but it tended to present better FER that the other ones. The “multimisturas” containing wheat bran presented higher values of *in vivo* digestibility than those with rice bran.

**Key-words:** Biological evaluation; Bioavailability; *In vivo* digestibility; “Multimistura”; Rats.

# **CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

Um dos problemas sociais com maior incidência no Brasil é a desnutrição. Visando combatê-la, surgiu o Programa de Alimentação Alternativa, difundido e incentivado por algumas entidades governamentais e não governamentais, dentre elas, a Pastoral da Criança, pertencente à Confederação Nacional dos Bispos do Brasil (CNBB) e a Fundação Nacional da Saúde. Dentro do Programa de Alimentação Alternativa, destaca-se a Multimistura, que se originou na região de Santarém, no Pará, sendo composta basicamente de subprodutos, como farelos de cereais, folhas, sementes e pó de casca de ovo.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamentou e definiu a multimistura como sendo o “produto obtido pela secagem, torragem, moagem e mistura de ingredientes de origem vegetal, podendo ser adicionada de leite em pó” (BRASIL, 2000).

Segundo a Conferência Nacional dos Bispos do Brasil (CNBB), a mortalidade e a desnutrição infantil foram reduzidas a menos da metade da média nacional entre as crianças por ela acompanhadas. O uso da multimistura em doses mínimas, mas constantemente acrescidas à alimentação, fornece nutrientes considerados indispensáveis para promover um ótimo crescimento da criança e do feto, aumentando a resistência a infecções, prevenindo e curando anemia nutricional, diminuindo diarreias, reduzindo doenças respiratórias, elevando a produção de leite materno e mantendo a saúde (BRANDÃO e BRANDÃO, 1988).

Para a interpretação do valor nutritivo, não deve ser levado em conta somente a composição química dos nutrientes. Sua interação e a presença de antinutrientes interferem na biodisponibilidade e são motivos de significativas polêmicas, por exemplo, o zinco, ferro, cobre e cálcio, em determinadas concentrações relativas, interferem mutuamente nas suas taxas de biodisponibilidade. Pouco também se conhece quanto à magnitude da ação de fitatos, oxalatos e fibra dietética presentes na multimistura, em reduzir a biodisponibilidade dos nutrientes.

Por outro lado, a maioria dos trabalhos científicos desenvolvidos com a finalidade de avaliar a eficácia da multimistura, tem demonstrado fragilidade dos argumentos utilizados em favor dos supostos benefícios desta à saúde humana. Diversos ensaios biológicos conduzidos em ratos têm indicado a ineficiência do uso da multimistura no combate à desnutrição. Estes estudos, aliados a outros dados de literatura, chamam a atenção para a presença de fatores antinutricionais ou tóxicos, para os aspectos de conservação e contaminação microbiológica, semelhança de valor nutricional entre alguns dos constituintes utilizados e baixa biodisponibilidade dos nutrientes. Portanto, há necessidade de mais

estudos sobre a qualidade nutricional da multimistura, pois ainda existe muita controvérsia em relação a sua real eficácia no combate à desnutrição.

Baseado em resultados de trabalhos anteriores realizados no Laboratório de Bioquímica de Alimentos da FURG, onde foram estudadas condições de fermentação de multimisturas empregando farelo de trigo e folha de mandioca, constatando-se que a fermentação trouxe parâmetros positivos para o valor nutricional das multimisturas, este trabalho pretendeu estudar a influência do farelo de arroz da região sul do Rio Grande do Sul em multimisturas fermentadas ou não com levedura de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*), com a presença ou não de folha de mandioca e ainda comparar este farelo com o farelo de trigo nos termos físico-químicos e biológicos, utilizando ratos da cepa *Wistar/UFPEL* como modelo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 *Objetivo Geral*

- Avaliar a biodisponibilização de nutrientes em multimisturas através da alteração da composição e da fermentação em estado sólido utilizando como inóculo levedura de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*).

### 2.2 *Objetivos Específicos*

- Avaliar as propriedades físico-químicas e nutricionais de um farelo de arroz regional;
- Elaborar e avaliar físico-quimicamente e nutricionalmente multimisturas contendo farelos de trigo ou arroz, com e sem folha de mandioca, submetidos ou não a um processo fermentativo;
- Avaliar a biodisponibilidade intrínseca de proteínas e de cálcio de multimisturas fermentadas e não fermentadas, através de indicadores biológicos e testes bioquímicos em ratos da cepa *Wistar/UFPEL*;
- Avaliar a recuperação de animais desnutridos com dietas de multimisturas fermentadas.



## **CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 *Multimistura*

No Brasil, a alimentação alternativa se constitui numa proposta de um conjunto de práticas alimentares que compreende principalmente a valorização de determinados alimentos já amplamente consumidos e o uso de alimentos não convencionais. A partir de 1986, a prática da alimentação alternativa foi incorporada à rotina de trabalho de algumas entidades governamentais e não governamentais, tais como a Pastoral da Criança (CNBB) e a Fundação Nacional de Saúde, resultando numa diminuição do quadro de desnutrição nacional (UNICEF, 1994, citado por SANTOS et al., 2004).

A Pastoral da Criança é um movimento presente em todo o Brasil que apresenta destaque em nível mundial pelo trabalho que desenvolve e que tem contribuído para redução da mortalidade infantil, realizando até mesmo um acompanhamento através de palestras e apoio a profissionais.

Desde 1985, a Pastoral da Criança trabalha com um conceito amplo de alimentação, a Alimentação Enriquecida, que preconiza o resgate das práticas tradicionais de alimentação, valoriza os produtos cultivados regionalmente, respeitando seus costumes alimentares, busca uma alimentação mais completa, mais natural e saudável, e orienta o consumo de alimentos não convencionais, ricos em nutrientes como, por exemplo, a adição de farinhas de cereais, como farelos de trigo e arroz, pós de folhas verde-escuras, de sementes e de casca de ovo. Tal recomendação está baseada na aplicação do conceito de que nem sempre se aproveita o alimento integralmente, onde folhas, cascas e sementes, que geralmente são descartadas, teriam valor nutritivo (BITTENCOURT, 1998).

##### 3.1.1 **Formulações de Multimisturas Comerciais**

Existem multimisturas disponíveis comercialmente, como é o caso da Multimistura New Life, que apresenta em sua composição folhas desidratadas de alfafa, abóbora e batata doce, farelos de arroz, aveia e trigo, sementes de abóbora, gergelim, girassol, linhaça e sal marinho. Esta multimistura pode ainda ser encontrada com adição de cogumelos *Agaricus*, uma vez que estes estão relacionados com o sistema imunológico e possuem mais que o dobro das vitaminas, aminoácidos e sais minerais que a média dos cogumelos comestíveis, ou ainda de linhaça, tendo em vista que a linhaça é rica em proteínas, fibras, vitaminas e minerais além de ser fonte de ômega 3, mas estas multimisturas com adições devem ser consumidas apenas por adultos (MULTIMISTURA – NEW LIFE).

### 3.1.2 Constituintes da Multimistura

A composição da multimistura varia de acordo com os produtos disponíveis nas diferentes regiões do Brasil, mas é basicamente composta de farelos de cereais, folha de mandioca, sementes e pó de casca de ovo.

Segundo BRASIL (2000), a multimistura deve conter no mínimo 70% de farelos torrados (podendo ser de trigo, arroz, milho e/ou aveia) e pó de folha de mandioca, batata doce, abóbora e/ou chuchu. Como ingredientes opcionais, podem ser utilizados pó de sementes torradas de abóbora, girassol, melão e/ou gergelim; nozes, castanhas; farinha e amidos torrados de cereais, raízes e/ou tubérculos; leite em pó; gérmen de trigo e outros ingredientes que não descaracterizem o produto. A utilização de outros farelos e/ou de outras folhas de vegetais ou pó de outras sementes, cascas de vegetais, cascas de ovos de aves e novos ingredientes poderão ser autorizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, desde que sejam apresentados estudos conclusivos de avaliação de riscos e segurança de acordo com regulamento técnico específico.

Vizeu et al. (2005) avaliaram a composição mineral (cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, fósforo e zinco) de 5 multimisturas de diferentes composições: a primeira constituía-se de farelo de trigo (84%), folha de mandioca (8%) e casca de ovo (8%), a segunda possuía farelo de trigo (40%), fubá de milho (40%) e folha de mandioca (20%), a terceira apresentava farelo de trigo (42%), fubá de milho (42%), folha de mandioca (8%), semente de abóbora (8%), a quarta continha 24% de farelo de trigo, 24% de farinha de trigo, 24% de fubá de milho, 5% de aveia em flocos, 5% de folha de mandioca, 3% de casca de ovo, 5% de semente de abóbora e 10% de leite em pó integral. A quinta era medida em copos, sendo que eram colocados 4 copos de farinha de trigo, 4 de fubá de milho, 3 de folha de mandioca, 1 de semente de melancia e 5 colheres de semente de gergelim. Somente a primeira e a segunda multimistura continham valores de manganês superior a IDR recomendada (25%) para crianças menores de 5 anos, ou seja, todas multimisturas não atingiram a IDR recomendada para esta faixa etária quanto aos minerais estudados na proporção de 5g/dia ou 2 colheres chá/dia. Segundo Senger (2002), o manganês é essencial para o desenvolvimento da matriz orgânica dos ossos.

#### 3.1.2.1 Farelos

Os farelos empregados na multimistura devem ser tostados para disponibilizar os nutrientes, evitando também que estes rancifiquem, e devem ser de boa procedência para evitar uma possível contaminação devido à falta de higiene (BITTENCOURT, 1998). São ricos em fibras, ferro, magnésio, manganês, zinco, enxofre, fósforo e vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, niacina (HOSENEY, 1991; BRANDÃO e BRANDÃO, 1988).

O farelo de arroz é obtido a partir do grão após o seu descascamento. Nele estão presentes fibras, aminoácidos e sais minerais como ferro, fósforo e magnésio, capazes de reduzir o excesso de colesterol do sangue e os cálculos renais. O farelo de arroz contém de 11 a 13% de proteína bruta e 10 a 15% de gordura, com aproximadamente 11,5% de fibras. A gordura é altamente insaturada e facilmente oxidável. Por este motivo não deve ser armazenado, e sim utilizado fresco. Quando armazenado deve-se utilizar um antioxidante. Se o produto oxidar, pode ocorrer destruição das vitaminas A e E, metionina, biotina e de outros nutrientes, bem como a presença de aldeídos indesejáveis (HOSENEY, 1991). O farelo de arroz possui ainda componentes antioxidantes, entre eles, o orizanol, que já demonstrou capacidade hipocolesterolêmica quando administrado em ratos (SEETHARAMAIAH e CHANDRASEKHARA, 1993, citados por LEMOS e SOUZA-SOARES, 2000).

O farelo de trigo é retirado do grão no processo de refinamento industrial. É rico em fibras, vitaminas do complexo B e outros nutrientes vitais para a manutenção e recuperação da saúde. Apresenta em média 16% de proteína bruta, 4,5% de gorduras e geralmente em torno de 10% de fibra bruta. A sua proteína é de melhor qualidade que a do milho e a do grão total do trigo. É um alimento rico em fósforo comparativamente à classe a que pertence, porém é pobre em cálcio. É rico em niacina, mediantemente rico em tiamina e pobre em riboflavina (CÂMARA e MADRUGA, 2001). O farelo do trigo, que se obtém em separado do germe, possui óleos menos rancificantes e teores 80% mais baixos de fitato do que o farelo de arroz (em torno de 6%), razão pela qual o primeiro é um resíduo mais nobre que seu congêneres do arroz. Assim, é evidente que não houve, ao longo dos tempos, negligência por parte dos governos, nem falta de esclarecimento dos nutricionistas, engenheiros de alimentos ou industriais, que resultasse no desprezo acidental do farelo do arroz. O paradoxo de o valor nutritivo do farelo de arroz ser diminuto, apesar do seu elevado conteúdo de nutrientes, induz algumas pessoas ao erro, assinalando-lhe valor biológico apenas pelo que as análises químicas revelam (FARFAN, 1998).

### **3.1.2.2 Farinhas**

A farinha de arroz é produzida a partir de matérias-primas selecionadas eletronicamente, oriundas do beneficiamento diário de arroz, apresentando amido, os sete aminoácidos do arroz e todas as suas substâncias nutritivas (HOSENEY, 1991).

Um dos aspectos bastante observados quanto à dieta alimentar e sua relação com qualidade de vida é a presença de fibras nos alimentos. A fração fibra desempenha, no organismo, várias funções importantes, entre as quais se podem destacar o estímulo à mastigação dos alimentos, o aumento da sensação de saciedade e o aumento do peso e volume do bolo fecal, com conseqüente estímulo do peristaltismo intestinal. Dutra et al.

(2002) afirmam que existe predominância da fração insolúvel da fibra na farinha de milho. Além disso, alegam que este produto apresenta teores semelhantes tanto de fibra total quanto das frações solúvel e insolúvel, o que indica a presença de proporções semelhantes das diferentes estruturas do grão na farinha.

A farinha de mandioca é obtida de raízes provenientes de plantas da família *Euphorbiacea* e gênero *Manihot*, submetidas ao processo tecnológico adequado de fabricação e beneficiamento, sendo relativamente fácil de ser produzida até mesmo pelos pequenos produtores. Constitui a forma mais ampla de aproveitamento da mandioca para uso na alimentação humana. A farinha de mandioca possui baixos teores de lipídios e proteínas, quando comparada com a soja e o trigo, e elevado teor de carboidratos, particularmente o amido, contendo aproximadamente 1,1% de proteína, 0,28% de lipídios, 74,4% de amido e 1,1% de cinzas (SANT'ANNA et al., 2002).

### **3.1.2.3 Sementes**

As sementes auxiliam no combate da ameba, giárdia e outras verminoses e são ricas em gordura, proteína, vitaminas e minerais, onde além da energia e da formação dos músculos, são importantes para regular o funcionamento do corpo. A semente de girassol contém fosfato, magnésio, proteínas, selênio e lecitina e contribui no fortalecimento dos pulmões, dos nervos e protege contra doenças cardíacas (BRANDÃO e BRANDÃO, 1988).

### **3.1.2.4 Matérias-primas moídas**

A folha de mandioca é uma das maiores fontes de vitamina A e sais minerais, o que a torna um poderoso complemento nutricional. Devido à presença do ácido cianídrico, a folha da mandioca deve ser desidratada para consumo. A folha de mandioca entra na multimistura de forma moída, devido à maior disponibilização de vitamina A, ferro e proteína (AZEREDO et al., 1998).

A casca de ovo moída é empregada como fonte de cálcio, nutriente importante para o crescimento e para a recuperação da saúde. Esta casca é composta por cristais de carbonato de cálcio (96% do peso da casca), carbonato de magnésio (1%) e fosfato de cálcio (1%). O cálcio é fundamental para o bom funcionamento do organismo, responsável por diversas funções fisiológicas, representando globalmente 37,3% (2,3g em uma casca de 6g) e o carbonato 58%. Quando ingerida grande quantidade de cálcio, ele acaba prejudicando a absorção do ferro. Por isso, uma pequena quantidade de pó de casca de ovo já é suficiente para enriquecer a alimentação diária. No entanto, a casca de ovo pode conter um microrganismo que causa um tipo grave de diarreia, conhecido como *Salmonella* e por este motivo os ovos devem ser lavados antes de serem quebrados (ANDRADE e CARDONHA, 1998).

### 3.1.3 Estudos Realizados

#### 3.1.3.1 Multimisturas administradas para crianças

Foi elaborada multimistura na Universidade de Brasília, por Siqueira et al. (2003), submetida a posterior análise microbiológica, constituída dos seguintes ingredientes (g/kg): 800 de farelo de trigo torrado, de acordo com a Resolução do Ministério da Saúde, 100 de pó de folha de mandioca e 100 de pó de casca de ovo. A multimistura foi administrada em 31 escolares para investigar sua efetividade em melhorar a saúde das crianças. Todas crianças foram acompanhadas através de medidas antropométricas (peso/idade, peso/altura, altura/idade) e hematológicas antes e após o consumo de dieta suplementada com multimistura. Os resultados foram comparados com crianças (26) que consumiram dieta regular, sem o acréscimo da multimistura, formando o grupo controle. Foram oferecidas 6 refeições. Durante 7 meses, as refeições das crianças foram suplementadas com 10g/criança/dia de multimistura. As crianças tinham entre 3-11 anos de idade, sendo que o trabalho foi realizado com a permissão dos pais das crianças e com o acompanhamento da Pastoral da Criança. No final do estudo, foi observado que houve um efeito benéfico no estado nutricional das crianças, pois a intervenção da Organização-não-governamental (durante 12 meses de acompanhamento) melhorou os parâmetros sanguíneos e reduziu a anemia, independente da suplementação com multimistura. A média altura/idade foi significativamente maior somente no grupo que recebeu a multimistura, portanto a suplementação das dietas deficientes com multimistura contribuiu significativamente para a estatura das crianças. As refeições suplementadas com 10g de multimistura/criança/dia aumentaram substancialmente a média diária de consumo de cálcio (45%), zinco (22%) e fósforo (22%), mas apesar da multimistura aumentar o conteúdo mineral, ela também proporcionou um aumento do ácido fítico. Os valores das proporções molares ácido fítico (PA):Fe aumentaram em todas refeições, mesmo assim, somente uma refeição ultrapassou o valor molar crítico de risco de redução na biodisponibilidade. Três refeições tiveram proporções molares maiores que o valor crítico reportado para PA:Zn, independentemente da suplementação com multimistura. Os valores PA:Ca não foram alterados na dieta suplementada com multimistura. A capacidade quelante da molécula de ácido fítico pode ter reduzido a biodisponibilidade de minerais da dieta e, o grau deste efeito negativo depende da proporção molar de fitato/elemento mineral. A quantidade de ácido cianídrico, em base seca, encontrado na multimistura contendo 100g de pó de folha de mandioca foi  $4,8 \pm 0,8$ mg/kg.

Veleda (2004) avaliou os efeitos da suplementação dietética com uma multimistura sobre o estado nutricional das crianças na faixa etária de 6 meses a 7 anos de idade, residentes na comunidade Santa Tereza, no município de Rio Grande, RS. A periodicidade

das crianças foi calculada levando-se em consideração a data da primeira e da última pesagem e/ou não estar em casa no momento das visitas domiciliares, que eram realizadas pela autora, pela Pastoral da Criança e por Agentes Comunitários de Saúde. De um total de 75 crianças, 61% foram amamentadas por mais de 6 meses, 28% menos de 6 meses e 11% não foram amamentadas, indicando que a maioria foi amamentada, configurando-se como um fator de proteção à saúde da criança; 57,2% das crianças foram acompanhadas por 6 meses ou mais, mas 12% compareceram a uma única pesagem. Foram fabricados 97kg de suplemento alimentar, sendo que cada criança recebeu 200g na hora da pesagem e/ou visita domiciliar, tendo sido distribuídas 485 porções. Do total de 75 crianças acompanhadas, 70,7% utilizou a multimistura como complemento alimentar em algum momento do acompanhamento. Das 53 crianças que utilizaram a multimistura, 66% tiveram boa aceitação, conforme relato das mães ou responsáveis. Houve 7% das crianças que pararam em algum momento da utilização, seja por má aceitação ou desaprovação da mãe. Quanto ao uso da multimistura na dieta das crianças, não foram relatadas reações adversas pelos responsáveis das crianças que a utilizaram. No estudo foram identificados os alimentos de melhor aceitação pela criança para adição da multimistura. Vários alimentos foram citados pelos responsáveis como sendo mais fáceis para introdução do complemento alimentar, sendo eles: a combinação de arroz e feijão, somente no feijão, na massa, no mingau, no leite, no café, comidas de sal em geral, em vitaminas de frutas e até mesmo puro. Com relação aos alimentos em que as crianças não tiveram boa aceitação da multimistura e/ou se recusavam a comer, estavam o leite, que era o mais frequentemente recusado, a massa e o arroz. Entre as crianças que receberam multimistura, 69,8% tiveram aumento de peso, os 17% restantes se constituiu das crianças que utilizaram o complemento por um período muito curto ou que compareceram a apenas uma pesagem. Das crianças que não utilizaram a multimistura, 77,7% aumentaram de peso durante o período acompanhado (12 meses), enquanto que dentre as crianças que utilizaram a multimistura, 69,8% aumentaram de peso. Houve melhora do índice peso/idade na maioria das crianças que utilizaram multimistura, destacando-se aquelas entre 49-60 meses e as maiores de 72 meses de idade. Este estudo apontou também aspectos importantes que devem ser levados em consideração ao realizar um programa de suplemento alimentar, tais como participação e acompanhamento de profissionais da saúde, utilização de líderes comunitários nos programas e desenvolvimento de ações de educação para a saúde.

Segundo a nutricionista Herta Wiener, a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) avalia uma fórmula aperfeiçoada ao longo de 15 anos de experiência aplicada junto às crianças desnutridas expandindo-se à população adulta e a de terceira idade com resultados positivos, devidamente registrados e conferidos pelas pesquisas de laboratório. Os resultados registrados após utilização da Multimistura foram as seguintes: diarreia

crônica inespecífica desaparece em 24 a 72 horas de utilização; observa-se a regulação do nível de glicemia com alguns dias de uso; mesmo nos casos resistentes a laxativos tradicionais (produtos farmacêuticos), casos de obstipação são resolvidos num prazo de 24 a 48 horas com uso contínuo; tem efeito terapêutico contra anemia ferropriva. Além disso, aumenta significativamente a produção do leite em nutrízes; acelera o desenvolvimento neuropsicomotor do desnutrido; diminui dores articulares, necessidade de ingestão de grandes quantidades de açúcar e carne e volume de alimentos ingeridos (WIENER, 2005).

### **3.1.3.2 Multimisturas administradas em ratos**

A UNICAMP utiliza o farelo de arroz na recuperação de carências nutricionais em ensaios feitos com animais experimentais, simulando as condições de processamento recomendadas pela Pastoral da Criança quanto à mistura, formulação e torrefação. Verificou-se que a capacidade recuperativa era praticamente nula (TORIN, 1991, citada por WIENER, 2005). A proporção de farelo de arroz utilizada na pesquisa da UNICAMP foi de 30 a 70%, quando a proporção de farelo utilizado na Pastoral da Criança é de 5% para crianças e 10% para adultos, não ultrapassando, portanto, o índice de 0,7% de ácido fítico, o que não é prejudicial.

Santos et al. (2004) avaliaram a biodisponibilidade de minerais em 60 ratos machos da linhagem *Wistar*, desmamados aos 21 dias, sendo que todos foram mantidos com dieta aprotéica durante 14 dias. Em seguida cada grupo de 12 animais foi alimentado com dietas aprotéica, controle (caseína), creche (baseada na alimentação de crianças de 2 a 6 anos em uma creche no município de João Pessoa - PB), creche enriquecidas com 1,2g e 2,4g de multimistura. Os autores verificaram que o teor de sódio da dieta contendo 1,2g de multimistura não diferiu da dieta creche, sendo os mais elevados. Os teores de potássio e de magnésio também foram mais elevados na dieta com 1,2g de multimistura, sendo que o teor de potássio não diferiu da dieta com 2,4g de multimistura. O teor de cálcio foi maior no grupo controle. A multimistura melhorou os níveis de cálcio, mesmo não havendo diferença estatística entre os mesmos. A multimistura contribuiu para elevar os níveis de magnésio nos animais e o teor de cálcio na dieta não interferiu na absorção do mesmo. A literatura relata a interação existente entre cálcio e magnésio, enquanto o primeiro age contraindo os vasos sanguíneos, o segundo relaxa e dilata; esses íons também competem pela absorção no intestino. Os autores constataram ainda, pela análise de ferritina, que a diminuição da mesma apresentada pelos ratos que receberam a dieta suplementada com multimistura poderá resultar em problemas relacionados à absorção e controle do metabolismo do ferro, quando observados em experimentos a longo prazo.

Madruça et al. (2004) avaliaram nutricionalmente, pelo Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA), dietas de creche adicionadas de 1,2g e 2,4g de multimistura, nas mesmas



condições do trabalho de Santos et al. (2004). Observaram que a multimistura não influenciou na recuperação ponderal de animais de laboratório.

Glória et al. (2004) realizaram avaliação biológica de um suplemento contendo milho QPM BR473, utilizando 36 ratos *Wistar* machos, com 21-23 dias de idade. Os mesmos foram divididos em 6 grupos de 6 animais (cada) e alimentados com dietas de caseína contendo multimistura pura, com QPM BR473, láctea (contendo leite integral em pó), láctea contendo QPM BR473 ou a multimistura proposta (contendo QPM BR473, farinhas de aveia, soja e banana e açúcar mascavo). Foi medida a Retenção Líquida de Proteína (NPR) e o Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA). Já que o milho QPM BR 473, variedade desenvolvida pela Embrapa/CNPMS de Sete Lagoas, é um alimento de alta qualidade protéica pelo seu perfil aminoacídico (rico em lisina e triptofano, cujas concentrações são maiores do que no milho comum), possui valor protéico correspondente a 83,5% das proteínas do leite, apresentou maior NPR (2,61) que as multimisturas. No entanto, seu valor não diferiu dos valores da multimistura láctea (2,46), da multimistura com QPM (2,44) e da caseína (2,76). Porém, as multimisturas tradicional e tradicional com QPM apresentaram valores de NPR significativamente inferiores quando comparadas com a dieta padrão ( $p < 0,05$ ). Foi menor a eficiência alimentar para as multimisturas tradicionais com e sem QPM, quando comparadas com a multimistura proposta ou com as multimisturas lácteas com e sem QPM. Os resultados obtidos mostraram que o QPM BR473 pode ser usado em suplementos nutricionais, com alto valor nutritivo, expresso por sua qualidade protéica, e com baixa relação custo/benefício.

Guzmán-Silva et al. (2004) avaliaram a recuperação da desnutrição em ratos mediante dietas adicionadas ou não de suplemento alimentar e de vitaminas e minerais durante o período de crescimento. Foram utilizados 42 *Rattus norvegicus*, desmamados ao 26º dia e induzidos à desnutrição por 21 dias (dieta hipoprotéica 2%, *ad libitum*). Os animais foram divididos em 7 grupos experimentais, com 6 ratos cada, recebendo as dietas durante 28 dias, todas isoprotéicas (10%) e isoenergéticas (350Kcal/100g). Foram elaboradas 7 dietas: controle + vitaminas, controle + suplemento alimentar (SA), controle + SA + vitaminas, Quissamã, Quissamã + vitaminas, Quissamã + SA e Quissamã + SA + vitaminas. A dieta de Quissamã foi elaborada com base no inquérito recordatório realizado pela equipe de profissionais da Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura de Quissamã, RJ, com os pais de 27 crianças inscritas e participantes do projeto do Perfil Alimentar das crianças do Subprograma da Multimistura, conforme descrito por Boaventura et al. (2000). A partir deste inquérito, foram determinados os alimentos habitualmente consumidos pelas crianças e que foi denominada dieta de Quissamã. A curva ponderal do grupo CSA alcançou valores bem inferiores aos demais, apresentando valores que não se alteraram ao longo dos 28 dias e o peso desses animais foi significativamente inferior aos dos demais grupos ( $p < 0,01$ ). Os

autores concluíram que a recuperação da desnutrição foi satisfatória para todos os grupos experimentais, salvo para o CSA, pois a adição do SA à dieta que tinha como fonte protéica a caseína, proteína de alto valor biológico, sem a adição de vitaminas e minerais (AIN-93) não teve nenhum efeito benéfico. Contudo, quando a adição do SA foi efetuada nos grupos que tinham como base protéica à dieta de Quissamã, os resultados foram favoráveis. A dieta de Quissamã, RJ, por si só alcança as necessidades mínimas para promover a recuperação da desnutrição, em termos do peso corporal e dos órgãos selecionados, sendo desnecessária a adição de vitaminas e minerais e/ou SA. Depreende-se assim que a problemática do município de Quissamã, RJ, é o acesso aos alimentos em termos quantitativos e não qualitativos.

Estudo semelhante ao anteriormente citado, realizado por Boaventura et al. (2000), avaliou a qualidade protéica de uma dieta estabelecida em Quissamã, RJ, adicionada ou não de multimistura e de pó de folha de mandioca. O ensaio biológico foi desenvolvido em duas fases, durante 28 dias, com 48 ratos. Na primeira fase denominada de Desnutrição, os animais foram distribuídos em Grupo Controle (GC) alimentados com dieta à base de caseína, Grupo Quissamã (GQ) alimentados com dieta à base da dieta estabelecida em Quissamã, ambos com 8 animais, e Grupo Aprotéico (GA) com 32 animais recebendo uma dieta isenta de proteínas durante 10 dias. Na segunda fase, denominada de Recuperação, com duração de 18 dias, os GC e GQ permaneceram recebendo a mesma dieta. O Grupo Aprotéico foi desmembrado em grupos de 8 animais cada, denominados Grupo Desnutrido Controle (GDC) alimentado com a mesma dieta do GC, e mais 2 Grupos Desnutridos, recebendo a mesma dieta do GDQ, adicionada do pó de folha de mandioca (GDQ+FM) e da multimistura (GDQ+MM). A dieta Quissamã foi avaliada biologicamente através do NPR, PER e  $PER_m$ . Os autores verificaram que não houve diferença de peso entre os grupos desnutridos. Os dados de PER e NPR apresentaram diferença significativa entre o GC e o GQ, sendo que o GQ correspondeu a apenas 71,54% do NPR do GC. Nos dados do  $PER_m$ , o GDC apresentou diferença significativa para os demais grupos (que não diferiram entre si). Baseado nos resultados dos indicadores biológicos NPR e PER utilizados neste experimento, foi concluído que, a dieta consumida foi suficiente para promover o crescimento e a sua manutenção de forma satisfatória, sendo capaz de permitir a recuperação dos animais. Entretanto, a adição da multimistura e do pó de folha de mandioca, com base no indicador biológico  $PER_m$ , não causou impacto sobre a qualidade da dieta Quissamã, não tendo melhorado sua capacidade de recuperar a desnutrição. Ressalta-se a importância da realização de mais estudos para justificar o uso na alimentação humana destes alimentos não convencionais.

Boaventura et al. (2003) avaliaram o suplemento alimentar alternativo adicionado à dieta de Quissamã, consumida por crianças desnutridas inscritas no Subprograma da

Multimistura da Secretaria de Saúde do município de Quissamã, RJ. O ensaio biológico foi desenvolvido durante 28 dias com 42 *Rattus norvegicus*, *Wistar*, machos (26 dias), do Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal Fluminense, divididos em sete grupos: 1) Grupo Controle (dieta à base de caseína) adicionado de vitaminas e minerais; 2) GC<sub>vm</sub> adicionado do Suplemento Alimentar; 3) Grupo Controle adicionado do Suplemento Alimentar; 4) Grupo Quissamã, à base da dieta de Quissamã; 5) Grupo Quissamã adicionado de vitaminas e minerais; 6) GQ<sub>vm</sub> adicionado do Suplemento Alimentar; e 7) Grupo Quissamã adicionado do Suplemento Alimentar. O Grupo Quissamã apresentou o maior valor de hemoglobina e o Grupo Controle adicionado do Suplemento Alimentar obteve o maior valor de hematócrito, dentre todos os grupos que receberam dieta de Quissamã. A suplementação da dieta de Quissamã não se mostrou necessária neste experimento.

Azeredo et al. (2003) estudaram a influência da multimistura (MM) sobre o ganho de peso materno e fetal e sobre a hipertrigliceridemia materna no final do período gestacional. Foram utilizadas ratas *Wistar* (n= 120), divididas em quatro grupos: a) à base da dieta habitual do Estado do Rio de Janeiro (HERJ); b) à base da dieta habitual do Estado do Rio de Janeiro adicionada de 2% de MM (HERJ+MM); c) à base de caseína (CAS1) com 12% de proteína; d) controle caseína (CAS2) com 20% de proteína. A complementação da dieta HERJ com 2% de multimistura não aumentou o ganho de peso materno e fetal e não alterou a hipertrigliceridemia fisiológica. Conclui-se que a utilização da multimistura, na proporção de 2% durante a gestação, não apresentou ganho de peso materno e fetal e não alterou a hipertrigliceridemia fisiológica. Leite et al. (2002), em estudo semelhante, verificaram que o grupo HERJ+MM apresentou a menor produção de leite ( $p < 0,05$ ) e o menor conteúdo de lactose, quando comparado com os outros, concluindo que o desempenho lactacional das ratas cuja dieta foi suplementada com 2% de multimistura apresentou-se diminuída.

### **3.1.4 Fermentação**

Alimentos fermentados são definidos como aqueles alimentos sujeitos a ação de microrganismos ou enzimas para que mudanças bioquímicas desejáveis causem modificações significativas nos mesmos. Pela fermentação os alimentos tornam-se mais nutritivos, palatáveis e digestíveis, sendo mais seguros ou adquirem um odor melhor (AQUARONE et al., 2001).

Todos os processos metabólicos e transformações microbianas utilizadas biotecnologicamente se baseiam na função de determinadas enzimas, mais ou menos específicas para um substrato. Muitas reações biotecnológicas podem ser realizadas graças à ajuda de enzimas isoladas a partir dos microrganismos, mas provenientes destes. Isto se cumpre especialmente no caso das exoenzimas, que são excretadas pelas células ao meio

de cultivo. A maioria das enzimas quebra grandes moléculas, tais como amido, celulose, pectinas e proteínas, que não podem ser assimiladas diretamente pelas células para obter seus constituintes de menor tamanho como mono e dissacarídeos, ácidos galacturônico ou aminoácidos. As enzimas de interesse biotecnológico são obtidas a partir de bolores, principalmente espécies de *Penicillium* e *Aspergillus*, leveduras (*Saccharomyces ssp.*) e bactérias (*Bacillus ssp.*, *Escherichia coli* e outras) (JAGNOW e DAWID, 1991).

Num processo fermentativo estão envolvidos dois sistemas que interagem continuamente: a fase biológica (ou biótica), composta pela população microbiana ou pela cultura de células animais ou vegetais, e a fase ambiental (ou abiótica) ou meio de cultura, que contém os substratos e produtos do processo. Há que se considerar ainda que as características de operação do processo fermentativo empregado permitem interferir na relação população microbiana-ambiente, no sentido de controlar e, se possível, aumentar as velocidades e os rendimentos dessa interação. Entre essas características de operação pode-se destacar a forma de condução do processo (batelada, contínuo, batelada alimentada, etc.); o modo de cultivo (fermentação submersa e fermentação em estado sólido) e a forma como é utilizado o inóculo (reciclo, imobilização de células, etc.) (SCHMIDELL et al., 2001).

Na fermentação submersa o crescimento do microrganismo e a formação do produto se desenvolvem no seio do meio nutritivo líquido, também chamado de mosto. Este tipo de fermentação é utilizada na fabricação de vinhos e cervejas, na produção da enzima glicosidase por *Aspergillus*, *Rhizopus* e *Endomyces*, na produção de ácido glucônico por *Aspergillus niger*, entre outros processos (REGULY, 2000). A fermentação em estado sólido pode ser definida como aquela em que o cultivo dos microrganismos ocorre em um meio onde há ausência de água livre, ou seja, o conteúdo de líquido no meio de cultivo não deve exceder a máxima capacidade de ligação da água com a matriz sólida, sendo importante que a atividade de água do meio seja tal que não impeça o crescimento e metabolismo dos microrganismos (SCHMIDELL et al., 2001).

O processo fermentativo em batelada (ou descontínuo) ocorre da seguinte forma: o meio de cultura é preparado, colocado em um fermentador e esterilizado (quando necessário); o microrganismo responsável pelo processo é inoculado e o conjunto é incubado para que a fermentação ocorra. Terminada a fermentação, retira-se o meio fermentado do biorreator, encaminhando-o para os tratamentos finais. No processo fermentativo descontínuo alimentado (batelada alimentada), adiciona-se o inóculo ao fermentador e inicia-se a alimentação do meio de cultura até o preenchimento do volume útil do fermentador, quando então se inicia a retirada do meio fermentado para os tratamentos finais. Já o processo de fermentação contínua, caracteriza-se por possuir uma alimentação contínua de meio de cultura a uma determinada vazão constante, sendo o volume de reação

mantido constante através da retirada contínua de caldo fermentado (SCHMIDELL et al., 2001).

#### 3.1.4.1 Fermentação em estado sólido

Um sistema que está sendo utilizado consiste em cultivar o fungo sobre um substrato sólido, um processo denominado fermentação em estado sólido. A fermentação em estado sólido pode ser definida como “processo que se refere à cultura de microrganismos sobre ou dentro de partículas em matriz sólida (substrato ou material inerte), onde o conteúdo de líquido (substrato ou meio umidificante) ligado a ela está a um nível de atividade de água que, por um lado, assegure o crescimento e metabolismo das células e, por outro, não exceda à máxima capacidade de ligação da água com a matriz sólida”. Ressalvando que o substrato não tem que ser necessariamente insolúvel em água e, desta forma ser sólido, pois ocorrem exemplos em que o substrato líquido (solução de sacarose e de sais nutrientes ou melão) está umedecendo uma matriz sólida inerte (sabugo de milho ou bagaço de cana). Muitas fermentações que se originaram no Oriente utilizam a fermentação sobre substratos sólidos, por exemplo, a fermentação do *tempeh* (SCHMIDELL et al., 2001; WAINWRIGHT, 1995).

Os processos por fermentação em estado sólido podem utilizar tanto microrganismos em seu estado natural, por exemplo, nos casos de ensilagem ou compostagem, como na forma de culturas puras individuais ou, mais raramente, na forma de culturas mistas. Devido aos baixos níveis de água no sistema, os fungos filamentosos estão entre os microrganismos mais empregados nesse tipo de sistema, pois apresentam melhor capacidade de crescimento em condições de baixa atividade de água. Como exemplos podem ser citados, dentre muitos outros, o uso de culturas de *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Penicillium* ou *Aspergillus* para obtenção de enriquecimento protéico e produção de enzimas, *Mucor* ou *Rhizopus* na produção de renina microbiana, *Penicillium* para a produção de penicilina e *Fusarium* ou *Giberella* para a obtenção de ácido giberélico (SCHMIDELL et al., 2001; WARD, 1991).

Os microrganismos que crescem bem nas fermentações em substratos sólidos são usualmente organismos que podem tolerar uma atividade de água ( $a_w$ ) baixa. Os microrganismos têm respostas diferentes frente à atividade de água, de forma que, por exemplo, com uma atividade de água inferior a 0,95, se inibe o crescimento bacteriano, enquanto os mofo e as leveduras podem crescer a uma atividade de água de cerca de 0,7 (WARD, 1991).

Visto que a maioria das fermentações em substratos sólidos é aeróbia, as condições de fermentação devem ser estabelecidas de forma que as transferências de oxigênio e a

eliminação de CO<sub>2</sub> do substrato sejam eficazes. Devido às elevadas concentrações de substrato por unidade de volume durante a fermentação ser usualmente muito maior que nas fermentações submersas, o menor conteúdo de umidade torna mais difícil sua eliminação (WARD, 1991).

De forma geral, os materiais utilizados como substrato na fermentação em estado sólido são provenientes de matérias-primas, produtos e/ou resíduos agroindustriais. Podem ser utilizados, por exemplo, grãos de cereais, legumes ou materiais lignino-celulósicos, que são moléculas poliméricas insolúveis ou escassamente solúveis em água. O substrato (ou a matriz sólida) deve ter algumas características que possibilitem o maior rendimento do processo. A principal peculiaridade é o alto grau de acessibilidade do microrganismo a todo o meio e, para tanto, de suas características mais importantes destacam-se a porosidade, o tamanho e o formato das partículas (SCHMIDELL et al., 2001; WAINWRIGHT, 1995; WARD, 1991).

Embora o meio de cultura utilizado no processo seja simples, em alguns casos se faz necessário um pré-tratamento do substrato para que este se torne adequado às condições necessárias ao crescimento, como por exemplo, a embebição do meio para regular o teor de umidade inicial do processo e a técnica de esterilização, que tem por finalidade diminuir ou eliminar possíveis contaminantes. Alguns autores mostram que a partir da adição de uma grande quantidade de inóculo, que visa evitar ou abrandar o problema de contaminações, a não esterilização do meio não afeta a produtividade, como por exemplo, na obtenção de penicilina e etanol (SCHMIDELL et al., 2001).

Uma das formas de processo mais empregada na fermentação em estado sólido é o em batelada no qual, basicamente, o meio é adicionado ao reator, ocorrendo então a inoculação do substrato e a incubação do mesmo por um determinado período de tempo. A seguir, o produto obtido pode ser extraído por suspensão do meio com água, soluções-tampão ou solventes ou então, simplesmente, secado e armazenado. Ou ainda pode passar por outros processos que se configurem mais adequados às circunstâncias (SCHMIDELL et al., 2001).

Outro fator importante é o tipo de fermentador que será empregado no processo. No momento da escolha devem-se considerar os objetivos da fermentação, a análise econômica dos custos iniciais e operacionais do processo, a manipulação simplificada do sistema (carga/recarga, limpeza, manutenção) e a possibilidade de monitoramento e controle de diversos parâmetros, se houver necessidade. Alguns dos reatores mais comumente empregados para fermentação em estado sólido são: reatores de vidro; reatores de bandejas; tanques circulares; esteira rolante; reator tubular horizontal; reator tubular vertical; sacos plásticos (SCHMIDELL et al., 2001).

Entre as vantagens dos sistemas de fermentação em estado sólido se encontram a maior produtividade e simplicidade da técnica, menores custos, redução do consumo energético, menor volume de águas residuais produzidas e ausência de problemas devidos à formação de espuma, a qual origina problemas nos sistemas líquidos. O processo apresenta também algumas limitações, tais como: possível acúmulo de calor, necessidade de maior quantidade de inóculo, problemas com o aumento de escala e dificuldade no acompanhamento e controle de parâmetros operacionais (umidade, pH, temperatura, etc) (SCHMIDELL et al., 2001; WARD, 1991; GUTIÉRREZ-ROJAS et al., 1994).

### 3.1.4.2 Microrganismo

As leveduras têm sido utilizadas desde a antiguidade para fermentar o pão e para produzir bebidas alcoólicas, incluindo cervejas, vinhos e licores. Certos fungos filamentosos também têm sido utilizados tradicionalmente para melhorar o sabor do queijo, enquanto outros são cultivados na Ásia para produzir alimentos, como o *tofu*, o *tempeh* e o *miso*. As aplicações mais recentes dos fungos na indústria de alimentos incluem a produção de agentes saborizantes e corantes e ainda como suplemento protéico utilizado nas imitações de carnes (WAINWRIGHT, 1995; MARQUES et al., 1998).

As células microbianas são potencialmente excelentes fontes de proteína. Nas três décadas desde 1950 a 1980, dedicou-se um grande esforço de investigação na possibilidade de utilizar proteína unicelular para ajudar a prevenir a fome nos países menos desenvolvidos. Alternativamente, esperava-se que os microrganismos proporcionassem proteína de alto valor, barata, para usar na alimentação animal, tornando desta forma a proteína cárnica mais barata e mais acessível para o consumo humano. De todas as formas a produção industrial continua sendo interessante, particularmente pela possibilidade de utilizar resíduos como substratos para o crescimento microbiano e produção de biomassa (WAINWRIGHT, 1995).

Devido a sua alta taxa de crescimento e seu grande conteúdo em proteínas, os fungos são uma fonte ideal desse nutriente. A proteína fúngica pode ser produzida em grandes quantidades em um espaço relativamente pequeno, usando produtos baratos, resíduos, como fonte de nutrientes. As células fúngicas contêm também carboidratos, lipídios e ácidos nucléicos, além de apresentar um balanço favorável de lisina, metionina e triptofano, aminoácidos que costumam faltar nas proteínas vegetais (BU'LOCK e KRISTIANSEN, 1991; WAINWRIGHT, 1995; REGULY, 2000).

Na Alemanha, durante a Primeira Guerra Mundial, as leveduras de panificação, cultivadas em melaços, eram produzidas como suplemento protéico para o consumo humano, sendo este o primeiro processo de fermentação moderno destinado à produção de

proteínas de organismos unicelulares. Posteriormente, também na Alemanha, durante a Segunda Guerra Mundial, empregou-se *Candida utilis*, cultivada em caldos que constituíam resíduos procedentes da manufatura de papel e em derivados de açúcares obtidos por hidrólise ácida da madeira, como fonte protéica para a alimentação humana e animal. A partir de 1968 diversas companhias da Europa, EUA e Japão construíram plantas destinadas à produção de proteínas de organismos unicelulares. A primeira proteína microbiana produzida por fermentação e aprovada pelo governo inglês para consumo humano foi a Micoproteína, que é produzida a partir do fungo *Fusarium graminearum* (WARD, 1991).

Os fungos são considerados geralmente como quimioheterotróficos estritos. São incapazes de fotossintetizar e, por conseguinte necessitam substratos ricos em energia para alcançar seus requerimentos de energia e biomassa. Os fungos produzem uma ampla variedade de enzimas extracelulares (exoenzimas), principalmente oxidases e hidrolases e podem utilizar a maior parte dos substratos orgânicos que existem naturalmente, incluindo celulose, quitina, amido, açúcares, hemiceluloses e lignina. Normalmente os carboidratos são as principais fontes de carbono acessíveis aos fungos; são metabolizados para proporcionar energia e também atuam como precursores para a síntese de material celular (TANIWAKI e SILVA, 1996; WAINWRIGHT, 1995; GRIFFIN, 1994).

Os fungos utilizam nitrogênio fundamentalmente na forma de amônio, ainda que quase todos possam usar nitrato, a exceção de alguns como *Saccharomyces cerevisae*. Outras fontes de nitrogênio incluem uréia, hidroxilamina, L-aminoácidos e peptídeos. Outros nutrientes minerais importantes requeridos pelos fungos para um bom rendimento incluem fósforo, enxofre, potássio e magnésio. Em condições de crescimento rápido também são requeridos para o funcionamento das enzimas nutrientes menores como zinco, cobre, molibdênio e vitaminas (WAINWRIGHT, 1995).

As leveduras desempenham um papel fundamental na biotecnologia. Estudos recentes sobre sua diversidade metabólica têm ampliado seu potencial como organismos biotecnologicamente úteis. As espécies de *Saccharomyces*, especialmente a *Saccharomyces cerevisae* que é a levedura mais utilizada nas fermentações industriais, são amplamente utilizadas na indústria de alimentos, na produção de pão e na fermentação de bebidas alcoólicas. As leveduras também têm sido utilizadas como fonte de proteína unicelular e para produzir álcool com fins industriais. Outras leveduras importantes industrialmente são a *Candida utilis* e a *Endomycopsis fibuliger* (MARQUES et al., 1998; WAINWRIGHT, 1995; WARD, 1991).

Segundo Wainwright (1995), a *Saccharomyces cerevisae* e outras leveduras têm sido empregadas em um procedimento combinado desenvolvido para desparafinar hidrocarbonetos na indústria do petróleo e ao mesmo tempo produzir biomassa útil, rica em



proteína. São utilizadas como substratos as frações do petróleo que incluem a querosene, o óleo diesel e os óleos lubrificantes.

A extração de ceras tem sido um problema crítico no refino de óleos vegetais, resultando que alguns óleos potencialmente úteis não têm sido explorados comercialmente. As ceras parafínicas e os ésteres mistos de álcoois superiores polihídricos que contêm ácidos graxos podem, no entanto, ser separados dos óleos com o auxílio de levedura. Neste processo se adiciona ao óleo vegetal ou mineral *Saccharomyces cerevisiae* e um açúcar fermentescível e a mistura é agitada vigorosamente. Imediatamente antes do final da etapa de agitação se adiciona pepsina e se deixa a mistura repousar. O óleo livre de ceras é separado por decantação.

Ward (1991) e Wainwright (1995) definem as leveduras como fungos que se encontram geralmente na forma de células únicas. As leveduras clássicas têm aspecto viscoso quando crescem em meio sólido, sendo tipicamente muito maiores que as bactérias. Algumas leveduras estão formadas unicamente por células individuais e às vezes cadeias curtas, enquanto outras se encontram com variadas formas celulares, incluindo diversos tipos de filamentos. Muitas espécies de leveduras têm fases filamentosas ou mostram o que se denomina dimorfismo levedura-fungo, ou seja, exibem a capacidade de mudar sua forma, respondendo em grande parte às condições nutritivas do momento. Caracteristicamente, as leveduras se reproduzem assexuadamente por gemulação (brotamento) de células filhas a partir de uma célula-mãe. A reprodução sexuada implica na formação de um asco único que contém quatro ou mais ascósporos que se diferenciam diretamente a partir de uma célula vegetativa. Uma característica da população em crescimento das células de levedura é a presença de gemas (ou gomos), produzidas quando a célula se divide. A célula filha começa sendo uma pequena gema, que vai crescendo até alcançar um tamanho similar ao da célula-mãe e então se separa. Nas leveduras, o envoltório celular inclui a membrana citoplasmática, constituída por lipídeos, proteínas e mananas, o espaço periplasmático e a parede celular, que contém algumas proteínas e grande quantidade de glucana e manana.

As leveduras de modo geral podem ser cultivadas biotecnologicamente em substratos que contenham carboidratos de diversas procedências. Na maioria das vezes os substratos que contêm amido e celulose devem primeiro passar por uma hidrólise química a fim de quebrar os polissacarídeos em mono e dissacarídeos. O rendimento celular por quilograma de substrato empregado depende do conteúdo energético, da concentração e do coeficiente de assimilação do substrato. Além desses fatores também exercem influência as condições de cultivo, especialmente a temperatura, a intensidade da aeração, a concentração de nutrientes, o pH e a presença de substâncias inibidoras do crescimento (JAGNOW e DAWID, 1991).

A biomassa de leveduras, ao contrário de outros tipos de células microbianas, é rica em lisina, um aminoácido que se encontra em concentrações baixas, mas detectáveis na proteína do trigo. As leveduras são digeridas facilmente e contêm grandes quantidades de vitamina do complexo B (MARQUES et al., 1998; WAINWRIGHT, 1995).

As leveduras de panificação incluem-se dentro da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, que é um Ascomyceto. A levedura de panificação pode ser encontrada comercialmente de duas formas: o fermento prensado fresco e o fermento biológico seco, ativo ou não (AQUARONE et al., 2001; JAGNOW e DAWID, 1991).

O fermento fresco apresenta-se sob a forma de blocos, de cor creme ou marfim, com consistência compacta e homogênea, e com teor de umidade elevado (o que exige refrigeração para sua conservação). Dentro da gama de fermentos secos existem os que são conhecidos como ativos e os não ativos. Tanto um como outro são obtidos através da secagem do fermento fresco a baixa temperatura. O fermento seco não ativo possui células que estão em estado latente e que precisam ser revigoradas previamente para ter uso. O fermento desidratado ativo (ou instantâneo) é embalado em recipiente a vácuo e é incorporado diretamente na massa no início do processo (AQUARONE et al., 2001).

Ward (1991) descreveu as formas de se empregar as leveduras em diferentes condições, que são descritas a seguir.

As leveduras de panificação, *Saccharomyces cerevisiae*, utilizadas na elaboração do pão, degradam os açúcares a uma mistura de álcool e dióxido de carbono gasoso. Com a excreção de compostos como cisteína e glutatión, que rompem as pontes dissulfeto intramoleculares e com a produção de gás, as leveduras atuam modificando química e mecanicamente o glúten, proteína majoritária do trigo.

Em função das condições ambientais, as fermentações com leveduras de panificação podem ser dirigidas a favor da produção de álcool ou de biomassa. Em um meio anaeróbio a produção de álcool é ótima, sendo baixo o rendimento de biomassa. Em um meio aeróbio em presença de concentrações elevadas de açúcar também se formam quantidades substanciais de álcool. Mantendo concentrações baixas de açúcares, em fermentações aeróbias de leveduras se favorece a produção de biomassa.

Os melaços de cana e de beterraba são os substratos mais utilizados na produção de leveduras de panificação, sendo em alguns casos necessário suplementar o substrato com fontes de nitrogênio, fósforo e biotina.

A produção de leveduras é um processo descontínuo que necessita até oito etapas. As duas primeiras etapas de inoculação exigem usualmente fermentações assépticas, enquanto as etapas posteriores de inoculação e produção geralmente não requerem tantos cuidados com assepsia, nem a realização em recipientes a pressão. O principal objetivo da etapa de produção é conseguir um rendimento elevado de leveduras viáveis com um

equilíbrio ótimo de propriedades, atividade fermentativa alta e boa capacidade para ser armazenada.

No fermentador de produção, a fermentação aeróbia ocorre a 28-30°C. Os valores de pH estão compreendidos entre 4,1 e 5,0. A quantidade de oxigênio necessária para o crescimento das leveduras é de aproximadamente 1g por grama de leveduras sólidas. Em geral se utilizam sistemas de injeção de gás eficazes sem agitação.

A separação das leveduras produzidas durante o processo fermentativo pode ser feita mediante centrifugação contínua, produzindo uma pasta de leveduras de 18-20%, que é concentrada posteriormente até 27-28% de sólidos mediante filtração rotatória a vácuo. As leveduras secas ativas são produzidas usualmente mediante secadores de leito fluidizado.

A fermentação dos cereais só conduz a uma pequena melhora no conteúdo protéico. Por exemplo, a fermentação de farinha de milho pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida tropicalis* aumenta o conteúdo protéico de 7% para 8,9% e 8,4%, respectivamente. No entanto, o conteúdo protéico pode aumentar muito mais adicionando pequenas quantidades de extrato de malte à farinha. A fermentação com leveduras altera a composição dos aminoácidos da farinha, aumentando a concentração de lisina enquanto diminui a quantidade de metionina presente (WAINWRIGHT, 1995).

### 3.1.5 Fatores antinutricionais

O ácido fítico é um dos principais antinutrientes encontrados na multimistura, especialmente devido à presença de farelo de cereais na mesma. O ácido fítico tem uma grande capacidade de formar complexos insolúveis (fitatos) com íons metálicos divalentes presentes nos alimentos (EKHOLM, 2003), podendo atuar como agente quelante destes metais, reduzindo a absorção de minerais no processo digestivo (SIQUEIRA et al., 2003; CÂMARA e MADRUGA, 2001).

No Brasil, a folha de mandioca, na forma desidratada e moída, vem sendo utilizada no combate à desnutrição de crianças, principalmente como fonte de vitaminas e minerais. A literatura científica tem destacado a ocorrência de dois fatores antinutricionais em folhas de mandioca, os taninos e o ácido cianídrico (AZEREDO et al., 1998). Corrêa et al. (2002) avaliaram antinutrientes (nitrato, oxalato, polifenóis e hemaglutininas) na farinha de folhas de seis cultivares de mandioca, colhidas aos 9 meses de idade, sendo que todas amostras apresentaram níveis aceitáveis de antinutrientes, podendo, desta forma, serem utilizadas na alimentação humana. Conforme Azeredo et al. (1998), devido à presença do ácido cianídrico, a folha da mandioca deve ser desidratada para consumo, entrando na multimistura de forma moída, devido à maior disponibilização de vitamina A, ferro e proteína. Além disso, as folhagens quando secas ou desidratadas reduzem a solubilidade do tanino,

reduzindo a sua habilidade de se complexar com as proteínas e diminuindo sua capacidade antinutricional, o que as tornaria adequadas para comporem a multimistura.

Câmara e Madruga (2001) estudaram conteúdos de ácido cianídrico, ácido fítico, tanino total e aflatoxina de uma multimistura preparada na cidade de Natal-RN. Esta multimistura era composta por 30% de farelo de trigo, 30% de farinha de trigo, 30% de fubá de milho, 3% de pó de folha de mandioca, 4% de pó de semente de abóbora e 3% de pó de casca de ovo. Não foi detectado ácido cianídrico (HCN), nem aflatoxina na multimistura, sendo que os autores relataram a não detecção de HCN devido à baixa concentração de pó de folha de mandioca na multimistura, pois a quantidade estava abaixo do limite de detecção do método que era de 0,3mg/kg. Segundo Corrêa et al. (2002), o baixo ponto de ebulição do HCN (25,7°C) faz com que ele se volatilize durante o processo de torrefação. A folha crua de mandioca apresentou 309mg/kg de HCN (sem tratamento térmico) e o pó de folha de mandioca (após tratamento térmico), 72mg/kg, uma redução de 75% de HCN. A concentração de ácido fítico na multimistura foi de 1,04mg/100g e no farelo de trigo, de 1,28mg/100g, estes valores foram inferiores aos reportados por outros pesquisadores citados pelos autores. Altas concentrações de ácido fítico, geralmente encontrado em produtos de farelo são preocupantes, já que ele atua como agente quelante de íons metálicos, reduzindo a absorção de minerais como zinco, cálcio, magnésio e ferro, durante o processo digestivo. O conteúdo de taninos (277,62mg/kg) encontrado na multimistura foi inclusive abaixo do limite mínimo relatado na literatura como tóxico para animais de laboratório.

Oliveira et al. (2003) avaliaram adições crescentes de ácido fítico (AF) na dieta em relação àquelas encontradas no feijão-comum *Phaseolus vulgaris*, cultivar IAC-Carioca (14,7mg de ácido fítico/g feijão cru): 1,47g; 2,9g (2xAF); 5,88g (4xAF); e 11,76g de ácido fítico (8xAF), sendo as adições de ácido fítico feitas por 100g de caseína, o que correspondia às adições de 218, 436, 872 e 1744mg de ácido fítico por kg de dieta. As dietas eram isoprotéicas (12,3 + 0,2%) e isoenergéticas (391,5 + 2,3kcal/100g). Nas condições em que o presente trabalho foi desenvolvido, a adição de ácido fítico às dietas em concentrações até oito vezes superiores ao teor encontrado no feijão-comum cru (*Phaseolus vulgaris*), no período de experimentação de dez dias, não comprometeu a utilização da caseína pelos ratos. Ao comparar os grupos experimentais com o grupo controle, alimentado com dieta purificada, isenta de ácido fítico ou qualquer outro componente de conotação antinutricional, observou-se não haver diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quanto ao ganho de peso, consumo de dieta, Quociente de Eficiência da Dieta, Quociente de Eficiência Protéica Líquida, Digestibilidade Aparente e Digestibilidade Verdadeira da caseína.

A interferência na biodisponibilidade dos nutrientes causada pela interação entre eles e a presença de antinutrientes são motivos de significativas polêmicas, por exemplo, o

zinco, ferro, cobre e cálcio, em determinadas concentrações relativas, interferem mutuamente nas suas taxas de biodisponibilidade (COZZOLINO, 1997, citado por BITTENCOURT, 1998). Pouco também se conhece quanto à magnitude da ação de fitatos, oxalatos e fibra dietética presentes na multimistura, em reduzir a biodisponibilidade dos nutrientes (BEAUSSET, 1992, citado por BITTENCOURT, 1998; TORIN et al., 1994).

Segundo Farfan (1998), quando uma formulação inclui as partes ou frações normalmente não comestíveis das plantas, a mesma deve ser cuidadosamente analisada, sob vários aspectos. Considerando a inclusão de folhas na nossa dieta, sabe-se que esses órgãos das plantas são concentradores naturais de nitratos (FAO/WHO, 1995), os quais são reduzidos para nitritos no estômago ácido do homem. Os nitritos, por sua vez, são precursores das potentes substâncias carcinogênicas denominadas nitrosaminas. Dessa forma, não é prudente fazer uma recomendação de caráter universal em favor da adoção das folhas de beterraba, cenoura (e outras de composição desconhecida) como alimento rotineiro para adultos e crianças.

### **3.2 Proteínas**

As proteínas são nutrientes essenciais aos organismos animal e humano, devendo estar presentes na alimentação em quantidades adequadas. Além do aspecto quantitativo, deve-se levar em conta o aspecto qualitativo das proteínas, ou seja, seu valor nutritivo. As proteínas e outros compostos contendo nitrogênio são constantemente degradados e reconstruídos. Todas essas perdas devem ser repostas por um suprimento contínuo de aminoácidos fornecidos pela dieta (SGARBIERI, 1996). Cada indivíduo deve ter uma fonte adequada de proteínas para crescer e se manter. Como as proteínas são os constituintes principais de tecidos ativos do organismo, e este por sua vez depende das proteínas alimentares, a qualidade e quantidade destas substâncias indispensáveis são de grande importância para uma dieta diária (MITCHELL et al., 1978).

Na avaliação da qualidade das proteínas e em geral dos nutrientes do alimento são utilizados diversos conceitos, como: quantidade do nutriente presente no alimento, quantidade do nutriente ingerido que será digerido de forma que possa ser absorvido pelo organismo, quantidade do nutriente digerido que será efetivamente absorvido pelo organismo, quantidade do nutriente absorvido que poderá ser utilizado pelo organismo para realizar uma função biológica e quantidade do nutriente que o organismo poderia utilizar (HERNÁNDEZ et al., 1996).

#### **3.2.1.1 Avaliação da Qualidade das Proteínas**

Quando se utilizam métodos biológicos, deve-se considerar os processos metabólicos, seja a via endógena, onde relaciona-se o aproveitamento tecidual ou a

exógena, a qual pode sofrer variações pois depende da quantidade de proteína ingerida, conforme está demonstrado no esquema abaixo.

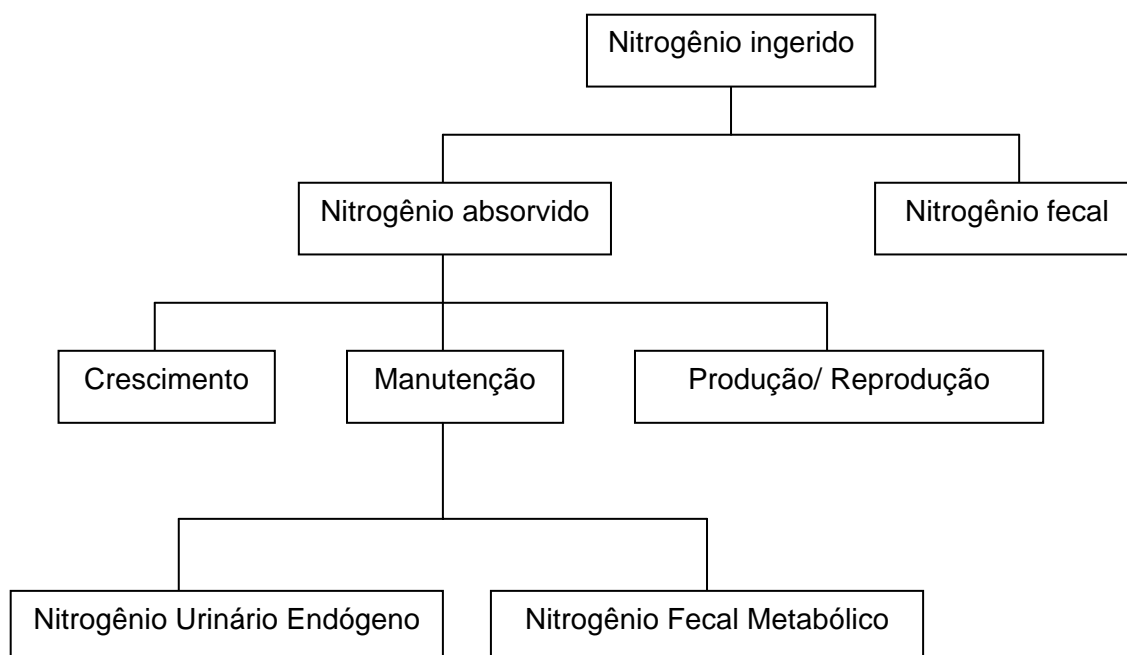


Figura 1: Esquema de aproveitamento do nitrogênio (HERNÁNDEZ et al., 1996).

### 3.2.1.1.1 Métodos Biológicos

Os métodos de ensaios biológicos para determinar a biodisponibilidade das proteínas alimentares são realizados normalmente em ratos e se baseiam em medir o ganho de peso ou o nitrogênio retido em função da proteína ingerida.

Como ocorre com a determinação da digestibilidade, alguns métodos consideram unicamente o metabolismo exógeno das proteínas, enquanto que outros consideram tanto o exógeno com o endógeno (VIROBEN e BERTRAND, 1985, citados por HERNÁNDEZ et al., 1996; PELLETT, 1978; SAMONDS e HEGSTED, 1977;).

Os métodos mais utilizados são: o Balanço de Nitrogênio (BN), Digestibilidade *“in vivo”*, Valor Biológico, Utilização Líquida de Proteína (NPU), Quociente de Eficiência Protéica (PER), Quociente de Eficiência Líquida Protéica (NPR), Coeficiente de Eficácia Alimentar (FER).

#### 3.2.1.1.1.1 Balanço de Nitrogênio (BN)

Os animais são colocados em gaiolas metálicas individuais, providas de dispositivos que permitam a coleta de fezes e urina, isentas de contaminação por partículas de alimento. A duração do teste é variável, normalmente de 5 a 10 dias dividido em duas fases, uma

inicial considerada de adaptação à dieta ou alimento em que não se coleta material para análises, e a fase final onde se determina a quantidade de nitrogênio ingerido, através do consumo de alimento ao mesmo tempo em que se coletam fezes e urina para determinação do nitrogênio excretado. O número de animais também é variável, mas não deve ser inferior a 5 animais por tratamentos (SGARBIERI, 1996).

O balanço de nitrogênio é a diferença entra o nitrogênio ingerido e a soma do nitrogênio excretado nas fezes e na urina, conforme a equação 1.

$$BN = NI - (NF + NU) \quad (1)$$

### 3.2.1.1.1.2 Digestibilidade *in vivo*

A digestibilidade é a medida da porcentagem de proteínas que são hidrolisadas pelas enzimas digestivas e absorvidas na forma de aminoácidos ou de qualquer outro composto nitrogenado.

Os métodos utilizados para digestibilidade de proteínas baseiam-se em administrar aos animais do experimento uma dieta que contém a amostra como única fonte de proteína. Determina-se a quantidade digerida mediante a diferença entre o ingerido e o eliminado pelos animais, esta é a dita digestibilidade aparente, que é dada pela equação 2.

A digestibilidade verdadeira, dada pela equação 3, é determinada levando-se em conta o nitrogênio proveniente do próprio animal e que é excretado nas fezes juntamente com as proteínas de origem alimentar não digerida. O nitrogênio do próprio animal é determinado nas fezes de um grupo igual de animais mantidos em dieta aprotéica pelo mesmo período que durar o experimento (SGARBIERI, 1996).

$$Da = \left( \frac{Ningerido - Nexcretado}{Ningerido} \right) \times 100 \quad (2)$$

$$Dv = \left[ \frac{Ningerido - (Nexcretado_{teste} - Nexcretado_{aprotéico})}{Ningerido} \right] \times 100 \quad (3)$$

### 3.2.1.1.1.3 Utilização Líquida de Proteína (NPU)

Há duas maneiras de se determinar o NPU, através do método direto e pelo método indireto.

No método direto, desenvolvido por Miller e Bender (1955), o conteúdo de nitrogênio das carcaças pode ser calculado a partir do conteúdo de água e o NPU, pelo quociente do

nitrogênio retido pelo ingerido, subtraindo-se o valor de nitrogênio da dieta aprotéica, conforme as equações 4, 5 e 6.

$$Y = 2,92 + 0,02X \quad (4)$$

onde X= idade dos ratos (dias)

$$Y = \left( \frac{\text{Nitrogênio corporal}}{\text{Água corporal}} \right) \times 100 \quad (5)$$

$$NPU = \left[ \frac{N_{corporal_{teste}} - (N_{corporal_{aprotéico}} - N_{ingerido_{aprotéico}})}{N_{ingerido_{teste}}} \right] \times 100 \quad (6)$$

No método indireto, o NPU é calculado como o produto da digestibilidade verdadeira pelo valor biológico.

#### 3.2.1.1.1.4 Valor Biológico

Segundo Sgarbieri (1996), o valor biológico (VB) do alimento pode ser obtido da relação expressa na equação 7.

$$VB = \frac{NPU}{Dv} \quad (7)$$

O valor biológico é dado pela relação entre o nitrogênio retido pelo nitrogênio absorvido, sendo que o nitrogênio retido é a diferença entre o nitrogênio absorvido (NA) e o nitrogênio eliminado na urina (NU) e, o nitrogênio absorvido é a diferença entre o nitrogênio ingerido na dieta (NI) e o nitrogênio eliminado nas fezes (NF) (SGARBIERI, 1996).

Pode-se calcular o valor biológico aparente e o valor biológico verdadeiro. O valor biológico verdadeiro é calculado levando-se em consideração o nitrogênio de origem endógena, tanto nas fezes como na urina. Os valores biológicos aparente e verdadeiro estão representados nas equações 8 e 9, respectivamente.

$$VBa = \left[ \frac{NI - (NF + NU)}{NI - NF} \right] \times 100 \quad (8)$$

$$VBv = \left[ \frac{NI - (NFa + NUa)}{NI - NFa} \right] \times 100 \quad (9)$$



### 3.2.1.1.1.5 Quociente de Eficiência Protéica (PER)

Segundo Hernández et al. (1996), o método do PER foi desenvolvido em 1919 por Osborne et al., sendo o mais antigo e conhecido dentre os métodos de avaliação nutricional de proteínas. Em 1975, foi adaptado pela AOAC como método oficial para determinar a qualidade de proteínas.

Segundo os autores, são utilizados ratos machos da mesma cepa, de 21 a 28 dias, com peso inferior a 100g em gaiolas individuais. É sugerido um período de adaptação de 3 a 7 dias e 28 dias de ensaio. São administrados água e alimento *ad libitum* e como proteína de referência, a caseína ANRC. O fator mais significativo da dieta é o nível de proteína, 10% da matéria seca. Referente à sua composição, a AOAC recomenda o seguinte: 1,6% de nitrogênio, 8% de lipídios, 5% de água, 1% de fibra, 5% de cinzas, 1% de complexo vitamínico e sacarose ou amido q.s.p.

São determinados regularmente o consumo alimentar e o peso do animal, estabelecendo o valor médio do PER como o quociente de um ganho de peso por proteína consumida (equação 10).

$$PER = \frac{\text{ganho de peso (g)}}{\text{proteína consumida (g)}} \quad (10)$$

O PER pode ser corrigido multiplicando-se o PER da proteína teste consumida pelo seguinte fator: 2,5/por Caseína ANRC (pois se convencionou estabelecer que a caseína recebe o valor 2,5 e as demais dietas são corrigidas baseadas neste valor, conforme *American Nutrition Research Council*), sendo os dados expressos como porcentagem do valor de PER de caseína. Como o PER não é uma função linear, essa porcentagem não deve ser interpretada como equivalente do valor nutritivo da caseína.

A experiência tem demonstrado que o PER não é um método válido, já que dos critérios necessários para a validade de um ensaio biológico (precisão, reprodutibilidade, simplicidade, validade estatística, proporcionalidade e baixo custo), o PER só cumpre o de simplicidade (PELLETT, 1978, citado por HERNÁNDEZ et al., 1996; SAMONDS e HEGSTED, 1977). Os diversos estudos interlaboratoriais (HACKLER et al., 1984, citados por HERNÁNDEZ et al., 1996; BURNETTE e RUSOLF, 1978; HACKLER, 1978) têm colocado em dúvida sua precisão.

O NPU, bem como o valor biológico e o PER, variam de acordo com a maior ou menor concentração de proteína na dieta, por isso convencionou-se que a concentração da mesma na dieta fosse fixada em 10% e, quando se trabalhar com níveis e concentrações

protéicas diferentes daquelas do padrão, o NPU receberá o nome de operacional (NPU<sub>op</sub>), o mesmo valendo para o PER (PER<sub>op</sub>) (LEMOS, 1999).

#### **3.2.1.1.1.6 Quociente de Eficiência Líquida de Proteína (NPR)**

O método do NPR, desenvolvido por Bender e Doll (1957), possui resultados mais precisos e com maior reprodutibilidade que o método do PER, sendo uma modificação deste (VIROBEN e BERTRAND, 1985, citados por HERNÁNDEZ et al., 1996).

As características das dietas e dos animais são as mesmas que para o PER, porém é realizado em 10 dias e, além disso, inclui um grupo de animais alimentados com uma dieta aprotéica durante o período do ensaio. A perda de peso determinada nesse grupo é adicionada ao ganho de peso obtido no grupo alimentado com a proteína testada, conforme a equação 11 (HERNÁNDEZ et al., 1996).

$$NPR = \frac{\text{ganho de peso (g)}_{\text{teste}} + \text{ganho de peso (g)}_{\text{aprotéico}}}{\text{proteína consumida (g)}} \quad (11)$$

Para reduzir as variações entre os ensaios, seu valor é expresso como um valor relativo (YOUNG e PELLET, 1978, citados por HERNÁNDEZ et al., 1996) em relação a uma proteína que assegure um máximo de crescimento, geralmente caseína (VIROBEN e BERTRAND, 1985, citados por HERNÁNDEZ et al., 1996).

#### **3.2.1.1.1.7 Coeficiente de Eficiência Alimentar (FER)**

O coeficiente de eficiência alimentar (CEA) ou Food Efficiency Ratio (FER), é dado pela razão entre o ganho de peso (g) e a quantidade de alimento ingerido (g) de cada animal ao final do experimento (GLÓRIA et al., 2004; JOOD et al., 1992).

#### **3.2.1.1.2 Importância da utilização de animais de experimentação**

Qualquer ser vivo pode ser utilizado como modelo nas avaliações científicas. No entanto, para ser definido como animal de laboratório, a espécie deve ser criada e produzida em condições ideais e mantida em ambiente rigorosamente controlado, com acompanhamento microbiológico e genético seguros, obtidos por monitoração constante. Levantamentos estatísticos mostram uma predominância do uso de camundongos (64%), contra 26% de ratos. No total, 90% só para estas duas espécies. Juntando-se a elas o emprego de cobaias e coelhos, chega-se a 99%. O 1% restante é constituído por cães, gatos, macacos, dentre outras espécies (Princípios Éticos..., 2004).

Há inúmeras razões para o amplo uso de roedores: a facilidade de cuidado e manuseio, o tamanho e o custo reduzido, a alta capacidade reprodutiva, gerações com curta

duração, fácil adaptação a ambientes variados e sociabilidade, além de muitas informações disponíveis e a existência de linhagens geneticamente bem definidas, sem a diversidade de características que resultam em muitos modelos animais. Informações científicas acumuladas, especialmente sobre ratos e camundongos, tornaram-se melhor conhecidas cientificamente e ofereceram maior segurança nas análises e interpretações dos resultados experimentais obtidos. Os ratos, para experimentos nutricionais, fornecem respostas interessantes através de seus órgãos (fígado, baço, ceco, pele e anexos), além de material orgânico como sangue, urina e fezes (Princípios Éticos..., 2004).

Além dos requerimentos nutricionais que cercam os animais utilizados para este fim, é importante que os pesquisadores estejam atentos ao aspecto sanitário dos mesmos e intimamente ligados estão os padrões fisiológicos, os quais não devem escapar ao conhecimento de quem os manipula, pois, alterações ocasionadas por dietas insuficientes, deficientes ou com excesso de nutrientes, poderão refletir sob a forma de distúrbios metabólicos nestes animais e conseqüente erro na interpretação de dados e resultados obtidos. Os técnicos e profissionais envolvidos com o manuseio de animais devem ter conhecimento da espécie em questão, pois nos ratos, por exemplo, movimentos bruscos e ruídos muito altos, podem determinar alterações imediatas de temperatura corpórea, alterações cárdio-respiratórias, podendo chegar à morte dos animais de acordo com a intensidade dos estímulos (NEVES, 1996).

### **3.3 Cálcio**

As funções do cálcio não são apenas relacionadas à consolidação do tecido ósseo e dentes. O cálcio é o elemento químico mais abundante no organismo humano, após os elementos organógenos (C, H, O, N) e cerca de 99% dele é encontrado no tecido ósseo, enquanto em nível sangüíneo se mantém constante (9-11mg/100mL) (CISTERNAS et al., 2001).

As fontes mais ricas de cálcio são: queijo, leite, carne, gema de ovo e hortaliças (como o espinafre). O cálcio vegetal, no entanto, nem sempre é absorvível por se apresentar sob a forma de sais insolúveis. O cálcio deslocado dos alimentos está sob forma iônica, sendo absorvido pela mucosa intestinal e lançado na corrente circulatória. Sujeita-se a um mecanismo de regulação que mantém um nível sérico dentro de limites bastante estreitos, distribui-se para as células, sendo metabolizado por elas, podendo retornar à circulação sistêmica. Os mecanismos de regulação farão com que haja deposição e mobilização de cálcio no tecido ósseo e, finalmente ocorre sua excreção através do sistema renal ou por meio de secreções, especialmente a bile (CHOI, 2005; CISTERNAS et al., 2001).

É reconhecido que o leite e derivados se constituem nas fontes mais ricas de cálcio, com maior porcentagem de absorção deste (BUZINARO et al., 2006). O leite de vaca

contém aproximadamente 1,20 g de cálcio por litro, 20% dos quais estão ligados à caseína como colóide orgânico insolúvel e 80% na forma mineral. O cálcio nos queijos está prontamente disponível, mesmo contendo grandes quantidades de ácidos graxos de cadeia longa e pouca lactose. Mesmo em situações desfavoráveis, como nos casos de pH elevado, o cálcio do leite mantém-se em suspensão, devido a sua ligação aos peptídeos e proteínas. O leite não contém nenhuma substância que inibe a absorção de cálcio no intestino, como oxalatos, fitatos ou polifenóis (COBAYASHI, 2004).

### **3.3.1 Biodisponibilidade do cálcio**

As fontes alimentares escolhidas para a dieta devem ser baseadas na biodisponibilidade de cálcio, a qual pode ser afetada por conta do oxalato e fitato, inibidores da absorção de cálcio, presentes nas plantas. Uma notável exceção a esta generalização é o feijão de soja. A soja é rica tanto em oxalato quanto em fitato, porém, após passar por processo de industrialização, seus derivados têm alta biodisponibilidade de cálcio. Outros alimentos com boa biodisponibilidade de cálcio são: brócolis, couve-flor, couve e repolho, por conterem baixas quantidades de ácido oxálico (COBAYASHI, 2004).

### **3.3.2 Fatores que afetam a absorção de cálcio**

A quantidade de cálcio absorvida é determinada pela ingestão e pela capacidade de absorção intestinal; quando a ingestão é baixa, a absorção é alta, enquanto que na ingestão alta, a absorção é baixa (COBAYASHI, 2004).

O cálcio é encontrado na forma de sais (carbonatos, fosfatos), cuja associação fornece os íons  $\text{Ca}^{++}$  absorvíveis. A solubilidade desses sais é favorecida pela baixa do pH e desfavorecida em pH elevado. Assim, a absorção de cálcio é mais intensa nas porções elevadas do intestino delgado (CISTERNAS et al., 2001).

A eficiência da absorção de Ca é afetada pela presença intraluminal de outros componentes dietéticos. Cerca de 30% do Ca dietético está biodisponível nos alimentos. Esta biodisponibilidade refere-se à digestibilidade e absorção do elemento. A digestibilidade pode ser comparada com solubilidade ou mais precisamente solubilização. A digestibilidade e a solubilidade para todos os nutrientes têm sido discutidas, no entanto, os aminoácidos e pequenos peptídeos presentes na dieta não costumam alterá-las. Por outro lado, muitas gorduras, carboidratos complexos e alguns minerais podem influenciar tanto na digestibilidade como na biodisponibilidade do Ca. Já alguns produtos industrializados e enriquecidos, como, por exemplo, as farinhas de trigo, apesar de poderem conter Ca, apresentam uma pior biodisponibilidade quando comparados ao leite (BUZINARO et al., 2006).

O inibidor mais potente da absorção de Ca parece ser o ácido oxálico que está presente na maioria dos vegetais. Este é encontrado em alta concentração no espinafre e no ruibarbo, e em menor quantidade nas batatas doces e feijões secos. A taxa de absorção de Ca do espinafre é de apenas 5%, enquanto que a do leite, ingerido em quantidades semelhantes, é de aproximadamente 30%. Quando esses dois alimentos, com biodisponibilidades diferentes, são ingeridos juntos durante a mesma refeição, a fração de absorção de Ca a partir do leite diminui em 30%. Já outros vegetais como brócolis, couve, repolho, mostarda e folhas de nabo, possuem uma melhor biodisponibilidade do Ca. O ácido fítico, presente nos alimentos ricos em fibras, é um componente que, em altas concentrações, afeta o balanço de Ca, uma vez que fibras purificadas não prejudicariam a absorção do elemento. Fontes concentradas de fitatos, tais como farelo de trigo, cereais estruturados ou grãos secos, reduzem substancialmente a absorção de Ca (BUZINARO et al., 2006).

Quanto mais alcalino o conteúdo intestinal, menor será a solubilidade dos sais de cálcio. Conseqüentemente, os fatores que aumentam a acidez intestinal favorecem a absorção de cálcio e vice-versa. A acidez gástrica normal favorece a formação de cloretos solúveis. Mesmo os sais de ácidos mais fortes são solubilizados se o alimento for retido no estômago por um tempo suficiente. No nível do duodeno, o pH atingirá as formas críticas em que o cálcio poderá formar fosfatos ácidos solúveis ou fosfatos básicos insolúveis. Um aumento da flora intestinal acidófila (lactobacilos) melhora as condições de absorção cálcica (CISTERNAS et al., 2001).

Como a absorção de cálcio é dependente de pH ácido, ocorre com maior intensidade no duodeno, e vai diminuindo no restante do intestino, à medida que a alcalinidade aumenta (COBAYASHI, 2004).

A presença de quaisquer substâncias que determinem à formação de sais insolúveis desfavorece a absorção do cálcio. Tal é o caso do ácido fítico, comumente presente em grãos de cereais (daí o chamado efeito raquitogênico, como o da aveia); o oxalato de origem vegetal, ácidos cítrico e tartárico também possuem efeito semelhante. Quando a absorção de gorduras está prejudicada, há acúmulo de ácidos graxos intestinais que reagem com o  $\text{Ca}^{++}$ , formando os sabões correspondentes, que são insolúveis. Foi também observado que com uma dieta rica em proteínas, a absorção do cálcio se eleva e, em dieta pobre, diminui (CISTERNAS et al., 2001).

A vitamina D promove a absorção intestinal do cálcio, agindo conjuntamente com o hormônio paratiróideo, cuja ação sobre a mucosa é a de favorecer o transporte ativo dos íons  $\text{Ca}^{++}$ , mesmo contra um considerável gradiente de concentração. A vitamina D parece se opor ao efeito raquitogênico e anticalcificante do ácido fítico, provavelmente estimulando

a produção de fitase pelas células da mucosa; esta enzima promoveria a destruição daquele ácido, favorecendo as condições de absorção do Ca (CISTERNAS et al., 2001).

Como a vitamina D também está disponível a partir da ação da luz solar nos tecidos subcutâneos, a quantidade necessária a partir de fontes dietéticas depende de fatores não dietéticos, tais como fatores geográficos e o tempo passado sob luz solar (BUZINARO et al., 2006).

### **3.3.3 Cálcio no sangue**

Segundo Cisternas et al. (2001), o cálcio plasmático encontra-se sob duas formas sob o ponto de vista fisiológico: a fração difusível (50-60%) corresponde ao cálcio ionizado, que é a fração fisiologicamente ativa, capaz de atravessar as membranas semipermeáveis, assim como as paredes dos capilares; a fração não difusível (40-50%) (não ionizada) consta de cálcio associado às proteínas séricas e que não consegue atravessar as membranas semipermeáveis. Quando se faz a dosagem de cálcio do sangue, mede-se sempre a soma dessas frações. Existe uma terceira forma de cálcio no plasma, sob a forma de complexos, especialmente citratos e bicarbonatos. Estes são difusíveis, mas não ionizados e, portanto, fisiologicamente inativos (CISTERNAS et al., 2001).

### **3.3.4 Excreção do cálcio**

Conforme Cisternas et al. (2001), o cálcio pode abandonar o sangue através das secreções digestivas, especialmente a bile, sendo lançado na luz intestinal. Todavia, quase todo cálcio é reabsorvido, sendo muito pequena a excreção real de cálcio pelas fezes. O cálcio é praticamente todo ele excretado por via renal. Com a ingestão de 1000mg e a secreção de 600mg, tem-se no conteúdo intestinal o total de 1600mg, dos quais 600mg são absorvidos, sendo o restante eliminado nas fezes. Assim sendo, o cálcio fecal é consideravelmente intenso, porém, refere-se ao cálcio ingerido; qualquer fator que interfere com a absorção do cálcio aumentará a quantidade excretada nas fezes.

Segundo os mesmos autores, calcula-se que em 24h, haja filtração renal de 10g de Ca pelos túbulos renais, porém só é excretado cerca de 200mg pela urina, sendo o remanescente reabsorvido nos túbulos. A reabsorção tubular do cálcio é controlada pelo paratormônio, associado à vitamina D. A presença do hormônio aumenta a reabsorção tubular, e, portanto, diminui a calciúria; a carência de vitamina D, ao contrário, reduz a excreção urinária do cálcio. O limiar renal da excreção do cálcio situa-se entre 6,5-8,0/100mL de plasma, não sendo eliminado em taxas inferiores. Todavia o rim não responde imediatamente à elevação de calcemia; mesmo em estados de acentuada hipercalcemia, o rim reabsorve quase todo cálcio do filtrado glomerular, mantendo os mesmos níveis de excreção.

# **CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO**

Baseado em resultados de trabalhos anteriores realizados no Laboratório de Bioquímica de Alimentos da FURG, onde foram estudadas condições de fermentação de multimisturas empregando farelo de trigo e folha de mandioca, constatando-se que a fermentação trouxe parâmetros positivos para o valor nutricional das multimisturas, este trabalho pretendeu estudar a influência do farelo de arroz da região sul do Rio Grande do Sul em multimisturas fermentadas ou não, com a presença ou não de folha de mandioca e ainda comparar este farelo com o farelo de trigo nos termos físico-químicos e biológicos, utilizando ratos como modelo.

Para melhor apresentação dos resultados obtidos no desenvolvimento deste trabalho, optou-se pela divisão em dois artigos que englobam:

#### **1º) EFEITOS DA FERMENTAÇÃO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E NUTRICIONAIS DO FARELO DE ARROZ.**

Artigo submetido para avaliação e publicação em 13/12/2006 à Revista *Ciência e Tecnologia de Alimentos* – Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos (SBCTA)

#### **2º) INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO E DA FERMENTAÇÃO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E NUTRICIONAIS DE MULTIMISTURAS**

#### **3º) RESPOSTA BIOLÓGICA A DIFERENTES DIETAS CONTENDO MULTIMISTURAS FERMENTADAS E NÃO FERMENTADAS E FARELOS DE TRIGO OU ARROZ**



**CAPÍTULO III.1 – EFEITOS DA  
FERMENTAÇÃO NAS PROPRIEDADES  
FÍSICO-QUÍMICAS E NUTRICIONAIS DO  
FARELO DE ARROZ**

## ARTIGO I

### EFEITOS DA FERMENTAÇÃO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E NUTRICIONAIS DO FARELO DE ARROZ

Vivian Feddern; Eliana Badiale-Furlong; Leonor Almeida de Souza-Soares

#### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a disponibilização de nutrientes no farelo de arroz através de um processo de fermentação utilizando *Saccharomyces cerevisiae* como inóculo e caracterizar os farelos não fermentado e fermentado química e nutricionalmente. Os parâmetros definidos para a fermentação foram 3% de levedura, 30% de umidade e um intervalo de 6 horas a 30°C. A caracterização físico-química foi realizada segundo AOAC (2000), a digestibilidade *in vitro* e metionina disponível por método enzimático, cálcio por complexometria, açúcares redutores por espectrofotometria e micotoxinas pelo multimétodo de TANAKA (2001). Observou-se que os açúcares redutores variaram de 3,4 a 4,8% durante 6 horas de fermentação. Comparando-se o farelo não fermentado com o fermentado, o pH diminuiu de 6,5 para 5,8, a acidez, os minerais e as fibras variaram de 2,1 a 4,7%, de 10,5 a 11,9% e de 9,4 a 9,9%, respectivamente. A digestibilidade *in vitro* e os teores de lipídios, proteínas e cálcio não variaram significativamente com a fermentação.

**Palavras-chave:** farelo de arroz; fermentação; *S. cerevisiae*; digestibilidade.

#### ABSTRACT

FERMENTATION EFFECTS ON RICE BRAN PHYSICO-CHEMICAL AND NUTRITIONAL PROPERTIES. The objective of this work was to evaluate the availability of nutrients in rice bran through a solid-state fermentation process, using *Saccharomyces cerevisiae* as starter and characterize the fermented and not fermented brans phisico-chemical and nutritionally. The defined parameters for the fermentation were 3% of yeast, 30% of humidity and an interval of 6 hours at 30°C. The proximal composition was accomplished according to official methodology (AOAC, 2000), pH and acidity by ADOLFO LUTZ Institute (1985), *in vitro* digestibility and available methionine by enzymatic method, calcium by complexiometry, reducing sugars by spectrophotometry and mycotoxins by TANAKA'S multimethod (2001). It was observed that the reducing sugars varied from 3,4 to 4,8% during a 6h fermentation period. Comparing the not fermented bran with the fermented one, pH, available methionine

and carbohydrates decreased respectively from 6,5 to 5,8, from 4,4 to 4,2mg/g and from 46,3% to 44,1%, while acidity, ashes and fibers presented a variation from 2,1 to 4,7%, 10,5 to 11,9% and 9,4 to 9,9%, respectively. *In vitro* digestibility and lipids, protein and calcium contents didn't varied significantly with fermentation process.

**Key-words:** rice bran; fermentation; *S. cerevisiae*; digestibility.

## 1 INTRODUÇÃO

O farelo é obtido a partir do arroz após o seu descascamento, correspondendo a 5-8% do grão. Nele estão presentes fibras, aminoácidos e sais minerais como ferro, fósforo e magnésio, capazes de reduzir o excesso de colesterol do sangue e cálculos renais (SILVA et al., 2006).

Entre seus nutrientes, o farelo de arroz contém entre 11 e 13% de proteína bruta, aproximadamente 11,5% de fibras, sendo ainda uma boa fonte de lipídios. Pode conter mais de 20% do seu peso em óleo, o que muitas vezes limita seu uso, uma vez que a gordura é altamente insaturada e oxidável, particularmente se o grão não é parboilizado, ocorre a rancidez logo após sua produção na indústria (SILVA et al., 2006), embora o farelo de arroz possua também componentes antioxidantes e funcionais, entre eles, o orizanol e tocotrienol. (SEETHARAMAIAH e CHANDRASEKHARA, 1993, citados por LEMOS e SOUZA-SOARES, 2000).

O farelo integral é normalmente destinado para rações ou para produção de óleo e o subproduto desengordurado restante é pouco valorizado pelas indústrias arroseiras. Como o farelo possui baixo valor comercial e vários nutrientes, ele tem sido incorporado em multimisturas para distribuição em creches e programas sociais, mas há controvérsias quanto ao seu emprego, decorrente da indisponibilidade de alguns nutrientes e da toxicidade atribuída a outros. Além disso, o farelo por ser a porção mais externa do grão, pode ser uma fonte de contaminantes de várias origens, especialmente fúngica (BADIALE-FURLONG, 2005).

O estresse, o desbalanço de nutrientes e as condições ambientais propiciam o crescimento de fungos e a possível produção de micotoxinas, que são metabólitos secundários associados ao aparecimento de efeitos patológicos em animais e humanos (D'MELLO e McDONALD, 1997, SWEENEY e DOBSON, 1998). Em estudos com farelo de arroz desengordurado, foi constatado que dentre 40 amostras, 18% apresentaram contaminação com micotoxinas que caracterizam contaminação no campo, como o

deoxinivalenol e a zearalenona e durante o armazenamento, como a aflatoxina B<sub>1</sub> e ocratoxina A (FURLONG et al., 1998; FURLONG et al., 1999; GARDA et al., 2002).

Entre as formas de aumentar a disponibilidade de nutrientes em matérias-primas, estão os processos fermentativos, que implicam no emprego de microrganismos para obter transformações resultantes da atividade metabólica dos mesmos (WAINWRIGHT, 1995). Esses processos podem tornar os alimentos mais nutritivos por aumentar a digestibilidade e a palatabilidade, com um odor mais agradável. As leveduras se destacam como uma excelente fonte de proteínas, não apenas pela sua capacidade de sintetizá-las e a outros compostos, mas também por suas características não patogênicas, podendo ser usadas tanto como alimento para humanos quanto como ração (RODRIGUES e SANT'ANNA, 2001), sendo por isto utilizadas em diversas formulações alimentícias (CHAUD e SGARBIERI, 2006)

As vantagens de empregar *Saccharomyces cerevisiae* como agente transformador são a simplicidade da técnica amplamente conhecida, a classificação microrganismo GRAS (*Generally Recognized as Safe*) e a possibilidade de disponibilizar nutrientes em cereais e derivados (AQUARONE et al., 2001).

A partir destas considerações, o objetivo deste trabalho foi avaliar a disponibilização de nutrientes no farelo de arroz através de um processo de fermentação em estado sólido utilizando como inóculo levedura de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*), através da caracterização físico-química e nutricional.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostra

A amostra utilizada foi o farelo de arroz integral obtido do processamento do arroz branco, cedido pelo Engenho Coradini, Dom Pedrito, RS.

A granulometria do farelo de arroz foi determinada em agitador de peneiras eletromagnético (Bertel) de 60Hz, durante 15 minutos, tomando-se 100g de amostras como quantidade inicial, as quais foram colocadas na peneira de Tyler 14 (1,18mm), a qual foi acoplada acima de outras quatro peneiras de diferentes malhas. O mesmo procedimento foi repetido duas vezes.

### 2.2 Fermentação com *S. cerevisiae*

O farelo de arroz, depois de peneirado, foi submetido à fermentação em estado sólido com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (3%p/p) na forma de fermento liofilizado

instantâneo. Esta foi dissolvida em água destilada até o farelo atingir 30% de umidade. O processo foi realizado em estufa com circulação de ar a 30°C (Quimis Q-314D242), em bandejas de alumínio de dimensões (comprimento x largura x altura da camada de farelo) 40cm x 25cm x 1 cm, durante 6h. A cada hora de fermentação, foram tomadas alíquotas de farelo, até completar 6h. O material foi armazenado sob refrigeração para posterior realização das determinações.

### 2.3 Composição físico-química

Lipídios, cinzas, fibras e proteínas foram determinados segundo procedimentos descritos pela AOAC (2000), sendo carboidratos estimados por diferença. A acidez e o pH foram determinados segundo normas do Instituto ADOLFO LUTZ (1985).

### 2.4 Digestibilidade *in vitro*

A digestibilidade *in vitro* foi realizada por ação enzimática da pepsina (atividade específica de 107 µg tirosina/min/mg prot) e pancreatina (atividade específica de 24 µg tirosina/min/mg prot). Inicialmente foram tomadas 2,5g de amostra, as quais foram transferidas para erlenmeyer de 125mL, onde foram adicionados 10mL de solução de pepsina 1,5mg/mL em HCl 0,1N, e uma gota de tolueno, a fim de prevenir o desenvolvimento microbiano. As amostras foram mantidas sob agitação (90rpm) em agitador (B.Braun Biotech International) a 37°C por 3 horas. Ao final o pH das amostras foi elevado a 7,0, utilizando solução de NaOH 0,3N. Foram acrescentados 10mL de solução de pancreatina (ICN Biomedicals Inc.) 1,5mg/mL em tampão fosfato pH 8,0. As amostras foram mantidas sob agitação (130rpm) a 37°C por 24 horas. Após a hidrólise, as amostras foram centrifugadas (Presvac 5363 DSC-16-RV) e filtradas. Deste filtrado foi tomada uma alíquota de 10mL e a esta foram adicionados 10mL de solução de TCA 40%, para precipitação do material não digerido, ficando as amostras em repouso por 1 hora no refrigerador. As misturas foram centrifugadas e filtradas. Deste segundo filtrado foi retirada uma alíquota de 1,0mL e o volume elevado a 10mL em balão volumétrico. Desta solução diluída foi transferida uma alíquota de 0,7mL para tubo de ensaio e neste se adicionou 5,0mL de solução alcalina (Carbonato de Sódio + Sulfato de Cobre + Tartarato de Sódio e Potássio) e 0,3mL de água destilada. Os tubos de ensaio foram colocados em banho-maria (Biomatic 1053/522) a 37°C durante 10 minutos. Ao final desse tempo foram adicionados em cada tubo 0,5mL de solução do reagente Folin-Ciocalteu em água (1:2) e os tubos foram mantidos em repouso à temperatura ambiente por 20 minutos. A determinação de aminoácidos liberados foi realizada pelo método de LOWRY et al. (1951). A leitura foi

efetuada em espectrofotômetro UV-Visível (Varian Cary 100 conc) em comprimento de onda de 660nm. Os cálculos foram realizados com base em curva padrão de tirosina, cuja concentração variou entre 3 e 10 $\mu$ g/mL.

## **2.5 Metionina disponível**

Para a determinação de metionina disponível foi utilizado o filtrado obtido após a hidrólise descrita no item 2.4, do qual foi transferida uma alíquota de 1,0mL para tubo de ensaio, onde foram adicionados 0,5mL de solução de NaOH 5N e 1,0mL de solução de nitroprussiato de sódio 2,5% e 1,0mL de água. Após 5 minutos, foi acrescentado 1,0mL de solução de ácido clorídrico 8N. Transcorridos mais 5 minutos, foi realizada leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda de 510nm. Os cálculos de concentração foram realizados com base em curva padrão de metionina, cuja concentração variou entre 50 e 170  $\mu$ g/mL (FARIA et al., 2005, adaptado de BADIALE, 1979).

## **2.6 Cálcio**

As amostras foram incineradas a 550°C em mufla (Quimis) e o cálcio foi determinado dissolvendo-se as cinzas das amostras em HCl 1:1 com aquecimento suave (50°C). Em seguida as amostras foram filtradas para eliminação do material insolúvel. O filtrado foi transferido para balão volumétrico de 100 mL, no qual foram colocadas duas gotas de ácido nítrico para não haver oxidação, aferindo-se o volume com água destilada. Do balão, foram retiradas duas alíquotas de 20 mL da solução contendo a amostra e transferidas para erlenmeyers de 250 mL, aos quais foram adicionadas 50mL de água destilada, agitando-se. Logo, foram adicionados 20 mL de solução de trietanolamina 30%, agitando-se novamente (ADOLFO LUTZ, 1985). Em seguida foi adicionado quantidade suficiente de NaOH 40% até o pH ficar entre 10 e 12. A solução foi então titulada com EDTA sódico até desaparecimento da turbidez, utilizando 3 a 5 gotas do indicador murexida 0,5%.

## **2.7 Açúcares redutores**

Foram determinados no tempo zero e a cada hora de fermentação durante seis horas, segundo MILLER (1959), sendo a leitura realizada em espectrofotômetro a 546nm. Os cálculos de concentração foram realizados com base em uma curva padrão de glicose, cuja concentração variou entre 15 e 50 $\mu$ g/ml.

## 2.8 Caracterização Micotoxicológica

No farelo de arroz não fermentado foi avaliada a ocorrência das seguintes micotoxinas: aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, ocratoxina A, zearalenona e deoxinivalenol.

Os padrões de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, deoxinivalenol (DON), ocratoxina A (OTA) e zearalenona (ZEA) foram adquiridos da Sigma Chemical Company.

A determinação de micotoxinas foi realizada pelo método de Tanaka (2001). Os extratos foram submetidos à triagem, confirmação por derivação química, segundo Soares e Rodriguez-Amaya (1989). A quantificação foi realizada empregando visualização sob luz UV comparativamente à fluorescência de padrões.

Para a visualização de DON e ZEA em cromatografia de camada delgada (CCD), os cromatogramas foram revelados com uma solução etanólica de cloreto de alumínio 15% e a placa cromatográfica aquecida a 105°C por 10 minutos antes da leitura sob lâmpada UV para posterior confirmação e quantificação por cromatografia gasosa (CG).

A confirmação das amostras suspeitas de DON e ZEA também foi realizada por derivação química de acetilação com anidrido acético e piridina na proporção 1:1 segundo Golinski e Grabarkiewicz-Szczesna (1984).

## 2.9 Análise estatística

Os dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA), sendo as médias dos resultados comparadas entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância utilizando o Software *Statistica 6.0*.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 ilustra os dados obtidos durante a determinação da granulometria do farelo e o rendimento percentual do farelo de arroz em cada peneira.

Tabela 1: Rendimento do farelo de arroz.

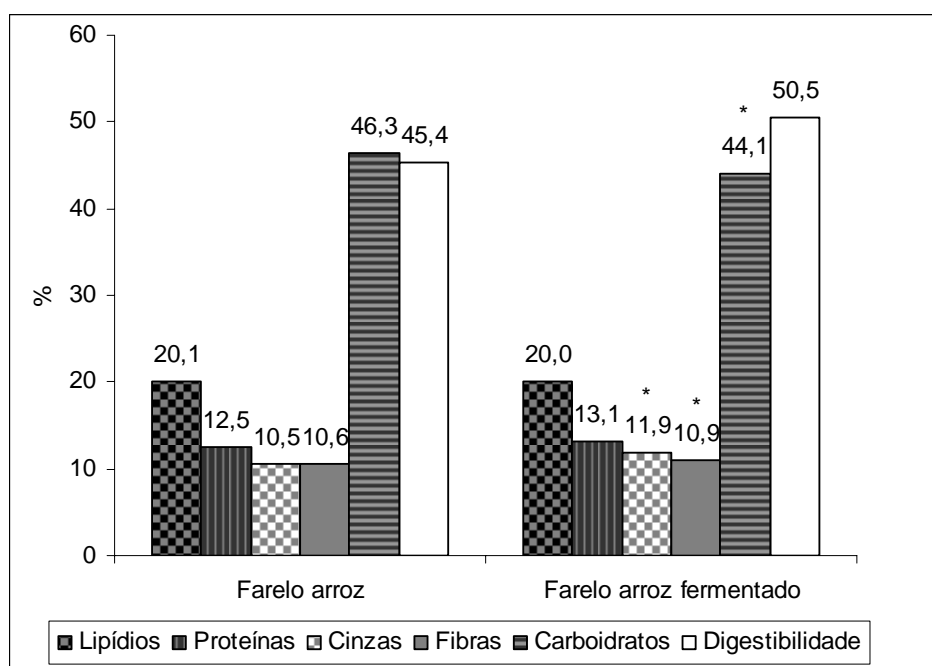
Malha	Média (g)	Descrição	Rendimento (%)
Ty 14 (1,18mm)	3,04±0,30	Grãos inteiros, quebrados, casca de arroz	3,0
Ty 32 (0,50mm)	41,20±3,95	Casca de arroz fina, farelo	41,2
Ty 42 (0,355mm)	29,56±8,82	Farelo	29,56
Ty 60 (0,25mm)	24,57±2,90	Farelo	24,57
Ty 80 (0,18mm)	0	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>98,38±2,26</b>		

Pode-se observar que em relação à matéria inicial, houve uma média de aproximadamente 45% em grãos inteiros, quebrados e cascas de arroz (Ty 14 e 32). O farelo limpo (Ty 42 e 60) foi encontrado em apenas 54% da matéria inicial, o que acarreta

em grandes perdas do produto, se o mesmo for utilizado para consumo humano, indicando a necessidade de rever o processo de separação do mesmo durante o processamento de arroz pela indústria.

Para a realização da fermentação e demais determinações, foi escolhido o farelo de Tyler 32, por proporcionar o maior rendimento.

A Figura 1 mostra a composição proximal em base seca (b.s.) e a digestibilidade dos farelos fermentado e não fermentado, sendo carboidratos por diferença.



\* Indica que há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os mesmos componentes entre os diferentes farelos.

Figura 1: Composição proximal e digestibilidade dos farelos.

No farelo fermentado, verificou-se um aumento no conteúdo de cinzas ( $p=0,012468$ ) e fibras ( $p=0,039018$ ), provavelmente devido aos teores intrínsecos da própria levedura que, conforme Chaud e Sgarbieri (2006), possui 3,8% de fibras e 1,4% de cinzas. Também se observou uma diminuição no conteúdo de carboidratos ( $p=0,047666$ ), o que pode ser explicado pela estimativa do seu conteúdo estar baseada na diferença das demais frações. Para os teores de lipídios, proteínas e digestibilidade *in vitro* não houve diferença significativa entre os farelos antes e após a fermentação. A variação da digestibilidade *in vitro* do farelo não fermentado em relação ao fermentado foi de 45,4 para 50,5%, porém esta diferença não foi significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), conforme o esperado em função do intervalo de 6 horas de fermentação e do metabolismo característico das leveduras.

O farelo de arroz apresentou conteúdo lipídico elevado, pois não foi desengordurado, estando o valor encontrado de acordo com Fuh e Chiang (2001), de 18,0% e Kahlon e Chow (2000), de 21,5% e abaixo do valor citado por Silva et al. (2006), de 26,5%. O conteúdo de proteínas também se assemelha ao encontrado por diversos pesquisadores (SILVA et al.,



2006; FUH e CHIANG, 2001; GONÇALVES et al., 1998). O conteúdo de cinzas está de acordo com Gonçalves et al. (1998), porém maior em relação aos valores encontrados por Fuh e Chiang (2001) e Silva et al. (2006) que encontraram 8,1 e 9,2% respectivamente. O conteúdo de fibras foi superior ao encontrado por Fuh e Chiang (2001), de 4,6% e Gonçalves et al. (1998), de 7,1%, mas inferior ao encontrado por Kahlon e Chow (2000), de 18,3%. O conteúdo de carboidratos foi semelhante ao valor encontrado por Silva et al. (2006), de 50,6%. Vale ressaltar que a composição do farelo de arroz varia dependendo do tipo de arroz e das técnicas de moagem utilizadas e estes resultados comparados refletem isto. Também os resultados da caracterização granulométrica realizada no farelo corrobora com estas discrepâncias com outros autores.

A Figura 2 apresenta o conteúdo de açúcares redutores durante 6 horas de fermentação.

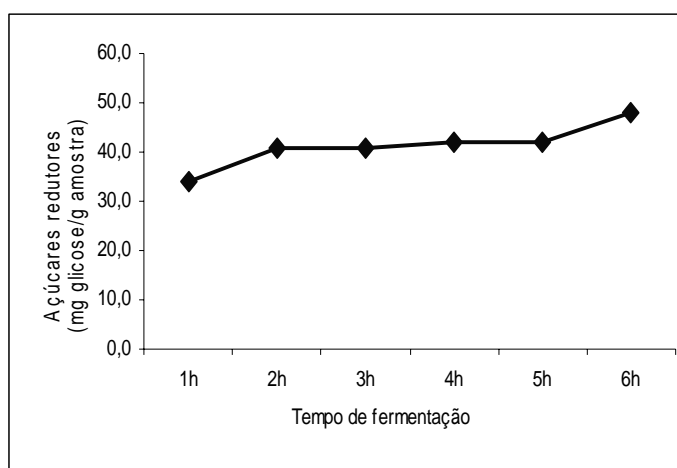


Figura 2: Açúcares redutores em função do tempo de fermentação.

Houve uma tendência de aumento dos açúcares redutores ao longo do tempo de fermentação. No tempo zero o conteúdo de açúcares redutores encontrado foi de 1% (não mostrado). Da primeira hora até a última, foi observada uma variação de 3,4 a 4,8% nos açúcares redutores, representando um incremento de 41%, devido à hidrólise dos açúcares presentes no farelo de arroz. Isto pode contribuir para melhorar as características sensoriais como o sabor doce.

A Tabela 2 mostra os resultados das determinações de cálcio, metionina ( $p=0,032412$ ), acidez ( $p=0,001604$ ) e pH ( $p=0,006142$ ) dos farelos. Apenas o teor de cálcio não apresentou diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre os farelos estudados.

Tabela 2: Valores de cálcio, metionina, acidez e pH dos farelos.

	Farelo arroz	Farelo arroz fermentado
Cálcio (%)	1,6 <sup>a</sup>	2,0 <sup>a</sup>
Metionina (mg/g)	4,43 <sup>a</sup>	4,16 <sup>b</sup>
Acidez (%)	2,1 <sup>a</sup>	4,7 <sup>b</sup>
pH	6,5 <sup>a</sup>	5,8 <sup>b</sup>

Letras diferentes para os mesmos componentes entre os farelos indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

A diminuição do pH com a fermentação, e conseqüente aumento de acidez, é um ponto positivo, pois pode propiciar uma melhora no período de conservação do farelo, uma vez que durante a fermentação aeróbia em presença de concentrações elevadas de açúcar também são produzidos álcoois.

Os valores de cálcio estão acima do valor encontrado por Fuh e Chiang (2001), de 0,57% e a fermentação não causou aumento significativo deste mineral, provavelmente pelo acréscimo de somente 3% de levedura em base seca.

Silveira (2005) citada por Faria et al. (2005), encontrou 2,0 mg/g de metionina disponível em farelo de trigo não fermentado, sendo que esse teor foi aumentado para 3,5 mg/g de amostra, após 72h de fermentação com *Rhizopus sp.* e 4,0 mg/g de amostra, após 72h de fermentação com *Aspergillus oryzae*. No presente trabalho, o teor de metionina diminuiu de 4,4 para 4,2mg/g, indicando uma possível degradação deste aminoácido durante a fermentação pela levedura, conforme descrito por Wainwright (1995) em relação à fermentação da farinha de milho com leveduras. Portanto, foi estipulado o tempo de 6 horas de fermentação, para não ocasionar degradação demasiada do aminoácido metionina.

Dentre as micotoxinas avaliadas houve suspeita da presença de zearalenona no farelo de arroz integral não fermentado, porém a mesma não foi confirmada.

#### 4 CONCLUSÕES

O farelo de arroz fermentado apresentou uma diminuição no pH e conseqüente elevação da acidez. Os açúcares redutores aumentaram em 41% ao longo das 6 horas de fermentação e as cinzas e fibras, em 13% e 2%, respectivamente. A metionina disponível e o conteúdo de carboidratos sofreram diminuição de 0,2mg/g e 4,8%, respectivamente. Os demais componentes não diferiram do farelo não fermentado.

Estes resultados sugerem a possibilidade de aumento do período de conservação e melhoria da palatabilidade dos farelos de arroz após a fermentação com *S. cerevisiae*.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ADOLFO LUTZ - **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**, v. 1, 3ª ed. São Paulo, 1985.
- [2] AOAC – **ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS**. Official Methods of Analysis, 17th edition, Washington, D. C., CD-ROM, 2000.
- [3] AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia industrial - Biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. 523 p.
- [4] BADIALE, E. **Varição de metionina em feijões (*Phaseolus vulgaris*)**. Campinas, 1979, 79p. Dissertação (Mestre em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- [5] BADIALE-FURLONG, E. **Manejo operacional para micotoxinas em arroz**. In: ELIAS, M. C.; LORINI, I.: Qualidade de arroz na pós-colheita. Anais do II Simpósio Sul - Brasileiro de qualidade de arroz. Pelotas: Abrapós/UFPEL, p. 95-109, 2005.
- [6] CHAUD, S. G.; SGARBIERI, V. C. Propriedades funcionais (tecnológicas) da parede celular de leveduras da fermentação alcoólica e das frações glicana, manana e glicoproteína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 369-379, abr.-jun., 2006.
- [7] D'MELLO, J. P. F.; MACDONALD, A. M. C. Mycotoxins. **Animal Feed Science and Technology**, v. 69, p. 155-166, 1997.
- [8] FARIA, A. F.; VASCONCELLOS, D. G. V.; SACCHET, F. S. **Multimistura: Um Estudo de propriedades físico-químicas, biológicas e disponibilização de nutrientes**. Rio Grande, 2005, 71p. Projeto de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos), Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG).
- [9] FUH, W. S.; CHIANG, B. H. Dephytinisation of rice bran and manufacturing a new food ingredient. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 1419-1425, 2001.

- [10] FURLONG, E. B.; SOARES, L. A. S.; VIEIRA, A. P.; DADALT, G. Aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em alimentos da região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 58, n. 2, p. 105-111, 1999.
- [11] FURLONG, E. B.; SOARES, L. A. de S.; DADALT, G. Micotoxinas em grãos destinados ao consumo humano no Rio Grande do Sul. In: IX Encontro Nacional de Micotoxinas e I Simpósio em Qualidade de Grãos do Mercosul, 1998, Florianópolis. **IX Encontro Nacional de Micotoxinas e I Simpósio em Qualidade de Grãos do Mercosul**. Florianópolis, SC: Universidade Federal de Santa Catarina, 1998. v. 1
- [12] GARDA, J.; OLIVEIRA, M. S.; FARIA, R.; SILVEIRA, S. T.; DORS, G. C.; MARTINS, R. M.; SCHWANKE, F.; GOLDBECK, L.; BERND, L.; CACCIAMANI, J.; BADIALE-FURLONG, E. **Produtos destinados ao consumo humano no Rio Grande do Sul: situação micotoxicológica**. In: XVII Congresso Regional de Iniciação Científica e Tecnológica em Engenharia e III Feira de Protótipos, Passo Fundo, RS, 2002.
- [13] GOLINSKI, P.; GRABARKIEWCZ-SZCZESNA, J. Chemical confirmatory tests for ochratoxin A, citrinin, penicillic acid, sterigmatocystin and zearalenone performed directly on thin-layer chromatographic plates. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 67, n. 6, p. 1108-1110, 1984.
- [14] GONÇALVES, A. A.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L. A.; SIERVS, S. T. Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 48, n. 4, p. 334-338, 1998.
- [15] KAHLON, T. S.; CHOW, F. I. Lipidemic response of hamsters to rice bran, uncooked or processed white and brown rice, and processed corn starch. **Cereal Chemistry**, v. 77, n. 5, p. 673-678, 2000.
- [16] LEMOS, M. R. B.; SOUZA-SOARES, L. A. de. Arroz e seus subprodutos na região sul do Brasil. **Vetor**, v. 10, p. 21-36, 2000.

- [17] LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent, **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- [18] MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 326-428, 1959.
- [19] RODRIGUES, A. M.; SANT'ANNA, E. S. Efeito do cloreto de sódio na produção de proteínas (*Saccharomyces cerevisiae*) em fermentação semi-sólida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 57-62, 2001.
- [20] SAMSON, R. A.; REENEN-HOEKSTRA, E. S. **Introduction to Food-Borne Fungi**. Es. Centraalbureau Voor Schimmelcultures, 299p, 1988.
- [21] SILVA, M. A. da.; SANCHES, C.; AMANTE, E. R. Prevention of hydrolytic rancidity in rice bran. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 487-491, 2006.
- [22] SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ocratoxina A, zearalenone, and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin-layer chromatographic method. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, n. 1, p. 22-26, 1989.
- [23] SWEENEY, M. J.; DOBSON, A. D. W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**, n. 43, 141-158, 1998.
- [24] TANAKA, T. Analysis of Mycotoxins. Textbook for contry focused training course: Mycotoxins analysis for federative republic of Brazil. **Hyogo International Centre Japan International Cooperation Agency: F. Y**, 40 p., 2001.
- [25] WAINWRIGHT, M. **Introducción a la Biotecnología de los Hongos**. Zaragoza, España: Acribia, 1995. 228 p.

## **6- AGRADECIMENTOS**

Ao Engenho doador do farelo de arroz

A CAPES, pela concessão da bolsa.

Ao CNPq e FAPERGS, pelo apoio financeiro.

**CAPÍTULO III.2 – INFLUÊNCIA DA  
COMPOSIÇÃO E DA FERMENTAÇÃO NAS  
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E  
NUTRICIONAIS DE MULTIMISTURAS**

## ARTIGO II

## INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO E DA FERMENTAÇÃO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E NUTRICIONAIS DE MULTIMISTURAS

Vivian Feddern, Stephanie Silva Pinto, Katiane Almeida Nogueira, Eliana Badiale-Furlong  
Leonor Almeida de Souza-Soares

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar físico-química e nutricionalmente 8 multimisturas, que diferiram quanto ao tipo de farelo (trigo ou arroz), presença ou ausência de pó de folha de mandioca e submissão ou não à fermentação em estado sólido com *Saccharomyces cerevisiae* durante 6h a 30°C. A composição proximal foi realizada segundo metodologia oficial (AOAC), pH e acidez segundo normas analíticas do Instituto ADOLFO LUTZ (1985), açúcares redutores por espectrofotometria, digestibilidade *in vitro* e metionina disponível por método enzimático. As multimisturas com farelo de arroz apresentaram médias dos teores de lipídios (18,1%), cinzas (14,1%), fibras (7,8%), acidez (3,1%), digestibilidade *in vitro* (80,8%) mais elevadas do que as multimisturas com farelo de trigo, as quais, por sua vez, apresentaram teores de proteínas (14,5%), carboidratos (68,9%) e pH (7,8) maiores que as com farelo de arroz. A digestibilidade *in vitro* variou de 62,1 a 81,2% e o conteúdo de metionina de 0,58 a 2,09mg/g. Os açúcares redutores apresentaram um decréscimo em função da fermentação. As multimisturas com farelo de arroz tiveram os maiores teores de lipídios, minerais, fibras, acidez e a maior digestibilidade *in vitro* com relação às multimisturas com farelo de trigo, as quais obtiveram os maiores valores de proteínas, carboidratos e pH. A presença da folha de mandioca nas multimisturas tornou-as mais ácidas. A fermentação ocasionou aumento nos conteúdos de proteína, minerais, fibras e também na acidez de algumas multimisturas, diminuindo os carboidratos e pH, causando ainda degradação de metionina, não alterando a digestibilidade *in vitro*.

**Palavras-chave:** Multimistura; Farelo; Fermentação; Metionina; Digestibilidade *in vitro*.

## ABSTRACT

This work aimed to evaluate physico-chemical and nutritionally eight "multimisturas", which differed from each other by the source of bran (rice or wheat bran), presence or not of cassava leaf powder and being or not submitted to a solid-state fermentation process with *Saccharomyces cerevisiae* during 6h at 30°C. The proximal composition was accomplished according to official methodology (AOAC), pH and acidity according to analytics norms of the ADOLFO LUTZ Institute (1985), reducing sugars by spectrophotometry, *in vitro* digestibility and available methionine by enzymatic method. The "multimisturas" with rice bran presented averages of lipids (18,1%), ashes (14,1%), fibers (7,8%), acidity (3,1%), *in vitro* digestibility (80,8%) higher than the "multimisturas" with wheat bran which presented proteins (14,5%), carbohydrates (68,9%) and pH (7,8) values higher than those "multimisturas" with rice bran. *In vitro* digestibility varied from 62,1 to 81,2% and the content of available methionine from 0,58 to 2,09mg/g. The reducing sugars presented a decrease due to fermentation. The "multimisturas" with rice bran presented higher contents of lipids, minerals, fibers, acidity and the higher *in vitro* digestibility than those "multimisturas" with wheat bran, which obtained the higher values of proteins, carbohydrates and pH. The presence of the cassava leaf in the "multimisturas" turned them more acid. The fermentation caused an increase in the protein



minerals and fibers contents and also in the acidity of some “multimisturas”, reducing carbohydrates and pH, still causing methionine degradation, not altering the *in vitro* digestibility.

**Key-words:** “Multimistura”; Bran; Fermentation; *in vitro* digestibility.

## 1 INTRODUÇÃO

O princípio geral da alimentação alternativa está baseado no uso e na reutilização de alimentos não-convencionais, como farelos de trigo e de arroz, pós de folhas verde-escuras, de sementes e de casca de ovo, introduzidos inicialmente pela Pastoral da Criança para combater a desnutrição infantil (MADRUGA e CÂMARA, 2000). A mistura destes ingredientes constitui a multimistura, sendo definida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária como: “produto obtido pela secagem, torragem, moagem e mistura de ingredientes de origem vegetal, podendo ser adicionada de leite em pó” (BRASIL, 2000).

Uma das formas de aumentar a disponibilidade de nutrientes e melhorar a digestibilidade de alimentos é a aplicação de um processo fermentativo (WAINWRIGHT, 1995). A submissão de matérias-primas à fermentação com leveduras tem se destacado como uma excelente forma de disponibilizar proteínas e outros compostos, não apenas pela capacidade de síntese, mas também porque a inclusão delas acarreta o aporte de micronutrientes (vitaminas e minerais) introduzidos sem o risco de patogenicidade aos alimentos destinados ao consumo humano ou em rações (RODRIGUES e SANT’ANNA, 2001).

Com o intuito de reutilizar alimentos não-convencionais e possibilitar a disponibilização de nutrientes através de um processo fermentativo, este trabalho objetivou avaliar físico-química e nutricionalmente multimisturas formuladas com diferentes farelos de cereais fermentados e não fermentados com *Saccharomyces cerevisiae*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL

#### 2.1.1 Matérias - Primas

As matérias-primas utilizadas na produção das multimisturas foram farelo de trigo, farelo de arroz integral, farinha de milho, semente de girassol, pó de folha de mandioca e casca de ovo. Todas foram adquiridas no comércio local, com exceção do farelo de arroz, que foi cedido por uma indústria arroseira da região, e das cascas de ovo, obtidos em padarias. A levedura utilizada na fermentação (*Saccharomyces cerevisiae*) foi obtida na forma de fermento liofilizado instantâneo, adquirido comercialmente.

## 2.2 METODOLOGIA

### 2.2.1 Multimisturas

As multimisturas (MM) foram elaboradas no Laboratório de Bioquímica de Alimentos da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), segundo formulações estudadas anteriormente por Faria et al. (2005) no mesmo local, utilizando farelo de trigo. Neste estudo, além da utilização do farelo de trigo, foi também avaliada a substituição por farelo de arroz como principal ingrediente da formulação. As multimisturas foram preparadas de acordo com o esquema da Figura 1.

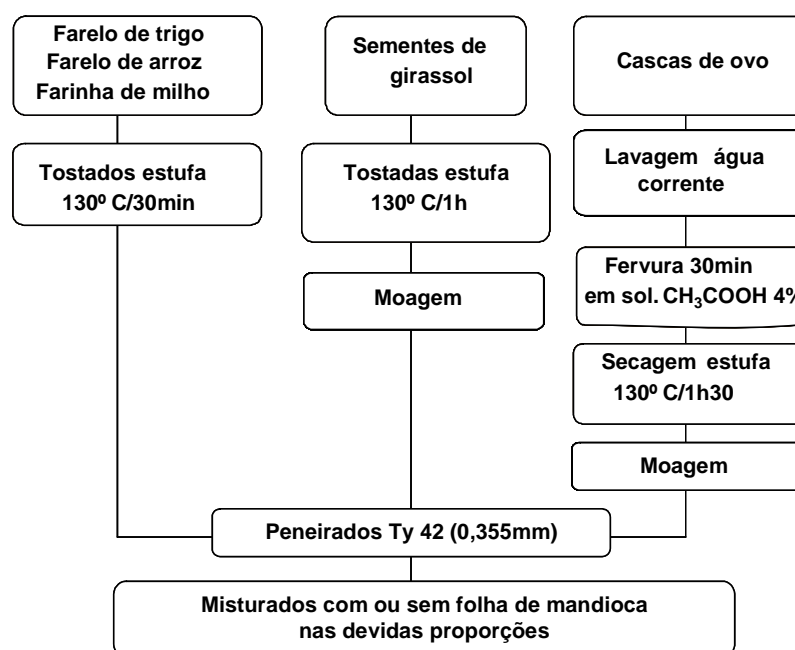


Figura 1: Preparo das matérias-primas que misturadas constituíram as multimisturas.

As formulações das multimisturas utilizadas encontram-se na Tabela 1. As multimisturas pares continham farelo de arroz como ingrediente majoritário e as ímpares, farelo de trigo. As quatro primeiras continham folha de mandioca em sua formulação e as quatro últimas tiveram suas porcentagens ajustadas em função da ausência desta matéria-prima. Das oito multimisturas estudadas, quatro foram fermentadas em estado sólido com 3% de inóculo (*Saccharomyces cerevisiae*), adicionado à multimistura após 10 minutos de descanso em água suficiente para atingir 40% de umidade. As multimisturas foram homogeneizadas manualmente e submetidas à fermentação em estufa com circulação forçada de ar durante 6h/30°C em bandejas com dimensões (comprimento x largura x altura) 40 x 25 x 1 cm. Após foram trituradas em blender e peneiradas em Ty 42 (0,355mm), sendo armazenadas congeladas. As multimisturas não fermentadas foram somente peneiradas,

misturadas nas proporções segundo a Tabela 1 e armazenadas em recipientes de vidro com tampas plásticas em ambiente isento de luz com ventilação.

Tabela 1: Formulações das multimisturas estudadas.

<b>MULTIMISTURAS</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3F</b>	<b>4F</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7F</b>	<b>8F</b>
Farelo de trigo (%)	65	-	65	-	68,4	-	68,4	-
Farelo de arroz (%)	-	65	-	65	-	68,4	-	68,4
Farinha de milho (%)	20	20	20	20	21	21	21	21
Pó de folha de mandioca (%)	5	5	5	5	-	-	-	-
Pó de casca de ovo (%)	5	5	5	5	5,3	5,3	5,3	5,3
Pó de semente de girassol (%)	5	5	5	5	5,3	5,3	5,3	5,3

F: fermentadas.

### 2.2.1.1 Composição físico-química

Lipídios, cinzas, fibras e proteínas (%N x 5,75 para proteínas vegetais, conforme BRASIL, 2003) foram determinados segundo procedimentos descritos pela AOAC (2000), sendo carboidratos estimados por diferença e açúcares redutores por espectrofotometria a 546nm em cromóforo de reagente 3,5 dinitrosalicílico reduzido (MILLER, 1959), determinados a cada hora de fermentação. A acidez e o pH foram determinados segundo normas analíticas do Instituto ADOLFO LUTZ (1985).

### 2.2.1.2 Valor nutricional

O valor nutricional das multimisturas foi estimado mediante determinação da digestibilidade protéica *in vitro* e de metionina disponível. A digestibilidade *in vitro* foi realizada por digestão enzimática com pepsina (atividade específica de 107 µg tirosina/min\*mg prot) em HCl 0,1N e pancreatina (atividade específica de 24 µg tirosina/min\*mg prot) em tampão fosfato pH 8,0, sendo a determinação de aminoácidos liberados realizada pelo método de Lowry et al. (1951). As concentrações foram calculadas com base em curva padrão de tirosina, cuja concentração variou entre 3 e 11 µg/ml. A metionina disponível foi determinada a partir do hidrolisado resultante da ação da pancreatina e da pepsina, conforme Faria et al. (2005), adaptado de Badiale (1979), sendo as concentrações calculadas com base em curva padrão de metionina, cuja concentração variou entre 50 e 170 µg/mL.

### 2.2.2 Análise estatística

Foi realizada análise de variância (ANOVA), sendo que as médias das duplicatas de todas as determinações foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Composição físico-química das multimisturas

A Tabela 2 mostra os resultados da composição físico-química das multimisturas elaboradas, com os respectivos índices de significância.

Tabela 2: Composição físico-química das multimisturas elaboradas.

Multimistura	Proteína*	Lipídios*	Cinzas*	Fibras*	Carboidratos*	pH	Acidez**
MM1	14,4 <sup>a,b</sup>	6,9 <sup>a</sup>	8,6 <sup>a</sup>	2,8 <sup>a,c</sup>	67,4 <sup>a</sup>	8,3 <sup>a</sup>	1,0 <sup>a,d</sup>
MM2	11,2 <sup>c</sup>	17,4 <sup>b</sup>	13,6 <sup>b</sup>	6,4 <sup>b</sup>	51,4 <sup>b</sup>	7,4 <sup>b</sup>	2,7 <sup>b</sup>
MM3F	14,2 <sup>a,b</sup>	5,6 <sup>c</sup>	7,5 <sup>c</sup>	3,9 <sup>c</sup>	68,8 <sup>a</sup>	7,6 <sup>b</sup>	5,3 <sup>c</sup>
MM4F	13,8 <sup>b</sup>	18,5 <sup>d</sup>	15,1 <sup>d</sup>	11,0 <sup>d</sup>	41,6 <sup>c</sup>	6,8 <sup>c</sup>	5,1 <sup>c</sup>
MM5	13,5 <sup>b</sup>	4,3 <sup>e</sup>	7,1 <sup>c</sup>	2,3 <sup>a</sup>	72,8 <sup>d</sup>	8,3 <sup>a</sup>	0,8 <sup>a</sup>
MM6	11,3 <sup>c</sup>	18,3 <sup>d</sup>	13,8 <sup>b,e</sup>	5,7 <sup>b</sup>	50,9 <sup>b</sup>	7,6 <sup>b</sup>	2,1 <sup>b,d</sup>
MM7F	16,0 <sup>a</sup>	5,0 <sup>c,e</sup>	8,4 <sup>a</sup>	4,1 <sup>c</sup>	66,5 <sup>a</sup>	7,1 <sup>c</sup>	2,9 <sup>b</sup>
MM8F	12,7 <sup>b,c</sup>	18,1 <sup>b,d</sup>	14,1 <sup>e</sup>	8,3 <sup>e</sup>	46,8 <sup>e</sup>	6,8 <sup>c</sup>	2,5 <sup>b</sup>

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

\* % em base seca, sendo carboidratos estimados por diferença

\*\* em % de ácido oléico

MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca

MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca

MM3: idem MM1, fermentada

MM4: idem MM2, fermentada

MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca

MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca

MM7: idem MM5, fermentada

MM8: idem MM6, fermentada

F: fermentada

Os resultados da Tabela 2 mostram que as multimisturas MM1, MM3, MM5 e MM7, todas com farelo de trigo, e as multimisturas MM4 e MM8, com farelo de arroz fermentadas, apresentaram os maiores teores de proteína. Foi observado que, da MM2 para a MM4 houve um aumento de 23% de proteína, comparando-se a multimistura com farelo de arroz com a mesma fermentada. Houve também um aumento de 18% de proteína da MM5 para a MM7 (farelo de trigo não fermentada para a mesma fermentada), ou seja, a adição da levedura causou aumento da quantidade de proteína na multimistura. Entre a MM1 e a MM3, a diferença não foi significativa, o mesmo ocorrendo entre a MM6 e a MM8. A folha de mandioca não influenciou no teor protéico para nenhuma multimistura: comparando-se a MM1 com a MM5, a MM2 com a MM6, a MM3 com a MM7 e a MM4 com a MM8. Azeredo et al. (1999) e Madruga e Câmara (2000) encontraram valores para multimisturas de 12,3% e 13,6% de proteína, respectivamente, semelhantes aos do presente trabalho.

Quanto ao teor de lipídios, as multimisturas com farelo de arroz (MM2, 4, 6 e 8) em sua composição apresentaram os teores mais elevados, pois o farelo recebido da indústria

era integral, o que pode trazer problemas de rancificação, se não armazenado corretamente. Este alto valor de lipídios também foi encontrado por Azeredo et al. (1999), que trabalharam com farelo de arroz em uma multimistura. Do ponto de vista da estabilidade da multimistura, se aconselharia trabalhar com farelo de arroz desengordurado ou tostar o farelo a ser utilizado imediatamente após o recebimento da indústria para diminuir problemas de rancificação.

Em relação ao teor de cinzas, em algumas multimisturas, como a MM4 com farelo de arroz fermentada, comparada com a MM2, não fermentada, houve um aumento de 11% de minerais. O mesmo ocorrendo da MM7 com relação a MM5, onde o aumento foi de 18%. No geral, as multimisturas que continham farelo de arroz em sua composição apresentaram maior conteúdo de minerais, o que diferiu das multimisturas com farelo de trigo. Vizeu et al. (2005) avaliaram uma multimistura com 84% de farelo de trigo, 8% de folha de mandioca e 8% de pó de casca de ovo, encontrando 6,5% de minerais, valor este próximo ao obtido neste trabalho para as multimisturas com farelo de trigo. Todas multimisturas apresentaram conteúdo mineral superior ao mínimo estipulado pela legislação, que é de 5,5% (BRASIL, 2000).

O teor de fibras foi menor nas multimisturas com farelo de trigo, tanto com folha de mandioca, como sem. A fermentação aumentou o teor de fibras em 72% comparando a multimistura 2 com a 4, para 78%, comparando a multimistura 5 com a 7 e, por último, para 46%, comparando a multimistura 6 com a 8, provavelmente devido à indigestibilidade da parede celular da própria levedura. A folha de mandioca não ocasionou mudanças nos conteúdos de fibra bruta. Segundo BRASIL (2000), uma multimistura deve conter no mínimo 8% de fibras, sendo que neste trabalho, somente as multimisturas com farelo de arroz fermentadas ultrapassam o valor estipulado: a MM4, com 11% e a MM8, com 8,3%.

A multimistura 5 foi a que apresentou o maior conteúdo de carboidratos (72,8%) e um dos menores teores de lipídios (4,3%). Em seguida, as demais multimisturas com farelo de trigo foram as que tiveram os maiores valores para carboidratos, os quais não diferiram entre si. Comparando-se as multimisturas 2 e 4, 5 e 7, 6 e 8, observou-se que todas apresentaram uma diminuição do conteúdo de carboidratos, provavelmente devido ao consumo dos mesmos pela levedura durante a fermentação. Mais uma vez, a presença da folha de mandioca não influenciou os teores de carboidratos.

Com a fermentação, as amostras tiveram uma queda média de pH em 0,8 pontos de pH, comparadas às mesmas amostras não fermentadas. A folha de mandioca não interferiu no valor de pH. Além da modificação no pH, a acidez aumentou com a fermentação, contudo as amostras MM6 e MM8, não diferiram quanto à acidez. As multimisturas menos ácidas foram aquelas formuladas com farelo de trigo não fermentadas (MM1 e MM5) e as mais ácidas foram aquelas com folha de mandioca em sua composição e fermentadas (MM3

e MM4) que obtiveram 5,3% e 5,1% de acidez, respectivamente, provavelmente devido aos compostos cianógenos que a folha apresenta e à produção de álcoois durante a fermentação.

### 3.2 Digestibilidade protéica e Metionina disponível das multimisturas

A Tabela 3 mostra a digestibilidade *in vitro* das multimisturas, bem como a quantidade de metionina disponível em mg/g de amostra.

Tabela 3: Digestibilidade protéica *in vitro* e metionina disponível

Multimistura	Digestibilidade (%)	Metionina (mg /g)
MM1	74,6±3,40 <sup>a</sup> (4,56%)	2,09±0,06 <sup>a</sup>
MM2	81,2±0,57 <sup>a,b</sup> (0,70 %)	1,36±0,01 <sup>b</sup>
MM3	73,7±2,65 <sup>a</sup> (3,60%)	1,12±0,16 <sup>b</sup>
MM4	79,4±0,74 <sup>a,b</sup> (0,94%)	0,58±0,01 <sup>c</sup>
MM5	73,9±2,85 <sup>a</sup> (3,85%)	1,66±0,03 <sup>d</sup>
MM6	84,4±2,18 <sup>b</sup> (2,58%)	1,89±0,00 <sup>a,d</sup>
MM7	62,1±1,25 <sup>c</sup> (2,01%)	1,38±0,05 <sup>b</sup>
MM8	78,3±1,74 <sup>a,b</sup> (2,22%)	0,63±0,11 <sup>c</sup>
Casca de ovo	5,8±0,05 <sup>d</sup> (0,81%)	

Os resultados estão apresentados como média ± desvio padrão. Para a digestibilidade foi admitido um coeficiente de variação (CV) até 5%.

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca

MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca

MM3: idem MM1, fermentada

MM4: idem MM2, fermentada

MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca

MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca

MM7: idem MM5, fermentada

MM8: idem MM6, fermentada

As digestibilidades protéicas *in vitro* das multimisturas com farelo de arroz (MM2, 4, 6 e 8) não diferiram entre si, apresentando-se, geralmente, mais elevadas que as contendo farelo de trigo. A fermentação das multimisturas não ocasionou mudança na digestibilidade, com exceção da amostra 7 que apresentou digestibilidade inferior a amostra 5. A multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca fermentada (MM3) apresentou maior

digestibilidade do que a sem folha fermentada (MM7). A presença ou não de folha de mandioca não alterou o conteúdo de metionina disponível entre as amostras fermentadas: comparando-se a MM3 com a MM7, a MM4 com a MM8, e entre as não fermentadas no caso da MM2, em relação a MM6. A digestibilidade *in vivo* realizada em hamsters, utilizando dietas compostas de farelo de arroz, segundo Kahlon e Chow (2000), se apresentou em torno de 82%, valores próximos aos encontrados no presente trabalho em relação às multimisturas MM2, MM4, MM6 e MM8.

Os resultados da Tabela 3 sugerem que o aminoácido metionina foi degradado durante o processo fermentativo, o que era esperado, pois segundo Wainwright (1995), a fermentação altera a composição de aminoácidos de farinhas, aumentando a concentração de lisina, enquanto que diminui a quantidade de metionina. Comparando-se as multimisturas não fermentadas com as fermentadas, houve diferença significativa entre elas, observando-se que: da MM1 para a MM3, houve redução de 0,97mg/g; da MM2 para a MM4, a redução foi de 0,78mg/g; da MM5 para a MM7, a redução foi de 0,28mg/g e da MM6 para a MM8, houve 1,26mg/g de redução no teor de metionina disponível. Madruga e Câmara (2000) avaliaram uma multimistura que continha 1,25mg/100g de metionina, sendo o primeiro aminoácido limitante nesta multimistura.

Faria et al (2005) encontraram 6mg/g de metionina disponível por grama de amostra para multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca e para a mesma multimistura fermentada, 5,9mg/g. Para a multimistura sem folha não fermentada, um valor de 6,9mg/g e de 5,5mg/g para a mesma fermentada, observando-se que naquele estudo não houve diferença de metionina entre as multimisturas estudadas. Sganzerla et al. (2006) avaliaram multimisturas com farelo de trigo e folha de beterraba, encontrando valores de 2,1 a 4,5mg/g, valores estes semelhantes aos encontrados neste trabalho. Lara et al. (2005), pela técnica da peroxidação com ácido fórmico e perfórmico antes da hidrólise ácida, encontraram valores de metionina para farelos de trigo de consumo humano e animal iguais a 0,36% (b.s) e 0,33% (b.s.), respectivamente, valores estes que estão próximos aos teores de metionina das multimisturas MM1 (0,20%) e MM5 (0,16%) do presente trabalho.

A digestibilidade encontrada para casca de ovo foi de 5,8%, valor considerado baixo devido à quantidade elevada de minerais presentes em sua composição, segundo Madruga e Câmara (2000), em torno de 37% e que, segundo Faria et al. (2005) contém 3,1% de proteína.

### **3.3 Açúcares redutores das multimisturas fermentadas**

A Figura 2 mostra a variação de açúcares redutores ao longo de 6h de fermentação com *S. cerevisiae* para as multimisturas fermentadas.

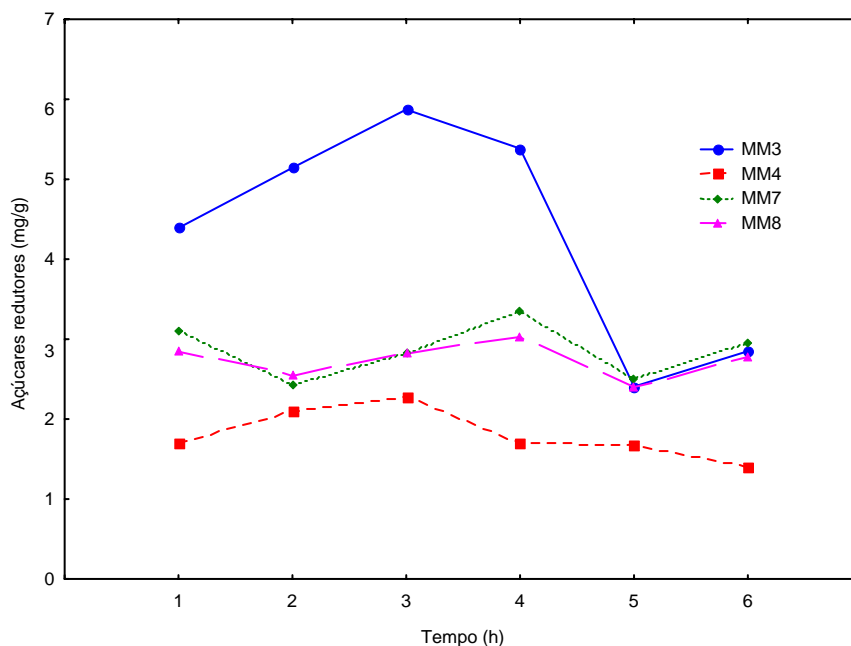


Figura 2: Açúcares redutores ao longo de 6h de fermentação.

MM3: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca, fermentada  
 MM4: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca, fermentada  
 MM7: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca, fermentada  
 MM8: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca, fermentada

Através do gráfico da Figura 2, pode-se observar um declínio após 4h de fermentação para todas as amostras analisadas, indicando que houve consumo dos açúcares pela levedura. Observa-se também certa analogia nos comportamentos das curvas das multimisturas 3 e 4, que possuem em comum a presença de folha de mandioca. Cabe mencionar os teores originais de seus carboidratos, 68,8% para MM3 e 41,6% para MM4, que conseqüentemente apresentou as menores quantidades de açúcares redutores. Por sua vez as multimisturas 7 e 8 possuem em comum a ausência da folha de mandioca e foram constituídas por farelos diferentes, cujos teores de carboidratos estão diminuídos em relação às multimisturas não fermentadas originais (MM5 e MM6).

#### 4 CONCLUSÕES

As multimisturas com farelo de arroz, em relação às com farelo de trigo, apresentaram os maiores teores de lipídios, minerais, fibras, acidez e a maior digestibilidade *in vitro*, apresentando diferença significativa em relação às multimisturas formuladas com farelo de trigo que obtiveram os maiores valores de proteínas, carboidratos e pH.

A presença da folha de mandioca nas multimisturas tornou-as mais ácidas que as demais, não influenciando significativamente nas demais avaliações realizadas.

A fermentação não alterou a digestibilidade protéica *in vitro* das multimisturas e pode ser considerada alta (76%), especialmente àquelas contendo farelo de arroz em sua



formulação (81%). No entanto, os teores de metionina disponível foram diminuídos em 47% nas amostras fermentadas.

Em algumas multimisturas, a adição de levedura causou aumento nos conteúdos de proteína, minerais, fibras e também na acidez. Ao contrário, causou diminuição no conteúdo de carboidratos e pH. Os açúcares redutores apresentaram uma tendência de diminuição com o tempo de fermentação.

## 5 REFERÊNCIAS

- ADOLFO LUTZ - **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**, v. 1, 3ª edição. São Paulo, 1985.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 17th edition, Washington, D. C., CD-ROM, 2000.
- AZEREDO, V. B. de.; BOAVENTURA, G. T.; CARMO, M. das G. T. do. Study of chemical characteristics and nutritional quality of two food - subproduct flour - multimixture. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 50, n. 2, Health Module. 145, Mar 1999. 4p.
- BADIALE, E. Variação de metionina em feijões (*Phaseolus vulgaris*). **Dissertação de Mestrado**. Campinas, 1979, 79p. (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.º 53 de 15 de junho de 2000. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelo de Cereais**. Brasília, 2000. 4p.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.º 360 de 23 de dezembro de 2003. **Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados**. Brasília, 2003.
- FARIA, A. F.; VASCONCELLOS, D. G. V.; SACCHET, F. S. **Multimistura: um estudo de propriedades físico-químicas, biológicas e disponibilização de nutrientes**. Rio Grande, 2005. 71p. Projeto de Graduação em Engenharia de Alimentos – Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- KAHLON, T. S.; CHOW, F. I. Lipidemic Response of Hamsters to Rice Bran, Uncooked or Processed White and Brown Rice, and Processed Corn Starch. **Cereal Chemistry**, v. 77, n. 5, p. 673-678, 2000.
- LARA, L. B. BORGES, F. M. de O.; SALIBA, E. de O. S.; SAAD, C. E. do P.; TEIXEIRA, E. A. Técnica da peroxidação para a determinação de metionina em amostras derivadas de ensaios de digestibilidade do trigo e seus subprodutos em frangos de corte. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 459-466, mar./abr., 2005.
- MADRUGA, M. S.; CÂMARA, F. S. The chemical composition of “Multimistura” as a food supplement. **Food Chemistry**, v. 68, p. 41-44, 2000.
- MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 326-428, 1959.

- RODRIGUES, A. M.; SANT'ANNA, E. S. Efeito do cloreto de sódio na produção de proteínas (*Saccharomyces cerevisiae*) em fermentação semi-sólida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 57-62, jan.-abr., 2001.
- SGANZERLA, J.; LORENZ, J. G.; PORTO, M. R. A. **Estudo do tempo de vida útil de multimisturas sob diferentes condições de armazenamento**. Rio Grande. 2006. 86p. Projeto de Graduação em Engenharia de Alimentos – Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- VIZEU, V. E.; FEIJÓ, M. B. S.; CAMPOS, R. C. de. Determinação da composição mineral de diferentes formulações de multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 254-258, abr.-jun., 2005.
- WAINWRIGHT, M. **Introducción a la Biotecnología de los Hongos**. Zaragoza, España: Acribia, 1995. 228 p.

**CAPÍTULO III.3 – RESPOSTA BIOLÓGICA  
A DIFERENTES DIETAS CONTENDO  
MULTIMISTURAS FERMENTADAS E NÃO  
FERMENTADAS E FARELOS DE TRIGO  
OU ARROZ**

### ARTIGO III

## RESPOSTA BIOLÓGICA A DIFERENTES DIETAS CONTENDO MULTIMISTURAS FERMENTADAS E NÃO FERMENTADAS E FARELOS DE TRIGO OU ARROZ

Vivian Feddern, Stephanie Silva Pinto, Katiane Almeida Nogueira, Eliana Badiale-Furlong  
Leonor Almeida de Souza-Soares

### RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar biologicamente multimisturas, utilizando ratas da cepa *Wistar/UFPEL* como modelo biológico. Foram formuladas 8 multimisturas que diferiram quanto ao tipo de farelo (trigo ou arroz), presença ou ausência de pó de folha de mandioca e submissão ou não à fermentação em estado sólido com *Saccharomyces cerevisiae* durante 6h a 30°C. As multimisturas foram peletizadas constituindo as dietas que foram administradas em ratas. A composição proximal das dietas e excretas foi realizada segundo metodologia oficial (AOAC, 2000). Os índices biológicos determinados foram Coeficiente de Eficácia Alimentar (FER), quociente de eficiência protéica (PER), quociente de eficiência líquida protéica (NPR) e digestibilidade *in vivo*. Coletaram-se fígados, baços e rins no final do experimento. Os testes bioquímicos realizados foram glicemia e cálcio plasmático. O FER<sub>m</sub>, o NPR<sub>m</sub> e o PER<sub>m</sub> das dietas contendo multimistura variaram, respectivamente de 0,17 a 0,22, de 1,31 a 1,61 e de 1,27 a 1,61 comparadas aos valores da caseína de 0,33, 2,22 e 2,30 respectivamente. A digestibilidade *in vivo* das dietas contendo multimistura formuladas com farelo de trigo foi superior às dietas contendo farelo de arroz, apresentando valores de 76,5 a 82,8%. Estes valores correspondem a até 85% da digestibilidade da caseína. Os valores médios de glicemia e de cálcio plasmático encontrados para ratas alimentadas com as oito dietas de multimistura foram 78,2 mg/dL e 10,3 mg/dL, respectivamente. Os fígados, baços e rins dos animais tiveram um peso médio de 5,19g, 0,38g e 1,17g, respectivamente. Os resultados permitiram concluir que a fermentação apresentou tendência de melhorar a eficiência alimentar, mas não influenciou na digestibilidade *in vivo*.

**Palavras-chave:** Multimistura; Farelo; Fermentação; Ratos; Digestibilidade *in vivo*.

### ABSTRACT

This work aimed to evaluate biologically "multimisturas" using female *Wistar/UFPEL* rats as biological model. Eight "multimisturas" were formulated, which differed from each other by the source of bran (rice or wheat bran), presence or not of cassava leaf powder and being or not submitted to a solid-state fermentation process with *Saccharomyces cerevisiae* during 6h/30°C. Pellets of "multimistura" were made, constituting the diets, which were administered in female rats. The proximal composition was realized according to official methodology (AOAC). The biological indexes determined were Feed Efficiency Ratio (FER), Protein Efficiency Ratio (PER), Net Protein Efficiency Ratio (NPR) and *in vivo* digestibility. Livers, spleens and kidneys were collected at the end of the experiment. The biochemical tests realized were glycemia and plasmatic calcium. FER<sub>m</sub>, NPR<sub>m</sub> and PER<sub>m</sub> of the diets containing "multimistura" varied, respectively from 0,17 to 0,22, from 1,31 to 1,61 and from 1,27 to 1,61 compared to the values of the casein of 0,33, 2,22 and 2,30, respectively. The *in vivo* digestibility of the diets containing "multimistura" with wheat bran was superior to the

diets containing rice bran, presenting values from 76,5 to 82,8%. These values correspond up to 85% of the casein digestibility. The medium values of glycemia and plasmatic calcium found for female rats fed with the eight diets were 78,2 mg/dL and 10,3 mg/dL, respectively. The livers, spleens and kidneys had a medium weight of 5,19g, 0,38g and 1,17g, respectively. The results allowed concluding that the fermentation presented tendency of improving the feed efficiency, but it didn't influence in the *in vivo* digestibility.

**Key-words:** "Multimistura"; Bran; Fermentation; Rats; *in vivo* digestibility.

## 1 INTRODUÇÃO

Uma das medidas adotadas para diminuir o quadro de desnutrição no Brasil está relacionada aos Programas de Suplementação Alimentar, nos quais se inclui a utilização de misturas à base de farelo de cereais, popularmente denominadas de multimistura (MADRUGA et al., 2004).

O uso das farinhas múltiplas ou multimisturas, mistura de alimentos não convencionais que enriquecem a alimentação habitual em minerais e vitaminas, começou na região de Santarém, no Pará. Devido à falta de recursos alimentares, houve procura de alternativas na produção local, que tivessem alto valor nutritivo, embora não fossem tradicionalmente consumidos pela população. Desta maneira, foram utilizados o farelo de arroz e folhas verdes e, pouco a pouco, incorporados outros alimentos, como as sementes trituradas e o pó de casca de ovo (BRANDÃO e BRANDÃO, 1988).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabeleceu uma Resolução para a multimistura, definindo a Mistura à Base de Farelo de Cereais como sendo o "produto obtido pela secagem, torragem, moagem e mistura de ingredientes de origem vegetal, podendo ser adicionada de leite em pó" (BRASIL, 2000).

Uma das formas de aumentar a disponibilidade de nutrientes e melhorar a digestibilidade de alimentos é a aplicação de um processo fermentativo. A fermentação implica no emprego de microrganismos para obter transformações resultantes da atividade metabólica dos mesmos (WAINWRIGHT, 1995).

Dentre os microrganismos, as leveduras têm se destacado como uma excelente fonte de proteínas e outros compostos, não apenas pela sua capacidade de sintetizá-las, mas também por suas características não patogênicas, podendo ser usadas tanto como alimento humano quanto como ração (RODRIGUES e SANT'ANNA, 2001).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar biologicamente multimisturas com diferentes farelos de cereais fermentados e não fermentados com *Saccharomyces cerevisiae*.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 MATERIAL**

#### **2.1.1 Matérias - Primas**

As matérias-primas utilizadas na produção das multimisturas foram farelo de trigo, farelo de arroz integral, farinha de milho, semente de girassol, pó de folha de mandioca e casca de ovo. Todas foram adquiridas no comércio local, com exceção do farelo de arroz, que foi cedido por uma indústria arroseira da região, e das cascas de ovo, por padarias regionais. A levedura utilizada na fermentação (*Saccharomyces cerevisiae*) foi obtida na forma de fermento liofilizado instantâneo, adquirido comercialmente.

#### **2.1.2 Ingredientes para Ensaio Biológico**

As dietas foram formuladas para suprir as necessidades básicas de um rato na fase de crescimento, para isso foram utilizadas fontes suplementares de nutrientes, como: caseína comercial (SIGMA), misturas vitamínica e mineral (manipulação farmacêutica, conforme Tabelas do APÊNDICE I), óleo de arroz, farelo de trigo, L-cistina, cloridrato de colina, maltodextrose, sacarose e amido adquiridos comercialmente.

#### **2.1.3 Animais**

Foram utilizados 67 animais de laboratório, *Rattus norvegicus* fêmeas cepa *Wistar/UFPEL*, desmamadas aos 21 dias, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas.

### **2.2 METODOLOGIA**

#### **2.2.1 Multimisturas**

As multimisturas (MM) foram elaboradas no Laboratório de Bioquímica de Alimentos da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), segundo formulações estudadas anteriormente por Faria et al. (2005) no mesmo local, utilizando farelo de trigo. Neste estudo, além da utilização do farelo de trigo, foi também avaliada a substituição por farelo de arroz como principal ingrediente da formulação. As formulações das multimisturas preparadas encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Formulações das multimisturas estudadas.

MULTIMISTURAS	1	2	3*	4*	5	6	7*	8*
Farelo de trigo (%)	65	-	65	-	68,4	-	68,4	-
Farelo de arroz (%)	-	65	-	65	-	68,4	-	68,4
Farinha de milho (%)	20	20	20	20	21	21	21	21
Pó de folha de mandioca (%)	5	5	5	5	-	-	-	-
Pó de casca de ovo (%)	5	5	5	5	5,3	5,3	5,3	5,3
Pó de semente de girassol (%)	5	5	5	5	5,3	5,3	5,3	5,3

\* Multimisturas fermentadas.

Os farelos de trigo, arroz e a farinha de milho foram tostados em estufa com circulação de ar, a 130°C por 30 minutos, ficando o material disposto em bandejas de alumínio com no máximo 1 cm de altura. As sementes de girassol foram tostadas em estufa a 130°C por 1h, e em seguida trituradas em moinho de laboratório. As cascas de ovo foram lavadas em água corrente, fervidas em solução de ácido acético 4% por 30 minutos, secas em estufa a 130°C durante 1h e 30 minutos, e moídas em moinho de laboratório.

As multimisturas pares continham farelo de arroz como ingrediente majoritário e as ímpares, farelo de trigo. As quatro primeiras continham folha de mandioca em sua formulação e as quatro últimas tiveram suas porcentagens ajustadas em função da ausência desta matéria-prima. Das oito multimisturas estudadas, quatro foram fermentadas em estado sólido com 3% de inóculo (*Saccharomyces cerevisiae*), adicionado à multimistura após 10 minutos de descanso em água suficiente para atingir 40% de umidade. As multimisturas foram então misturadas manualmente e submetidas à fermentação em estufa com circulação forçada de ar durante 6h/30°C em bandejas com dimensões (comprimento x largura x altura) 40cm x 25cm x 1 cm, sendo posteriormente submetidas à secagem na mesma estufa durante 16h a 60°C. Após foram trituradas em blender e peneiradas em Ty 32 (0,50mm). As multimisturas foram armazenadas em recipientes de vidro com tampas plásticas em ambiente isento de luz, com ventilação.

### 2.2.2 Dietas

As dietas foram umedecidas com gel de amido a 8% e peletizadas manualmente, secas em estufa com circulação forçada de ar a 60°C/16h. Foram confeccionadas 8 dietas contendo multimistura, uma dieta aprotéica e uma dieta caseína (controle), estas duas misturadas conforme esquema do APÊNDICE II, totalizando 10 dietas, descritas na Tabela 2. Com exceção da dieta aprotéica, as demais continham em torno de 11% de proteína.

As dietas caseína e aprotéica, incluindo as misturas vitamínica e mineral foram formuladas de acordo com Miller e Bender (1955) e o Instituto Americano de Nutrição - AIN (REEVES, 1997; REEVES, 1993) para animais em crescimento. As dietas foram oferecidas diariamente aos ratos e confeccionadas semanalmente no Laboratório de Processamento de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

Tabela 2: Composição das dietas de multimistura, aprotéica e caseína (g).

<b>Ingredientes</b>	<b>Caseína</b>	<b>Aprotéica</b>	<b>MM 1</b>	<b>MM 2</b>	<b>MM 3*</b>	<b>MM 4*</b>	<b>MM 5</b>	<b>MM 6</b>	<b>MM 7 *</b>	<b>MM 8*</b>
<b>Caseína</b>	73	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Multimistura 1</b>	-	-	390	-	-	-	-	-	-	-
<b>Multimistura 2</b>	-	-	-	500	-	-	-	-	-	-
<b>Multimistura 3</b>	-	-	-	-	400	-	-	-	-	-
<b>Multimistura 4</b>	-	-	-	-	-	410	-	-	-	-
<b>Multimistura 5</b>	-	-	-	-	-	-	415	-	-	-
<b>Multimistura 6</b>	-	-	-	-	-	-	-	500	-	-
<b>Multimistura 7</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	350	-
<b>Multimistura 8</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	445
<b>Lipídios: Óleo de arroz (15%)</b>										
Intrínseco	-	-	26,9	87	22,4	75,4	17,8	91,5	17,5	80,5
Adicionar	75	75	48,1	-	52,6	-	57,2	-	57,5	-
<b>Fibras: Farelo de trigo (8%)</b>	40	40								
<b>Mistura Vitamínica (1%)</b>	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mistura Mineral (3,5%)</b>	17,5	17,5	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>L-cistina (0,3%)</b>	1,5	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Cloridrato de Colina (0,25%)</b>	1,25	1,25	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Glicídios: Sacarose</b>	50	50	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltodextrose	50	50	-	-	-	-	-	-	-	-
Amido	186,75	259,75	62	-	47	90	27	-	92	55
<b>TOTAL (g)</b>	<b>500</b>	<b>500</b>	<b>500</b>	<b>500</b>	<b>500</b>	<b>500</b>	<b>500</b>	<b>500</b>	<b>500</b>	<b>500</b>

\*Multimisturas Fermentadas.

OBS: Os teores intrínsecos de lipídios não estão contabilizados na soma total.



### 2.2.3 Determinação da composição proximal

Foram realizadas determinações, em duplicata, de umidade, lipídios, cinzas, fibras e proteínas nas dietas de multimisturas, caseína e aprotéica, bem como nas excretas dos animais alimentados destas dietas, pelo método oficial (AOAC, 2000). O fator utilizado para conversão do nitrogênio em proteína foi 6,25 (fator geral) para todas dietas e excretas.

### 2.2.4 Experimento Biológico

O experimento, dentro das normas da Comissão de Ética da UFPEL, foi conduzido na Sala de Experimentação Animal do Biotério Central – UFPEL. Foram utilizadas 67 ratas da cepa *Wistar/UFPEL*, desmamadas aos 21 dias, com pesos que variaram de 85 a 134g, mantidas no Biotério até completarem um mês de vida. Após este período, as ratas foram pesadas e distribuídas aleatoriamente, por sorteio, em blocos casualizados, segundo tabela randômica, em 21 gaiolas de aço inox (21 grupos). Três grupos (13 animais) receberam dieta aprotéica por 14 dias, ao final desse período, estas ratas foram aleatoriamente redistribuídas em 4 novos grupos para a renutrição por 28 dias, com 4 diferentes dietas: duas multimisturas fermentadas, dieta caseína e dieta comercial para roedores, conforme esquema da Figura 1. Os 54 animais restantes, que passaram a se alimentar por 28 dias, foram divididos em 9 grupos de 6 animais em cada dieta, mas 3 em cada gaiola, perfazendo 2 gaiolas por dieta.

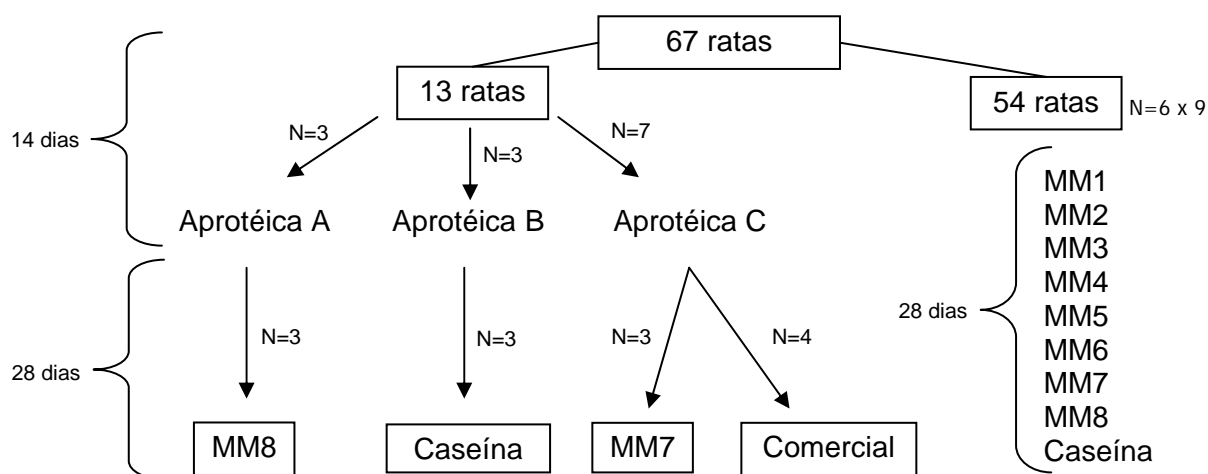


Figura 1: Distribuição das ratas

Durante as três primeiras semanas da realização do experimento, foram controlados semanalmente o peso corporal dos animais e diariamente a dieta ofertada, água consumida e a coleta de excretas, as quais foram separadas manualmente dos rejeitos, peneiradas e pesadas. A partir da 4ª semana (2ª semana dos animais recuperados), as excretas foram

coletadas a cada dois dias. Foram ofertadas 15g/dia/rato até 30g/dia/rato de dieta conforme o crescimento dos animais durante o experimento. Na última semana da recuperação dos animais desnutridos, foram ofertadas 30g/dia/rato para as dietas comercial e caseína, sendo que as multimisturas 7 e 8 sofreram adição de 50% de dieta comercial. A quantidade de água oferecida foi de 250 até 500ml/gaiola. A temperatura da sala foi mantida em  $23\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ , com alternância automática, em períodos de 12 horas, de claro-escuro.

A eficácia das dietas foi avaliada através do Coeficiente de Eficiência Alimentar (FER), Razão de Eficiência Líquida Protéica (NPR), Razão de Eficiência Protéica (PER) e Digestibilidade *in vivo*. Depois da eutanásia, os animais foram laparatomizados, coletando-se fígados, baços e rins, os quais foram lavados em solução fisiológica, secos em papel filtro, sendo posteriormente pesados para cálculo de suas relações com os pesos corporais.

#### **2.2.4.1 Coeficiente de Eficiência Alimentar**

O Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) ou Food Efficiency Ratio (FER) foi calculado pela razão entre o ganho de peso e a quantidade total de dieta ingerida durante 21 e 28 dias de experimento, sendo o primeiro denominado de  $\text{FER}_m$  (coeficiente de eficácia alimentar modificado).

#### **2.2.4.2 Razão de Eficiência Líquida Protéica (NPR)**

Calculada pelas variações do peso corporal, sendo considerado o peso que o animal teria perdido se não tivesse ingerido a proteína, ou seja, a eficiência da proteína em “manter” e “aumentar” o peso corporal. Neste trabalho, foram realizadas pesagens aos 0, 7 e 14 dias e o controle do consumo da dieta, diariamente. O resultado foi denominado de Razão de Eficiência Líquida Protéica modificado ( $\text{NPR}_m$ ), pela alteração do período de pesagem em relação ao convencional (10 dias). O ganho de peso do grupo em teste até 14 dias foi somado à perda de peso do grupo aprotéico, sendo o resultado dividido pela proteína consumida no mesmo período.

#### **2.2.4.3 Razão de Eficiência Protéica (PER)**

Foi determinada a variação do peso corporal, assumindo que ocorre variação do total de proteína da dieta, ou seja, foi calculada a relação entre o ganho de peso dos animais e a proteína consumida até 21 dias. O resultado foi denominado de razão de eficiência protéica modificado ( $\text{PER}_m$ ), pela alteração do período de pesagem em relação ao convencional (29 dias). Foram determinados os pesos dos animais aos 0, 7, 14 e 21 dias e a dieta consumida diariamente.

#### 2.2.4.4 Digestibilidade *in vivo*

Foram determinadas as digestibilidades aparentes e verdadeiras *in vivo*. A primeira levou em consideração a quantidade digerida mediante a diferença entre o ingerido e o eliminado pelos animais (equação 1). Já a digestibilidade verdadeira, dada pela equação 2, foi determinada levando-se em conta o nitrogênio proveniente do próprio animal e que foi excretado nas fezes juntamente com as proteínas de origem alimentar não digerida. O nitrogênio do próprio animal foi determinado nas fezes de um grupo igual de animais mantidos em dieta aprotéica pelo mesmo período que durou o experimento, conforme relatado por Sgarbieri (1996).

$$Da = \left( \frac{Ningerido - Nexcretado}{Ningerido} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$Dv = \left[ \frac{Ningerido - (Nexcretado_{teste} - Nexcretado_{aprotéico})}{Ningerido} \right] \times 100 \quad (2)$$

#### 2.2.4.5 Testes bioquímicos

As amostras sangüíneas de cada rata foram coletadas por punção cardíaca, estando os animais em jejum de sólidos por 15h e sob anestesia inalatória em campânula com éter. O sangue foi coletado com auxílio de seringas descartáveis, contendo heparina como anticoagulante. As amostras foram destinadas aos exames de glicemia direta e cálcio plasmático. O plasma foi separado após submeter 3mL de sangue (heparinizado) à centrifugação por 15 minutos a 3500 rpm, sendo armazenado a temperatura de -18°C, conforme descrito por Lemos (1999).

Para a dosagem de glicose no sangue foi utilizado o monitor *Accu-Chek Advantage*, onde foi determinada a glicemia em uma gota de sangue. Para a dosagem de cálcio foram feitos "pools" de amostras de plasma e determinados por método específico (colorimétrico) de rotina em analisador automático de Laboratório de Análises Clínicas de Pelotas.

#### 2.2.5 Análise estatística

Foi realizada análise de variância (ANOVA), sendo que as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Os dados dos pesos dos animais (triplicata) foram tratados por blocos casualizados com repetição pela ANOVA e as médias comparadas entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Composição proximal das dietas

A Tabela 3 mostra a média e o desvio padrão da composição proximal das dietas contendo multimistura, dieta caseína e aprotéica.

Tabela 3: Composição proximal das dietas de multimistura, caseína e aprotéica (%).

Dietas	Umidade	Proteína*	Cinzas*	Lipídios*	Fibras*
MM 1	5,1±0,11 <sup>a</sup>	10,9±0,31 <sup>a</sup>	7,0±0,30 <sup>a</sup>	12,4±0,67 <sup>a</sup>	5,7±0,73 <sup>a</sup>
MM 2	6,9±0,04 <sup>b</sup>	12,0±0,32 <sup>b</sup>	12,2±0,05 <sup>b</sup>	15,0±0,26 <sup>a</sup>	5,8±0,40 <sup>a</sup>
MM 3	5,8±0,07 <sup>c</sup>	13,9±0,02 <sup>c</sup>	6,2±0,06 <sup>c</sup>	14,7±0,57 <sup>a</sup>	4,4±0,30 <sup>a,b</sup>
MM 4	6,4±0,14 <sup>b</sup>	11,6±0,01 <sup>a,b</sup>	10,9±0,27 <sup>d</sup>	13,6±0,70 <sup>a</sup>	5,2±0,44 <sup>a</sup>
MM 5	5,5±0,02 <sup>c</sup>	11,8±0,00 <sup>a,b</sup>	5,8±0,14 <sup>c,e</sup>	14,3±0,37 <sup>a</sup>	2,6±0,27 <sup>b,c</sup>
MM 6	8,8±0,08 <sup>d</sup>	11,5±0,20 <sup>a,b</sup>	12,4±0,14 <sup>b</sup>	15,5±0,41 <sup>a</sup>	5,6±0,80 <sup>a</sup>
MM 7	5,0±0,03 <sup>a</sup>	12,0±0,27 <sup>b</sup>	5,6±0,03 <sup>e</sup>	12,6±3,21 <sup>a</sup>	4,1±0,54 <sup>a,b</sup>
MM 8	6,7±0,30 <sup>b</sup>	12,2±0,39 <sup>b</sup>	12,1±0,20 <sup>b</sup>	14,0±0,25 <sup>a</sup>	5,0±0,43 <sup>a</sup>
Caseína	10,0±0,04 <sup>e</sup>	13,8±0,29 <sup>c</sup>	2,6±0,06 <sup>f</sup>	14,6±0,11 <sup>a</sup>	1,0±0,01 <sup>c</sup>
Aprotéica	9,3±0,02 <sup>f</sup>	2,6±0,17 <sup>d</sup>	2,7±0,02 <sup>f</sup>	13,4±0,49 <sup>a</sup>	0,8±0,01 <sup>c</sup>

\* Base seca

Letras iguais na mesma coluna não têm diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca

MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca

MM3: idem MM1, fermentada

MM4: idem MM2, fermentada

MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca

MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca

MM7: idem MM5, fermentada

MM8: idem MM6, fermentada

Todas as dietas foram isolipídicas, ou seja, não houve diferença significativa entre as dietas que continham multimistura (MM) com relação às dietas caseína e aprotéica.

As amostras tiveram umidade variando de 5,0 a 10,0%, diferença esta que pode ter sido devida ao processamento térmico desuniforme durante a secagem dos pellets. A dieta MM1, que continha farelo de trigo e folha de mandioca não diferiu da dieta MM7, a qual não apresentava folha de mandioca em sua composição e foi fermentada. A dieta MM2 que continha farelo de arroz não diferiu em relação às dietas MM4 (mesma formulação, mas fermentada) e 8 (sem folha de mandioca e fermentada), mas diferiu da dieta 6 (sem folha), a qual diferiu de todas as dietas estudadas, assim como das dietas caseína e aprotéica.

Em relação à proteína, as dietas 1, 4, 5 e 6 não apresentaram diferença significativa, o mesmo ocorrendo para as dietas 2, 4, 5, 6, 7 e 8. No entanto, a dieta MM 3 (com farelo de trigo, folha de mandioca e fermentada) apresentou conteúdo protéico idêntico ao da caseína. A dieta aprotéica, como já era esperado, apresentou o menor conteúdo protéico, diferindo-se de todas as dietas analisadas.

O conteúdo de cinzas da dieta 1 diferiu de todas as dietas estudadas. Já as dietas 2, 6 e 8 (todas com farelo de arroz, sendo a última fermentada) não diferiram entre si, mostrando que a fermentação e a presença ou não de folha de mandioca não interferem na quantidade de minerais presentes. A dieta 3 não diferiu da 5 (ambas com farelo de trigo, sendo a primeira fermentada e a segunda sem folha) e esta, por sua vez não diferiu da 7 (fermentada sem folha). As dietas caseína e aprotéica não diferiram entre si quanto ao teor de minerais, apresentando o conteúdo mais baixo, quando comparadas às demais dietas, o que está de acordo com a literatura (Azeredo et al., 1999). Todas as dietas apresentaram conteúdo de minerais de acordo com a legislação brasileira, que estipula um mínimo de 5,5% (BRASIL, 2000).

Quanto ao conteúdo de fibras, as dietas de MM 1, 2, 3, 4, 6, 7 e 8 não diferiram entre si. A dieta MM 5 (farelo de trigo sem folha) não diferiu das dietas 3 (farelo de trigo com folha fermentada), 7 (farelo de trigo sem folha, fermentada) e caseína. Esta última, por sua vez, não diferiu da MM 5 e da aprotéica. A legislação estabelece um mínimo de 8,0% de fibras (BRASIL, 2000). Porém nenhuma dieta alcançou este percentual.

Comparando os valores das multimisturas que contém farelo de trigo ou arroz, foi observado que as multimisturas com farelo de arroz possuem maior umidade (6,4-8,8%), e maior conteúdo de minerais (10,9-12,4%) em relação a 5,0-5,8% de umidade e 5,5-7,0% de cinzas das multimisturas com farelo de trigo. A presença da folha de mandioca não interferiu na composição da multimistura.

Na dieta contendo farelo de trigo e folha de mandioca (MM1), a fermentação causou um aumento protéico na mesma (MM3), quando comparadas entre si (de 10,9 para 13,9%). A dieta MM3 não diferiu do conteúdo protéico da caseína. Este fato não foi observado na ausência da folha de mandioca ou nas dietas que continham farelo de arroz.

A fermentação diminuiu o conteúdo de minerais nas dietas com folha de mandioca, na presença de farelo de trigo de 7,0 para 6,2%. O mesmo fato, porém, não foi verificado na ausência de folha ou na presença do farelo de arroz.

Os valores encontrados para fibras e proteína se assemelham ao estudo de Madruga e Câmara (2000) que avaliaram a composição química de uma multimistura e seus constituintes. A multimistura era feita de 30% farelo de trigo, 30% farinha de trigo, 30% farelo de milho, 3% casca de ovo, 3% de pó de folha de mandioca e 4% de semente de abóbora. Os valores de cinzas destes autores também se assemelham aos do presente estudo em

relação às dietas que continham farelo de trigo: MM 1, 3, 5 e 7. Verificando-se, entretanto, que as dietas com MM contendo farelo de arroz, possuem composição diferente quanto aos minerais.

Azeredo et al. (1999) estudaram duas composições de multimistura, uma contendo farelo de trigo como matéria-prima majoritária e a outra, farelo de arroz. Encontraram altos teores de lipídios e minerais na multimistura com farelo de arroz. No presente estudo, procurou-se manter as dietas isolipídicas para não haver muita diferença em relação às demais. Como pode ser visto na Tabela 4, as multimisturas pares (com farelo de arroz) não sofreram adição de óleo, pois já possuíam alto conteúdo intrínseco. Desta forma, procurou-se igualar os teores de todas dietas, adicionando-se quantidades maiores ou menores de multimistura, completando-se, quando necessário, com amido de milho e/ou óleo de arroz.

Azeredo et al. (2000) obtiveram para a composição proximal da dieta à base de caseína valores de 12% de proteína, 8,8% de lipídios e 2,5% de minerais, valores estes bem próximos aos encontrados no presente estudo, com exceção dos lipídios, pois se procurou manter todas as dietas isolipídicas, baseadas no alto conteúdo de lipídios do farelo de arroz, o que se ajusta à recomendação de Miller e Bender (1955) para o teste nutricional do NPU e ao teor de lipídios do leite das ratas (13% de acordo com Harkness e Wagner, 1993). Leite et al. (2002) também encontrou valores semelhantes para dieta caseína: 12,4% de proteína, 7,2% de lipídios e 2,6% de cinzas.

Deve ser levado em consideração que a composição da multimistura, bem como as quantidades adicionadas, variam de acordo com os produtos disponíveis nas diferentes regiões do Brasil, mas é basicamente composta de farelos de cereais, folha de mandioca, sementes e pó de casca de ovo. Isto acarreta em algumas diferenças na composição química.

## **3.2 Ensaio biológico**

### **3.2.1 Composição proximal das excretas**

A Tabela 4 apresenta a composição proximal das excretas dos animais alimentados de diferentes dietas.

Tabela 4: Composição proximal das excretas das ratas que ingeriram dietas de multimisturas, caseína e aprotéica (%).

Excretas	Umidade	Proteína*	Cinzas*	Lipídios*	Fibras*
MM 1	12,4±0,00 <sup>a</sup>	13,2±0,93 <sup>a</sup>	15,3±1,05 <sup>a</sup>	8,8±0,82 <sup>a</sup>	13,1±0,30 <sup>a</sup>
MM 2	13,9±0,16 <sup>b</sup>	13,1±0,26 <sup>a</sup>	24,3±0,92 <sup>b</sup>	7,3±0,71 <sup>a</sup>	14,7±0,31 <sup>b</sup>
MM 3	11,1±0,18 <sup>c</sup>	13,9±0,13 <sup>a,b</sup>	14,5±0,51 <sup>a</sup>	7,2±0,24 <sup>a</sup>	14,7±0,14 <sup>b</sup>
MM 4	14,0±0,12 <sup>b</sup>	13,3±0,11 <sup>a</sup>	23,3±0,79 <sup>b,c</sup>	7,9±2,40 <sup>a</sup>	13,4±0,25 <sup>a</sup>
MM 5	11,5±0,08 <sup>c,d</sup>	14,3±0,69 <sup>a,b</sup>	21,3±0,21 <sup>c</sup>	8,1±0,86 <sup>a</sup>	12,6±0,51 <sup>a</sup>
MM 6	14,0±0,15 <sup>b</sup>	12,6±0,27 <sup>a</sup>	25,0±0,81 <sup>b</sup>	5,4±0,51 <sup>a</sup>	14,8±0,25 <sup>b</sup>
MM 7	11,8±0,05 <sup>d</sup>	12,2±0,55 <sup>a</sup>	15,3±0,28 <sup>a</sup>	8,2±0,78 <sup>a</sup>	12,9±0,31 <sup>a</sup>
MM 8	13,6±0,02 <sup>b</sup>	12,8±0,02 <sup>a</sup>	25,5±0,85 <sup>b</sup>	5,0±0,44 <sup>a</sup>	14,6±0,23 <sup>b</sup>
Caseína	10,3±0,16 <sup>e</sup>	18,9±0,17 <sup>c</sup>	11,2±0,03 <sup>d</sup>	16,5±1,47 <sup>b</sup>	12,8±0,33 <sup>a</sup>
Aprotéica	10,1±0,20 <sup>e</sup>	16,1±1,05 <sup>b</sup>	13,9±0,75 <sup>a,d</sup>	18,0±1,47 <sup>b</sup>	13,0±0,19 <sup>a</sup>

\* Base seca

Letras iguais na mesma coluna não têm diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca

MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca

MM3: idem MM1, fermentada

MM4: idem MM2, fermentada

MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca

MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca

MM7: idem MM5, fermentada

MM8: idem MM6, fermentada

Conforme a Tabela 4, a umidade das excretas das ratas variou de 10,1 a 14,0%, sendo que as excretas das ratas que se alimentaram das dietas MM2, 4, 6 e 8 (com farelo de arroz) não diferiram entre si, apresentando valores mais elevados do que as demais amostras, podendo este fato ser explicado devido a maior retenção de gel de amido no momento do preparo destas dietas, o que acarretou em excretas mais volumosas. As excretas MM3 e 5 não apresentaram diferença entre si, o mesmo ocorrendo para as excretas MM5 e 7. No entanto as excretas dos animais que se alimentaram das dietas caseína e aprotéica apresentaram os menores teores de umidade, os quais não diferiram entre si.

Quanto ao teor de proteína, as excretas das amostras de MM1 a 8 não diferiram entre si. A excreta do grupo aprotéico não diferiu das excretas dos grupos que se alimentavam das multimisturas 3 e 5. O grupo que se alimentava da dieta caseína, apresentou o maior conteúdo de proteína nas excretas, o qual diferiu das demais amostras analisadas.

O teor de cinzas das excretas dos animais que se alimentavam das multimisturas contendo farelo de arroz (2, 4, 6 e 8) foram as mais elevadas de todas amostras analisadas, as quais não diferiram entre si, o que pode ser comprovado pelo alto teor de cinzas também

na dieta. No entanto o teor de cinzas da excreta do grupo 5 (com farelo de trigo) não diferiu daquele do grupo 4. As demais excretas com farelo de trigo (1, 3 e 7) não diferiram entre si e nem do grupo aprotéico. Já as cinzas das excretas dos grupos caseína (controle) e aprotéico não tiveram diferença significativa, possuindo os menores teores, o que era esperado, uma vez que foram preparadas com os mesmos ingredientes, apenas diferindo na presença ou não de caseína, o que levaria a aprotéica a um catabolismo no organismo do rato, com perda de nutrientes.

O conteúdo de lipídios das excretas dos animais que se alimentaram de multimistura não diferiu, ocorrendo o mesmo com as dietas. Os valores lipídicos foram superiores nas amostras das excretas dos animais que se alimentavam das dietas caseína e aprotéica, os quais não diferiram entre si.

Em relação ao teor de fibras, as excretas MM 2, 3, 6 e 8 não diferiram entre si, mas diferiram das demais excretas.

### 3.2.2 Indicativos biológicos

A Figura 2 mostra a curva de variação do peso dos animais submetidos às dietas controle (caseína) e oito multimisturas.

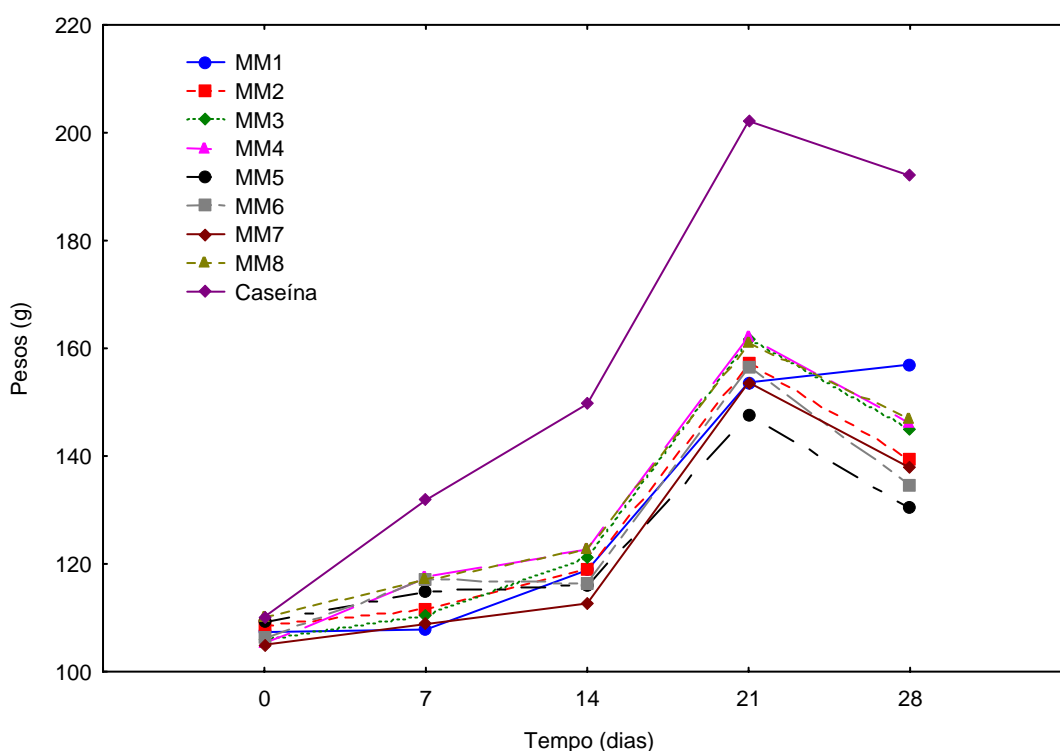


Figura 2: Variação de peso das ratas ao longo dos 28 dias de experimento.

MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca; MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca; MM3: idem MM1, fermentada; MM4: idem MM2, fermentada; MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca; MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca; MM7: idem MM5, fermentada; MM8: idem MM6, fermentada



Observou-se que, o grupo controle (caseína) apresentou maior peso com o passar do tempo do que os demais grupos alimentados com dietas multimistura (MM1-8). A quantidade de dieta oferecida foi limitada na primeira semana em 15g/rato, e a partir da segunda semana passou para 20g/rato, porém foi observado que após os 21 dias de experimento, houve decréscimo nos pesos dos animais, com exceção dos pesos das ratas alimentadas da dieta MM1, que permaneceram com peso crescente no decorrer do experimento. Isto pode ter ocorrido devido à perda de dieta pelo fundo da tela da gaiola, que era vasado.

O crescimento do grupo controle foi 39,3% maior em relação grupo MM1, 62,3% em relação ao grupo 2, 52,1% em relação ao grupo 3, 50,3% em relação ao grupo 4, 74,2% em relação ao grupo 5, 65,4% em relação ao grupo 6, 59,9% em relação ao grupo 7 e 55% em relação ao grupo 8.

Os dados obtidos e analisados estatisticamente encontram-se no APÊNDICE III, onde se pode notar que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos pesos dos animais, comparando as gaiolas A e B e comparando os pesos destes animais submetidos a dietas de multimistura. Apenas a dieta caseína se diferenciou significativamente das demais dietas, as quais não diferiram entre si. Em relação à influência do tempo no peso dos animais, pode-se observar que no início e uma semana após (7 dias) não houve diferença significativa dos pesos. O peso dos animais no 14º dia não diferiu do 7º dia, sendo no 21º e 28º dia diferentes dos demais dias, portanto a partir do 21º dia, houve diferença no peso dos animais quando submetidos a diferentes dietas.

Quanto à análise da interação dos pesos em função das gaiolas x dietas x tempo, observou-se que os animais alimentados de dieta caseína apresentaram os maiores valores de peso, mas não houve diferença significativa entre o peso dos animais alimentados das dietas caseína aos 14, 21 e 28 dias para as gaiolas A e B; da dieta MM1 aos 21 dias para ambas gaiolas e 28 dias para gaiola A; da dieta MM2 aos 21 dias para ambas gaiolas; das dietas MM3 e MM4 aos 21 dias para ambas gaiolas e aos 28 dias para gaiola B; das dietas MM5, MM6 e MM7 para ambas gaiolas aos 21 dias; da dieta MM8 para ambas gaiolas, tanto aos 21, quanto aos 28 dias.

A partir do exposto anteriormente, pode se concluir que o grupo caseína apresentou peso adequado já ao 14º dia (145g) e os demais animais apresentaram pesos satisfatórios a partir dos 21 dias (147,33g a 207,33g).

A Tabela 5 mostra o consumo médio de dieta por rato para cada dieta oferecida durante os 28 dias de experimento.

Tabela 5: Consumo diário médio de dieta (g) por rato ao longo do experimento.

Grupo	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
MM 1	11,33 <sup>a</sup>	14,46 <sup>a</sup>	12,89 <sup>a,b</sup>	12,08 <sup>a</sup>
MM 2	11,68 <sup>a</sup>	13,89 <sup>a</sup>	14,06 <sup>a,b</sup>	13,74 <sup>a</sup>
MM 3	10,58 <sup>a</sup>	11,10 <sup>b</sup>	13,36 <sup>a,b</sup>	12,76 <sup>a</sup>
MM 4	12,43 <sup>a</sup>	14,29 <sup>a</sup>	14,97 <sup>a,b</sup>	14,99 <sup>a</sup>
MM 5	12,13 <sup>a</sup>	13,28 <sup>b</sup>	12,00 <sup>a</sup>	11,38 <sup>a</sup>
MM 6	12,01 <sup>a</sup>	14,49 <sup>a</sup>	14,97 <sup>a,b</sup>	15,04 <sup>a</sup>
MM 7	10,06 <sup>a,b</sup>	13,11 <sup>a,b</sup>	12,78 <sup>a,b</sup>	12,40 <sup>a</sup>
MM 8	10,99 <sup>a</sup>	14,81 <sup>a</sup>	15,92 <sup>b</sup>	15,14 <sup>a</sup>
Caseína	11,10 <sup>a</sup>	12,26 <sup>b</sup>	15,64 <sup>b</sup>	13,64 <sup>a</sup>
Aprotéica	7,95 <sup>b</sup>	6,92 <sup>c</sup>	-	-

Letras iguais na mesma coluna não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca  
 MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca  
 MM3: idem MM1, fermentada  
 MM4: idem MM2, fermentada  
 MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca  
 MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca  
 MM7: idem MM5, fermentada  
 MM8: idem MM6, fermentada

Assim, observou-se que na primeira semana, todos animais alimentaram-se de forma semelhante, com exceção do grupo aprotéico, o qual apresentou menor consumo, que não diferiu da MM7. Na segunda semana, os grupos que ingeriram as dietas multimistura com farelo de arroz tiveram maior consumo do que o grupo caseína, observando-se ainda que o grupo aprotéico apresentou o menor consumo de todos, se diferenciando dos demais. Na terceira semana, o grupo caseína apresentou diferença significativa da multimistura 5, porém as multimisturas não tiveram diferença quanto ao consumo. Na última semana, não houve diferença significativa entre o consumo das dietas entre os grupos analisados, mostrando que não houve preferência por parte dos animais por nenhuma dieta específica.

Observou-se que os animais alimentados com a dieta MM5 apresentaram nas últimas duas semanas o menor consumo de dieta, no entanto este valor não apresentou diferença significativa em relação às dietas MM 1, 2, 6, 7 e 8 na terceira semana e de todas dietas, com exceção da caseína, na última semana.

A Tabela 6 mostra os ganhos de peso e consumo de dieta aos 21 e 28 dias do experimento bem como os valores do coeficiente de eficiência alimentar no mesmo período.

Tabela 6: Coeficiente de eficiência alimentar de ratos submetidos à dieta caseína e dietas de multimistura.

Grupo	Ganho de peso - 21 dias (g)	Ganho de peso total - 28 dias (g)	Consumo diário de dieta (g)	Consumo de dieta - 21 dias (g)	Consumo total de dieta - 28 dias (g)	FER <sub>m</sub> * 21 dias	FER* 28 dias
MM 1	46,33 <sup>a,b</sup>	49,67 <sup>a,b</sup>	12,69 <sup>a</sup>	266,51 <sup>a</sup>	355,35 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,14 <sup>a,b</sup>
MM 2	48,50 <sup>a,b</sup>	30,83 <sup>a</sup>	13,34 <sup>a</sup>	280,15 <sup>a</sup>	373,53 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>
MM 3	56,00 <sup>b</sup>	39,17 <sup>a,b</sup>	11,95 <sup>a</sup>	250,98 <sup>a</sup>	334,64 <sup>a</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,12 <sup>a,b</sup>
MM 4	56,83 <sup>b</sup>	40,67 <sup>a,b</sup>	14,17 <sup>a</sup>	297,57 <sup>a</sup>	396,76 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a,b</sup>	0,10 <sup>a,b</sup>
MM 5	38,33 <sup>a</sup>	21,17 <sup>a</sup>	12,19 <sup>a</sup>	256,08 <sup>a</sup>	341,44 <sup>a</sup>	0,15 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>
MM 6	50,17 <sup>a,b</sup>	28,33 <sup>a</sup>	14,13 <sup>a</sup>	296,70 <sup>a</sup>	395,60 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>
MM 7	48,67 <sup>a,b</sup>	32,83 <sup>a</sup>	12,09 <sup>a</sup>	253,82 <sup>a</sup>	338,43 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a,b</sup>	0,10 <sup>a</sup>
MM 8	50,83 <sup>a,b</sup>	36,83 <sup>a</sup>	14,21 <sup>a</sup>	298,45 <sup>a</sup>	397,93 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>
Caseína	92,00 <sup>c</sup>	81,83 <sup>b</sup>	13,16 <sup>a</sup>	276,35 <sup>a</sup>	368,47 <sup>a</sup>	0,33 <sup>c</sup>	0,22 <sup>b</sup>

Letras iguais na mesma coluna não possuem diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

\* FER: coeficiente de eficácia alimentar ; FER<sub>m</sub>: coeficiente de eficácia alimentar modificado

MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca

MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca

MM3: idem MM1, fermentada

MM4: idem MM2, fermentada

MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca

MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca

MM7: idem MM5, fermentada

MM8: idem MM6, fermentada

Segundo De Luca et al. (1996), citados por Madruga et al. (2004), o consumo de dieta para ratos, situa-se na faixa de 12 a 15g por dia. Portanto, os dados apresentados para o consumo de todas as dietas encontram-se dentro da faixa citada.

Os resultados mostraram que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o consumo médio de dieta, no entanto o ganho de peso aos 21 dias foi maior para os animais que se alimentaram da dieta caseína (92g) que diferiu dos demais. Aos 28 dias de experimento, o ganho de peso dos animais que se alimentaram das dietas MM1, MM3, MM4 (todas com folha de mandioca) e caseína não apresentaram diferença significativa entre si. Boaventura et al. (2000) também observaram que os ratos alimentados com dieta habitual adicionada de folha de mandioca apresentaram tendência de possuírem maior ganho de peso do que os demais grupos, no entanto os autores concluíram que a melhora pode ser considerada sem significância, o que também se verificou no atual trabalho.

Na mesma Tabela 6, pode ser verificado que o FER<sub>m</sub> (21 dias) foi maior do que FER para 28 dias para todas as dietas avaliadas, pois este parâmetro depende do ganho de peso e do consumo de dieta, o que pode ser comprovado também na Figura 6, ou seja, o peso das ratas foi inferior aos 28 dias comparados aos 21 dias. Isto se deveu à limitação da dieta de 15-20g/rato durante os 28 dias do experimento, conforme preconiza a literatura

(Princípios Éticos..., 2004). Portanto todos valores de FER aos 28 dias não são ideais, divergindo dos dados da literatura.

A dieta caseína apresentou o maior FER<sub>m</sub> em 21 dias (0,33), valor este que se diferenciou de todos demais, ligeiramente inferior ao encontrado por Madruga et al. (2004), de 0,40. Aos 28 dias, o FER da caseína não apresentou diferença significativa dos valores obtidos para as dietas com MM 1, 3 e 4. Os valores de FER aos 21 dias das dietas fermentadas MM3, MM4 e MM7 não diferiram entre si, apresentando melhor eficiência alimentar do que as dietas não fermentadas. Em relação ao coeficiente alimentar da caseína, as dietas MM3, MM4 e MM7 apresentaram, respectivamente, eficiência de 66,7%, 57,6% e 57,6%, ou seja, foram assim aproveitadas biologicamente em comparação à caseína.

A Tabela 7 mostra o ganho de peso dos animais até os 14 e 21 dias de experimento, assim como a proteína consumida no mesmo período. A partir destes valores, calculou-se os parâmetros NPR<sub>m</sub> e PER<sub>m</sub>, também a seguir citados.

Tabela 7: Razão de eficiência líquida protéica e Razão de eficiência protéica de dietas de multimistura e caseína.

Grupo	Ganho de peso em 14 dias (g)	Ganho de peso em 21 dias (g)	Proteína consumida por dia (g)	Proteína consumida 14 dias (g)	Proteína consumida 21 dias (g)	NPR <sub>m</sub> *	PER <sub>m</sub> **
MM 1	11,50 <sup>a</sup>	46,33 <sup>a,b</sup>	1,38 <sup>a</sup>	19,37 <sup>a</sup>	29,05 <sup>a</sup>	1,61 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>
MM 2	10,33 <sup>a</sup>	48,50 <sup>a,b</sup>	1,60 <sup>a,b,c</sup>	22,41 <sup>a,b,c</sup>	33,62 <sup>a,b,c</sup>	1,34 <sup>a</sup>	1,44 <sup>a</sup>
MM 3	15,50 <sup>a</sup>	56,00 <sup>b</sup>	1,66 <sup>b,c,d</sup>	23,26 <sup>b,c,d</sup>	34,89 <sup>b,c,d</sup>	1,51 <sup>a</sup>	1,61 <sup>a</sup>
MM 4	17,33 <sup>a</sup>	56,83 <sup>b</sup>	1,64 <sup>a,b,c,d</sup>	23,01 <sup>a,b,c,d</sup>	34,52 <sup>a,b,c,d</sup>	1,61 <sup>a</sup>	1,65 <sup>a</sup>
MM 5	6,67 <sup>a</sup>	38,33 <sup>a</sup>	1,44 <sup>a,b</sup>	20,15 <sup>a,b</sup>	30,22 <sup>a,b</sup>	1,31 <sup>a</sup>	1,27 <sup>a</sup>
MM 6	10,33 <sup>a</sup>	50,17 <sup>a,b</sup>	1,62 <sup>a,b,c</sup>	22,75 <sup>a,b,c</sup>	34,12 <sup>a,b,c</sup>	1,32 <sup>a</sup>	1,47 <sup>a</sup>
MM 7	7,67 <sup>a</sup>	48,67 <sup>a,b</sup>	1,45 <sup>a,b</sup>	20,31 <sup>a,b</sup>	30,46 <sup>a,b</sup>	1,35 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>
MM 8	12,67 <sup>a</sup>	50,83 <sup>a,b</sup>	1,73 <sup>c,d</sup>	24,27 <sup>c,d</sup>	36,41 <sup>c,d</sup>	1,33 <sup>a</sup>	1,39 <sup>a</sup>
Caseína	39,50 <sup>b</sup>	92,00 <sup>c</sup>	1,91 <sup>c,d</sup>	26,71 <sup>c,d</sup>	40,07 <sup>c,d</sup>	2,22 <sup>b</sup>	2,30 <sup>b</sup>
Aprotéica	(-19,71)	-	-	-	-	-	-

Letras iguais na mesma coluna não possuem diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

\* NPR: Razão de Eficiência Líquida Protéica modificado (14 dias)

\*\* PER: Razão de Eficiência Protéica modificado (21 dias).

MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca

MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca

MM3: idem MM1, fermentada

MM4: idem MM2, fermentada

MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca

MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca

MM7: idem MM5, fermentada

MM8: idem MM6, fermentada

O ganho de peso em 14 dias não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os grupos que se alimentavam das dietas de MM, e o grupo que consumia dieta caseína mostrou o maior ganho de peso (39,5g), diferindo dos demais. Aos 21 dias, a maioria ganhou 4 vezes ou mais o seu peso. Os grupos MM1 e MM2 e do MM5 ao MM8 não apresentaram diferença entre si quanto ao ganho de peso. Entre os grupos MM1 ao MM4 e do MM6 ao MM8 também não foi verificada diferença. O grupo caseína foi o que apresentou o maior ganho de peso, diferindo de todos, o que pode ser explicado pela dieta completa que este grupo recebeu, rica em proteínas, vitaminas, minerais, fibras e carboidratos. Os grupos que ingeriram dietas contendo multimistura receberam apenas minerais e vitaminas intrínsecos, portanto nenhuma adição foi feita.

Em relação às proteínas consumidas diariamente, os grupos MM2, MM3, MM4, MM6, MM8 e caseína apresentaram os maiores valores em relação às demais dietas, não diferindo entre si.

Como o NPR é um indicativo biológico que leva em consideração a perda de peso do grupo aprotéico, ele é mais aceito do que o PER. Porém, neste estudo, os valores para NPR e PER foram bastante semelhantes, salientando-se que o  $NPR_m$  foi realizado em 14 dias e o  $PER_m$  em 21 dias. A perda de peso do grupo submetido à dieta aprotéica durante 14 dias, conforme Tabela 11, foi de 19,71g, valor este que está somado ao ganho de peso dos demais grupos, nos dados de  $NPR_m$ .

O valor de  $NPR_m$  encontrado para caseína (2,22) se diferenciou significativamente das demais dietas (as quais não diferiram estatisticamente entre si), se aproximando do valor de 2,76, encontrado por Glória et al. (2004) e de 2,73 encontrado por Costa et al. (1996a), citados por Boaventura et al. (2000), mas inferior ao valor de 4,78, determinado por Boaventura et al. (2000) e 4,22, encontrado por Monteiro et al., (2004).

O mesmo observado com o  $NPR_m$ , ocorreu com o  $PER_m$  da caseína (2,30), que também se diferenciou das demais dietas, as quais não diferiram entre si. No entanto o valor encontrado está abaixo do citado pela literatura, de 3,79 segundo Boaventura et al. (2000), mas próximo do valor de 2,53, citado por Ferreira et al. (2005).

Verificou-se que o PER dos grupos alimentados de multimistura corresponderam a uma média de 65,4% do PER do grupo alimentado da dieta caseína. Este fato revela que a qualidade protéica das dietas contendo multimistura é inferior à dieta caseína. Isto foi também observado por Boaventura et al. (2000), que encontraram nas suas multimisturas avaliadas uma correspondência de 66,04% do PER da caseína.

Analisando o  $NPR_m$  da mesma forma que para o  $PER_m$ , observou-se que os grupos alimentados da dieta de multimistura apresentaram uma média de 64,7% do  $NPR_m$  da dieta caseína, comprovando que a qualidade biológica da proteína da dieta do grupo controle foi superior a das dietas contendo multimistura.

As Figuras 3 e 4 ilustram os pesos dos órgãos das ratas alimentadas de diferentes dietas, bem como as relações dos órgãos dos animais com seu respectivo peso antes da eutanásia.

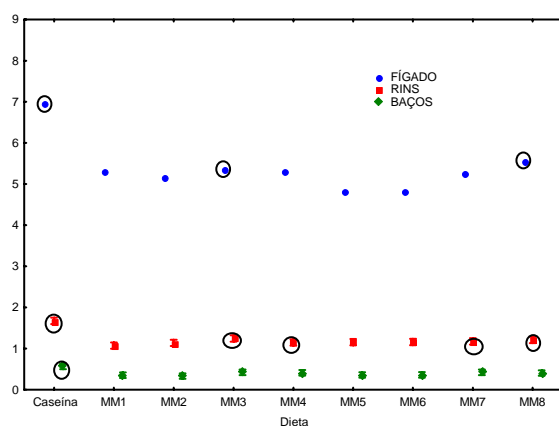


Figura 3: Pesos médios dos órgãos das ratas

\*Círculos indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

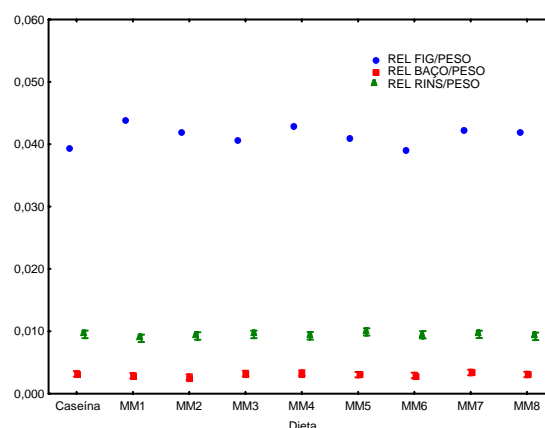


Figura 4: Relações órgãos/peso corporal das ratas.

- MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca
- MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca
- MM3: idem MM1, fermentada
- MM4: idem MM2, fermentada
- MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca
- MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca
- MM7: idem MM5, fermentada
- MM8: idem MM6, fermentada

Analisando a Figura 3, o grupo alimentado com caseína apresentou maior peso de rins, se diferenciando dos demais grupos, os quais não tiveram diferença entre si ( $p < 0,05$ ). Com relação ao fígado e ao baço dos animais alimentados de multimistura, não houve diferença significativa encontrada para as 8 dietas entre si, sendo que a dieta caseína e as dieta MM3 e MM8 apresentaram fígados maiores, que não diferiram entre si. As dietas caseína, MM 3, 4, 7 e 8 não apresentaram diferença entre si quanto ao peso do baço, indicando que todas multimisturas fermentadas ocasionam desenvolvimento do baço tão bom quanto os animais que se alimentaram da dieta controle.

Conforme a Figura 4, as relações entre os pesos dos órgãos com os pesos corporais dos animais são proporcionais, não apresentando diferença significativa para nenhuma relação. Por exemplo, o peso do fígado do grupo que se alimentou da dieta caseína foi um dos maiores, pois o peso final destes animais foi maior (Figura 2), porém a relação do peso da rata que se alimentava desta dieta e seu órgão não apresentou diferença significativa para as demais relações de outros animais alimentados com diferentes dietas, portanto é fundamental o cálculo das relações para a interpretação segura dos resultados.

A Tabela 8 mostra os valores de digestibilidade protéica *in vivo* aparente, ou seja, sem considerar o nitrogênio da excreta do grupo aprotéico, e verdadeira, levando este item em consideração.

Tabela 8: Digestibilidade protéica aparente e verdadeira *in vivo*

Dietas	Digestibilidade aparente (%)*	Digestibilidade verdadeira (%)*
MM 1	72,3±2,07 <sup>a,b</sup>	76,5±1,94 <sup>a,b</sup>
MM 2	62,0±0,76 <sup>c</sup>	65,7±0,71 <sup>c</sup>
MM 3	74,1±0,25 <sup>a</sup>	77,6±0,27 <sup>a</sup>
MM 4	66,7±1,27 <sup>b,c</sup>	70,3±1,48 <sup>b,c</sup>
MM 5	76,9±1,53 <sup>a</sup>	81,0±1,27 <sup>a</sup>
MM 6	65,5±0,44 <sup>b,c</sup>	69,1±0,49 <sup>c</sup>
MM 7	78,7±3,80 <sup>a</sup>	82,8±3,65 <sup>a</sup>
MM 8	63,7±2,08 <sup>c</sup>	67,1±1,79 <sup>c</sup>
Caseína	93,8±0,08 <sup>d</sup>	96,8±0,10 <sup>d</sup>

\*Letras iguais na mesma coluna indica que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca

MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca

MM3: idem MM1, fermentada

MM4: idem MM2, fermentada

MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca

MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca

MM7: idem MM5, fermentada

MM8: idem MM6, fermentada

A caseína apresentou digestibilidade verdadeira de 96,8%, o que está de acordo com os valores encontrados por Monteiro et al. (2005), de 96,8% e Silveira et al. (2000), de 96,5%, todos utilizando ratos da cepa *Wistar* como modelo biológico.

A digestibilidade *in vivo* das multimisturas contendo farelo de trigo (1, 3, 5 e 7) não apresentou diferença entre as amostras, mas diferiram das multimisturas contendo farelo de arroz. As multimisturas contendo farelo de trigo apresentaram de 77 a 84% da digestibilidade aparente da caseína e de 79 a 85 da digestibilidade verdadeira da caseína. Assim, pode-se dizer que estas multimisturas são bem aproveitadas pelo organismo, apresentando digestibilidade próxima a da proteína de referência (caseína).

As multimisturas contendo farelo de arroz (2, 4, 6 e 8) apresentaram digestibilidade inferior às multimisturas contendo farelo trigo, representando de 66 a 71% da digestibilidade aparente da caseína e 68 a 72% da digestibilidade verdadeira da caseína. Como as proteínas vegetais possuem digestibilidade inferior às animais, estes valores podem ser considerados bons (SGARBIERI, 1996).

A presença da folha de mandioca e o processo de fermentação não influenciaram na digestibilidade *in vivo* dos ratos alimentados com as multimisturas contendo farelos de trigo ou arroz.

A Figura 5 mostra as médias do comprimento e da distância entre os braços das ratas alimentadas de diferentes dietas.

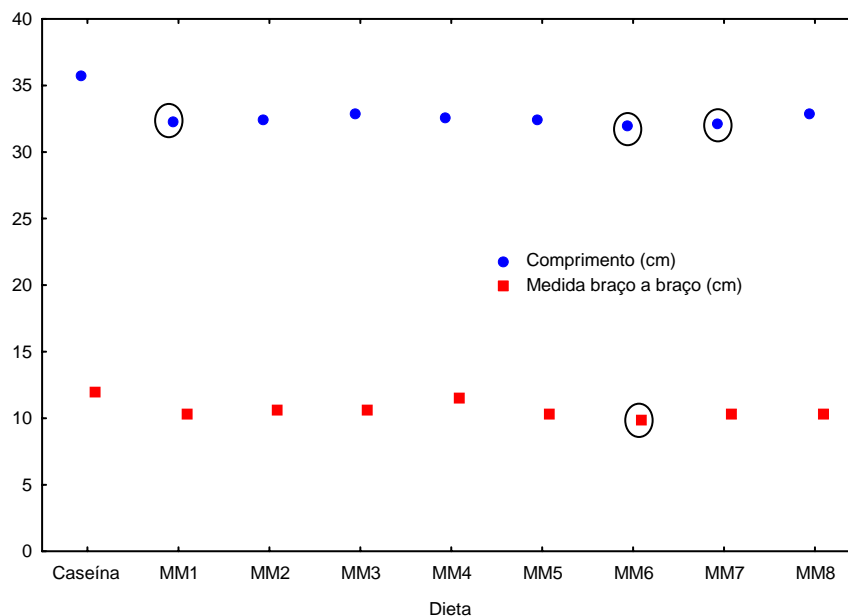


Figura 5: Comprimento e distância entre braços das ratas alimentadas de diferentes dietas.

Círculos indicam os grupos que apresentam diferença significativa em relação à caseína pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

- MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca
- MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca
- MM3: idem MM1, fermentada
- MM4: idem MM2, fermentada
- MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca
- MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca
- MM7: idem MM5, fermentada
- MM8: idem MM6, fermentada

Quanto às medidas corporais dos animais, o grupo que se alimentou da dieta controle obteve o maior comprimento (35,75cm), no entanto este não diferiu significativamente dos animais que se alimentaram das multimisturas MM2, MM3, MM4, MM5 e MM8. Em relação às distâncias entre os braços dos animais, não houve diferença entre aqueles animais que se alimentavam de multimistura. O grupo que se alimentava da dieta caseína só diferiu do grupo MM6, o qual obteve o menor valor (10cm).

### 3.2.3 Recuperação dos animais desnutridos

A Figura 6 mostra o gráfico de recuperação das ratas desnutridas até o 14º dia com dieta sem proteína (aprotéica), e renutridas a partir de então com 4 diferentes dietas.



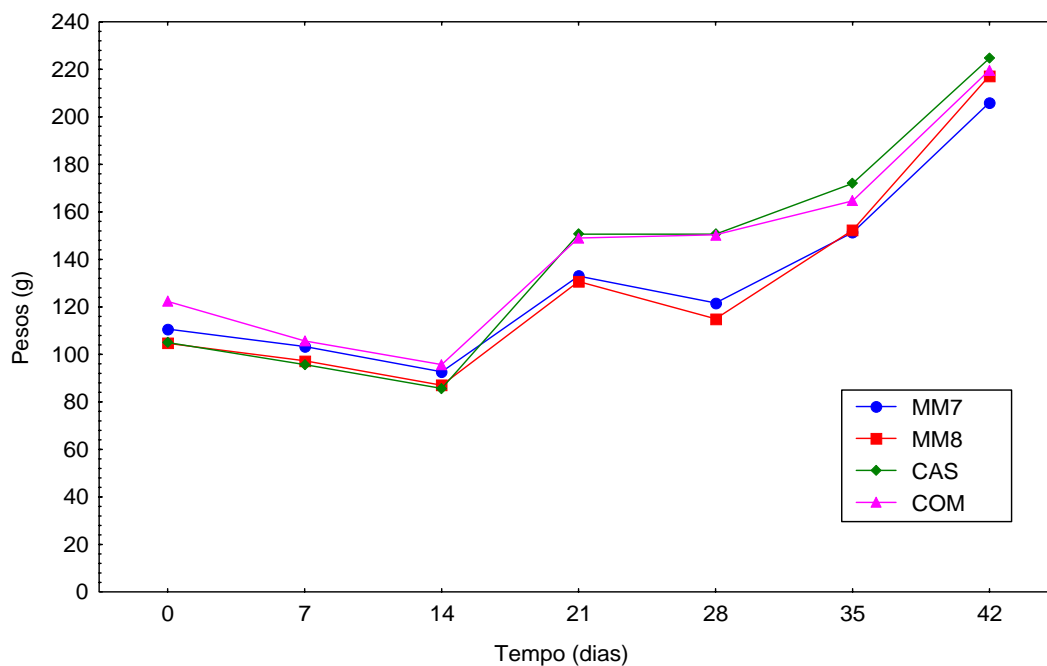


Figura 6: Recuperação das ratas desnutridas mediante diferentes dietas.

MM7: dieta multimistura com farelo de trigo fermentada  
 MM8: dieta multimistura com farelo de arroz fermentada  
 CAS: dieta caseína (padrão-controle)  
 COM: dieta comercial (Nuvital)

Os dados analisados estatisticamente estão apresentados no APÊNDICE IV. Comparando-se somente as dietas, sem considerar os dias, o grupo que se alimentou de dieta comercial apresentou o maior valor (144,6g) o qual não se diferenciou significativamente do peso do grupo caseína (140,6g). Este por sua vez não se diferenciou das dietas MM7 e MM8. Comparando-se a influência do tempo no peso dos animais, independente das dietas, observou-se que aos 21 e 28 dias não houve diferença no peso. Aos 35 e aos 21 dias, esta diferença também não ocorreu. Apenas aos 35 dias (ou 28 de renutrição) é que houve uma diferença significativa do peso dos animais com relação aos demais dias.

Comparando os pesos entre os grupos alimentados das diferentes dietas, pode-se notar que todos animais perderam peso de forma equivalente, até o 14º dia (Figura 6). Para as dietas MM7 e MM8 não houve diferença significativa de peso ao longo dos 28 primeiros dias. Apenas, na última semana, aos 42 dias que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) do peso destes grupos com relação ao seu peso anterior.

Para todas as dietas, não houve diferença no peso dos animais nos dias 21, 28 e 35 (1ª, 2ª e 3ª semana de renutrição). Pode-se dizer que aos 42 dias, não houve diferença no peso dos animais que se alimentavam das 4 diferentes dietas, indicando que as multimisturas fermentadas foram tão palatáveis quanto a dieta caseína e a dieta que os animais estão acostumados a comer (comercial) que possui todos nutrientes balanceados.

Vale ressaltar que no presente trabalho, utilizou-se a multimistura sem acréscimo de minerais e vitaminas. Apenas na última semana do experimento se ofertou 30g/rato de dieta, misturando-se 15g de multimistura a 15g de dieta comercial para as ratas que se alimentavam das dietas MM7 e MM8, ou seja, se utilizou a multimistura como é proposta, com o objetivo de suplementar e não sozinha.

A Tabela 9 mostra as medidas do comprimento (do focinho a cauda), distância entre os braços, pesos dos órgãos coletados, bem como suas relações com o peso corpóreo dos animais antes da eutanásia, renutridos mediante 4 diferentes dietas: multimistura 7 (com farelo de trigo, sem folha, fermentada), multimistura 8 (com farelo de arroz, sem folha, fermentada), dieta comercial e dieta controle (caseína).

Tabela 9: Avaliações biométricas, pesos de órgãos, ganhos de peso e parâmetros biológicos de ratas renutridas.

Dietas	MM 7*	MM 8*	Comercial	Caseína
<b>Comprimento (cm)</b>	32,50±1,32 <sup>a,b</sup>	33,17±1,04 <sup>b</sup>	33,88±0,63 <sup>a,b</sup>	35,00±0,87 <sup>a</sup>
<b>Distância braço a braço (cm)</b>	10,50±0,50 <sup>a</sup>	10,67±0,29 <sup>a</sup>	10,88±0,48 <sup>a</sup>	11,67±2,02 <sup>a</sup>
<b>Peso fígado (g)</b>	7,22±0,60 <sup>a</sup>	6,74±1,16 <sup>a</sup>	6,80±0,89 <sup>a</sup>	7,75±0,38 <sup>a</sup>
<b>Relação F/P**</b>	0,049±0,003 <sup>a</sup>	0,043±0,005 <sup>a</sup>	0,041±0,004 <sup>a</sup>	0,045±0,002 <sup>a</sup>
<b>Peso baço (g)</b>	0,47±0,14 <sup>a</sup>	0,56±0,11 <sup>a</sup>	0,51±0,11 <sup>a</sup>	0,56±0,08 <sup>a</sup>
<b>Relação B/P**</b>	0,003±0,001 <sup>a</sup>	0,003±0,001 <sup>a</sup>	0,003±0,001 <sup>a</sup>	0,004±0,001 <sup>a</sup>
<b>Peso rins (g)</b>	1,33±0,10 <sup>a</sup>	1,36±0,18 <sup>a</sup>	1,34±0,06 <sup>a</sup>	1,48±0,16 <sup>a</sup>
<b>Relação R/P**</b>	0,009±0,000 <sup>a</sup>	0,009±0,001 <sup>a</sup>	0,0081±0,001 <sup>a</sup>	0,009±0,000 <sup>a</sup>
<b>Peso inicial (g)</b>	92,67	87,00	90,25	85,67
<b>Peso final (g)</b>	206,00	217,33	225,50	224,67
<b>Ganho peso (g)</b>	113,33±6,35 <sup>a</sup>	130,33±5,69 <sup>a</sup>	135,25±23,41 <sup>a</sup>	139,00±6,08 <sup>a</sup>
<b>DV ***(%)</b>	80,1	70,0	85,9	86,7
<b>DA ***(%)</b>	76,3	66,0	84,3	83,6
<b>PER ***</b>	2,45	2,96	1,26	2,59
<b>FER ***</b>	0,29	0,36	0,32	0,38

Letras iguais na mesma linha não têm diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05).

\* MM7: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca, fermentada

MM8: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca, fermentada

\*\* Relação F/P: Razão entre o peso do fígado (g) e o peso do animal antes da eutanásia (g)

Relação B/P: Razão entre o peso do baço (g) e o peso do animal antes da eutanásia (g)

Relação R/P: Razão entre o peso dos rins (g) e o peso do animal antes da eutanásia (g)

\*\*\*DA: Digestibilidade aparente ((N consumido – N excretado)/N consumido); DV: Digestibilidade verdadeira ((N consumido-N excretado grupo estudo – N excretado grupo aprotéico)/N consumido); PER: Razão de Eficiência Protéica (ganho de peso/proteína consumida); FER: Coeficiente de Eficiência Alimentar (ganho de peso/dieta total ingerida)

Conforme a Tabela 9, não houve diferença para a maioria dos indicativos avaliados, com exceção do comprimento dos animais, onde foi verificado que aqueles alimentados com dieta caseína, comercial e MM7 não apresentaram diferença significativa entre si e apenas a MM8 diferiu da dieta caseína. Todos os animais tiveram ganho de peso semelhante ao final do experimento. Dessa forma, pode-se dizer que as multimisturas são eficientes na recuperação de desnutridos, ou tanto quanto a dieta caseína e a dieta comercial. Parece que o objetivo de renutrir foi mais vantajoso do que o processo de administrar multimistura quando já se tem uma dieta saudável, como no caso da Figura 6 em relação à Figura 2, pois àquela apresentou os maiores ganhos de peso e os maiores parâmetros biológicos, como PER, FER, DV e DA.

Os dados de peso dos animais no presente trabalho estão de acordo com Hossne et al. (1986), citados por Guzmán-Silva et al. (2004), que obtiveram para ratos machos normais com 70 dias de idade, peso corporal médio de 206g, variando entre 180g e 240g. Como os ratos foram recebidos do biotério com 30 dias de idade, submetidos a dieta aprotéica por 14 dias e posteriormente renutridos por 28 dias, apresentaram idade semelhante aos relatados pelos autores anteriormente citados. Boaventura et al. (2003) trabalharam com ratos renutridos com dietas adicionadas de suplemento alimentar, obtendo pesos médios ao redor de 228g aos 28 dias de experimento, bem próximos aos encontrados no presente trabalho, mas o peso inicial daqueles animais foi de aproximadamente 60g, valores inferiores aos do presente trabalho. No entanto o ganho de peso encontrado pelos mesmos autores encontrou-se na faixa de 160g.

Os dados de órgãos dos animais apresentaram-se maiores ou equivalentes ao da caseína, quando comparados com os pesos obtidos na Figura 3. Os pesos dos baços e rins encontram-se próximos aos valores obtidos por Guzmán-Silva et al. (2004), que adicionaram 2,1% de suplemento alimentar a dietas caseína e dieta Quissamã (reunia alimentos frequentemente consumidos por crianças desta cidade), mas os valores para os fígados foram inferiores aos encontrados pelos mesmos autores.

Como os animais foram marcados (lombo, cauda e cabeça) foi possível coletar pesos e realizar a análise estatística entre os ganhos de peso ao longo do experimento, verificando-se que não houve diferença quanto ao ganho de peso entre os animais que se alimentaram das 4 dietas. No entanto, não foi possível realizar análise estatística para os parâmetros biológicos, pois se coletava as excretas a cada 2 dias, e a análise só pôde ser feita por médias, como havia só uma gaiola e três animais na mesma gaiola, não se pôde diferenciar qual excretou mais ou qual ingeriu mais proteína, fatores estes que são levados em consideração para os cálculos das digestibilidades e coeficientes de eficiência alimentar, protéica e líquida protéica. Portanto os resultados expressos na Tabela 9 são uma estimativa do grupo.

A razão de eficiência protéica (PER) apresentou-se semelhante entre as multimisturas e a caseína, no entanto teve um valor de 1,26 para a dieta comercial, provavelmente devido este índice levar em consideração a proteína consumida (g), uma vez que o ganho de peso não diferiu entre as dietas. Como a dieta comercial apresentou 25,2% de proteína (b.s.), o PER foi menor. Em relação ao coeficiente de eficiência alimentar, que leva em conta a quantidade total ingerida e o ganho de peso, esse parâmetro apresentou-se semelhante entre as dietas. As digestibilidades *in vivo* verdadeira e aparente situaram-se na faixa entre 70,0 e 86,7% e 66,0 e 84,3%, respectivamente, próximas às digestibilidades encontradas para as dietas mostradas na Tabela 8, com exceção da caseína, que naquela tabela apresentou um valor de 96,8% e 93,8%, respectivamente, equivalente aos dados de literatura. As digestibilidades da MM7 da Tabela 9, assim como na Tabela 8, foram superiores às respectivas multimisturas 8 (com farelo de arroz), comprovando mais uma vez, que as multimisturas com farelo de trigo são melhor aproveitadas pelo organismo das ratas. Na Tabela 9, a diferença de digestibilidade entre essas multimisturas foi de 10%.

### 3.2.4 Testes bioquímicos

A Tabela 10 mostra os valores de glicemia e de cálcio plasmático dos grupos submetidos a 8 diferentes dietas e dos grupos renutridos com 4 dietas (recuperados).

Tabela 10: Glicemia e cálcio plasmático de ratas submetidas a diferentes dietas.

Grupos	Glicemia (mg/dL)	Cálcio (mg/dL)
Aprotéica	-	10,3 <sup>a</sup>
Caseína	105,17±21,93 <sup>a,b</sup>	10,9±0,07 <sup>a</sup>
MM 1	60,33±15,58 <sup>a</sup>	9,8±0,64 <sup>a</sup>
MM 2	75,83±14,18 <sup>a,b</sup>	10,5±0,14 <sup>a</sup>
MM 3	73,50±9,22 <sup>a</sup>	10,7±0,28 <sup>a</sup>
MM 4	72,17±8,57 <sup>a</sup>	10,9±0,07 <sup>a</sup>
MM 5	65,00±19,70 <sup>a</sup>	10,5±0,42 <sup>a</sup>
MM 6	123,33±70,08 <sup>b</sup>	10,1±0,85 <sup>a</sup>
MM 7	67,80±6,57 <sup>a</sup>	9,8±0,28 <sup>a</sup>
MM 8	87,40±15,66 <sup>a,b</sup>	10,0±0,07 <sup>a</sup>
Caseína - recuperado	133,00±17,52 <sup>b</sup>	10,8±0,07 <sup>a</sup>
Comercial - recuperado	98,7±14,66 <sup>a,b</sup>	10,1±0,14 <sup>a</sup>
MM 7 - recuperado	84,33±20,74 <sup>a,b</sup>	10,2±0,49 <sup>a</sup>
MM 8 - recuperado	101,67±31,56 <sup>a,b</sup>	10,5±0,07 <sup>a</sup>

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

MM1: multimistura com farelo de trigo e folha de mandioca  
MM2: multimistura com farelo de arroz e folha de mandioca  
MM3: idem MM1, fermentada  
MM4: idem MM2, fermentada  
MM5: multimistura com farelo de trigo, sem folha de mandioca  
MM6: multimistura com farelo de arroz, sem folha de mandioca  
MM7: idem MM5, fermentada  
MM8: idem MM6, fermentada

A glicemia das ratas alimentadas da caseína e das multimisturas 2, 6, 8 e grupos recuperados apresentaram os valores mais elevados, os quais não diferiram significativamente entre si. De acordo com Harkness e Wagner (1993), a glicemia pode variar de 50 mg/dL a 135 mg/dL. Portanto pode-se afirmar que a dieta MM6, com farelo de arroz, sem folha e não fermentada apresenta-se mais adequada quanto ao teor de carboidratos oferecidos. As demais multimisturas parecem possuir um efeito hipoglicêmico nos animais, tendência também observada por Faria et al. (2005). Spadella et al. (1997) e Mazzanti et al. (2003) encontraram para ratos machos, submetidos à dieta controle, glicemia média de  $90,6 \pm 15,7$  mg/dL e  $93,9 \pm 3,3$  mg/dL, respectivamente. Nogueira-Júnior et al. (2005) trabalharam com ratos fêmeas, encontrando glicemia inferior a 130mg/dL, o que também ocorreu no presente trabalho. Aires-Neto et al. (2005) encontraram em ratos machos glicemia variando de 96 a 102mg/dL.

Quanto ao teor de cálcio no plasma, não houve diferença entre nenhum grupo, estando os valores de acordo com Santos et al. (2004), que encontraram para dieta creche enriquecida de 1,2g e 2,4g de multimistura, 9,99 e 10,09 meq/dL, respectivamente, de cálcio total. Os mesmos autores reportaram que estes valores não apresentaram diferença significativa para o grupo aprotéico, que obteve 9,63meq/dL, mas para o grupo controle, eles obtiveram 12,34meq/dL, valor que se diferiu dos demais. Segundo Cisternas et al. (2001), o nível de cálcio em sangue humano varia de 9-11mg/dL, também dentro da faixa encontrada no presente trabalho, para ratas.

Os dados de glicemia e cálcio plasmático em ratas alimentadas de multimistura na literatura são bastante escassos, necessitando-se de mais investigações sobre este assunto.

#### **4 CONCLUSÕES**

Os animais que ingeriram dietas contendo multimisturas com folha de mandioca fermentadas, independente do tipo de farelo tenderam a apresentar maior ganho de peso. Isto se refletiu nos coeficientes de eficiência alimentar, que se apresentaram mais próximos ao da caseína. As razões de eficiência protéica e líquida protéica não diferiram entre as

multimisturas. Os ganhos de peso dos animais ingerindo oito diferentes dietas contendo multimistura ao longo de 28 dias também não apresentaram diferença significativa.

As multimisturas contendo farelo de trigo apresentaram valores de digestibilidade *in vivo* superiores às multimisturas com farelo de arroz. Assim, foi possível constatar que estas multimisturas foram bem aproveitadas pelo organismo, apresentando digestibilidade próximas a da proteína de referência.

A glicemia e o cálcio plasmático encontrados para ratas alimentadas com as oito dietas de multimistura foram normais, o que permite dizer que a multimistura propicia um efeito hipoglicêmico e níveis adequados de cálcio no plasma.

Os animais desnutridos com dieta aprotéica por 14 dias, sendo após recuperados com as dietas caseína, comercial para animais de laboratório e multimisturas puras (MM7 e MM8), e na última semana complementadas, cada uma com 50% de dieta comercial para animais de laboratório, apresentaram indicativos biológicos e dados de peso e ganho de peso que não diferiram entre si. Isto indica que as multimisturas foram tão efetivas quanto às demais dietas, quando utilizadas da forma como são precronizadas, ou seja, como complemento.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIRES-NETO, T. A.; CAVALCANTE, J. F.; BRANDÃO-NETO, J.; ARAÚJO-FILHO, I.; ALMEIDA, M. das G.; REZENDE, A. A. de; EGITO, E. S. T.; AZEVEDO, I. M. de; PINHEIRO, L. A. M.; MEDEIROS, V. B.; MEDEIROS, A. da C. Total gastrectomy with substitution of stomach by jejunal pouch with and without duodenal passage. Study in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, supl.1, São Paulo, 2005.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 17th edition, Washington, D. C., CD-ROM, 2000.
- AZEREDO, V. B. de.; BOAVENTURA, G. T.; CARMO, M. das G. T. do. Study of chemical characteristics and nutritional quality of two food - subproduct flour - multimixture. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 50, n. 2, Health Module. 145, Mar 1999. 4p.
- AZEREDO, V. B. de.; BOAVENTURA, G. T.; CARMO, M. das G. T. do. Apparent digestibility and proteic quality of the basic diet of Rio de Janeiro State complemented with multimixture. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**; v. 51, n. 6, Health Module, Nov 2000; p. 453-458. 6 p.
- BOAVENTURA, G. T.; CHIAPPINI, C. C. de J.; ASSIS FERNANDES, N. R.; OLIVEIRA, E. M. de. Avaliação da qualidade protéica de uma dieta estabelecida em Quissamã, Rio de Janeiro, adicionada ou não de multimistura e de pó de folha de mandioca. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 3, Campinas, set./dez, 2000.
- BOAVENTURA, G. T.; SILVA, R. H. de L.; TOSTES, L. F.; AZEREDO, V. B. de. Ganho de peso, hemoglobina e hematócrito de ratos recebendo dieta de Quissamã, RJ, com ou

sem suplemento alimentar alternativo. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 321-331, jul.-set., 2003.

BRANDÃO, C. T.; BRANDÃO, R. F. **Alternativas Alimentares**. Londrina: Centro de Pastoral Popular. 1988. 48p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.º 53 de 15 de junho de 2000. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelo de Cereais**. Brasília, 2000. 4p.

FARIA, A. F.; VASCONCELLOS, D. G. V.; SACCHET, F. S. **Multimistura: um estudo de propriedades físico-químicas, biológicas e disponibilização de nutrientes**. Rio Grande, 2005. 71p. Projeto de Graduação em Engenharia de Alimentos – Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

FERREIRA, H. da S.; ASSUNÇÃO, M. L. de.; FRANÇA, A. O. S. de.; CARDOSO, E. P. C.; MOURA, F. A. Efetividade da “multimistura” como suplemento de dietas deficientes em vitaminas e/ou minerais na recuperação ponderal de ratos submetidos à desnutrição pós-natal. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 63-74, jan.-fev., 2005.

GLÓRIA, E. C. S.; ALMEIDA, N. A. V.; COSTA, A. S. V.; JÚNIOR, E. H.; MARTINS, S. L.; PAULA, H.; SILVA, M. E.; SANTOS, R. C.; MALAQUIAS, L. C. C. Avaliação protéica de uma nova multimistura com base no milho QPM BR 473. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 379-385, 2004.

GUZMÁN-SILVA, M. A.; WANDERLEY, A. R.; MACÊDO, V. M.; BOAVENTURA, G. T. Recuperação da desnutrição em ratos mediante dietas adicionadas ou não de suplemento alimentar e de vitaminas e minerais durante o período de crescimento. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, Campinas, jan.-mar, 2004.

HARKNESS, J.; WAGNER, J. E. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. Rocca, 3ª ed. São Paulo, 1993.

LARA, L. B. BORGES, F. M. de O.; SALIBA, E. de O. S.; SAAD, C. E. do P.; TEIXEIRA, E. A. Técnica da peroxidação para a determinação de metionina em amostras derivadas de ensaios de digestibilidade do trigo e seus subprodutos em frangos de corte. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 459-466, mar./abr., 2005.

LEITE, M. S.; AZEREDO, V. B. de.; CARMO, M. das G. T. do.; BOAVENTURA, G. T. Utilização da multimistura durante a lactação e seus efeitos na produção e composição do leite materno de ratas. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 211-221, mai/ago., 2002.

LEMOS, M. R. B. **Estudo comparativo de três farelos de arroz. Respostas biológicas e nutricionais, testadas em ratos Wistar**. Rio Grande, 1999. 112p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

MADRUGA, M. S.; CÂMARA, F. S. The chemical composition of “Multimistura” as a food supplement. **Food Chemistry**, v. 68, p. 41-44, 2000.

MADRUGA, M. S.; SANTOS, H. B.; BION, F. M. ANTUNES, N. L. M. Avaliação nutricional de uma dieta suplementada com multimistura: estudo em ratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 129-133, jan.-mar, 2004.

- MAZANTTI, C. M.; SCHOSSLER, D. R.; FILAPPI, A.; PRESTES, D.; BALZ, D.; MORSCH, A.; SCHETINGER, M. R. C.; MORSCH, V. M.; CECIM, M. Extrato da casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 6, p. 1061-1065, nov-dez., 2003.
- MENDEZ, M. H. M.; DERIVI, S. C. N.; COUTO, S. R. M.; NÓBOA, C. de F. B.; PIRRONE, M. D. Avaliação biológica de sopas-cremes de talos de brócolis (*Brassica oleracea*) e de couve (*Brassica oleracea*, L), em ratos. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 137, p. 115-119, nov/dez, 2005.
- MILLER, D.; BENDER, A. E. The determination of the net protein utilization of proteins by as shortened method. **British Journal of Nutrition**, London, v. 9, p. 382-388, 1955.
- MONTEIRO, J. B. R.; COSTA, N. M. B.; ESTEVES, E. A.; MILAGRES, K. H. Avaliação da qualidade protéica de dois formulados em pó, à base de soja enriquecidos com zinco, selênio e magnésio para utilização em nutrição enteral. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 006-010, jan.-mar, 2004.
- NOGUEIRA-JÚNIOR, F. C.; COELHO, D. A.; ALMEIDA, M. M. C.; SILVA, T. C. P.; FERREIRA, E. C. S.; MACEDO, U. B. O.; NETO, F. P. F.; BRANDÃO-NETO, J.; ALMEIDA, M. das G.; REZENDE, A. A. de. Efeito do tamoxifeno no perfil lipídico de ratos diabéticos por estreptozotocina. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, Supl nº 1, 2005.
- Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação.** Colaboradores: Marco Aurélio Guimarães, Renata Mázaró - São Paulo: UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina. Departamento de Psicobiologia - vários autores, 2004.
- REEVES, P. G. Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. **The Journal of Nutrition**, v. 127, n. 5, p. 838S-841S, May 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-76A Rodent Diet. **Rodents Diet**, v. 123, n. 6, p. 1939-1951, 1993.
- RODRIGUES, A. M.; SANT'ANNA, E. S. Efeito do cloreto de sódio na produção de proteínas (*Saccharomyces cerevisiae*) em fermentação semi-sólida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 57-62, jan.-abr., 2001.
- SANTOS, H. B.; MADRUGA, M. S.; BION, F. M.; ANTUNES, N. L. M.; MENDES, K.; ÁGUIDA, 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, out.-dez., 2004.
- SGANZERLA, J.; LORENZ, J. G.; PORTO, M. R. A. **Estudo do tempo de vida útil de multimisturas sob diferentes condições de armazenamento.** Rio Grande. 2006. 86p. Projeto de Graduação em Engenharia de Alimentos – Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- SGARBIERI, V. C. **Proteínas em Alimentos Protéicos: Propriedades, Degradação, Modificação.** São Paulo: Varela, 1996. 517 p.



- SILVEIRA, A. E. V. G. da.; SOUZA-SOARES, L. A. de.; BADIALE-FURLONG, E. Avaliação nutricional de uma massa alimentícia seca à base de plasma bovino. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v. 11, p. 51-65, 2000.
- SPADELLA, C. T.; MERCADANTE, M. C. S.; MACHADO, J. L. M.; SCHELLINI, S. A.; BRANDÃO-NETO, J. Experimental pancreas transplantation. The consequences of the portocaval shunt on the blood glucose, plasma insulin, and glucagon. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 12, n. 3, São Paulo, jul.-set., 1997.
- VIZEU, V. E.; FEIJÓ, M. B. S.; CAMPOS, R. C. de. Determinação da composição mineral de diferentes formulações de multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 254-258, abr.-jun., 2005.
- WAINWRIGHT, M. **Introducción a la Biotecnología de los Hongos**. Zaragoza, España: Acribia, 1995. 228 p.

## APÊNDICE I – Misturas minerais e vitamínicas

Misturas de minerais que fornecem as concentrações indicadas de minerais para as dietas AIN-93G.

Minerais	AIN-93G-MX (g ou mg/Kg de mistura)
Carbonato de cálcio anidro (40,04% Ca)	357,00
Fosfato de potássio monobásico (22.76% P, 28.73% K)	196,00
Citrato de potássio, monoidrato tripotássico (36.16% K)	70,78
Cloreto de sódio (39.34% Na, 60.66% Cl)	74,00
Sulfato de potássio (44.87% K, 18.39% S)	46,60
Óxido de magnésio (60.32% Mg)	24,00
Citrato de ferro (16.5% Fe)	6,06
Carbonato de zinco (52.14% Zn)	1,65
Sódio-meta-silicato · 9H <sub>2</sub> O (9.88% Si)	1,45
Carbonato de manganês (47.79% Mn)	0,63
Carbonato cúprico (57.47% Cu)	0,30
Sulfato-potássico-crômico · 12H <sub>2</sub> O (10.42% Cr)	0,275
Ácido bórico (17.5% B), <i>mg</i>	81,5
Fluoreto de sódio (45.24% F), <i>mg</i>	63,5
Carbonato de níquel (45% Ni), <i>mg</i>	31,8
Cloreto de lítio (16.38% Li), <i>mg</i>	17,4
Selenato de sódio anidro (41.79% Se), <i>mg</i>	10,25
Iodeto de potássio (59.3% I), <i>mg</i>	10,0
Paramolibdato de amônio · 4H <sub>2</sub> O (54.34% Mo), <i>mg</i>	7,95
Vanadato de amônio (43.55% V), <i>mg</i>	6,6
Sacarose em pó	221,026

\* Valores retirados de Reeves et al. (1993a).

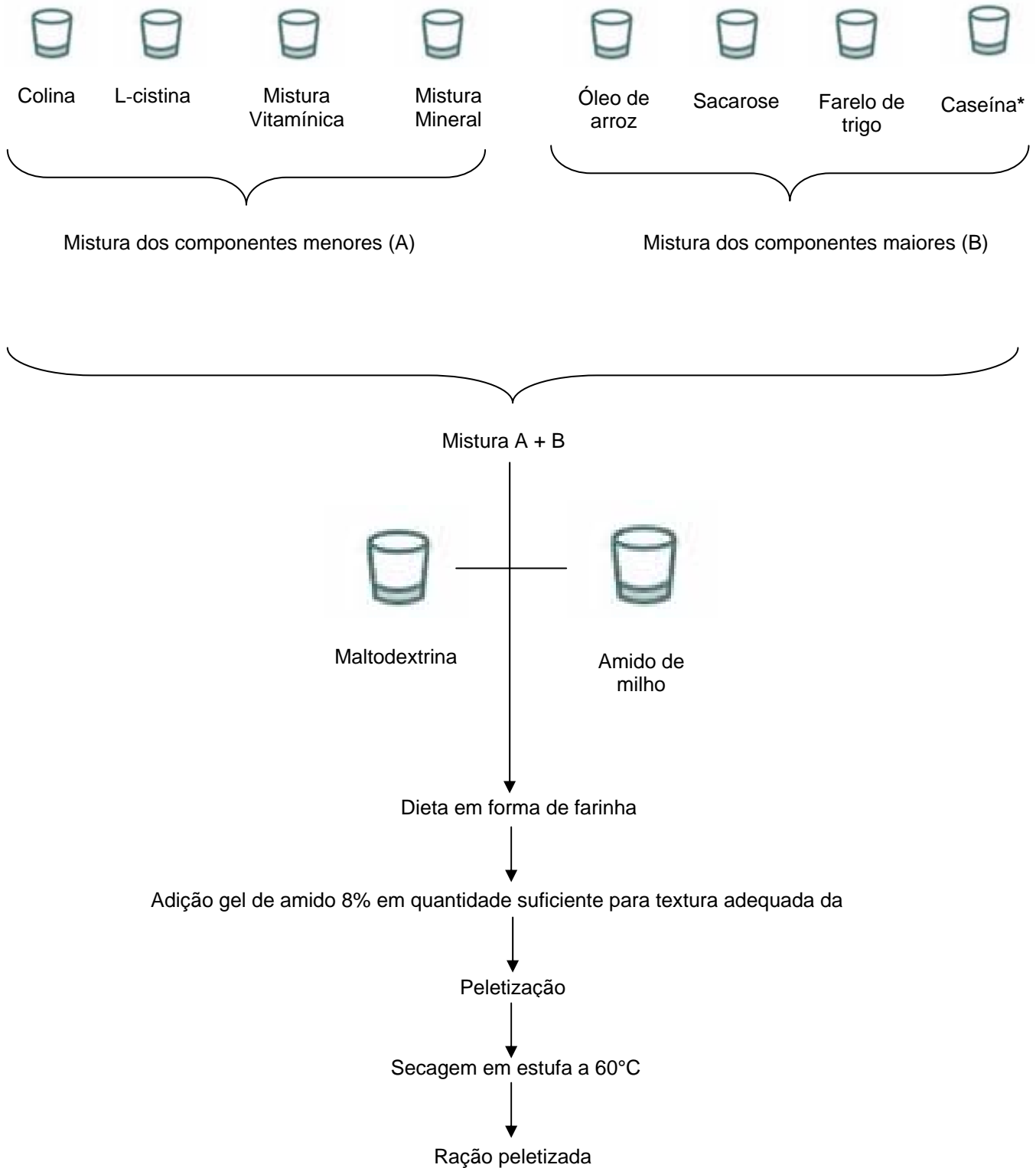
Mistura vitamínica da dieta AIN-93-VX recomendada para utilização com as formulações das dietas AIN-93G e AIN-93M.\*

Vitamina	Quantidade (g/Kg de mistura)
Ácido nicotínico	3,000
Pantotenato de cálcio	1,600
Piridoxina (B <sub>6</sub> )-HCl	0,700
Tiamina (B <sub>1</sub> )-HCl	0,600
Riboflavina (B <sub>2</sub> )	0,600
Ácido fólico	0,200
Biotina	0,020
Vitamina B <sub>12</sub> (cianocobalamina) (0,1% em manitol)	2,500
Vitamina E (acetato de $\alpha$ -tocoferol)** (500IU/g)	15,000
Vitamina A (palmitato retinil trans)** (500,000 IU/g)	0,800
Vitamina D <sub>3</sub> (colecalfiferol) (400,000 IU/g)	0,250
Vitamina K <sub>1</sub> (filoquinona)	0,075
Sacarose em pó	974,655

\* Valores retirados de Reeves et al. (1993a).

\*\* A forma de matriz gelatinosa destas vitaminas é recomendada.

## APÊNDICE II – Misturas e peletização das dietas caseína e aprotéica



\* na dieta aprotéica, este componente é excluído.

**APÊNDICE III – Tukey para pesos dos animais alimentados de oito dietas de multimistura e caseína.**

**- Tukey para a influência dos pesos sobre as dietas**

Tukey HSD test; variable PESOS (ratos - pesos de todos.s...				Homogeneous Groups, alpha=,05 MAIN EFFECT: DIETA		
Continue...				Mean	1	2
GAIOLA	DIETA	DIAS				
....	MM5	....	{5}	123,5667	xxxx	
....	MM7	....	{7}	123,6000	xxxx	
....	MM6	....	{6}	126,1333	xxxx	
....	MM2	....	{2}	127,1667	xxxx	
....	MM 3	....	{3}	128,9000	xxxx	
....	MM 1	....	{1}	128,9333	xxxx	
....	MM 4	....	{4}	130,7000	xxxx	
....	MM8	....	{8}	131,6000	xxxx	
....	CAS	....	{9}	157,1667		xxxxx

**- Tukey para a influência dos pesos sobre os dias**

Tukey HSD test; variable PESOS (ratos - pesos de todos.sta)				Homogeneous Groups, alpha=,05 MAIN EFFECT: DIAS				
Continue...				Mean	1	2	3	4
GAIOLA	DIETA	DIAS						
....	....	0	{1}	107,5370	xxxx			
....	....	7	{2}	115,2222	xxxx	xxxx		
....	....	14	{3}	122,1481		xxxx		
....	....	28	{5}	147,6852			xxxx	
....	....	21	{4}	161,7222				xxxx

**- Tukey para a influência dos pesos sobre as gaiolas**

Tukey HSD test; variable PESOS (ratos - pesos de todos.sta)				Homogeneous Groups, alpha=,05 MAIN EFFECT: GAIOLA	
Continue...				Mean	1
GAIOLA	DIETA	DIAS			
B	....	....	{2}	129,6519	xxxx
A	....	....	{1}	132,0741	xxxx

- Tukey para a influência dos pesos sobre a interação gaiola x dieta x dias

Continue...				Homogeneous Groups, alpha=.05 INTERACTION: 1 x 2 x 3						
GAIOLA	DIETA	DIAS		Mean	1	2	3	4	5	6
A	MM7	0	{31}	103,33	xxxx					
B	MM 3	0	{56}	103,67	xxxx					
B	MM 4	0	{61}	105,00	xxxx					
A	MM 1	7	{2}	105,00	xxxx					
A	MM6	0	{26}	105,33	xxxx					
A	MM 1	0	{1}	105,67	xxxx					
A	MM 4	0	{16}	105,67	xxxx					
B	CAS	0	{86}	106,67	xxxx					
B	MM7	0	{76}	106,67	xxxx					
B	MM6	0	{71}	107,00	xxxx					
B	MM8	0	{81}	107,33	xxxx					
A	MM7	7	{32}	107,33	xxxx					
B	MM2	0	{51}	107,67	xxxx					
A	MM 3	0	{11}	108,00	xxxx					
B	MM5	0	{66}	108,00	xxxx					
A	MM 3	7	{12}	108,33	xxxx					
B	MM 1	0	{46}	109,00	xxxx					
A	MM2	0	{6}	109,67	xxxx					
B	MM2	7	{52}	110,00	xxxx					
B	MM7	7	{77}	110,33	xxxx					
A	MM5	0	{21}	110,33	xxxx					
B	MM 1	7	{47}	110,67	xxxx					
B	MM5	7	{67}	111,33	xxxx					
A	MM7	14	{33}	112,00	xxxx					
B	MM5	14	{68}	112,33	xxxx					
B	MM 3	7	{57}	112,67	xxxx					
A	MM2	7	{7}	113,00	xxxx					
A	MM8	0	{36}	113,00	xxxx					
B	MM7	14	{78}	113,33	xxxx					
A	CAS	0	{41}	113,67	xxxx					
B	MM6	14	{73}	113,67	xxxx					
B	MM6	7	{72}	115,00	xxxx					
B	MM8	7	{82}	116,00	xxxx	xxxx				
B	MM2	14	{53}	116,67	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM 1	14	{3}	117,00	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM 4	7	{17}	117,00	xxxx	xxxx	xxxx			
B	MM 4	7	{62}	117,67	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM8	7	{37}	118,00	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM5	7	{22}	118,67	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM6	7	{27}	119,33	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM6	14	{28}	119,33	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM5	14	{23}	119,33	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM 4	14	{18}	120,00	xxxx	xxxx	xxxx			
B	MM 1	14	{48}	120,67	xxxx	xxxx	xxxx			
B	MM8	14	{83}	121,33	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM2	14	{8}	121,33	xxxx	xxxx	xxxx			
B	MM 3	14	{58}	121,33	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM 3	14	{13}	121,33	xxxx	xxxx	xxxx			

GAIOLA	DIETA	DIAS		Mean	1	2	3	4	5	6
A	MM8	14	{38}	124,33	xxxx	xxxx				
B	MM 4	14	{63}	125,33	xxxx	xxxx				
B	CAS	7	{87}	126,67	xxxx	xxxx				
B	MM5	28	{70}	129,33	xxxx	xxxx	xxxx			
A	MM5	28	{25}	131,33	xxxx	xxxx	xxxx			
B	MM6	28	{75}	134,00	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx		
A	MM6	28	{30}	135,00	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	
B	MM7	28	{80}	135,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	
B	MM 1	28	{50}	136,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	
A	CAS	7	{42}	137,00	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	
B	MM2	28	{55}	137,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	
A	MM7	28	{35}	140,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	
A	MM 4	28	{20}	141,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	
A	MM2	28	{10}	141,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	
A	MM 3	28	{15}	144,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	
B	CAS	14	{88}	145,00	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM 3	28	{60}	145,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM8	28	{85}	146,00	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	MM5	21	{24}	147,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM5	21	{69}	147,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	MM8	28	{40}	148,00	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM 4	28	{65}	150,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM 1	21	{49}	152,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM7	21	{79}	152,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	CAS	14	{43}	154,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	MM7	21	{34}	154,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	MM 1	21	{4}	154,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM6	21	{74}	155,00	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM2	21	{54}	155,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	MM6	21	{29}	157,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	MM2	21	{9}	159,00	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	MM 4	21	{19}	159,00	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	MM8	21	{39}	160,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM8	21	{84}	161,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM 3	21	{59}	161,67	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	MM 3	21	{14}	162,00	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	MM 4	21	{64}	165,33	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	MM 1	28	{5}	177,67		xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
B	CAS	28	{90}	189,67			xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
A	CAS	28	{45}	194,33				xxxx	xxxx	xxxx
B	CAS	21	{89}	197,00					xxxx	xxxx
A	CAS	21	{44}	207,33						xxxx







## **CAPÍTULO IV – CONCLUSÃO GERAL**

## CONCLUSÕES GERAIS

A fermentação do farelo de arroz ocasionou uma diminuição de pH, metionina disponível e no conteúdo de carboidratos, proporcionando um aumento da acidez, dos açúcares redutores, cinzas e fibras. Os teores de cálcio, proteína e lipídios não foram alterados.

As multimisturas com farelo de arroz, em relação às com farelo de trigo, obtiveram os maiores teores de lipídios, minerais, fibras, acidez e a maior digestibilidade *in vitro*, parâmetros estes que apresentaram diferença significativa. As multimisturas com farelo de trigo obtiveram os maiores valores de proteínas, carboidratos e pH.

A fermentação de algumas multimisturas causou um aumento nos conteúdos de proteínas, fibras, acidez, mas uma diminuição do aminoácido essencial metionina, carboidratos e pH. Não influenciou a digestibilidade *in vivo* ou *in vitro*, a glicemia sanguínea e os níveis de cálcio plasmático.

A presença da folha de mandioca, não influenciou na composição físico-química das multimisturas, provavelmente pela quantidade em que é adicionada (em torno de 5%). Os animais que ingeriram dietas contendo multimisturas com folha de mandioca fermentadas, independente do tipo de farelo tenderam a apresentar maior ganho de peso. Isto se refletiu nos coeficientes de eficiência alimentar, que se apresentaram mais próximos ao da caseína. As razões de eficiência protéica e líquida protéica não diferiram entre as multimisturas.

Os grupos que ingeriram as multimisturas fermentadas tenderam a apresentar um desenvolvimento do fígado e baço maior dos que ingeriram multimisturas não fermentadas, porém estas diferenças não foram significativas, o mesmo ocorrendo com as relações pesos dos órgãos pelos pesos dos animais.

As multimisturas contendo farelo de trigo apresentaram valores de digestibilidade *in vivo* superiores às multimisturas com farelo de arroz. Assim, pode-se dizer que estas multimisturas são bem aproveitadas pelo organismo, apresentando digestibilidade próxima a da proteína de referência.

Em relação ao índice glicêmico, as multimisturas com farelo de arroz apresentaram valores mais apropriados, mas foi observada uma tendência das multimisturas em geral, apresentarem efeito hipoglicêmico. Os conteúdos de cálcio plasmático das ratas em estudo não apresentaram diferença significativa quando alimentadas das dietas ofertadas, encontrando-se estáveis.

Os grupos desnutridos e após renutridos com diferentes dietas não apresentaram diferença significativa no ganho de peso, e nos parâmetros biológicos observou-se que a digestibilidade *in vivo* da multimistura com farelo de trigo foi melhor do que a com farelo de arroz.

**CAPÍTULO V – REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS GERAL**

## REFERÊNCIAS GERAIS

- ADOLFO LUTZ - **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**, v. 1, 3ª edição. São Paulo, 1985.
- AIRES-NETO, T. A.; CAVALCANTE, J. F.; BRANDÃO-NETO, J.; ARAÚJO-FILHO, I.; ALMEIDA, M. das G.; REZENDE, A. A. de; EGITO, E. S. T.; AZEVEDO, I. M. de; PINHEIRO, L. A. M.; MEDEIROS, V. B.; MEDEIROS, A. da C. Total gastrectomy with substitution of stomach by jejunal pouch with and without duodenal passage. Study in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, supl.1, São Paulo, 2005.
- ANDRADE, A. S.; CARDONHA, A. M. S. Análise microbiológica da multimistura. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 16, 1998. Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998. CD-ROM.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 17th edition, Washington, D. C., CD-ROM, 2000.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotechnologia industrial – Biotechnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. 523 p.
- AZEREDO, V. B. de.; BOAVENTURA, G. T.; CARMO, M. das G. T. do. Apparent digestibility and proteic quality of the basic diet of Rio de Janeiro State complemented with multimixture. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**; v. 51, n. 6, Health Module, Nov 2000; p. 453-458. 6 p.
- AZEREDO, V. B. de.; BOAVENTURA, G. T.; CARMO, M. das G. T. do. Study of chemical characteristics and nutritional quality of two food - subproduct flour - multimixture. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 50, n. 2, Health Module. 145, Mar 1999. 4p.
- AZEREDO, V. B. de.; DIAS, M. M.; BOAVENTURA, G. T. ; CARMO, M. das G. T. do. FERNANDES, N. R. Influência da multimistura na gestação de ratas: pesos materno e fetal e triglicérides séricos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 1, p. 83-91, jan./mar., 2003.
- AZEREDO, V.B.; BOAVENTURA, G.T.; CARMO, M.G.T. do. Determinação da concentração de tanino em duas multimisturas. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 16., 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998. CD-ROM.
- BADIALE, E. Variação de metionina em feijões (*Phaseolus vulgaris*). **Dissertação de Mestrado**. Campinas, 1979, 79p. (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- BADIALE-FURLONG, E. Manejo operacional para micotoxinas em arroz. In: ELIAS, M. C.; LORINI, I.: Qualidade de arroz na pós-colheita. **Anais do II Simpósio Sul - Brasileiro de qualidade de arroz**. Pelotas: Abrapós/UFPEL, 2005. p. 95-109.
- BITTENCOURT, S. A. Uma alternativa para a política nutricional brasileira? **Cadernos de Saúde Pública**, v. 14, n. 3, Rio de Janeiro, Jul/Set, 1998.
- BOAVENTURA, G. T.; CHIAPPINI, C. C. de J.; ASSIS FERNANDES, N. R.; OLIVEIRA, E. M. de. Avaliação da qualidade protéica de uma dieta estabelecida em

- Quissamã, Rio de Janeiro, adicionada ou não de multimistura e de pó de folha de mandioca. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 3, set./dez, 2000.
- BOAVENTURA, G. T.; SILVA, R. H. de L.; TOSTES, L. F.; AZEREDO, V. B. de. Ganho de peso, hemoglobina e hematócrito de ratos recebendo dieta de Quissamã, RJ, com ou sem suplemento alimentar alternativo. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 321-331, jul./set., 2003.
- BRANDÃO, C. T.; BRANDÃO, R. F. **Alternativas Alimentares**. Londrina: Centro de Pastoral Popular. 1988. 48p.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº360 de 23 de dezembro de 2003. **Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados**. Brasília, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.º 53 de 15 de Junho de 2000. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelo de Cereais**. Brasília, 2000. 4p.
- BU'LOCK, J.; KRISTIANSEN, B. **Biotecnología básica**. Zaragoza, España: Acribia, 1991.
- BUZINARO, E. F.; ALMEIDA, R. N. A de.; MAZETO, G. M. F. S. Biodisponibilidade do cálcio dietético. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 50, n. 5, out, 2006.
- CÂMARA, F. S.; MADRUGA, M. S. Cyanic acid, phytic acid, total tannin and aflatoxin contents of a brazilian (natal) *multimistura* preparation. **Revista de Nutrição**, v. 14 n. 1, jan./abr, 2001.
- CHOI, I.; JUNG, C.; CHOI, H.; KIM, C.; HA, H. Effectiveness of phosvitin peptides on enhancing bioavailability of calcium and its accumulation in bones. **Food Chemistry**, v. 93, p. 577–583, 2005.
- CISTERNAS, J. R.; VARGA, J.; MONTE, O. **Fundamentos de Bioquímica Experimental**. 2ª ed, São Paulo, Ed. Atheneu, 2001.
- COBAYASHI, F. Cálcio: seu papel na nutrição e saúde. **Compacta Nutrição**, v. 5, n. 2, 2004.
- CORRÊA, A. D.; WOBETO, C.; ABREU, J. R. de; ABREU, C. M. P. de; SANTOS, C. D. dos. Avaliação de antinutrientes da farinha de folhas de seis cultivares de mandioca. In: *Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos-CBCTA*, Porto Alegre. **Anais...**: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, CD-ROM, p. 1140-1143, 2002.
- DUTRA, C. B.; CALLEGARO, M. G. K.; HUBER, L. S.; BECKER, L. V.; ROSA, C. S. da; HECKTHEUER, L. H.; KUBOTA, E. H. Determinação de Fibra Alimentar Insolúvel, Solúvel e Total em Produtos Derivados do Milho. In: *Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2002. CD-ROM
- EKHOLM, P.; VIRKII, L.; YLINEN, M.; JOHANSSON, L. The effect of phytic acid and some natural chelating agents on the solubility of mineral elements in oat bran. **Food Chemistry**, v. 80, p. 65–170, 2003.

- FARFAN, J. A. Alimentação alternativa: análise crítica de uma proposta de intervenção nutricional. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 14, n. 1, p. 205-212, jan-mar, 1998.
- FARIA, A. F.; VASCONCELLOS, D. G. V.; SACCHET, F. S. **Multimistura: um estudo de propriedades físico-químicas, biológicas e disponibilização de nutrientes**. Rio Grande, 2005. 71p. Projeto de Graduação em Engenharia de Alimentos – Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- FERREIRA, H. da S.; ASSUNÇÃO, M. L. de.; FRANÇA, A. O. S. de.; CARDOSO, E. P. C.; MOURA, F. A. Efetividade da “multimistura” como suplemento de dietas deficientes em vitaminas e/ou minerais na recuperação ponderal de ratos submetidos à desnutrição pós-natal. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 1, p. 63-74, jan/fev., 2005.
- FUH, W. S.; CHIANG, B. H. Dephytinisation of rice bran and manufacturing a new food ingredient. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 1419-1425, 2001.
- FURLONG, E. B.; SOARES, L. A. de S.; DADALT, G. Micotoxinas em grãos destinados ao consumo humano no Rio Grande do Sul. In: IX Encontro Nacional de Micotoxinas e I Simpósio em Qualidade de Grãos do Mercosul, 1998, Florianópolis. **IX Encontro Nacional de Micotoxinas e I Simpósio em Qualidade de Grãos do Mercosul**. Florianópolis, SC: Universidade Federal de Santa Catarina, 1998. v. 1
- FURLONG, E. B.; SOARES, L. A. S.; VIEIRA, A. P.; DADALT, G. Aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em alimentos da região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 58, n. 2, p. 105-111, 1999.
- GARDA, J.; OLIVEIRA, M. S.; FARIA, R.; SILVEIRA, S. T.; DORS, G. C.; MARTINS, R. M.; SCHWANKE, F.; GOLDBECK, L.; BERND, L.; CACCIAMANI, J.; BADIALE-FURLONG, E. **Produtos destinados ao consumo humano no Rio Grande do Sul: situação micotoxicológica**. In: XVII Congresso Regional de Iniciação Científica e Tecnológica em Engenharia e III Feira de Protótipos, Passo Fundo, RS, 2002.
- GLÓRIA, E. C. S.; ALMEIDA, N. A. V.; COSTA, A. S. V.; JÚNIOR, E. H.; MARTINS, S. L.; PAULA, H.; SILVA, M. E.; SANTOS, R.C.; MALAQUIAS, L. C. C. Avaliação protéica de uma nova multimistura com base no milho QPM BR 473. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 379-385, 2004.
- GOLINSKI, P.; GRABARKIEWICZ-SZCZESNA, J. Chemical confirmatory tests for ochratoxin A, citrinin, penicillic acid, sterigmatocystin and zearalenone performed directly on thin layer chromatographic plates. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 67, n. 6, p. 1108-1110, 1984.
- GONÇALVES, A. A.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L. A.; SIERVS, S. T. Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 48, n. 4, p. 334-338, 1998.
- GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology**. 2ª ed. New York: Wiley-Liss, 1994.
- GUTIÉRREZ-ROJAS, M.; HUERTA, S.; FAVELA-TORRES, E.; LOPEZULIBARRI, R.; FONSECA, A.; VINIEGRA-GONZÁLEZ, G. Solid-state fermentation for pectinase production with *Aspergillus niger*. **Biotechnology Techniques**, v. 8, p. 837-842, 1994.
- GUZMÁN-SILVA, M. A.; WANDERLEY, A. R.; MACÊDO, V. M.; BOAVENTURA, G. T. Recuperação da desnutrição em ratos mediante dietas adicionadas ou não de suplemento alimentar e de vitaminas e minerais durante o período de crescimento. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, Campinas, jan/mar, 2004.

- HARKNESS, J.; WAGNER, J. E. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. Rocca, 3ª ed. São Paulo, 1993.
- HERNÁNDEZ, T.; HERNÁNDEZ, A.; MARTINEZ, C. Calidad de Proteínas. Conceptos y Evaluación. **Alimentaria**, v. 27, p. 27-37, jul-ago, 1996.
- HOSENEY, R. C.; **Princípios de Ciencia y Tecnología de los Cereales**. Zaragoza, España, Ed. Acribia, 1991.
- JAGNOW, G. e DAWID, W. **Biotecnología – introducción con experimentos modelo**. Zaragoza, España: Acribia, 1991. 251 p.
- JOOD, S.; KAPOOR, A. C.; SINGH, R. Biological evaluation of protein quality of maize as affected by insect infestation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 2439-2442, 1992.
- KAHLON, T. S.; CHOW, F. I. Lipidemic response of hamsters to rice bran, uncooked or processed white and brown rice, and processed corn starch. **Cereal Chemistry**, v. 77, n. 5, p. 673-678, 2000.
- LARA, L. B. BORGES, F. M. de O.; SALIBA, E. de O. S.; SAAD, C. E. do P.; TEIXEIRA, E. A. Técnica da peroxidação para a determinação de metionina em amostras derivadas de ensaios de digestibilidade do trigo e seus subprodutos em frangos de corte. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 459-466, mar./abr., 2005.
- LEITE, M. S.; AZEREDO, V. B. de.; CARMO, M. das G. T. do.; BOAVENTURA, G. T. Utilização da multimistura durante a lactação e seus efeitos na produção e composição do leite materno de ratas. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 211-221, maio/ago., 2002.
- LEMO, M. R. B. **Estudo comparativo de três farelos de arroz. Respostas biológicas e nutricionais, testadas em ratos Wistar**. Rio Grande, 1999. 112p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- LEMO, M. R. B.; SOUZA-SOARES, L. A. de. Arroz e seus subprodutos na região sul do Brasil. **Vetor**, v. 10, p. 21-36, Rio Grande, 2000.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent, **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- MADRUGA, M. S.; CÂMARA, F. S. The chemical composition of “Multimistura” as a food supplement. **Food Chemistry**, v. 68, p. 41-44, 2000.
- MADRUGA, M. S.; SANTOS, H. B.; BION, F. M. ANTUNES, N. L. M. Avaliação nutricional de uma dieta suplementada com multimistura: estudo em ratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 129-133, jan.-mar, 2004.
- MARQUES, A.; OETTERER, M. e HORII, J. Caracterização de leveduras e seu uso na alimentação. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 1, p. 89-98, jan.-ago., 1998.
- MAZANTTI, C. M.; SCHOSSLER, D. R.; FILAPPI, A.; PRESTES, D.; BALZ, D.; MORSCH, A.; SCHETINGER, M. R. C.; MORSCH, V. M.; CECIM, M. Extrato da casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 6, p. 1061-1065, nov.-dez., 2003.

- MENDEZ, M. H. M.; DERIVI, S. C. N.; COUTO, S. R. M.; NÓBOA, C. de F. B.; PIRRONE, M. D. Avaliação biológica de sopas-cremes de talos de brócolis (*Brassica oleracea*) e de couve (*Brassica oleracea*, L), em ratos. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 137, p. 115-119, nov/dez, 2005.
- MILLER, D.; BENDER, A. E. The determination of the net protein utilization of proteins by as shortened method. **British Journal of Nutrition**, London, v. 9, p. 382-388, 1955.
- MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 326-428, 1959.
- MITCHELL, H. S.; RYNBERGEN, H. J.; ANDERSON, L.; DIBBLE, M. V. **Nutrição**. Editora Interamericana, Rio de Janeiro, RJ, 16ª edição, 1978.
- MONTEIRO, J. B. R.; COSTA, N. M. B.; ESTEVES, E. A.; MILAGRES, K. H. Avaliação da qualidade protéica de dois formulados em pó, à base de soja enriquecidos com zinco, selênio e magnésio para utilização em nutrição enteral. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 006-010, jan.-mar., 2004.
- MULTIMISTURA – NEW LIFE. Disponível em: <www.multimistura.com.br>. Acesso em 12 de abril de 2005.
- NEVES, S. P. Nutrição In: **Manual para técnicos em bioterismo**. COBEA, 2ª ed., p. 87-110, 1996.
- NOGUEIRA-JÚNIOR, F. C.; COELHO, D. A.; ALMEIDA, M. M. C.; SILVA, T. C. P.; FERREIRA, E. C. S.; MACEDO, U. B. O.; NETO, F. P. F.; BRANDÃO-NETO, J.; ALMEIDA, M. das G.; REZENDE, A. A. de. Efeito do tamoxifeno no perfil lipídico de ratos diabéticos por estreptozotocina. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, Supl n. 1, 2005.
- OLIVEIRA, A. C. de.; REIS, S. M. P. M.; CARVALHO, E. M. de.; PIMENTA, F. M. V.; RIOS, K. R.; PAIVA, K. C.; SOUSA, L. M. de.; ALMEIDA, M. de.; ARRUDA, S. F. Adições crescentes de ácido fólico à dieta não interferiram na digestibilidade da caseína e no ganho de peso em ratos. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 2, p. 211-217, abr./jun., 2003.
- Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. Colaboradores: Marco Aurélio Guimarães, Renata Mázaró - São Paulo: UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina. Departamento de Psicobiologia - vários autores, 2004.
- REEVES, P. G. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. **The Journal of Nutrition**, v. 127, n. 5, p. 838S-841S, May, 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-76A rodent diet. **Rodents Diet**, v. 123, n. 6, p. 1939-1951, 1993.
- REGULY, J. C. **Biotechnologia dos processos fermentativos**. v. 3. Pelotas: UFPEL, 2000. 218 p.
- RODRIGUES, A. M.; SANT'ANNA, E. S. Efeito do cloreto de sódio na produção de proteínas (*Saccharomyces cerevisiae*) em fermentação semi-sólida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 57-62, jan.-abr., 2001.
- SANT'ANNA, M. E. B.; MIRANDA, M. S.; CARDOSO, R. L.; CARVALHO, R. Diagnóstico da qualidade físico-química de mandioca (*Manihot esculenta* crantz) e da farinha em uma



- unidade produtora com processo de lavagem clorada da matéria-prima. In: *Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos - CBCTA*, Porto Alegre. **Anais...**: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, CD-ROM, p. 1663-1667, 2002.
- SANTOS, H. B.; MADRUGA, M. S.; BION, F. M.; ANTUNES, N. L. M.; MENDES, K.; ÁGUIDA, 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, out.-dez., 2004.
- SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia industrial – engenharia bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. 541 p.
- SENGER, C. C. D. **Papel dos minerais como cofatores enzimáticos**. Seminário apresentado na Disciplina de Bioquímica do Tecido Vegetal do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS, 2002.
- SGANZERLA, J.; LORENZ, J. G.; PORTO, M. R. A. **Estudo do tempo de vida útil de multimisturas sob diferentes condições de armazenamento**. Rio Grande. 2006. 86p. Projeto de Graduação em Engenharia de Alimentos – Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradação, modificação**. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.
- SILVA, M. A. da.; SANCHES, C.; AMANTE, E. R. Prevention of hydrolytic rancidity in rice bran. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 487-491, 2006.
- SILVEIRA, A. E. V. G. da.; SOUZA-SOARES, L. A. de.; BADIALE-FURLONG, E. Avaliação nutricional de uma massa alimentícia seca à base de plasma bovino. **Alimentos e Nutrição**, v. 11, p. 51-65, 2000.
- SIQUEIRA, E. M. A.; AZEVEDO, I. T.; ARRUDA, S. F.; LIMA, S. M. D.; GONÇALVES, C. A.; SOUZA, E. M. T. Regional low-cost diet supplement improves the nutritional status of school children in a semi-arid region of Brazil. **Nutrition Research**, v. 23, p. 703–712, 2003.
- SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin a, zearalenone, and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin-layer chromatographic method. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, n. 1, p. 22-26, 1989.
- SPADELLA, C. T.; MERCADANTE, M. C. S.; MACHADO, J. L. M.; SCHELLINI, S. A.; BRANDÃO-NETO, J. Experimental pancreas transplantation. The consequences of the portocaval shunt on the blood glucose, plasma insulin, and glucagon. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 12, n. 3, São Paulo, jul.-set., 1997.
- TANAKA, T. **Analysis of Mycotoxins**. Textbook for contry focused training course: Mycotoxins Analysis for federative republic of Brazil. Hyogo International Centre Japan International Cooperation Agency: F. Y, 2001. 40 p.
- TANIWAKI, M. H., SILVA, N. **Fungos Deterioradores de Alimentos: Ocorrência e Detecção**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1996. 74 p.

- VELEDA, A. A. **Avaliação de um Programa de Suplementação Alimentar com multimistura através do acompanhamento do crescimento de crianças residentes na comunidade de Santa Tereza no município de Rio Grande, RS.** Rio Grande, 2004. 81p. Monografia (Graduação em Enfermagem e Obstetrícia) – Departamento de Enfermagem, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- VIZEU, V. E.; FEIJÓ, M. B. S.; CAMPOS, R. C. de. Determinação da composição mineral de diferentes formulações de multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 254-258, abr.-jun., 2005.
- WAINWRIGHT, M. **Introducción a la Biotecnología de los Hongos.** Zaragoza, España: Acribia, 1995. 228 p.
- WARD, O. P. **Biotecnología de la Fermentación.** Zaragoza, España: Acribia, 1991. 274 p.
- WIENER, H. K. Comida forte e barata. É a multimistura. Como tornar o alimento poderoso sem gastar um centavo a mais. **Vida Integral**, São Paulo. Disponível em: <[www.vidaintegral.com.br/nutricao/multimistura.php](http://www.vidaintegral.com.br/nutricao/multimistura.php)>. Acesso em 15 de maio de 2005.