



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
CURSO DE DOUTORADO EM BIOQUÍMICA

MARIA NILKA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA E NUTRICIONAL DA FARINHA DE ALGAS
MARINHAS ARRIBADAS DA COSTA CEARENSE**

FORTALEZA

2004

MARIA NILKA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA E NUTRICIONAL DA FARINHA DE
ALGAS MARINHAS ARRIBADAS DA COSTA CEARENSE**

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Bioquímica.

Orientadora: Profa. Dra. ANA LÚCIA PONTE FREITAS

Co-Orientadora: Profa. Dra ANA DE FÁTIMA FONTENELE
URANO DE CARVALHO

**FORTALEZA
2004**

Esta tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Bioquímica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central de Ciências e Tecnologia da referida Universidade.

A transcrição de qualquer trecho desta tese é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

Maria Nilka de Oliveira

Tese aprovada em: 22/12/2004.

Professora Dra. Ana Lúcia Ponte Freitas
Orientadora // Universidade Federal do Ceará

Professora Dra. Ana de Fátima Fontenele Urano de Carvalho
Co-Orientadora // Universidade Federal do Ceará

Professora Dra. Norma Maria Barros Benevides
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Cláudia Ferreira Santos
Universidade Estadual do Ceará

Profa. Dra. Helena Alves de
Carvalho Sampaio
Universidade Estadual do Ceará

DEDICATÓRIA

À DEUS,

Senhor de todas as coisas, Mestre dos mestres, Doutor dos doutores, detentor da sabedoria divina, imensurável e inatingível. Glorifico Teu nome e presto a TI este tributo feito com amor.

Aos meus pais,

Nelson Bezerra de Oliveira e Francisca Paula de Oliveira
(*in memoriam*), esta conquista reflete o amor e a garra que vocês me deixaram.

À minha amada filha Ádria Oliveira Mota
referencial inicial para o estímulo de ser exemplo.

Aos meus irmãos e irmãs, fonte de força e solidariedade.

Ao meu grande amor,
Meu porto seguro.

Estudar requer tempo, paciência, perseverança e amor ao conhecimento... Estudar significa entre outras coisas gastar parte do nosso tempo lendo, pesquisando, assistindo aulas, seminários... Para aqueles que sofrem ao fazê-lo ou desistem no meio do caminho por achar a jornada muito difícil ou sem atrativos, pensem num futuro tranqüilo, em uma maturidade mais respaldada pelo saber, melhores condições de vida... Se faltar o amor aos estudos, tenham em mente que **“ESTUDAR É AMARGO, MAS OS FRUTOS SÃO DOCES (Pinheiro)”**.

AGRADECIMENTOS

A DEUS que iluminou minha inteligência e passos na direção certa. Fez-me uma pessoa de bem, determinada e fortalecida através da Tua presença na minha vida.

À professora Ana Lúcia Ponte Freitas pela orientação, estímulo, compreensão e, sobretudo, pela amizade. Contigo aprendi entre outras coisas a ser mais mansa de coração e determinada no fazer.

À professora Ana de Fátima Fontenele Urano Carvalho pela co-orientação, conhecimentos partilhados, disponibilidade e colaboração ímpar na realização deste trabalho.

À professora Norma Maria Barros benevides pela disponibilidade, orientação e sugestões.

À professora Helena Alves de Carvalho Sampaio pela disponibilidade, sugestões dadas e participação na Banca Examinadora.

À professora Cláudia Ferreira dos Santos pelas sugestões neste trabalho, disponibilidade e participação na Banca Examinadora.

Ao professor Sandro Thomaz Gouveia pela participação nas determinações de metais pesados, orientação e sugestões dadas.

À professora Maria Ary pela cooperação, disponibilidade, interesse, orientação, pelo espaço cedido em seu laboratório e, sobretudo, pela amizade e confiança.

À professora Maria da Guia Silva Lima pela amizade e exemplo de força.

À minha amiga Thereza Maria Tavares Sampaio pela amizade, colaboração e troca de idéias para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao colegiado do Curso de Economia Doméstica, do Departamento de Economia Doméstica, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará, muito obrigada por ter me proporcionado as condições necessárias para galgar mais um degrau em minha carreira. O doutorado trouxe-me mais maturidade na pesquisa e na arte de ensinar, que certamente, se reverterá em múltiplos benefícios ao corpo discente do Curso, bem como ao crescimento do quadro profissional do Departamento.

Ao professor Gastão Barreto Espíndola, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, pelo apoio imprescindível para a realização das análises elementares do material alvo deste trabalho, disponibilizando o Laboratório de Nutrição Animal para este fim.

Ao professor José Cals Gaspar Júnior, do Departamento de Tecnologia de Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará, pelo incentivo e contribuições relativas às análises elementares das farinhas de algas e microbiológica do *pool* de farinha de algas marinhas arribadas.

Às amigas Elma Carvalho e Vandira Alves da Justa, técnicas do laboratório da Fábrica Escola do Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela execução das análises elementares das doze farinhas de algas arribadas, e pela amizade de tantos anos.

À Silvana Gomes Ribeiro, grande amiga de muitos anos, pelo apoio e incondicional disponibilidade e colaboração em algumas determinações realizadas.

Às amigas Helena Cruz de Oliveira e Roseane Maria Ferreira Souza, Técnicas do Laboratório de Nutrição Animal, do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, pelo apoio profissional referentes às análises elementares realizadas nas carcaças dos animais utilizados no experimento nutricional, e principalmente pelos laços de amizade sincera e mútua desenvolvidos entre nós.

Ao amigo Draúlio Costa da Silva, pela disponibilidade na execução de tarefas de seu domínio, e na determinação da toxicidade da amostra utilizada.

Aos amigos do laboratório de Algas Marinhas I, Márcia Rúbia Melo, Luiziete Rocha, Samya Neves, Lídia Vieira D'Almeida, Fábila Andrade, Bartolomeu Warlene, Juliana, Clark Nogueira e Luciano Chaves, pelo companheirismo diário, solidariedade, amizade, momentos de muito trabalho e de lazer também.

Ao professor Dárlcio Inácio Teixeira pela colaboração na identificação das espécies de algas coletadas a cada mês em Fleixeiras.

Ao Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), na pessoa da pesquisadora Norma Pinheiro Dantas, pela classificação das algas coletadas, confecção das exsiccatas e herborização das mesmas, no Herbário Algológico do referido Órgão da Universidade Federal do Ceará.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pela bolsa de doutorado a mim concedida.

Aos demais professores do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Marisa Leite, Gildemar de Oliveira, Edilberto Freitas Felix, Ângela Herculano e Maria Nogueira, pelo pronto atendimento sempre que necessário.

Aos bibliotecários da Biblioteca de Ciências e Tecnologia (UFC – Campus do Pici), Ana Cristina Azevedo U. Melo e Hamilton Rodrigues Tabosa, pela colaboração nas correções das referências bibliográficas deste trabalho.

Aos colegas Isabel Brasil, Ricristhi Gomes, Davi Farias, Daniela Sousa, pela colaboração e execução das análises de triptofano.

À minha amada filha Ádria Oliveira Mota, pela solidariedade, paciência e compreensão ao longo destes anos de estudo e trabalho. Você sempre foi meu marco inicial, alvo maior do meu empenho e dedicação.

Aos meus irmãos, Nilson, Nelson, Neldson e em especial ao caçula, Nildson Oliveira, ponto de referência, apoio e incentivo. Obrigada pela presença constante na minha caminhada.

Às minhas irmãs, as quais posso chamar de mãe, meu apreço, amor, estima e agradecimento, pela benção da Nilma, a força da Nilce, o carinho da Nilza, a doçura da Nilde, a cumplicidade da Nildete, a alegria da Socorro, a garra da Fátima, a determinação da Nilvia, todas mulheres fortes, Oliveiras.

Aos sobrinhos, sobrinhas e suas respectivas proles, muito obrigado pelo carinho e consideração. Cada um é um ramo de oliveira, que há de crescer, ser forte e fornecer sombra.

Aos cunhados e cunhadas agradeço pela alegria, exemplo de vida, partilha e amizade. Sem vocês, o hoje poderia ser mais difícil e sem colorido.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Páginas
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	xi
<u>LISTA DE TABELAS</u>	xii
<u>ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES</u>	xiv
<u>RESUMO</u>	xv
<u>ABSTRACT</u>	xvii
<u>1. INTRODUÇÃO</u>	19
1.1 <u>Algas</u>	22
1.1.1. Identificação	24
1.1.2. A Importância Econômica	25
1.1.3. Aplicações e Uso na Alimentação Humana	26
1.2. <u>Valor Nutritivo das Algas Marinhas</u>	29
1.2.1. Polissacarídeos (Fibras)	30
1.2.2. Lipídios	37
1.2.3. Proteínas	37
1.2.3.1. Avaliação da Qualidade das Proteínas de Algas	38
1.3. <u>Minerais</u>	43
1.4. <u>Toxicidade e/ou Fatores Antinutricionais de Algas Marinhas</u>	45
1.4.1. Taninos	49
1.4.2. Lectinas	51
1.4.3. Ácido Fítico	54
1.4.4. Inibidores de proteases (alfa-amilase e Tripsina)	56
<u>2. OBJETIVOS</u>	58
2.1. <u>Objetivo Geral</u>	59
2.2. <u>Objetivos Específicos</u>	59
<u>3. MATERIAIS E MÉTODOS</u>	60
<u>3.1 MATERIAIS</u>	61
3.1.1. Algas Marinhas	61
3.1.2. Animais	61

3.1.3.	Reagentes	61
3.2.	<u>MÉTODOS</u>	62
3.2.1.	<u>Obtenção das Farinhas de Algas Arribadas</u>	62
3.2.2.	<u>Preparação do extrato Total das Farinhas de Algas Arribadas</u>	63
3.2.3.	<u>Determinação de Proteínas no Extrato Total</u>	63
3.2.4.	<u>Determinação de Carboidratos no Extrato Total</u>	63
3.3.	<u>Análise Química Elementar das Farinhas de Algas Arribadas</u>	64
3.3.1.	Umidade	64
3.3.2.	Cinzas	64
3.3.3.	Proteína Bruta	65
3.3.4.	Lipídios	67
3.3.5.	Carboidratos Totais	67
3.3.6.	Fibra Bruta	67
3.4.	<u>Outras Determinações</u>	68
3.4.1.	Minerais	68
3.4.2.	Fibra Dietética	69
3.4.3.	Separação dos Componentes da Fibra	69
3.4.4.	Composição de Aminoácidos	73
3.5.	<u>Determinação de Fatores Tóxicos e/ou antinutricionais</u>	74
3.5.1.	Tanino	74
3.5.2.	Atividade Hemaglutinante da Lectina	75
3.5.3.	Inibidores de Tripsina	75
	a) Extração de Inibidores de Tripsina	75
	b) Determinação do inibidor de Tripsina	76
3.5.4.	Inibidores de α -Amilase	76
	a) Extração de Inibidores de α -Amilase	76
	b) Determinação de inibidores de α -Amilase	77
3.5.5.	Ácido Fítico	77
3.5.6.	Atividade Tóxica	80
3.6.	<u>Experimento Nutricional</u>	81
4.	<u>RESULTADOS</u>	84

4.1	<u>Identificação das Algas Coletadas</u>	85
4.2.	<u>Avaliação Química e Bioquímica das Farinhas de Algas Marinhas Arribadas</u>	89
4.2.1.	Composição Centesimal	89
4.2.2.	Composição em Aminoácidos	96
4.3.	<u>Fatores Tóxicos e/ou Antinutricionais</u>	100
4.4.	<u>Experimento Nutricional</u>	103
5.	<u>DISCUSSÃO</u>	119
5.1.	<u>Composição Química e Bioquímica das Farinhas de Algas</u>	120
5.1.2.	Composição Centesimal das Farinhas das Algas Arribadas	120
5.1.3.	Contaminação Microbiológica e por Metais Pesados	127
5.1.4.	Composição de Aminoácidos	128
5.1.5.	Componentes Tóxicos e/ou Antinutricionais	129
5.2.	<u>Experimento Nutricional</u>	136
5.	<u>CONCLUSÕES</u>	145
6.	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	147

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Fluxograma do esquema de obtenção do extrato total de algas marinhas arribadas.	66
2. Procedimento para a determinação de fibra dietética total de algas marinhas	71
3. Fluxograma da separação dos componentes da fibra dietética total	72
4. Fluxograma de extração dos inibidores de tripsina do <i>pool</i> de farinhas de algas marinhas arribadas.	78
5 Fluxograma do esquema de extração de inibidores de α -amilase do <i>pool</i> de farinhas de algas marinhas arribadas.	79
6 Curva de crescimento dos ratos (n = 6) alimentados com dieta contendo <i>pool</i> de algas (dieta teste) comparados com o crescimento dos ratos dos grupos controle positivo (clara de ovo) e controle negativo (NPC = dieta aprotéica).	104
7 Relação ganho de peso e dieta ingerida dos grupos de ratos, sob dieta de clara de ovo, alga e aprotéica	105
8 Conversão alimentar realizada pelos ratos (n = 6) que consumiram a dieta teste, dieta clara de ovo e dieta aprotéica	106
9. Relação entre o consumo de dietas e excreção fecal dos ratos dos três grupos nos últimos 5 dias do experimento alimentar.	107
10. Parâmetros nutricionais: NPU, digestibilidade e valor biológico	108
11. Alterações nos órgãos internos dos animais que participaram do experimento alimentar	109

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Principais polissacarídeos encontrados em algas	35
2. Concentração de fibra dietética em algas marinhas e plantas terrestres (%fibras/ base seca).	36
3. Algas autorizadas para o consumo humano na França.	46
4. Critérios de qualidade (metais tóxicos e microrganismos) utilizados na avaliação de algas comestíveis na França.	47
5. Composição das dietas protéica (controle positivo), aprotéica (controle negativo) e dieta teste (alga + clara de ovo liofilizada).	83
6. Espécies de algas coletadas – Janeiro a dezembro de 2002.	86
7. Análise química elementar das farinhas de algas marinhas arribadas e da mistura de farinhas (<i>pool</i>).	91
8. Análise comparativa da composição centesimal do <i>pool</i> de farinhas de algas marinhas arribadas com a <i>Gracilaria changgi</i> (alga), <i>Sphagnum magellanicum</i> (musgo) e alguns alimentos.	92
9. Análise comparativa dos teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose, hemicelulose, lignina, fibra solúvel e sílica do <i>pool</i> de farinhas de algas, <i>Ulva lactuca</i> , <i>Sphagnum magellanicum</i> (musgo), casca do grão de soja (CGS), farelo de soja (FS) e milho moído (MM).	93
10. Análise comparativa das concentrações dos elementos minerais presentes no <i>pool</i> de farinhas de algas marinhas arribadas (PFA) com as relatadas para as algas <i>Laminaria digitata</i> , <i>Porphyra tenera</i> e recomendações nutricionais (RDA) diárias	94
11. Teores de metais pesados presentes na mistura de farinhas de algas marinhas arribadas (PFA).	95
12. Análise comparativa da composição de aminoácidos das proteínas do <i>pool</i> de farinhas de algas marinhas arribadas (PFA) com as das proteínas do ovo de galinha levando em conta os requerimentos médios necessários para crianças e ratos.	97
13. Composição dos aminoácidos não essenciais contidos nas proteínas	98

- do *pool* (PFA) comparados com a composição aminoacídica das proteínas do farelo de soja.
14. Atividade de hemaglutinante (UH/ g de farinha) dos extratos do PFA 101
 15. Fatores antinutricionais e/ou tóxicos presentes no *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas (PFA) 102
 16. Ganho de peso, dieta ingerida e conversão alimentar dos ratos (n = 6/grupo) alimentados com dietas contendo o *pool* de farinhas de algas arribadas (algas) comparados com a dieta padrão (clara de ovo liofilizada) e dieta não protéica (NPC). 111
 17. Composição química das fezes dos ratos (n = 6) dos grupos controle positivo (protéico), controle negativo (aprotéico) e grupo teste (*pool* de algas + clara de ovo). 112
 18. Determinação de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, lignina, celulose e cinza insolúvel em detergente ácido nas fezes dos ratos pertencentes aos grupos controle positivo (protéico), controle negativo (aprotéico) e teste (*pool* de algas + clara de ovo). 113
 19. Parâmetros relacionados com a matéria seca excretada, nitrogênio ingerido e nitrogênio fecal dos ratos do grupo teste (*pool* de algas + clara de ovo) comparados com os do grupo controle positivo (protéico). 115
 20. Parâmetros nutricionais dos três grupos de ratos (n = 6), controle positivo (protéico), controle negativo (aprotéico-NPC) comparados com o grupo que consumiu a dieta contendo o *pool* de algas + clara de ovo. 117
 21. Peso seco relativo (g/100g de peso corpóreo) dos órgãos internos dos ratos (n = 6/ grupo) dos grupos do *pool* de algas, dieta protéica (clara de ovo) e dieta aprotéica (NPC). 118

ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES

HEMOCE - Centro de Hematoterapia e Hematologia do Ceará.

LABOMAR - Instituto de Ciências do Mar, da Universidade Federal do Ceará.

FDN – fibra solúvel em detergente neutro.

FDA – fibra solúvel em detergente ácido.

PFA - *Pool* de farinhas de algas marinhas arribadas composta das farinhas de algas marinhas arribadas elaboradas com as algas coletadas à cada mês, por um período de um ano.

NMP – Números mais prováveis.

UFC – Unidades formadoras de colônias.

UH – Unidade de hemaglutinação.

RESUMO

Algas marinhas arribadas foram coletadas no período de 12 meses seguidos, na Praia de Fleixeiras (Trairi/Ceará), lavadas em água corrente, postas para secar a sombra e moídas para obtenção das farinhas. Foi preparada uma mistura, constituída de porções iguais das 12 farinhas, a qual foi utilizada para as análises de composição elementar, determinação de metais pesados, aminograma, fatores antinutricionais e/ou tóxicos (lectinas, ácido fítico, taninos, inibidores de tripsina e de α -amilase), cálculo da DL_{50} da fração 0/80, além dos testes de alimentação animal. Foi observada variação sazonal, quanto ao número de espécies coletadas e à concentração dos componentes presentes nas farinhas. O teor de fibra bruta foi de 4,08 a 8,22%, e fibra dietética total de 2,59 g/100g. O teor de carboidratos variou de 49,93 a 63,24%, e os lipídeos corresponderam a 0,15 a 0,84% da matéria seca. O teor protéico variou de 10,71 a 14,80% e as cinzas variaram de 13,27 a 25,58%. Entre os metais pesados, o cádmio; cromo; níquel e vanádio foram os detectados nas maiores concentrações de 0,06; 0,39; 0,19 e 3,56 mg/100 g, respectivamente. No *pool* de algas foi detectada a presença de todos os aminoácidos essenciais, mesmo que em baixas concentrações. Com relação à presença de fatores tóxicos e/ou antinutricionais foi observada uma atividade de lectina de 32 e 64 UH/g de farinha, para os eritrócitos de galinha e coelho, respectivamente, quando tratados com tripsina. Quanto ao sistema ABO humano, não houve aglutinação mesmo após o tratamento enzimático com tripsina, papaína, bromelaína e subtilisina. A concentração de tanino foi de 59,0 mg/100g de farinha e os níveis de fitato corresponderam a 0,45%. Altos níveis de inibidores de tripsina e de inibidores α -amilase foram observados, com valores de 98,98% e 70,47%, respectivamente. A fração protéica F(0/80) obtida a partir do extrato aquoso da mistura de farinhas de algas, mostrou-se tóxica quando aplicada via intraperitoneal, em camundongos (DL_{50} de 63,75 mg Kg⁻¹ de peso do animal). A mistura de algas foi oferecida como componente da dieta-teste a um grupo de ratos *wistar* (n = 6), e os dados obtidos, quando comparados aos dos grupos controles, apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) quanto ao ganho de peso, eficiência alimentar, NPU, digestibilidade e valor biológico. Órgãos digestivos dos ratos do grupo teste (estômago, intestinos delgado e grosso) sofreram hipertrofia, enquanto o baço sofreu

hipotrofia. As algas coletadas com maior frequência foram as vermelhas. As algas marinhas arribadas são ricas nutrientes, principalmente carboidratos, minerais, fibras e proteínas (incompletas), e foram encontrados fatores tóxicos e/ou antinutricionais nas mesmas. Apesar das limitações nutricionais e toxicológicas, as algas marinhas quando combinadas com clara de ovo podem proporcionar o desenvolvimento de animais em crescimento. Estudos nutricionais e toxicológicos são necessários para garantir o uso das algas marinhas arribadas para o consumo humano e/ou animal.

Palavras-chaves: algas marinhas, fatores antinutricionais, DL₅₀, inibidores de tripsina e de α -amilase, lectina, ácido fítico, taninos, metais pesados, valor nutricional.

ABSTRACT

Washed-up seaweeds were collected monthly along one year period in Fleixeiras Beach, Trairi, Ceará, Brazil. They were washed in tap water, air-dried and ground to a fine meal. A mixture composed of equal portions of 12 samples of seaweeds were used for all the experimental work which consisted of proximal analysis, determination of heavy metal concentration, analysis of protein aminogram, screening for toxic and antinutritional components (such as lectins, phytic acid, tannins, trypsin inhibitors and α -amylase inhibitors), LD₅₀ determination of seaweed water extract and protein concentrate and the feeding trials with rats. The results showed that there was seasonal variation in the occurrence of seaweed species and at chemical composition. The total fibre varied from 4.08 to 8.22% whereas the total dietary fiber was 2.59%. Carbohydrate concentration ranged from 49.93 to 63.24%, with a mean of 56.59%. lipids were present in very low levels (0.15-0.84%, dry basis). As to proteins, they range from 10.71 to 14.80 and the mineral ash from 13.27 to 25.58%. cadmium, chromium, nickel and vanadium were detected in high levels the toxic metals: 0.06; 0.39; 0.19 and 3.56mg/100g, respectively. The data on amino acid analysis revealed the presence of all the essential amino acids although in low levels. Even those in higher levels were below the daily requirements of 2-5 and 10-12 year-old children, except for isoleucina, with sufficient levels to supply children but beyond the requirements of rats. As to the presence of toxic and/or antinutritional components in the washed-up seaweeds, high hemagglutinating activity of lectins was detected against chicken (32 UH g⁻¹) and rabbit erythrocytes (64 UH g⁻¹) when treated with trypsin. No hemagglutination was observed against human erythrocytes even in enzyme treated blood cells. Tannin was detected at 59.0mg/100g meal and phytate level was 0.45%. High levels of trypsin inhibitors and α -amylase inhibitors were observed, with values of 98.98 and 70.47%, respectively. The protein fraction F(0/80) obtained from the extract of seaweeds meal was shown to be toxic to mice when administered by i.p. route (LD₅₀ 63.75 mg Kg⁻¹). A diet containing seaweed meal and eggwhite as the sole source of protein was administered to a group of 6 rats for 10 days. A no-protein diet and a diet containing eggwhite as the source of protein were used as controls. The rats fed the test were able grow but at a low rate than those of eggwhite diet. These animals showed lower weight gain and lower

values for feeding efficiency, NPU, digestibility and biologic value. Their digestive organs such as stomach, small and large intestine showed enlargement whereas the spleen showed hypotrophy. The washed-up seaweeds are rich sources of nutrients, mainly carbohydrates, minerals, dietary fibre and protein. Nevertheless the amino acid profile of the protein is poor and some toxic and/or antinutrient compounds are present.

Key words: seaweeds, antinutrients, LD₅₀, trypsin inhibitors, α -amylase inhibitors, lectin, phytic acid, tannins, toxic metals, nutritional value.

1. INTRODUÇÃO

A manutenção e a melhoria da qualidade de vida no mundo de hoje, principalmente nos países em desenvolvimento e em regiões pobres, assoladas com o grave problema da seca, como o Nordeste brasileiro, exige a busca de novas fontes de substâncias e produtos, muitos dos quais extraídos de recursos naturais renováveis. As algas marinhas são uma das mais ricas e promissoras fontes desses recursos, ainda não utilizados na devida escala pelo homem. A abundância e a variedade das espécies constituem-se em uma fonte de matéria-prima básica para vários produtos industriais (ARAÚJO et al., 1982). Sendo as algas marinhas ricas em carboidratos, proteínas, vitaminas e sais minerais, é, pois, de interesse investigar a possibilidade de sua utilização como fonte alternativa de componentes para a alimentação, podendo levar à substituição, pelo menos parcialmente, de fontes tradicionais, porém dispendiosas (FLEURENCE, 1999).

A avaliação da constituição bioquímica e do valor nutricional de algumas espécies de algas do Nordeste brasileiro é de grande interesse para um possível levantamento das fontes naturais de proteínas de nossa região, permitindo assim o uso racional destes recursos renováveis.

A falta de dados relacionados ao melhor aproveitamento do banco de algas nas diversas regiões do Brasil constitui um grande obstáculo para a formação de programas de desenvolvimento econômico e social. Sabemos que a sustentabilidade dos bancos naturais de algas marinhas e corais são importantíssimos para a manutenção dos ecossistemas aquáticos, e ao mesmo tempo é importante o aproveitamento dos recursos naturais para melhorar a qualidade de vida de comunidades nativas (IPLANCE, 1995).

A matéria-prima utilizada nesta pesquisa foram as algas marinhas arribadas coletadas por um período de 12 meses, na praia de Fleixeiras no Município do Trairí, Estado do Ceará. Segundo Duarte et al. (2001) as algas marinhas arribadas são formadas de diferentes espécies de algas (vermelhas, pardas e verdes), as quais são arrancadas de seu habitat natural e trazidas à praia pela ação dos ventos e marés. No Nordeste do Brasil, as mesmas apresentam-se em grandes quantidades, fáceis de serem coletadas e manuseadas, sendo utilizadas, principalmente, como biomassa no tratamento de efluentes industriais. O presente trabalho apresentou como objetivo geral verificar o potencial nutricional das algas marinhas arribadas, subsidiando pesquisa para sua aplicação na alimentação humana e/ou animal, e como objetivos específicos identificar as espécies das algas

arribadas, verificar sua sazonalidade em relação à ocorrência da espécie e a sua composição química, avaliar a presença de fatores tóxicos e/ou antinutricionais e realizar avaliação nutricional através de experimentos de alimentação em ratos.

Conforme Trusweel (1985), a fome é hoje uma cruel realidade disseminada pelo globo inteiro, principalmente nos países pobres. No Brasil, cerca de 3% de suas crianças apresentam problemas de desnutrição protéico-calórica (DEP). Por conta disso, verificando o grande acervo de espécies presentes nas algas arribadas nas regiões litorâneas do Ceará, e observando que essas algas, até o momento, não apresentavam qualquer aplicabilidade, e aproveitando o Programa "Fome Zero" do Governo Federal, resolvemos verificar a possibilidade de se utilizar as algas arribadas como suplemento alimentar para as comunidades litorâneas como fonte de proteínas. Através de análises se detectaria a presença de substâncias tóxicas e/ou antinutricionais presentes nessas algas, e conforme os resultados obtidos veria a possibilidade de se adicionar a farinha de algas marinhas arribadas em uma multimistura (alimento alternativo), distribuída pela Pastoral da Criança em todo o Brasil, já utilizada por crianças desnutridas de comunidades carentes. De acordo com a Coordenação Nacional da Pastoral da criança (2000), a multimistura é uma mistura feita com farinhas de cereais, farelo de trigo e de arroz, pós de folhas verde-escuras, de sementes e de casca de ovo.

É interessante destacar a grande área litorânea do Estado do Ceará e a abundância de várias espécies de importância econômica ali encontradas, também arribadas, como as agarófitas (ex. *Gracilarias*) que tradicionalmente são utilizadas nas indústrias para extração de alginatos e outras substâncias, as quais, por sua vez, fazem parte da elaboração de produtos nas áreas farmacológicas, alimentícias, cosméticas, entre outras (PINHEIRO-VIEIRA et al., 1968). Avaliamos a possibilidade de se usar as farinhas de algas arribadas como suplemento alimentar da dieta de populações carentes, especialmente, as nativas das regiões praianas. De acordo com Tomé (1994) as ingestões deficientes de proteína de muitas populações e o alto preço da proteína de origem animal levaram pesquisadores a procurar proteínas em diferentes fontes. Daí nossa proposta da inclusão das algas marinhas arribadas como prováveis fornecedoras de proteínas para a alimenta humana e/ou animal.

1.1. Algas

As algas são organismos inferiores, pertencentes ao reino protista, constituindo um grupo muito diversificado de espécies, pouco relacionados entre si, e de grande heterogeneidade. Diferem dos vegetais superiores (reino Plantae), devido sua relativa simplicidade de organização, principalmente em relação às plantas vasculares. As algas podem se desenvolver como formas unicelulares, coloniais, filamentosas ou formando talos parenquimatosos, porém não diferenciados em órgãos (WYNNE e BOLD, 1978; RAVEN et al., 1996).

As algas marinhas não têm sistemas vasculares para conduzir alimento ou água, raiz, talo, nem folhas. Não produzem flor, nem semente, nem fruto. O sistema reprodutor é caracteristicamente unicelular (reprodução ocorre por divisão celular, ou seja, assexuada; uma célula se modifica, se separa da alga, e rebenta permitindo a saída de zoósporos). Na realidade se pode descrever uma alga como uma colônia de células que trabalham independentemente para seu sustento, e em conjunto para sua proteção e estabilidade (ALGAS MARINHAS, 2004).

As três partes de uma alga apresentam as seguintes funções:

- Haptério, Rizóide, ou Disco Adesivo: tem a função de uma raiz ao firmar a alga à rocha, mas não de condutor de alimentos (absorver água);
- Estipite: tem aparência de talo e serve para ramificar ou estender a alga;
- Fronde: é a extensão da alga. Em alguns casos tem aparência de folha, em outros se parece a uma grama e, em outras como ramos secos ou com bolhas de ar. Nestas se encontram as células reprodutoras.

A complexidade estrutural das algas é função das condições ambientais em que vivem, onde estão sujeitas às flutuações de umidade, temperatura, salinidade e intensidade de luz, além da ação mecânica causada pela arrebentação das marés sobre elas, e da ação abrasiva das partículas de areia em suspensão (RAVEN et al., 1996). As algas desempenham um papel fundamental nos ecossistemas aquáticos como produtoras primárias, constituindo a base das cadeias alimentares em rios, lagoas e oceanos (AQUICULTURA, 1997). Para Raven et al. (1996), o *habitat* das algas é bem diverso. Predomina o ambiente aquático, principalmente o marinho, mas também vivem na terra sob o solo, em troncos de árvores e até na neve. As algas verdes predominam em água doce ou

nos estuários, apesar de serem encontradas também no litoral. Nos costões rochosos encontram-se as algas marinhas bentônicas, que estão arranjadas em camadas visíveis em relação ao nível das marés.

As algas possuem clorofila e outros pigmentos denominados acessórios, os quais podem mascarar a presença das clorofilas, e que lhes proporcionam colorações avermelhadas, azuladas, pardas ou enegrecidas. Quanto à organização do talo, as algas se apresentam nas formas microscópicas, com algumas atingindo até 60 metros de comprimento, como as algas pardas do gênero *Macrocystis*, (SOUZA et al., 2002).

De modo semelhante aos vegetais terrestres, pouco ou muito evoluídos, as algas necessitam de água, luz, gás carbônico e minerais para o seu crescimento e manutenção de sua vida. Embora possuam grande variação de cor, tamanho e forma, todas as algas têm em comum o fato de produzirem seu próprio alimento através da fotossíntese. Estes organismos retiram do meio o que necessitam, através de toda a superfície do seu “corpo”, e dessa forma, não precisam de tecidos especializados para transportar nutrientes no interior de suas células, embora por muitas vezes, a vida no ambiente aquático apresente algumas dificuldades, tais como: a pouca penetração da luz, pois a partir de certa profundidade não há luz suficiente para o processo de fotossíntese, a escassez de minerais e a presença de gás carbônico, que não circula de modo fácil como na atmosfera (VIDOTTI e ROLEMBERG, 2004).

As macroalgas podem ser encontradas presas a um substrato ou arribadas. O termo *arribada* é comumente empregado para se fazer referência às espécies de algas que são arrastadas até a praia durante o período de maré alta. Isto é, constituem um *pool* de espécies de algas que podem ser encontradas nas praias, quando em maré baixa. Existe uma grande variação na composição deste *pool*, dependendo de fatores ambientais e climáticos caracterizando assim uma definida sazonalidade.

1.1.1. Identificação

Segundo Raven et al. (1996), o reino Protista engloba todos os organismos tradicionalmente considerados como protozoa (“animais” unicelulares), e

todas as algas, exceto o grupo de bactérias agora chamadas de “cianobactérias”, antes erroneamente chamadas de “algas azuis”. Alga é um termo informal utilizado para cianobactérias e eucariontes fotossintetizantes diferentes de plantas.

Em resumo, o reino Protista inclui um grupo heterogêneo de eucariontes unicelulares, coloniais e pluricelulares que não apresentam qualquer das características distintivas de animais, plantas ou fungos. Os vegetais mais complexos e as algas, em geral, são eucariontes, autótrofos, fotossintetizantes e possuem clorofila em seus plastos (CLASSIFICAÇÃO DOS SERES VIVOS, 2004).

Os organismos do reino Protista são unicelulares (embora existam formas pluricelulares de organização simples), autótrofos ou heterótrofos, e suas células apresentam envoltório nuclear (carioteca, caracteriza os eucariontes) e organelas membranosas (organismos eucariontes); são organismos de grande simplicidade e constituem o primeiro grupo onde ocorrem mitocôndrias, cloroplastos, retículo endoplasmático e complexo de Golgi bem desenvolvidos, apresentando, em geral, um único núcleo. As algas pertencentes ao reino protista apresentam os pigmentos clorofilas, carotenos e xantofilas, organizados em organelas denominadas plastos, que permitem a fotossíntese. As algas verdes (*Chlorophyta*) são responsáveis pela maior parte da produção de oxigênio proveniente da fotossíntese; as algas vermelhas (*Rhodophyta*), as mais comuns em mares quentes e as pardas (*Phaeophyta*), são as maiores algas existentes, podendo atingir mais de 25 m (VIDOTTI e ROLLEMBERG, 2004). Embora pertencendo a vários grupos taxonômicos, as algas podem ser grosseiramente separadas pelo tamanho em dois grandes grupos: as *microalgas*, invisíveis a olho nu, e as *macroalgas* com dimensões que variam de alguns milímetros a algumas dezenas de metros. Em ambos os grupos existem espécies de grande potencial econômico (AQUICULTURA, 1997). As algas mais complexas possuem tecidos de transporte, como as enormes algas da Antártica, com peso de uma árvore de vários metros de comprimento, sendo macroscópicas. Existem algas de poucos micrômetros de diâmetro, são microscópicas, e o exemplo mais comum é a spirulina, que apesar disto é considerada uma "super alga" por ser uma excelente fonte protéica (65-71%) e de vitaminas, utilizada como suplemento no mercado internacional de ervas (ROUND, 1973).

As macroalgas, portanto, são classificadas em três grupos em relação à sua coloração: as algas verdes (*Chlorophyta*), as algas vermelhas (*Rhodophyta*) e as

algas pardas (*Phaeophyta*). Elas diferem entre si em seus pigmentos, substâncias de reserva, componentes da parede celular (fibras dietéticas), hábitat, etc. (RAVEN et al., 1996). No Ceará, predominam as algas vermelhas, com vinte e três espécies, seguidas das algas pardas e verdes, com quatro espécies cada (ANDRADE, 1999).

1.1.2. A Importância Econômica

A utilização de algas marinhas teve início na antigüidade. Há registros da utilização de algas na China antes do ano 2700 a.C. Sua utilização no Japão, um dos principais consumidores de algas e produtos algais, parece ter sido importada da China, e a aquicultura primitiva nesse país começou por volta do ano 1670 D.C (LEVRING et al., 1969).

A indústria de alimentos vem investindo bastante neste campo e muitos produtos estão sendo fabricados com o objetivo de atrair o consumidor. Na China são mais de 3.000 tipos de alimentos (MABEAU et al., 1993). Mais de dois milhões de toneladas de algas frescas/ano são processadas para obter produtos alimentícios, principalmente no Oriente, sendo cerca de 1,5 milhões de toneladas/ano usadas na produção industrial para obter alginatos, agar e carragenana. O valor comercial das algas empregadas na alimentação é cerca de seis vezes mais elevado do que nas aplicações industriais (JIMÉNEZ-ESCRIG e GOÑI, 1999, JIMÉNEZ-ESCRIG e SÁNCHEZ-MUNIZ, 2000).

No Brasil, o consumo de derivados de algas é crescente. Em 1994, por exemplo, o país importou US\$ 13,5 milhões desses produtos, o dobro do valor importado em 1990. Outros países da América do Sul estão muito mais adiantados que o Brasil na produção e extração de algas, embora nosso país seja mundialmente reconhecido como avançado no ponto de vista acadêmico, com destaque no número elevado de trabalhos realizados e publicados nos diversos centros de pesquisa, como no laboratório de algas marinhas do Instituto de Botânica da Universidade de São Paulo (USP) e em outras universidades (OLIVEIRA et al., 1997).

De acordo com PINHEIRO-VIEIRA e BASTOS (1970) e com CÂMARA NETO (1971a e 1971b), no Brasil a pesquisa visando um aproveitamento desses

organismos teve início a partir de 1970. Os primeiros trabalhos realizaram estudos sobre:

- 1) A ocorrência e distribuição das espécies de importância econômica;
- 2) Algas arribadas (biomassa);
- 3) Obtenção de alginato e agar;
- 4) Biologia e ecologia;
- 5) Cultivo, dentre outros.

1.1.3. Aplicações e Uso na Alimentação Humana

O principal eixo de aplicação para as algas está na área alimentar, e nessa via estão incluídos os colóides e suas diversas aplicações como aditivos (espessantes, excipientes, dispersantes), laxativos e meios de cultura, na nutrição humana e animal (BOUGLÉ, 1995). No Oriente, as algas são consumidas como suplemento ou aditivo alimentar. As fibras de algumas algas são bastante usadas como espessantes e gelificantes. O agar e a carragenana são encontrados nas algas vermelhas e o alginato nas algas pardas. Os alginatos puros são utilizados como aditivos e conservantes de alimentos, tais como: sorvetes, queijos e xaropes. A carragenana aumenta a viscosidade ou estabiliza produtos aquosos. O agar é muito utilizado na preparação de um alimento japonês, o "Tokoren" (ROUND, 1973).

Segundo Vázquez-Freire et al. (1992) os estudos bioquímicos e farmacológicos de algas marinhas têm mostrado que estas apresentam atividades antivirais, antibióticas, antitumorais, anti-helmínticas, anti-hipertensivas, anticoagulantes, antiinflamatórias e antifúngicas. Para Fleurence e Guéant (1999), independente do interesse nutricional das proteínas, certas algas são fontes potenciais de corantes protéicos para a indústria agro-alimentar, em especial, as algas vermelhas (*Rhodophyceae*), as quais contêm pigmentos protéicos fluorescentes (ficobiliproteínas) tais como a ficoeritrina.

As propriedades antibióticas e antifúngicas têm sido muito estudadas em algas nos últimos tempos. Princípios ativos com efeitos antibióticos contra *Staphylococcus*, coliformes, *Salmonella* e fungos foram isolados nas algas vermelhas e verdes. Suas atividades são variáveis, dependendo da espécie de alga, dos locais de coleta, e das estações do ano. Esses princípios ativos têm sido

identificados como compostos fenólicos, taninos, terpenos e ácidos graxos de cadeia curta, como o ácido acrílico. Tem sido isolado, em menor percentagem, vários princípios ativos de natureza protéica (PESANDO, 1990; MELO et al., 1997). Vários trabalhos vêm discutindo o potencial, em especial, da alga *Botryocladia occidentales*, espécie muito comum encontrada nas praias do Ceará, rica em polissacarídeos sulfatados que seriam o princípio ativo da anticoagulação (PINHEIRO-JOVENTINO et al., 1998; FARIAS et al., 2000).

De acordo com Pinheiro-Joventino et al. (1998), as algas ricas em fucanas sulfatadas (pardas), teriam princípios ativos com potente ação inibidora da replicação do vírus HIV nativo e recombinante. As lectinas, proteínas contidas nas algas, atuam como mediadores no reconhecimento celular em uma vasta linha de sistemas biológicos (SHARON e LIS, 1989). As lectinas de algas marinhas também têm sido utilizadas para induzir a proliferação celular de linfócitos humanos e forte aglutinação de células, o que sugere que estas lectinas podem ser instrumentos úteis na pesquisa do câncer (NEVES, 2001).

Estudos vêm sendo realizados com algas marinhas com a intenção de torná-las fontes alimentares (SEIBIN e TARUKU, 1985). Os países orientais, Japão e China, há longo tempo utilizam as algas marinhas como alimento. No Japão, mais de cem espécies de algas têm sido usadas como alimentos tradicionais. Na década de oitenta, o Japão apresentava um consumo per capita em torno de 1,6 Kg/ ano (peso seco) de algas marinhas tais como as *Laminaria*, *Undaria*, *Eisenia*, *Análipus*, *Enteromorpha*, *Ulva*, *Monostroma*, *Porphyra tenera*, *Meristotheca*, *Gelidium*, entre outras (FUJIWARA-ARASAKI et al., 1984).

A China e o Japão ocupam os primeiros lugares no ranque mundial, com um consumo per capita de algas que varia entre 1,6 a 2,3 quilos por ano. As principais espécies consumidas são as algas dos gêneros *Laminaria* (kondu), *Porphyra* (nori), *Undaria* (wakame), *Ulva* e *Enteromorpha*. Na Europa, as algas são utilizadas como complemento alimentar. O uso das algas na alimentação humana é justificado devido sua riqueza e diversidade na sua constituição mineral, de fibras, propriedades gelificantes de seus colóides, e principalmente devido ao seu teor protéico, os quais em algumas espécies, são comparáveis aos da soja (FLEURENCE e GUÉANT, 1999).

Recentemente, países ocidentais como a França passaram a considerar algumas algas como alimento humano (cerca de 11 espécimes), seja de forma

natural ou semiprocessada ou fazendo parte de formulações como sopas, bebidas, queijos, dentre outros (MABEAU e FLEURENCE, 1993). Em 1990, uma publicação do Governo Francês autorizou o consumo de algas como verduras e condimentos, na alimentação humana. O Conselho Francês para a Saúde Pública (French Council For Public Health – CSHPF) baseou-se nos aspectos bioquímicos e nutricionais das algas.

Conforme Pinheiro-Vieira *et al.* (1968), a grande maioria das algas de interesse econômico para os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Alagoas pertencem à classe *Rhodophyceae*. Entre elas temos as produtoras de agar (*Geliduellla acerosa*, *Gracilarias*, *Bryotamnion seaforthii* e *B. triquetrum*, *Digenia simplex*, *Hipynea musciformis*, *Gelidiopsis gracilis*, *Amansia multifida*, *Vidalia obtusiloba*, etc) e a espécie produtora de agaróide *Agardhiella tenera*. No Estado do Ceará, os pontos de coleta de algas de maior produção se encontram nos municípios de Icapuí e Trairi (ARAÚJO *et al.*, 1982).

As algas têm sido tradicionalmente utilizadas nas regiões marítimas como complementos de rações para animais, por serem apontadas como componentes importantes no aumento da fertilidade dos animais, na produção e qualidade do leite, na qualidade dos ovos (cor da gema, dureza da casca), por diminuírem a frequência das infecções nos criadouros avícolas e melhorarem a qualidade da lã e do pelo (MABEAU *et al.*, 1993). Algumas espécies parecem incrementar o nível de ácidos graxos ω -3 em galinhas submetidas a rações que têm algas como um dos ingredientes (HERBER e VAN ELSWYK, 1997). Assim, como a costa cearense ainda é um celeiro de algas, deve ser verificado esse potencial de nutrientes a fim de ser utilizado na alimentação humana e/ou animal.

1.2. Valor Nutritivo das Algas Marinhas

O consumo de algas marinhas encontra sustentação no fato das mesmas serem consideradas boas fontes de nutrientes como carboidratos (não digeríveis por enzimas humanas), proteínas (de boa qualidade, porém de baixa digestibilidade), vitaminas A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, niacina e, minerais como cálcio, ferro, etc na nutrição humana (ROUND, 1973); também contribuem na saúde humana, como na redução de peso e têm aplicações medicinais, como atividade anti-lipídica, anticolesterol

sangüíneo, anti-tumorífica, etc (ARASAKI e MINO, 1973). As algas são de interesse nutricional desde que apresentam baixos valores calóricos, sendo ricas em vitaminas, minerais e fibras dietéticas (ITO e HORI, 1989). Algas como a *Porphyra tenera* (nori) e *Undaria pinnatifida* (wakame), bastante consumidas no Japão, apresentam altos teores de proteínas, cerca de 34% e 14%, respectivamente, as quais contêm os aminoácidos histidina e cisteína como limitantes em decorrência de apresentar em pequenas quantidades nestas algas (URBANO e GOÑI, 2002).

O teor da proteína é relativamente baixo nas algas pardas e verdes, sendo mais alto nas algas vermelhas, embora todos os aminoácidos, exceto a metionina e cisteína estejam presentes em concentrações relativamente altas, mesmo que algumas espécies verdes como a *Ulva lactuca* e *Enteromorpha compressora* sejam particularmente ricas em fenilalanina, histidina e também metionina; as algas pardas (ex. *Padina pavonica*) são ricas em metionina, fenilalanina, treonina e histidina, e as vermelhas (ex. *Laurencia obtusa*) são ricas em prolina, treonina, lisina e histidina (WASHBEH, 1997). Apesar do teor de lipídios em algas ser geralmente reduzido, Johns et al. (1979) reportaram a presença de ácidos graxos insaturados como o oléico (18:1) e linoléico (18:2). O alto teor de polissacarídeos não digeridos pelo homem, na parede celular da alga, contribui para o alto teor de fibra dietética (33-50% do peso seco da alga) (RUPÉREZ e SAURA-CALIXTO, 2001). À quicá de comparação é bom lembrar que os grãos de cereais e leguminosas constituem as principais fontes de fibra dietética, que não atingem esse tão elevado percentual. Como exemplo podemos citar o pão integral fabricado com farinha de trigo não refinada, a qual contém somente 8% de fibra dietética (VAHOUNY, 1987).

A maior parte das algas contém betacaroteno (provitamina A) e algumas das vitaminas do complexo B. A vitamina B₁₂ geralmente é encontrada apenas em produtos de origem animal, mas também é encontrada nas algas, embora nestas últimas não estejam biodisponíveis (RODRIGUES, 2004).

1.2.1. Polissacarídeos (Fibras)

A definição de fibra vem sofrendo modificações ao longo dos tempos. Em 1953 o termo “fibra dietética” referia-se aos resíduos não digeríveis em alimentos.

Trowell (1974) definiu como sendo a porção comestível de alimentos, derivada de células vegetais, as quais são formadas de hemiceluloses, pectinas, celulosas, ligninas, oligossacarídeos e gomas, resistentes à digestão hidrolítica realizada por enzimas humanas. Essa definição não englobava polissacarídeos estocados pelas plantas, tais como substâncias pécticas, gomas e mucilagens, que são freqüentemente solúveis em água e têm importância nutricional e implicações farmacológicas crescentes (VAHOUNY, 1987). Além disso, focalizava principalmente, a indigestibilidade da fibra, e não incluía uma grande variedade de "materiais associados" à parede da célula vegetal, os quais poderiam ser metabolizados, não pelas enzimas digestivas, mas pela flora bacteriana do intestino grosso, contribuindo para os efeitos fisiológicos e metabólicos da fibra dietética (SUZUKY et al., 1996). Outro aspecto seria o fato de que nestas substâncias associadas, tais como o ácido fítico, sílica, substâncias cuticulares e proteínas da parede celular, poderiam de alguma maneira contribuir para a soma de respostas provenientes das fibras dietéticas (CUMMINGS, 1982).

Atualmente, a fibra dietética é tida como uma fração indigerível, a qual contém oligossacarídeos, amido resistente, proteínas resistentes e compostos associados, tais como polifenóis (SAURA-CALIXTO, 1997). Em 1993, o Food and Drug Administration (FDA) e o U.S. Department of Agriculture (USDA, 2001) incluíram os oligossacarídeos resistentes às enzimas digestivas (SUNGSOO e PROSKY, 1994). Em 1999, a Association of Official Analytical Chemistry (A.O.A. C), definiu a fibra dietética como o resíduo da parte comestível dos vegetais e carboidratos análogos, que são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado humano, mas que sofrem fermentação completa no intestino grosso, pela ação da flora bacteriana. Esta definição inclui polissacarídeos, oligossacarídeos, lignina, e substâncias associadas. A definição é completada dizendo que a fibra dietética exerce uma ou mais das seguintes ações: efeito laxativo (amolecimento e aumento do bolo fecal), aumento da freqüência das defecações, atenuação do colesterol e glicose sanguíneos (PROSKY, 1999; RAUPP et al., 2000).

Segundo Craveiro et al. (1999), o termo fibra dietética ficou mais abrangente, sendo estendido para os constituintes da dieta que podem não ser de origem vegetal (fungos, animal), os quais não são degradados enzimaticamente, nem absorvidos pelo intestino. Um exemplo de fibra dietética de origem animal é a

quitosana, proveniente da quitina e que apresenta uma estrutura semelhante a da celulose.

Nas últimas décadas, houve um considerável aumento no consumo de alimentos integrais em populações ocidentais, principalmente de grãos. Os alimentos vegetais integrais são fontes de substâncias tóxicas e/ou fatores antinutricionais, fato este que estimulou muitas pesquisas sobre frações não-absorvíveis dos alimentos, ou seja, frações que resistem à hidrólise enzimática, seus efeitos sobre a nutrição e patologias em humanos. Dentre estes componentes, a fibra era considerada uma das mais importantes. Os polissacarídeos que a compõem, apesar de constituírem a maior parte da fibra dietética, estão associados a outras substâncias também não hidrolisadas pelas enzimas digestivas, das quais o amido resistente é uma delas. O amido resistente é definido como a fração do amido que não é digerida no intestino delgado e sua faixa de absorção varia entre 3 a 20%. Segundo alguns pesquisadores, quando a faixa de digestão do amido decresce, a glicose pós-prandial e a resposta insulinêmica são diminuídas provavelmente pelo aumento do tempo de trânsito intestinal. Logo, parte desse amido poderá ser fermentada no cólon com produção de ácidos graxos de cadeia curta, ou mesmo aparecerem nas fezes. A natureza desta fração do amido está constituída por diferentes tipos (tipos I, II, III e IV), os quais se classificam em função de sua estrutura físico-química e susceptibilidade à digestão intestinal (LOBO e SILVA, 2004).

A fibra dietética é uma mistura complexa de substâncias químicas (celulose, hemicelulose, pectinas, outros polissacarídeos, lignina e ácido fítico), sua concentração e composição nas diferentes fontes não é constante nem uniforme (IDOURAINE et al., 1996; PERSSON et al., 1998). Essa diversidade física e química explica o número e a complexibilidade dos papéis fisiológicos atribuídos a fibra dietética. Em relação aos polissacarídeos, cada tipo de fibra dietética é caracterizada por seus resíduos de açúcares e a natureza das ligações entre eles (JIMÉNEZ-ESCRIG e SÁNCHEZ-MUNIZ, 2000).

As algas são ricas em fibras dietéticas e proteínas resistentes à hidrólise. Podem passar através do intestino sem serem absorvidas e arrastar componentes minerais dietéticos. Muitos componentes dietéticos podem reagir com minerais e formar complexos altamente estáveis, os quais podem reduzir a absorção dos cátions divalentes. A fibra dietética e o ácido fítico interagem com os minerais no intestino delgado. Por outro lado, alguns componentes dietéticos podem aumentar a

solubilidade dos complexos minerais e diminuir a excreção fecal destes, tais como zinco ou cálcio, (PERSSON et al., 1991; SZKUDELSKI, 1997; URBANO E GOÑI, 2002).

As fibras dietéticas são consideradas alimentos funcionais porque proporcionam benefícios para a saúde, pois normalizam o tempo de transito gastrointestinal, prevenindo diverticulites, constipação, câncer de cólon; promovem saciedade, ajudando na redução de peso, reduzem colesterol e controlam a glicemia (DANSB, 1998). Vale ressaltar que a ingestão de fibra dietética preconizada por dia não deve ultrapassar os 25g, pois conforme Sgarbieri (1996a), as fibras também podem ser consideradas substâncias antinutricionais, devido as mesmas poderem se ligar aos elementos minerais (efeito quelante), tais como o cálcio, ferro, fósforo, zinco, etc, impedindo a absorção e biodisponibilidade destes.

No trato gastrointestinal, as fibras regulam ou influenciam o ritmo e o local da digestão e absorção dos alimentos, fato extremamente importante para o metabolismo dos carboidratos digeríveis e dos lipídios (KELSAY et al., 1978; FARREL et al., 1978).

As algas marinhas contêm grandes quantidades de polissacarídeos estruturais presentes na parede celular, os quais são extraídos pela indústria de hidrocolóides. É o caso dos alginatos, fucoses sulfatadas nas algas pardas, carragenanas e agar nas algas vermelhas; as xilanas em certas algas vermelhas e verdes e a celulose em todos os gêneros de algas (TABELA 1). Os polissacarídeos de algas podem ser utilizados como fibras dietéticas. As fibras algais (TABELA 2) solúveis e insolúveis em água estão associadas com diferentes efeitos fisiológicos. Assim, os polissacarídeos que formam soluções muito viscosas como as pectinas e goma guar apresentam efeitos hipocolesterolêmicos e hipoglicêmicos, enquanto os insolúveis em água (celulose) estão associados à redução no tempo do trânsito alimentar no trato digestório. As algas comestíveis contêm cerca de 33 a 35% de fibras totais, que são particularmente ricas em frações solúveis (MABEAU et al., 1993).

De acordo com Davidson e McDonald (1998) citado por Jiménez-Escrig e Sánchez-Muniz (2000) a fibra solúvel forma gel viscoso no trato gastrointestinal, enquanto a insolúvel não o faz, porém, a mesma, aumenta o bolo fecal. Ambas as formas de fibras apresentam habilidade de ligar-se à água ou a minerais (cátions), e podem ser fermentadas pela microbiota do intestino humano. Dessa forma,

influenciando a digestão *in vivo* através de vários mecanismos, dependendo da natureza da fibra. Elas podem reduzir a atividade enzimática no lúmen intestinal, mas provavelmente também podem proteger as enzimas contra degradação (BOISEN et al., 1985).

Os polissacarídeos de algas diferem dos de plantas terrestres na composição e grau de polimerização. Dados sugerem que os primeiros são mais efetivos na redução dos níveis de colesterol sanguíneo e pressão arterial do que os polissacarídeos de outras fontes de fibras. Estes efeitos são decorrentes, possivelmente, da formação de gel (dispersibilidade em água), aumento do bolo fecal, capacidade de ligação e fermentabilidade (JIMÉNEZ-ESCRIG e SÁNCHEZ-MUNIZ, 2000).

Fibras detergentes neutros (FDN) são representadas pelos constituintes da parede celular, que é a porção do tecido insolúvel em detergente neutro formada basicamente por hemicelulose, celulose, lignina, proteína lignificada e sílica. A determinação de FDN ocorre através de uma digestão do material vegetal com uma solução de detergente neutro, onde o resíduo deste processo é reportado como percentagem de FDN (teor de fibra insolúvel da parede celular representada pela hemicelulose). Através da análise da fibra detergente ácida (FDA) determinam-se os componentes menos solúveis da parede celular, principalmente celulose e lignina, mas que ainda podem conter um pouco de proteína ligada à fibra e sílica. Seqüencialmente, faz-se a determinação de fibra bruta, formada pelos carboidratos provenientes da parede e do teor celular. Nesta etapa determinam-se os polissacarídeos não amídicos como as fructanas, substâncias pécticas, galactanas e β -glucanas (fibra solúvel). O percentual de cada fração é calculado relacionando a massa de cada uma com a massa total de todas as frações (HALL, 2000; BOTELHO et al., 2002).

1.2.2. Lipídios

Os lipídios são macromoléculas existentes nos alimentos, constituídos de diferentes compostos, os quais exercem funções estruturais, energéticas, coenzimáticas e hormonais nos seres vivos. Basicamente são formados de carbono,

hidrogênio e oxigênio, sendo que alguns também possuem fósforo e nitrogênio; são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos como, éter etílico, acetona, clorofórmio; na dieta são importantes fontes de energia, pois, fornecem cerca de 9 Kcal/g; contêm ácido graxo essencial (linoléico); veiculam vitaminas lipossolúveis; diminuem o volume da alimentação; aumentam o tempo de digestão e melhoram a palatabilidade dos alimentos, mas também são responsáveis por moléstias nutricionais (SANTOS e SANTOS, 1982). Os lipídios algais constituem de 1 a 3% da alga, em termos de matéria seca, e sua contribuição energética é muito baixa. Apesar da pouca quantidade de lipídios presentes nas algas, a sua composição, principalmente nas algas vermelhas, apresenta quantidades significantes de ácidos graxos polinsaturados tais como o ácido eicosapentanóico e ácido araquidônico (KAYAMA et al., 1985; KHOTIMCHENKO et al., 1991). As algas pardas exibem altos níveis de esteróis, os fucoesteróis (MABEAU et al., 1993).

1.2.3. Proteínas

Atualmente, milhares de instituições e pesquisadores em todo os lugares vêm estudando as algas no tocante às suas proteínas, carboidratos e outras substâncias farmacologicamente ativas, ou de grande utilidade na indústria de cosmético, farmacêutica, alimentícia, entre outras. Segundo Galland-Irmouli *et al.* (1999), a ingestão deficiente de proteínas nas populações de países em desenvolvimento tem levado pesquisadores a procurarem proteínas de diferentes fontes vegetais, cujos valores nutricionais dependem das suas composições de aminoácidos, bem como das suas digestibilidades. As proteínas vegetais representam 80% do nitrogênio nos países em desenvolvimento e menos do que 50% nos países industrializados. Segundo Fleurence e Guéant (1999), a composição das algas marinhas varia conforme a família botânica, a espécie e o estado de desenvolvimento da alga. Assim, as algas pardas (*Laminarias* e *Fucus*) possuem de 3 a 11% de proteína; as verdes (gênero *Ulva*) apresentam em torno de 26%; as vermelhas tais como a *Palmaria palmata* ou *Porphyra tenera* têm 35 e 47%, respectivamente.

TABELA 1 – Principais polissacarídeos de algas.

TIPO DE ALGAS	POLISSACARÍDEOS DE PAREDES CELULARES	POLISSACARÍDEOS DE RESERVA
Algas pardas	Alginatos (ácido gulurônico, ácido manurônico), Fucanas (fucoses sulfatadas).	Laminaranas
Algas vermelhas	Carragenanas (galactoses sulfatadas); agar (galactose); celulose; xilana.	Amido das florídeas* (glucose)
Algas verdes	Celulose; xilana; manana; glucuronoxiloramana sulfatada.	Amido

Fonte: MABEAU et al., 1993.

* Amido das florídeas: é o amido das algas vermelhas, cujos grãos se encontram espalhados no citoplasma.

TABELA 2 – Concentração de fibra dietética em algas marinhas (% fibras / base seca).

FONTE	SOLÚVEIS	INSOLÚVEIS	TOTAL
<u>PHAEOPHYCEAE</u>			
Wakame (<i>Undaria pinnatifida</i>)	30,0	5,3	35,3
Hijiki (<i>Hizikia fusiforme</i>)	32,9	16,3	49,2
Espaguete marinho (<i>Himanthalia elongada</i>)	25,7	7,0	32,7
Konbu breton (<i>Laminaria digitata</i>)	32,6	4,7	37,3
<u>CHLOROPHYCEAE</u>			
Alface do mar (<i>Ulva lactuca</i>)	21,3	16,8	38,1
Ao Nori (<i>Enteromorpha spp.</i>)	17,2	16,2	33,4
<u>RHODOPHYCEAE</u>			
Nori (<i>Porphyra tenera</i>)	17,9	6,8	34,7
Produtos à base de <i>Kappaphycus</i>	41,5	29,2	70,7

Fonte: MABEAU et al., 1992.

Para Mahan e Arlin (1992) e Sgarbieri (1996a e 1996b), dos nutrientes que compõem a dieta humana, as proteínas são fundamentais e, por isso, devem estar em quantidades adequadas e balanceadas em relação aos outros nutrientes. A qualidade da proteína deve ser considerada, e grande importância deve ser dada à sua composição aminoacídica, digestibilidade, ausência de toxicidade e/ou propriedades antinutricionais.

De uma forma geral, as proteínas vegetais contribuem com 75% da proteína consumida pelo homem, onde cerca de 50% dessas apresentam baixo valor biológico, devido à deficiência ou ausência de aminoácidos essenciais, além de apresentarem baixa digestibilidade e encerrarem substâncias tóxicas ou fatores antinutricionais em suas composições.

Para Santos e Santos (1982) e Sgarbieri (1987), a qualidade nutricional das proteínas está ligada a sua capacidade de satisfazer às necessidades orgânicas de crescimento e manutenção da vida. Assim, para avaliar a qualidade de uma proteína pode-se usar métodos químicos, biológicos e microbiológicos. Os métodos químicos baseiam-se, exclusivamente, na análise da composição dos aminoácidos da proteína em estudo e na comparação do perfil de aminoácidos essenciais com os de uma proteína de referência completa como a proteína do ovo.

1.2.3.1. Avaliação da Qualidade das Proteínas de Algas

A tecnologia moderna pode oferecer os mais variados alimentos e produtos biologicamente ativos provenientes dos ecossistemas aquáticos, os quais possuem uma grande diversidade de micro e macroalgas, que podem ser utilizadas como fonte de proteínas, vitaminas, minerais e substâncias de efeitos bioestimulantes (HERRERO et al., 1985).

Conforme Allison (1995), por muito tempo o método mais utilizado na avaliação da qualidade nutricional de proteínas era o cálculo da razão da eficiência protéica (PER), o qual se baseia em experimentos de alimentação de ratas recém desmamadas. Esse método deixou de ser utilizado porque o mesmo apresenta limitações, pois usa o ganho de peso como único critério para avaliar uma proteína, e subestima o valor de certas proteínas animais e supervaloriza as de origem vegetal (BECKER, 1994; ALLISON, 1995). Assim, tem sido recomendado usar o

método do quociente de eficiência líquida da proteína (NPR), o qual apresenta a vantagem sobre o PER, pois leva em conta a perda de peso do grupo em dieta aprotéica (SGARBIERI, 1996a). No entanto, é recomendado usar nesta avaliação, além do NPR, outros métodos mais específicos, tais como, a Utilização de Proteína Líquida (NPU), Digestibilidade verdadeira (DV) e o Valor Biológico (VB).

De acordo com Quevedo et al. (2003), em adição aos métodos biológicos anteriormente citados, métodos químicos podem ser empregados, como a composição de aminoácidos das proteínas e sua digestibilidade *in vitro*, o escore químico, assim como a determinação de lisina disponível. Em comparação aos métodos biológicos tradicionalmente empregados, o uso de uma bateria de métodos químicos apresenta as seguintes vantagens:

- Científicas: oferecem informações valiosas sobre o valor nutricional das proteínas e permite explicar a integralidade dos fenômenos observados no organismo animal, e são convenientes para fornecer respostas para perguntas específicas;
- Econômicas: do ponto de vista de manutenção de animais, alimentos, rações e pessoal encarregado, os métodos químicos são mais simples, mais flexíveis, se desenvolvem com maior rapidez e são passíveis de serem automatizados;
- Éticas: não se utiliza animal de laboratório (por isso não se inflige dor, sofrimento, angústia, a esses organismos).

Neste aspecto, a “Food and Drug Administration” (FDA) recomendou em 1993 a substituição do método da razão da eficiência protéica (PER) pela introdução, com propósitos regulatórios, do cômputo de aminoácidos corrigidos em função da digestibilidade protéica (PDCAAS) para se avaliar a qualidade protéica nos alimentos destinados para o consumo humano (FDA, 1993).

A digestibilidade pode ser utilizada como um indicador para avaliar uma proteína, sendo essencialmente, a medida da suscetibilidade da proteína à proteólise. Uma proteína com alta digestibilidade tem potencialmente um valor nutricional mais elevado do que uma proteína de baixa digestibilidade, devido a mesma poder fornecer mais aminoácidos para absorção na proteólise (DUODU et al., 2002; DUODU et al., 2003). Assim, a digestibilidade pode ser utilizada como um indicativo da disponibilidade da proteína para determinado organismo. Segundo MACLEAN et al. (1981) os fatores que contribuem para a baixa digestibilidade de uma proteína podem ser de caráter exógenos e endógenos:

- ◆ Fatores exógenos: são aqueles que aumentam a interação das proteínas com componentes não protéicos, tais como os polifenóis (ácidos fenólicos, flavonóides e taninos), polissacarídeos não amídicos, amídicos, fitatos, lectinas e inibidores de proteases.

- Polifenóis: Estão divididos em três categorias, os ácidos fenólicos, flavonóides e taninos (HAHN et al., 1984). A vantagem da presença dos taninos em grãos é sua proteção contra insetos, pássaros e ataque fúngico. Sua desvantagem consiste em diminuir o valor nutritivo do alimento (SERNA-SALDIVAR e ROONEY, 1995), através de sua ligação com as proteínas através de pontes de hidrogênio e associações hidrofóbicas não polares, formando complexos proteína-tanino indigeríveis (BUTTLER et al., 1984). A ação do tanino parece até contraditória, pois devido aos seus grupamentos hidroxilas, os mesmos podem interagir com as proteínas levando-as a precipitar, isso devido ao grande tamanho de suas moléculas. Entretanto, a precipitação das proteínas pode não ser, por si só, a causa da redução na digestibilidade das mesmas, já que a desnaturação da proteína causada pela sua precipitação pode levar até a um melhoramento na sua digestão (DAMODORAN, 1996). Portanto, a digestibilidade da proteína não é dependente apenas do teor de tanino (ELKIN et al., 1996). Os flavonóides e ácidos fenólicos também contêm grupos hidroxilas e assim também podem interagir com as proteínas e formar complexos (BRUNE et al., 1989).

- Inibidores de proteases: São proteínas relativamente pequenas encontradas em tecidos vegetais, sendo capazes de formar complexos enzima-inibidor bastante estáveis, impedindo assim, a ação das proteases sobre os alimentos, e conseqüentemente a digestão e absorção de nutrientes no organismo de animais e do homem. Por isto, estes inibidores de proteases são considerados fatores antinutricionais. Os inibidores de tripsina e alfa-amilase exemplificam estes fatores e estão presentes em grãos de legumes, cereais e oleaginosas (LIENER, 1994a). Foi reportado que a ação dos inibidores de proteases pode causar alterações em alguns órgãos internos de animais, porque as proteínas ingeridas além de elevarem a secreção pancreática, induzem um aumento do pâncreas, ocasionado pelo aumento da síntese das proteases (DAIBER, 1975).

- **Fitatos:** A molécula de fitato é altamente carregada, possui seis grupos fosfatos e assim é um excelente agente quelante, formando complexos insolúveis com minerais (cátions) e proteínas (RYDEN e SELUENDRAN, 1993), o que pode levar à redução da biodisponibilidade de minerais traços e redução da digestibilidade de proteínas. Sua ação sobre as proteínas talvez seja devido à formação do complexo fitato-proteína, o qual é menos susceptível ao ataque enzimático (KNUCKLES et al., 1985). O efeito inibidor do fitato sobre as proteases digestivas é dependente de fatores como o pH e a presença de metais cátions como o Ca^{2+} e o Mg^{2+} , (DESPANDE e DAMADARAN, 1989).
- **Componentes da parede celular:** Tem sido reportada uma associação entre as proteínas e os componentes do pericarpo e do endosperma da parede celular de cereais. Esta ligação poderia reduzir a digestibilidade da proteína ou reduzir o acesso de enzimas ou levar à formação de complexos indigeríveis (BUTTLER et al., 1984). Quantidades significantes de proteínas são capazes de se ligar à fibra dietética total e fibra em detergente ácido (resíduo obtido depois da extração do amido, proteína e hemiceluloses com uma solução detergente ácido), ou mais especificamente, aos componentes da parede celular (JOHNSON e SOUTHGATE, 1994);
- **Amido:** Nos cereais, os grânulos de amido são circundados por numerosos corpos protéicos. A implicação de tal relação entre o amido e proteína pode ser que quando o amido é gelatinizado depois da cocção, ele poderia reduzir o acesso das enzimas proteolíticas aos corpos protéicos e, portanto, reduzir a digestibilidade das proteínas.
- ♦ **Fatores endógenos:** Estes fatores promovem modificações na proteína do vegetal e não envolvem interações das proteínas com compostos não protéicos.
 - **Ligação protéica cruzada:** Durante o processamento, sob certas condições físicas e químicas, as proteínas podem sofrer alterações na sua hidratação através de destruição térmica (pirólise). A principal reação química que ocorre é a formação de derivados de aminoácidos especiais ou suas ligações covalentes cruzadas com outros aminoácidos da mesma ou de outra molécula

protéica. Tais ligações cruzadas podem levar a uma redução na digestibilidade e no valor biológico das proteínas dos alimentos (BUTTLER et al., 1984);

- Ligação dissulfeto cruzada: Foi sugerido que na cocção de alimentos, a ligação dissulfeto cruzada pode ser formada pelas proteínas vizinhas aos corpos protéicos e isto poderia diminuir o acesso das enzimas proteolíticas (DAMODORAN, 1996).

Para Boisen e Eggum (1991), um aumento nas proteínas dietéticas implica no aumento na secreção pancreática das enzimas proteolíticas, enquanto um aumento na ingestão de amido e lipídios induz um aumento nas secreções de amilase e lipase, respectivamente. Além disso, a fibra dietética e os fatores antinutricionais (ANF) também afetam as secreções de enzimas.

Muitas respostas específicas dos fatores antinutricionais na digestibilidade são conhecidas. Os inibidores de tripsina aumentam a secreção pancreática de tripsina e de outras enzimas (LIENER e KAKADE, 1980), enquanto os taninos induzem um grande aumento nas proteínas ricas em prolina da saliva. Estas proteínas apresentam alta afinidade por taninos e, portanto são capazes de reduzir o efeito adverso dos taninos da digestibilidade protéica (MEHANSHO et al., 1987). As lectinas atuam de forma diferente, elas interferem nos processos de digestão e absorção ao ligar-se na superfície dos receptores dos enterócitos e assim induzirem mudanças no metabolismo epitelial celular, aumentando o *tumover* celular e a secreção protéica (PUSZTAI, 1989).

Como as algas marinhas possuem fatores tóxicos e/ou antinutricionais, além de apresentar uma composição bastante variada de substâncias deve-se utilizar métodos biológicos e químicos a fim de se obter o maior número de informações, só depois disso pode-se avaliar a metodologia mais adequada na análise de algas.

1.3. Minerais

Os elementos químicos podem ser encontrados em todos os lugares, nunca se esgotam e devem sempre existir no planeta. Diferem de outros elementos tóxicos em decorrência de sua perenidade. Podem acarretar problemas na saúde do

homem devido sua presença na água, ar, solo e alimentos. Sua distribuição está relacionada aos ciclos bioquímicos e geoquímicos. Os minerais presentes nas rochas são dissolvidos pelas chuvas, que os carrega para os reservatórios de água e outros locais, e assim podem ser concentrados nos alimentos (FOO et al., 1996, citado por PASCALICCHIO, 2002).

De acordo com Póvoa Filho (1999); Lacerda (1996); Farias (1996) e PASCALICCHIO (2002), para o desenvolvimento de lesões produzidas por metais tóxicos, os fatores preponderantes são o sexo, idade, estado nutricional, doses e exposição a diferentes poluentes. Há quatro mecanismos de ação individual dos metais tóxicos sobre o ser humano, que são os seguintes:

- Exercer atividade imunossupressora;
- Competir pelos sítios ativos de fixação de co-fatores de atividades enzimáticas, o que pode produzir bloqueio de reações importantes;
- Inibir enzimas vitais como as participantes na fosforilação oxidativa;
- Alterar as estruturas celulares, principalmente na faixa lipoprotéica de membranas.

É sabido que as algas possuem um elevado teor de minerais. A maioria das algas apresenta grandes quantidades de cálcio, magnésio, fósforo, potássio, sódio e ferro. Algumas espécies apresentam altos níveis de elementos minerais com funções catalíticas, como é o caso da *Ulva* e da *Enteromorpha* spp, as quais possuem um elevado teor de magnésio na ordem de 2 a 5,2% de matéria seca (MABEAU et al., 1993). As algas marinhas são uma ótima fonte de iodo, mineral essencial ao correto funcionamento da tiróide (RODRIGUES, 2004).

Os metais talvez sejam os elementos tóxicos mais antigos conhecidos pelo homem. No ano de 800 a.C. havia pouco chumbo na capa de gelo da Groenlândia, mas depois da sua adição à gasolina, esse teor aumentou cerca de 200 vezes. Dos 105 elementos da tabela periódica, 30 podem ser tóxicos ao homem, sendo a dose e o nível de exposição ao mesmo de extrema importância. Entende-se por dosagem tóxica, a quantidade de metal que manifesta efeito tóxico dentro das células ou de órgãos. Os materiais biológicos utilizados na determinação da toxicidade de determinado metal são a urina, o sangue e os cabelos. Nas células, a forma química e o tipo de ligação são fatores que determinam a toxicidade dos metais (CETESB, 1978; PASCALICCHIO, 2002).

Para Mabeau et al. (1993) a ligação de certos minerais com polissacarídeos aniônicos, tais como alginatos, agar ou carragenanas pode limitar a absorção de minerais. Nestes casos, a biodisponibilidade desse mineral é função do tipo de ligação entre o mineral e o polissacarídeo, e da digestibilidade deste último. Nas ligações fracas, o mineral é facilmente liberado, mas quando existe uma alta afinidade dos cátions divalentes (ex. cálcio) pelos polissacarídeos carboxílicos (alginatos), a disponibilidade deste mineral é limitada. Sob o ponto de vista nutricional, esta alta afinidade pode ser compensada pelo alto teor de minerais presentes nas algas.

As intoxicações mais freqüentes são causadas por alumínio, arsênio, bário, berílio, cádmio, chumbo, mercúrio e níquel, os quais alteram as estruturas celulares, as enzimas e substituem metais que atuam como co-fatores nas atividades enzimáticas (LIU e ELSNER, 1995; BIGAZZI, 1994).

A França foi o primeiro país europeu a estabelecer um regulamento específico (Demande d'Autorisation d'Algues en Alimentation Humaine. Bulletin du Ministère des Affaires Sociales, 28/11/1990) concernente ao tipo de algas liberadas para o consumo humano, bem como os níveis máximos de minerais tóxicos (cádmio, cobre, mercúrio, arsênio, iodo, chumbo, estanho) e bacteriológicos que podem está presentes nestas algas (TABELAS 3 e 4). Nos EUA, o uso de algas como condimento é regido através das normas do *Food and Drug Administration*, e os produtos algais, devem estar dentro dos seguintes níveis de segurança (peso em massa seca): 45% de cinzas; 3 ppm de arsênio inorgânico; 40 ppm de metais pesados; 10 ppm de chumbo e 5000 ppm de iodo. (MABEAU e FLEURENCE, 1993).

1.4. Toxicidade e/ou Fatores Antinutricionais de Algas Marinhas

Segundo Sgarbieri (1987), um dos fatores condicionantes do valor nutritivo de um alimento é a presença ou ausência em sua composição, de substâncias tóxicas e/ou antinutricionais. Estas substâncias tóxicas fazem parte da composição de alguns alimentos, não representando, portanto, contaminantes de origem química ou microbiológica. A natureza química destas substâncias é bastante diversa, assim como a toxicidade e seus efeitos antinutricionais quando incorporadas em uma dieta mista. Vários estudos nutricionais têm demonstrado que, por inúmeros

fatores, alguns elementos contidos nos alimentos podem interferir de maneira significativa ou não, no metabolismo e na fisiologia orgânica. De acordo com esta atuação, estes elementos podem desencadear diversas respostas orgânicas, incluindo, algumas vezes, alterações anatômicas a nível tecidual.

Benevides et al. (1999) estudaram dez espécies de algas marinhas quando realizaram um levantamento da presença de fatores tóxicos e/ou antinutricionais. De acordo com os resultados obtidos, as espécies estudadas foram consideradas fontes importantes de proteínas (teor protéico variando entre 34,3 e 37,19 g/ 100g de alga seca), entretanto todas apresentaram toxicidade para camundongos. Estes dados reforçam a necessidade de um estudo mais detalhado dos componentes tóxicos presentes em espécies de algas da costa cearense.

Os inibidores naturais de amilases e glicosidases têm sido os mais estudados, sendo os primeiros a serem utilizados no tratamento da obesidade, diabetes, cáries e doenças do trato gastrintestinal (HAM et al., 2002; LANKISCH et al., 1998). Nas algas, muito provavelmente, esses inibidores apresentam a função de defesa contra o ataque de organismos estranhos, a qual poderia envolver a síntese de substâncias que inibem as enzimas do trato digestório de animais marinhos (ex. (1→3)-β-D-glucanases que hidrolisam as laminaranas) (BROADWAY, 1996). Os estudos referentes à presença de inibidores de proteases em algas são bastante escassos. Assim, Yermakova et al. (2002) detectaram em 14 espécies de algas marinhas pardas, inibidores de endo-(1→3)-β-D-glucanases, as quais são enzimas digestivas de moluscos marinhos. Os valores de inibição encontrados são comparáveis aos valores correspondentes de inibidores de α-amilase de plantas terrestres.

Há alguns anos atrás, as substâncias constituintes dos alimentos eram mensuradas e classificadas como nutrientes, antinutrientes, toxinas ou não-nutrientes. Atualmente existe uma confusão sobre a caracterização funcional dos constituintes dos alimentos. Os polifenóis eram caracterizados como antinutrientes, mas recentemente, eles passaram a serem tidos como substâncias bioativas benéficas não nutritivas, com sugestões ocasionais de que alguns poderiam ser chamados de nutrientes. O mesmo vale para as isoflavonas e coumestrol, os quais são compostos fenólicos com atividades estrogênicas (fitoestrogênios), sem serem carcinogênicos (HAN et al., 2002). Assim, por impedir a absorção de nutrientes de

TABELA 3 – Algas autorizadas para o consumo humano na França.

ALGAS	COR
<i>Ascophyllum nodosum</i>	ALGAS PARDAS
<i>Fucus vesiculosus</i>	
<i>Fucus serratus</i>	
<i>Himanthalia elongata</i>	
<i>Undaria pinnatifida</i>	
<i>Ulva</i> spp.	ALGAS VERDES
<i>Enteromorpha</i> spp.	
<i>Porphyra umbilicalis</i>	ALGAS VERMELHAS
<i>Palmaria palmata</i>	
<i>Gracilaria verrucosa</i>	
<i>Chondrus crispus</i>	
<i>Spirulina</i> sp.	ALGA AZUL *

Fonte: Demande d'Autorisation d'Algues en Alimentation Humaine. Bulletin du Ministère des Affaires Sociales (28/11/1990). Texte 1705(1990), p.103. Ministère des Affaires Sociales. Paris, (France). Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (Section de l'Alimentation).

* Apesar da *Spirulina* sp. está classificada nesta tabela como alga azul, Raven et al. (1996) a classifica como cianofícea.

TABELA 4 – Critérios de qualidade (minerais tóxicos e microrganismos) utilizados na avaliação de algas comestíveis na França.

CRITÉRIOS	APLICÁVEIS À
<p>MINERAIS TÓXICOS (mg/Kg de matéria seca)</p> <p>Arsênio inorgânico (Ar) ≤ 3.0</p> <p>Chumbo (Pb) ≤ 5.0</p> <p>Cádmio (Cd) ≤ 0.5</p> <p>Estrôncio (Sn) ≤ 5.0</p> <p>Mercúrio (Hg) ≤ 0.1</p> <p>Iodo (I) ≤ 5.0</p>	<p>TODAS AS ALGAS (frescas e secas)</p>
<p>BACTÉRIA (ufc/g):</p> <p>Aeróbios ≤ 100</p> <p>Coliformes fecais ≤ 10</p> <p><i>Clostridium perfringens</i> ≤ 1.0</p> <p>Anaeróbios ≤ 100</p>	<p>Somente para algas secas</p>

Fonte: Demande d'Autorisation d'Algues en Alimentation Humaine. Bulletin du Ministère des Affaires Sociales (28/11/1990). Texte 1705(1990), p.103. Ministère des Affaires Sociales. Paris, (France). Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (Section de l'Alimentation).

uma refeição, a fibra dietética ou várias frações da fibra dietética são caracterizadas como antinutrientes (BURLINGAME, 2001). Os antinutrientes comumente encontrados em alimentos apresentam efeitos adversos e benéficos à saúde. Por exemplo, o ácido fítico, lectinas, compostos fenólicos (taninos), saponinas, inibidores enzimáticos (amilase, tripsina) têm sido apontados como substâncias que reduzem a disponibilidade de nutrientes e inibem o crescimento de animais, enquanto os fitoestrógenos e ligninas têm sido relacionados aos problemas de infertilidade. Entretanto, os cinco primeiros, anteriormente citados, são substâncias bioativas na redução da glucose no sangue e na resposta da insulina ao amido dos alimentos e/ou na redução dos triglicerídeos e colesterol do plasma. Em adição, o ácido fítico, compostos fenólicos, saponinas, inibidores de proteases, fitoestrógenos e ligninas têm sido relacionados à redução de câncer. Devido os antinutrientes poder também agir como agentes atenuantes (mitigantes), eles necessitam ser reavaliados e talvez, em futuro bem próximo, não sejam considerados como antinutrientes (THOMPSON, 1993).

1.4.1. Taninos

Taninos são definidos por Bate-Smith e Swain, citados por Haslam (1989) e Chung et al. (1998), como compostos fenólicos solúveis em água, de peso molecular entre 500 e 3000 Da, apresentando propriedades especiais tais como habilidade de precipitar alcalóides, gelatina e outras proteínas.

Os taninos podem ser classificados em dois grandes grupos: taninos hidrolisáveis e taninos hidrossolúveis (condensados). Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácido fenólico e poliol, geralmente a glucose. Os taninos condensados também são conhecidos como pro-antocianidinas (PAS), os quais são mais comuns na nossa dieta, e são formados por unidades de flavina-3-ol e flavona-3,4-diols, ou a mistura dos dois (CHUNG et al., 1998). As flavonas estão distribuídas nas frutas, verduras, forragens, plantas, vinho tinto, grãos, tais como sorgo, miletos e legumes. A principal característica das pro-antocianidinas é de produzirem antocianidinas sob aquecimento em meio ácido, daí seu nome (SCALBERT, 1991; CLIFFORD e SCALBERT, 2000).

Conforme Butler et al. (1984) a aceitabilidade, gosto, *flavour* dos frutos e de seus produtos processados dependem do tipo e concentração dos compostos adstringentes. A adstringência está associada aos compostos fenólicos. A sensação de adstringência ocorre devido à coagulação das proteínas da saliva e epitélio mucoso, por combinação com a substância adstringente. Os adstringentes são divididos em duas categorias:

- a) Pseudo-adstringentes - substâncias que embora adstringentes, não precipitam proteínas;
- b) Adstringentes verdadeiros - quando precipitam proteínas. Entre elas encontram-se os taninos vegetais, que são substâncias derivadas dos compostos fenólicos. Por exemplo: catecol, antocianinas, etc. São considerados taninos "ativos" aqueles que apresentam adstringência. Os frutos verdes (mais adstringentes) contêm grande quantidade de fenólicos dímeros, ao contrário dos frutos maduros, que possuem elevada percentagem de formas poliméricas. Assim, as formas dímeras e oligoméricas são tidas como responsáveis pela adstringência, principalmente as originárias do ácido cinâmico, catequina e antocianinas. As formas altamente polimerizadas não interagem com as papilas gustativas e daí, provavelmente, a ausência de adstringência em frutos maduros. Os taninos encontram-se amplamente distribuídos nas folhas, ramos, flores, frutos e sementes de grande número de plantas. São substâncias quimicamente ativas e que em suas formas reduzidas ou oxidadas podem reagir, reversíveis ou irreversivelmente com proteínas, produzindo alterações em suas propriedades funcionais e nutricionais, principalmente sua digestibilidade e a biodisponibilidade de lisina e de outros aminoácidos essenciais.

De acordo com Butler et al. (1984) não existem evidências do efeito antinutricional de outras classes de polifenóis que não seja tanino na sua forma polimerizada. Os taninos produzem vários efeitos indesejáveis na dieta, produzem cor indesejável aos alimentos e rações, e devido à adstringência, diminuem sua palatabilidade; podem formar complexos com as proteínas da dieta, interferindo no processo de digestão dos alimentos.

Existe evidência que taninos quimicamente diferentes apresentam diferentes efeitos na maneira pela qual reduzem o crescimento do animal. Assim, Mole e Waterman (1987) referem-se aos taninos como extratos de plantas que

contêm compostos fenólicos com possuem a habilidade de precipitar proteínas em soluções aquosas. Uma capacidade diferente apresentada pelos taninos é poder suprimir a produção de proteínas salivares de animais, ricas em prolina (PRP). Na essência, aqueles animais que produzem PRPs provavelmente tenham alguma proteção contra a atividade dos taninos dietéticos no trato gastrintestinal, devido os taninos se ligar de forma específica as proteínas salivares ricas em prolina (PRPs) e assim, removê-las do processo digestivo.

Para Singleton e Kratzer (1969), os efeitos deletéricos dos taninos sobre animais de laboratório incluem danos na mucosa do trato gastrintestinal, alteração na excreção de certos cátions, aumento na excreção de proteínas e aminoácidos essenciais. Deshpande et al. (1984), também incluem neste rol, a redução na ingestão alimentar, taxa de crescimento, digestibilidade protéica, eficiência do alimento e na energia líquida metabolizada. Para vários pesquisadores (FEENY, 1976; RHOADES e CARES, 1976; BERNAYS et al., 1989; MOLE et al., 1989), os polifenóis supostamente agiriam reduzindo a digestibilidade dos nutrientes nos herbívoros, entretanto, existe recente evidência, que em relação aos insetos e mamíferos, a atividade primária antinutricional dos taninos não é via redução da digestibilidade, mas devido à inibição dos eventos metabólicos que ocorrem após a digestão e absorção dos nutrientes, isto é, efeitos sistêmicos (CHUNG et al., 1998). Os taninos também apresentam atividades benéficas aos organismos, pois atuam como inibidores na formação de radicais superóxidos (função antioxidante, anticarcinogênica e antimutagênica); possuem atividades antimicrobianas contra muitos fungos, leveduras, bactérias e vírus; apresentam efeitos fisiológicos como acelerar a coagulação sanguínea, reduzir a pressão arterial, o nível de lipídeo no soro e modular imunorespostas.

1.4.2. Lectinas

O termo lectina vem do latim "*lectus*", que significa reunir ou selecionar. Assim, as lectinas são definidas como uma classe de proteínas de origem não imune que se liga a carboidratos sem modificá-los. Originalmente, o termo lectina ficou restrito às proteínas multivalentes, solúveis, capazes de produzir aglutinação, e historicamente, ficou limitado às proteínas de origem vegetal. Entretanto, hoje, o

termo lectina prevalece sobre o termo “hemaglutininas”, sendo utilizado para denotar todos os tipos de proteínas ligantes de carboidratos, que não catalisem reações com os seus ligantes. Dessa forma, centenas de lectinas de plantas têm sido identificadas e caracterizadas. A disponibilidade dessas proteínas e suas especificidades por carboidratos complexos ajudam a lançar a glicobiologia na era moderna. A família de lectinas de plantas mais bem caracterizada é a das leguminosas, que inclui a Con A, aglutinina de soja e a lectina de lentilha (VARKI et al. 1999).

Muitas lectinas são multivalentes e capazes de aglutinar células. A presença de proteínas nas sementes de plantas, que são capazes de se ligar e aglutinar células foi identificada durante o último século. Estas proteínas foram designadas de hemaglutininas devido sua habilidade de aglutinar eritrócitos. Em 1919, o bioquímico J. B. Summer isolou a proteína concanavalina A (Con A) da *Canavalia ensiformis*, a qual é capaz de se ligar e precipitar alguns carboidratos, tais como glicogênio e amido (VARKI et al, 1999). De acordo com Fabregas et al. (1985), as aglutininas de algas marinhas vermelhas são mais susceptíveis à aglutinação com eritrócitos de coelho, do que com eritrócitos de outros animais.

A presença de lectinas de alta (3,5 -4,5 KDa) massa molecular nas algas marinhas da costa cearense, as quais apresentam atividade hemaglutinante, dependem basicamente do grau de purificação do material estudado e do período do ano no qual a alga é coletada (BENEVIDES et al., 1999). A variação na massa molecular das lectinas pode está relacionada às diferentes fases do ciclo de vida da planta (TAKAHASHI e KATAGIRI, 1987).

Quanto à sua estrutura, as lectinas de plantas são proteínas classificadas em: Merolectinas – são aquelas proteínas que possuem um único domínio de ligação de carboidratos; Hololectinas - são as lectinas que possuem sítios de ligação di - ou multivalentes para carboidratos; Quimerolectinas - são as proteínas que apresentam um ou mais domínios de ligação para carboidratos, mais um domínio catalítico adicional ou uma outra atividade biológica dependente de um domínio que não seja aquele sítio para carboidratos; Superlectinas - proteínas que possuem até dois domínios de ligação para carboidratos, mas diferentes dos das hololectinas, pois seus sítios são capazes de reconhecer estruturas que não são açúcares (VAN DAMME et al. 1998). Outra forma utilizada para classificar as lectinas de plantas é basear-se na sua mais alta afinidade por determinados monossacarídeos. Assim, a

lectina se ligará seletivamente a um desses açúcares: D-manose/ D-glucose, D-galactose/ N-acetil-D-galactosamina, N-acetil-D-glucosamina, L-fucose e ácido N-acetilneuramínico (LIS e SHARON, 1998).

Conforme Vasconcelos e Oliveira (2004), a presença de lectinas em todos os tecidos de plantas sugere que estas substâncias devem desempenhar papéis de defesa nas mesmas, contra microrganismos fitopatogênicos, insetos e animais que se alimentam de vegetais, devido estas lectinas apresentarem propriedades citotóxicas, fungitóxicas e tóxicas a insetos. Uma das características mais importantes das lectinas de plantas é a sua grande resistência à proteólise e estabilidade em uma ampla faixa de pH, até mesmo fora das plantas.

A existência de lectinas ativas em alimentos frescos ou processados pode causar efeitos deletérios que podem ser de origem tóxica e/ou antinutricional ao homem ou a animais de experimentos. Os mecanismos de ações das lectinas, em ambos, não são conhecidos, mas, no homem pode acontecer sintomas como náusea, vômito, edema e diarreia, quando do consumo oral, enquanto que, nos animais de experimentos, os quais são alimentados com dietas contendo lectinas de plantas, os sintomas são perdas de apetite, redução no peso corpóreo, hiper/hipotrofia de alguns órgãos internos de ratos, tais como, intestino delgado e grosso, pâncreas, estômago, rins e baço, e eventualmente, a morte do animal (LIENER, 1986; VASCONCELOS e OLIVEIRA, 2004). Ressalta-se que o grau com que algumas lectinas afetam o metabolismo depende da história dietética do animal, bem como da composição dessa dieta (GRANT, 1989). Para Sharon e Lis (1972) citados por ANTUNES et al. (1995), as lectinas apresentam propriedades físico-químicas e biológicas, as quais contribuem para a redução no crescimento de animais jovens, influenciando a digestibilidade e a utilização metabólica dos nutrientes. Apesar de, atualmente, os mecanismos de ação referentes as lectinas não terem sido totalmente elucidados, já em 1968, Jaffé citado por Antunes et al. (1995) sugeriu que a ação das lectinas devia ser em decorrência da sua combinação com as células da parede intestinal de animais e, assim, interferir com a absorção dos nutrientes. As lectinas de sementes são resistentes à proteólise pelas enzimas intestinais, elas são nocivas aos ratos alimentados por via oral. Sua atividade impede o crescimento do animal e promove alterações em seus órgãos internos, tais como a hipertrofia do intestino delgado (RIOS, 1995; RIOS et al., 1996).

Através de experimentos *in vitro* pode-se avaliar a toxicidade oral das lectinas fazendo uso da capacidade que esta proteína tem de se ligar seletivamente a diferentes tipos de células sangüíneas. Assim, as lectinas que aglutinam grandes quantidades diferentes de células vermelhas do sangue, geralmente apresentam alta toxicidade oral para ratos, enquanto que, aquelas que aglutinam somente células de sangue de coelho e/ou eritrócitos de ratos previamente tratados enzimaticamente, não apresentariam essa característica de toxicidade (GRANT et al., 1983 e 1985, citados por VASCONCELOS e OLIVEIRA, 2004). Ainouz et al. (1992) detectaram aglutinação de eritrócitos humanos do sistema ABO tratados com enzimas quando trabalharam com 27 espécies de algas da costa cearense.

1.4.3. Ácido Fítico

O ácido mio-inositol 1,2,3,4,5,6 – hexafosfato (IP₆) é conhecido como ácido fítico ou fitato, sendo uma forma de estocagem de fósforo em sementes, perfazendo, aproximadamente 70% do total de fósforo em sementes (LOTT, 1984). De acordo com Raboy (1990), o ácido fítico é depositado como fitato juntamente com minerais cátions tais como magnésio, cálcio, ferro, zinco e potássio, durante o desenvolvimento da semente. Quando esta atinge o estágio de germinação, a decomposição do fitato fornece fósforo, mio-inositol (MI) e minerais cátions para o crescimento da semente.

O ácido fítico é encontrado em altas concentrações nas sementes de grãos, legumes e produtos oleaginosos, em menor quantidade nos tubérculos e frutas. Nos cereais, cerca de 1 a 2% do seu peso é constituído de ácido fítico. Como este ácido interfere com as funções essenciais de alguns nutrientes, o mesmo é considerado um antinutriente, porque complexa mineral e/ou proteína, através de mecanismos ainda desconhecidos (NELSON et al., 1968). Assim, os fitatos além de reduzirem a biodisponibilidade dos minerais também inibem enzimas proteolíticas e amilolíticas (DOMÍNGUEZ et al., 2002). Entretanto, é possível que este ácido possa formar complexos com um cátion na mesma ou em diferentes moléculas dentro de um grupo fosfato ou entre dois grupos fosfatos diferentes. Os grupos ácidos presentes nesta molécula facilitam a formação de muitos sais; aqueles provenientes de metais alcalinos são solúveis em água, enquanto que os sais de metais

divalentes são geralmente insolúveis (HONKE et al., 1998; FEBLES et al., 2002). Em contraste, o ácido fítico apresenta alguns efeitos benéficos, pois é capaz de inibir a peroxidação de lipídios (GRAFT et al., 1987), reduzir o índice glicêmico dos alimentos (MARTINEZ et al., 1996), suprimir o câncer de colo em animais de experimentos (SHAMSUDDIN et al., 1988); agir como antioxidante natural utilizado como aditivo de alimentos (UCHIDA et al., 2001; YONEKURA et al., 2003), e também na prevenção de doenças coronárias. (HARLAND e MORRIS, 1995; MBITHI-MWIKYA et al., 2000; RABOY, 1984).

Este ácido não é nutricionalmente disponível para animais monogástricos (NELSON et al., 1968). Na forma de fitato, o ácido fítico não pode ser absorvido pelos humanos, os quais apresentam limitada habilidade para hidrolisar essa molécula. Além do seu efeito adverso em interferir na biodisponibilidade dos minerais, o fósforo do fitato não está nutricionalmente disponível (PAWAR e INGLE, 1988). O efeito quelante do ácido fítico sobre os minerais, o qual pode impedir sua absorção, é proporcional a sua concentração na dieta (ELLIS et al., 1987; SAHA et al., 1994). Este ácido pode formar complexo com o cálcio, zinco e ferro, e assim, contribuir para um problema de saúde pública referente à deficiência de ferro e zinco em populações que se alimentam principalmente de grãos e legumes, sendo as crianças e mulheres grávidas as mais susceptíveis a este risco.

Para TORRE et al. (1991) e EKHOLM et al. (2003), o ácido fítico é considerado um dos componentes mais importantes da fibra dietética, o qual contribui para a redução das disponibilidades dos minerais em alimentos. Nos cereais este efeito negativo também é atribuído ao ácido fítico (IDOURAINE et al., 1996). Esta capacidade ligante do ácido depende do pH da solução e do número de grupos fosfatos na sua molécula. Tem sido reportado que em pH 7,4, a ordem crescente de complexação do ácido fítico com diferentes metais é $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Ca}^{2+}$ (REDDY et al., 1982). O efeito quelante se dá na faixa de 5 e 7, similar ao do duodeno. Acredita-se que essa interação ocorra in vivo no intestino delgado (PERSSON et al., 1991; PERSSON et al., 1998). O cálcio e o magnésio apresentam uma pequena afinidade pelo ácido fítico (EKHOLM et al., 2003). Como as algas possuem magnésio, cálcio e ainda apresenta ácido fítico em sua constituição, o efeito quelante desse ácido é passivo de ocorrer.

1.4.4. Inibidores de Tripsina e da α -Amilase

Alguns alimentos contêm antinutrientes que limitam a sua utilização. O mais importante e extensivamente investigado dos antinutrientes protéicos são os inibidores de proteases (PUSZTAI et al., 1991), os quais inibem as enzimas proteolíticas, e assim, reduzem a digestão protéica dos alimentos induzindo uma diminuição no ganho de peso e crescimento de animais (LIENER, 1994).

Os inibidores de tripsina e de α -amilase são moléculas protéicas encontradas em tecidos vegetais, as quais são capazes de formarem complexos enzima-inibidor, inativando as proteases. Estes inibidores também são considerados substâncias antinutricionais, apresentam especificidade de inibir as enzimas proteolíticas e, conseqüentemente, reduzem a digestão protéica de alimentos, proporcionando uma redução no ganho de peso e crescimento de animais em experimentos biológicos/ nutricionais (PUSZTAI et al., 1991; LIENER, 1994a).

As plantas, microrganismos e animais possuem proteínas que podem formar complexos proteína-proteína (enzimas proteolíticas), de forma reversível ou não, promovendo assim, a inibição da atividade dessas proteases através de competição pelo seu sítio catalítico. Estes inibidores de proteases apresentam, na maioria, peso molecular entre 10 a 90 KDa. Os inibidores de proteases são considerados como mais um mecanismo de defesa dos vegetais contra microrganismos fitopatogênicos e insetos herbívoros. Neste contexto, sugere-se que os mesmos atuem na defesa das plantas, principalmente, por retardar a proteólise de paredes celulares e de proteínas da membrana, reduzindo a desorganização celular e dificultando a atuação de patógenos (RICHARDSON, 1991). São denominados de acordo com a protease inibida e/ou sua fonte como, por exemplo, o inibidor de tripsina de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] (KUNITZ, 1947).

Os quatro grandes grupos de inibidores de proteases mais conhecidos e estudados, os quais pertencem às enzimas proteolíticas, são aqueles que afetam a atividade de serino-proteases, cisteíno-proteases, proteases aspárticas e metaloproteases. Os inibidores de tripsina, uma serino-protease, são os mais pesquisados, sendo as famílias *Solanaceae*, *Leguminosae* e *Gramineae* as mais investigadas quanto à sua atividade, por serem importantes fontes de alimentos,

(LASKOWSKI e KATO, 1980; TREMACOLDI e PASCHOLATI, 2004). A maioria desses inibidores é resistente à desnaturação através do calor, extremos de pH e à ação de algumas enzimas proteolíticas (HARTL et al., 1986). Para Mubarak (2004), processos como o remolho, germinação, branqueamento, tratamento térmico (calor úmido ou seco), cocção por microondas são métodos utilizados para reduzir ou mesmo destruir os fatores antinutricionais, principalmente os inibidores de proteases, e assim, melhorar a digestibilidade das proteínas dos alimentos. Para Oboh et al. (IN PRESS), o tratamento térmico por calor úmido é o mais eficiente na redução e/ou eliminação de antinutrientes, porque os mesmos podem ser solubilizados no líquido de cocção e/ou serem destruídos pela ação do calor. A literatura referente aos inibidores de proteases em algas é bastante escassa, reportando-se a presença de inibidores de tripsina.

Os inibidores de α -amilase ocorrem em duas isoformas, a α -AL1 e a α -AL2, que apresentam diferentes especificidades em relação às amilases. (SILVA et al., 2004). Estes inibidores ocorrem naturalmente em muitas plantas comestíveis, são particularmente abundantes em cereais e leguminosas (FRANCO et al., 2002). A α -amilase de *Zabrotes subfasciatus* é inibida por α -AI2, mas não por α -AI1 (MORENO e CHRISPEELS, 1989), enquanto a α -amilase pancreática de porco (PPA) é inibida por α -AL1, mas não por α -AL2.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho apresentou os seguintes objetivos:

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- ◆ Verificar o potencial nutricional das algas marinhas arribadas subsidiando a pesquisa quanto à sua aplicação na alimentação humana e/ou animal.

2.2. Objetivos Específicos

- ◆ Identificar as espécies das algas marinhas arribadas coletadas ao longo de um período de um ano;
- ◆ Verificar a sazonalidade das algas em relação à ocorrência de cada espécie e a sua composição química;
- ◆ Avaliar a presença de fatores tóxicos e/ou antinutricionais no *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas;
- ◆ Realizar a avaliação nutricional em ratos e com dietas contendo uma mistura de farinhas de algas e clara de ovo liofilizada como fonte de proteína.

3. MATERIAIS

E

MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

3.1.1. Algas Marinhas

As algas marinhas arribadas foram coletadas mensalmente em marés baixas (-0,2 a 0,1) na praia de Fleixeiras, Município de Trairi, Estado do Ceará (pontos de coordenadas S 03° 13. 073' e W 039° 16. 046'; S 03° 13.1361 e W 039° 16. 165'). As amostras foram postas em recipientes isotérmicos e levadas ao laboratório de algas marinhas do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, onde foram higienizadas. As epífitas e algas foram separadas, as primeiras descartadas e as algas lavadas sucessivamente com água corrente, classificadas, colocadas sobre papel de filtro para secarem a sombra e posteriormente foram moídas para a obtenção das farinhas de algas arribadas.

3.1.2. Animais

No experimento de alimentação animal foi utilizado ratos da linhagem "Wistar", enquanto que nos testes de toxicidade (DL₅₀) foram empregados camundongos da linhagem "Swiss". Todos os animais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. E apesar da pesquisa não ter sido submetida à Comissão de Ética, a mesma foi realizada dentro dos processos protocolares utilizados pela Universidade Federal do Ceará.

3.1.3. Reagentes

As enzimas tripsina, subtilisina, bromelaína, papaína, α -amilase, bem como o kit enzimático para a determinação de fibra dietética foram adquiridos do laboratório Sigma Chemical Company Sant Louis, Estados Unidos da América (USA).

Os sangues de humanos do sistema ABO utilizado na determinação da atividade hemaglutinante foi cedido pelo Centro de Hematoterapia e Hematologia do Ceará (HEMOCE).

Os reagentes utilizados na análise da composição de aminoácidos do *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas foram obtidos da Pharmacia, Uppsala, Suécia.

Os ingredientes usados na confecção das dietas do experimento nutricional, tais como amido de milho, óleo de milho, glucose, foram adquiridos no comércio varejista de Fortaleza, enquanto a clara de ovo liofilizada (Sigma Chemical Co., St Louis, USA.), celulose, complexos vitamínicos e minerais foram cedidos pelo Laboratório de Fisiologia e Nutrição Animal, do centro de Ciências, do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará.

Os demais reagentes utilizados nas diversas análises, todos de grau analítico foram obtidos comercialmente, de representantes dos diversos laboratórios de produtos químicos em Fortaleza.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Obtenção das Farinhas de Algas Arribadas

As algas marinhas arribadas secas foram trituradas em Moinho Tipo MR 340 da Metalúrgica ROMA, obtendo-se assim uma farinha fina do *pool* de algas referente a cada mês de coleta. Na expectativa de um estudo da variação sazonal das espécies arribadas, presentes em um mesmo local na praia de Fleixeiras, foram feitas coletas no período de janeiro a dezembro de 2002, que permitiram a elaboração de 12 lotes de farinhas que foram convenientemente utilizadas nas diversas etapas do presente trabalho. O *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas (PFA), o qual foi usado nos vários experimentos químicos, e biológico foi obtido utilizando-se proporções iguais das farinhas referentes a cada mês de coleta.

3.2.2. Preparação do Extrato Total das Farinhas de Algas Arribadas

Para a determinação do melhor meio de extração foram utilizados os seguintes meios: água ultrapura (Milli-Q); solução salina 0,15M; tampão fosfato de sódio contendo NaCl 0,15M a pH 7,0 e tampão fosfato de sódio pH 7,6; tampão Tris-HCl com NaCl 0,025M, pH 7,5 e Tris-HCl 0,025M pH 7,5; tampão acetato de sódio 0,025M com NaCl 0,15M, pH 5,0 e tampão acetato de sódio 0,025M, pH 5,0; tampão borato 0,025M com NaCl 0,15M, pH 10,0 e tampão borato de sódio 0,025M, pH 10,0. A proporção empregada de farinha e substância extratora foi 1:20, (p/v) e o tempo de extração foi de 12 horas (*overnight*). Imediatamente após este período as amostras foram filtradas em tecido fino, centrifugadas a 8000 x g (centrífuga IECN-22M) por 30 minutos, e os extratos coletados. Alíquotas de cada extrato foram empregadas para dosagens de proteínas, carboidratos e atividade hemaglutinante, dentre outros testes. Este protocolo experimental está apresentado na Figura 1.

3.2.3. Determinação de Proteína no Extrato Total

As dosagens de proteínas solúveis foram realizadas conforme o método de Bradford (1976). Utilizou-se um espectrofotômetro Micronal B 343 II a 750 nm para realizar as leituras de absorbância. A concentração de proteína foi estimada em relação a uma curva (padrão) obtida com albumina sérica bovina (BSA).

3.2.4. Determinação de Carboidratos no Extrato Total

O método DUBOIS *et al.* (1956) foi utilizado na dosagem de carboidratos no extrato total do *pool* das farinhas de algas arribadas. A leitura foi realizada à 490nm em espectrofotômetro Micronal modelo B 343 II. A concentração de carboidratos foi estimada em relação a uma curva (padrão) obtida com glucose.

3.3. Análise Química Elementar

3.3.1. Umidade

Aproximadamente 4 g de cada amostra fresca, referente a cada lote, foram pesadas (balança analítica TECNAL GEHARA, modelo BG400 II, min =0,020 g; d =0,001 g; e = 0,01 g) em pesa-filtros previamente tarados. As amostras foram secadas em estufa à temperatura estabilizada de 105 °C (Estufa de esterilização e secagem 1.6 ODONTOBRAS; temperatura de 0 - 300 °C) durante 12 horas, levadas ao dessecador e após o equilíbrio térmico foram pesados. Em seguida os pesa-filtros retornaram à estufa por mais 12 horas, sendo esta etapa repetida até o aparecimento de pesos constantes. O teor de umidade foi obtido pela diferença entre os pesos inicial e final das amostras, sendo expresso em percentagem. O protocolo empregado seguiu a metodologia da A. O. A. C (1990).

3.3.2. Cinzas

Cadinhos de porcelana, previamente tarados, contendo 4g da amostra seca, referente a cada lote, foram colocados em forno mufla (Modelo EDGCON 1P; capacidade 3000/ 7000 EDG) a 550 °C durante 4 horas, quando se deu a completa mineralização e carbonização do material. Em seguida, os cadinhos foram mantidos em dessecador até alcançar a temperatura ambiente, quando foram pesados. O teor de cinzas foi obtido através da diferença entre os pesos inicial e final e expresso em percentagem (A. O. A. C.,1990).

3.3.3. Proteína Bruta

Os teores de proteína em cada lote foram determinados conforme o método de Kjeldhal, citado pela A.O.A.C. (1990). Amostras de 2 g de farinha seca foram pesadas e colocadas em balões de Kjeldhal contendo 30 ml de H₂SO₄, 0,5 g

do catalisador sulfato de cobre e 9,5 g de sulfato de sódio. Em seguida, os balões foram levados ao digestor por 30 minutos (Modelo TE 40/25 – TECNAL 007^A) para completa mineralização das amostras. Após o resfriamento foram adicionados à cada amostra 200 ml de água destilada, aproximadamente 1,0 grama de zinco em pó e 100 ml de NaOH 40% e a mistura levada à destilação até cerca de 2/3 do volume inicial. Como solução receptora foi utilizado 50 ml de ácido sulfúrico 0,1N e como indicador o vermelho de metila. Após a destilação, (Aparelho de titulação de nitrogênio TE 036/1 – TECNAL) excesso de ácido sulfúrico foi titulado com solução de NaOH 0,1N.

O percentual de proteína foi estimado através da fórmula:

$$\text{Proteína} = \frac{V \times 0,14 \times 6,25}{P}$$

Onde: V = diferença entre volume de ácido sulfúrico 0,1 N adicionado e o volume da solução de NaOH 0,1 N gasto na titulação;

P = gramas da amostra.

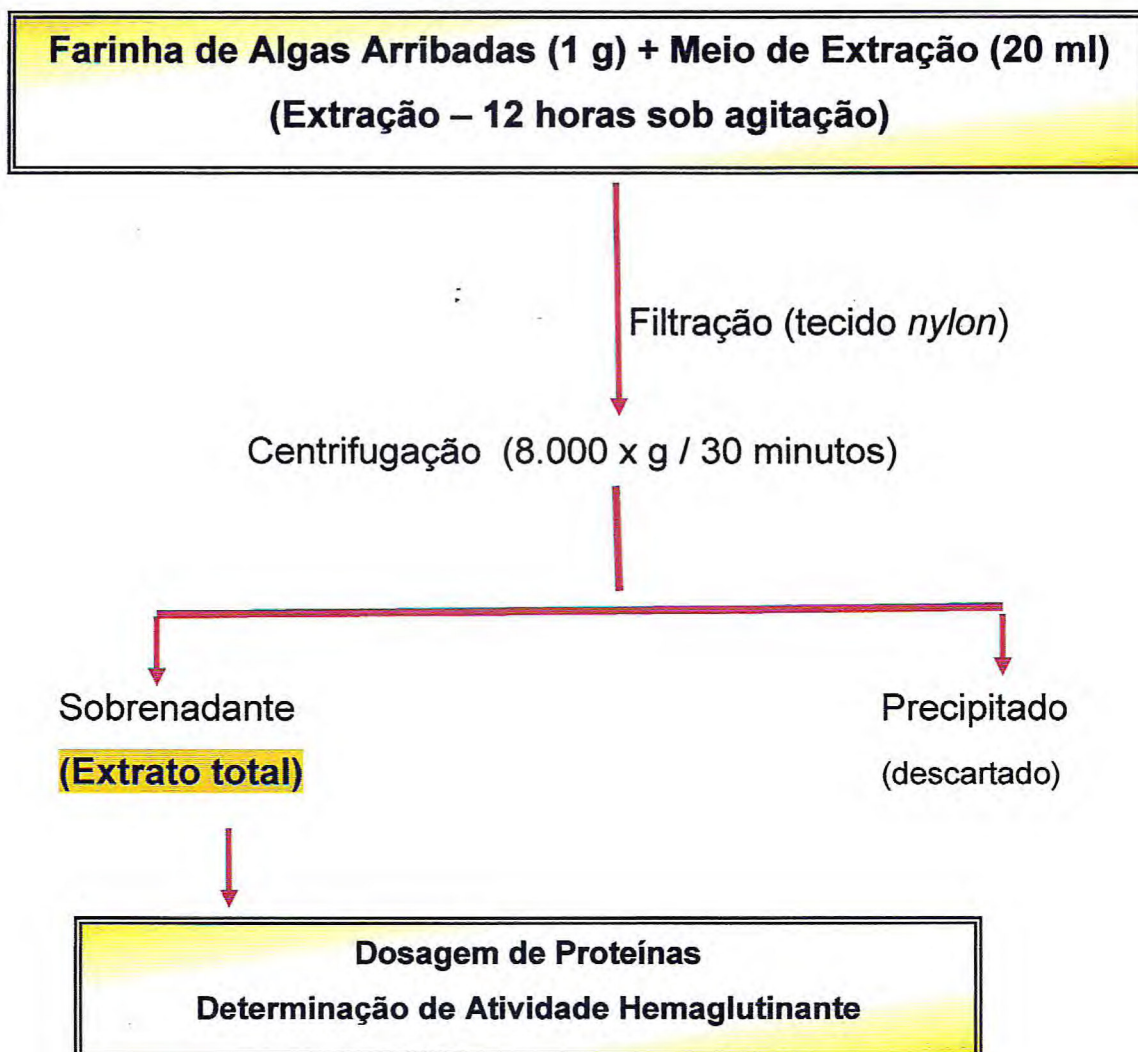


FIGURA 1 – Fluxograma do esquema de obtenção do extrato total de algas marinhas arribadas

3.3.4. Lipídios

Na determinação dos teores de lipídios das amostras foi empregado o Método descrito pela A.O.A.C (1990). As amostras secas provenientes da determinação de umidade foram pesadas, transferidas para cartuchos de filtração, os quais foram colocados no aparelho extrator (Aparelho de Soxlet, marca FANEM, modelo 308.26; 220v; 60 Hertz; 1800 Watts), em presença de 100ml de hexana por 8 horas. Ao final da extração, o solvente foi parcialmente evaporado em banho-maria a 70 °C e os frascos transferidos para secar em estufa a 100 °C, e logo após pesados. O teor de lipídeo das amostras foi calculado através da relação entre o peso dos lipídios extraídos e o peso inicial da amostra e expresso em percentagem.

3.3.5. Carboidratos Totais

Os carboidratos totais foram obtidos por diferença segundo o método de PEARSON (1976) empregando-se a seguinte equação:

$$\% \text{ Carboidratos} = (100\% \text{ da matéria seca}) - [(\% \text{ Gordura}) + (\% \text{ Cinzas}) + (\% \text{ Proteínas})]$$

3.3.6. Fibra Bruta

As dosagens de fibra bruta foram realizadas segundo o método de Henneberg citado por Winton & Winton (1958). Alíquotas das amostras desengorduradas foram pesadas (1,0 grama), e as mesmas foram adicionados ácido sulfúrico (1,25%) previamente aquecido. Em seguida as amostras foram levadas à fervura em refluxo por 30 minutos, e filtradas em papel de filtro quantitativo, previamente aquecido em estufa a 105 °C por uma hora e pesado. Logo depois, o papel com os resíduos foram lavados com água quente até não haver reação básica com o papel indicador de pH. Posteriormente, os resíduos foram lavados três vezes

com álcool etílico e duas vezes com éter etílico. O solvente foi evaporado e em seguida os papéis com os resíduos foram colocados na estufa a 105 °C até secar , com obtenção de pesos constantes. Para cadinhos de porcelana previamente tarados foram transferidos os papéis com os resíduos, queimados em bico de Bunsen, e em seguida incinerados em forno mufla a 550 °C.

Cálculo da Fibra Bruta $\rightarrow F = [(P + F + C) - P] - C$

$$\%F = \frac{F \times 100}{PA}$$

Onde: P = peso do papel;

F= fibra,

C= cinza

PA = peso da amostra.

3.4. Outras Determinações

3.4.1. Minerais

As determinações de minerais (micro elementos e metais pesados) foram realizadas através de Espectrometria de Emissão Atômica (ICP-OES). Para o preparo de cada teste 200 mg de farinha algas arribadas foram tratadas com 3 ml de HNO₃ concentrado (Merck) juntamente com 2ml de H₂O₂ 30% v/ v (Merck). Esta mistura foi submetida ao aquecimento em um forno de microondas (Multiwave, Anton Par) sob pressão, com programa de aquecimento realizado em 20 minutos e resfriamento de 15 min. Após a decomposição, a suspensão foi diluída para 30 ml com água deionizada (Milli-Q). Uma curva de calibração foi preparada para a quantificação dos teores de metais. As soluções-padrão, encerrando 1000 mg.L⁻¹, de cada um dos metais avaliados (Al, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Mg, Mn, Ni, V e Zn) foram preparadas em ácido nítrico 0,14M e a partir delas, foram preparadas soluções multi-elementos diluídas nas concentrações de 1,0; 5,0; 10 e 12 mg.L⁻¹. Utilizou-se um espectrômetro modelo Optima 4300, Perkin Elmer, cujos parâmetros instrumentais

empregados nas análises foram: Potência da fonte de radio frequência –1350 W; Fluxo do nebulizador – 0,8 L min⁻¹; Fluxo do gás auxiliar – 15 L min⁻¹; Fluxo do gás do plasma – 1,8 L min⁻¹, Fluxo do gás da amostra – 0,8 L min⁻¹, Posição do detector – Axial , Número de replicata – 3, e Módulo de integração de sinal – Área. A determinação do teor de metais foi realizada empregando dois comprimentos de ondas para cada elemento (exceto para o Ca e Mg), com o intuito de prevenir qualquer interferência na quantificação. Para efeito de quantificação apenas o comprimento de onda de maior intensidade espectral foi utilizado.

3.4.2. Fibra Dietética

Para a determinação da fibra dietética total foi utilizado o método enzimático-gravimétrico de Lahaye (1991), o qual fez adaptações para os polissacarídeos presentes em algas (Figura 2). As enzimas termamyl, protease e amiloglucosidase são do Kit TDF-100 do Sigma, EEUU.

3.4.3. Separação dos Componentes da Fibra

O procedimento para a separação dos componentes da fibra segundo o método de Van Soest (1965 e 1967) é o mesmo utilizado na determinação de fibra detergente neutra (FDN) e fibra detergente ácida (FDN), apenas com algumas modificações. Após a determinação da fibra detergente neutra, o cadinho filtrante com o resíduo foi colocado no interior do béquer e refluxado em 100 ml de solução detergente ácido, em seguida foi colocada a mesma em quantidade suficiente para cobrir o cadinho filtrante. No final do refluxo, o resíduo foi transferido para um béquer, o qual foi submetido a secagem por sucção a vácuo (Figura 3).

O método de VAN SOEST (1965) é baseado na separação das diferentes frações de fibra constituintes dos vegetais, o qual utiliza reagentes específicos, denominados detergentes. Assim, por meio do detergente neutro é possível separar o conteúdo celular solúvel no reagente detergente neutro (proteínas, gorduras, carboidratos solúveis, pectina e outros constituintes solúveis em água); os constituintes da parede celular, formados por compostos insolúveis em detergente

neutro (celulose, hemicelulose, lignina e proteína lignificada), e finalmente, por intermédio de reagentes (H_2SO_4 72% ou pelo uso de KMnO_4), a lignina é solubilizada. A quantidade de celulose é conhecida por diferença de pesagens, antes e depois de se levar os cadinhos a mufla. FDN e FDA são obtidos por pesagem direta do resíduo proveniente da ação do detergente neutro e ácido sobre a amostra, respectivamente. Os vários outros constituintes foram calculados conforme fórmulas a seguir.

$$\text{Hemicelulose} = \text{FDN} - \text{FDA};$$

$$\text{Celulose} = \text{FDA} - \text{Lignina} - \text{Sílica}$$

$$\text{Lignina} = \text{FDA} - \text{Celulose} - \text{Sílica};$$

$$\text{Fibra Dietética Solúvel} = 100 - \text{FDN}$$

1,0 g da amostra em tampão fosfato 0,08M, pH 6,0 contendo 0,1 ml termamyl

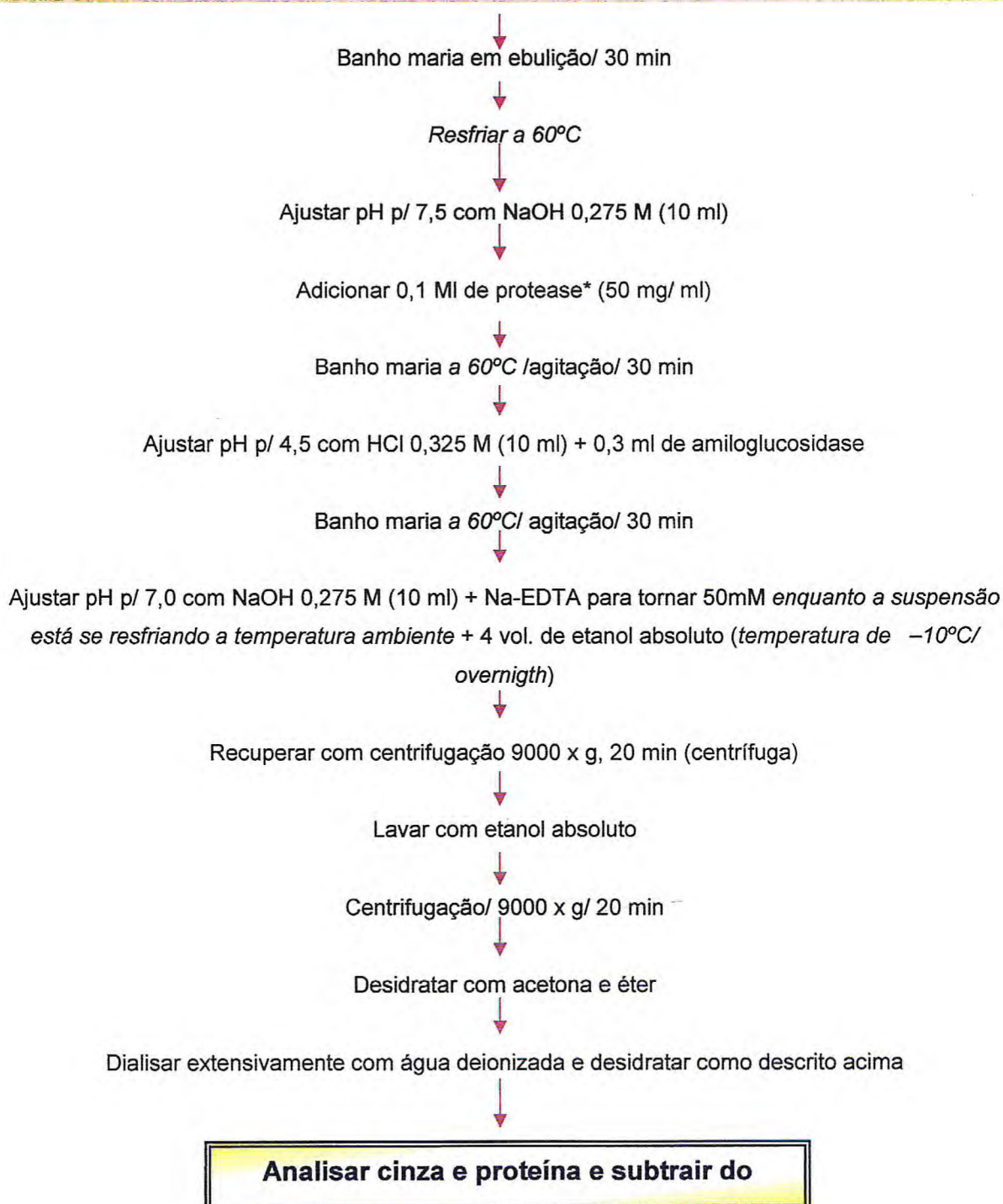


FIGURA 2 – Procedimento para determinação de fibra dietética total de algas marinhas (as modificações trazidas pelo método de Prosky et al. (1984) estão em itálico).

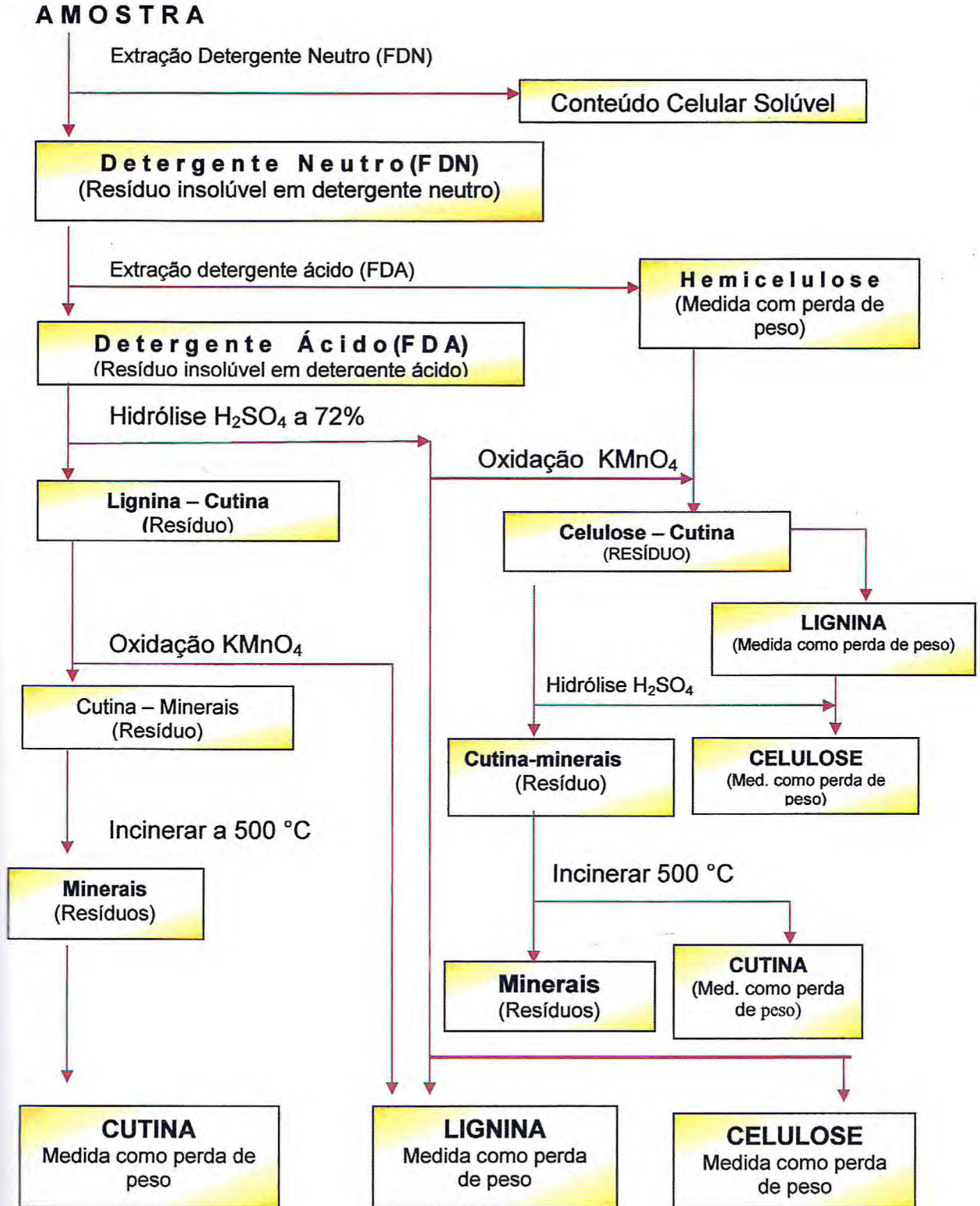


FIGURA 3 – Fluxograma da separação dos componentes da fibra dietética total (Fonte: SILVA & QUEIROZ, 2002).

3.4.4. Composição de Aminoácidos

A análise de aminoácidos foi realizada nos lotes das farinhas algas arribadas seguindo o método descrito por Bidlingmeyer *et al.* (1984). Para a hidrólise ácida foram colocados 2 mg da farinha do *pool* de algas arribadas em “tubos de reação” (Corning Glass Works 6x50 mm), aos quais foram adicionados 200 μ l de HCl 6N contendo fenol a 0,1% (p/ v), sob atmosfera de nitrogênio, a 110 °C (em estufa), por 24 horas. Em seguida os tubos foram retirados da estufa e submetidos à secagem sob pressão reduzida, a fim de retirar o excesso de HCl. A estes materiais secos foram adicionados 10 μ l de uma solução contendo metanol, água e trietanolamina (2: 2: 1) e os frascos com os mesmos foram agitados vigorosamente e novamente secos sob pressão reduzida. Logo depois foi realizada a derivatização, por adição de 20 μ l de uma solução contendo metanol, água, trietanolamina e fenilisotiocianato (PITC) na proporção de 7:1:1:1 (v: v: v: v). Em seguida fez-se uma agitação vigorosa nos frascos com seus conteúdos que foram deixados em repouso à temperatura ambiente por 20 minutos e submetidos à secagem sob pressão. Os parâmetros de análise foram determinados em coluna de PICO-TAG para aminoácidos (HPLC), à temperatura de 38 °C a 240 nm.

Na determinação do aminoácido triptofano da farinha de algas foi utilizado o método de Pintér-Szakács & Molnár-Perl (1990). A uma amostra de 12,5 mg do *pool* de farinhas foi adicionado 2,5 ml do reagente Rn (solução contendo ninhidrina 1% em HCl a 37% e ácido fórmico a 96%, na proporção de 2/3), por duas horas, a 35 °C. Foram feitas provas em branco para cada amostra com o reagente Ro (isento de ninhidrina). Em seguida, a cada amostra foram adicionadas 2,5 ml de etanol absoluto, depois filtradas em lã de vidro, das quais foram retiradas alíquotas de 0,5 ml. A estas alíquotas foram adicionadas 2,0 ml de um reagente Ro / E (solução de Ro mais etanol absoluto na proporção de ¼) e em seguida foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 380 nm. O conteúdo de triptofano das amostras foi determinado tendo como base uma curva (padrão) feita com triptofano tratado nas mesmas condições antes citadas.

O conteúdo de triptofano foi determinado conforme a metodologia de Goodwin & Morton (1946), modificada por Beaven & Holiday (1952) e descrita por Moreira & Perrone (1977). Amostras de 1 g das amostras foram dissolvidas em 1 ml

de NaOH 0,1 N e as absorbâncias lidas a 280 nm e 294 nm. O conteúdo de triptofano em mol /L (M) foi determinado através da equação a seguir:

$$\frac{M_{\text{Tyr}}}{M_{\text{Trp}}} = \frac{(0,592 \times A_{294} - 0,263 \times A_{280})}{(0,263 \times A_{280} - 0,170 \times A_{294})}$$

3.5. Determinação de Fatores Antinutricionais

3.5.1. Taninos

Os teores de taninos nas farinhas de algas secas foram determinados através do método colorimétrico de Follin-Denis descrito pela A.O.A.C. (1990). Uma alíquota de 5,5 g da amostra foi pesada e homogeneizada em 200 ml de água destilada, aquecida a 60 °C por 15 minutos e esfriada em água corrente. Após este procedimento inicial, esta solução foi homogeneizada, centrifugada, filtrada e 10 ml desta solução foi transferida para um balão de 100 ml tendo sido adicionados 50 ml de água destilada, 5 ml da solução de Follin-Denis, 10 ml da solução de carbonato de sódio saturada, sendo o volume completado para 100 ml com água destilada. Após a filtração, foi deixada em repouso por 30 minutos, e foi empregado para a medida de absorbância à 760 nm. O teor de taninos foi calculado tomando como referência uma curva (padrão) para taninos.

3.5.2. Atividade Hemaglutinante da Lectina

Os testes de atividade hemaglutinante foram realizados conforme método descrito por Moreira e Perrone (1977), ligeiramente modificado por Vasconcelos *et al.* (1991). A atividade hemaglutinante nos extratos das algas arribadas foi determinada através de diluições seriadas (1/2, 1/4, 1/8,...) das amostras em tubos de ensaio contendo salina 0,15M. A cada diluição foi adicionado um igual volume de

suspensão de eritrócitos a 2% (sistema ABO, coelho e de galinha), no estado nativo ou tratada com enzimas proteolíticas (tripsina, bromelaína, subtilisina, papaína e pronase, 0,1mg/10ml) e a reação foi mantida a 37°C por 30 minutos, seguida de repouso por mais 30 minutos a temperatura ambiente (25 °C). O material foi então submetido à centrifugação a 2.000 x g, por 30 segundos, e a atividade observada macroscopicamente e expressa em Unidades de Hemaglutinação por ml (UH/ml).

3.5.3. Inibidores de Tripsina

a) Extração de Inibidores de Tripsina

Uma amostra de 10g do *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas juntamente com 100 ml de água destilada foram agitadas por um hora à temperatura ambiente (Figura 03), em seguida, esta suspensão foi filtrada em tecido fino, e o filtrado foi centrifugado à 8000 x g, por 30 minutos à 4 °C. O precipitado foi descartado e, ao sobrenadante foi adicionado ácido tricloroacético a 2,5%. Esta solução foi deixada em repouso por 30 minutos, em seguida, a mesma foi homogeneizada e centrifugada (8000 x g/ 30 min/ 4 °C). O precipitado foi descartado e o sobrenadante, extrato total, foi utilizado para a determinação de inibidores de tripsina (FIGURA 4).

b) Determinação do Inibidor de Tripsina

Para a determinação do inibidor de tripsina foi utilizada a técnica originalmente descrita por Kakade com algumas modificações (HAMERSTRAND *et al.*, 1981). O *pool* das farinhas de algas marinhas arribadas foi suspenso em 1 ml de NaOH 0,01 N, deixado sob agitação constante por 3 horas à temperatura ambiente e, em seguida, em repouso por 30 minutos. Após esse tempo, foram retiradas alíquotas de 0,5 ml dos sobrenadantes, as quais foram misturadas com 0,5 ml de NaOH 0,01 N. As soluções resultantes foram centrifugadas a 14.000 x g, por 5 minutos. Em seguida, alíquotas de 0,1 ml dessas soluções foram retiradas e incubadas a 37 °C em um meio de reação que consistia de 1,6 ml de Tris-HCl 50

mM, pH 8,2, contendo CaCl_2 20 mM, 0,1 ml de tripsina (solução estoque de 0,4 mg em 10 ml de HCl 0,001 N) e o substrato BAPNA. A reação foi interrompida com 0,2 ml de ácido acético 30% (v/v) e a leitura feita a 410 nm (FIGURA 4). Os resultados foram calculados considerando a curva obtida com SBTi (padrão) e expressos como o percentual de atividade do inibidor de protease sobre a tripsina.

Para dissolução de 10 mg do BAPNA foram usados 0,5 ml de dimetilsulfóxido, por sua vez, foi agitado em *vortex* até a completa dissolução do substrato. Em seguida, o volume foi completado para 1 ml com água milli-Q, sendo esta solução novamente agitada e usada imediatamente.

3.5.4. Inibidores de α -Amilase

a) Extração de Inibidores de α -Amilase

Uma amostra delipidada de 5 g do *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas, *in natura* ou torradas, foram adicionados a 10 ml de acetato de sódio 0,05M, pH 7,0 e esta mistura ficou sob agitação *overnight* / 20 °C. Em seguida, o extrato foi filtrado em tecido de *nylon* e levado à centrifugação a 8000 x g/ 30 min/ 4°C. Terminada a centrifugação, separou-se o sobrenadante do precipitado, e ambos foram levados para análise de inibidores de α -amilase. O precipitado foi anteriormente ressuspendido no mesmo tampão de extração, numa quantidade mínima (Figura 5).

b) Determinação de inibidores de α -Amilase

A atividade de inibidores de α -amilase foi determinada pelo método de BERNFELD (1964). A enzima utilizada foi a α -amilase da saliva humana. A α -amilase (0,5 ml) e o inibidor (10 ml do extrato da amostra) foram colocados em tubos de ensaio grandes, incubados a uma temperatura de 30 °C por 25 minutos em banho-maria. Em seguida adicionou-se 0,5 ml de amido a 1% (substrato). Após 10 minutos, foi adicionado 2,0 ml de uma solução de ácido dinitrosalicílico (DNS), seguida de agitação em *vortex*. A solução do ácido dinitrosalicílico (DNS) foi

preparada com 1,0 g deste ácido em 20 ml em NaOH 2N; 50 ml de água destilada e 30 g de tartarato de potássio sob agitação; completou-se com água destilada em um balão volumétrico de 100 ml. Os tubos de ensaio foram aquecidos por 10 minutos em água fervente, resfriados à temperatura ambiente e adicionados 10 ml de água destilada. A concentração dos produtos de hidrólise do substrato foi determinada com a solução à temperatura ambiente, a 530 nm. A inibição foi determinada em relação ao controle

3.5.5. Ácido Fítico

A determinação de ácido fítico foi realizada segundo o método proposto por García-Villanova et al. (1982). Em um frasco de 100 ml foram colocados 2 g de amostra seca, 40 ml da solução de HCl-Na₂SO₄ e deixados sob agitação durante 90 minutos. Centrifugou-se a 8000 x g/ 30 min. Em um *erlenmeyer* de 250 ml foi colocado 20 ml do sobrenadante, 20 ml das soluções de HCl-Na₂SO₄, de ferro (III) e 20 ml de ácido sulfosalicílico a 20%. O frasco foi tampado com uma rolha de borracha, a qual continha no seu centro, um tubo de vidro de cerca de 30 cm de comprimento, e depois foi colocado em banho maria a 100 °C por 15 minutos. Em seguida resfriou-se o frasco com seu conteúdo em água corrente e a formação de precipitados de fitato de ferro removida por centrifugação à 8.000 x g/ 30 minutos. Em um *erlenmeyer* de 250 ml foram postos 20 ml do sobrenadante com 200 ml de água deionizada e, seu pH foi levado a uma faixa de 2,5 ± 0,5 com glicocol. Esta solução foi aquecida a 70 °C e o ferro (III) titulado, ainda quente, com EDTA 0,010 M, até que a solução se tornasse amarelo claro. A percentagem de ácido fítico na amostra foi calculada utilizando a fórmula abaixo.

$$\text{ÁCIDO FÍTICO (\%)} = 1,32 \times (10 - V) / P$$

Onde: V = volume de EDTA gasto na titulação (ml); P = peso da amostra em grama.

Amostra + H₂O destilada (1 g do *Pool* de algas/ 10 ml)

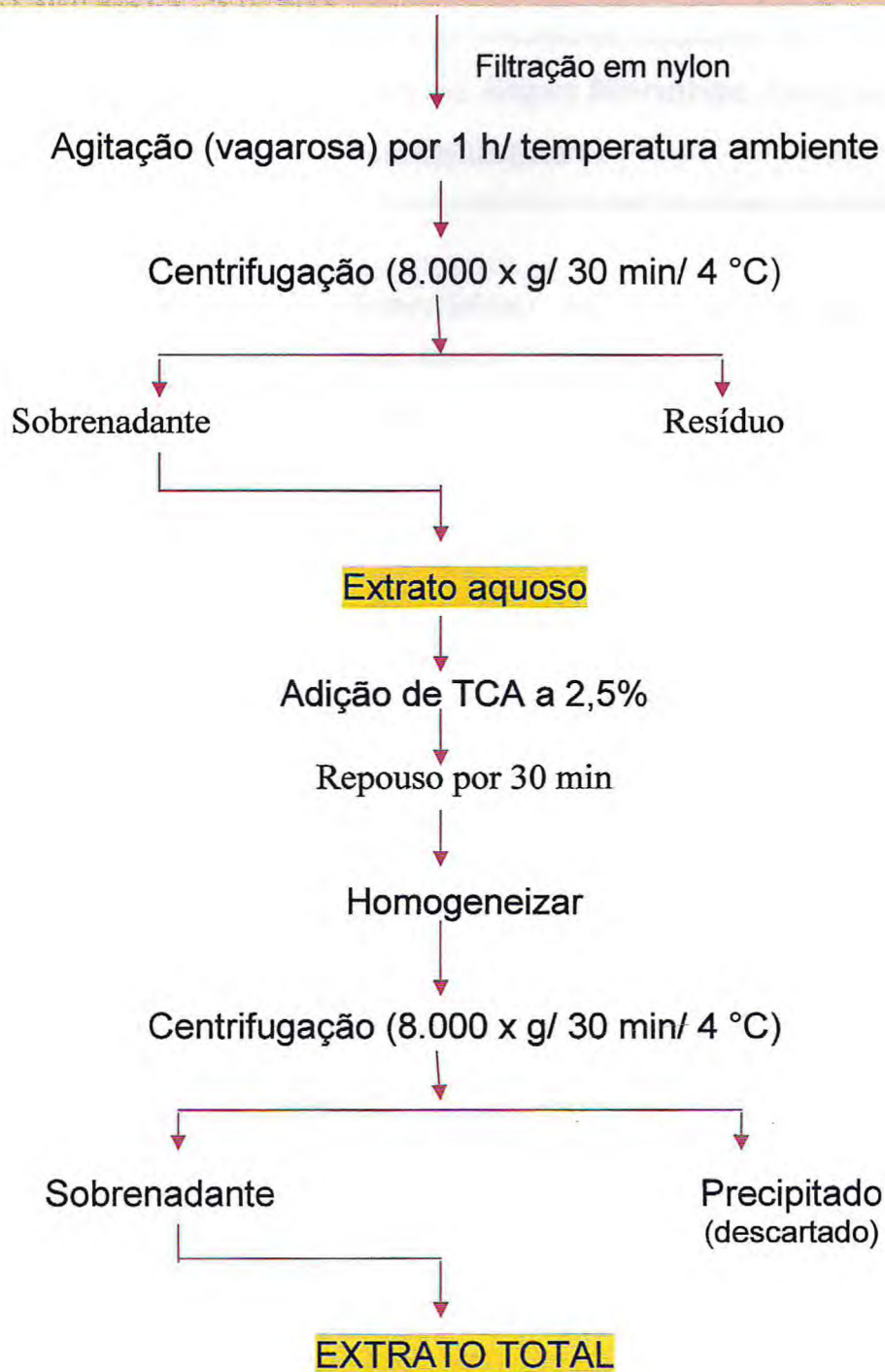


FIGURA 4 – Fluxograma de extração dos inibidores de tripsina do *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas.

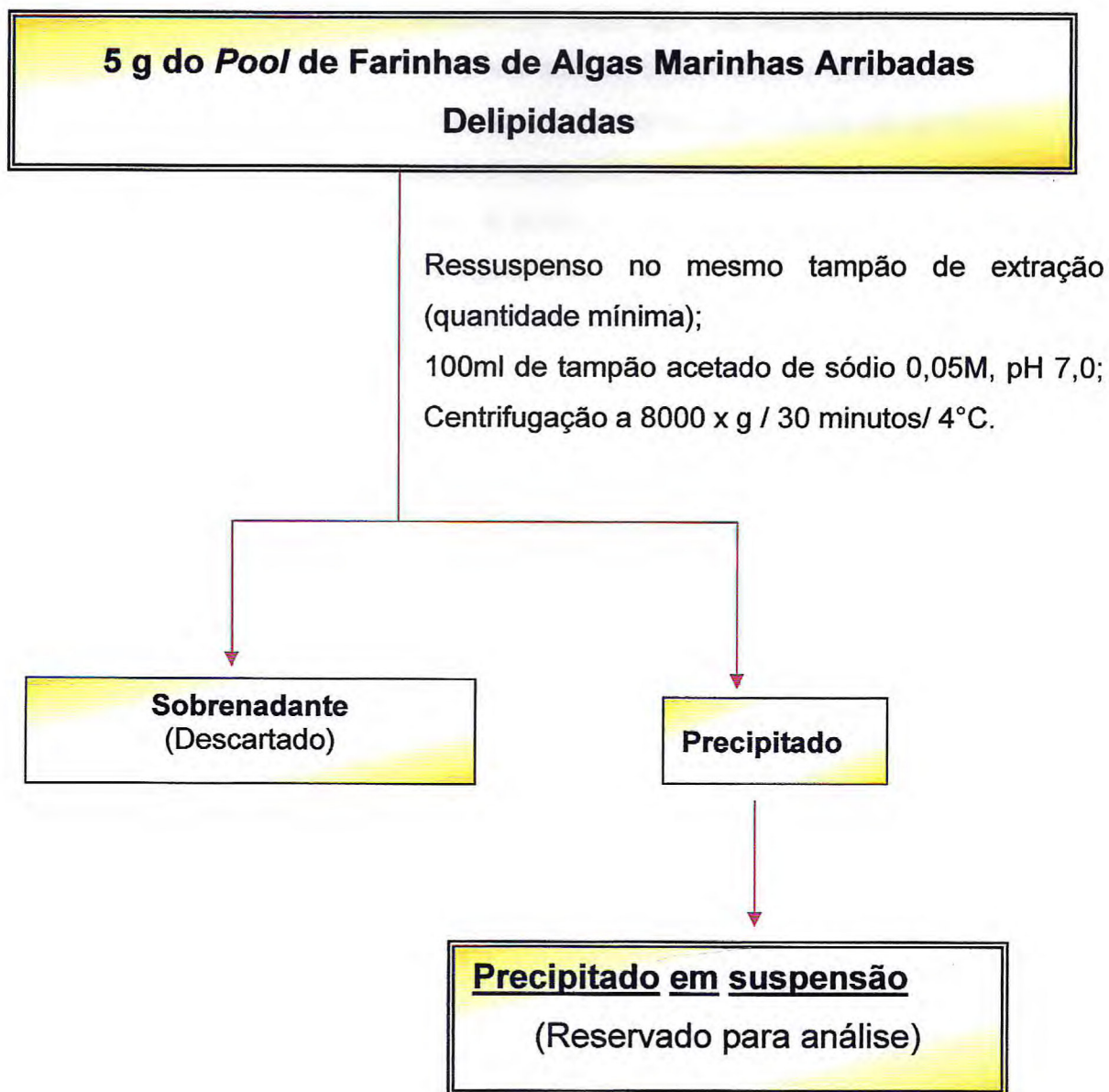


FIGURA 5: Fluxograma do Esquema de Extração de Inibidores de α -amilase do *pool* de Farinhas de Algas Marinhas Arribadas.

3.5.6. Atividade Tóxica

A avaliação da toxicidade foi feita em camundongos *swiss* fêmeas pesando entre 18 – 20 g, através da via intravenosa. Neste ensaio foram usadas 4 doses, sendo que uma delas correspondia à menor quantidade de proteína ainda capaz de causar 100% de letalidade e uma outra que continha a maior quantidade de proteína incapaz de induzir toxicidade aguda. As outras duas doses intermediárias encerravam teores que causavam a letalidade dos animais no intervalo 0 –100%. Para cada dose, foram usados, no mínimo, 4 animais relacionando a dose com o peso (LITCHFIELD & WILCOXON, 1949). A existência de atividade tóxica foi considerada quando se observou mortalidade em camundongo no período de até 30 minutos, após injeção intravenosa, da amostra testada. Uma unidade DL_{50} (Vasconcelos et al., 1994) foi definida como a quantidade da fração 0/80 (em g/ kg de peso corpóreo) capaz de causar convulsão e morte em 50% dos animais testados.

3.6. Ensaio Biológicos

Ratos Wistar, machos, desmamados aos 21 dias de idade, foram alimentados com ração comercial peletizada (ração para roedores Fri-ribe, Dispa S/A, Messejana) até atingirem o peso médio de 70g. Em seguida, foram alimentados com dieta comercial pulverizada, *ad libitum*, por quatro dias, para adaptação à dieta pulverizada, e selecionados de acordo com o peso corpóreo, a fim de se obter grupos homogêneos. Os ratos foram alimentados com 2 dietas controle (clara de ovo liofilizada como fonte de proteína, e a outra isenta de proteína, NPC) e experimental (contendo farinha de algas marinhas arribadas + clara de ovo liofilizada na proporção de 4:1) durante 10 dias (TABELA 5). Para cada dieta foram usados 6 animais, mantidos em gaiolas de acrílico, com fundo espaçado para facilitar a coleta das fezes e da dieta perdida.

Todas as dietas foram preparadas para conter 10% de proteínas (MILLER e BENDER, 1995). Ao longo do período experimental, os ratos e as dietas refugadas foram pesados diariamente. As fezes coletadas durante os últimos 5 dias do

experimento foram desidratadas em estufa de ventilação de ar forçado, pesadas e trituradas em moinho, para posterior determinação de nitrogênio total. Ao final de 10 dias os ratos foram sacrificados por *overdose* de halotano (Fluothane, Zeneca, São Paulo), sendo seus órgãos internos (baço, coração, estômago, fígado, intestinos delgado e grosso, pâncreas, pulmões, rins e timo) dissecados, liofilizados e pesados. As carcaças foram colocadas em estufa com circulação forçada de ar até peso constante. Em seguida, foram trituradas para determinação do teor de nitrogênio corporal. Para cálculo dos parâmetros nutricionais Razão da proteína líquida (NPR), Utilização Líquida da Proteína (NPU), Digestibilidade Verdadeira (DV) e Valor Biológico (VB) foram utilizadas as seguintes fórmulas:

$$\text{NPR} = \frac{\text{Ganho de peso do grupo teste (g)} + \text{Perda de peso do grupo aprotéico (g)} \times 100}{\text{Proteína consumida pelo grupo teste}}$$

$$\text{NPU} = \frac{\text{N da carcaça do grupo teste} - \text{N da carcaça do grupo aprotéico} \times 100}{\text{N ingerido pelo grupo teste}}$$

$$\text{DV} = \frac{\text{N ingerido grupo teste} - (\text{N fecal grupo teste} - \text{N fecal grupo aprotéico}) \times 100}{\text{N ingerido grupo teste}}$$

$$\text{VB} = \frac{\text{NPU} \times 100}{\text{Digestibilidade}}$$

Onde: N = nitrogênio.

Todas as análises realizadas nas dietas, carcaças e fezes dos ratos seguiram os mesmos métodos citados para as determinações de proteína, lipídio, umidade, cinza e fibra utilizados para realizar a composição centesimal. Os dados obtidos foram utilizados nos cálculos da digestibilidade verdadeira da proteína, utilização líquida protéica (NPU) e valor biológico (VB) da proteína

TABELA 5 – Composição das dietas protéica (controle positivo), aprotéica (controle negativo) e dieta teste (alga + clara de ovo liofilizada).

Ingredientes	Grupo Padrão	Grupo Aprotéico	Grupo Teste Alga + Clara de Ovo
Amido de milho	387,30	515,75	220,91
Glucose	145,24	145,24	139,23
Celulose	96,83	96,83	74,26
Óleo de milho	145,24	145,24	138,61
Clara do ovo liofilizada ^a	128,45	—	66,83
Mistura de Vitaminas ^b	48,41	48,41	46,41
Mistura de Minerais ^c	48,41	48,41	46,41
Pool das farinhas de algas	—	—	267,32
Massa total (g)	1000	1000	1000
Densidade calórica (Kcal. g⁻¹)	± 3,95	± 3,95	± 3,67

^a A clara do ovo liofilizada contém 75,5 % de proteína. ^b Mistura de vitaminas: tiamina, 1,0g; piridoxina, 1,0g; riboflavina, 1,0g; ácido nicotínico, 3,0g; pantotenato de cálcio, 2,0g; ácido fólico, 0,5g; biotina, 0,5g; inositol, 40,0g; vitamina A, 1,2g; Vitamina D, 0,25g; Vitamina E, 6,0g; Vitamina K, 0,01g; Vitamina B₁₂, 2,5g; cloreto de colina, 80,0g e amido de milho, 4870,0 g (CARVALHO, 1992). ^c Mistura de minerais: sulfato de cobre, 2,0g; sulfato férrico, 25g; sulfato de manganês, 20 g; sulfato de zinco, 18 g; iodato de potássio, 0,2g; iodeto de potássio, 0,2g; fluoreto de sódio, 0,6g; vanadato de amônio, 0,05g; cloreto de níquel, 0,4g; cloreto de estanho, 0,6g; selenito de sódio, 0,03g; liga de cromo, 4,8g; carbonato de cálcio, 2100,0g; fosfato de sódio monobásico, 1570,0 g; cloreto de potássio, 110,0g; sulfato de magnésio, 510,0g; fosfato de sódio dibásico, 710,0g (CARVALHO, 1992).

4. RESULTADOS

Os resultados obtidos nas análises químicas e bioquímicas são referentes às farinhas provenientes das coletas realizadas a cada mês por um período de um ano. O mesmo se aplicou ao *pool* de farinhas de algas arribadas elaborado com quantidades iguais de cada farinha obtida mês a mês. O *pool* de farinhas também foi utilizado nos ensaios nutricionais, a fim de se avaliar o potencial nutricional das algas arribadas para ratos em crescimento.

4.1. Identificação das Algas Coletadas

Conforme está mostrado na TABELA 6, as algas marinhas arribadas coletadas na praia de Fleixeiras, município de Trairi – Ceará, nos meses de Janeiro a dezembro de 2002 foram em número de 37 espécies, dentre as quais 24 vermelhas, 9 verdes e 4 pardas. Todas essas espécies identificadas, herborizadas e catalogadas no Instituto de Ciências do Mar, da Universidade Federal do Ceará. O número de algas coletadas em cada mês foi em média de 18 espécies, sendo as vermelhas, as mais numerosas e sempre presentes em maiores quantidades. Os dados provenientes da análise das coletas mostraram a ocorrência de variação sazonal referente às espécies de algas coletadas nos diferentes meses do ano. Entretanto, algumas espécies de algas vermelhas apresentaram uma elevada frequência, sendo coletadas durante quase o ano todo. É o caso da *Amansia multifida*, *Botriocladia occidentalis*, *Hypnea musciformis* e as espécies do gênero *Gracilaria* (*G. cervicornis*, *G. domingensis*, *G. ferox*, *G. córnea* e *G. birdeae*). Quanto às algas verdes, essas foram encontradas sempre em baixa quantidade e dentre as 9 espécies coletadas, *Caulerpa racemosa* v. *occidentalis* (Forsskål) J. Agardh, *Ulva lactuca* Linnaeus e *Ulva fasciata* Delile foram as mais freqüentemente presentes nas coletas. Apenas 4 espécies de algas pardas foram encontradas arribadas e em quantidades importantes, sendo *Sargassum vulgare* e *Padina* sp coletadas praticamente durante todo período analisado (11 meses). Entretanto, as algas *Meristiella echinocarpa* e *Agardhiella ramossissima* mostraram-se mais raras em virtude de serem coletadas sob mergulho no mesolitoral (nas poças entre as pedras e após as mesmas).

TABELA 6 – Espécies de algas Coletadas - Janeiro a dezembro de 2002.

ESPÉCIES COLETADAS	01*	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
RHODOPHYTA												
<i>Agardhiellae ramossisima</i> (Harv.) Kylin	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Amansia multifida</i> J. V. Lamouroux	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Botriocladia occidentalis</i> (Børgesen) Kylin	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Bryothamnion seaforthii</i> (Turner) Kütz	X	-	X	-	-	X	X	-	X	X	X	X
<i>Bryothamnion triquetrum</i> (S. G. Gmelin) Howe	-	X	X	X	-	X	X	X	-	X	X	X
<i>Cryptonemia crenulata</i> (J. Agardh) J. Agardh	X	X	X	X	-	-	-	-	X	X	-	-
<i>Digenea simplex</i> (Wulfen) C. Agardh	-	X	-	X	X	-	-	-	-	X	-	X
<i>Eucheuma echnocarpum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	X
<i>Galaxaura rugosa</i> (J. Ellis & Sol) J.V. Lamour	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Gracilaria caudata</i> J. Agardh	-	-	-	X	-	-	X	-	-	X	-	X
<i>Gracilaria cervicornis</i> (Turner) J. Agardh	X	X	X	X	X	X	-	X	X	-	-	X
<i>Gracilaria cornea</i> (Turner) J. Agardh	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X
<i>Gracilaria curtissiae</i> J. Agardh	-	X	-	X	-	X	X	X	-	-	-	-
<i>Gracilaria cearensis</i> (Joly & Pinheiro) in Joly et al	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	X
<i>Gracilaria Domingensis</i> Souder ex Kützting	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Gracilaria ferox</i> (J. Agardh) J. Agardh	X	X	X	-	-	-	-	-	-	X	X	X

TABELA 6 – Continuação.

Espécies Coletadas (Cont. Tabela 6)	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
RHODOPHYTA												
<i>Gracilaria birdeae</i>	X	X	X	X	-	X	X	X	-	X	X	X
<i>Gracilaria occidentalis</i> (Borgesen) M. Bodard	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
<i>Gelidiella</i>	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-
<i>Halymenia sp1</i>	X	X	X	-	X	X	X	X	-	-	X	-
<i>Halymenia bermudensis</i> Collins & Hervey	-	-	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-
<i>Halymenia C. Agardh</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-
<i>Hypnea musciformis</i> (Wulfen in Jacquin) Lamouroux	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Meristiella echinocarpum</i> (Aresch.)		X										
<i>Vidalia obtusiloba</i>	-	X	-	X	X	-	-	X	-	-	-	-
PHAEOPHYTA												
<i>Dictyota mertensii</i> (Martins) Kurtzing	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	X
<i>Padina sp</i>	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	-
<i>Sargassum vulgare</i> C. Agardh var. vulgare	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Sargassum filipendula</i> C. Agardh	-	-	X	-	X	X	X	-	X	X	X	

TABELA 6 – Continuação.

Espécies Coletadas (Cont. Tabela 6).	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
CHLOROPHYTA												
<i>Caulerpa racemosa v. occidentalis</i> (Forsskål) J. Agardh	x	x	x	x	-	X	x	x	x	x	x	x
<i>Caulerpa cupresoides</i> variedade Flabellata	-	-	x	-	x	X	x	-	-	x	x	-
<i>Caulerpa cupressoides</i> (H. West in Vaahl) C. Agardh Var. <i>lycopodium</i> Weber Bosse	-	-	-	-	x	X	x	-	-	x	-	-
<i>Caulerpa sertularioides</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	x	-
<i>Codium istmocladium</i> Vickers	-	-	x	-	x	X	x	-	-	-	-	x
<i>Codium fragile</i> (Suringar) Har.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	x	x
<i>Ulva lactuca</i> Linnaeus	x	x	-	-	-	-	x	x	x	-	x	-
<i>Ulva fasciata</i> Delile	-	x	x	-	x	X	x	x	-	x	x	-
<i>Ulva</i> sp3	-	-	-	-	x	-	-	-	-	-	-	-
N.º de Espécies / coleta	15	20	20	17	17	19	20	16	15	22	21	20

* Os números de 01 a 12 indicam os meses do ano referentes de janeiro a dezembro.

(x): Espécie coletada; (-): Espécie não coletada; Meses do ano 2002 (01–12).

4.2. Análises Químicas e Bioquímicas das Farinhas de Algas Marinhas Arribadas

4.2.1. Composição Centesimal

Os resultados referentes à composição química centesimal das farinhas de algas arribadas coletadas a cada mês e do *pool* de farinhas, por um período de 12 meses, encontram-se listados na TABELA 7. Flutuações significativas entre os valores percentuais dos constituintes das farinhas estudadas foram observadas, sendo que os maiores teores de umidade, cinza, lipídio, proteína, fibra e carboidrato foram encontrados nos meses de fevereiro, novembro, julho, junho, fevereiro e abril, respectivamente, enquanto o *pool* de farinhas apresentou valores intermediários. Na TABELA 8 está reportada uma comparação entre o *pool* de farinhas de algas com alguns alimentos comumente consumidos pelo homem, na qual observa-se que os teores de proteínas do *pool* de farinhas (12,16%) foi superior aos demais alimentos (feijão, arroz, milho verde e farinha de trigo) estando abaixo apenas em relação à soja (33,8%). A concentração de cinzas do *pool* de farinhas (14,63%) também foi muito elevada, só ultrapassada pelo valor da alga *Gracilaria changi* (22,7%). A composição do *pool* de farinhas de algas arribadas, referentes aos teores de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), celulose, hemicelulose, lignina e cinza insolúvel em detergente ácido encontra-se na TABELA 9, a qual mostra que o teor de celulose do *pool* de farinhas de algas (26,41%) foi similar ao valor da casca do grão de soja (26,18%). O teor de sílica presente na farinha de alga foi de apenas 0,86%. A determinação de fibra dietética no *pool* de farinhas de algas arribadas apresentou um teor de 2,59g/ 100g da amostra.

A concentração de elementos minerais essenciais presentes no *pool* de farinhas de algas arribadas encontra-se na TABELA 10, a qual fornece uma comparação entre o *pool* de algas, duas algas (uma parda, outra vermelha) e as Ingestas Diárias de Referência (DRI) para as crianças de 1 a 3 anos de idade. Foram determinados metais pesados considerados tóxicos ao homem (TABELA 11). Dentro do contexto da preparação de dietas equilibradas para consumo humano foi feita uma pesquisa em relação aos elementos essenciais e uma monitoração dos elementos tóxicos no PFA. Esse trabalho teve por objetivo a determinação dos

níveis e composição desses elementos através dos métodos preconizados pela AOAC. Os seguintes elementos puderam ser determinados: macrominerais (Ca, P, Mg, K e Na) e elementos-traço (Al, Co, Cu, Fe, Mg e Zn), os resultados foram expressos em mg/ 100g de PFA, e comparados com as ingestas Diárias de Referências (DRI) para crianças de 1 a 3 anos de idade (crianças alvo para consumo do PFA). Em relação aos macrominerais, foram detectados na mistura altos níveis de cálcio e magnésio (1722,6 e 538,76 mg/100g, respectivamente) superando os níveis recomendados de acordo com a DRI. Quanto aos elementos-traço, foram observados níveis acima do recomendado para ferro (Fe) e cobre (Cr), e baixos para o zinco (Zn).

TABELA 7: Análise química elementar das farinhas de algas marinhas arribadas da mistura de farinhas (*pool*).

ANÁLISE QUÍMICA ELEMENTAR (%)						
Amostra	Umidade	Cinzas	Lipídeos	Proteínas	Fibras*	Carboi - dratos**
Janeiro	6,77 ^a	19,22 ^a	0,27 ^a	12,70 ^a	6,77 ^a	54,27 ^a
Fevereiro	<u>8,22</u>	17,43	0,25	13,58	<u>8,22</u>	52,30
Março	6,28	24,84	0,62	11,59	6,28	50,39
Abril	7,23	13,27	0,54	12,96	7,24	58,76
Maio	5,26	16,78	0,15	14,38	5,26	58,17
Junho	5,00	17,87	0,21	<u>14,80</u>	5,00	57,12
Julho	5,54	14,96	<u>0,84</u>	13,2	5,54	59,92
Agosto	4,53	16,02	0,30	13,93	4,53	60,69
Setembro	4,27	14,81	0,38	12,35	4,28	<u>63,91</u>
Outubro	4,07	20,44	0,28	11,61	4,08	59,52
Novembro	4,38	<u>25,58</u>	0,68	11,36	4,47	53,53
Dezembro	4,41 ^a	24,25 ^a	0,20 ^a	10,71 ^a	4,43 ^a	56,00 ^a
Pool de farinhas	7,30 ^a	14,63 ^b	0,35 ^a	12,16 ^a	6,86 ^b	58,70 ^b

• Fibra bruta.

** Obtido por diferença.

• Letras iguais na vertical indicam que não existe diferença significativa ($p > 0,05$); As determinações foram realizadas em triplicada.

• Os valores sublinhados correspondem aos maiores teores de umidade, cinza, lipídio, proteína, fibra e carboidrato encontrados nas diversas farinhas de algas.

TABELA 8 – Análise comparativa da composição centesimal do *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas com a *gracilaria changgi* (alga) e alguns alimentos comumente consumidos pelo homem.

FONTE	PROTEÍNA (%)	LIPÍDEOS (%)	CINZAS (%)	FIBRA BRUTA (%)	CARBOIDRATOS (%)
<i>Gracilaria changgi</i> (alga) ¹	6,90	3,30	22,7	24,7	
<i>Pool</i> de farinhas de algas arribadas	12,16	0,35	14,63	6,86	
Feijão comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> , L.) ³	18,4	2,30	0,60	4,60	64,7
Soja ⁴	40,03	22,93	5,24	5,85	25,95
Farinha de trigo ²	10,10	1,14		-	-
Arroz polido cru ⁴	8,50	0,66	1,08	1,38	88,38
Milho verde cru ²	6,20	5,20		-	-

- Fontes: ¹ Villarroel *et al.*, (2002); ² Franco (1999); ³ OLIVEIRA *et al.*, 2001; ⁴ WANG *et al.*, 2000.
- (-) Não determinado. A comparação foi realizada com alimentos, comumente presentes na dieta de humanos

TABELA 9 – Análise comparativa dos teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose, hemicelulose, lignina, fibra solúvel e sílica do *pool* de farinhas de algas, *Ulva lactuca*, *Sphagnum magellanicum*, casca do grão de soja (CGS), farelo de soja (FS) e milho moído (MM).

Amostras (g /100 g de matéria seca)	FDN	FDA	Celulose	Hemi- celulose	Lignina	Sílica^{***}	Fibra Solúvel[#]
<i>Pool</i> de algas	41,28	14,87	10,77	26,41	3,23	0,86	58,72
<i>Ulva lactuca</i> *	33,10	15,10	9,50	9,40	2,70	—	66,90
CGS ✓	69,20	43,02	—	26,18	8,20	0,44	30,80
FS ✓	12,22	10,13	—	2,09	3,0	—	87,78
MM ✓	9,99	5,44	—	4,45	2,90	—	90,01

Fonte: * Ventura e Castañón, 1998; ** Villarroel *et al.*, (2002); (✓) www.nupel.uem.br/ publicações 2002, acessado em 26.11.04.

Sílica^{***}: cinzas insolúveis em detergente ácido; # valores obtidos por diferença (entre 100- FDN).

TABELA 10 – Análise comparativa das concentrações dos elementos minerais presentes no *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas (PFA) com as relatadas para as algas *Laminaria digitata* e *Porphyra tenera*, e Ingesta Diária de Referência (DRI) para crianças de 1 a 3 anos de idade.

Macro / Micro Minerais	PFA (mg/100g)	<i>L. digitata</i> ¹ (mg/100g)	<i>P. tenera</i> ² (mg/100g)	DRI ³ Crianças 1 a 3 anos
Cálcio (Ca)	1722,60	1005	390	500mg
Fósforo (P)	167,35	ND	ND	460mg
Magnésio (Mg)	538,76	659	565	80mg
Potássio (K)	2467,71	11579	3500	ND
Sódio (Na)	161,80	3818	3627	ND
Elementos-Traço				
Alumínio (Al)	129,47	ND	ND	ND
Cobalto (Co)	0,05	ND	ND	ND
Cobre (Cu)	0,39	< 0,5	< 0,5	340 mg
<u>Ferro (Fe)</u>	98,43	3,29	10,3	7 mg
Manganês (Mn)	332,52	< 0,5	2,72	12 mg
Zinco (Zn)	1,48	1,77	2,21	3 mg

Fontes: ¹ Rupérez, 2002; *** Villarroel *et al*, 2002. ³ INSTITUTE OF MEDICINE FOOD AND NUTRITION (2001).

Determinações realizadas em triplicada. DRI: Indica os valores de referência para estimar a ingestão de nutrientes tanto para o planejamento, quanto para a análise de dietas de pessoas saudáveis. Valores não determinados (ND).

TABELA 11: Teores de metais pesados presentes na mistura de farinhas de algas marinhas arribadas (PFA).

METAIS PESADOS PRESENTES NA MISTURA DE FARINHAS DE ALGAS (mg/ 100g)	
Cádmio (Cd)	0,29
Chumbo (Pb)	0,36
Cromo (Cr)	0,23
Níquel (Ni)	0,26
Silício (Si)	988,97
Vanádio (V)	3,56

* Determinações realizadas em triplicada.

4.2.2. Composição de Aminoácidos

A composição de aminoácidos do *pool* de farinhas de algas arribadas está descrita nas TABELAS 12 e 13. Os resultados obtidos foram comparados com a composição aminoacídica da proteína padrão do ovo de galinha, as Ingestas Diárias de Referências (DRI) para as crianças na faixa etária de 1 a 3 anos de idade (INSTITUTE OF MEDICINE FOOD AND NUTRITION – DRI, 2001) e com as Recomendações Diárias de Nutrientes (RDA) necessárias para ratos (COATES et al., 1969). Os teores de todos os aminoácidos, essenciais ou não, presentes no *pool* de algas, foram inferiores aos presentes na proteína (padrão) do ovo. No entanto, o aminoácido Isoleucina (36,8 mg/g de proteína) atende a demanda nutricional de crianças na faixa etária de 1 a 3 anos. Todos os níveis de aminoácidos não atendem os requerimentos (RDA) para ratos, com exceção do aminoácido triptofano que supri esse requerimento. Entretanto, observa-se que os aminoácidos presentes na dieta teste (*pool* de farinhas de algas + clara de ovo) como a fenilalanina+ tirosina (67,8 mg/g de proteína), metionina+cisteína (37,7 mg/g de proteína), treonina (37,4 mg/g de proteína), triptofano (43,9 mg/g de proteína) e valina (53,4 mg/g de proteína) cobrem as necessidades de ingesta diária de referência (DRI) para crianças de 1 a 3 anos de idade. Na TABELA 13 estão listadas as concentrações dos aminoácidos não-essenciais das proteínas do PFA (cisteína, glicina, prolina, serina, tirosina, ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina e arginina). Os aminoácidos arginina, ácido aspártico e ácido glutâmico foram os que se mostraram em maiores concentrações (60; 36,9 e 53,4 mg/ g de proteína, respectivamente). No geral, esses dados foram comparáveis aos relatados para o farelo de soja, os quais apresentam teores de aminoácidos essenciais (131,2 mg/ g proteína) + não essenciais (239,2 mg/ g proteína), com um total de 370,4 (Freitas, 2002), que quando comparados aos teores de aminoácidos da proteína do PFA (184,4 + 204,5 mg/ g de proteína, respectivamente para os essenciais, não essenciais e total de 388,9) são 18,5 % inferiores aos do mesmo.

TABELA 12 – Análise comparativa da composição de aminoácidos essenciais das proteínas do *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas (PFA) com as das proteínas do ovo de galinha, levando em conta a Ingesta Diária de Referência (RDI) médios necessários para crianças e as Recomendações Nutricionais Diárias (RDA) para ratos.

Aminoácidos Essenciais (mg/ g de Proteína)	PFA	Padrão OVO*	PFA + Clara de ovo**	RDI p Crianças***/ 1 a 3 anos	RDA p/ Ratos**
Fenilalanina + Tirosina	28,5	93,0	67,8	63,0	90
Isoleucina	36,8	54,0	47,3	28,0	50
Leucina	25,8	86,0	62,5	66,0	80
Lisina	15,8	70,0	48,8	58,0	60
Metionina + cisteína	7,5	57,0	37,7	25,0	45
Treonina	21,9	47,0	37,2	34,0	40
Triptofano #	6,7	17,0	43,9	11,0	15
Valina	34,2	66,0	53,4	35,0	55
Histidina	7,2	22,0	16,2	19,0	25
Total	184,4	512	414,8	339	470

Fontes: * FAO/WHO/OMS, 1985; ** COATES *et al.*, 1969. Triptofano #: determinado pelo método de ninidrina-ácido (PINTÉR-SZAKÁCS & MOLNÁR-PÉRL, 1990).

** Proporção utilizada em relação à composição de proteína: 8% do *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas para 2% de clara de ovo liofilizada (4:1, respectivamente). *** Utilizou-se esse grupo etário porque esta faixa seria a destinada a usar a farinha de algas como suplemento alimentar.

TABELA 13 – Composição dos aminoácidos não essenciais contidos nas proteínas do *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas (PFA) comparados com a composição aminoacídica das proteínas do farelo de soja.

<u>AMINOÁCIDOS NÃO ESSENCIAIS</u> (mg/ g de Proteína)	<u>POOL DE ALGAS</u>	<u>FARELO DE SOJA **</u>
Cistina	1,0	5,2
Glicina	25,8	14,8
Prolina	20,3	21,2
Serina	28,9	18,0
Tirosina	4,4	9,6
Ácido aspártico	36,9	43,6
Ácido glutâmico	53,4	75,4
Alanina	33,8	15,3
Arginina	60,0	36,1
Total	204,5	239,2

* Fonte: Freitas, 2002.

- Aminoácidos em cor cinza apresentaram teores mais elevados do que os da proteína de soja (proteína de origem não animal, mas de bom valor nutricional, e bastante consumida na alimentação humana).

4.3 - Fatores Tóxicos e/ou Antinutricionais

Foi encontrado, entre os constituintes do *pool* de farinhas de algas arribadas antinutrientes tais como lectinas, ácido fítico, compostos fenólicos (taninos), inibidores de tripsina e de α -amilase. A atividade hemaglutinante nos extratos elaborados com o *pool* de farinhas de algas foi avaliada utilizando-se suspensões de eritrócitos (2%) de sangues de coelho, galinha e humano (sistema ABO, Rh positivo e negativo), tratados e não tratados enzimaticamente com tripsina, bromelaína, papaína e subtilisina. Os tampões de extrações utilizados foram os seguintes: salina 0,15M; tampão acetato 0,025M, pH 5, c/ salina; tampão borato 0,025M, pH 10; tampão fosfato de sódio 0,02M, pH 7/ com salina 0,15M e Tris-HCl 0,025M, pH 7,5, com e sem salina 0,15M. Os sangues de coelho e de galinha apresentaram alta atividade hemaglutinante, 64 e 32 UH/ ml, respectivamente, quando do uso de enzimas (tripsina). Não foi observada nenhuma atividade hemaglutinante com os eritrócitos humano do sistema ABO, nativos ou tratados enzimaticamente com bromelaína, papaína ou tripsina. As atividades apresentadas pelos eritrócitos de coelho e de galinha tratados com tripsina ou subtilisina foram baixas (TABELA 14).

Os inibidores de α -amilase foram inativados com o tratamento térmico aplicado, enquanto os de tripsina resistiram ao tratamento. O teor de tanino encontrado no *pool* de farinhas de algas foi de 59,0 mg/ 100g do *pool* de algas (0,059%). A concentração de ácido fítico obtido foi de 45,0 mg por grama da amostra (0,45%). A fração 0/80 do *pool* de algas mostrou-se tóxica, ao ser aplicada intraperitonealmente (nas doses de 30, 50, 75 e 100 mg de extrato da fração 0/ 80 do *pool* de farinhas de algas) em camundongos, apresentando DL₅₀ foi de 63,75 mg/Kg de peso do animal (TABELA 15).

TABELA 14 - Atividade Hemaglutinante (UH/ g de farinha) dos extratos do PFA obtidos em vários meios de extração empregando suspensões de eritrócitos do sistema ABO humano, galinha e de coelho, nativos ou tratados com enzimas.

ERITRÓCITOS	UNIDADE DE HEMAGLUTINAÇÃO (UH/ml)	
	Coelho	Galinha
Extrato / Salina 0,15 M		
Eritrócitos nativos; tratados com bromelaína; e papaína.	-	-
Eritrócitos tratados com tripsina	64	32
Eritrócitos tratados com subtilisina	2	2
Extrato / Tampão acetato 0,025 M, pH 5,0 NaCl 0,15M		
Eritrócitos tratados com tripsina	8	-
Eritrócitos tratados com bromelaína e com papaína	-	-
Eritrócitos tratados com subtilisina	2	2
Extrato / Tampão borato 0,025 M, pH 10,0		
Eritrócitos tratados com tripsina	2	2
Extrato/ Tampão fosfato de sódio 0,02M, pH 7,0 NaCl 0,15M		
Eritrócitos tratados com tripsina	-	-
Tris-HCl 0,0025 M, pH 7,5 c/ e sem NaCl 0,15M		
Eritrócitos nativos	-	-

(-) atividade não detectada.

TABELA 15 – Fatores antinutricionais e/ou tóxicos presentes no *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas – Termoestabilidade dos inibidores de tripsina e α -amilase.

Amostras	% de Inibição da Tripsina	% de Inibição da α -amilase	Ácido Fítico (%)	Tanino (%)	DL ₅₀ (mg. Kg ⁻¹)
<i>Pool</i> (sem tratamento térmico)	98,98	70,47%	0,45	0,059	63,75
<i>Pool</i> torrado (200 °C / 10 min)	98,70	-	nd	nd	nd
<i>Pool</i> torrado (200 °C / 20 min)	96,61	-	nd	nd	nd
<i>Pool</i> torrado (200 °C / 30 min)	96,94	-	nd	nd	nd

- (-): 100% de inativação para os inibidores de α -amilase ; nd: não determinado.

4.4. Experimento Nutricional

Os parâmetros nutricionais determinados ao longo do experimento de alimentação estão descritos nas FIGURAS 6 a 11. Na figura 6 encontra-se a curva de crescimento dos animais entre os grupos controle positivo (clara de ovo), controle negativo (aprotéico) e teste (*pool* de algas + clara de ovo). Observa-se que os ratos que consumiram a dieta constituída de clara de ovo liofilizada apresentaram um crescimento superior ao mostrado pelos ratos dos grupos teste e controle negativo (aprotéico). A FIGURA 7 mostra a relação entre o ganho de peso e a dieta ingerida entre os ratos dos três grupos, controle positivo, controle negativo e teste, este último apresentando maior ingestão alimentar, e ganho de peso um pouco inferior ao controle positivo (clara de ovo). Na FIGURA 8 está o resultado referente à conversão alimentar realizada pelos ratos dos grupos do experimento nutricional. A maior conversão alimentar foi realizada pelos ratos do grupo controle positivo, seguida da conversão do grupo teste (*pool* de algas + clara de ovo), enquanto o grupo controle negativo (aprotéico). Na FIGURA 9, observa-se o consumo das dietas e excreções fecais realizadas pelos grupos de ratos utilizados no experimento nutricional. O grupo de ratos que foi alimentado com a ração teste (*pool* de algas + clara de ovo) apresentou diferenças significativas em relação ao grupo controle positivo em relação à quantidade de dieta consumida, bem como, quanto ao volume de fezes excretadas. Na FIGURA 10 encontram-se os parâmetros nutricionais relacionados com a Proteína Líquida Utilizada (NPU), Digestibilidade Verdadeira (DV) e Valor Biológico (VB) referentes aos grupos de ratos do experimento nutricional. E na FIGURA 11, encontram-se os valores dos pesos dos órgãos internos (estômago, intestinos delgado e grosso, e baço) dos ratos pertencentes aos dos três grupos, que sofreram alterações.

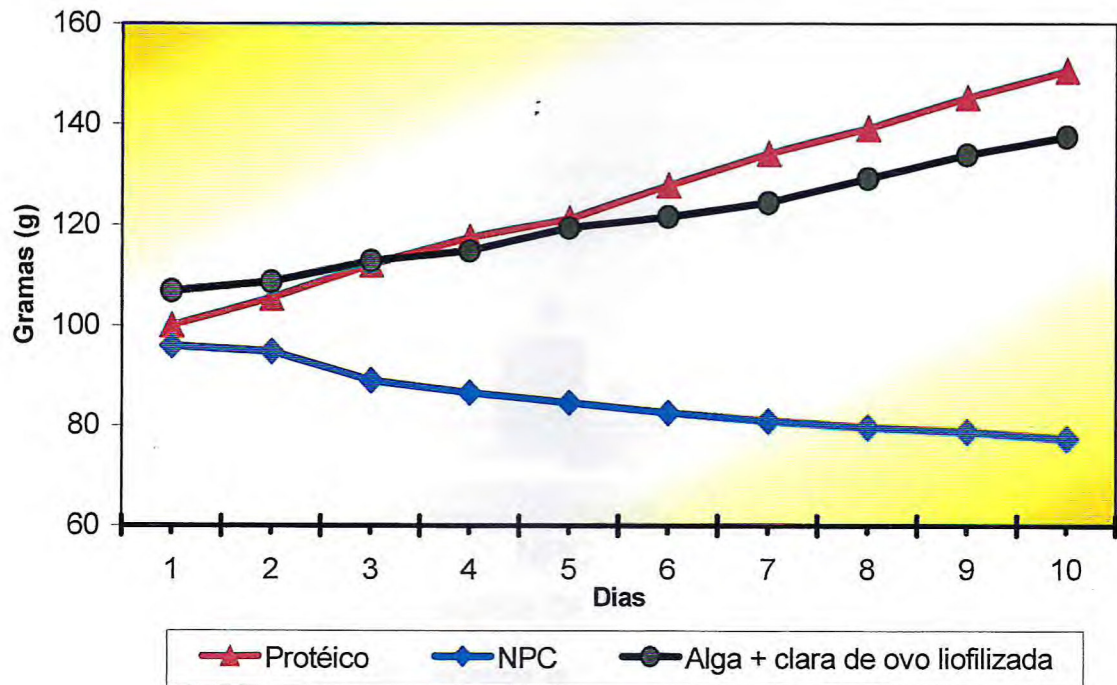


FIGURA 6 – Curva de crescimento dos ratos ($n = 6$) alimentados com dieta contendo *pool* de algas (dieta teste) comparados com o crescimento dos ratos dos grupos controle positivo (protéica) e controle negativo (NPC = dieta aprotéica).

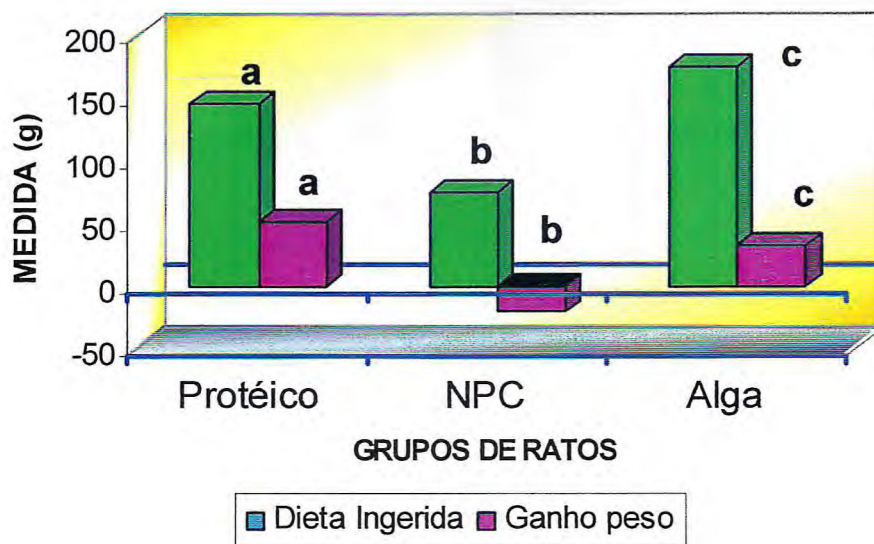


FIGURA 7 – Relação dieta ingerida e ganho de peso dos grupos de ratos, protéico, aprotéico (NPC) e alga. A dieta ingerida é medida em g de ração/ rato/ 10 dias do experimento, e o ganho de peso é medido por peso ganho(g)/ rato/ 10 dias de experimento. Letras diferentes dentro do mesmo parâmetro indica que existe diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos. Teste realizado pelo programa Eviews 3.1, através do teste de Tukey.

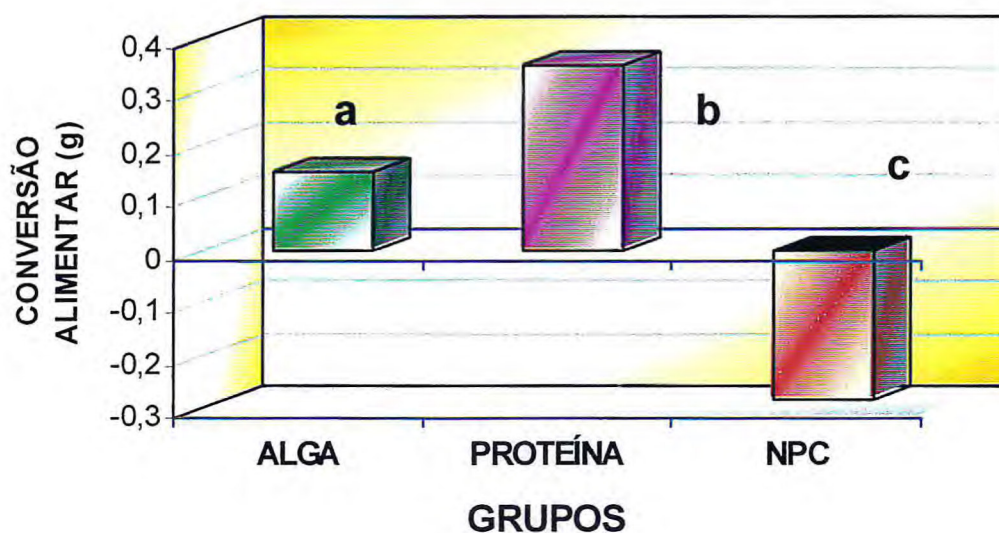


FIGURA 8 – Conversão alimentar realizada pelos ratos ($n = 6$) que consumiram a dieta contendo o *pool* de farinhas de alga marinhas arribadas + clara de ovo liofilizada (dieta teste), comparada com a conversão alimentar realizada pelos ratos do grupo protéico e grupo aprotéico. * A conversão alimentar é dada em gramas de ganho de peso por 100g alimento consumido pelo grupo de ratos ao longo de 10 dias. Letras diferentes refere-se a valores significativamente diferentes ($P < 0,05$). Teste de Tukey, programa Eviwes 3.1.

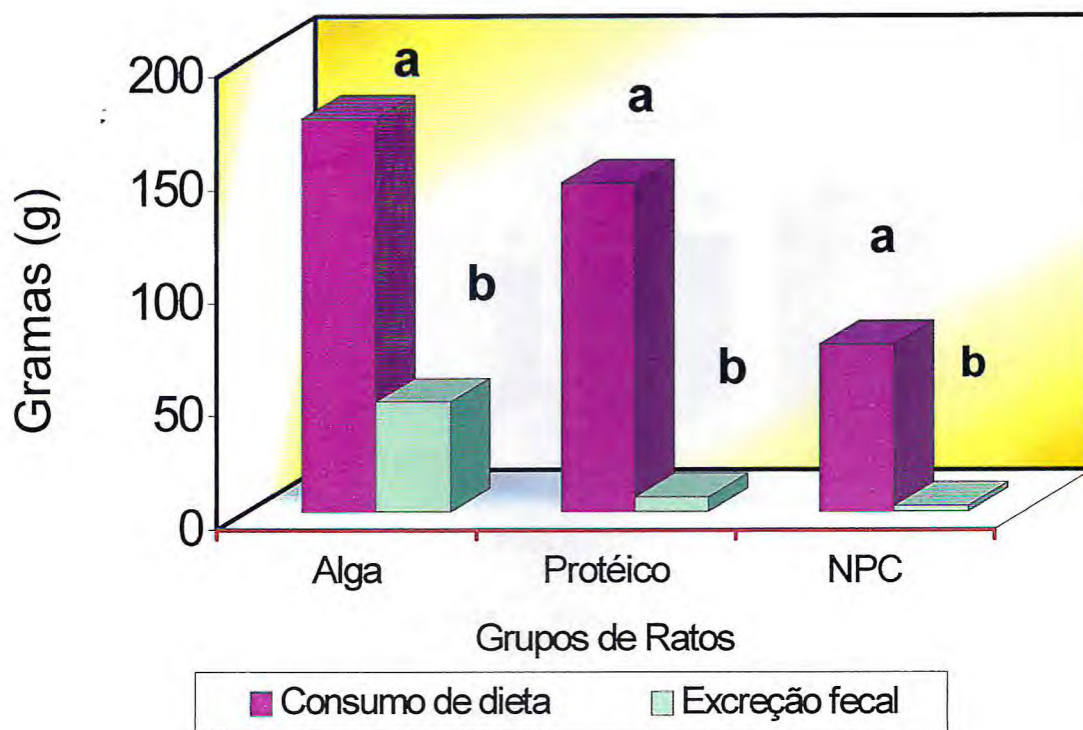


FIGURA 9: Relação entre o consumo de dietas (g de ração ingerida/ rato/ 10 dias de experimento) e a excreção fecal (g de fezes/ rato/ últimos 5 dias do experimento) proveniente dos ratos ($n = 6$) pertencentes ao grupo teste comparados com os dados dos ratos oriundos dos grupos, protéico e aprotéico (NPC). Letras diferentes para a mesma categoria indica que há diferença significativa ($p < 0,05$), teste de Tukey, Programa Eviwes 3.1.

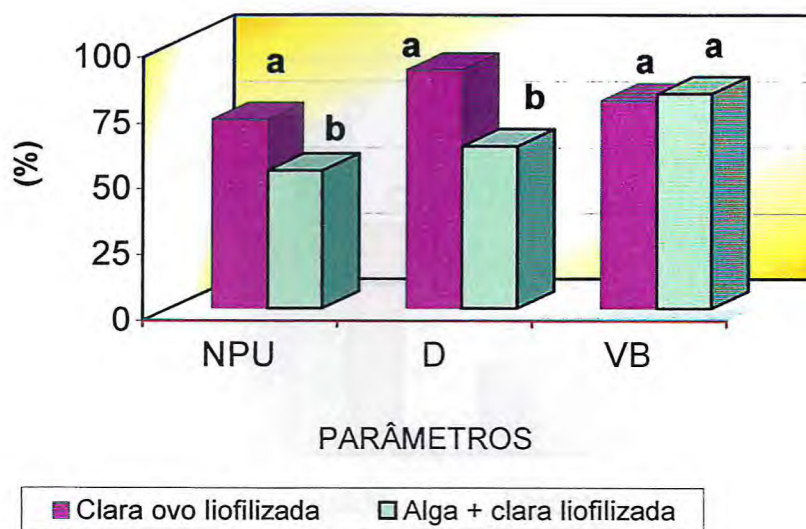


FIGURA 10 – Parâmetros nutricionais (Proteína Líquida Utilizada = NPU; Digestibilidade Verdadeira = D; Valor Biológico = VB) obtidos pela alimentação de dois grupos de ratos, um grupo com dieta protéica constituída de clara de ovo liofilizada e outro grupo com dieta composta de alga mais clara de ovo liofilizada (dieta teste). Letras diferentes indicam que existe diferença significativa ($p < 0,05$), teste de Tukey, programa Eviews 3.1.

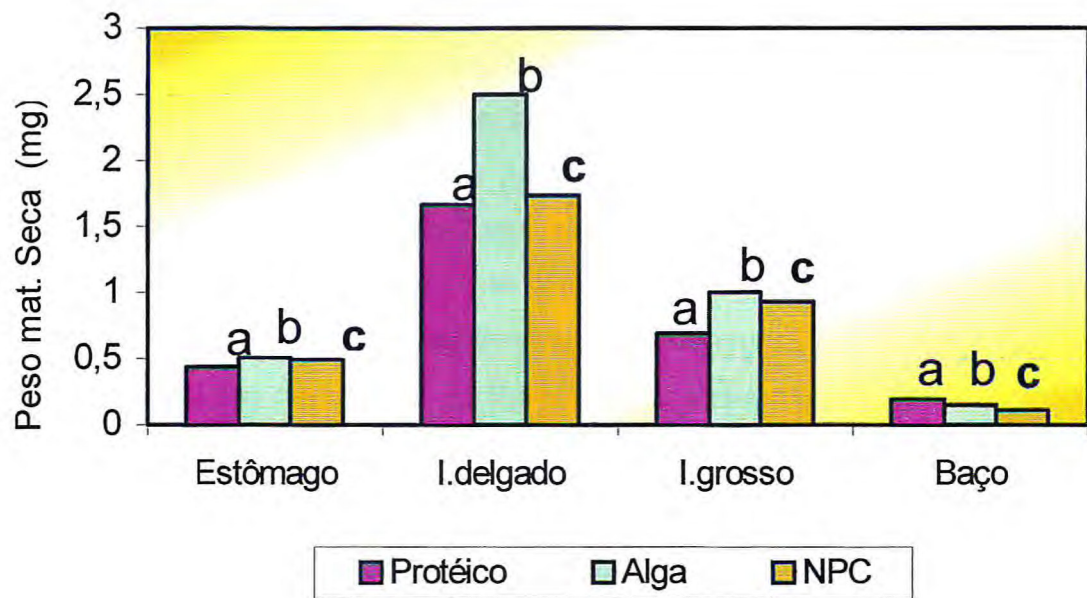


FIGURA 11: Órgãos internos dos ratos do grupo teste, que sofreram alterações em relação aos mesmos órgãos dos grupos protéico e aprotéico. Letras diferentes horizontalmente refere-se a valores significativamente diferentes ($P < 0,05$). Teste de Tukey, programa Eviwes 3.1.

Pôde-se observar que os animais que receberam a dieta teste ingeriram mais alimento ($17,46 \pm 8,57\text{g}$) do que aqueles que consumiram a dieta padrão ($14,54 \pm 5,91\text{g}$). E quando se compara o crescimento entre ambos os grupos, verifica-se que o grupo padrão cresceu mais que o grupo teste. Comparando o crescimento obtido com a quantidade de alimento ingerido, percebe-se que os animais do grupo padrão apresentaram uma conversão alimentar de 35%, enquanto aqueles que receberam a dieta à base de algas apresentaram aproximadamente a metade deste valor (18%) (TABELA 16). Durante os cinco últimos dias do experimento nutricional, as fezes dos ratos pertencentes aos três grupos (*pool* de algas, protéico e aprotéico) foram coletadas, pesadas e reservadas para análises posteriores. Os teores de matéria seca total, extrato etéreo e proteínas presentes nas fezes dos ratos dos grupos controle positivo (protéico), controle negativo (aprotéico) foram superiores aos dos ratos do grupo do *pool* de algas. O que diverge nestes valores é a quantidade de lipídios excretada nas fezes dos ratos do grupo que consumiu o *pool* de algas, pois o mesmo apresentou um percentual de $0,64 \pm 0,13$, enquanto nos grupos padrão e aprotéico, as excretas foram de $3,25 \pm 0,03$ e $2,09 \pm 0,12$, respectivamente. A umidade presente nas fezes dos ratos do grupo teste foi maior que os demais (TABELA 17). Na TABELA 18 estão os resultados referentes às análises da composição das fibras em detergente neutro (FDN), detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina realizadas nas fezes dos ratos pertencentes aos grupos protéico, aprotéico e teste. Estes achados mostram a quantidade e variedade de diferentes fibras presentes nas fezes dos ratos dos diferentes grupos.

No tocante ao nitrogênio fecal (TABELA 19), a quantidade de nitrogênio excretado nas fezes pelos ratos do grupo teste ($0,50 \pm 0,06$ g de nitrogênio excretado/ rato/ últimos 5 dias do experimento) foi 3,3 vezes maior do que a do controle positivo ($0,16 \pm 0,02$ g de nitrogênio excretado/ rato/ últimos 5 dias do experimento).

TABELA 16 – Ganho de peso, dieta ingerida e conversão alimentar dos ratos (n = 6, cada grupo) alimentados com dietas contendo o *pool* de farinhas de algas arribadas comparados com a dieta padrão (clara de ovo liofilizada) e dieta aprotéica (NPC).

DIETAS	GANHO DE PESO (g)	DIETA INGERIDA (g)	CONVERSÃO ALIMENTAR*
Algas + clara de ovo	31,17 ± 4,99 ^a	173,65 ± 6,16 ^a	0,18 ± 0,03 ^a
Clara de ovo liofilizada	50,70 ± 1,11 ^a	145,39 ± 5,91 ^b	0,35 ± 0,02 ^b
Aprotéico	- 20,65 ± 2,69 ^c	73,95 ± 9,81 ^c	- 0,27 ± 0,05 ^c

* Conversão alimentar é a relação entre o peso ganho pelo animal dividido pela dieta ingerida.

- Os valores são expressos em gramas / rato. Média ± Desvio Padrão. Letras diferentes na vertical indicam resultados estatisticamente diferentes (p < 0,05). Utilizou-se o teste de Tukey através do programa Eviews 3. 1.

TABELA 17 – Composição química das fezes dos ratos (n = 6) dos grupos controle positivo (protéico), controle negativo (aprotéico) e grupo teste (*pool* de algas + clara de ovo).

GRUPOS	MATÉRIA SECA TOTAL (%)	UMIDADE (%)	EXTRATO ETÉREO (%)	PROTEÍNAS (%)
Controle Positivo (Protéico)	76,40 ± 4,5 ^a	23,61 ± 4,69 ^a	3,25 ± 0,03 ^a	17,80 ± 0,14 ^a
Controle Negativo (Aprotéico)	85,63 ± 2,35 ^b	15,76 ± 2,75 ^b	2,09 ± 0,12 ^b	13,51 ± 0,01 ^b
<i>Pool</i> de algas + Clara de ovo	55,98 ± 5,83 ^c	44,03 ± 5,83 ^c	0,64 ± 0,13 ^c	6,38 ± 0,55 ^c

- Média ± Desvio Padrão. Letras diferentes na vertical indicam resultados estatisticamente diferentes (P < 0,001). Utilizou-se o teste de Tukey através do programa Eviews 3.1.
- Os valores são expressos em percentagem (g/ 100g).

TABELA 18 – Determinação de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, lignina, celulose e cinza insolúvel em detergente ácido nas fezes dos ratos pertencentes aos grupos controle positivo (protéico), controle negativo (aprotéico) e teste (*pool* de algas + clara de ovo).

Grupos de ratos Determinações (%)	PROTÉICO	APROTÉICO	POOL de ALGAS
F.D.N.	5,63 ± 0,01 ^a	7,50 ± 0,001 ^a	34,85 ± 8,61 ^b
F.D.A.	1,65 ± 0,04 ^a	1,52 ± 0,02 ^a	11,07 ± 0,96 ^b
Celulose	0,12 ± 0,02 ^a	1,37 ± 0,11 ^b	7,41 ± 0,77 ^c
Hemicelulose	3,98 ± 0,03 ^a	5,98 ± 0,03 ^a	23,78 ± 9,52 ^b
Lignina	1,51 ± 0,009 ^a	0,79 ± 0,009 ^b	2,84 ± 0,30 ^c
Cinza insolúvel em detergente ácido (Sílica)	0,012 ± 0,004 ^a	0,012 ± 0,004 ^a	0,81 ± 0,67 ^b

- Letras iguais na horizontal significa que não existe diferença estatística entre os grupos. Teste de Tukey, programa Eviews 3.1. Os valores representam a Média ± Desvio padrão.
- Os resultados são expressos em percentagem. Probabilidades relativas às comparações entre os grupo teste (*pool* de algas + clara de ovo), controle positivo (protéico) e controle negativo (aprotéico): Lignina: $p < 0,001$; celulose: $p < 0,001$; cinzas: $p < 0,01$; hemicelulose: $p < 0,01$; FDN: $p < 0,001$; FDA: $p < 0,001$

TABELA 19 - Parâmetros relacionados com a matéria seca excretada, nitrogênio ingerido e nitrogênio fecal dos ratos dos grupos teste (*pool* de algas + clara de ovo) comparados com os do grupo controle positivo (protéico).

PARÂMETROS	DIETAS	
	CONTROLE POSITIVO (CLARA DE OVO)	POOL DE ALGAS + CLARO DE OVO
Dieta ingerida (D)	75,30 ± 3,69 ^a	87,67 ± 7,87 ^b
Nitrogênio ingerido (N)	1,26 ± 0,062 ^a	1,17 ± 0,11 ^a
Excreção fecal (F)	4,21 ± 0,46 ^a	26,00 ± 2,87 ^b
Nitrogênio fecal (NF)	0,16 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,06 ^b
F / D x 100	5,59 ± 0,54 ^a	29,58 ± 1,34 ^b
NF / N x 100	12,94 ± 1,24 ^a	42,33 ± 2,90 ^b

- Os valores são expressos como a Média ± SD. Letras iguais horizontalmente referem-se a valores não significativamente diferentes ($p > 0,05$). Teste de Tukey, programa Eviews 3.1. Os valores estão expressos em g/ rato / 5 dias.

A farinha do *pool* de algas marinhas arribadas estudadas, quando incorporado como única fonte de proteína em dietas semi-sintéticas e em comparação com a clara de ovo, apresentou valor de NPU ($52,45 \pm 7,52\%$) inferior àquele da dieta protéica padrão ($71,93 \pm 5,26\%$). A dieta à base de algas apresentou, ainda, baixa digestibilidade ($61,78 \pm 3,01\%$) quando comparada àquela da dieta, controle positivo, à base de clara de ovo ($90,79 \pm 1,27\%$). No entanto, o valor biológico da dieta teste ($81,63 \pm 8,53$) foi ligeiramente superior àquele da dieta, controle positivo, à base de clara de ovo ($79,20 \pm 5,17\%$). Os animais que foram alimentados com a dieta à base de algas apresentaram bom crescimento (NPR = $7,09 \pm 0,32$), apesar de inferior ao do controle positivo (NPR = $9,06 \pm 0,16$ g), o qual representa o padrão de crescimento apresentado pelos animais do experimento nutricional. O mesmo se aplica ao NPU (TABELA 20). Na TABELA 21, verifica-se a variação no peso seco dos órgãos internos dos animais que participaram do experimento nutricional, os quais sofreram alterações. Os órgãos internos dos ratos do grupo teste (*pool* de algas + clara de ovo) como o estômago, intestinos delgado e grosso sofreram hipertrofia, enquanto os baços destes animais sofreram atrofia.

TABELA 20 – Parâmetros nutricionais dos três grupos de ratos (n = 6), controle positivo (clara de ovo), controle negativo (aprotéico - NPC) comparados com o grupo que consumiu a dieta contendo o *pool* de algas + clara de ovo.

Parâmetros	Grupo Controle Positivo (aprotéico)	Grupo Controle Negativo (aprotéico)	<i>Pool</i> de algas + claras de ovo liofilizadas
Consumo diário (g/ dia/ rato)	14,54 ± 1,61 ^a	7,40 ± 2,36 ^b	17,40 ± 2,76 ^c
NPR	9,06 ± 0,16 ^a	—	7,09 ± 0,32 ^b
NPU (%)	71,93 ± 5,26 ^a	—	52,45 ± 7,52 ^b
Digestibilidade (%)	90,79 ± 1,27 ^a	—	61,78 ± 3,01 ^b
Valor Biológico (%)	79,20 ± 5,17 ^a	—	81,63 ± 8,53 ^b
Nitrogênio Corpóreo (%)	8,06 ± 0,31 ^a	8,51 ± 0,24 ^b	7,91 ± 0,21 ^c

- Os valores são expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes horizontalmente referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$). Teste de Tukey, programa Eviews 3.1. (-): não determinado.

TABELA 21 – Peso seco relativo (g/100g de peso corpóreo) dos órgãos internos dos ratos (n = 6/ grupo) dos grupos do *pool* de algas, dieta protéica (clara de ovo liofilizada) e dieta aprotéica (NPC).

ÓRGÃO	APROTÉICO (NPC)	PROTÉICO (CLARA DE OVO)	POOL DE ALGAS
Coração	0,243 ± 0,04 ^a	0,275 ± 0,04 ^a	0,240 ± 0,03 ^a
Estômago	0,489 ± 0,20 ^a	0,435 ± 0,04 ^b	0,507 ± 0,05 ^c
Fígado	3,330 ± 0,23 ^a	3,450 ± 0,26 ^a	3,670 ± 0,35 ^a
Intestino Delgado	1,74 ± 0,48 ^a	1,660 ± 0,24 ^a	2,500 ± 0,20 ^b
Intestino Grosso	0,928 ± 0,49 ^a	0,693 ± 0,073 ^b	0,997 ± 0,11 ^c
Pulmões	0,430 ± 0,05 ^a	0,405 ± 0,06 ^a	0,398 ± 0,02 ^a
Timo	0,102 ± 0,02 ^a	0,187 ± 0,037 ^a	0,177 ± 0,03 ^a
Pâncreas	0,260 ± 0,08 ^a	0,250 ± 0,04 ^a	0,290 ± 0,09 ^a
Rins	0,59 ± 0,03 ^a	0,532 ± 0,06 ^a	0,59 ± 0,04 ^a
Baço	0,110 ± 0,02 ^a	0,190 ± 0,02 ^b	0,15 ± 0,02 ^c

- Os valores são dados em Média ± Desvio Padrão. Letras diferentes na horizontal indica que $p < 0,05$, portanto há diferença significativa entre os órgãos internos dos ratos dos grupos estudados. Teste de Tukey, programa Eviews 3.1.

5. DISCUSSÃO

5.1. Composição Química e Bioquímica das Farinhas de Algas Marinhas Arribadas

5.1.2. Composição Centesimal da Farinha das Algas Arribadas

Existe uma grande diversidade de espécies de algas marinhas arribadas na praia de Fleixiras, o que foi observado durante o transcorrer das coletadas realizadas ao longo de um ano (TABELAS 6), quando foram identificadas 37 espécies, dentre as quais 24 vermelhas, 9 verdes e 4 pardas, conforme Wynne (1985). Foi observada uma variação sazonal referente às espécies de algas coletadas nos diferentes meses do ano. Entretanto, algumas espécies de algas vermelhas tais como, *Amansia multifida*, *Botriocladia occidentalis*, *Hypnea musciformis* e do gênero *Gracilaria* (*G. cervicornis*, *G. domingensis*, *G. ferox*, *G. córnea* e *G. birdeae*) tenham apresentado alta frequência e sendo, portanto, coletadas de 9 a 11 vezes ao longo do período avaliado.

A análise da composição centesimal das farinhas de algas marinhas arribadas referentes aos 12 meses de coletas e do *pool* destas farinhas mostrou que há diferenças significativas entre as amostras coletadas nos diferentes meses no que diz respeito aos parâmetros cinzas, fibras e carboidratos (TABELA 7). Pode-se dizer que os teores de lipídios e proteínas não diferiram estatisticamente, embora tenha ocorrido uma variação nos respectivos valores ao longo dos meses de coletas. Os lipídios apresentaram-se em menores concentrações, as quais variaram em uma faixa de 0,15 a 0,84%. Estes achados estão de acordo com JENSEN (1993), quando o mesmo afirma que, a composição de nutrientes das algas varia conforme a espécie, área geográfica, estação do ano e temperatura da água. E, também com dados encontrados em pesquisa realizada por Fujiwara-Arasaki et al. (1984), os quais relataram que as algas são ricas em carboidratos, possuem baixo teor de lipídios, são ricas em minerais (principalmente cálcio, fósforo e ferro) e são boas fontes de proteínas. Os teores de fibra bruta do *pool* de farinhas de algas variaram entre 4,08 a 8,22%, valores superiores aos da aveia (7%) e feijão (5%) (CHÁVEZ et al., 1996), e semelhante aos encontrados para as algas vermelhas e pardas (3,9 a 13,5%) no litoral do México (DOMÍNGUEZ et al., 2002).

A ocorrência de mudanças nas propriedades físicas das algas marinhas é um importante aspecto de suas funções biológicas. Variações na composição química (cinza, proteína, lipídios e carboidratos) têm sido reportados para um grande número de algas marinhas. Este fato foi observado por Zavodnik (1987) ao trabalhar com a *Ulva rigida* e *Porphyra leucostica*, e também por Benevides et al. (1999) ao trabalharem com as algas vermelhas *Gracilaria domigensis* e *Gellidium pusillum* coletadas em diferentes épocas do ano. Nossos resultados estão de acordo com os destes pesquisadores no que se refere à sazonalidade dos constituintes químicos.

Norziah e Ching (2000) realizaram um estudo comparativo sobre a composição centesimal entre a *Gracilaria changgi* e diversos alimentos (soja, feijão, arroz, milho verde, farinha de trigo, etc). Comparando os valores encontrados neste estudo com os obtidos para o *pool* de farinhas de algas arribadas, observaram-se valores elevados em relação à proteína (com exceção do teor protéico da soja que é maior), fibra, cinzas e teores bem baixos de lipídios (TABELA 8). As algas são conhecidas por sua riqueza em polissacarídeos, minerais e certas vitaminas (ARASAKI e ARASAKI, 1983). O teor protéico é relativamente baixo nas algas pardas, porém alto na maioria das vermelhas. Já o teor de lipídios é geralmente baixo (MABEAU e FLEURENCE, 1993). Entretanto, a concentração desses constituintes químicos varia conforme os fatores sazonais (FLEURENCE et al., 1999).

Galland-Irmouli et al. (1999) determinaram o teor de proteínas na alga vermelha *Palmaria palmata*, a qual foi coletada mensalmente por um período de um ano e os teores encontrados variaram de 9,7 até 25,5% (matéria seca) com média anual de 18,3%, o que mostra claramente uma variação sazonal no teor protéico da citada alga. Este fato também foi observado em nossos experimentos em relação às farinhas de algas arribadas obtidas mensalmente por um período de 12 meses, o qual apresentou variação sazonal, de 10,71 até 14,80 % de proteína, com média anual de 12,76% (TABELA 8). Estes valores estão de acordo com os encontrados por Lourenço et al. (2002). Isto era de se esperar devido à diversidade das espécies coletadas a cada mês e à grande quantidade de carboidratos presentes nas algas, tornando as quantidades de proteínas diluídas no cômputo geral. Além do mais, o teor protéico nas macroalgas tropicais e subtropicais apresenta-se em concentrações reduzidas (KAEHLER e KENNISH, 1996; WONG e CHEUNG, 2000). Nas algas brasileiras ocorre o mesmo (LOURENÇO et al., 2002). Esta tendência

pode ser proveniente das características naturais do ambiente marinho brasileiro, o qual é predominantemente oligotrófico, com baixa disponibilidade de nitrogênio para as populações de algas (OLIVEIRA et al., 1997; OVALLE et al., 1999). Isto pode explicar as reduzidas concentrações de proteínas encontradas nas farinhas de algas marinhas arribadas, quando comparadas com os valores de outras espécies.

A variação sazonal do teor de proteínas em algas marinhas vermelhas é evidenciada por valores mais altos durante o inverno e início da primavera, e mais baixos no verão (a intensa luz do verão também pode causar destruição das proteínas) e outono. Há uma correlação entre os nutrientes nitrogenados da água do mar e o teor de proteína na alga vermelha. Acredita-se que, quanto maior for o teor de nutrientes na água do mar maior será o teor de proteínas nas algas (LEVAVASSEUR e DION, 1988). De acordo com Mabeau e Fleurence (1993), o teor protéico das algas varia grandemente de filo para filo. A fração protéica das algas pardas (*Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* e *Himanthalia elongada*) é geralmente pequena, em torno de 5 a 15% em peso seco, enquanto altos teores protéicos são encontrados nas algas verdes e vermelhas, em média de 10 a 30% em peso seco. As algas vermelhas *Palmaria palmata* (Dulse) e *Porphyra tenera* (nori) apresentam elevados teores de proteínas, de 35 e 47%, respectivamente. Estes teores são comparáveis aos da soja, os quais são superiores a 35% (BENEVIDES et al., 1999). O *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas que avaliamos é uma mistura de algas pardas, vermelhas e verdes em proporções iguais, no qual foi encontrada uma variação protéica sazonal de 10,71 a 14,80% em peso seco.

Embora as algas não sejam uma fonte rica de lipídios, seus teores de ácidos graxos polinsaturados podem ser tão altos quanto os dos vegetais terrestres (DARCY-VRILLON, 1993). As variações nas concentrações de ácidos graxos são atribuídas ao ambiente no qual as algas estão inseridas e também às diferenças genéticas das mesmas (NELSON et al., 2002). Os ácidos graxos saturados são encontrados na maioria das algas vermelhas, enquanto os insaturados nas algas pardas (KHOTIMCHENKO et al., 2002; SÁNCHEZ-MACHADO et al., 2004). Herbreteau et al. (1997) reportaram teores de 4% de lipídios para as algas marinhas. Em estudo realizado com algas vermelhas e pardas, Sánchez-Machado et al. (2004) encontraram teores de lipídios de 0,7 e 1,8%, respectivamente. Estes achados estão

de acordo com os detectados nas farinhas e no *pool* de algas marinhas arribadas, os quais apresentaram uma variação de 0,15 a 0,84% de lipídios.

O método de mineralização utilizado na obtenção de cinzas exerce influência significativa na determinação final dos minerais de algas, pois existe risco de perdas durante a incineração da amostra, devido à volatilização da amostra ou insolubilidade de elementos minerais (FLEURENCE e LE COEUR, 1999). O teor de cinzas da maioria dos vegetais terrestres fica em torno de 5 a 10g de cinzas/ 100g de matéria seca. A batata apresenta 10,4%, cenoura com 7,1%, tomate com 7,1%, milho com 2,6%, enquanto o espinafre tem, excepcionalmente para uma planta terrestre, 20,4% de cinzas (USDA, 2001). Os teores de cinzas encontrados no *pool* de farinhas de algas variaram de 13,27% (no mês de abril) a 25,58% (no mês de novembro), os quais são superiores aos anteriormente descritos. Portanto, este material pode ser considerado uma boa fonte alimentar de minerais. A composição mineral do *pool* de algas arribadas é comparável aos valores reportados de algas provenientes de diferentes partes do mundo (CHAU et al., 1997; McDERMID e STUERCKE, 2003).

Arasaki e Arasaki (1983) reportaram que os teores de carboidratos em algas marinhas estão na faixa de 50-60% do peso da matéria seca. As farinhas de algas apresentaram concentrações semelhantes de carboidratos na faixa de 50,39 - 63,91%, com uma média de 57,05%.

No decorrer da nossa pesquisa foi constatado a sazonalidade de espécies de algas, bem como as variações nas concentrações nos diversos nutrientes da composição centesimal. A diferença entre os nutrientes contidos nas amostras de farinhas de algas arribadas pode ser resultante da extraordinária capacidade que as algas possuem de acumular elementos presentes na água (CARRILLO et al., 1992). Dawes (1991) reporta que as trocas sazonais nas concentrações de lipídios, carboidratos e proteína são possíveis indicadores do estado fisiológico da alga. Todas as coletas foram realizadas em marés baixas, a cada mês do experimento, mas nem sempre entre uma maré baixa e outra distavam exatamente 30 dias, e observou-se que a intensidade de luz e o período das chuvas, dentre outros fatores, contribuíram para essa variabilidade de resultados. Isto está de acordo com achados de Honya et al. (1993); Mabeau e Fleurence (1992) e Yoshie et al. (1994), os quais reportaram que o teor mineral das algas varia conforme o lugar geográfico de coleta, fatores temporais e ambientais, sua espécie, tempo de permanência no oceano,

exposição às ondas, sazonalidade, tipo de processamento dado à alga e do método de mineralização utilizado no preparo da amostra para as análises de minerais. Para Lobban e Harrison (1994) aliado ao exposto, temos o meio marinho muito rico em elementos minerais e também, a grande capacidade que as algas possuem de armazená-los. Segundo Rupérez (2002) é difícil comparar os teores de minerais encontrados nas várias algas com os dados provenientes da literatura devido aos fatores já pontuados anteriormente, e também à omissão de detalhes na mineralização das amostras empregados nos métodos de análises. É reportado que o teor mineral de algas é muito maior do que aqueles encontrados para plantas terrestres comestíveis. O teor de elementos traços ($\text{Fe}^{+2} + \text{Zn}^{+2} + \text{Mn}^{+2} + \text{Cu}^{+2}$) no milho é de 4,9 mg/ 100 g da amostra, *Laminaria digitata* é de 6,06 mg/ 100 g (alga parda), *Porphyra tenera* é de 15,73 mg/100g, enquanto que no *pool* de farinhas de algas arribadas encontramos 432,82 mg/ 100 g da amostra (TABELA 10). Este valor é bem superior ao do espinafre (50,7 mg/100g), que apresenta o mais alto teor de elementos traços das plantas terrestres. O *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas é uma mistura de algas verdes, vermelhas e pardas, onde prevalecem as duas últimas, com um alto teor de magnésio (538,76 mg de magnésio/ 100 g matéria seca). Provavelmente, isto está relacionado aos seus pigmentos, principalmente a clorofila, da qual o magnésio faz parte. Isto está de acordo com Hortobágyi et al. (1980), citados por Csikkel-Szolnoki et al. (2000), quando reportaram que as algas contêm diversos pigmentos além das clorofilas. Segundo Franco (1999) os íons magnésio atuam como coenzimas na carboxilase, enolase, fosfoglicomutase e fosforilase, estando envolvidos na transferência de fosfato que utiliza a adenosinatrifosfato (ATP); é importante na contração muscular, na transmissão nervosa, no metabolismo intermediário do fósforo e dos glicídios, sendo essencial para a estabilização estrutural dos ácidos nucléicos. Todas as algas presentes no *pool* de farinhas têm clorofila na sua composição. Os minerais, cálcio (1722,60 mg/100g), magnésio (538,35 mg/100g), ferro (98,43 mg/100g) e manganês (332,52 mg/100g) presentes no *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas cobrem as necessidades de Ingestão Diária de Referência (DRI) para as crianças de 1 a 3 anos de idade, e sua concentração de cobre (0,39 mg/100g) ultrapassar o DRI (0,34mg/100g) para essas mesmas crianças. As concentrações dos minerais cálcio e manganês no *pool* de farinha de algas são bastante altas, e suas importâncias para os seres humanos são fundamentais, pois, segundo Mahan e Escott-Stump

(1998), o cálcio é o quinto elemento mais abundante no organismo. Constitui cerca de 1,5 a 2% do peso corpóreo - 99% do cálcio está nos ossos e dentes e o 1% restante está no sangue e líquidos extracelulares e dentro das células dos tecidos moles. Além de sua função na construção de ossos e dentes, o cálcio também tem uma série de papéis metabólicos: afeta a função de transporte das membranas celulares, influencia a transmissão de íons através das membranas de organelas celulares, a liberação de neurotransmissores, a função dos hormônios protéicos e a liberação/ativação de enzimas dentro e fora das células. O cálcio também é necessário para a transmissão nervosa e regulação do batimento cardíaco. A concentração de manganês no organismo humano tende a ser alta em tecidos ricos em mitocôndrias. Está associado à formação de tecido conjuntivo e ósseo, crescimento e reprodução e metabolismo e carboidratos e lipídeos.

As algas marinhas constituem fontes potenciais de fibra dietética que diferem química e físico-quimicamente daquelas de plantas terrestres, predominando maior concentração de fibras solúveis nas mesmas (MORRIS et al., 1989; Kishi et al., 1982). Devido ao grande número de diferentes espécies e à variada especificidade dos polissacarídeos algais, existe grande dificuldade em se determinar a fibra dietética em algas marinhas utilizando uma única metodologia (LAHAYE, 1991), por isso a literatura é escassa em reportar os teores de fibra dietética em algas (MORRIS et al., 1989; Kishi et al., 1982). A determinação de fibra dietética no pool de farinhas de algas arribadas apresentou um teor de 2,59 g/100 g da amostra, valor muito inferior ao determinado para muitas algas. Nossos resultados estão em desacordo com os publicados por Lahaye (1991), cujas concentrações de fibra dietética para algas pardas, vermelhas e verdes ficaram entre 49,0 a 69,7 %. Acreditamos que, provavelmente, essas discrepâncias entre os valores citados são decorrentes das espécies de algas, nossas espécies são tropicais enquanto as de Lahaye são de clima temperado, o que justifica as diferenças não só em termos de fibras dietéticas, mas também em relação aos demais nutrientes. Outro fator de igual importância seria as dificuldades que o método oficial de determinação de fibra dietética apresenta quando se trata de material com intensa propriedade de gelificação. Por conta disso, também foram realizadas análises referentes às fibras totais, incluindo análises das frações de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), e os componentes de lignina e celulose, sendo que, a concentração de fibra solúvel foi obtida por diferença

entre (100 – FDN), cujo valor representa todo material insolúvel presente na amostra. Segundo Pourchet-Campos (1988) a fração fibra dietética é constituída pela fração insolúvel e solúvel. Fazem parte da fração insolúvel a celulose, algumas hemiceluloses (hemiceluloses arabinoxilanas, segundo JIMÉNEZ-ESCRIG e SÁNCHEZ-MUNIZ, 2000), amido resistente e a lignina, enquanto a fração solúvel é formada pelas pectinas, gomas, mucilagens e as hemiceluloses xiloglucanas e galactomananas (OLSON et al., 1987; JIMÉNEZ-ESCRIG e SÁNCHEZ-MUNIZ, 2000). No caso do pool de algas, a fração insolúvel (hemicelulose, celulose e lignina) representa 40,41% e a solúvel 56,15%; cerca de 0,87% representam proteína lignificada, pigmentos, gorduras presentes no teor celular (TABELA 9). As cinzas insolúveis em detergente ácido, equivaleram a 0,87% representada pela sílica. O valor médio das fibras totais foi de 6,86%, bem acima daquele estimado através do método enzimo-gravimétrico, que normalmente traz valores inferiores àqueles superestimados da metodologia de fibra bruta (PROSKY et al., 1984). Acreditamos que ainda é necessário estudos para apontar a melhor metodologia na determinação de fibras em algas.

Quanto maior forem os valores do FDN e FDA, menores serão o consumo e a capacidade do animal de digerir a ração. Para a hemicelulose o valor obtido foi comparável ao relatado para a casca do farelo de soja (CFS: 26,18 g / 100g), 13 e 6,5 vezes mais elevado que os encontrados para o farelo de soja (FS: 2,09 g /100g) e milho moído (MM: 4,45 g /100g). Os dados para FDN e FDA obtidos para o *pool* de farinhas (41,28 e 14,87 g/100g) foram muito superiores aos relatados para FS (12,22 e 43,02 g/100g) e MM (9,90 e 5,44 g/100g), respectivamente (TABELA 9). Os resultados obtidos para o *pool* de algas arribadas são superiores aos das verduras alface e couve-flor cozida, aos legumes chuchu cozido, tomate fresco e vargem cozida e às frutas abacaxi, maçã com casca, mamão e melancia, reportados por Silva et al. (1990).

5.1.3. Contaminação Microbiológica e por Metais Pesados

A fim de se obter alguma informação sobre os níveis de contaminação das algas, tanto por poluentes como por microrganismos, foram realizadas, em paralelo, determinações de metais pesados e análise microbiológica das amostras

coletadas. A orla litorânea da cidade está em pleno desenvolvimento comercial, com a presença de restaurantes, pousadas e hotéis, os quais lançam seus esgotos na praia, criando um índice de poluição já observada através da análise microbiológica realizada com o *pool* de farinhas de algas coletadas naquela área. Essas análises apresentaram resultados positivos para coliformes fecais, $9,3 \times 10^3$ Números Mais Prováveis (NMP); bolores e leveduras, $4,1 \times 10^2$ Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g) (análises não apresentadas nos resultados; foram realizadas pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos, do Departamento de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará – Anexo 1).

Com relação aos metais pesados considerados tóxicos, que estão presentes no *pool* de algas marinhas arribadas, encontra-se o cádmio, cromo, níquel e vanádio (TABELA 11). O teor de cádmio (0,29 mg/100g) encontrado no *pool* de algas apresentou valor superior ao vigente na legislação francesa (0,05 mg/ 100g de cádmio) (TABELA 4), isto denota, provavelmente, que a água onde as algas foram coletadas já mostra indícios de poluição proveniente, provavelmente, do Porto do Pécem (próximo a Fleixeiras) , dos esgotos dos restaurantes e residências localizadas próximo ao sítio de coleta. No que diz respeito aos níveis seguros de metais pesados presentes em algas destinadas ao consumo humano, os valores encontrados nas algas estão elevados, quando comparados com os valores (4 mg de metais pesados/ 100g de matéria seca) estipulados pela legislação americana. Só a concentração do vanádio já é quase o limite máximo estipulado. No caso de peixes, de acordo com a FDA (1993), os níveis de metais pesados não devem ultrapassar 10 ppm de chumbo (Pb) e 3 ppm de arsênio. O estanho, níquel, vanádio e silício agora são conhecidos como sendo essenciais ao organismo humano, mas ainda não possuem estabelecidas as ingestas diárias de referências (DRI).

5.1.4. Composição de Aminoácidos

Os aminoácidos não essenciais presentes no *pool* de algas em maiores concentrações são arginina, ácido glutâmico, ácido aspártico e alanina (TABELA 13). Os resultados determinados estão de acordo com os encontrados por Wahbeh (1997) e Costa et al. (1999). Quanto aos essenciais, todos foram encontrados em

baixas concentrações (TABELA 12). Verifica-se que, mesmo aqueles que estão com os níveis maiores, ainda estão abaixo dos teores encontrados na proteína padrão do ovo, e não cobrem os requerimentos de ingestas diárias de referências (DRIs) das crianças de 1 a 3 anos de idade, salvo o aminoácido isoleucina, com 36,8 mg/ g de proteína, o qual apesar de suprir as necessidades das crianças, não cobre o RDA de ratos. No entanto, o fato do *pool* de algas possuir os aminoácidos essenciais, não implica que todos estejam disponíveis aos processos digestivos, absorptivos e metabólicos. Deve-se observar que a amostra citada apresenta em sua constituição antinutrientes capazes de complexar proteínas, aminoácidos e outros nutrientes. Entretanto, quando se analisa a composição aminoacídica da dieta teste (*pool* de farinhas de algas + clara de ovo) verifica-se que os aminoácidos essenciais fenilalanina+tirosina (67,8 mg/ g de proteína), metionina+cisteína (37,7 mg/ g de proteína), treonina (37,2 mg/ g de proteína), triptofano (43,9 mg/ g de proteína) e valina (53,4 mg/ g de proteína) cobrem as necessidades de ingestas diárias de referências (DRIs) para crianças na faixa de idade anteriormente citada. Mas, em relação ao RDA para ratos, apenas o aminoácido triptofano cobre seus requerimentos.

Os aminoácidos livres presentes nas algas são principalmente alanina, ácido aminobutírico, taurina, ornitina, citrulina e hidroxiprolina. Os níveis diferem de acordo com as espécies (ARASAKI e ARASAKI, 1983). Geralmente, os vários tipos de algas comestíveis exibem um padrão similar de aminoácidos essenciais. (ARASAKI et al., 1984, citados por MABEAU e FLEURENCE, 1993). Certas espécies possuem altos níveis de arginina (*Ulva pertusa*, *Undaria pinnatifida* e *Porphyra tenera*) ou glicina (*Porphyra tenera*) (ARASAKI e ARASAKI, 1983).

O triptofano, metionina e cisteína são os aminoácidos essenciais em menores concentrações no *pool* de algas. Isto está de acordo com os teores reportados por Lourenço et al. (2002). Portanto, a ingestão dessa farinha só deveria ser utilizada como complemento protéico, devido à importância desses aminoácidos no contexto do crescimento do animal e manutenção da sua vida. O triptofano atua como precursor do neurotransmissor serotonina, cuja carência no homem pode levar à agressividade patológica, depressão com tendências suicidas, e, sendo precursor da niacina, apresenta função ímpar no metabolismo energético dos organismos vivos (MOSKOWITZ et al., 2001; NUNES, 1998a citado por CAMPELLO, 2003). Os

aminoácidos não essenciais presentes no PFA que estão em maior concentração são a alanina, arginina, o ácido aspártico e glutâmico.

5.1.5. Componentes Tóxicos e/ou Antinutricionais

Substâncias com algum nível de toxicidade podem também estar presente nos alimentos e algas marinhas. Dentre essas estão as lectinas (ROGERS e HORI, 1993), cuja presença foi detectada no *pool* de algas através da atividade hemaglutinante dos extratos totais provenientes do *pool* de farinhas de algas arribadas extraídas com diversos tampões. Para tanto foram utilizados eritrócitos de coelho, galinha e de sangue humano (sistema ABO), (TABELA 14). Não foi detectada nenhuma atividade hemaglutinante com os eritrócitos humanos do sistema ABO, nativos ou tratados enzimaticamente com bromelaína, papaína ou tripsina. Os eritrócitos de coelho e de galinha apresentaram alta atividade hemaglutinante de 64 e 32 UH/ml, respectivamente. Enquanto que os mesmos eritrócitos apresentaram baixa atividade hemaglutinante (2 UH/ml), quando foram tratados com subtilisina e tripsina. Quando a extração foi realizada com tampão acetato, os eritrócitos de coelho tratados com tripsina apresentaram atividade hemaglutinante de 8 UH/ml. Ainouz et al. (1992) desenvolveram pesquisa com 27 espécies de algas pardas, vermelhas e verdes da costa cearense e obtiveram resultados positivos para a aglutinação de eritrócitos humanos do sistema ABO tratados com tripsina, bromelaína e papaína, contrariamente aos nossos resultados, onde não foi observada aglutinação. Já para os eritrócitos de coelho e galinha os resultados de ambas as pesquisas são similares e apresentando maior susceptibilidade à aglutinação com o tratamento realizado com tripsina. O potencial tóxico de uma lectina pode ser determinado baseando-se em sua reatividade com eritrócitos de animais e humano, tratados com tripsina ou não (JAFFE, 1980; GRANT et al., 1982). Segundo Jaffe (1980) e Grant et al. (1983), as lectinas que aglutinam fortemente eritrócitos de coelho, rato, carneiro e humano (tipos O e AB) tratados enzimaticamente ou não, apresentam alta toxicidade oral para ratos. Em contraste, aquelas lectinas que aglutinam somente eritrócitos de coelho e de rato (tratados com pronase) são essencialmente não tóxicas. A atividade hemaglutinante pode ser resultante da ação de lectinas, polifenóis, taninos e lipídios. O tratamento

com enzimas pode colaborar neste intento, pois aumenta a capacidade de aglutinação aumentando a exposição dos carboidratos das membranas celulares pelos quais as lectinas têm maior afinidade (PUSZTAI et al., 1981). O *pool* de farinhas de algas arribadas contém 0,35% de lipídios, 0,059% de tanino (59,00 mg/100g de farinha) e 60,71% de carboidratos. Em virtude do grande percentual de carboidratos presentes na amostra, é provável que suas lectinas estejam diluídas em relação aos demais constituintes do *pool* de algas. A lectina se liga preferencialmente às porções glicídicas das membranas dos eritrócitos de forma reversível. Se o meio contiver alto percentual de carboidratos, e a lectina apresentar afinidade maior por estes, a mesma poderá se ligar ao carboidrato, portanto não haverá aglutinação lectina-eritrócitos (AINOUZ e SAMPAIO, 1991; FREITAS et al., 1997). Isto poderia explicar os resultados divergentes de aglutinação entre nossos resultados e aqueles de Ainouz et al. (1992). A perda da atividade hemaglutinante leva algumas vezes a falsos resultados. Estudiosos do assunto como Chiles e Bird (1989) citados por Benevides et al. (1999) observaram que as proteínas hemaglutininas de extratos totais de algas marinhas, os quais possuem metabólitos solúveis como os monossacarídeos e polifenóis, podem ser uma fonte potencial de erros e variações nos resultados destas análises. Ainouz e Sampaio (1991) verificaram também que mesmo para eritrócitos tratados enzimaticamente com vários tipos de enzimas, não ocorria aglutinação das proteínas, hemaglutininas, em extratos totais de *G. domigensis*. Dessa forma, é sugestão de Chiles e Bird (1989), que os extratos utilizados nos testes de hemaglutinação sejam pelo menos parcialmente purificados. Em nossas análises utilizamos extratos totais e foi observada pouca atividade hemaglutinante nos mesmos, independente do tratamento enzimático (papaína, bromelaína, subtilisina e tripsina) dado aos vários tipos de eritrócitos usados (sangues de coelho, galinha e humano). Isto ocorreu talvez, porque os extratos utilizados não foram purificados e/ou devido à grande variedade de algas presentes no *pool* de farinhas de algas arribadas, que por sua vez apresentam grandes quantidades de carboidratos (espécies agarófitas, exemplos *G. domigensis*, *G. pusillum*), taninos, inibidores de tripsina e de α -amilase e muito provavelmente polifenóis (presentes, principalmente nas algas pardas), os quais podem interferir nos processos de aglutinação, ao mesmo tempo em que, deixam o teor de hemaglutininas diluídas frente ao grande número e quantidade de outras substâncias. Talvez os baixos títulos de hemaglutinação encontrados sejam

provenientes de espécies de algas presentes no *pool* de farinhas, que possuem lectinas reconhecidamente hemaglutinantes comprovadas em trabalhos já realizados com algas marinhas da costa cearense e de outros lugares (CHILES e BIRD, 1989; AINOUIZ e SAMPAIO, 1991; PONTE FREITAS et al, 1997; BENEVIDES et al., 1999).

Nos estudos preliminares, para verificar a presença ou não de fatores tóxicos no *pool* de algas foram produzidos extratos totais com as amostras de algas e injetados por via intraperitoneal em camundongos. Acreditamos que nenhum efeito tóxico foi detectado pelo fato dos constituintes tóxicos estarem presentes em baixa concentração. Por conta disto, estes foram concentrados por precipitação protéica do extrato com sulfato de amônio a 80% de saturação (F 0/80), os quais foram, posteriormente, liofilizados. Desta fração foi elaborada uma solução estoque na proporção de 1:1 (m/v), a partir da qual foram preparadas doses em diferentes concentrações (as doses testadas foram de 30, 50, 75 e 100 mg da fração 0/80 do *pool* de algas/ Kg de peso corpóreo) e aplicadas nos camundongos para a determinação da dose capaz de matar 50% dos animais (DL_{50}). Foram observados sintomas neurotóxicos semelhantes àqueles descritos por Vasconcelos et al. (1994) e o valor da DL_{50} desta fração foi estimado em 63,75 mg / Kg de peso do animal (TABELA 15).

Segundo Pinto et al. (2001), substâncias como os compostos fenólicos totais (taninos), inibidores de tripsina e de α -amilase, ácido fítico, dentre outras, são consideradas como fatores antinutricionais devido os mesmos poderem interferir na biodisponibilidade e digestibilidade de alguns nutrientes como proteínas e minerais traços. Neste trabalho (TABELAS 15) foi detectada a presença dos antinutrientes inibidores de tripsina e de α -amilase, taninos e ácido fítico no *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas.

Os procedimentos de lavagens repetidas de sementes em água, seguida por decantação; tratamento térmico (calor úmido e seco: fervura, autoclavagem, microondas) de alimentos e a germinação são métodos utilizados em muitos locais do mundo com a finalidade de eliminar os fatores tóxicos e/ou antinutricionais presentes em alimentos, pois em sua maioria são substâncias termolábeis (GEERVANI e THEOPHILUS, 1981; MUBARAK, 2004). No nosso experimento utilizamos calor seco para fazer o tratamento térmico do *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas antes e depois dos ensaios de inibidores de tripsina e de α -

amilase, como será explicado posteriormente. Os inibidores de tripsina e de α -amilase podem ser parcialmente ou totalmente destruídos durante o cozimento tradicional de alimentos (KORTT, 1980). A redução dos fatores antinutricionais como os taninos, ácido fítico, inibidores de proteases e outros antinutrientes, pode ser obtida através da aplicação de um tratamento térmico utilizando calor úmido ou seco (REHMAN e SHAH, 2004). De acordo com KADAM et al. (1987), o calor úmido como a fervura e a autoclavagem, melhoram a qualidade das proteínas de leguminosas e vegetais diversos, devido à redução dos níveis de antinutrientes. No nosso trabalho aplicamos calor seco utilizando forno de fogão (forma caseira), a uma temperatura de torragem de farinhas, em torno de 200 °C por tempos diversos de 10, 20 e 30 minutos, para verificar o comportamento do alto teor de inibidores de tripsina e de α -amilase presentes no *pool* de farinhas de algas arribadas. O tempo de 10 minutos foi suficiente para inativar os inibidores de α -amilase, mas não causou inativação dos inibidores de tripsina (TABELA 15), o que contraria pesquisa realizada por Romero (1981), onde os inibidores de tripsina presentes na quinoa (*Chenopodium quinoa*, Wild) são termolábeis, sendo destruídos por cocção, autoclavagem e extrusão. Nossos resultados estão de acordo com outros pesquisadores, no tocante à redução de taninos e outros antinutrientes presentes em alimentos (SHARMA et al., 1992; SINGH, 1993; REHMAN e SHAH, 2004).

A inativação ou eliminação dos inibidores de proteases melhora o valor nutritivo dos alimentos, e pode ser realizada através de procedimentos como tratamento térmico, agentes redutores (sulfito de sódio, cisteína), fracionamento protéico e extração com álcool (RACKIS et al., 1986; FRIEDMAN e GUMBMANN, 1986). A escolha da temperatura de 200 °C utilizada no tratamento térmico das amostras deveu-se à sua equivalência em relação à temperatura moderada do forno de fogão convencional utilizada para torrar grãos de forma caseira, já que este tratamento térmico, na realidade, seria o empregado por pessoas simples das comunidades litorâneas, em suas residências, ao preparar o *pool* de farinhas de algas arribadas para ser consumida pela família. O que se preconiza na literatura é o uso das temperaturas de 70 °C (fervura) a 128 °C (autoclavagem), variando o tempo de exposição da amostra (REHMAN e SHAH, 2004). A aplicação de calor em vegetais (ex. leguminosas) antes do consumo pode melhorar a qualidade de suas proteínas através da destruição ou inativação de fatores antinutricionais termolábeis,

porém, algumas vezes, o calor não é capaz de fazê-lo. Também pode ocorrer a destruição de vitaminas e perda de minerais, bem como a redução do teor de lisina disponível nessas leguminosas, que já é bastante baixo (KON et al., 1981; BARAMPAMA et al. 1995; CHAU et al., 1997). O tratamento térmico realizado no *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas não foi suficiente para desnaturar o inibidor de tripsina, e assim acabar com sua função biológica. Reporta-se que o inibidor de tripsina é bastante resistente ao calor, ao contrário dos inibidores de α -amilases (Am1 e Am2), os quais são altamente instáveis a altas temperaturas. No extrato do *pool* de algas na concentração de 1:20, a inibição da α -amilase chega a 70,47%, o que implica em um alto efeito antinutricional, o que nos levou a optar pelo tratamento térmico escolhido. O fato dos inibidores de tripsina não terem sido inativados pelo tratamento térmico aplicado discorda parcialmente dos achados de MUBARAK (2004), o qual relata que a aplicação de calor e o uso de cocção por microondas são métodos capazes de reduzir ou mesmo destruir antinutrientes, principalmente inibidores de proteases.

O uso de calor úmido é mais eficiente na inativação dos inibidores de protease em alimentos do que o calor seco (RACKIS et al., 1986, SIDDHURAJU et al., 2002). A perda da atividade destes inibidores é função da combinação da temperatura, duração do aquecimento, tamanho da partícula do alimento e condições de umidade utilizadas no processamento (DIPIETRO e LIENER, 1989). Nossos resultados em relação à inativação da atividade dos inibidores de tripsina e α -amilase estão de acordo, parcialmente, com o exposto anteriormente, pois o calor seco utilizado foi suficiente para inativar a α -amilase, enquanto os inibidores de tripsina mostraram apenas uma pequena redução na sua atividade. Doell et al. (1982) e Rackis et al. (1986) reportaram que muitas vezes, o tratamento térmico aplicado não é suficiente para inativar os inibidores de proteases e de α -amilase, devido à presença desses inibidores em diferentes formas moleculares (isoinibidores) e esses, geralmente apresentam diferentes sensibilidades ao calor. Para Al-Kahtani (1995), a temperatura de 70°C /120 minutos é suficiente para desnaturar os inibidores de α -amilase.

Porres et al. (2003) apontam os inibidores de tripsina, taninos, catequinas e fitatos como fatores antinutricionais de leguminosas. Em estudo realizado por estes pesquisadores, usando lentilhas (*Lens culinaris* M.), foi determinado um teor

de tanino de 180 mg/100g de matéria seca, o qual não pareceu produzir efeito significativo na digestão em ratos. Este teor de tanino é bem superior ao encontrado no *pool* de farinhas de algas arribadas (59,0 mg de tanino/100g do *pool* de farinhas de algas arribadas) oferecido como dieta teste a um grupo de ratos no experimento nutricional, enquanto é próximo ao da alga *Enteromorpha spp*, 62,0 - 97,0 mg de tanino/100g de amostra, reportado por Aguilera-Molares et al. (IN PRESS). Singleton e Kratzer (1969) relataram efeitos deletérios dos taninos sobre animais de laboratório (danos na mucosa do trato gastrintestinal), e Deshpande et al. (1984), também incluíram neste rol, reduções na ingestão alimentar, taxa de crescimento, digestibilidade protéica, eficiência do alimento e na energia líquida metabolizada. Tais observações não foram verificadas nos ratos do grupo teste (*pool* de farinhas de algas), pelo contrário, os animais tiveram uma alta ingestão alimentar, cresceram bastante, embora um pouco abaixo dos ratos do grupo controle positivo (Figuras 6 e 7). Portanto, o teor de taninos presentes na amostra teste (*pool* de farinhas de algas) parece não ser suficiente para causar danos severos aos animais no estudo realizado, mas podem ter contribuído para uma menor digestibilidade da proteína e para o resultado negativo na determinação de lectinas (MAIA et al., 2000).

Os ratos que consumiram a dieta teste formada pelo *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas, o qual continha entre seus constituintes intrínsecos, 59,0 mg de tanino/100g da amostra (equivalente a 0,75% do *pool* de farinhas de algas que foi adicionado à dieta teste), apresentaram um ganho de peso na faixa de $31,17 \pm 4,99$ g/peso seco, o qual é menor do que o ganho de peso mostrado pelos ratos do experimento de Mole et al. (1993), os quais foram submetidos a dietas balanceadas, isofenólicas (iguais quantidades de compostos fenólicos, 1,05%, inclusive tanino, mas de diferentes estruturas químicas). Neste experimento, o grupo de ratos que consumiu dieta contendo frações polares de compostos fenólicos apresentou ganho de peso de $9,6 \pm 1,2$ g/ peso seco; o grupo de ratos que ingeriu dieta contendo frações não polares de compostos fenólicos obteve ganho de peso de $18,1 \pm 1,9$ g/ peso seco; o ganho de peso do grupo que consumiu dieta contendo ácido tânico foi de $16,2 \pm 1,1$ g/ peso seco, e o grupo de ratos com dieta controle (isenta de compostos fenólicos) apresentou ganho de peso de $55,8 \pm 3,3$ g/peso seco. Existe portanto, diferença significativa entre os ganhos de peso do grupo de ratos que consumiu o *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas e todos os outros grupos de ratos, mas, embora os ratos da dieta do *pool* de algas tenham ganhado menos

peso do que o grupo controle do experimento anteriormente citado, tal ganho de peso foi muito superior aos demais grupos cujas dietas continham tanino, frações polares e não polares de compostos fenólicos, o que nos leva a crer que a quantidade e/ou o tipo de tanino presente na dieta do *pool* de farinhas de algas não constitui maior problema para o crescimento dos ratos do nosso experimento.

O teor de ácido fítico encontrado nas farinhas de trigo refinada e integral é de 2 a 4% e 6 a 10%, respectivamente (FEBLES et al., 2001). No farelo de arroz a concentração de ácido fítico é de 5 a 6%, sendo um dos mais altos, já referido na literatura para alimentos (BRASIL, 2004). Quando se comparam os valores antes citados aos obtidos para o *pool* de algas marinhas arribadas, que é de 0,45% de ácido fítico (TABELA 15), observa-se uma baixa concentração no *pool*. Mas, comparando este valor com o apontado na Legislação Brasileira da Agência de Vigilância Sanitária -ANVISA (Resolução no. 53 de 15 de junho de 2000, em anexo 2 – BRASIL, 2002), a qual determina que os níveis de ácido fítico em alimentos não podem exceder 0,1%, verifica-se que o teor deste ácido no *pool* de algas excede o que preconizam as normas virgentes. Entretanto, esta concentração de 0,45% do *pool* é inferior aos teores encontrados em alimentos comumente ingeridos pelo homem, tais como feijão comum (*P. vulgaris* = 1,45%) (OLIVEIRA et al., 2003); farinha de trigo refinada (2 a 9,6%) (DOMÍNGUEZ et al., 2002); milho (*Zea mays* = 0,77%), soja (*G. Max* = 1,5%) e farelo de arroz com 3,77% (CHERYAN, 1980). Contudo, em geral, a presença de ácido fítico no alimento não implica na existência de problemas de toxicidade aguda, mas isto depende do restante da ingestão dietética (PATEARRYO e FERNÁNDEZ-QUINTELA, 1995). Mas, como os fitatos não podem ser absorvidos e os humanos possuem habilidade limitada para hidrolisar esta molécula, um efeito adverso deste ácido na biodisponibilidade de minerais é previsto. Além disso, o fósforo do fitato não está nutricionalmente disponível (PAWAR e INGLE, 1988; FEBLES et al., 2002).

5.2. Experimentos Nutricionais

O valor nutricional das algas arribadas testadas em combinação com clara de ovo liofilizada foi avaliado através da sua composição centesimal, composição de minerais, aminoácidos e através de testes biológicos, onde se avaliou a qualidade

das proteínas da dieta experimental. Em relação ao ganho de peso obtido pelos ratos do experimento nutricional, os animais alimentados com a dieta padrão, cuja fonte de proteína foi clara de ovo liofilizada (grupo padrão/ controle) obtiveram maior crescimento do que os ratos do grupo teste alimentados com a mistura *pool* de farinhas de algas arribadas + clara de ovo liofilizada, na proporção 4:1 (FIGURA 6, TABELA 16). Esta proporção foi selecionada após várias tentativas de se encontrar a formulação adequada que permitisse o fornecimento de 10% de proteínas e que as dietas fossem isoprotéicas e isocalóricas. A aceitação dos ratos a uma dieta constituída por algas, e o bom crescimento destes animais resultantes do consumo da dieta à base de algas, também foram observados em pesquisa desenvolvida por Urbano e Goñi (2002), onde foram utilizados um grupo controle e dois grupos distintos alimentados com as algas *Undaria pinnatifida* e *Porphyra tenera*; os três grupos utilizaram caseína como fonte de proteína. Nossos resultados mostraram um ganho de peso de $50,7 \pm 2,7$ g para o controle positivo, e $31,17 \pm 4,99$ g para o grupo que consumiu o *pool* de algas. Observou-se uma perda de peso de $20,65 \pm 2,69$ g para os ratos que consumiram dieta aprotéica. Portanto, quanto a este parâmetro há diferença significativa entre os três grupos citados (Figura 7). Estes dados diferem dos encontrados por Bocanera et al. (2003) em trabalho realizado com as algas nori (*Porphyra tenera*), konbu (*Laminaria digitata*) e um controle positivo à base de caseína como fonte de proteína, onde o ganho de peso entre os três grupos não apresentou diferença significativa entre eles. Em face do exposto concluímos que as algas marinhas arribadas contidas nesta dieta contribuiriam para o ganho de peso e crescimento dos ratos do grupo teste, embora com uma eficiência 38% menor do que a da dieta balanceada padrão. Este menor aproveitamento poderia ser explicado por vários fatores, tais como o perfil de aminoácidos inadequado, a presença de fatores tóxicos e/ou antinutricionais e a menor digestibilidade dos componentes da dieta teste. O consumo da dieta do *pool* de algas ($174,61 \pm 8,57$ g) foi superior ao consumo das dietas protéica ($145,39 \pm 5,91$ g) e aprotéica ($78,38 \pm 9,6$ g). Este fato está de acordo com dados obtidos por Wong et al. (1999) e Ren et al (1994), os quais afirmam que em experimentos nutricionais utilizando ratos, as dietas contendo algas marinhas são bem aceitas, sendo consumidas em uma quantidade similar ou superior àquela pertencente à dieta controle. Este fato é reforçado em trabalhos desenvolvidos por Bocanera et al., (2003) e Urbano e Goñi

(2002), os quais usaram nas dietas testes, as algas marinhas nori (*Porphyra tenera*), konbu (*Laminaria digitata*) e wakame (*Undaria pinnatifida*).

Os ratos componentes do grupo teste apresentaram o maior consumo alimentar, embora seu ganho de peso tenha ficado um pouco abaixo aos dos ratos do grupo protéico (controle positivo). O que nos leva a concluir que a dieta cuja fonte de proteína era uma mistura constituída por 80% de algas e 20% de clara liofilizada de ovo manteve a vida dos animais e promoveu o crescimento dos mesmos. Existe diferença significativa em relação ao ganho de peso, ingestão de dieta e conversão alimentar entre os três grupos (TABELA 16). A conversão alimentar dos grupos foi de $0,35 \pm 0,02$; $-0,27 \pm 0,05$ e $0,18 \pm 0,03$ para os ratos pertencentes aos grupos protéico, aprotéico e *pool* de algas, respectivamente. Esses resultados podem ser explicados pelos mesmos fatores mencionados acima.

As fezes dos ratos dos grupos controle (positivo, $5,33 \pm 0,61\text{g}$ de fezes frescas/rato.5 dias; e negativo, $2,56 \pm 0,98\text{g}$ de fezes frescas/rato.5 dias) apresentaram-se secas, esbranquiçadas e em quantidades bem inferior às do grupo teste ($44,06 \pm 7,08\text{g}$ fezes/rato/ 5 dias). E estas últimas eram em maior volume, escuras e muito mais hidratadas (FIGURA 8; TABELA 17). O volume de fezes excretado pelos ratos que consumiram o *pool* de algas foi 6,18 vezes maior, do que a excreção fecal do grupo de ratos pertencentes ao grupo padrão. Quando desidratadas, os pesos obtidos das fezes coletadas nos últimos 5 dias foram $4,21 \pm 0,46\text{g}$; $2,23 \pm 0,82\text{g}$ e $26,00 \pm 2,87\text{g}$ para os grupos padrão, aprotéico e algas, respectivamente. Semelhantemente à pesquisa de Gudiel-Urbano e Goñi (2002), foi observado em nossos experimentos, que a adição de algas à dieta de animais, causou um significativo aumento no peso fresco e seco das fezes. A quantidade de água contida nas fezes dos ratos do *pool* de algas ($44,03 \pm 5,83\text{g}$) foi maior do que aquela dos grupos padrão e aprotéico, $23,61 \pm 4,69\text{g}$ e $15,76 \pm 2,75\text{g}$, respectivamente. Isto significa que os constituintes da fibra das algas devem ter propriedades de retenção de água diferentes daquelas da celulose (CUMMING e MACFARLANE, 1991; SELVENDRAN et al., 1995).

A TABELA 18 mostra os teores das substâncias insolúveis presentes nas fezes dos ratos dos três grupos, onde aquelas do grupo teste apresentou valores superiores de celulose, hemicelulose, lignina e sílica. Isto mostra a grande variedade

e quantidade dessas substâncias encontradas nas algas, quando comparadas às outras dietas utilizadas. Isto está de acordo com achados de Lahaye (1991).

A concentração de nitrogênio encontrada nas fezes coletadas nos últimos 5 dias do experimento dos ratos do grupo teste ($0,50 \pm 0,06\text{g}$) foi superior à do controle positivo ($0,16 \pm 0,02\text{g}$) (FIGURA 9; TABELA 19). Esta alta excreção de nitrogênio fecal em comparação ao do grupo controle pode ser devido ao fato da dieta teste ser mais diversificada, quanto aos seus componentes (celulose, hemicelulose, lignina, proteína lignificada e amido resistente) e ao fato da dieta teste apresentar baixa digestibilidade em relação ao controle positivo. A elevada excreção fecal de nitrogênio também pode ser explicada como o resultado do aumento da atividade microbiana no intestino (EGGUM, 1973; PETERSSON et al., 1996). Segundo Sgarbieri (1987) citado por Monteiro et al. (2004), a digestibilidade é um determinante na qualidade protéica da dieta. Quando certas ligações peptídicas não são hidrolisadas no processo digestivo, parte da proteína é excretada nas fezes ou transformada em produtos do metabolismo pelos microrganismos do intestino grosso.

O NPR (quociente de eficiência líquida da proteína) do *pool* de farinhas de algas foi de $7,09 \pm 0,32$, o qual mostrou-se inferior ao obtido pelo grupo protéico ($9,06 \pm 0,16$). Embora exista diferença significativa entre ambos NPRs, talvez possamos dizer que, as proteínas da dieta teste sejam de boa qualidade, pois a mesma representou cerca de 78,26% do NPR do grupo protéico. Segundo Monteiro et al. (2004), quanto mais próximos forem os NPRs de duas proteínas (uma teste e outra padrão) mais semelhantes serão seus valores biológicos. Quanto à qualidade das proteínas algais, avaliada pelo NPU (Utilização Líquida das Proteínas) e Digestibilidade Verdadeira (DV) das proteínas, a dieta teste apresentou aproximadamente 68% e 73%, dos valores da dieta protéica para NPU e digestibilidade, respectivamente (FIGURA 10; TABELA 20). Uma menor retenção de nitrogênio no corpo é reflexo de fatores como perfil de aminoácidos da dieta, presença de fatores antinutricionais e/ou tóxicos e a má digestibilidade das proteínas (SIZER et al., 2003). No caso da dieta à base de algas podemos ver que o responsável principal pelo valor inferior de NPU (52,45%) foi a digestibilidade das proteínas (61,78%), embora não possamos descartar a participação do perfil de aminoácidos e a presença de fatores tóxicos e/ou antinutricionais. Este valor de

digestibilidade é considerado baixo quando comparado com aqueles das proteínas da soja crua, o qual é de aproximadamente 70% (MIURA et al., 2001).

A ingestão de algas marinhas pode influenciar a composição e as atividades metabólicas da microbiota intestinal de ratos, e reduzir as atividades das enzimas sobre os nutrientes ao longo do intestino devido ao rápido trânsito alimentar, contribuindo para uma menor digestibilidade da ração (URBANO e GOÑI, 2002). Estes fatores também poderiam explicar a menor digestibilidade do *pool* de farinhas de algas quando comparada à dieta protéica. Para Fleurence et al. (1999) e Sousa (2001), a baixa digestibilidade das proteínas de uma alga ou ração pode estar relacionada à presença de fatores tóxicos e/ou antinutricionais, tais como polissacarídeos e talvez inibidores de tripsina. De acordo com Fernandez et al. (1982), o cozimento de alimentos elimina em larga escala os inibidores de proteases. O remanescente, ou a porção que apresenta atividade resistente ao calor, pode ser atribuído à presença de polifenóis, dessa forma, uma destruição incompleta dos inibidores de tripsina deve ser considerada. Para Rayas-Duarte et al. (1992), o grande número de pontes dissulfídicas e a maior proporção de resíduos de cisteína contribuem para a termoestabilidade dos inibidores de tripsina. Assim, não só os inibidores de tripsina, mas também a fibra alimentar são antinutrientes termoestáveis, que podem participar na diminuição do valor nutricional de alimentos (HUGHES et al., 1996). Em outras palavras, Ventura e Castañón (1998) reportaram que a baixa digestibilidade de algas pode ser decorrente também, da reduzida digestibilidade das proteínas ligadas a hemicelulose e, principalmente, devido à baixa digestibilidade dos carboidratos não estruturais insolúveis, os quais são calculados em 35%, aproximadamente. Fleurence e Guéant (1999) comentaram que o principal obstáculo ao uso de algas na alimentação deve-se à dificuldade na extração e digestibilidade de suas proteínas, em decorrência da presença de polissacarídeos (alginatos, carragenanas, ágar) e da celulose, e que, dentre as informações de natureza quantitativa, o valor nutricional das proteínas das algas, e particularmente, sua digestibilidade *in vivo*, são relativamente pouco conhecidos.

Dentre os fatores antinutricionais protéicos que reduzem a digestibilidade das proteínas estão os inibidores de tripsina e quimotripsina, e entre os fatores não protéicos estão as fibras, polifenóis e fitatos (CRUZ et al., 2004). A digestibilidade é o primeiro fator que afeta a eficiência da utilização protéica da dieta. Quando certas ligações peptídicas não são hidrolisadas no processo digestivo, parte da proteína é

excretada nas fezes, ou transformada em produtos do metabolismo pelos microrganismos do intestino grosso (SGARBIEIRI e WHITAKER, 1982). Isto talvez, seja a razão da presença de proteínas nas fezes dos ratos do experimento nutricional, bem como da baixa digestibilidade do *pool* de farinhas de algas marinhas arribadas. A digestibilidade das proteínas de algas *in vivo* não é bem documentada e os estudos disponíveis sobre sua assimilação por humanos não apresentam resultados conclusivos. A digestibilidade verdadeira da dieta do *pool* de algas está de acordo com estudos realizados com alimentos (60 a 69%) reportados por Pettersson et al. (1996) e Eggum et al. (1990). As proteínas de origem animal são menos resistentes à proteólise do que as de origem vegetal (SGARBIERI, 1996). Nossos resultados estão de acordo com os pesquisadores citados.

O valor biológico (VB) do *pool* de farinhas de algas arribadas foi de 81,63%, superior ao apresentado pela dieta protéica (79,20%). Segundo Pertensson et al. (1996), o valor biológico da farinha de aveia varia entre 72 a 79%. Estes pesquisadores atribuem esse alto valor de biológico (de cereais - aveia), possivelmente, ao seu elevado teor de amido (carboidratos). Isto está de acordo com nossos achados, pois o *pool* de algas apresenta elevado teor de carboidratos. Muito provavelmente, o que a dieta ofereceu aos ratos do grupo teste foi bem aproveitado, pois quando a dieta é deficiente em nutrientes (no caso, aminoácidos), o animal tende a ingerir mais para tentar suprir a pouca quantidade deste nutriente. Isso foi observado em nosso trabalho.

O alto consumo da dieta do *pool* de algas pelos ratos do grupo teste, levou alguns órgãos internos destes ratos a sofrerem alterações (FIGURA 11; TABELA 21). O estômago, e intestinos delgado e grosso apresentaram hipertrofia, enquanto o baço sofreu atrofia, o que mostra que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os pesos dos órgãos dos ratos estudados. Estes dados estão de acordo com os encontrados por Bocanera et al. (2003). A dieta teste parece ter algum componente tóxico e/ou antinutricional que pode ter determinado estas alterações. Por outro lado, essa toxicidade deve ser de caráter bem leve, pelo fato dos ratos do grupo teste terem crescido bastante e apresentado um consumo diário ($17,40 \pm 2,76$ g/dia/rato) superior aos dos ratos que consumiram a dieta protéica ($14,54 \pm 1,61$ g/dia/rato), embora sua taxa de crescimento tenha ficado um pouco abaixo à do controle positivo e bem superior ao do controle negativo, como já foi reportado anteriormente. Estes resultados estão de acordo com Vasconcelos et al. (2001), os

quais reportaram que dietas contendo substâncias tóxicas podem causar alterações, como hipertrofia dos pulmões, rins, estômago, intestinos delgado e grosso, bem como a atrofia do timo e do baço.

A hipertrofia no estômago, e intestinos delgado e grosso dos ratos do grupo teste (0,51g; 2,50g; e 0,997g/100g de peso corpóreo, respectivamente), quando comparada com os pesos dos mesmos órgãos dos ratos do grupo protéico (0,44g; 1,66g, e 0,69g/100g de peso corpóreo, respectivamente) e grupo aprotéico (0,49g; 1,74g; e 0,93g/100g de peso corpóreo, respectivamente) pode ser explicada pela presença de lectinas na composição da dieta teste. Isto está de acordo com estudos prévios relatados por Vasconcelos et al. (2001); Otte et al. (2001); e Sasaki et al. (2002), os quais reportaram que a ligação das lectinas aos epitélios intestinais é freqüentemente acompanhada da ruptura da borda em escova e da desorganização das principais células absorptivas, as quais causam redução na superfície da área absorptiva e, portanto, na absorção dos nutrientes. Um dos resultados provenientes desta hiperplasia celular é o aumento endógeno das secreções, levando a um aumento no peso dos intestinos dos ratos alimentados com dietas contendo lectinas. Para Grant et al. (1989), e Pusztai et al. (1995), o aumento de peso do intestino, é atribuído à hipertrofia e hiperplasia celulares. Adicionalmente, Vasconcelos e Oliveira (2004) relataram que, aliado aos efeitos da ruptura das células da membrana, as lectinas têm mostrado inibir várias enzimas da borda em escova, o que afetam direta ou indiretamente, não apenas a digestibilidade das proteínas e carboidratos, mas também os estágios iniciais e finais da digestão e transporte de ambos os nutrientes. A literatura também relata que as lectinas e os inibidores de proteases contribuem para as alterações intestinal e pancreática (esta última não foi observada no nosso trabalho), sendo que as lectinas provocam efeitos agudos e crônicos (locais), os quais são decorrentes da interação da lectina com a borda em escova ou com a mucosa intestinal. A hipertrofia do intestino delgado (ceco) em roedores, especialmente ratos, é uma resposta comum à administração de carboidrato absorvido incompletamente, tais como as carragenanas, presentes em algas. Essa hipertrofia também é produzida por muitos derivados de plantas e hidrocolóides, incluindo carboximetilcelulase, goma guar, acácia, pectina, farelo de aveia e de trigo (MALLETT et al., 1985; NEWBERNE et al., 1988; COHEN, 2002).

A ação tóxica ou a presença de lectinas inibidoras de crescimento no intestino delgado, *in vivo*, interfere severamente no metabolismo desse intestino. As

lectinas do feijão e soja induzem rápida e progressivo aumento no comprimento e peso do intestino delgado (GRANT et al., 1987; GREER et al., 1985). O crescimento de ambos os intestinos, devido as lectinas, aumenta o requerimento de nutrientes por este órgão e, dentro de 5 a 7 dias, aproximadamente 40 a 60% da ingestão de nitrogênio da dieta é requerido para dar suporte ao crescimento adicional do intestino. Acredita-se que parte da proteína consumida pelos ratos do grupo teste (*pool* de algas) foi utilizada nesse intento, de forma que, parte da proteína que poderia ser utilizada pelo rato para o seu ganho de peso, foi desviada do metabolismo normal do animal, restringindo a quantidade de nutrientes disponíveis para manter e facilitar o crescimento de outros tecidos corpóreos. Isto está de acordo com pesquisa realizada por Grant (1991).

Como a dieta teste (*pool* de algas) é rica em fibras e, levando em conta que os ratos deste grupo apresentaram uma ingestão alimentar elevada, assim, o estômago destes passou mais tempo cheio, tornando o trânsito alimentar mais lento e contribuindo portanto para seu crescimento.

Em experimento nutricional realizado por Wong et al. (1999) utilizando separadamente, quatro tipos diferentes de algas coletados no Japão (*Ulva sp.*, *Hypnea charoides*, *Colpomenia sinuosa* e *Sargassum hemiphyllum*), não foram observadas alterações no baço dos ratos dos grupos testes quando comparados aos ratos do grupo controle. Já no nosso trabalho foi observado atrofia dos baços dos ratos do grupo teste (FIGURA 11, TABELA 21), os quais consumiram o *pool* de farinhas de algas arribadas. Este fato pode ser resultante do grande número de espécies diferentes de algas que compunham o *pool* de farinhas de algas. Para Caro-Paton Gómez e Del Olmo Martínez (2000) citados por Bocanera et al. (2003), estamos longe de entender o efeito do consumo de algas em relação às alterações no tamanho do baço. O baço é considerado um órgão reservatório de sangue, sendo, portanto, muito sensível às mudanças da pressão sanguínea. Dessa forma, a alteração no tamanho do baço pode estar relacionada com a proporção alterada de Na/ K dietético. As algas marinhas possuem uma quantidade apreciável de minerais e como os ratos do grupo teste apresentaram o maior consumo alimentar, isto pode colaborar na explicação dada pelos autores anteriormente citados.

6. CONCLUSÕES

1 - Existe uma grande diversidade de algas marinhas arribadas na praia de Fleixeiras. Em doze meses de coleta foram identificadas 37 espécies, dentre as quais 24 vermelhas (predomínio), 9 verdes e 4 pardas. As algas *Amansia multifida*, *Botriocladia occidentales*, *Hypnea musciformis* e as do gênero *Gracilaria* (*G. cervicomis*, *G. domingensis*, *G. cómea* e *G. birdeae*) foram as espécies que apresentaram maior frequência de coleta ao longo de um ano.

2 - As algas arribadas representam um recurso natural rico em nutrientes, apresentando altos teores de carboidratos (49,93 a 63,24%), minerais (13,27 a 25,58%), fibra bruta (4,8 a 6,86%), baixos níveis de lipídios (0,15 a 0,84%) e uma concentração de proteínas da ordem de 10,71 a 14,80%.

3 - Apesar de apresentarem níveis razoáveis de proteínas, as algas arribadas são deficientes na maioria dos aminoácidos essenciais, principalmente os sulfurados.

4 - Apresentam fatores tóxicos e/ou antinutricionais, como os inibidores de tripsina e de alfa-amilase, composto fenólico como o tanino, lectinas, e ácido fítico, os quais podem contribuir na redução da qualidade nutricional das algas arribadas.

5 - As algas marinhas arribadas aparentemente não são adequadas para o consumo humano, pois mesmo após processamento térmico, como a torrefação, ainda apresentaram atividade de inibidores de tripsina.

6 - Apesar das limitações nutricionais e toxicológicas apresentadas, as algas marinhas arribadas quando combinadas com clara do ovo podem proporcionar o desenvolvimento de animais em crescimento.

7 - Estudos nutricionais e toxicológicos mais detalhados se fazem necessários para garantir a segurança da utilização das algas marinhas para consumo humano e/ou animal.

7. REFERÊNCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

As referências bibliográficas foram descritas conforme as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) de 2002.

AGUILERA-MORALES, M.; CASAS-VALDEZ, M.; CARRILLO-DOMÍNGUEZ, GONZÁLEZ-ACOSTA, B.; PÉREZ-GIL, F. Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha* spp. As a potential food source. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego (USA), v. 18, n. 1, p. 79-88, Feb., 2005.

AINOUZ, I. L.; SAMPAIO, A. H. Screening of Brazilian marine algae for hemagglutinins. **Botanica Marina**, Berlin, v. 34, p. 211-214, 1991.

AINOUZ, I. L.; SAMPAIO, A. H.; BENEVIDES, N. M. B.; FREITAS, A. L. P.; COSTA, F. H. F.; CARVALHO, M. R.; PINHEIRO-JOVENTINO, F. Agglutination of enzyme treated erythrocytes by Brazilian marine algae. **Botanica Marina**, Berlin, v. 35, n. 11, p. 475-479, 1992.

ALGAS MARINHAS (EN-01). Disponível em <<http://www.alfacentauro.hpg.ig.com.br/Links/algas.htm>>. Acesso em 20.07.04.

AL-KAHTANI, H. A. Some antinutritional factors in *Moringa peregrina* (al-yassar or al-ban) and soybean products. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, p.395-398, 1995.

ALLISON, J. B. Biological evaluation of protein. **Physiology Review**, Bethesda/ USA, v. 35, p. 664-700, 1955.

ANDRADE, M. C. H. **Efeitos antinociceptivos e antiedematogênicos de lectinas das algas**. 1999. 180 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

ANTUNES, P. L.; BILHALVA, A. B.; ELIAS, M. C.; SOARES, G. J. D. Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivares rico 23, carioca, piratã-1 e rosinha-g2. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.1, n. 1, Jan-abr., 1995.

AQUICULTURA. **Panorama da aqüicultura**, maio/junho, 1997.

ARASAKI, A.; ARASAKI, T. Low calorie, high nutrition. Vegetables from the sea. To help you and feel better. Tokyo, **Japan Publications**, p.196, 1983.

ARASAKI, F. T.; MINO, N.; KURODA, M. **Hydrologia**, Dordrecht/ Netherlands, v. 116, n. 117, p. 513-516, 1984.

ARASAKI, T.; MINO, N. Alkali-soluble proteins in marine algae. **Journal Japan Society Food Nutrition**, Tokyo, v. 26, p. 129-133, 1973.

ARAÚJO, G. A.; et al. "Algas: a energia do amanhã". Relatório de atividades do grupo de algas da SUDEPE. **Pesca e Aquicultura**, 1982.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (A. O. A. C.). **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry**. 15 ed. Arlington: Virginia, 1990. 1115p.

BARAMPAMA, Z.; SIMARD, R. E. Effect of soaking, cooking and fermentation on composition, in vitro starch digestibility and nutritive value of common beans. **Plant Food for Human Nutrition**, Dordrecht/ Netherlands, v. 48, p. 349-365, 1995.

BATE-SMITH, E. C.; SWAIN, T. **Comparative biochemistry**. V.3. Mason, H. s. and Florkin, M. (Eds.). New York: Academic Press, 1982. 764p.

BECKER, E. W. **Biotechnology and microbiology**. Cambridge: University Press, 1994. 293p.

BENEVIDES, N. M. B.; OLIVEIRA, S. R. M.; FOLANDA, M. L.; MELO, F. R.; FREITAS, A. L. P.; SAMPAIO, A. H. Seasonal variations in hemagglutinating activity and chemical composition of two red marine algae *Gracilaria domingensis* e *Gelidium pusillum*. **Revista de Fisiologia Vegetal**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 2, p. 91-95, 1999.

BERNAYS, E. A.; COOPER DRIVER, G.; BILGENER, M. Herbivores and plant tannins. In: Begon, M.; Filter, A.; Ford, E. D.; MacFadyen, A. (Eds.). London: Academic Press. **Advances in Ecological Research**, London/ England, v. 19, p. 263-302, 1989.

BERNFELD, P. **Methods in enzymology**, v.1, p. 149-154, 1965.

BIDLINGMEYER, B. A.; COHEN, S. A.; TARVIN, T. L. Rapid analysis of amino acids using pre-column derivatization. **Journal of chromatography**, Amsterdam, v.336, p. 93-104, 1984.

BIGAZZI, P. Autoimmunity and heavy metals. **Lupus**, London/ England, v. 3, p. 449-453, 1994.

BOCANERA, A.; NIETO, A.; BLAS, B. e SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. Diets containing a high percentage of nori or konbu algae are well-accepted and efficiently utilized by growing rats but induce different degrees of histological changes in the liver and bowel. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford/ England, v. 41, p. 1473-1480, 2003.

BOISEN, S.; AGERGAAD, N.; ROTENBERG, S.; KRAGELUND, Z. Effects of gut flora on intestinal activities of trypsin, chymotrypsin, elastase and amilase in growing rats fed diets fed diets with cellulose, pectin or sand. **Zeitschrift für Tierphysiologie undm Futtermittelkunde**, Berlin, v. 53, p. 245-254, 1985.

BOISEN, S.; EGGUM, B. O. Critical evaluation of in vitro methods for estimate digestibility in simple-stomach animals. **Nutrition Research Reviews**, Oxon /England, v. 4, p. 141-162, 1991.

BOTELHO, L.; CONCEIÇÃO, A. de, CARVALHO, V. D. de. Caracterização de fibras alimentares da casca e cilindro central do abacaxi "*smooth cayenne*". **Ciências Agrotécnicas**, Larvas, v. 26, n. 2, p. 362-367, mar./ abr. 2002.

BOUGLÉ, D. Nouvelles valorisations industrielles des Algues. **Acta Botanica Gallica**, Lille-Cedex/ France, v. 142, n. 2, p. 101-107, 1995.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms quantities for proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego/ USA, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução no. 53. De 15 de junho de 2000 (DOU de 19/06/2000). Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 19/ 6/ 2000.

BROADWAY, R. M. Can. **Journal of Plant Pathology**, Pisa/ Italy, v. 18, p. 476-481, 1996.

BRUNE, M.; ROSSANDER, L. HALBERG, L. Iron absorption and phenolic compounds: importance of different phenolic structures. **European Journal of Clinical Nutrition**, London/ England, v. 43, p. 547-558, 1989.

BURLINGAME, B. What is a nutrient? (Editorial). **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego/ USA, v. 14, p. 1, 2001.

BUTLER, L.G.; RIEDL, D. J.; LEBRYK, D. G.; BLYTT, H. J. Interaction of protein with sorghum tannin: mechanism specificity and significance. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign/ USA, v. 61, p. 916-920, 1984.

CÂMARA NETO, C. Primeira contribuição ao inventário de algas marinhas bentônicas do litoral do Rio Grande do Norte. **Boletim do Instituto de Biologia Marinha da Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, Natal, v. 5, p.137-154, 1971a.

CÂMARA NETO, C. Contribuição ao conhecimento qualitativo e quantitativo das "arribadas da Redinha". **Boletim do Instituto de Biologia Marinha da Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, Natal, v. 5, p. 3-30, 1971b.

CAMPELLO, C. C. **Proteínas antinutricionais e/ou tóxicas de genótipos de soja [Glycine max (L.) Merr.] e sua correlação com a performance nutricional de frangos de corte**. 2003. 189 f. Tese (Doutorado em Bioquímica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

CARRILLO, D. S.; CASTRO, G. M.; PÉREZ-GIL, R. F.; ROSALES, E.; MANZANO, R. E. The seaweed (*Sargassum sinicola* Setchel & Gardner) as an alternative for animal feeding. **Journal of Agricultural Science**, Cuban, v. 26, p. 177-184, 1992.

CARVALHO, A. F. F. U. **Dietary kidney bean lectins affect insulin levels, change gene expression and modulate metabolism**. 1992. 158 f. PhD thesis. University of Aberdeen, Aberdeen, Scotland, UK, 1992.

CETESB. Companhia de tecnologia e Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo. **Metais pesados e pesticidas na água, sedimento de peixes**. Rio Mogi-Guaçu: Prefeitura de São Paulo, 1978.

CHAU, C. F.; CHEUNG, P. C.; WONG, Y. S. Effect of cooking on content of amino acids and antinutrients in three Chinese indigenous legume seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex/ England, v. 75, n. 4, p. 447-452, Dec., 1997.

CHÁVEZ, M. M.; CHÁVEZ, V. A.; ROLDÁN, A. J.; LEDESMA, S. J.; MENDOZA, M. E.; PÉREZ-GIL, F.; HERNÁNDEZ, C. S.; CHAPARRO, F. A. **Tablas de valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en latinoamérica**. Edición Internacional. Instituto Nacional de la Nutrición. Instituto Nacional de Cancerología. México: Editorial Pax, 1996.

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **C. R. C. Critical Reviews in Food and Nutrition**, Boca Raton/ USA, v. 13, n. 4, p. 297-35, 1980.

CHILES, T. C.; BIRD, K. T. A comparative study of animal erythrocyte agglutinins from marine algae. **Comp. Biochemistry Physiology**, San Diego/ USA, v. 94B, p. 107-111, 1989.

CHUNG, K-T.; WONG, T. Y.; WEI, C-I. Y.; HUANG, Y-W. Y.; LIN, Y. Y. Tannins and human health: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton/ USA, v. 38, n. 6, p. 421-464, 1998.

CLASSIFICAÇÃO DOS SERES VIVOS. Disponível em www.vestibular1.com.br/revisao/r59.htm >. Acesso em 20/ 07/ 2004.

CLIFFORD, M. N.; SCALBERT, A. Ellagitannins-nature: occurrence and dietary burden. **Journal of Food Science Agriculture**, Sussex/ England, v. 80, n.7, p. 1118-1125, May. 2000.

COATES, M. E.; ODONOGUE, P. N.; PAYNE, P. R. Dietary standards for laboratory rats and mice nutritional and microbiological recommendation. In: **Laboratory Animal Handbook 2**. London: Laboratories Animals Ltd. 1969. p. 13-15.

COHEN, S. M.; ITO, N. A critical review of the toxicological effects of carrageenan and processed Eucheuma seaweed on the gastrointestinal tract. **Critical Reviews in Toxicology**, Philadelphia/ USA, v. 32, n. 5, p. 413-444, 2002.

COORDENAÇÃO NACIONAL DA PASTORAL DA CRIANÇA. **Dicas: alimentação enriquecida**. 2. ed. Curitiba: Pastoral da Criança, 2000. n 14.

COSTA, F. H. F.; SAMPAIO, A. H.; NEVES, S. A.; ROCHA, M. L. A.; BENEVIDES, N. M. B.; FREITAS, A. L. P. Purification and characterization of a lectin from the red marine alga *Amansia multifida*. **Physiology Molecular Biology Plants**, Australian, v. 5, p. 53-61, 1999.

CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C.; QUEIROZ, D. C. **Quitosana: a fibra do futuro**. Fortaleza: PADETEC, 1999. 122p.

CSIKKEL-SZOLNOKI, A.; BÁTHORI, M.; BLUNDEN, G. Determination of elements in algae by different atomic spectroscopic methods. **Microchemical Journal**, Amsterdam/ Netherlands, v. 67, p. 39-42, 2000.

CUMMING, J. H.; MACFARLANE, G. T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. **Journal Applied of Bacteriology**, Oxon/ England, v. 70, n. 6, p. 443-459, 1991.

CUMMINGS, J. H. Consequence of the metabolism of fiber in the human large intestine. In: VAOHOUNY, G. V.; KRITCHEVKY, D. **Dietary Fiber in Health and Disease**. New York: Plenum Press. 1982. p. 9-22.

DAIBER, K. H. Enzyme inhibition by polyphenols of sorghum grain and malt. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex/ England, v. 26, p. 1399-1411, 1975.

DAMODARAN, S. Amino acids peptides and proteins. In: FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. New York: Marcel Dekker. 1996. pp. 414-415.

DANSB. **Functional Foods for Health**, 1988.

DARCY-VRILLON, B. Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry. **International Journal of Food Science and Nutrition**, Oxon/ England, v. 44, p. S23-S35, 1993.

DAVIDSON, M.; MCDONALD, A. Fiber: forms and functions. **Nutrition Research**, Oxon/ England, v. 18, n. 4, p. 617-662, 1998.

DAWES, C. J. **Botanica Marina**. México: Limusa, 1991.

DEMANDE d'AUTORISATION d'ALGUES EN ALIMENTATION HUMAINE. **Bulletin du Ministère des Affaires Sociales (28/11/1990)**. Texte 1705 (1990). p. 103. Paris, France: Ministère des Affaires Sociales, 1990.

DESHPANDE, S. S.; DAMODARAN, S. Effect of phytate on solubility, activity and conformation of trypsin and chymotrypsin. **Journal of Food Science**, Chicago/ USA, v. 54, n. 3, p. 695-699, may/ jun. 1989.

DESHPANDE, S. S.; SATHE, S. K.; SAWNKHE, D. K. Chemistry and Safety of plant phenols. **Advances in Experimental Medical Biology**, USA, v. 172, p. 457, 1984.

DIETARY REFERENCE INTAKES for vitamins and minerals, 2001. Disponível em www.nap.edu. Acesso em 26/ 01/2005.

DIPIETRO, C. M.; LIENER, R. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington/ USA, p. 37-39, 1989.

DOELL, B. H.; EBDEN, C. J.; SMITH, C. A. Quall Plant. **Plant Foods Human Nutrition**, Dordrecht/ Netherlands, v. 31, p. 139, 1982.

DOMÍNGUEZ, S. C.; VALDEZ, M. C.; RAMOS, F. R.; PÉREZ-GIL, F.; RODRÍGUEZ, I.S. Algas marinas de baja California, México: valor nutrimental. Caracas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.52, n. 4, p. 01-10, 2002.

DOMÍNGUEZ, S. C.; GOMÉZ, M. V. I.; LEÓN, F. R. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 52, n. 3, p.1-23, set. 2002.

DUARTE, M. E. R.; NOSEDA, D. G.; NOSEDA, M. D.; TÚLIO, S.; PUJOL, C. A.; DAMONTE, E. B. Inhibitory effect of sulfated galactans from the marine alga *Bostrychia montagnei* on herpes simplex virus replication *in vitro*. **Phytomedicine**, USA, v. 8, n. 1, p. 53-58, 2001.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington/ USA, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

DUODU, K. G.; NUNES, A.; DELGADILLO, I.; PARHER, M. L.; MILLS, E. N. C.; BELTON, P. S. TAYLOR, J. R. N. Effect of grain organizational structure and cooking on sorghum and maize *in vitro* protein digestibility. **Journal of Cereal Science**, London/ England, v. 35, p. 161-174, 2002.

DUODU, K. G.; TAYLOR, J. R. N.; BELTON, P. S.; HAMAKER, B. R. Factors affecting sorghum protein digestibility (mini review). **Journal of Cereal Science**, London/ England, v. 38, p. 117-131, 2003.

EGGUM, B. O. **A study of certain factors influencing protein utilization in rats and pigs**. Copenhagen: National Institute of Animal Science. 1973. Report no. 406, p.173.

EGGUM, B. O. Protein and energy digestibility. In: JUNGVID, H.; FORSHEL, L. P.; EGGUM, B. O. (Editors). **The rat as a model for man and pig in nutritional and physiological studies**. Tjele: National Institute of Animal Science. 1990. p. 77-86.

EKHOLM, P.; VIRKKI, L.; YLINEN, M.; JOHANSSON, L. The effect of phytic acid and some natural chelating agents on the solubility of mineral elements in oat bran. (Rapid communication). **Food Chemistry**, Oxon/ England, v. 80, p. 165-170, 2003.

ELKIN, R.G.; FREED, M.R.; HAMAKER, R.R.; ZHANG, Y.; PARSONS, C.M. Condensed tannins are only partially responsible for variations in nutrient digestibilities of sorghum grain cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington/ USA, v. 454, p. 848-853, 1996.

ELLIS, R.; KELSAY, J. L.; REYNOLDS, R. D.; MORRIS, E. R.; MOSER, P. B.; FRAZIER, C. W. Phytate: zinc, and phytate x calcium: zinc millimolar ratios in self-selected diets of Americans, Asian, Indians, and Nepale. **Journal American Diet Associety**, USA, v. 87, p. 1043-7, 1987.

FABREGAS, J.; LLOVO, J.; MUÑOZ, A. Hemagglutinins in red seaweeds. **Botanica Marina**, Berlin/ Germany, v. 28, p. 517-520, 1985.

FAO/ WHO/ UNU. **Energy and protein requirements** (Report of a Join FAO/ WHO/ UNU. Expert Consultation. Meeting serie no. 724). Geneva, Switzerland: WHO. 1985.

FARIAS, S. H. Um estudo observacional sobre os metais tóxicos (As, Cd, Pb, Hg, Ni, Al) no Estado de Alagoas. **Ver. MBRL (Revista da Sociedade Brasileira de Medicina)**, São Paulo/ Brasil, v. 2, n. 1, p. 15-16, 1996.

FARIAS, W.R.L.; VALENTE, A. P.; PEREIRA, M. S.; MOURÃO, P. A. S. Structure and anticoagulant activity of sulphated galactans. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 275, n. 38, p. 29299-29307, 2000.

FARREL, D. J.; GIRLE, L. ARTHUR, J. Effect of dietary fiber on the apparent digestibility of major components and on blood lipids in man. **Australian Journal Experimental in Biology and Medical Science**, Australian, v. 56, p. 459-479, 1978.

FDA. Food Labeling. General Provisions; Nutrition labeling; Label format; Nutrient content claims; Health claims; Ingredient labeling; State and local requirements and exemptions; Final rules. **Food and Drug Administration Fed**, v. 58, n. 3, p. 2101-2106, 1993.

FEBLES, C. I.; ARIAS, A.; HARDISSON, A.; RODRÍGUEZ-ÁLVAREZ, C.; SIERRA, A. Phytic acid level in wheat flours. **Food Chemistry**, Oxon (England), v. 74, p. 437-441, 2001; ou *Journal of Cereal Science* 36:19-23, 2002.

FEENY, P. Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. **Ecology**, Washington/ USA, v. 51, p. 565-581, 1976.

FERNANDEZ, R.; ELIAS, L. G.; BRAHAM, J. E. Trypsin inhibitors and hemagglutinins in bean (*Phaseolus vulgaris*) and their relationship with content of tannins and associated polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington/ USA, v.30, n. 4, p. 127-131, 1982.

FLEURENCE, J. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. **Trends in Food and Toxicology**, London/ England, v. 10, p. 25-28, 1999.

FLEURENCE, J.; CHENARD, E.; LUÇON, M. Determination of the nutritional value of proteins obtained from *Ulva americana*. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht/ Netherlands, v. 11, p. 231-239, 1999.

FLEURENCE, J.; LE COEUR, C. Influence of mineralization methods on the determination of the mineral content of brown seaweed *Undaria pinnatifida* by atomic absorption spectrophotometry. **Hydrobiologia**, Dordrecht (Netherlands), v. 260, n. 261, p. 531-534, 1999.

FLEURENCE, P. J.; GUÉANT, J-L. Les algues: une nouvelle source de protéines. **BIOFUTUR**, Paris, v.191, p. 32-33, 1999.

FOO, L. Y.; NEWMAN, R.; WAGHORN, G.; McNABB, W. C.; ULYATT, M. J. Proanthocyanidins from *Lotus corniculatus*. **Phytochemistry**, Oxford/ England, v. 41, p. 617-624, 1996.

FRANCO, G. **Tabela e composição química dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1999.

FREITAS, A. L. P.; TEIXEIRA, D. I. A.; COSTA, F. H. F.; FARIAS, W. R. L.; LOBATO, A. S. C.; SAMPAIO, A. H.; BENEVIDES, N. M. B. A new survey of Brazilian marine algae for agglutinins. **Journal of Applied Phycology**, Madison/ USA, v. 9, p. 495-501, 1997.

FREITAS, J. W. C. **Análises de parâmetros químicos e bioquímicos de algumas espécies de algas marinhas para inclusão em rações utilizadas na piscicultura visando modificar o "flavor" de peixes de água doce.** 2002. 169 f. Tese (Doutorado em Bioquímica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.

FRIEDMAN, M.; GUMBMAN, M. B. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, p. 1239, 1986.

FUJIWARA-ARASAKI, T.; MINO, N., KURODA, M. The protein value in human nutrition of edible marine algae in Japan. **Hydrobiologia**, Dordrecht/ Netherlands, v. 116, n. 117, p. 513-516, 1984.

GALLAND-IRMOULI, A. V, FLEURENCE, J.; LAMGHARI, R.; LUÇON, M.; ROUXEL, C.; BARBAROUX, O.; BRONOWICKI, J-P.; VILLAUME, C. e GUÉANT, J-L. Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (Dulse). **Journal of Nutrition and Biochemistry**, New York/ USA, v. 10, p. 353-359, 1999.

GÁRCIA-VILLANOVA, R.; GÁRCIA-VILLANOVA, R. J.; RUIZ DE LOPE, C. Determination of phytic acid by complexometric titration of excess of iron (III). **Analytical chemistry**, Washington/ USA, v.107, p. 1503-1506, 1982.

GEERVANI, P.; THEOPHILUS, F. Effect of home processing on the protein quality of selected legumes. **Journal of Food Science**, Chicago/ USA, v. 32, p. 71-78, 1981.

GRAFT, E.; EMPSON, K. L.; EATON, J. W. Phytic acid: a natural antioxidant. **Journal of Biology and Chemistry**, Bethesda/ USA, v. 262, n. 24, p. 11647-11650, 1987.

GRANT, G. Antinutritional effects of soybean: a review. **Progress in Food and Nutrition Science**, Oxford/ England, v. 13, p. 317-348, 1989.

GRANT, G. Lectins. In: **Toxic substances in crop plants**. London, United Kingstown: The Royal Society of Chemistry, 1991. p. 49-67.

GRANT, G.; EWEN, S. W. B.; BARDOCZ, S.; BROWN, D. S.; DORWARD, P. M.; WATT, W. B.; STEWART, J. C.; PUSZTAI, A. **Recent advances of research in anti-nutritional factors in legumes seeds**. Netherlands: Huisman; J.; Van Der Poel, T. F. B.; Liener, I. E. 1989. p.34.

GRANT, G.; MORE, L. J.; MCKENZIE, N. H.; STEWART, J. C.; PUSZTAI, A. **Journal of Science and Food Agriculture**, Sussex (England), v. 33, p. 1324, 1982.

GRANT, G.; MORE, L. J.; MCKENZIE, N. H.; STEWART, J. C.; PUSZTAI, A. **BR Journal of Nutrition**, Bethesda (USA), v. 50, p. 207, 1983.

GRANT, G.; WATT, W. B.; STEWART, J. C.; PUSZTAI, A. **Medical Science Research**, Philadelphia/ USA, v. 15, p. 1355, 1987.

GUDIÉL-URBANO, M.; GOÑI, I. Effects of edible seaweeds (*Undaria pinnatifida* and *Porphyra tenera*) on the metabolic activities of intestinal microflora in rats. **Nutrition Research**, Oxon/ England, v. 22, p. 323-331, 2002.

HAHN, D. H.; ROONEY, L. W.; EARP, C. F. Tannins and phenols of sorghum. **Cereal Foods World**, St. Paul/ USA, v. 29, p. 776-779, 1984.

HALL, M. B. Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis. **Institute of Food and Agricultural Sciences**. Florida: University of Florida, 2000. Bulletin 339, April.

HAM, K. S.; WU, S. C.; DARVILL, A. G.; ALBERSHEIM, P. **Plant Journal**, Oxon/ England, v. 11, p. 169-179, 2002.

HAMERSTRAND, G.H.; BLACK, L.T.; GLOVER, J. D. Trypsin inhibitors in soy products: modification of standard analytical procedure. **Cereal Chemistry**, St. Paul/ USA, v. 58, p. 42-45, 1981.

HAN, K. K.; SOARES JUNIOR, J. M.; HAIDAR, M. A.; GIRÃO, M. J. B. C.; NUNES, M. G.; LIMA, G. R.; BARACAT, E. C. Efeitos dos fitoestrogênios sobre alguns parâmetros clínicos e laboratoriais no climatério. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 8, p. 547-552, 2002.

HARLAND, B. F.; MORRIS, E. R. Phytate a good or bad food component? **Nutrition Research**, Oxon/ England, v.15, n. 5, p. 733-754, 1995.

HASLAM, E. **Plant polyphenols**. Vegetable tannins revisited. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1989. 230 p.

HERBRETEAU, F.; COIFFARD, L. J. M.; DERRIEN, A.; DE ROECK-HOLTZHAUER, Y. The fatty acid composition of five species of macroalgae. **Botanica Marina**, Berlin, v. 40, p. 25-27, 1997.

HEBER, S. M.; VAN ELSWYK, M. E. Dietary marine algae promote efficient deposition of n-3 fatty acids for the production of enriched shell eggs. **Poultry Science**, Savoy/ USA, v. 75, p. 1501-1507, 1997.

HERRERO, C.; CABEZAS, B.; ABALDE, J.; FÁBREGAS, J. **Avances en tecnología de microalgas para nutrición animal**. Santiago de Compostela: Servicio de Publicaciones, 1985. p.100.

HONKE, J.; KOZLOWSKA, H.; VALVERDE, V.; FRIAS, J.; GORECKI, R. Changes in quantities of inositol phosphates during maturation and germination of legume seeds. *Zeitschrift für Lebensmittel – UNTERSUCHUNG UND – FORSCHUNG*, Berlin, v. 206, p. 279-289, 1998.

HONYA, M.; KINOSHITA, T.; ISHIKAWA, M.; MORI, H.; NISIZAWA, K. Monthly determination of alginate, M/G ratio, mannitol and minerals in cultivated *Laminaria japonica*. **Nippon Suisan Gakkaishi**, Tokyo/ Japan, v. 59, p. 295-299, 1993.

HUGHES, J. S.; ACEVEDO, E.; BRESSANI, R.; SWANSON, B. G. Effects of dietary fiber and tannins on protein utilization in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Research International**, Amsterdam/ Netherlands, v. 29, n. 3-4, p. 331-338, 1996.

IDOURAINE, A.; KHAN, M. J.; WEBER, C. W. In vivo binding capacity of wheat bran, rice bran, and oat fiber for Ca, Mg, Cu, and Zn alone and in different combinations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington/ USA, v. 44, p. 2067-2072, 1996.

INSTITUTE OF MEDICINE FOOD AND NUTRITION ON BOARD DIETARY REFERENCE INTAKES. **Dietary reference intake** Washington D. C.: National Academic Press, 1999-2001. Disponível também em < www.nap.edu > Acesso em 26.01.2005.

IPLANCE - INSTITUTO DE PLANEJAMENTO DO CEARÁ. Atlas do Ceará. Fortaleza. Fortaleza: Superintendência do Estado do Ceará (SUDEC), 1995.

ITO, K.; HORI, K. Seaweed: chemical composition and potential foods uses. **Food Reviews International**, Amsterdam/ Netherlands, v. 5, p. 101-144, 1989.

JAFFE, W. G. **Toxic constituents of plant foodstuffs**. Liener, I. E. (ed.). New York: Academic Press, 1980. p. 73.

JENSEN, A. Present and future needs for algae and algal products. **Hydrobiologia**, Dordrecht/ Netherlands, v.260/261, p. 15-23, 1993.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; GOÑI CAMBRODÓN, I. Evaluación nutricional y efectos fisiológicos de macroalgas marinas comestibles. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 49, p. 114-120, 1999.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J. Dietary fibre from edible seaweeds: chemical structure, physicochemical, properties and effects on cholesterol metabolism. **Nutrition Research**, Oxon/ England, v. 20, n. 4, p. 585-598, 2000.

JOHNS, R. B.; NICHOLS, P. D.; PERRY, G. J. Fatty acid composition of ten marine algae from Australian waters. **Phytochemistry**, Oxford/ England, v. 18, p. 799-802, 1979.

JOHNSON, I. T.; SOUTHGATE, D. A. T. **Dietary fibre and related substances**. London: Chapman and Hall. 1994. p. 15-38; 106-109.

KADAM, S. S.; SMITHARD, R. R.; EYRE, M. D.; ARMSTRONG, D. G. Effect of heat treatment on antinutritional factors and quality of protein in winged beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex (England), v. 39, p. 267-275, 1987.

KAEHLER, S.; KENNISH, R. Summer and winter comparisons in the nutritional value of marine macroalgae from Hong Kong. **Botanica Marina**, Berlin/ Germany, v. 39, p. 11-17, 1996.

KAYAMA, M.; LIJIMA, N.; KUWAHARA, M.; SADO, T.; ARAKI, S.; SAKURAI, T. **Bulletin Japan Society Science Fish**, Tokyo/ Japan, v. 51, n. 4, p. 687, 1985.

KELSAY, J. L.; GEHALL, K. M.; PRATHER, E. S. Effect of fiber from fruit and vegetables on metabolic responses of human subjects. I. Bowel transit time, number of defecations, fecal weight, urinary excretion of energy and nitrogen and apparent digestibilities of energy, nitrogen and fat. **American Journal Clinical of Nutrition**, Bethesda, v. 31, p. 1149-1153, 1978.

KHOTIMCHENKO, S. V.; VASKOVSKY, V. E.; PZRHEMENETSKAYA, V. F. **Phytochemistry**, Oxford/ England, v. 30, n. 1, p. 207-209, 1991.

KHOTIMCHENKO, S. V.; VASKOVSKY, V. E.; TITLYANOVA, T. V. Fatty acids of marine algae from the pacific coast of north California. **Botanica Marina**, Berlin/ Germany, v. 45, p. 17-22, 2002.

KISHI, K.; INOUE, G.; YOSHIDA, A. FUWA, H.; KOISHI, H.; KOIKE, G.; MIYOSHI, T. INOUE, T.; YOSHIDA, M.; OMORI, A. Digestibility and energy availability of sea vegetables and fungi in man. **Nutrition Rep International**, v. 26, p. 183-192, 1982.

KNUCKLES, B. F.; KUZMICKY, D. D.; BETSCHART, A. A. Effect of phytate and partially hydrolyzed phytate on in vitro protein digestibility. **Journal of Food Science**, Chicago/ USA, v. 50, p. 1080-1082, 1985.

KON, S.; SANSHUCK, D. W. Phytate content and its effect on cooking quality of beans. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 5, p. 169-178, 1981.

KUNITZ, M. Crystalline soybean trypsin inhibitor II. General properties. **Journal of Genetic and Physiology**, Dordrecht, v. 30, p. 291-310, 1974.

LACERDA, P. de. **Guia prático de medicina ortomolecular: mineralogramas sem segredos**. São Paulo: Pancast, 1996.

LAHAYE, M. Marine algae as sources of fibres. Determination of soluble and insoluble dietary fiber contents in some "sea vegetables". **Journal of the Science and of Food Agriculture**, Sussex/ England, v. 54, p. 587- 94, 1991.

LANKISCH, M.; LAYER, P.; RIZZA, R.A.; DIMAGNO, E. P. **Pancreas**, Philadelphia/ USA, v. 17, n. 2, p. 176-181, Aug., 1998.

LEE, S. C.; PROSKY, L. Perspectives on New Fiber Definition. **Cereal Foods World**, St. Paul/ USA, v. 39, n. 10, p. 767-768, OCT., 1994.

LEVAVASSEUR, G.; DION, P. **Stratégie de purification in situ d'une rhodophycée source potentielle de protéines: *Palmaria palmata* (L.) O. Kuntze**. In Colloque VALVA (R. Delepine, J. Gaillard and P. Morand, Eds.). Paris, France: CNRS-IFREMER, 1988. p. 181-184.

LEVRING, T; HOPPE, H. A.; SCHMID, O. J. **Marine algae: a survey of research and utilisation**. Hamburg: Cram, De Gruyter & Co. 1969. p. 421.

LIENER, I. E. Nutritional significance of lectins in the diet. In: LIENER, I. E.; SHARON, N.; GOLDSTEIN, I. J. (eds). **The lectins**. London: Academic Press, 1986. p. 527-552.

LIENER, I. E.; KAKADE, M. L. **Protease inhibitors in toxic constituents of plant foodstuffs**, 2. ed. LIENER, I. E. (ed). New York: Academic Press, p. 7-71, 1980.

LIENER, I. E. Antinutritional factors related to protein and amino acid. In: HUI, Y. H.; GORHAM, J. R.; MURREL, K. D.; CLIVER, D. O. (eds). **Foodborne disease handbook**, vol. 3. New York: Marcel Dekker Inc.; 1994 a. p. 261-309.

LIS, H.; SHARON, N. Lectins: carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. **Chemistry Reviews**, v. 98, p. 673-674, 1998.

LITCFIELD, J. T. J.; WILCOXON, F. A. Simplified method for evaluation of dose-effects experiments. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Bethesda, v. 96, p. 99-104, 1949.

LIU, G.; ELSNER, I. Review of the multiple chemical exposure factors which may disturb human behavioral development. **Soz Praventiv Medical**, v. 40, n. 4, p. 209-217, 1995.

LOBBAN, C.; HARRISON, P. **Seaweeds ecology and physiology**. England: Cambridge Press, 1994. 366 p.

LOBO, A. R.; SILVA, G. M. de L. **Implicações Nutricionais no Consumo de Fibras e Amido Resistente**. Disponível em < www.nutricaoempauta.com.br >. Acesso em 13/02/2004.

LOTT, J. N. A. Accumulation of seed reserves of phosphorus and other minerals. In: MURRAY, D. R. (Ed). **Seed physiology**. New York: Academic Press. 1984. p. 139-166.

LOURENÇO, S. O.; BARBARINO, E.; DE-PAULA, J. C.; PEREIRA, L. O. S.; MARQUEZ, U. M. L. Amino acid composition, protein content and calculation of nitrogen-to-protein conversion factors for 19 tropical seaweeds. **Phycological Research**, Victoria/ Australia, v. 50, p. 233-241, 2002.

MABEAU, S. J.; FLEURENCE, J.; SCAVINER, C. D. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. In: **Symposium international CII: aliments non convectionals an destination humane**. Paris, 1993.

MABEAU, S.; CAVALOC, E.; FLEURENCE, J.; LAHAYE, M. **International Food Ingred**, v. 3, p. 38-45, 1992.

MABEAU, S.; FLEURENCE, J. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. **Trends in Food Science & Technology**, London/ England, v. 4, p. 103-107, 1993.

MACLEAN, W. C.; DE ROMANA, G. L.; PLACKO, R. P.; GRAHAM, G. G. Protein quality and digestibility of sorghum in pre school children: balance studies and plasma free amino acids. **Journal of Nutrition**, Bethesda/ USA, v. 111, p. 1928-1936, 1981.

MAHAN, L. K.; ARLIN, M. T. Proteínas. In: . KRAUSE et al. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Rocha, 1992. p. 57-70.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 9 ed. São Paulo: Roca, 1998. 1179 p.

MAIA, F. M. M.; OLIVEIRA, J. T. A.; MATOS, M. R. T.; MOREIRA, R. A.; VASCONCELOS, I. M. Proximate composition, amino acid content and hemagglutinating and trypsin-inhibiting activities of some Brazilian *Vigna unguiculata* (L) Walp cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex/ England, v. 8, p. 453-458, 2000.

MALLETT, A. K.; WISW, A.; ROWLAND, I. R. Hydrocolloid food additives and rat cecal microbial enzyme activities. **Food and Chemical Toxicology**, Uppsala/ Sweden, v. 22, p. 415-418, 1984.

MARTINEZ, C.; RIOS, G.; PERIAGO, M. J.; LÓPEZ, G.; ORTUNO, J.; RINCÓN, F. Phytic acid in human nutrition. **Food Science and Technology International**, London/ England, v. 2, p. 201-209, 1996.

MBITHI-MWIKYA, S.; CAMP, J. V.; YIRU, Y.; HUYGHEBAERT, A. Nutrient and antinutrient changes in finger millet (*Eleusine coracana*) during sprouting. **Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie – Food Science and Technology**, London/ England, v. 33, n. 1, p. 9-14, 2000.

McDERMID, K. J.; STUERCKE, B. Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht/ Netherlands, v. 15, p. 513-524, 2003.

MEHANSHO, H.; BUTLER, L. G.; CARLSON, D. M. Dietary tannins and salivary proline-rich proteins: interactions, induction, and defense mechanisms. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto/ USA, v. 7, p. 423-440, 1987.

MELO, V. M. M.; MEDEIROS, D. A.; RIOS, F. J. B.; CASTELAR, L. I. M.; CARVALHO, A. DE F. U. Antifungal properties of proteins (agglutinins) from the red alga *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamourex. **Botanica Marina**, Berlin/ Germany, v. 40, p. 281-284, 1997.

MILLER, D.S.; BENDER, A. E. The determination of the net utilization of proteins by shortened method. Cambridge. **The British Journal of Nutrition**, Oxon/ England, v. 9, p. 382-388, 1955.

MIURA, E. M.Y.; BINOTTI, M. A. R.; CAMARGO, D. S.; MIZUBUTI, I. Y.; IDA, E. I. A. Avaliação biológica de soja com baixas atividades de inibidores de tripsina e ausência do inibidor de Kunitz. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 51, n. 2, p. 195-198, Jun., 2001.

MOLE, S. E.; IGGO, R. D.; LANE, D. P. Using the polymerase chain reaction to modify expression plasmid for epitope mapping. **Nucleic Acids Research**, Oxford/ England, v. 17, p. 3319, 1989.

MOLE, S.; WATERMAN, P. G. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. Techniques for chemically defining tannins. **Oecology**, New York/ USA, v. 72, p. 137-147, 1987.

MOREIRA, R. A.; PERRONE, J. C. Purification and partial characterization of lectin from *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville/ USA, v. 59, p. 783-787, 1977.

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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 006-010, jan-mar, 2004.

MORRIS, B.; KUSIMA, K.; IWASAKI, T.; OMIYA, H. Dietary fiber content of seaweed. **Nippon Nôgeikagaku Kaishi**, Tokyo/ Japan, v. 55, p. 787-791, 1989.

MOSKOWITZ, D. S.; PINARD, G.; ZUROFF, D. C.; ANNABLE, L.; YOUNG, S. N. The effect of tryptophan on social interaction in every life: a placebo-controlled study. **Neuropsychopharmacology**, USA, v. 25, n. 2, p. 277-289, 2001.

MUBARAK, A. E. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. **Food Chemistry**, Oxon/ England, v. 89, p. 489-495, 2004.

NELSON, M. N. M.; PHLEGER, C. F.; NICHOLS, P. D. Seasonal lipid composition in macroalgae of the northeastern pacific ocean. **Botanica Marina**, Berlin/ Germany, v. 45, p. 58-65, 2002.

NELSON, T. S.; FERRARA, L. W.; STOVER, N. L. Phytate phosphorus content of feed ingredients derived from plants. **Poultry Science**, Savoy/ USA, v. 47, p. 1372-1378, 1968.

NEVES, S. A. **Lectina de *Gracilaria caudata*: isolamento, caracterização parcial e estudo comparativo do seu efeito indutor de migração de neutrófilos, in vivo e in vitro, com o de outras lectinas de algas marinhas**. 1991. 97 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Fortaleza. Universidade Federal do Ceará, 1999.

NEVES, S. A.; DIAS-BARUFFI, M.; FREITAS, A. L. P.; ROQUE-BARREIRA, M. C. Neutrophil migration induced in vivo and in vitro by marine algal lectins. **Inflammation Research**, Switzerland, v. 50, n. 10, p. 486-490, October, 2001.

NEWBERNE, P. M.; CONNER, M. W.; ESTEES, P. The influence of food additives and related materials on lower bowel structure and function. **Toxicologic Pathology**, Philadelphia/ USA, v. 16, p.184-197, 1988.

NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. Vol.1, 3. ed. São Paulo: Débora D. Estrela Rebocho, 1985.

NORZIAH, M. H.; CHING, CH. Y. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. **Food Chemistry**, Oxon/ England, v. 68, p. 69-76, 2000.

OLIVEIRA, A. C de; QUEIROZ, K. S.; HELBIG, E.; REIS, S. M. P. M.; CARRARO, F. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 51, n. 3, set, 2001.

OLIVEIRA, A. C.; REIS, S. M. P. M.; CARVALHO, E. M.; PIMENTA, F. M. V.; RIOS, K. R.; PAIVA, K. C.; SOUSA, L. M. S.; ALMEIDA, M.; ARRUDA, S. F. Adições crescentes de ácido fítico à dieta não interferiram na digestibilidade da caseína e no ganho de peso em ratos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 211–217, abr/jun.; 2003.

OLIVEIRA, E. C.; CORBISIER, T. N.; DE ESTON, V. R.; AMBROSIO, O. Phenology of a sea grass (*Halodule wrightii*) bed on the southeast coast of Brazil. **Aquatic Botany**, Amsterdam/ Netherlands, v. 56, p. 25-33, 1997.

OLIVEIRA, J. T. A.; RIOS, F. J. B.; VASCONCELOS, I. M.; FERREIRA, F. V. A.; NOJOSA, G. B. A.; MEDEIROS, D. A. *Cratylia argentea* seed lectin, a possible defensive protein against plant-eating organisms: effects on rat metabolism and gut histology. **Food and chemical Toxicology**, Oxford/ England, v. 42, n. 11, p. 1737-1747, 2004.

OLIVEIRA, J. T. A.; VASCONCELOS, I. M.; GONDIM, M. J. L.; CAVADA, B. S.; MOREIRA, R. A.; SANTOS, C. F.; MOREIRA, L. I. M. *Canavalia brasiliensis* seeds. Protein quality and nutritional implications of dietary lectin. **Journal of Science and Food Agriculture**, Sussex/ England, v. 64, p. 417-424, 1994.

OLIVEIRA, M. F. DE; WANG, S. H.; COSTA, P. S.; ASCHERI, J. L. R. Qualidade de cozimento de massas de trigo e soja pré-cozidas por extrusão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n.5, p.501-507, 2004.

OLSO, A.; GRAY, G. M.; CHIN, M. Chemistry and analysis of soluble dietary fiber. **Food Technology**, Chicago/ USA, v. 41, n. 2, p. 71-80, 1987.

OTTE, J. M.; CHEN, C.; BRUNKE, G.; KIHNE, K.; SCHIMITZ, F.; FOELSCH, U. R.; HERZIG, K. H. Mechanisms of lectin (phytohemagglutinin) – induced growth in small intestinal epithelial cells. **Digestion**, Switzerland, v. 64, p. 169-178, 2001.

OVALLE, A. R. C.; REZENDE, C. E.; CARVALHO, C. E. V.; JENNERJAHN, T. C.; ITTEKOT, V. Biogeochemical characteristics of coastal waters adjacent to small river-mangrove systems, East Brazil. **Geo-Marine Letters**, New York/ USA, v.19, n. 3, p. 179-185, Dec., 1999.

PASCALICCHIO, A. E. **Contaminação por metais pesados: saúde pública e medicina ortomolecular**. São Paulo: Annablume, 2002.

PATEARROYO, M. A.; FERNÁNDEZ-QUINTELA, C. C. Substâncias antinutritivas en alimentos de origem vegetal. Su significado en la alimentación humana. **Alimentaria**, Madrid, v. 6, p. 115-120, 1995.

PAWAR, V. D.; INGLE, U. M. Investigations on phytate-protein-mineral complexes in whey fractions of moth bean (*Phascolus aconitifolius Jacq.*) flour. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore/ Indian, v. 25, n. 4, p. 190–195, 1988.

PEARSON, D. **Técnicas de laboratório para análises de alimentos**. Zaragoza, España: Acribia, 1976. 331p.

PERSSON, H.; NYMAN, M.; LIJEBERG, H.; ÖNNING, G.; FRØLICH, W. Binding of mineral elements by dietary fibre components in cereals-in vitro (III). **Food Chemistry**, Oxon (England), v. 40, p. 169-183, 1991.

PERSSON, H.; TÜRK, M.; NYMAN, M.; SANDBERG, A.S. Binding of Cu^{2+} , Zn^{2+} , and Cd^{2+} , to inositol tri-, tetra-, penta-, and hexa-phosphates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington/ USA, v. 46, p. 3194-3200, 1998.

PERTESSON, A.; LINDBERG, J. E.; THOMKE, S.; EGGUM, B. O. Nutrient digestibility and protein quality of oats differing in chemical composition evaluated in rats and by an in vitro technique. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam/ Netherlands, v. 62, p. 203-213, 1996.

PESANDO, D. Antibacterial and antifungal actives of marine algae. In: Akatsuka, I. **Introduction to Applied Phycology**, 1990. p. 3-26.

PINHEIRO- VIEIRA, F.; BASTOS, J.R. Produção e rendimento do ágar-ágar de algas marinhas do Ceará. Fortaleza. **Boletim de Ciências Marinhas da Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, v. 23, p. 1-7, 1970.

PINHEIRO-JOVENTINO, F.; DANTAS, N. P.; MARASCHI, C.D.H. Distribuição de algas marinhas no litoral de Fortaleza, Ceará, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 31, n. 1-2, p. 29-40, 1998.

PINHEIRO-VIEIRA, F. *et al.* Algas marinhas de interesse industrial para o nordeste brasileiro. **Boletim Estatístico Brasileiro Marinho (UFC)**, Fortaleza, v. 20, p. 3-9, 1968.

PINTÉR-SZAKÁCS, M.; MOLNÁR-PERL, H. Determination of tryptophan in unhydrolyzed food and feedstuffs by the acid ninhydrin method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington/ USA, v. 38, p. 720-726, 1990.

PINTO, N. A. V. D.; CARVALHO, V. D. de, CORRÊA, A. D.; RIOS, A. O. Avaliação de fatores antinutricionais das folhas de taioba (*Xanthosoma sagittifolium* SCHOOT). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 601-604, maio/jun., 2001.

PORRES, J. M.; LÓPEZ-JURADO, M.; ARANDA, P.; URBANO, G. Effect of heat treatment and mineral and vitamin supplementation on the nutritive use of protein and calcium from lentils (*lens culinaris* M.) in growing rats. **Nutrition**, New York/ USA, v. 19, n. 5, p. 451-456, may., 2003.

POUCHET-CAMPOS, M. A. Fibra e nutrição. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3/4, p. 167-171, jul./ dez. 1988.

PÓVOA FILHO, H. **Radicais livres em patologia humana**. Rio de Janeiro: Ímago, 1999. (Série Diversos).

PROSKY, L.; ASP, N-G.; FURDA, I.; DEVRIES, J. W.; SCHWEIZER, T. F.; HARLAND, B. F. Determination of total dietary fiber in foods, food products, and total diets: interlaboratory study. **Journal Association Official of Analytical Chemistry**, Washington/ USA, v. 67, n. 6, p. 1044-1052, 1984.

PROSKY, L. What is fibre? Current Controversies. **Trends in Food Science & Technology**, London/ England, v. 10, p. 271–275, 1999.

PUSZTAI, A. Biological effects of dietary Lectins. In: **Recent Advances of research in antinutritional factors in legume seeds**. J. HUISMAN, T. F. B. VAN DER POEL AND I. E. LIENER (eds). Wageningen: Puduc, 1989. p. 17-29.

PUSZTAI, A.; GRANT, G.; BARDOCZ, S.; EWWNS, S. W. B.; BAINTEK, K.; PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. M. Lectins binding to the greet wall are growth factors for the pancreas: nutritional implications for transgenic plants. In: PUSTAI, A.; BARDOCZ, S. **Lectins-Biomedical Perspectives**. London: Taylon & Francis; 1995. p. 141-154.

PUSZTAI, A.; GRANT, G.; STEWART, J. C. A new type of *Phaseolus vulgaris* (cv. Pinto 111) seed lectin: isolation and characterization. **Biochemical et Biophysical Acta**, Durham/ USA, v. 671, p. 146-154, 1981.

QUEVEDO, H. J. M.; FARNÉS, O. C.; SAVÓN, R. C. B. Enfoque integral en la utilización de los métodos químicos de evaluación de la calidad proteica. **Revision Cubana Salud Pública**, Cuba, v. 29, n. 1, p. 42-47. 2003.

RABOY, V. Biochemistry and genetics of phytic acid synthesis. In: MORRE, D. J.; BOSS, W.; LOEWUS, F. A. **Inositol metabolism in plants**. New York: Willy-Liss Press. 1990. p. 52–73.

RABOY, V.; DICKINSON, D. B.; BELOW, F. E. Variation in seed total phosphorus, phytic acid, zinc, calcium, magnesium, and protein among lines of *Glycine max* e *G. soja*. **Crop Science**, Madison/ USA, v. 24, p. 431-434, 1984.

RACKIS, J. J.; WOLF, W. J.; BAKER, E. C. In: **Nutritional and toxicological significance of enzyme inhibitors in foods**. M. FRIEDMAN (ed). New York: Plenum Press, 1986. p. 185.

RAUPP, D. S.; CARRIJO, K. C. R.; COSTA, L. L. F. Propriedades funcionais-digestivas e nutricionais de polpa refinada de maçã. **Science Agriculture**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 1-15. 2000.

RAVEN, P. H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S. E. **Biology of Plants**. 5. ed. New York: Worth Publisher, 1996. 735p. Capítulos: 10 e 14.

RAYAS-DUARTE, P.; BERGERON, D.; NIELSEN, S. S. Screening of heat table trypsin inhibitors in dry beans and their partial purification from Great Northern beans (*Phaseolus vulgaris*) using anhydrotrypsin-seatharose affinity chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington/ USA, v.40, n.1, p. 32-42, 1992.

REDDY, N. R.; SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K. Phytates in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, San Diego/ USA, v. 28, p. 1-92, 1982.

REHMAN, ZIA-UR, SHAH, W. H. Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. **Food Chemistry**, Oxon/ England, v. 91, n. 2, p. 327-331, 2005.

REN, D.; NODA, H.; NISHINO, T.; NISHIZANA, K. Study on and antihypertensive and antihyperlipidemic effects of marine algae. **Fisheries Science**, Tokyo/ Japan, v. 60, n. 1, p. 83-88, febr. 1994.

RHOADES, D. F.; CARES, R. G. Effects of surfactants, pH, and certain cations on precipitation of proteins by tannins. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington/ USA, v. 28, p. 394-398, 1976.

RIOS, F. J. B. **Digestibilidade in vitro e toxicidade de lectinas vegetais para náuplios de *Artemia sp.*** Fortaleza, 117 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1995.

RIOS, F. J. B.; CAVADA, B. S.; MEDEIROS, D. A.; MOREIRA, R. A.; VASCONCELOS, I. M.; OLIVEIRA, J. T. A. Digestibility of plant lectins from *canavalia*, *Cratylia*, *Dioclea*, and *Artocarpus* genera. In: **Lectins Biology, Biochemistry and Clinical Biochemistry**. Denmark: Van Driessche, J.; Fisher, S.; Beeckmans, T.; Bog-Hansen, C. (eds), 1996. p. 277-284.

RODRIGUES, C. **Algas marinhas – fonte de saúde**. Disponível em < www.galaxia-alfa.com/vegan >. Acesso em 13/ 02/ 2004.

ROGERS, D. J.; HORI, K. Marine algal lectins: new developments. **Hydrobiologia**, Dordrecht/ Netherlands, v. 260/261, p. 589-593, 1993.

ROMERO, J. A. **Evaluación de las características físicas, químicas y biológicas de ocho variedades de quinoa (*Chenopodium quinoa*, Wild)**. 1981. 109f. MS Thesis. Universidad de San Carlo de Guatemala, Guatemala, 1981.

ROUND, E. F., **Biologia das Algas**. 2. ed. Rio de Janeiro. 1973. 263 p.

RUPÉREZ, P. Mineral content of edible marine seaweeds. **Food Chemistry**, Oxon/ England, v. 79, p. 23-26, 2002.

RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Dietary fibre and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds. **European Food Research Technology**, New York/ USA, v. 212, n. 3, p. 349-354, 2001.

RYDEN, P.; SELVENDRAN, R. R. Phytic acid: properties and determination. In: MACRAE, R.; ROBINSON, R.K.; SADLER, M.J. (EDS.). **Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition**. London: Academic Press, 1993. p. 3582-3587.

SAHA, P. R.; WEAVER, C. M.; MASON, A. C. Mineral bioavailability in rats from intrinsically labeled whole wheat flour of various phytate levels. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington/ USA, v. 42, n. 11, p. 2531-5, 1994.

SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J.; PASEIRO-LOSADA, P. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. **Food Chemistry**, Oxon/ England, v. 85, n.3, p. 439-444, may. / jun. 2004.

SASAKI, M.; FITZGERALD, A. J.; GRANT, G.; GHATEI, M. A.; WRIGHT, N. A.; GOODLAD, R. A. Lectins can reverse the distal intestinal atrophy associated with elemental diets in mice. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, Oxon/England, v. 16, n. 3, p. 633-642, mar. 2002.

SAURA-CALIXTO, F. La fibra dietética en nutrición y salud. **Alimentación, Nutrición y Salud**, v. 4, p. 17-21, 1997.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, Oxford/England, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SEIBIN, M, TARUKU, A. **Les légumes de mar**: Comment être et paraître en forme. Guy Tredaniel: Editions de La Maisnie, 1985.

SELVENDRAN, R. R.; STEVENS, B. J. H.; DU PONT, M. S. Dietary fiber: Chemistry, analysis, and properties. In: CHICHESTER, C. O.; MRAK, E. M.; SCHEIGERF, B. S. **Advances in Food Research**. San Diego: Academic Press, 1995, p. 117-209.

SERNA-SALDIVAR, S.; ROONEY, L. W. Structure and chemistry of sorghum and millets. In: DENDY, D. A. V. (ed). **Structure and Chemistry of sorghum and millets**. St. Paul: American Association of Cereal Chemistry, 1995. p. 69-124.

SGARBIERI, V. C. Fontes de proteínas. In: SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**. Propriedades - Degradações - modificações. São Paulo: Livraria Varela, 1996a. Cap. 2, p. 139-257.

SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição**: fator de saúde e desenvolvimento. Campinas: Editora da UNICAMP – ALMED, 1987. 387p.

SGARBIERI, V.C. Propriedades nutricionais das proteínas. In: SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedades, degradações e modificações. São Paulo: Varela, 1996b. p. 337-386.

SGARBIERI, V. C.; WHITAKER, J. R. Physical, chemical and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. **Advances Food Research**; San Diego/ USA, v. 28, n. 3, p. 93-166, 1982.

SHAMSUDDIN, A. M.; ELSAYED, A. M.; ULLAH, A. Suppression of large intestinal cancer in F344 rats by inositol hexaphosphate. **Carcinogenesis**, Oxford/ England, v. 9, p. 577-580, 1988.

SHARON, N.; LIS, H. Lectins as cell recognition molecules. **Science**, Washington/ USA, v. 246, p. 227, 1989.

SHARON, N.; LIS, H. Lectins: cell-agglutinating and sugar-specific proteins. **Science**, Washington/ USA, v. 177, p. 949, 1972.

SHARMA, A.; SHEGAL, S. Effect of domesting processing, and germination on the trypsin inhibitor activity and tannin content of faba bean (*Vicia faba*). **Plant Foods Human Nutrition**, Dordrecht, v. 42, n. 2, p. 127-133, 1992.

SIDDHURAJU, P.; BECKER, K.; MAKKAR, H. P. S. Studies on the nutritional composition and antinutritional factors in three different germplasm seed materials of an under-utilised tropical legume, *Mucuna pruriens* var *Utilis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington/ USA, v. 48, p. 6048-6060, 2000.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. DE. **Análise de alimentos** – métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa: UFV, 2002.

SILVA, C. R.; SILVA, H. C.; OLIVEIRA, J. E. D. de. Conteúdos de celuloses, hemicelulose e lignina em dieta hospitalar hipocalórica. **Alimentos e nutrição**. São Paulo, v. 2, n. 1, p. 65-71, Jun. 1990.

SINGH, U. Protein quality of pigeon pea (*Cajanus-cajan* (L) Mills Sp) as influenced by seed polyphenols and cooking process. **Plant Foods and Human Nutrition**, Dordrecht/ Netherlands, v. 43, n.2, p. 171-179, may. 1993.

SINGLETON, V. L.; KRATZER, F. H. Toxicity and related physiological activity of phenolic substances of plant origin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Oxon/ England, v. 17, p. 285-288, 1974.

SIZER, F. S.; WHITNEY, E. N. **Nutrição: conceitos e controvérsias**. 8. ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 567.

SOUSA, DANIELE de O. **Avaliação bioquímica e nutricional da soja [*Glycine max* (L.) Merr.] CV. Seridó e seridó-RCH**. 2001. 108 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

SOUZA, E. M. T. de; SOUSA, L. M. de; ARRUDA, S. F.; SIQUEIRA, E. M. de A. Protein improves the bioavailability of calcium and phosphorus from na alternative dietary supplement in rats. **Nutrition Research**, Oxon/ England, v. 22, p. 945-955, 2002.

SOUZA-SOARES, L. A. et al. Avaliação histofisiológica de órgãos em ratos Wistar alimentados com fontes diversas de fibras e proteínas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTO. Fortaleza. **Livro de Resumos**. Fortaleza: SBCTA, 2000. V. 3, p 7.51.

SPALKMAN, D. H.; STEIN, N. H.; MOORE, E. S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Analytical Chemistry**, Washington/ USA, v. 30, p. 1190-1198, 1958.

SUZUKY, T.; OHSUGI, Y.; YOSHIE, Y.; SHIRAI, T.; HIRAO, T. Dietary fiber content, water-holding capacity and binding capacity of seaweeds. **Fisheries Sciences**, Tokyo/ Japan, v. 62, p. 454-461, 1996.

SZKUDELSKI, T. Phytic acid – its influence on organism. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Jablonna/ Poland, v. 6, p. 427-438, 1997.

TAKAHASHI, Y.; KATAGIRI, S. Seasonal variation of the hemagglutination activity in the red alga *Gracilaria verrucosa*. **Nippon Suisan Gakkaishi**, Tokyo/ Japan, v. 53, p. 2133-2137, 1987.

A N E X O S



LAUDO DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

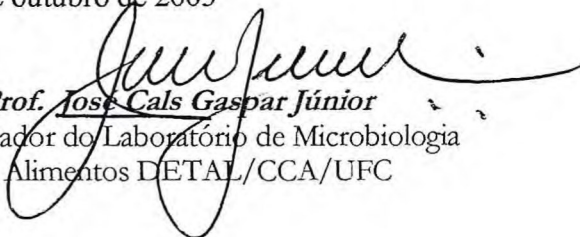
Produto:	Farinha de Algas
Marca:	-
Fabricante:	-
Solicitante	Maria Nilka de Oliveira
Empresa:	Tese de Doutorado
Endereço:	Departamento de Bioquímica/CC/UFC
Amostra:	03
Data de Fabricação	-
Validade	-
Peso Líquido	-

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

	RESULTADO
<i>Coliformes Fecais (45° C)</i>	$9,3 \times 10^3$ NMP
<i>Bolores e Leveduras</i>	$4,1 \times 10^2$ UFC/g

OBS.: Este resultado refere-se somente a amostra apresentada pelo interessado neste Laboratório

Fortaleza, 13 de outubro de 2003


Prof. José Cals Gaspar Júnior
Coordenador do Laboratório de Microbiologia
de Alimentos DETAL/CCA/UFC

RESOLUÇÃO - RDC Nº 53, DE 15 DE JUNHO DE 2000

Dispõe sobre o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelo de Cereais

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso de sua atribuição que lhe confere o art.11, inciso IV, do Regulamento da ANVS aprovado pelo Decreto 3.029, de 16 abril de 1999, c/c o § 1º do Art. 95 do Regimento Interno aprovado pela Resolução nº 1, de 26 de abril de 1999, em reunião realizada em 14 de junho de 2000,

adota a seguinte Resolução de Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação.

Art. 1º Aprovar o Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelo de Cereais, em Anexo.

Art. 2º As empresas têm o prazo de 180 (cento e oitenta) dias, a contar da data da publicação desta Resolução, para se adequarem ao mesmo.

Art. 3º O descumprimento desta Resolução constitui infração sanitária sujeitando os infratores às penalidades da Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977 e demais disposições aplicáveis.

Art. 4º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

GONZALO VECINA NETO

ANEXO**REGULAMENTO TÉCNICO PARA FIXAÇÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE MISTURA À BASE DE FARELO DE CEREAIS.****1. ALCANCE**

1.1. Objetivo: fixar a identidade e as características mínimas de qualidade a que deve obedecer a Mistura à Base de Farelo de Cereais.

1.2. Âmbito de Aplicação: o presente Regulamento Técnico aplica-se à Mistura à Base de Farelo de Cereais, conforme definida no item 2.1.

2. DESCRIÇÃO

2.1. Definição: Mistura à Base de Farelo de Cereais é o produto obtido pela secagem, torragem, moagem e mistura de ingredientes de origem vegetal, podendo ser adicionada de leite em pó.

2.2. Designação: o produto é designado de Mistura à Base de Farelo de Cereais.

3. REFERÊNCIAS

3.1. BRASIL. Lei nº 8.543/92, de 23/12/92. Determina a impressão de advertência em rótulos e embalagens de alimentos industrializados que contenham glúten. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de dezembro de 1992. Seção 1, pt.1.

3.2. BRASIL. Portaria nº 1428, de 26/11/93. Aprova Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos, Diretrizes para o Estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos e Regulamento Técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade para Serviços e Produtos na Área de Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de dezembro de 1993. Seção 1, pt.1.

3.3. BRASIL. Portaria SVS/MS nº 326, de 30/07/1997. Regulamento Técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 01 de agosto de 1997.

Seção 1, pt.1.

3.4. BRASIL. Portaria SVS/MS nº 451, de 19/09/97. Princípios Gerais para Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de julho de 1998. Seção 1, pt.1.

3.5. BRASIL. Portaria SVS/MS nº 42/98, de 14/01/98. Regulamento Técnico para Rotulagem de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União, Brasília, 16 de janeiro de 1998. Seção 1, pt.1.

3.6. BRASIL. Portaria SVS/MS nº 41/98, de 14/01/98. Regulamento Técnico para Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União, Brasília, 21 de janeiro de 1998. Seção 1, pt.1.

3.7. BRASIL. Portaria SVS/MS nº 27/98, de 14/01/98. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da União, Brasília, 16 de janeiro de 1998. Seção 1, pt.1.

3.8. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº16, de 30/04/1999. Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimentos e ou novos ingredientes. Diário Oficial da União, Brasília, 03 de maio de 1999. Seção 1, pt.1.

3.9. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº17, de 30/04/1999. Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para avaliação de risco e segurança dos alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 03 de maio de 1999. Seção 1, pt.1.

3.10. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº18, de 30/04/1999. Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimento. Diário Oficial da União, Brasília, 03 de maio de 1999. Seção 1, pt.1.

3.11. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº19, de 30/04/1999. Regulamento de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. Diário Oficial da União, Brasília, 03 de maio de 1999. Seção 1, pt.1.

COMPOSIÇÃO E REQUISITOS

4.1. Composição

4.1.1. Ingredientes obrigatórios: farelos torrados de trigo ou de arroz ou de milho e ou aveia, em quantidade mínima de 70% (g/100g) e pó de folha de mandioca, batata doce, abóbora e ou chuchu. A utilização de outros farelos e ou outras folhas de vegetais poderá ser autorizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, desde que sejam apresentados estudos conclusivos de avaliação de risco e segurança de acordo com legislação específica.

4.1.2. Ingredientes opcionais: pó de sementes torradas de abóbora, girassol, melão e ou gergelim; nozes; castanhas; farinhas e amidos torrados de cereais, raízes e ou tubérculos; leite em pó; germe de trigo e outros ingredientes que não descaracterizem o produto. A utilização de pó de outros sementes, cascas de vegetais, cascas de ovos de aves e novos ingredientes poderá ser autorizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, desde que sejam apresentados estudos conclusivos de avaliação de risco e segurança de acordo com Regulamento Técnico específico.

4.1.3. Todos os ingredientes utilizados, incluindo os farelos, folhas e pós de sementes, devem ser específicos para o consumo humano.

4.2. Requisitos

4.2.1. Características sensoriais:

4.2.1.1. Aspecto: característico

4.2.1.2. Cor: característica

4.2.1.3. Odor: característico

4.2.1.4. Sabor: característico

4.2.2. Características físicas e químicas:

4.2.2.1. Umidade e substâncias voláteis a 105°C, g/100g.....máximo 6,0%

4.2.2.2. Resíduo mineral fixo, g/100..... mínimo 5,5%

4.2.2.3. Fibra bruta, g/100..... mínimo 8,0%

4.2.2.4. Acidez em solução N, ml/100g..... máximo 5,0%

4.2.2.5. Ácido cianídrico, mg/kg..... máximo 4 ppm

4.2.2.6. Ácido fítico, g/100g..... máximo 0,1%

4.2.3. Acondicionamento: O produto deve ser acondicionado em embalagens adequadas às condições previstas de transporte e armazenamento e que confirmam ao produto a proteção necessária.

5. ADITIVOS INTENCIONAIS E COADJUVANTES DE TECNOLOGIA DE FABRICAÇÃO

Não é permitida a utilização de aditivos intencionais e coadjuvantes de tecnologia.

6. CONTAMINANTES

Devem estar em consonância com os níveis toleráveis na matériaprima empregada, estabelecidos em Regulamento Técnico específico.

7. HIGIENE

7.1. Considerações Gerais: os produtos devem ser processados, manipulados, acondicionados, armazenados, conservados e transportados conforme as Boas Práticas de Fabricação, atendendo à legislação específica.

7.2. Características macroscópicas: devem obedecer à legislação específica.

7.3. Características microscópicas: devem obedecer à legislação específica.

7.4. Características microbiológicas: devem obedecer à legislação específica.

8. PESOS E MEDIDAS

Devem obedecer à legislação específica.

9. ROTULAGEM

9.1. Deve obedecer o Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados, e, obrigatoriamente, apresentar:

9.1.1. quantidade recomendada para cada estado fisiológico e faixa etária;

9.1.2. as seguintes advertências: " Este produto não poderá ser consumido como única fonte de alimento" e "Este produto não deve ser utilizado na alimentação de crianças nos primeiros doze meses de vida";

9.1.3. modo de preparo/ uso, armazenamento e conservação.

9.2. É vedada na embalagem e ou rótulo a utilização de ilustração, fotos ou imagens de bebês ou outras formas que possam sugerir a utilização do produto como sendo o ideal para alimentação do lactente, bem como utilização da frase " quando não for possível ..." ou similares que possam por em dúvida a capacidade das mães de amamentarem seus filhos.

9.3. É vedado mencionar na rotulagem a indicação do produto para suprir deficiências nutricionais.

9.4. Quando qualquer Informação Nutricional Complementar for utilizada, atender ao Regulamento Técnico específico.

9.5 Deve constar no rótulo a seguinte informação : O Ministério da Saúde adverte: não existem evidências científicas comprovadas de que este alimento previna, trate ou cure doenças.

10. MÉTODOS DE ANÁLISE/AMOSTRAGEM

A avaliação da identidade e qualidade deverá ser realizada de acordo com os planos de amostragem e métodos de análise adotados e ou recomendados pela Associação of Analytical Chemists (AOAC), pela Organização Internacional de Normalização (ISO), pelo Instituto Adolfo Lutz, pelo Food Chemicals Codex, pela American Public Health Association (APHA), pelo Bacteriological Analytical Manual (BAM) e pela comissão do Codex Alimentarius e seus comitês específicos, até que venham a ser aprovados planos de amostragem e métodos de análises pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - SEPN 515, Bl.B, Ed.Ômega - Brasília (DF) CEP 70770-502 - Tel: (61) 3448-1000
Disque Saúde: 0 800 61 1997